

※本報告書は、試験法開発における検討結果をまとめたものであり、試験法の実施に際して参考として下さい。なお、報告書の内容と通知または告示試験法との間に齟齬がある場合には、通知または告示試験法が優先することをご留意ください。

平成18年度

食品・添加物等規格基準に関する試験検査等について

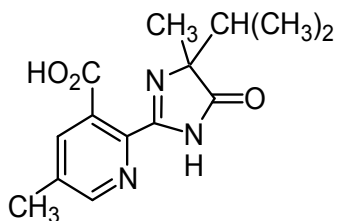
残留農薬個別試験法開発研究

イマザピック、イマザピル、イマザモックスアンモニウム塩及び
イマゼタピルアンモニウム塩に関する試験

イマザピックア、イマザピル、イマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピル アンモニウム塩試験法（検討内容）

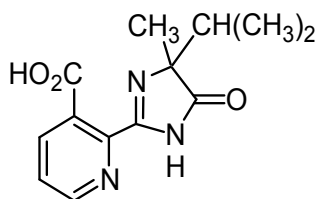
1. 構造式等

イマザピック



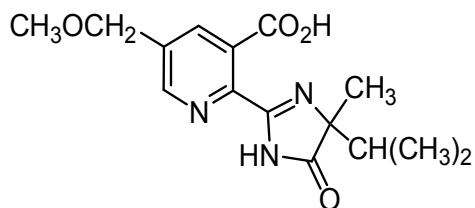
- 分子式： $C_{14}H_{17}N_3O_3$ (アンモニウム塩 $C_{14}H_{20}N_4O_3$)
分子量： 275.3
化学名： 2-[(*RS*)-4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl]-5-methylnicotinic acid
外観： 灰白色粉末
融点： $204\sim 206^{\circ}C$
水溶解度： 2.15 g/L ($25^{\circ}C$)
分配係数： $\log Pow = 0.684$ (pH 4~6)
解離定数： pKa_1 2.0, pKa_2 3.6, pKa_3 11.1
【出典： Pesticide Manual 15th ed.】

イマザピル



- 分子式： $C_{13}H_{15}N_3O_3$
分子量： 261.3
化学名： (*RS*)-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl) nicotinic acid
外観： 白褐色粉末
融点： $169\sim 173^{\circ}C$
水溶解度： 11.3 g/L ($25^{\circ}C$)
分配係数： $\log Pow = 0.11$ ($22^{\circ}C$)
解離定数： pKa_1 1.9, pKa_2 3.6, pKa_3 11
【出典： Pesticide Manual 15th ed.】

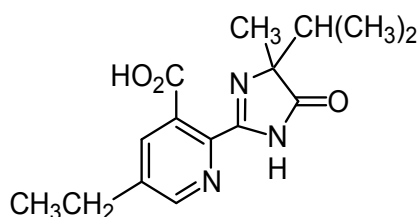
イマザモックス



分子式： $C_{15}H_{19}N_3O_4$ (アンモニウム塩 $C_{15}H_{22}N_4O_4$)
分子量： 305.3 (アンモニウム塩 322.4)
化学名： (RS)-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)
5-methoxymethylnicotinic acid
外観： 灰白色固体
融点： 165.5～167.2°C
水溶解度： >626 g/L (pH 7, 25°C)
分配係数： $\log Pow = -2.4$ (pH 7)
解離定数： pKa_1 2.3, pKa_2 3.3, pKa_3 10.8

【出典： Pesticide Manual 15th ed.】

イマゼタピル



分子式： $C_{15}H_{19}N_3O_3$ (アンモニウム塩 $C_{15}H_{22}N_4O_3$)
分子量： 289.3 (アンモニウム塩 306.4)
化学名： (RS)-5-ethyl-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl) nicotinic acid
外観： 灰白色固体
融点： 169～173°C
水溶解度： 1.4 g/L (25°C)
分配係数： $\log Pow = 1.49$ (pH 7, 25°C)
解離定数： pKa_1 2.1, pKa_2 3.9

【出典： Pesticide Manual 15th ed.】

2. 基準値(残留基準又は暫定基準 ppm)

イマザピック： 0.05～0.1 ppm (小麦、らっかせい、さとうきび、なたね)

イマザピル： 0.05 ppm (小麦、とうもろこし、なたね)

イマザモックスアンモニウム塩： 0.05～0.2 ppm (穀類、豆類、野菜、スパイス)

イマゼタピルアンモニウム塩： 0.05～0.2 ppm (穀類、豆類、いも類、野菜、果実、種実類、
茶、ホップ)

3. 分析対象成分

イマザピック

イマザピル

イマザモックスアンモニウム塩(イマザモックスを含む)

イマゼタピルアンモニウム塩(イマゼタピルを含む)

4. 試験法の組み立て

イマザピック等4農薬は、いずれもニコチン酸とイミダゾリン環を有する除草剤である。イマザモックスアンモニウム塩については通知試験法が公示されていることから、当該4品目についても既存試験法で分析可能かどうか検討を行った。その結果、特に以下の点において問題が認められ、そのまま適用できないことが明らかとなった。

- ① 酢酸亜鉛による凝固処理では、ろ過が困難となるケースがみられた。
- ② 連結カラム(CHミニカラム+NH₂ミニカラム)による精製では、試料によってはメタノール洗浄画分に4農薬とも一部が溶出するケースがみられた。

このため、現行試験法(イマザモックスアンモニウム塩試験法)をLC-MS又はLC-MS/MSで測定する方法に変更し、精製操作の簡略化を図ったところ、概ね良好な結果が得られた。なお、試作した試験法の適性については、当該農薬の基準値対象作物の中から15作物を選定し、それらにおける回収試験等により確認した。

(参考:現行試験法) イマザモックスアンモニウム塩試験法:

試料を0.02 mol/L 塩酸及びメタノールの混液で抽出、酢酸亜鉛処理、C18 ミニカラム、SCX ミニカラム、CH ミニカラム+NH₂ミニカラム、アセトニトリル・ヘキサン分配で精製し、HPLC(UV)で定量する。

5. 試験法(案)の概要及び分析操作

5-1. 試料

(1) 玄米

試料(約 500 g)を超遠心粉砕機で 425 µm の標準網ふるいを通るように粉砕均一化した。

(2) 大豆(乾燥子実)

試料(約 500 g)を超遠心粉砕機で 425 µm の標準網ふるいを通るように粉砕均一化した。

(3) ばれいしょ(塊茎: 泥を水で軽く洗い落としたもの)

各試料を細切り、ミキサーで均一化した(約 800 g)。

(4) だいこん(根部: 泥を水で軽く洗い落としたもの)

各試料を縦に 4 分割したのから対角の 2 つを取り合わせて細切した。

その一部(約 800 g)を無作為に取り、ミキサーで均一化した。

(5) だいこん(葉部: 変質葉を除去したもの)

各試料を株の付け根より縦に 4 分割したのから対角の 2 つを取り合わせて細切した。

その一部(約 800 g)を無作為に取り、ミキサーで均一化した。

(6) キャベツ(葉球: 外側変質葉及び芯を除去したもの)

各試料を縦に 8~16 分割し、対角に 2 ずつを取り合わせ芯を除去して細切した。
その一部(約 800 g)を無作為に取り、ミキサーで均一化した。

(7) ネギ(茎葉: 外皮及びひげ根を除去したもの)

試料(葉ネギ)を細切し、ミキサーで均一化した(約 800 g)。

(8) トマト(果実: へたを除去したもの)

各試料のへたを除去し、ミキサーで細切均一化した(約 800 g)。

(9) ほうれんそう(茎葉: 赤色根部を含み、ひげ根及び変質葉を除去したもの)

試料を細切し、ミキサーで均一化した(約 500 g)。

(10) オレンジ(果実: へたを除去したもの)

各試料のへたを除去し、ミキサーで細切均一化した(約 800 g)。

(11) りんご(果実: 花落ち、芯及び果梗の基部を除去したもの)

各試料を縦に 4 分割し、花落ち、芯及び果梗の基部を除去した後に細切した。

その一部(約 800 g)を無作為に取り、ミキサーで均一化した。

(12) いちご(果実: へたを除去したもの)

各試料のへたを除去し、ミキサーで細切均一化した(約 500 g)。

(13) ぶどう(果実: 果梗を除去したもの)

各試料の果梗を除去し(果実を果梗から取り)、ミキサーで細切均一化した(約 500 g)。

(14) 綿実(種子)

試料を超遠心粉砕機で磨砕均一化した(約 100 g)。

(15) 茶(荒茶)

試料をミキサーで 425 μm の標準網ふるいを通るように粉砕均一化した(約 100 g)。

5-2. 試薬・機器

メタノール: 残留農薬試験用(和光純薬工業株式会社)

メタノール: LC-MS 用(和光純薬工業株式会社)

水: 脱イオン水を Milli-Q System (Millipore 社)で精製したもの

塩酸: 特級(和光純薬工業株式会社)

塩酸溶液: 水 500 mL に 1 mol/L 塩酸を滴下し、pH 2.5 に調整したもの

アンモニア水: 28%アンモニア水(和光純薬工業株式会社)

酢酸: 精密分析用(和光純薬工業株式会社)

イマザピック標準品: 純度 99.9%(林純薬工業株式会社)

イマザピル標準品: 純度 99.7%(関東化学株式会社)

イマザモックス標準品: 純度 99.4%(和光純薬工業株式会社)

イマゼタピル標準品: 純度 99.9%(Riedel-de Haën 社)

その他の試薬: 特級

ケイソウ土: セライト 545(和光純薬工業株式会社)

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(C18 ミニカラム): BondElut C18, 1 g/6 mL (Varian 社)

ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(SCX ミニカラム): BondElut SCX, 1 g/6 mL (Varian 社)

シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム(CH ミニカラム): BondElut CH, 1 g/6 mL (Varian 社)

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (NH₂ミニカラム) : BondElut NH2, 1 g/6 mL (Varian 社)
 pH メーター : F-72 (株式会社堀場製作所)
 ミキサー : MX-V100 (パナソニック株式会社)
 超遠心粉碎機 : ZM100 (Retsch 社)
 ホモジナイザー : PT 10/35 (Kinematica 社)

LC-MS 測定装置

装置	型式	会社
MS	G1946D (四重極型)	Agilent Technologies 社
LC	1100 HPLC ポンプ : G1312A、2液高压グラジェント式 オートサンプラー : G1329A	Agilent Technologies 社
データ処理	ChemStation	Agilent Technologies 社

LC 条件	
カラム	L-column ODS サイズ : 内径 2.1mm, 長さ 150mm, 粒径 5 μ m 会社 : 化学物質評価研究機構
移動相流速 (mL/min)	0.2
注入量 (μ L)	5
カラム温度 (°C)	40
移動相 (v/v)	0.1 vol%酢酸及び 0.1 vol%酢酸・メタノール溶液混液 (4:1, v/v) から (2:3) までの濃度勾配を 20 分間で行い 5 分間保持
保持時間 (min)	イマザピック 18.8 分、イマザピル 14.1 分、イマザモックス 18.3 分、イマゼタピル 22.7 分
MS 条件	
測定モード	MS、選択イオン検出
イオン化モード	ESI (+)
イオン導入電圧 (V)	3000
フラグメンター電圧 (V)	150
乾燥ガス流量 (L/min)	窒素、12
乾燥ガス温度 (°C)	350
ネブライザー圧力 (psi)	50
モニタリングイオン	イマザピック 276、イマザピル 262、イマザモックス 306、イマゼタピル 290

LC-MS/MS 測定装置

装置	型式	会社
MS	Quattro premier XE (タンデム四重極型)	Waters 社
LC	ACQUITY UPLC (2液高压グラジェント式)	Waters 社
データ処理	MassLynx	Waters 社

LC 条件	
カラム	L-column ODS サイズ：内径 2.1mm, 長さ 150mm, 粒径 5 μ m 会社：化学物質評価研究機構
移動相流速 (mL/min)	0.2
注入量 (μ L)	5
カラム温度 ($^{\circ}$ C)	40
移動相 (v/v)	0.1 vol%酢酸及び 0.1 vol%酢酸・メタノール溶液混液 (4:1, v/v) から (2:3) までの濃度勾配を 20 分間で行い 5 分間保持
保持時間 (min)	イマザピック 12.6 分、イマザピル 9.2 分、イマザモックス 12.3 分、イマゼタピル 16.1 分
MS 条件	
測定モード	SRM、選択反応イオン検出
イオン化モード	ESI (+)
イオン導入電圧 (V)	3500
コーン電圧 (V)	30
コリジョン電圧 (V)	イマザピック 25、イマザピル 20、イマザモックス 20、イマゼタピル 20
乾燥ガス流量 (L/h)	窒素、800
乾燥ガス温度 ($^{\circ}$ C)	350
コーンガス流量 (L/h)	窒素、50
コリジョンガス	アルゴン
モニタリングイオン	[プリカーサーイオン] イマザピック 276、イマザピル 262、イマザモックス 306、 イマゼタピル 290 [プロダクトイオン] イマザピック 231、163、イマザピル 217、149、イマザモックス 261、193、イマゼタピル 245、177

5-3. 定量

イマザピック標準品 10.0 mg を 50 mL 容メスフラスコに精秤し、メタノールで定容して 200 mg/L 溶液を調製した。イマザピル標準品 10.0 mg を 50 mL 容メスフラスコに精秤し、メタノールで定容して 200 mg/L 溶液を調製した。イマザモックス標準品 10.1 mg を 50 mL 容メスフラスコに精秤し、メタノールで定容して 200 mg/L 溶液を調製した。イマゼタピル標準品 10.0 mg を 50 mL 容メスフラスコに精秤し、メタノールで定容して 200 mg/L 溶液を調製した。これらの溶液を等量ずつ混合し、水及びメタノール (1:1, v/v) 混液で希釈して、0.02, 0.01, 0.005, 0.001 及び 0.0005 mg/L の標準溶液を調製した。イマザピック及びイマザピルの 0.01 mg/kg、イマザモックス及びイマゼタピルの 0.008 mg/kg 添加回収率を求める際には、イマザピック及びイマザピルが 0.02, 0.01, 0.005, 0.001 及び 0.0005 mg/L、イマザモックス及びイマゼタピルが 0.016, 0.008, 0.004, 0.0008 及び 0.0004 mg/L となる 4 成分混合標準溶液を調製した (規制対象であるイマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩として 0.02, 0.01, 0.005, 0.001 及び 0.0005 mg/L)。この溶液の 5 μ L を LC-MS に注入して、データ処理装置を用いてイマザピック、イマザピル、イマザモックス及びイマゼタピルの各ピーク面積を測定し、横軸に各重量、縦軸に各ピーク面積をとって検量線を作製した。次項に従い調製した試験溶液 5 μ L を LC-MS に注入し、検量線より各成分の含量を求め、試料中の残留濃度を算出した。LC-MS/MS での測定についても、同様の手順で行った。

5-4. 添加試料の調製

多種農作物に基準値が設定されているイマゼタピルの対象作物から、代表的な15農産物を選択して検討した。野菜及び果物については、三角フラスコにブランク試料20 gを秤取し、イマザピック、イマザピル、イマザモックス及びイマゼタピルの2 mg/L混合メタノール標準溶液1 mLを添加してよく混合した後、室温に30分間放置した。玄米、大豆及び棉実については、三角フラスコにブランク試料10 gを採取し、イマザピック、イマザピル、イマザモックス及びイマゼタピルの1 mg/L混合メタノール標準溶液1 mLを添加してよく混合した後、室温に30分間放置し、さらに水20 mLを加えて室温に2時間放置した。茶については、三角フラスコにブランク試料5 gを採取し、イマザピック、イマザピル、イマザモックス及びイマゼタピルの1 mg/L混合メタノール標準溶液0.5 mLを添加してよく混合した後、室温に30分間放置し、さらに水20 mLを加えて室温に2時間放置した。各試料のイマザピック、イマザピル、イマザモックス及びイマゼタピルとしての添加濃度は、各成分濃度として0.1 mg/kgである。又、イマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルイマザモックスアンモニウム塩としての添加濃度は、いずれも0.106 mg/kgである。なお、ネギについてはイマザピック及びイマザピル0.2 mg/Lとイマザモックス及びイマゼタピル0.16 mg/Lの混合標準溶液1 mLを試料20 gに添加、玄米についてはイマザピック及びイマザピル0.1 mg/Lとイマザモックス及びイマゼタピル0.08 mg/Lの混合標準溶液1 mLを試料10 gに添加、茶については同混合標準溶液0.5 mLを試料5 gに添加し、それぞれイマザピック及びイマザピル0.01 mg/kg、イマザモックス及びイマゼタピル0.008 mg/kg (各アンモニウム塩として0.009 mg/kg相当)の添加試料を同様の手順にて調製した。

5-5. 試験溶液の調製

(1) 概要

試料を0.02 mol/L塩酸及びメタノール混液で抽出し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラムの連結カラムで精製した後、LC-MS又はLC-MS/MSで測定及び確認する。

(2) 抽出

① 穀類、豆類、種実類及び茶の場合

試料10.0 g (茶の場合は5.00 g) を量り採り、水20 mLを加え、2時間放置した。これに0.02 mol/L塩酸及びメタノール (2:3, v/v) 混液100 mLを加え、ホモジナイズした後、ケイソウ土を約1 cmの厚さに敷いたろ紙 (φ 90 mm、日本理化学器械No.704) を用いて吸引ろ過した。ろ紙上の残留物に、0.02 mol/L塩酸及びメタノール (2:3, v/v) 混液50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過した。得られたろ液に0.02 mol/L塩酸及びメタノール (2:3, v/v) 混液を加えて正確に200 mLとし、この20 mLを採り、40°C以下で濃縮し、メタノールを除去した。この溶液に塩酸溶液を加えて約20 mLとした。

② 果実及び野菜の場合

試料20.0 gに0.02 mol/L塩酸及びメタノール (2:3, v/v) 混液100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物に、0.02 mol/L塩酸及びメタノール (2:3, v/v) 混液50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過した。得られたろ液に0.02 mol/L塩酸及びメタノール (2:3, v/v) 混液を加えて正確に200 mLとし、この20 mLを採り、40°C以下で濃縮し、メタノールを除去した。この溶液に塩酸溶液を加えて約20 mLとした。

(3) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にメタノール及び塩酸溶液を5 mLずつ順次注入し、流出液は捨てた。ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にメタノール及び塩酸溶液を5 mLずつ順次注入し、流出液は捨てた。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムに(1)で得られた溶液を注入し、流出液は捨てた。さらに、塩酸溶液5 mLを注入し、流出液は捨てた。このカラムの下部にベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラムを接続し、塩酸溶液及びメタノール (1:1, v/v) 混液10 mLを注入し、流出液は捨てた。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムを除去した後、ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラムにメタノール10 mLを注入し、流出液は捨てた。次いで、アンモニア水及びメタノール (1:49, v/v) 混液15 mLを注入し、溶出液を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物を水及びメタノール (1:1, v/v) 混液に溶解し、果実及び野菜の場合は正確に20 mL、穀類、豆類及び種実類の場合は正確に10 mL、茶の場合は正確に5 mLとしたものを試験溶液とした。

[分析フローチャート]

秤 取

- ↓ 穀類等：試料 10.0 g (茶 5.00 g) に水 20 mL を加え 30 分間放置
- 果実・野菜：試料 20 g を採取

抽 出

- ↓ 0.02 mol/L 塩酸及びメタノール(2:3) 100 mL を加え、ホモジナイズ
- ↓ 吸引ろ過(セライト使用)
- ↓ 残渣は同混液 50 mL で同様に抽出・吸引ろ過
- ↓ ろ液を合わせ、同混液で 200 mL 定容
- ↓ 20 mL (果実・野菜 2 g、穀類等 1 g、茶 0.5 g 相当) を採取

濃 縮

- ↓ 減圧濃縮(<40℃)し、塩酸溶液を加えて約 20 mL とする

C18+SCX カラム [BondElut C18 (1g/6mL), BondElut SCX (1g/6mL)]

- ↓ C18 ミニカラムをメタノール、塩酸溶液各 5 mL でコンディショニング
- ↓ 濃縮液を C18 ミニカラムに流下
- ↓ 塩酸溶液 5 mL を流下、洗浄
- ↓
- ↓ SCX ミニカラムをメタノール、塩酸溶液各 5 mL でコンディショニング
- ↓ C18 ミニカラムの溶出口に SCX ミニカラムを連結
- ↓ 塩酸溶液・メタノール(1:1) 10 mL を流下
- ↓
- ↓ C18 ミニカラムを除去
- ↓ SCX ミニカラムにメタノール 10 mL を流下、洗浄
- ↓ アンモニア水・メタノール(1:49) 15 mL で溶出

濃 縮

- ↓ 溶出液を減圧濃縮して乾固(<40℃)
- ↓ 残留物を水・メタノール(1:1)に溶解
- ↓ (果実・野菜 20 mL、穀類等 10 mL、茶 5 mL)

試験溶液

↓
LC-MS 又は LC-MS/MS

5-6. マトリックス添加標準溶液の調製

15 検討作物のブランク試料から作製した検液 1 mL を試験管にとり、窒素気流下で溶媒を留去した後、各成分の 0.01 mg/L 標準溶液 1 mL に溶解したものをマトリックス添加標準溶液とした(試料濃度として 0.1 mg/kg 相当)。なお、イマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルイマザモックスアンモニウム塩としての添加濃度は、いずれも 0.106 mg/kg である。又、ネギ、玄米及び茶のブランク試料から作製した検液 1 mL を試験管にとり、窒素気流下で溶媒を留去した後、イマザピック及びイマザピルの 0.001 mg/L、イマザモックス及びイマゼタピルの 0.0008 mg/L 標準溶液に溶解したものを、試料濃度として 0.01 mg/kg(イマザピック及びイマザピルの場合)又は 0.008 mg/kg(イマザモックス及びイマゼタピルの場合)相当のマトリックス添加標準溶液とした。

【結果】

1. 概要

現行試験法(イマザモックスアンモニウム塩試験法)は、試料を0.02 mol/L塩酸及びメタノールの混液で抽出、酢酸亜鉛処理、C18ミニカラム、SCXミニカラム、CHミニカラム+NH₂ミニカラム、アセトニトリル・ヘキサン分配で精製し、HPLC(UV)で定量する方法である。イマザピック等4農薬はいずれもイマザモックスアンモニウム塩と類似の構造を有する化合物であることから、抽出及び精製の操作内容については可能な限り現行試験法に準拠した。

なお、試験法の検討に用いた標準品は、イマザピック、イマザピル、イマザモックス及びイマゼタピルであり、アンモニウム塩は使用していない。

2. 測定条件の検討

(1) マススペクトル(図1)

イオン化モード: ESI(-)と比較し、感度等からESI(+))を採用した。定量イオンとして、それぞれの基準ピークであったプロトン付加(イマザピック 276、イマザピル 262、イマザモックス 306、イマゼタピル 290)を選択した。フラグメンター電圧(イオン化電圧)を変更することにより、定性イオンとして、イマザピック 277又は248、イマザピル 263又は234、イマザモックス 307又は278、イマゼタピル 291又は262が選択可能であるが、先の基準ピークに比べて1/10程度の強度であり、いずれもナトリウムイオンナトリウム付加分子([M+Na]⁺)の方が高感度であった。LC-MS/MS測定においては前記定量イオンをプリカーサーイオンとし、プロダクトイオンの内、イマザピック 163、イマザピル 217、イマザモックス 261、イマゼタピル 245をそれぞれ定量イオンとして選択した。又、プロダクトイオンの内、イマザピック 231、イマザピル 149、イマザモックス 193、イマゼタピル 177が定性イオンとして選択可能であった。

(2) 測定条件

4種農薬に対する測定条件を検討し、5-2項に示す条件を採用した。なお、分離カラムは、現行試験法に準拠したものを選択し、通知試験法案には15作物を検証したLC-MS測定時の保持時間を記載した。

(3) 検量線の直線性(図2)

イマザピック及びイマザピルについて0.0005 mg/L(0.0025 ng)~0.02 mg/L(0.1 ng)の範囲で、

イマザモックス及びイマゼタピルについて0.0004 mg/L(0.002 ng)～0.016 mg/L(0.08 ng)の範囲で、良好な直線性を示した。

(4) 検出感度 (図3及び図4)

定量限界相当の検出量として、クロマトグラムには各0.005 ng(0.001 mg/L×5 μL)を示す(図3)。また、0.01 mg/kg又は0.008 mg/kg添加回収率算出の際に測定した、イマザピック及びイマゼタピル 0.005 ng(0.001 mg/L×5 μL)、イマザモックス及びイマゼタピル 0.004 ng(0.0008 mg/L×5μL)のクロマトグラムを示す(図4)。試験法案では、イマザモックス及びイマゼタピルはそれぞれアンモニウム塩としての溶液濃度を提案した。

(5) 定量限界(図3)

定量限界は、標準品及び無添加試料の各クロマトグラムから判断し、イマザピック、イマゼタピル、イマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩として、各 0.01 mg/kg(イマザモックス及びイマゼタピルとして、各 0.008 mg/kg)とした。

果実等の場合: [(20 mL/2g)×(0.005 ng/5μL)]

穀類等の場合: [(10 mL/1g)×(0.005 ng/5μL)]

茶の場合: [(5 mL/0.5g)×(0.005 ng/5μL)]

[基準値(案) 0.05～0.2 ppm]

3. 試験溶液調製法の検討

1) 抽出

イマザピック等4農薬は類似の構造を有する化合物ゆえ、現行試験法(イマザモックスアンモニウム塩試験法)に従った。

2) 精製

① 酢酸亜鉛による凝固処理

現行試験法(イマザモックスアンモニウム塩試験法)では、酢酸亜鉛による凝固処理が採用されているが、大豆試料の分析に適用したところ、試料溶液の粘性が高く、ろ過が困難であった。

② C18ミニカラム

現行試験法(イマザモックスアンモニウム塩試験法)で採用されているC18ミニカラムによる精製法を大豆及び茶の分析に適用したところ、洗浄画分にイマゼタピルが40%程度溶出することが確認された。この問題は負荷溶液に塩酸溶液(pH 2.5)を加えることで改善した。

カラムをメタノール及び塩酸溶液各5 mLで前処理した後、4種分析対象成分2 μgを負荷し、塩酸溶液及び塩酸溶液・メタノール(1:1, v/v)混液を流下した場合の溶出状況を表1に示す。4種分析対象成分は、塩酸溶液・メタノール(1:1, v/v)混液10 mLで102～108%相当が溶出された。これらの溶出挙動調査に基づき、試験法に採用したC18ミニカラムでの精製条件を設定した。

表1. C18ミニカラムからの溶出挙動

		イマザピック	イマザピル	イマザモックス	イセタピル
負荷 (塩酸溶液)	20mL*	<1%	<1%	<1%	<1%
塩酸溶液	5mL	<1%	<1%	<1%	<1%
塩酸溶液・メタノール(1:1)	10mL	107%	102%	108%	106%
塩酸溶液・メタノール(1:1)	5mL	<1%	<1%	<1%	<1%
合計		107%	102%	108%	106%

* 負荷量:4種分析対象成分2 µg (2 mg/L/メタノール混合標準溶液1 mLを窒素気流下で溶媒除去した後に溶解)

③ SCXミニカラム

現行試験法(イマザモックスアンモニウム塩試験法)で採用されているSCXミニカラムによる精製法では、塩酸溶液で保持した後、メタノールで洗浄し、飽和塩化カリウム含有メタノール溶液で溶出する。本検討では、塩化カリウムの除去操作が不要な精製条件を設定した。本操作条件を大豆及び茶の分析に適用したところ、概ね問題は認められなかった。

カラムをメタノール及び塩酸溶液各5 mLで前処理した後、4種分析対象成分2 µgを負荷し、塩酸溶液、メタノール及びアンモニア水・メタノール混液を流下した場合の溶出状況を表2に示す。4種分析対象成分は、アンモニア水・メタノール(1:49, v/v)混液10 mLで102~108%相当が溶出された。これらの溶出挙動調査及び実試料分析における溶出挙動の変動を考慮して、試験法に採用したオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムでの精製条件(溶出液量15 mL)を設定した。

表2. SCXミニカラムからの溶出挙動

		イマザピック	イマザピル	イマザモックス	イセタピル
負荷 (塩酸溶液)	10mL*	<1%	<1%	<1%	<1%
メタノール	10mL	<1%	<1%	<1%	<1%
アンモニア水・メタノール (1:49)	5mL	6%	6%	6%	6%
アンモニア水・メタノール (1:49)	5mL	94%	97%	95%	92%
アンモニア水・メタノール (1:49)	5mL	<1%	<1%	<1%	<1%
合計		100%	103%	101%	98%

* 負荷量:4種分析対象成分2 µg (2 mg/L/メタノール混合標準溶液1 mLを窒素気流下で溶媒除去した後に溶解)

④ C18ミニカラム+SCXミニカラム(連結カラム)の確認

上記①及び②の結果に基づき、C18ミニカラム及びSCXミニカラムを連結使用する方法を設定した。各カラムをメタノール及び塩酸溶液各5 mLで前処理した後、4種分析対象成分をC18ミニカラムに負荷(保持)し、塩酸溶液で洗浄、SCXミニカラムを連結して塩酸溶液・メタノール混液を流下(分析対象成分はC18ミニカラムから溶出しSCXミニカラムが保持)、SCXミニカラムについてメタノールで洗浄、アンモニア水・メタノール混液を流下(分析対象成分を溶出)した場合の状況を表3に示す。試験法に採用した使用条件において問題は認められなかった。

表3. C18ミニカラム+SCXミニカラムからの溶出挙動

	イマザピック	イマザピル	イマザモックス	イミセタピル
負荷 (塩酸溶液) 20mL*	—	—	—	—
塩酸溶液 5mL (C18の洗浄フラクション)	<1%	<1%	<1%	<1%
塩酸溶液・メタノール (1:1) 10mL (C18+SCX)	<1%	<1%	<1%	<1%
メタノール 10mL (SCX洗浄フラクション)	<1%	<1%	<1%	1%
アンモニア水・メタノール (1:49) 10mL	101%	101%	102%	100%
アンモニア水・メタノール (1:49) 5mL	<1%	<1%	<1%	<1%
合計	101%	101%	102%	100%

* 負荷量:4種分析対象成分2 µg (2 mg/L/メタノール混合標準溶液1 mLを窒素気流下で溶媒除去した後溶解)

⑤ CHミニカラム+NH₂ミニカラム(連結カラム)

現行試験法(イマザモックスアンモニウム塩試験法)で採用されている連結カラム(CHミニカラム+NH₂ミニカラム)の精製法を検討した。

CHミニカラムは塩酸溶液及びメタノール各5 mLで、NH₂ミニカラムはメタノール5 mLで前処理した。CHミニカラムに4種分析対象成分2 µgを負荷し、NH₂ミニカラムと組み合わせて、塩酸溶液、メタノール及びアンモニア水・メタノール混液を流下した場合の溶出状況を表4に示す。4種分析対象成分は、アンモニア水・メタノール(1:199, v/v)混液15 mLで85~92%相当が溶出された。しかしながら、大豆及び茶の分析に適用したところ、特に大豆試料において、メタノール洗浄画分に4農薬とも多量(60~70%)に溶出する現象が確認された。これはNH₂ミニカラムの保持が不十分であることが原因であった。そのため、この精製操作は不採用とした。

表4. CHミニカラム+NH₂ミニカラムからの溶出挙動

	イマザピック	イマザピル	イマザモックス	イミセタピル
負荷 (塩酸溶液) 10mL*	<1%	<1%	<1%	<1%
メタノール 5mL (NH ₂ カラム連結)	2%	<1%	<1%	3%
メタノール 5mL (CHカラム除去)	<1%	<1%	<1%	1%
アンモニア水・メタノール (1:199) 15mL	91%	91%	92%	85%
アンモニア水・メタノール (1:199) 5mL	<1%	<1%	<1%	<1%
合計	93%	91%	92%	89%

* 負荷量:4種分析対象成分2 µg (2 mg/L/メタノール混合標準溶液1 mLを窒素気流下で溶媒除去した後溶解)

⑥ アセトニトリル・ヘキサン分配

4種分析対象成分2 µgをヘキサン飽和アセトニトリル50 mLに添加し、ヘキサン50 mLを加えて約3分間振とうし、アセトニトリル層を分取した。更にヘキサン飽和アセトニトリル50 mLを加えて同様の振とう及び分取を繰り返した結果を表5に示す。アセトニトリル・ヘキサン分配では、実試料において精製効果が認められなかった為、当該精製操作は採用しなかった。

表5. アセトニトリル・ヘキサン分配での転溶率

	イマザピック	イマザピル	イマザモックス	イメゼタピル
ヘキサン層 (50mL)	<1%	<1%	<1%	<1%
アセトニトリル層 (50mL×2)	87%	80%	84%	89%

* 負荷量:4種分析対象成分2 µg (2 mg/L/メタノール混合標準溶液1 mLを窒素気流下で溶媒除去した後溶解)

3. 回収率の確認

3-1. 0.1 mg/kg添加での確認

イメゼタピルアンモニウム塩に残留基準値が設定されている玄米、大豆、ばれいしょ、大根・根、大根・葉、キャベツ、ネギ、トマト、ほうれんそう、オレンジ、りんご、いちご、ぶどう、綿実及び茶の計15食品を試料に用いて、前述の実験方法に従い分析して添加回収率を算出した。添加回収実験における回収率100%相当の標準溶液、各食品のブランク試料及び添加試料の代表的なクロマトグラムを各分析対象成分別に図3に示す。イマザピックを0.1 mg/kg添加した全15品目における平均回収率は75～105%の範囲であり、併行精度は7%以下で良好であった(表6)。イマザピルを0.1 mg/kg添加した全15品目における平均回収率は78～110%の範囲であり、併行精度は5%以下で良好であった(表7)。イマザモックスを0.1 mg/kg添加した全15品目における平均回収率は76～110%の範囲であり、併行精度は7%以下で良好であった(表8)。イマザモックスのネギにおける回収率は妨害ピークの影響を回避する為にベースライン分割処理して解析したが、その平均回収率は76%であり、併行精度も2%で既定の範囲内であった(次項参照)。イメゼタピルを0.1 mg/kg添加した全15品目における平均回収率は77～108%の範囲であり、併行精度は6%以下で良好であった(表9)。

表6. イマザピック回収率の算出結果

	回収率(%)	真度(%)	併行精度(RSD%)
玄米	94, 94, 93	94	1
大豆	86, 86, 86	86	0
ばれいしょ	94, 93, 93	93	1
大根・根	107, 107, 102	105	3
大根・葉	89, 84, 83	85	4
キャベツ	103, 103, 101	102	1
ネギ	98, 98, 98	98	0
トマト	105, 105, 104	105	1
ほうれんそう	92, 91, 86	90	4
オレンジ	97, 96, 94	96	2
りんご	94, 93, 88	92	3
いちご	89, 88, 88	88	1
ぶどう	96, 95, 95	95	1
綿実	81, 72, 71	75	7
茶	92, 90, 90	91	1

添加濃度 : 0.1 mg/kg

表7. イマザピル回収率の算出結果

	回収率(%)	真度(%)	併行精度(RSD%)
玄米	98, 97, 96	97	1
大豆	80, 77, 77	78	2
ばれいしょ	95, 95, 94	95	1
大根・根	112, 111, 106	110	3
大根・葉	87, 84, 80	84	4
キャベツ	109, 105, 104	106	2
ネギ	96, 95, 94	95	1
トマト	107, 107, 107	107	0
ほうれんそう	91, 90, 86	89	3
オレンジ	98, 97, 95	97	2
りんご	96, 94, 90	93	3
いちご	89, 86, 86	87	2
ぶどう	97, 97, 96	97	1
綿実	85, 79, 77	80	5
茶	87, 87, 86	87	1

添加濃度：0.1 mg/kg

表8. イマザモックス回収率の算出結果

	回収率(%)	真度(%)	併行精度(RSD%)
玄米	96, 95, 95	95	1
大豆	88, 88, 87	88	1
ばれいしょ	94, 94, 93	94	1
大根・根	113, 111, 106	110	3
大根・葉	86, 84, 82	84	2
キャベツ	105, 105, 103	104	1
ネギ	77, 77, 75	76	2
トマト	107, 106, 104	106	1
ほうれんそう	90, 89, 86	88	2
オレンジ	98, 98, 96	97	1
りんご	95, 94, 90	93	3
いちご	87, 86, 85	86	1
ぶどう	95, 94, 94	94	1
綿実	86, 76, 76	79	7
茶	94, 92, 91	92	2

添加濃度：0.1 mg/kg

表9. イマゼタピル回収率の算出結果

	回収率(%)	真度(%)	併行精度(RSD%)
玄米	96, 94, 94	95	1
大豆	87, 87, 86	87	1
ばれいしょ	89, 88, 86	88	2
大根・根	110, 108, 105	108	2
大根・葉	88, 84, 83	85	3
キャベツ	105, 104, 103	104	1
ネギ	94, 93, 93	93	1
トマト	106, 105, 105	105	1
ほうれんそう	93, 91, 87	90	3
オレンジ	97, 96, 95	96	1
りんご	93, 92, 88	91	3
いちご	90, 88, 86	88	2
ぶどう	95, 95, 93	94	1
綿実	82, 75, 74	77	6
茶	89, 89, 88	89	1

添加濃度：0.1 mg/kg

3-2. 0.01 mg/kg又は0.008 mg/kg添加での確認

試験法の一律基準相当濃度での妥当性を確認する為、ネギ、玄米及び茶を試料に用いて、前述の実験方法に従い分析し、LC-MS で測定してそれぞれの場合の真度、精度及び定量限界を確認した。結果を表 10 に示し、添加回収実験における回収率 100%相当の標準溶液、各食品のブランク試料及び添加試料の代表的なクロマトグラムを各分析対象成分別に図 4 に示す。イマザピックを 0.01 mg/kg 添加した各試料における平均回収率は 97.4～105.5%の範囲、併行精度は 3.8%以下で良好であった。イマザピルを 0.01 mg/kg 添加した各試料における平均回収率は 87.5～99.6%の範囲、併行精度は 9.1%以下で良好であった。イマザモックスを 0.008 mg/kg (アンモニウム塩に換算して 0.009 mg/kg 相当) 添加した各試料における平均回収率は 101.1～107.6%の範囲、併行精度は 2.2%以下で良好であった。イマゼタピルを 0.008 mg/kg (アンモニウム塩に換算して 0.009 mg/kg 相当) 添加した各試料における平均回収率は 90.5～101.8%の範囲、併行精度は 3.0%以下で良好であった。なお、ネギにおけるイマザモックスの測定では夾雑物のピークが認められたが、先に示した 0.1 mg/kg 添加での検討の際と異なり、分析対象成分のピークに比べて十分に小さく、測定には影響を及ぼさないと判断された。これら定量限界相当添加試料における S/N 比の平均値は各場合において目標値の 10 以上であった。又、以上の検液を LC-MS/MS で測定した場合の真度及び精度の算出結果を表 11 に示した。概ね LC-MS で測定した場合と同様の結果が得られ、問題は認められなかった(代表的なクロマトグラムを図 5 に示した)。

表10. 真度、精度及び定量限界の評価(LC-MSによるネギ、玄米及び茶の評価)

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (mg/kg)	基準値 ¹⁾ (ppm)	添加濃度 (ppm)	定量限界 の評価 ²⁾	検量線		回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	S/N比 ³⁾			備考	
							傾き	切片	r ² 値	n=1	n=2	n=3	n=4			n=5	Max.	Min.		平均値
1	イマザピック	ネギ	0.01	0.01	0.01		5957970	205	1.0000	99.3	95.7	97.9	95.1	99.2	97.4	2.0	27.5	30.0	28.8	
2	イマザピック	玄米	0.01	0.01	0.01		5957970	205	1.0000	101.1	100.1	98.1	99.1	100.1	99.7	1.1	69.5	88.1	78.8	
3	イマザピック	茶	0.01	0.01	0.01		5934601	-3086	0.9999	104.5	108.3	110.8	102.2	101.6	105.5	3.8	31.6	39.3	35.5	
4	イマザピル	ネギ	0.01	0.01	0.01		4851649	-941	0.9999	85.0	90.7	91.7	81.8	88.1	87.5	4.7	11.0	12.0	11.5	
5	イマザピル	玄米	0.01	0.01	0.01		4851649	-941	0.9999	100.6	104.3	99.6	97.2	96.2	98.6	3.2	30.9	31.1	31.0	
6	イマザピル	茶	0.01	0.01	0.01		4784367	-2994	0.9999	110.7	93.4	104.8	94.8	88.8	98.5	9.1	12.6	18.6	15.6	
7	イマザモックス	ネギ	0.008	0.008	0.008		5499273	136	0.9999	105.9	102.4	104.9	107.3	107.4	105.6	1.9	14.0	14.7	14.4	
8	イマザモックス	玄米	0.008	0.008	0.008		5499273	136	0.9999	100.6	100.3	101.6	103.1	99.8	101.1	1.3	57.5	57.5	57.5	
9	イマザモックス	茶	0.008	0.008	0.008		5509279	-1757	0.9999	107.2	109.3	110.4	106.6	104.3	107.6	2.2	13.1	16.0	14.6	
10	イマゼタピル	ネギ	0.008	0.008	0.008		7610463	-646	1.0000	100.6	99.3	101.7	102.7	103.8	101.6	1.7	50.4	70.0	60.2	
11	イマゼタピル	玄米	0.008	0.008	0.008		7610463	-646	1.0000	103.1	102.4	102.1	99.9	101.3	101.8	1.2	65.0	66.0	65.5	
12	イマゼタピル	茶	0.008	0.008	0.008		7533732	-1733	1.0000	93.0	90.0	93.6	87.9	87.8	90.5	3.0	10.8	13.1	12.0	

¹⁾ イマザモックス及びイマゼタピルはアンモニウム塩として各0.01 ppm。基準値は、基準値未設定の場合には一律基準(0.01 ppm)を用いる。
²⁾ 添加濃度が定量限界濃度と異なる場合には、『*』が表示される。その場合には、S/N比の算出は不要であるが、別途、定量限界の推定を行う。
³⁾ 得られた回収率の中で最大値を与えるピーク(Max.)及び最小値を与えるピーク(Min.)のそれぞれのS/N比を求める。

表11. 真度、精度及び定量限界の評価(LC-MS/MSによるネギ、玄米及び茶の評価)

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (mg/kg)	基準値 ¹⁾ (ppm)	添加濃度 (ppm)	定量限界 の評価 ²⁾	検量線		回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	S/N比 ³⁾			備考	
							傾き	切片	r ² 値	n=1	n=2	n=3	n=4			n=5	Max.	Min.		平均値
1	イマザピック	ネギ	0.01	0.01	0.01		413925	36	0.9999	97.6	92.4	96.0	95.0	93.2	94.8	2.2	37.3	47.5	42.4	
2	イマザピック	玄米	0.01	0.01	0.01		413925	36	0.9999	99.8	103.8	102.4	99.6	91.4	99.4	4.8	35.0	47.7	41.4	
3	イマザピック	茶	0.01	0.01	0.01		413925	36	0.9999	96.9	100.2	104.3	107.0	107.0	103.1	4.3	43.7	47.7	45.7	
4	イマザピル	ネギ	0.01	0.01	0.01		350676	0	0.9999	98.0	117.0	112.9	98.6	119.6	109.2	9.4	20.2	27.3	23.8	
5	イマザピル	玄米	0.01	0.01	0.01		350676	0	0.9999	104.1	100.6	99.7	98.4	101.4	100.8	2.1	35.0	35.0	35.0	
6	イマザピル	茶	0.01	0.01	0.01		350676	0	0.9999	115.8	95.2	100.4	94.1	100.5	101.2	8.6	30.7	32.6	31.7	
7	イマザモックス	ネギ	0.008	0.008	0.008		371026	44	1.0000	97.6	93.3	93.0	92.7	88.6	93.0	3.4	29.2	30.7	30.0	
8	イマザモックス	玄米	0.008	0.008	0.008		371026	44	1.0000	99.4	94.3	89.0	105.2	105.9	98.8	7.3	40.5	43.5	42.0	
9	イマザモックス	茶	0.008	0.008	0.008		371026	44	1.0000	95.3	95.6	100.6	105.5	101.2	99.6	4.3	37.5	37.5	37.5	
10	イマゼタピル	ネギ	0.008	0.008	0.008		477355	178	0.9998	94.2	102.6	98.3	98.0	87.4	96.1	5.9	57.5	57.8	57.7	
11	イマゼタピル	玄米	0.008	0.008	0.008		477355	178	0.9998	99.8	104.5	91.6	96.6	99.9	98.1	4.8	47.5	57.5	52.5	
12	イマゼタピル	茶	0.008	0.008	0.008		477355	178	0.9998	98.3	93.7	93.1	96.7	103.6	97.1	4.4	47.5	57.5	52.5	

¹⁾ イマザモックス及びイマゼタピルはアンモニウム塩として各0.01 ppm。基準値は、基準値未設定の場合には一律基準(0.01 ppm)を用いる。
²⁾ 添加濃度が定量限界濃度と異なる場合には、『*』が表示される。その場合には、S/N比の算出は不要であるが、別途、定量限界の推定を行う。
³⁾ 得られた回収率の中で最大値を与えるピーク(Max.)及び最小値を与えるピーク(Min.)のそれぞれのS/N比を求める。

4. 選択性

玄米、大豆、ばれいしょ、大根・根、大根・葉、キャベツ、ネギ、トマト、ほうれんそう、オレンジ、りんご、いちご、ぶどう、棉実及び茶の計15食品のブランク試料及び定量限界相当量 0.005 ngの標準品のクロマトグラムを各分析対象成分別に図3-1～3-4)に示す。イマザピックについては、綿実で若干の妨害ピーク(定量限界の1/3未満)が確認されたが、全試料で問題は認められなかった。イマザピルについては、茶で若干の妨害ピーク(定量限界の1/3未満)が確認されたが、全試料で問題は認められなかった。イマザモックスについては、ネギで定量限界の2～3倍に相当する妨害ピークが認められたが、その他試料で問題は認められなかった。イマゼタピルのブランク試料のクロマトグラムについては、いずれの試料においても良好であった。全体として、イマザモックスのネギ試料での妨害ピークを除き、選択性に問題は認められなかった。

0.01 mg/kg又は0.008 mg/kg添加での回収率を求める際に、ネギ、玄米及び茶について再度ブランク試料の測定を行った。LC-MS及びLC-MS/MSで測定した各クロマトグラムを、それぞれ図 4及び図 5)に示す。いずれの測定装置を用いた場合も、各試料におけるイマザピック、イマザピル、イマザモックス及びイマゼタピルの測定に影響を及ぼす妨害ピークは認められず、選択性に問題は認められなかった。

5. 試料マトリックスの測定への影響

試料マトリックスの測定への影響について検討した結果を表 12)に示す。実試料濃度として 0.1 mg/kg 相当濃度になるように調製した 15 種検討対象作物の LC-MS 測定における各マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積比を求めた(表 12-1)。それらの面積比はイマザ

ピークについて0.99～1.08の範囲、イマザピルについて0.96～1.06の範囲、イマザモックスについて0.81～1.07の範囲、イマゼタピルについて0.99～1.04の範囲であった。ネギ試料におけるイマザモックスでの比率が10%を上回った事例を除き、イオン化阻害又はイオン化促進の影響は認められなかった。又、実試料濃度として0.01 mg/kg(イマザピック及びイマザピルの場合)又は0.008 mg/kg(イマザモックス及びイマゼタピルの場合)相当濃度になるように調製した玄米、ネギ及び茶のLC-MS測定における各マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積比を求めた(表12-2)。それらの面積比はイマザピックについて1.01～1.03の範囲、イマザピルについて0.90～0.97の範囲、イマザモックスについて0.90～0.98の範囲、イマゼタピルについて0.99～1.04の範囲であった。0.1 mg/kg相当濃度の場合とやや異なるが、顕著な試料マトリックスの影響は認められなかった。

表 12. 試料マトリックスの測定への影響

表 12-1. 0.1 mg/kg 相当での検証

(%)	イマザピック	イマザピル	イマザモックス	イマゼタピル
玄米	1.05	1.06	1.06	1.03
大豆	1.04	0.96	1.05	1.03
ばれいしょ	1.02	1.01	1.01	1.00
大根・根	1.02	1.04	1.03	1.03
大根・葉	1.02	1.03	1.02	1.02
キャベツ	1.03	1.04	1.02	1.02
ネギ	1.08	1.05	0.81	1.04
トマト	1.02	1.02	1.04	1.02
ほうれんそう	1.03	1.02	1.03	1.02
オレンジ	1.02	0.99	1.03	1.02
りんご	1.02	1.01	1.02	0.99
いちご	0.99	1.00	1.02	1.00
ぶどう	1.00	1.01	1.03	1.01
綿実	1.02	1.06	1.05	1.02
茶	1.04	1.03	1.07	1.02

マトリックス調製標準溶液のピーク面積／溶媒調製標準溶液のピーク面積

表 12-2. 0.01 mg/kg(又は0.008 mg/kg)相当での検証

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (mg/kg)	基準値 ¹⁾ (ppm)	添加濃度 (ppm)	標準溶液 濃度 ²⁾ (mg/L)	面積又は 高さの別	ブランク ⁴⁾	ピーク面積(高さ) ³⁾					備考		
									マトリックス添加標準溶液 ⁵⁾			溶媒標準溶液			ピーク面積 (高さ)比 ⁶⁾	
						n=1			n=2		平均					
1	イマザピック	ネギ	0.01	0.01	0.01	0.001	面積	0	18400	18106	18253.2	17616	17773	17694.2	1.03	
2	イマザピック	玄米	0.01	0.01	0.01	0.001	面積	0	17804	17363	17583.1	17773	16876	17324.3	1.01	
3	イマザピック	茶	0.01	0.01	0.01	0.001	面積	0	16952	16750	16850.9	16876	16230	16552.9	1.02	
4	イマザピル	ネギ	0.01	0.01	0.01	0.001	面積	0	12295	11434	11864.5	13316	13178	13247.1	0.90	
5	イマザピル	玄米	0.01	0.01	0.01	0.001	面積	0	12795	12481	12637.7	13178	12993	13085.7	0.97	
6	イマザピル	茶	0.01	0.01	0.01	0.001	面積	0	12793	12257	12524.7	12993	12936	12964.6	0.97	
7	イマザモックス	ネギ	0.008	0.008	0.008	0.0008	面積	0	10821	10624	10722.3	11806	12078	11942.2	0.90	
8	イマザモックス	玄米	0.008	0.008	0.008	0.0008	面積	0	11991	11618	11804.5	12078	12085	12081.9	0.98	
9	イマザモックス	茶	0.008	0.008	0.008	0.0008	面積	0	11799	11147	11472.6	12085	11386	11735.5	0.98	
10	イマゼタピル	ネギ	0.008	0.008	0.008	0.0008	面積	0	15928	16129	16028.5	15971	16508	16239.7	0.99	
11	イマゼタピル	玄米	0.008	0.008	0.008	0.0008	面積	0	17158	16454	16806.2	16508	15948	16228.1	1.04	
12	イマゼタピル	茶	0.008	0.008	0.008	0.0008	面積	0	16520	15911	16215.5	15948	16258	16103.0	1.01	

¹⁾ イマザモックス及びイマゼタピルはアンモニウム塩として各0.01 ppm。基準値は、基準値未設定の場合には一律基準(0.01 ppm)を用いる。
²⁾ 添加回収試験における回収率100%相当濃度になるように、ブランク試料の試験溶液で調製した標準溶液(マトリックス添加標準溶液)及び溶媒で調製した標準溶液(溶媒標準溶液)を作成する。
³⁾ マトリックス添加標準溶液及び溶媒標準溶液の順に交互に2回以上測定した結果から評価する。(必要に応じて起爆注入を行う。)
⁴⁾ ブランクにピークが認められた場合には、マトリックス添加標準溶液の値はブランク値を差し引いた値を用いる。
⁵⁾ マトリックス添加標準溶液は試験当日のブランク試料の試験溶液を用いて調製する。
⁶⁾ マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積(又は高さ)の比を求める。

【考察】

イマザピックアンモニウム塩等4農薬の試験法を検討するに当たり、現行試験法であるイマザモックスアンモニウム塩試験法で分析可能かどうか検討を行った。その結果、連結カラム(CHミニカラム+NH₂ミニカラム)では、試料によってはメタノール洗浄画分に4農薬とも一部が溶出する現象が確認された。又、酢酸亜鉛処理では、ろ過が困難となる現象が認められた。このため、問題の認められた精製操作等については可能な限り除外するとともに、高感度測定が可能なLC-MS法を採用することにより、供試試料量の縮小と精製操作の短縮に耐え得る試験法の作成を試みた。

基本的には、現行試験法を参考に、抽出及び一部の精製法(C18ミニカラム精製、SCXミニカラム精製:これらは連結で使用する方法に変更)については同試験法に準拠し、問題の認められた連結カラム(CH+NH₂)による精製法については省略することにした。酢酸亜鉛処理については、供試試料量の縮小により省略することが可能であった。又、SCXミニカラム精製の溶出溶媒に含まれる塩化カリウムについては、これを除去するための精製操作が必要であることから、当該操作の不要なアンモニア水に変更した。

各種検討ならびに添加回収試験等により、本試験法が15品目の農作物に適応できることを確認した。

【留意事項】

当該試験法の開発当初は、イマザピックアンモニウム塩はイマザピックとイマザピックアンモニウム塩を規制対象としていたが、薬食審部会審議の結果、イマザピックとして告示、規制対象もイマザピックとすることが適当と判断されたため、提案した試験法では、イマザピックアンモニウム塩についてはイマザピックに修正した。

【結論】

イマザピック等4農薬(イマザピック、イマザピル、イマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩)の試験法について検討した。試験法として、0.02 mol/L塩酸及びメタノール混液で抽出し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラムの連結カラムで精製した後、LC-MS又はLC-MS/MSで測定及び確認する方法を提案する。

15作物に適応した場合の平均回収率(真度)は、イマザピック 75~105%、イマザピル 78~110%、イマザモックス 76~110%、イマゼタピル 77~108%であり、それらの併行精度は、イマザピック 0~7%、イマザピル 0~5%、イマザモックス 1~7%、イマゼタピル 1~6%であった。定量限界は、イマザピック、イマザピル、イマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩として各 0.01 mg/kgが可能であった。

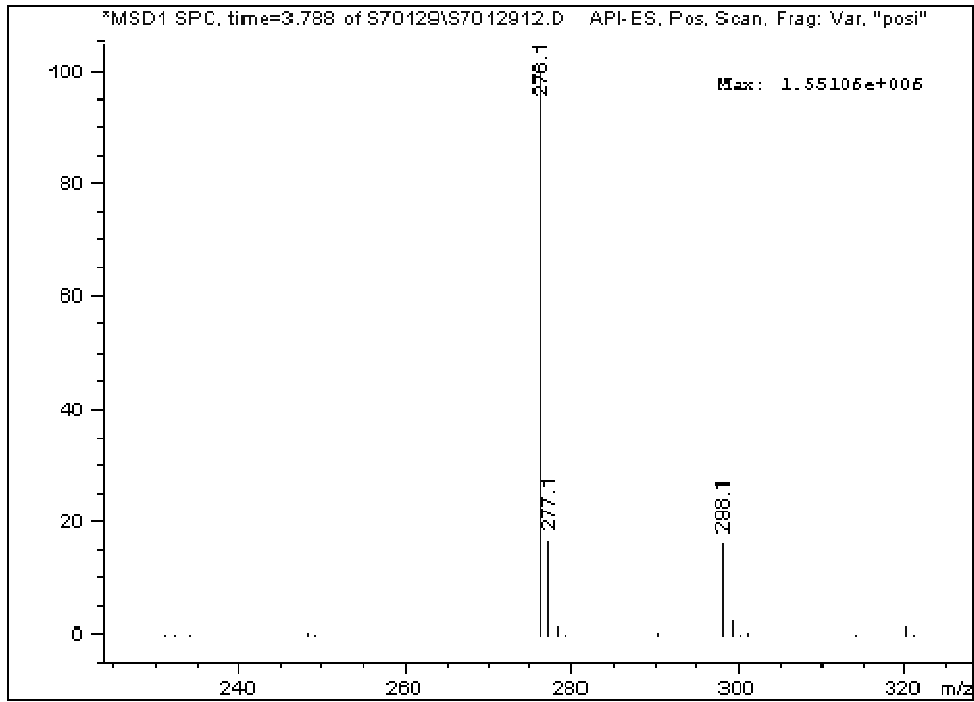
12. 文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第0124001号「イマザモックスアンモニウム塩試験法(農産物)」(平成17年1月24日)

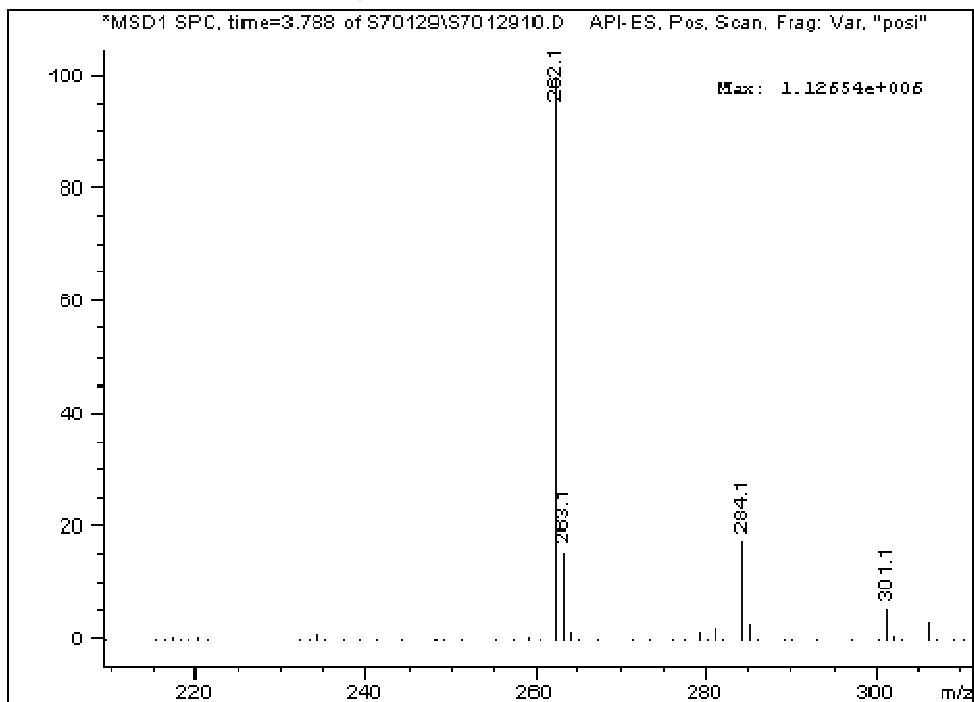
図 1. マスペクトル

図 1-1. LC-MS

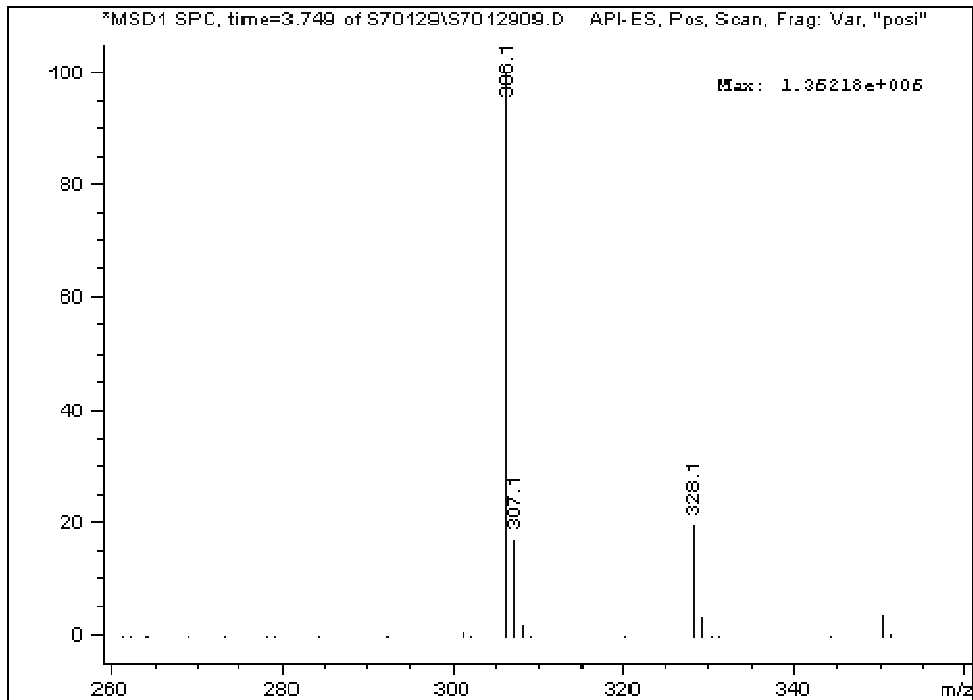
イマザピック ($m/z=276.1$, 10 mg/L メタノール溶液)



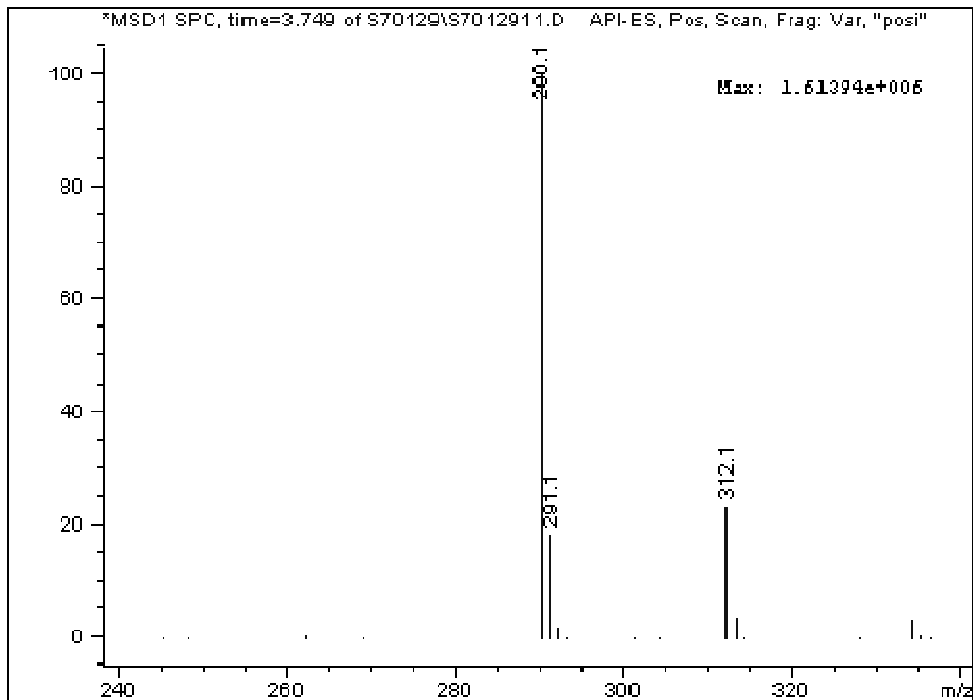
イマザピル ($m/z=262.1$, 10 mg/L メタノール溶液)



イマザモックス ($m/z=306.1$ 、10 mg/L メタノール溶液)



イマゼタピル ($m/z=290.1$ 、10 mg/L メタノール溶液)



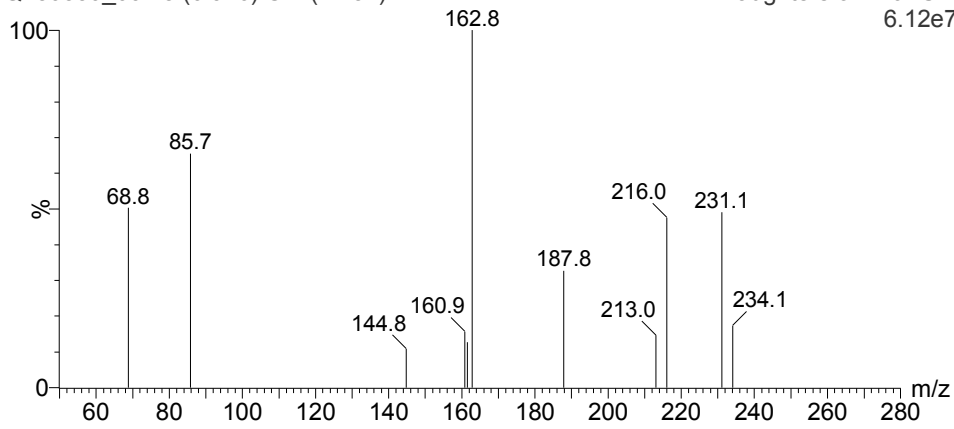
[操作条件] 測定装置: G1946D 四重極型質量分析計、1100 高速液体クロマトグラフ (Agilent Technologies 社)
移動相: 0.1 vol%酢酸及び0.1 vol%酢酸・メタノール(4:1, v/v) 混液、フローインジェクション
流速: 0.2mL/min、注入量: 5 μ L、イオン化モード: ESI(+)、イオン導入電圧: 3000V、
フラグメンター電圧: 150V、乾燥ガス流量: 12 L/min(窒素)、乾燥ガス温度: 350 $^{\circ}$ C、ネブライザー圧力: 50 psi、
Scan 走査範囲: m/z 150~450

図 1-2. LC-MS/MS (プロダクトスキンスペクトル)

イマザピック (プリカーサーイオン $m/z=276.3$, 4 mg/L メタノール溶液)

Q150330_09 45 (0.926) Cm (42:52)

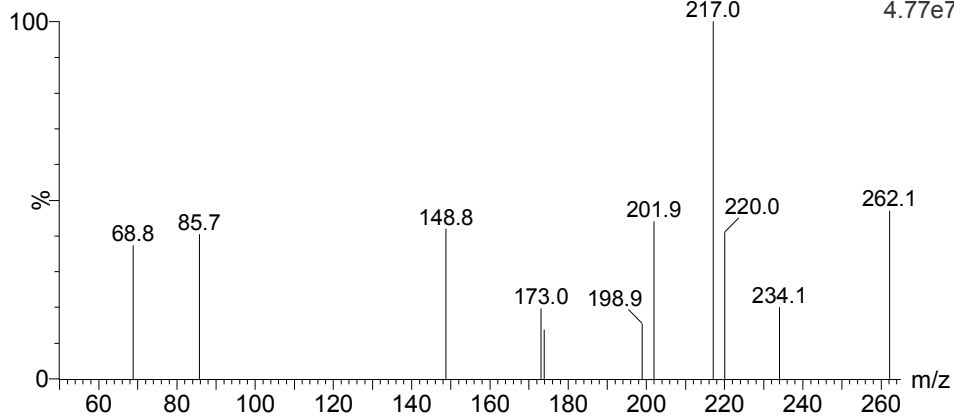
2: Daughters of 276ES+
6.12e7



イマザピル (プリカーサーイオン $m/z=262.1$, 4 mg/L メタノール溶液)

Q150330_10 51 (1.041) Cm (47:59)

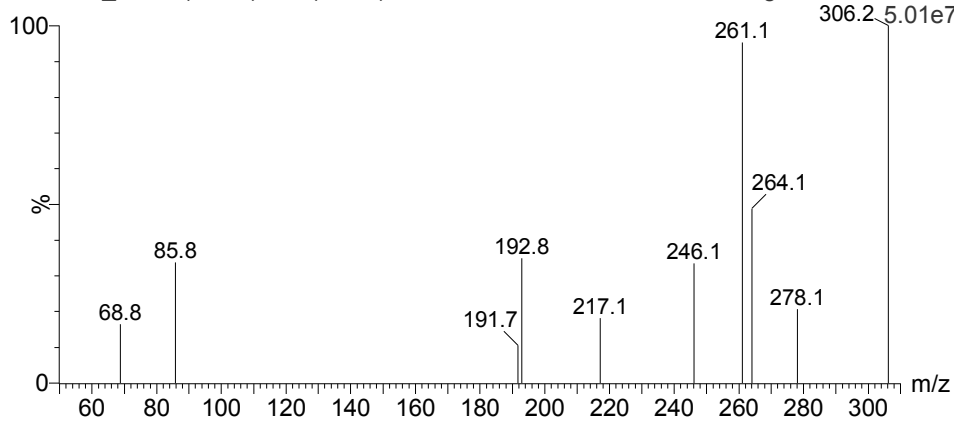
3: Daughters of 262ES+
4.77e7



イマザモックス (プリカーサーイオン $m/z=306.3$, 4 mg/L メタノール溶液)

Q150330_11 52 (1.060) Cm (47:60)

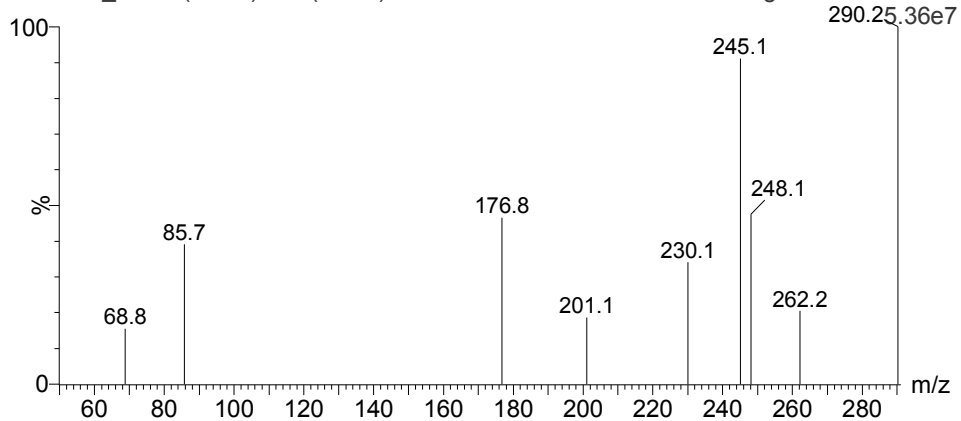
3: Daughters of 306ES+
5.01e7



イマゼタピル (プリカーサーイオン $m/z=290.3$ 、4 mg/L メタノール溶液)

Q150330_12 46 (0.948) Cm (43:54)

3: Daughters of 290ES+



[操作条件] 測定装置: Quattro premier XEトリプル四重極型質量分析計 (Waters 社)、

ACQUITY UPLC 高速液体クロマトグラフ (Waters 社)

移動相: 0.1 vol%酢酸及び0.1 vol%酢酸・メタノール(1:1, v/v) 混液、フローインジェクション

流速: 0.2mL/min、注入量: 10 μ L、イオン化モード: ESI(+)、イオン導入電圧: 3500V、

コーン電圧: 30V、コリジョン電圧: 20V、乾燥ガス流量: 800 L/h(窒素)、乾燥ガス温度: 350 $^{\circ}$ C、コーンガス流

量: 50 L/h、Scan 走査範囲: m/z 50~各成分プリカーサーイオン以上まで

図 2. 検量線の一例

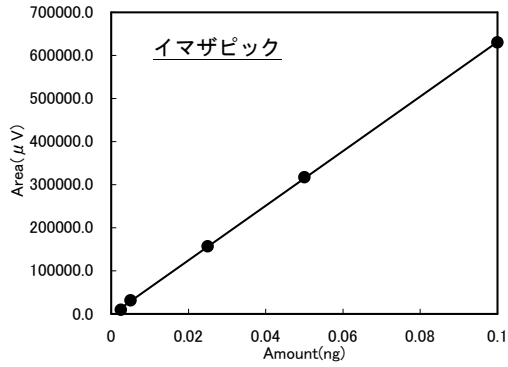
図 2-1. 0.1 mg/kg 添加回収率算出時

検量線 (07/3/30)

imazapic

$$Y = -2308.965864 + 6339296.196607 X$$

$$r = 0.999943$$

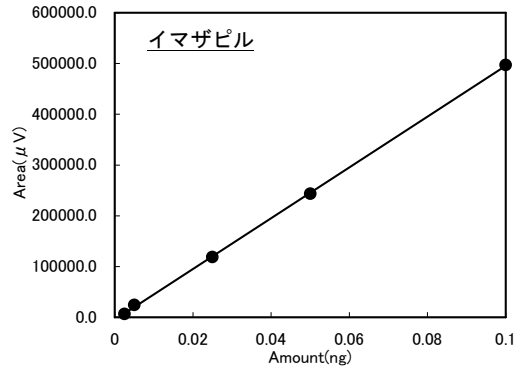


検量線 (07/3/30)

imazapyr

$$Y = -4679.776984 + 5003829.573795 X$$

$$r = 0.999926$$

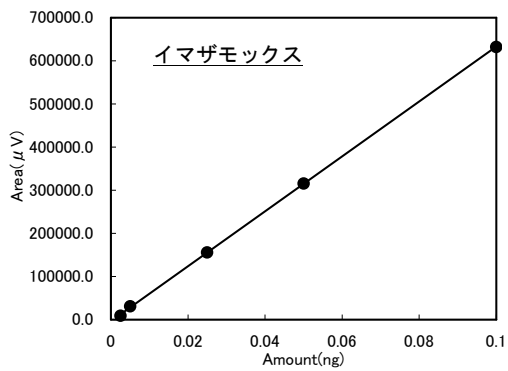


検量線 (07/3/30)

imazamox

$$Y = -3565.334485 + 6364104.536416 X$$

$$r = 0.999963$$



検量線 (07/3/30)

imazethapyr

$$Y = -6724.576905 + 8472984.572748 X$$

$$r = 0.999958$$

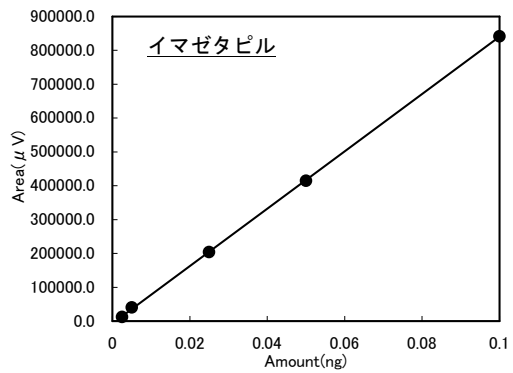
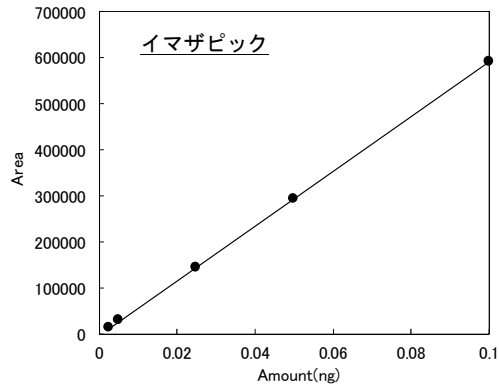


図 2-2. 0.01 mg/kg 又は 0.008 mg/kg 添加回収率算出時

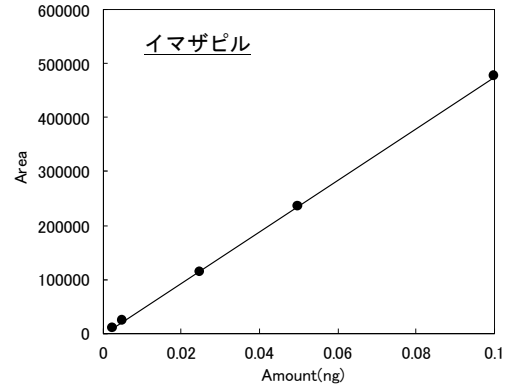
検量線(2015/4/10)

imazapic
 $y = 5934600.824 x - 3086.410065$
 $r = 0.99997256$



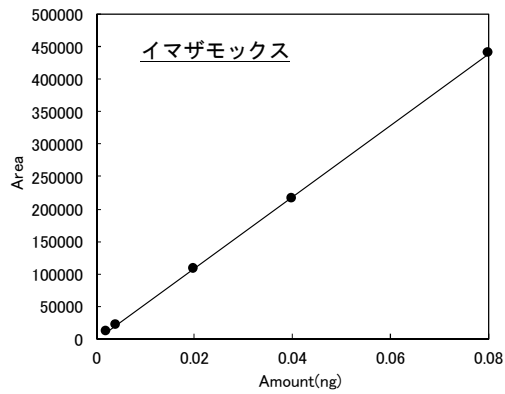
検量線(2015/4/10)

imazapyr
 $y = 4784366.69 x - 2863.604176$
 $r = 0.999937962$



検量線(2015/4/10)

imazamox
 $y = 5509279.446 x - 1756.959815$
 $r = 0.999960699$



検量線(2015/4/10)

imazethapyr
 $y = 7533732.467 x - 1733008045$
 $r = 0.999983726$

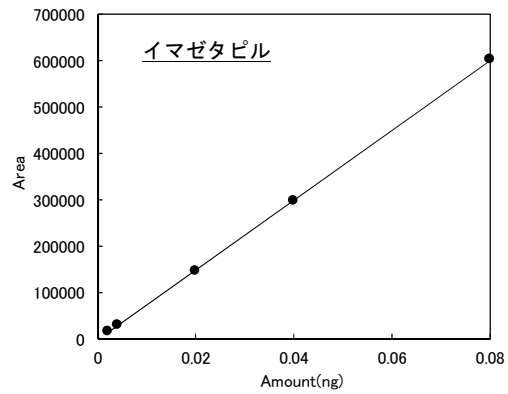
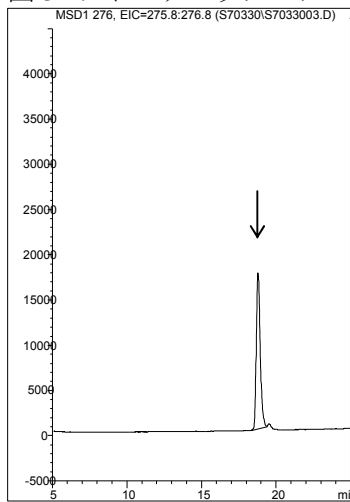
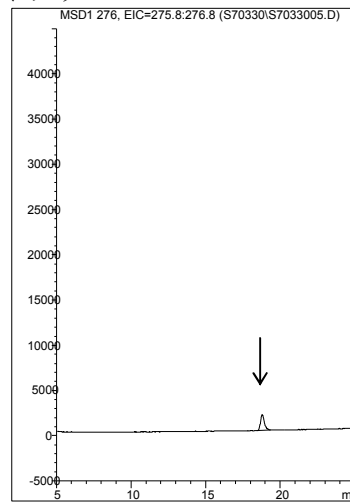


図 3. クロマトグラム

図 3-1. イマザピックのクロマトグラム

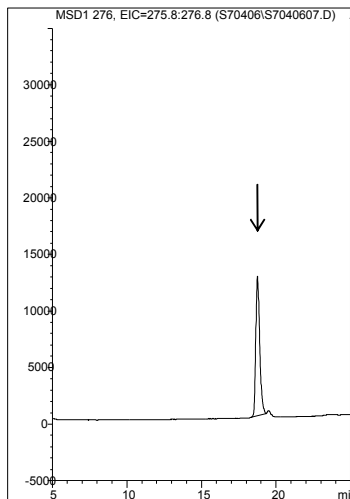


標準品 0.05 ng *

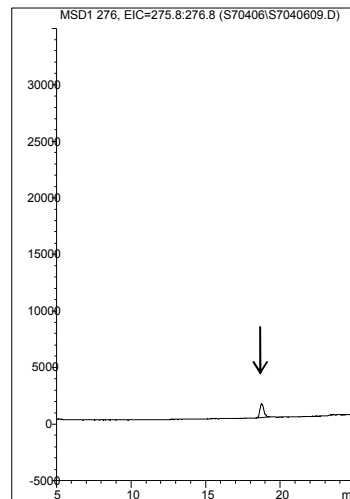


標準品 0.005 ng *

* 玄米、大豆、ばれいしょ、大根・葉、ネギ、ほうれんそう、
オレンジ、りんご、いちご、ぶどう、綿実及び茶試料測定時



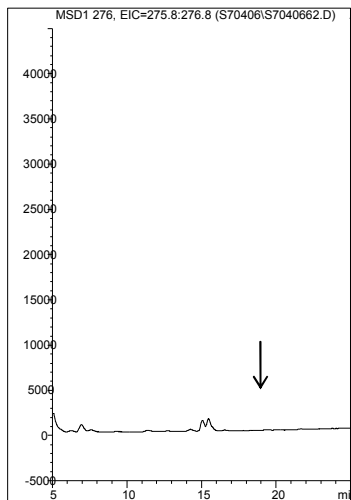
標準品 0.05 ng **



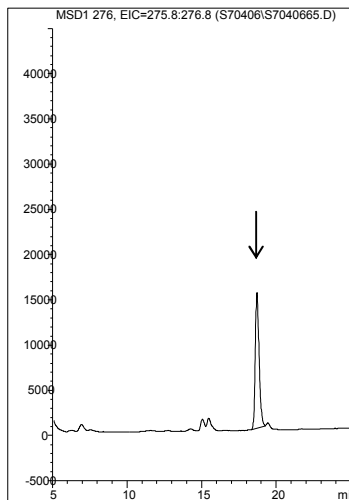
標準品 0.005 ng **

** 大根・根、キャベツ及びトマト試料測定時

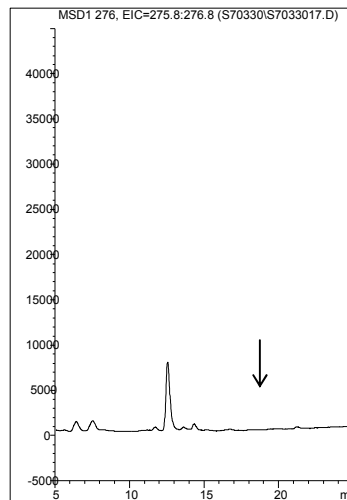
図 3-1. イマザピックのクロマトグラム (続き)



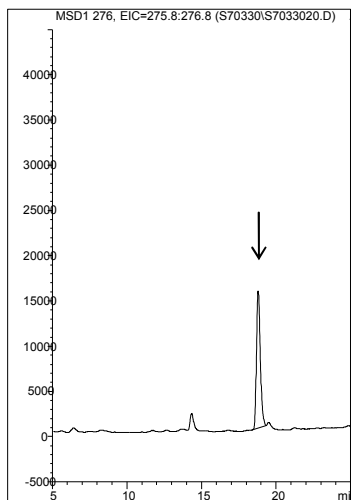
玄米 無添加 (5 μ L/10 mL/1 g)



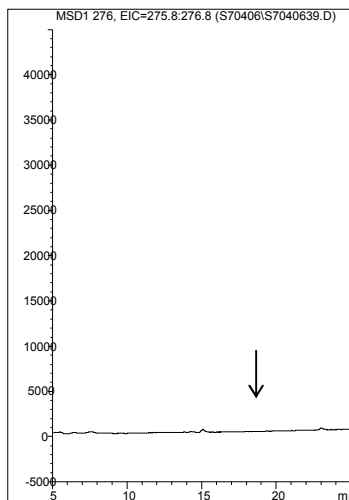
玄米 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/10 mL/1 g)



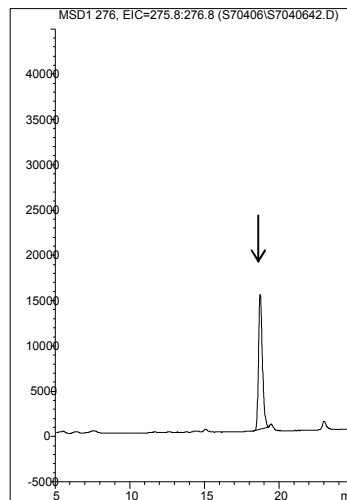
大豆 無添加 (5 μ L/10 mL/1 g)



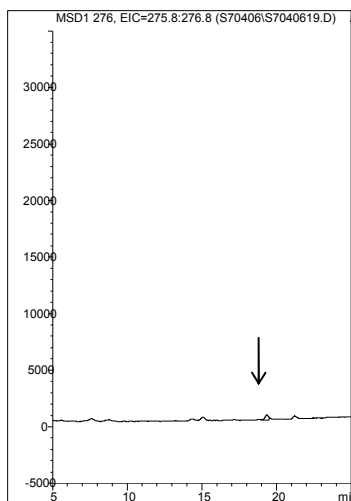
大豆 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/10 mL/1 g)



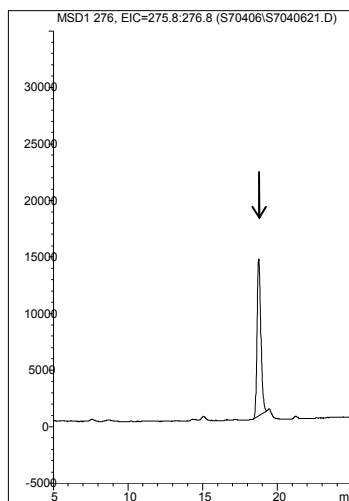
ばれいしょ 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



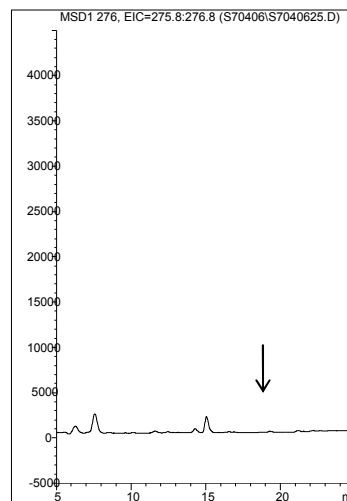
ばれいしょ 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



大根・根 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

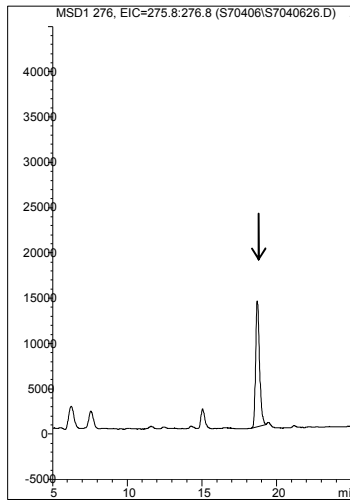


大根・根 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

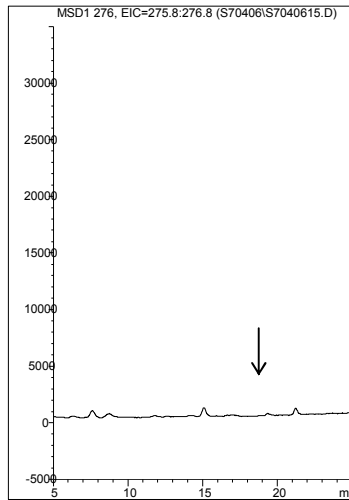


大根・葉 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

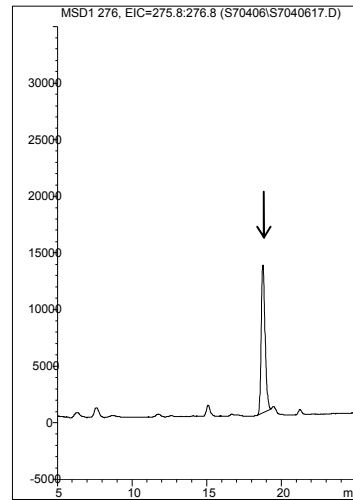
図 3-1. イマザピックのクロマトグラム (続き)



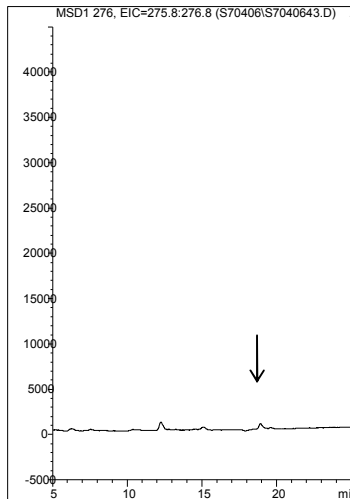
大根・葉 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)



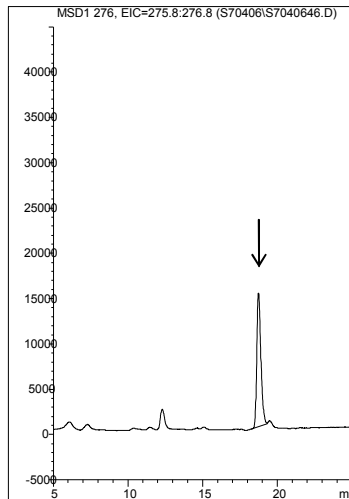
キャベツ 無添加
(5µL/20 mL/2 g)



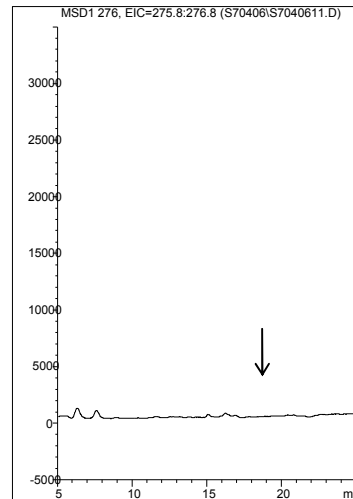
キャベツ 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)



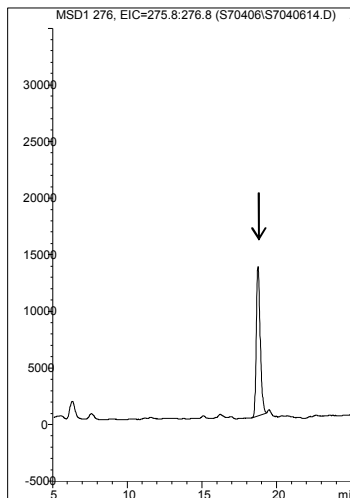
ネギ 無添加
(5µL/20 mL/2 g)



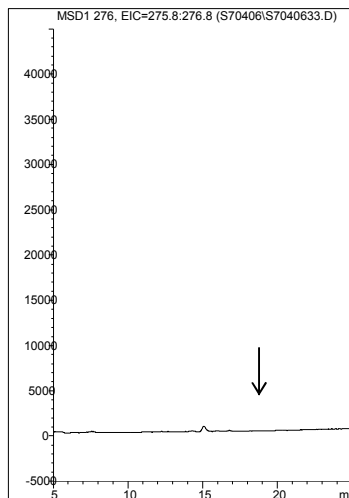
ネギ 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)



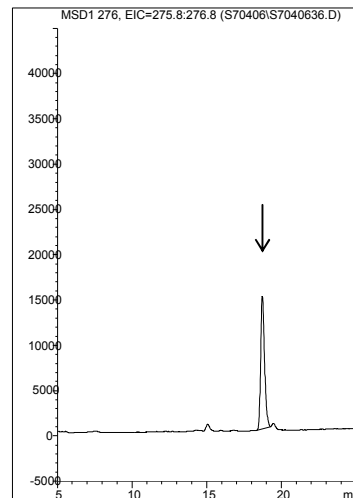
トマト 無添加
(5µL/20 mL/2 g)



トマト 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)

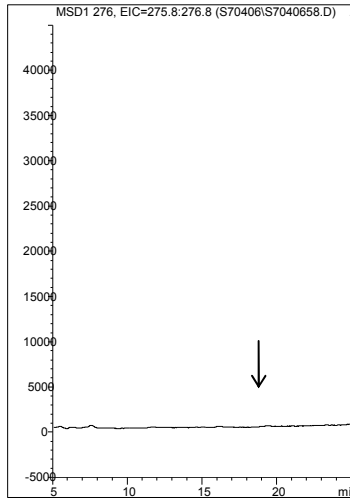


ほうれんそう 無添加
(5µL/20 mL/2 g)

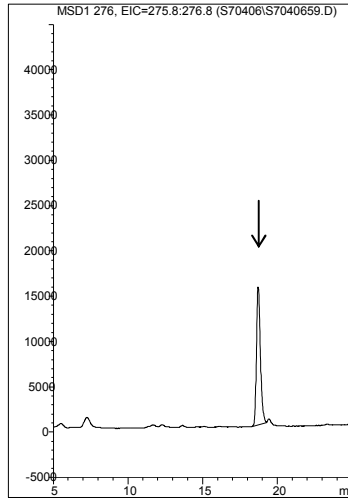


ほうれんそう 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)

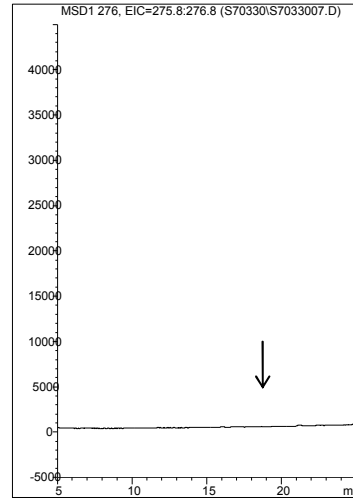
図 3-1. イマザピックのクロマトグラム (続き)



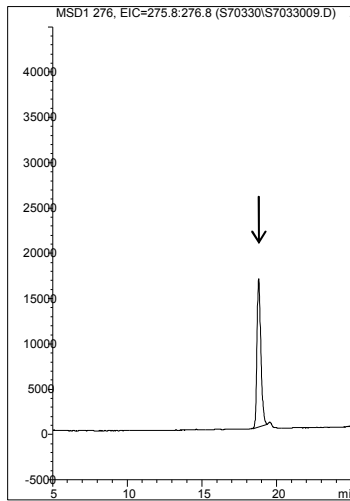
オレンジ 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



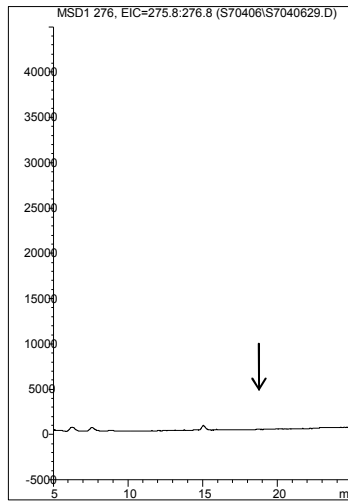
オレンジ 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



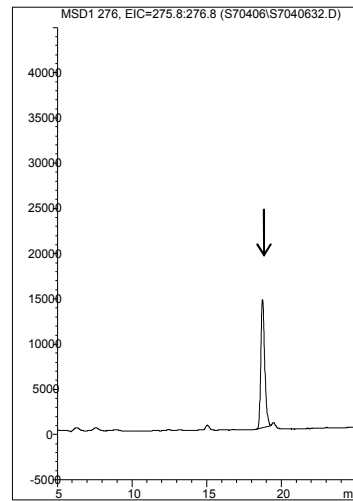
りんご 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



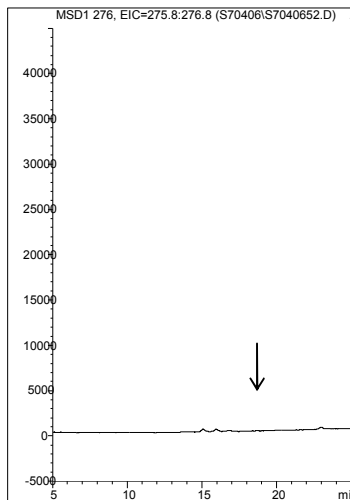
りんご 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



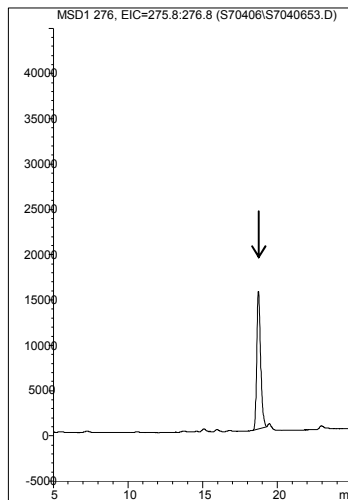
いちご 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



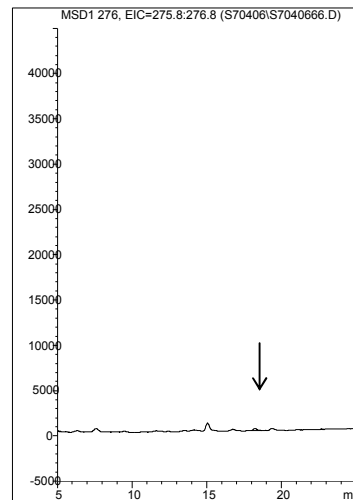
いちご 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



ぶどう 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

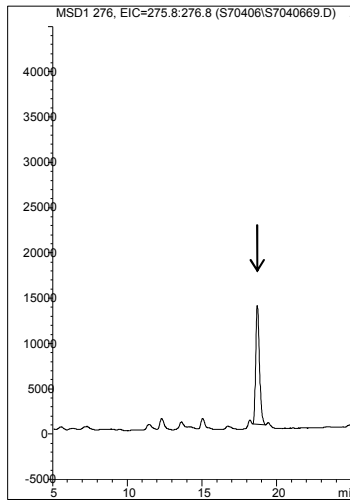


ぶどう 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

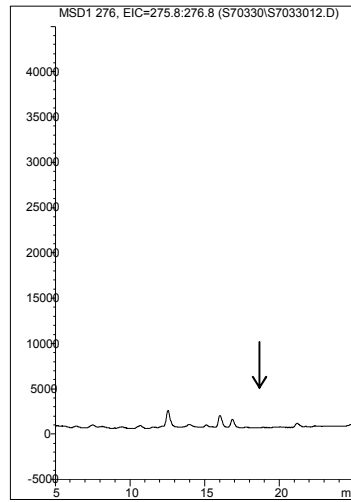


綿実 無添加
(5 μ L/10 mL/1 g)

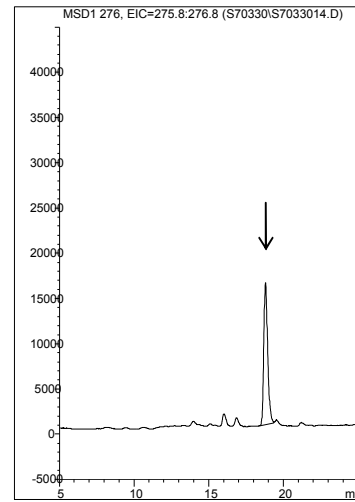
図 3-1. イマザピックのクロマトグラム (続き)



綿実 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/10 mL/1 g)

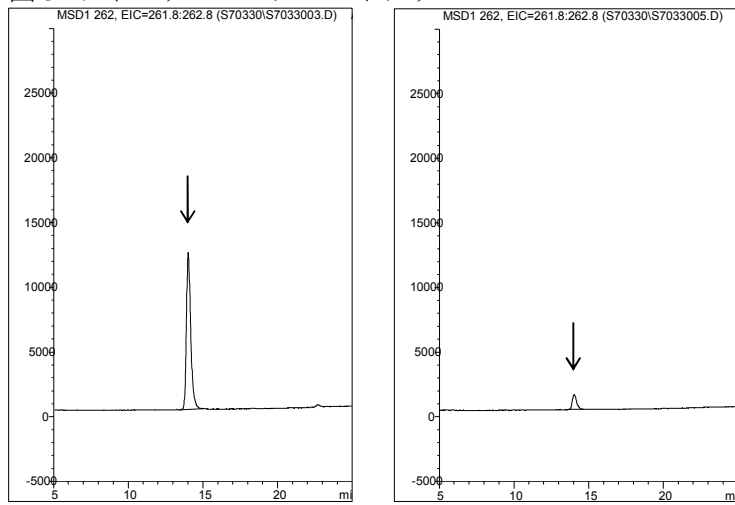


茶 無添加
(5 μ L/5 mL/0.5 g)



茶 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/5 mL/0.5 g)

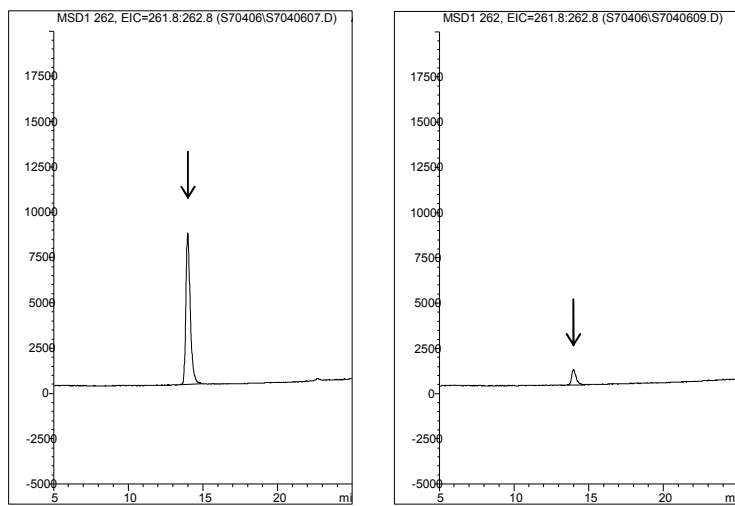
図 3-2. イマザピルのクロマトグラム



標準品 0.05 ng *

標準品 0.005 ng *

* 玄米、大豆、ばれいしょ、大根・葉、ネギ、ほうれんそう、
オレンジ、りんご、いちご、ぶどう、綿実及び茶試料測定時

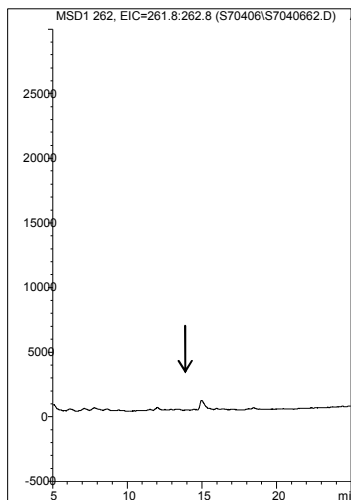


標準品 0.05 ng **

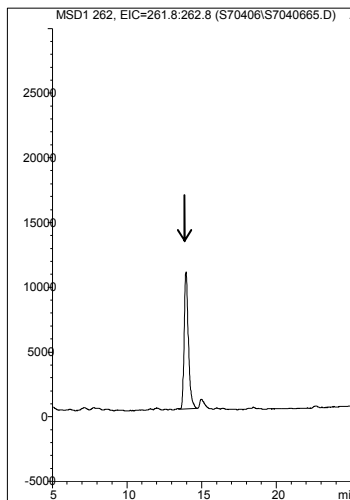
標準品 0.005 ng **

** 大根・根、キャベツ及びトマト試料測定時

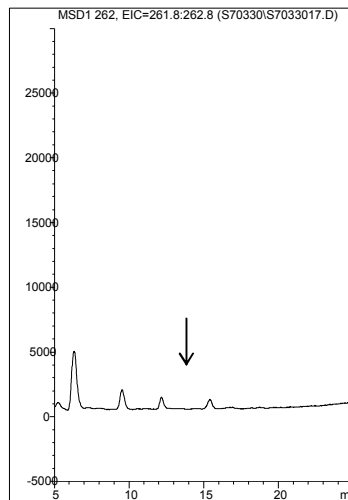
図 3-2. イマザピルのクロマトグラム (続き)



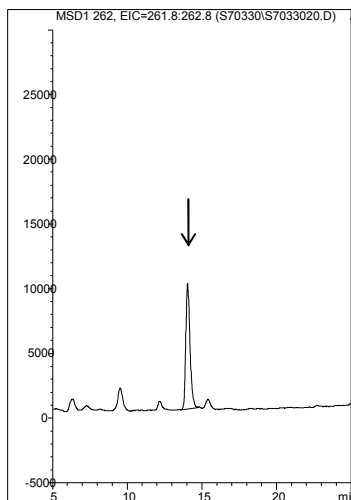
玄米 無添加 (5µL/10 mL/1 g)



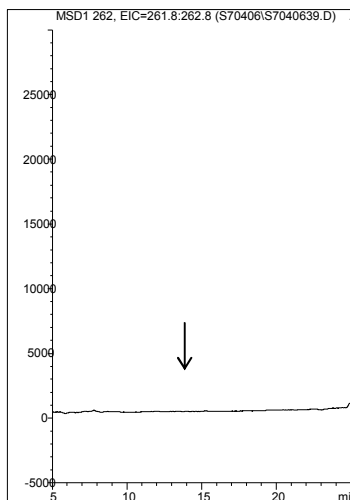
玄米 0.1 mg/kg 添加
(5µL/10 mL/1 g)



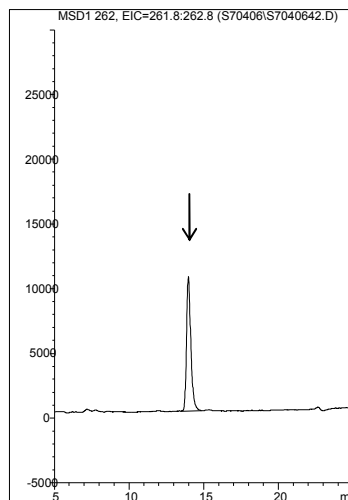
大豆 無添加 (5µL/10 mL/1 g)



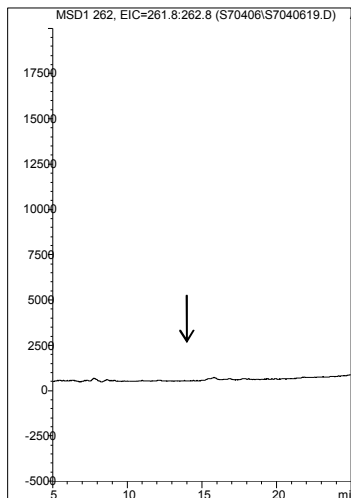
大豆 0.1 mg/kg 添加
(5µL/10 mL/1 g)



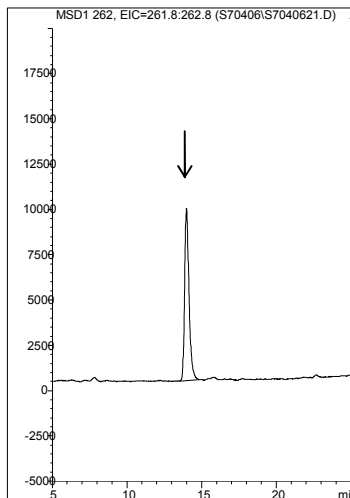
ばれいしょ 無添加
(5µL/20 mL/2 g)



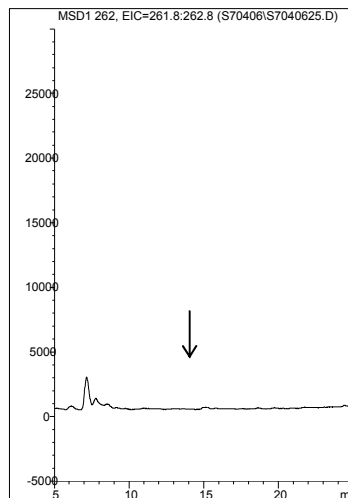
ばれいしょ 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)



大根・根 無添加
(5µL/20 mL/2 g)

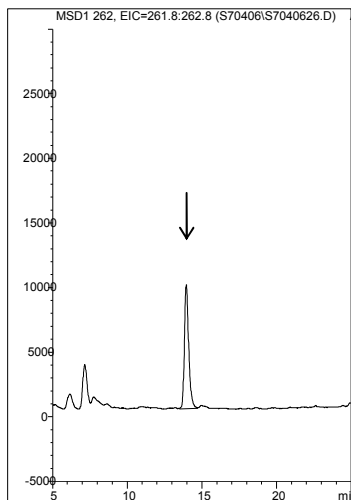


大根・根 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)

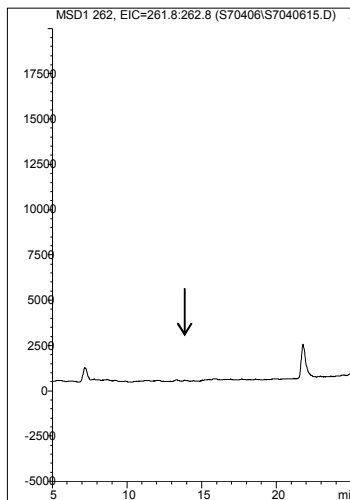


大根・葉 無添加
(5µL/20 mL/2 g)

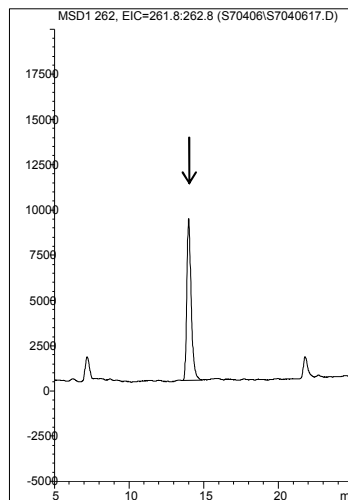
図 3-2. イマザピルのクロマトグラム (続き)



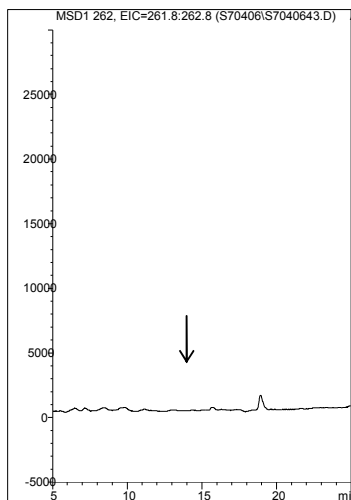
大根・葉 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)



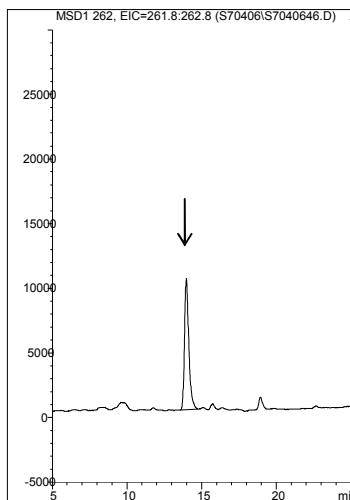
キャベツ 無添加
(5µL/20 mL/2 g)



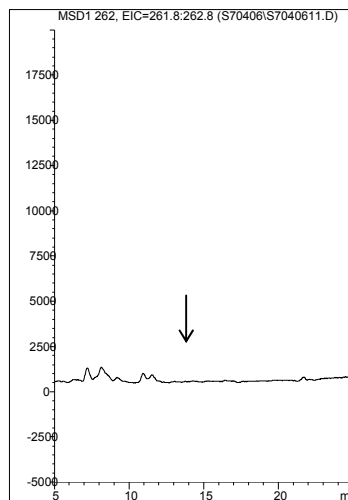
キャベツ 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)



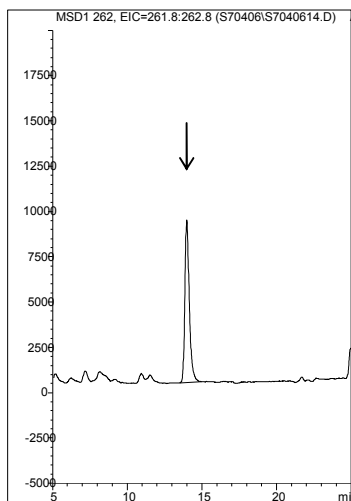
ネギ 無添加
(5µL/20 mL/2 g)



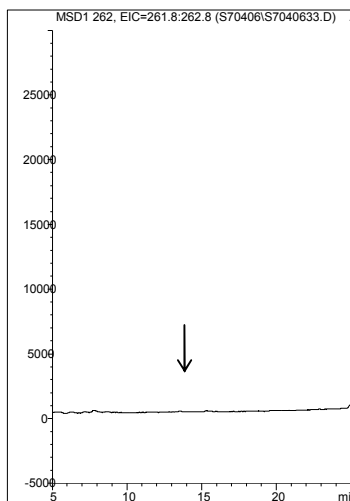
ネギ 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)



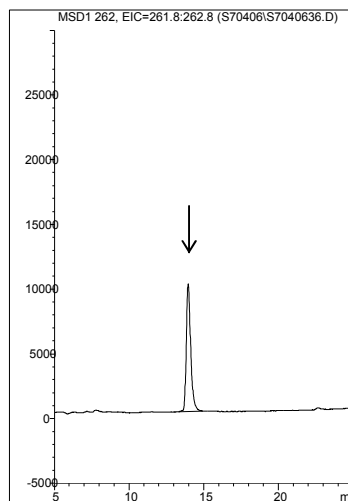
トマト 無添加
(5µL/20 mL/2 g)



トマト 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)

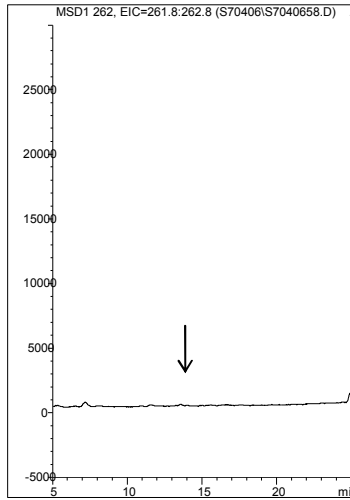


ほうれんそう 無添加
(5µL/20 mL/2 g)

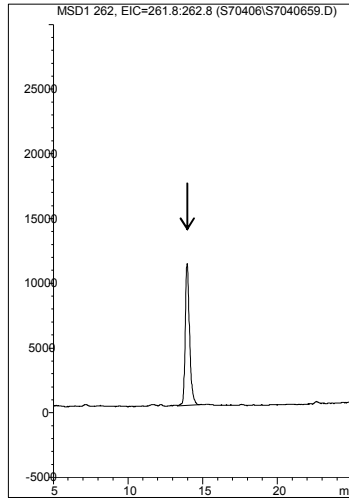


ほうれんそう 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)

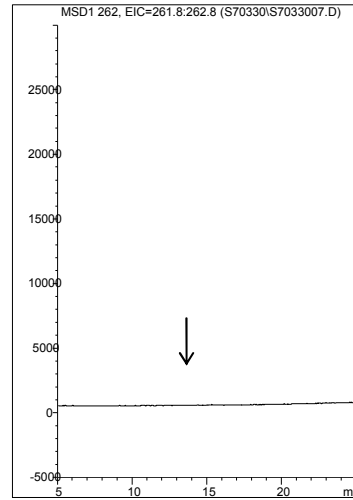
図 3-2. イマザピルのクロマトグラム (続き)



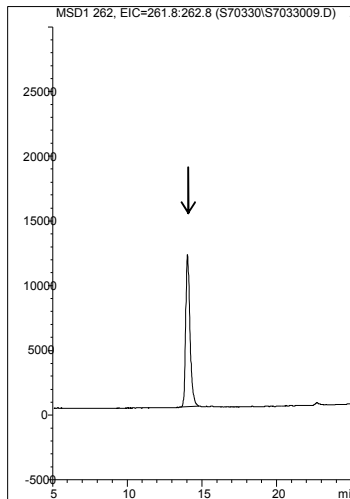
オレンジ 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



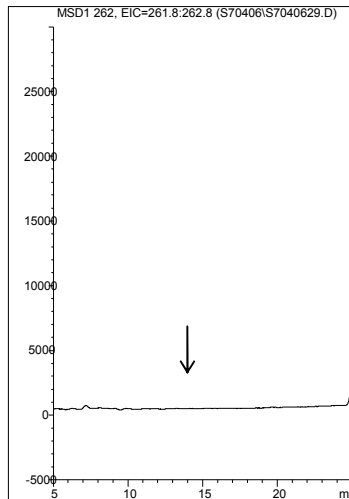
オレンジ 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



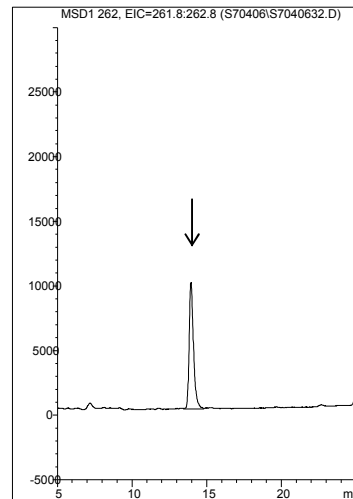
りんご 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



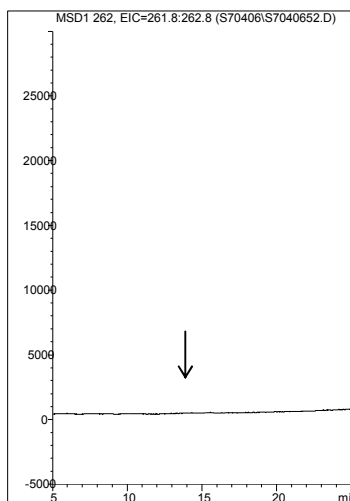
りんご 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



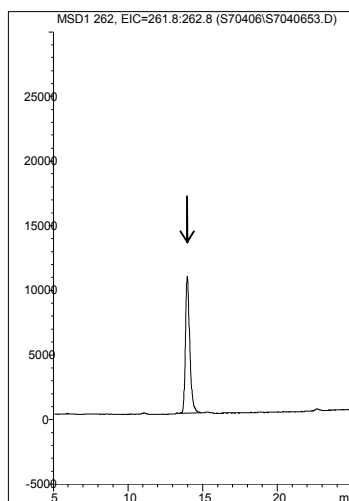
いちご 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



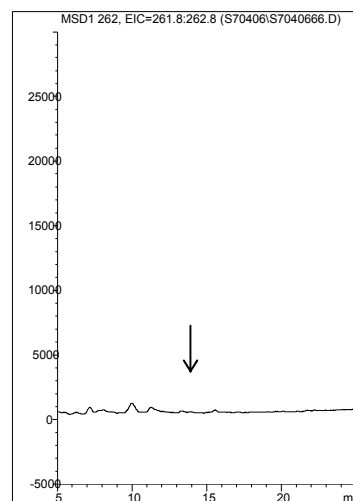
いちご 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



ぶどう 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

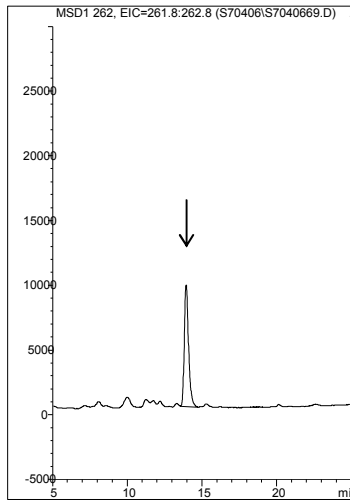


ぶどう 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

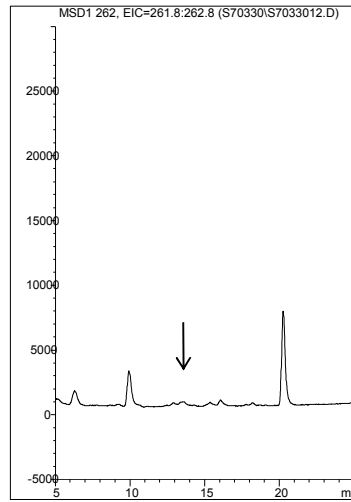


綿実 無添加
(5 μ L/10 mL/1 g)

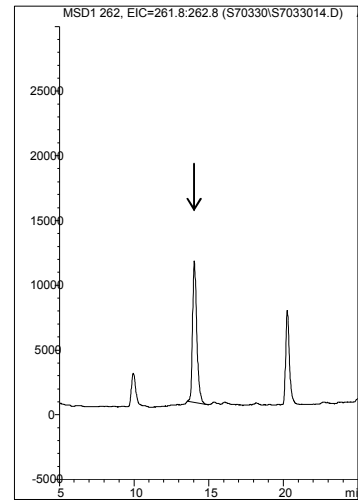
図 3-2. イマザピルのクロマトグラム (続き)



綿実 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/10 mL/1 g)

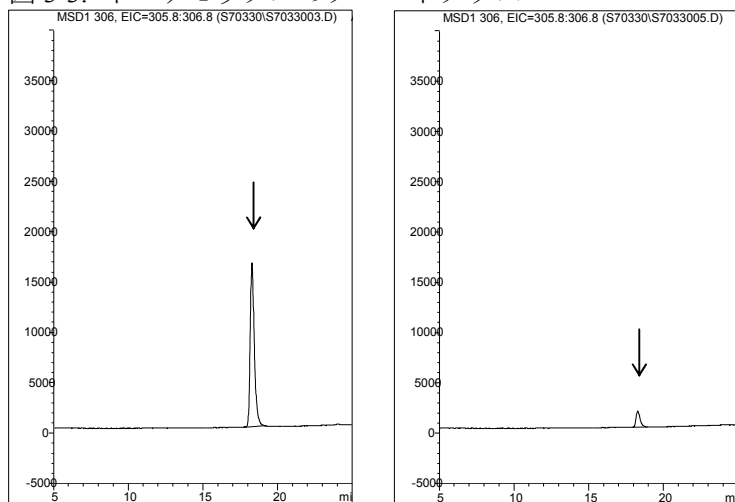


茶 無添加
(5 μ L/5 mL/0.5 g)



茶 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/5 mL/0.5 g)

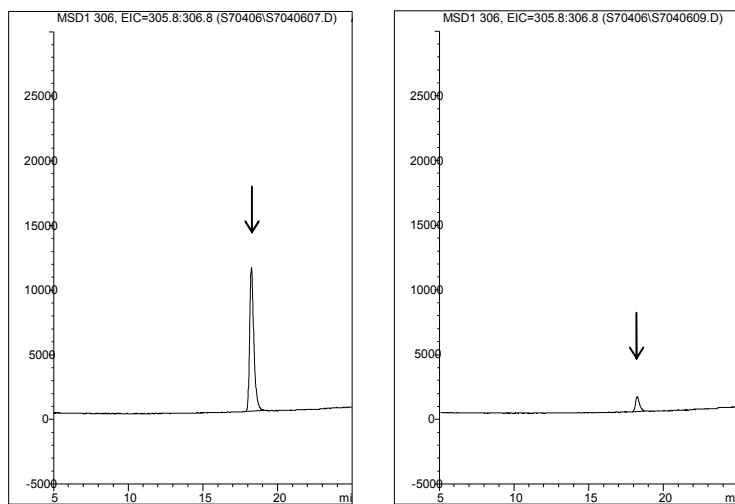
図 3-3. イマザモックスのクロマトグラム



標準品 0.05 ng *

標準品 0.005 ng *

* 玄米、大豆、ばれいしょ、大根・葉、ネギ、ほうれんそう、
オレンジ、りんご、いちご、ぶどう、綿実及び茶試料測定時

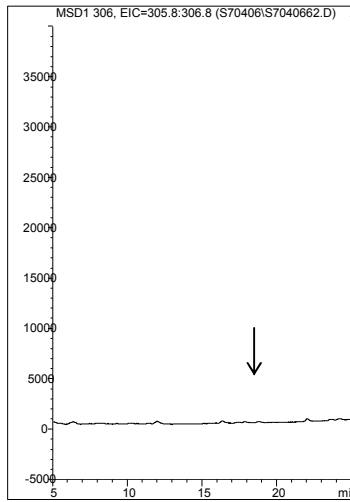


標準品 0.05 ng **

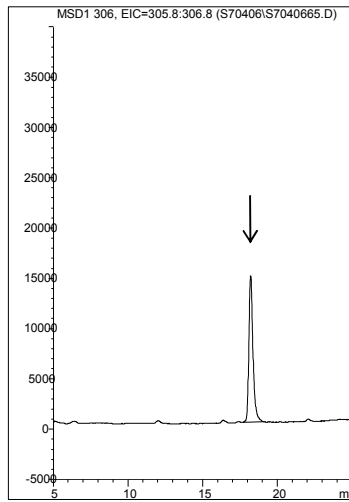
標準品 0.005 ng **

** 大根・根、キャベツ及びトマト試料測定時

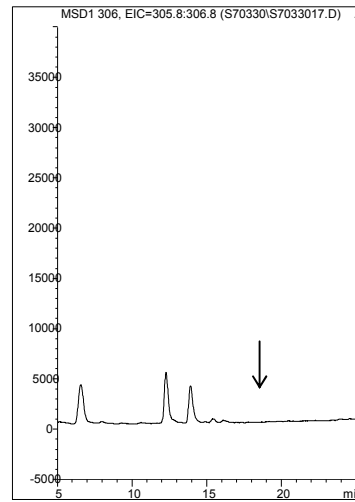
図 3-3. イマザモックスのクロマトグラム (続き)



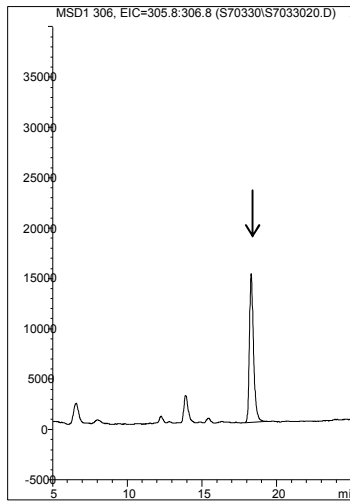
玄米 無添加 (5 μ L/10 mL/1 g)



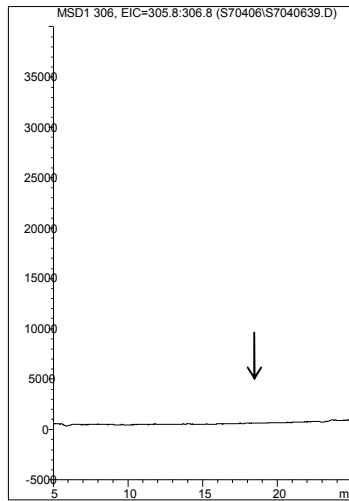
玄米 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/10 mL/1 g)



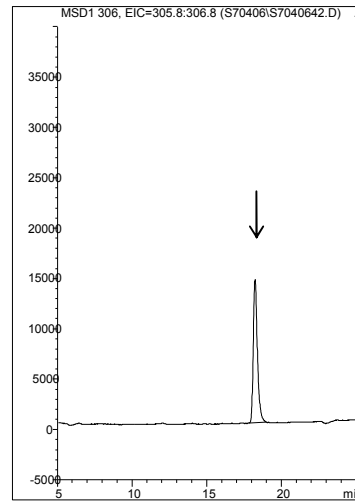
大豆 無添加 (5 μ L/10 mL/1 g)



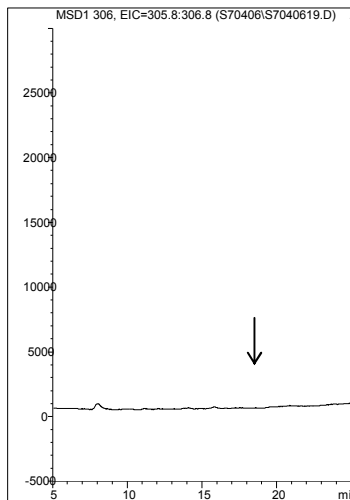
大豆 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/10 mL/1 g)



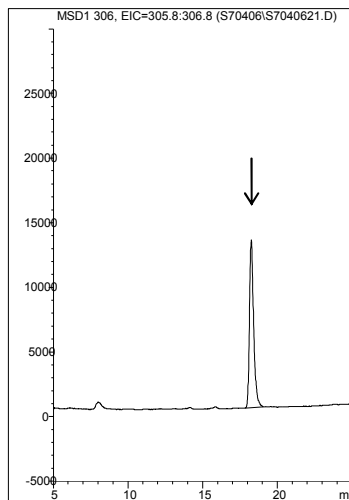
ばれいしょ 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



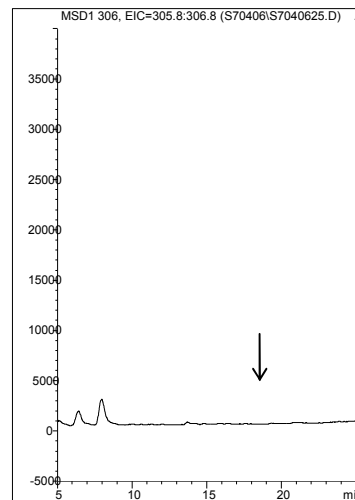
ばれいしょ 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



大根・根 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

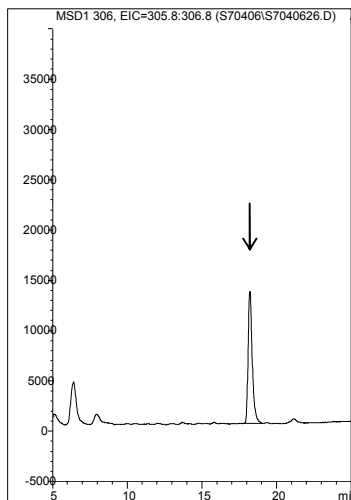


大根・根 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

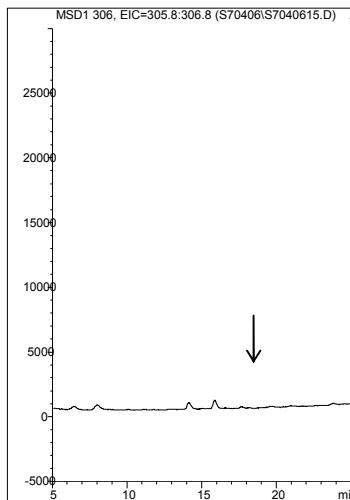


大根・葉 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

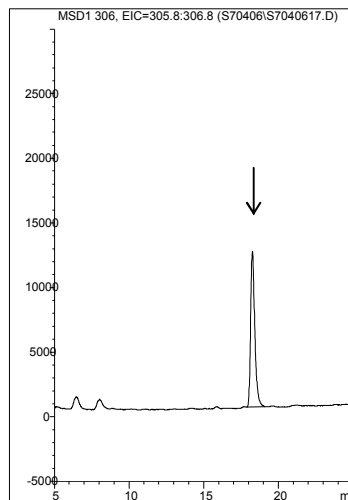
図 3-3. イマザモックスのクロマトグラム (続き)



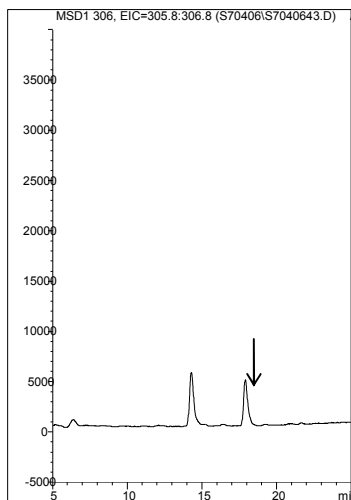
大根・葉 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)



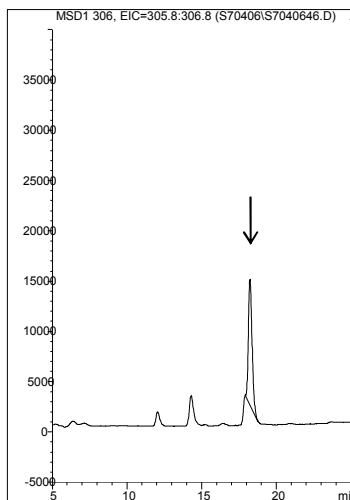
キャベツ 無添加
(5µL/20 mL/2 g)



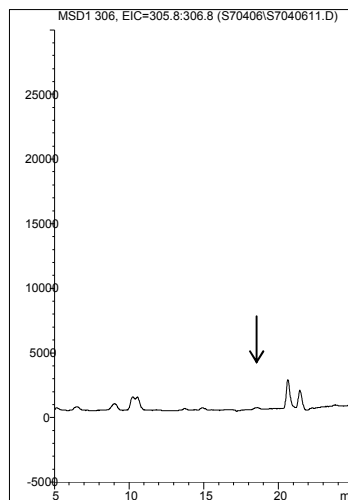
キャベツ 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)



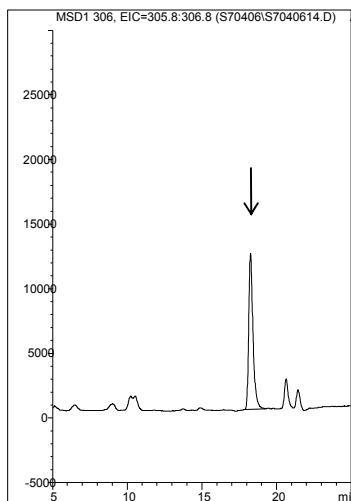
ネギ 無添加
(5µL/20 mL/2 g)



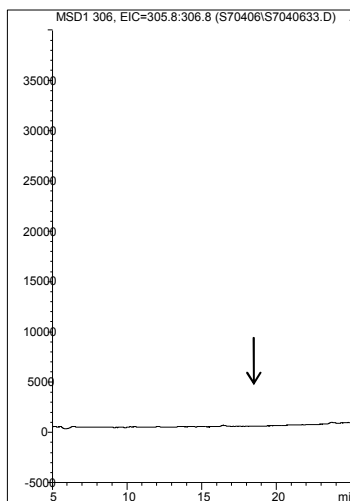
ネギ 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)



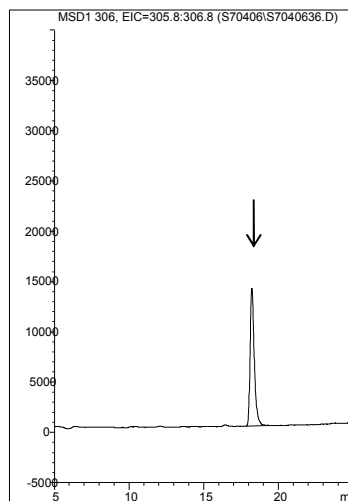
トマト 無添加
(5µL/20 mL/2 g)



トマト 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)

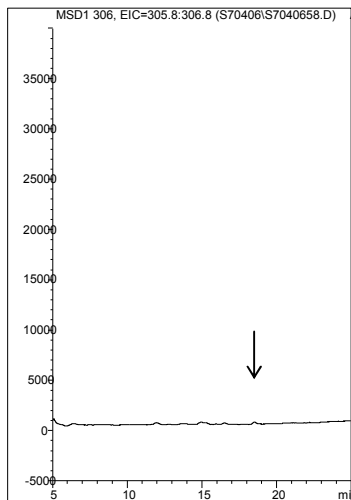


ほうれんそう 無添加
(5µL/20 mL/2 g)

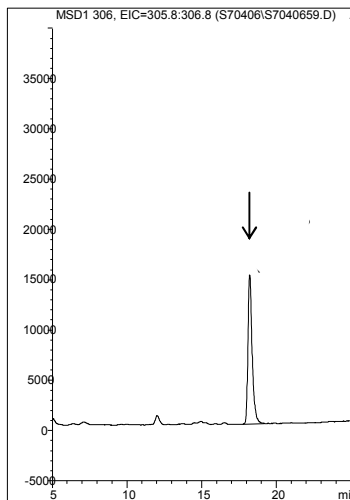


ほうれんそう 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)

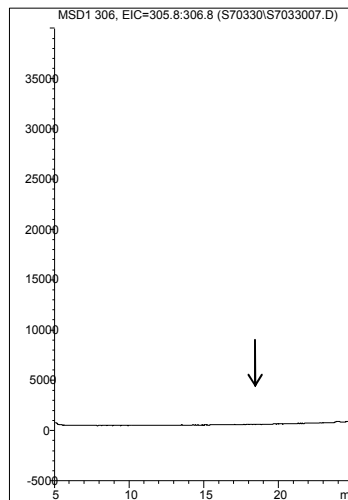
図 3-3. イマザモックスのクロマトグラム (続き)



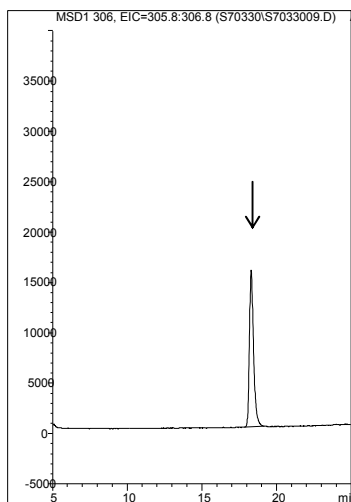
オレンジ 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



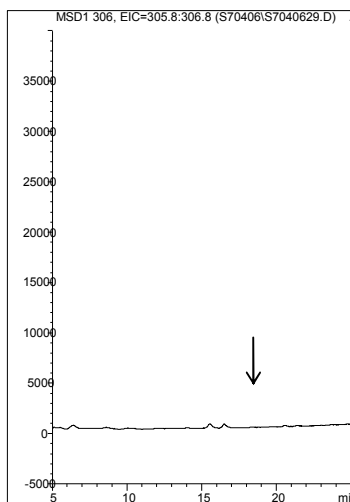
オレンジ 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



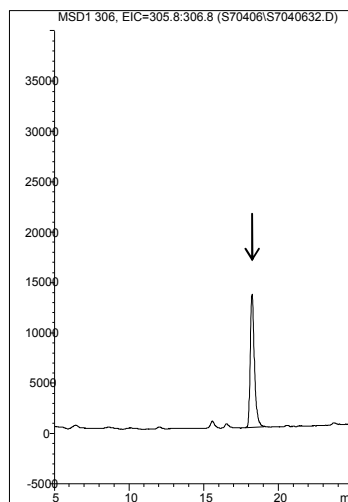
りんご 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



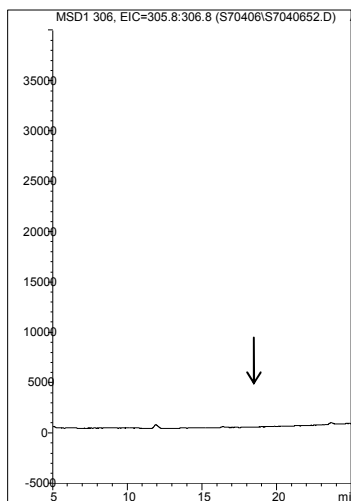
りんご 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



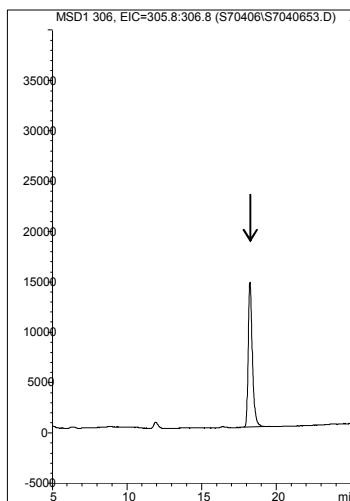
いちご 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



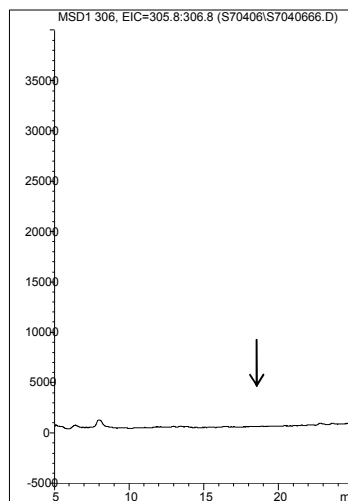
いちご 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



ぶどう 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

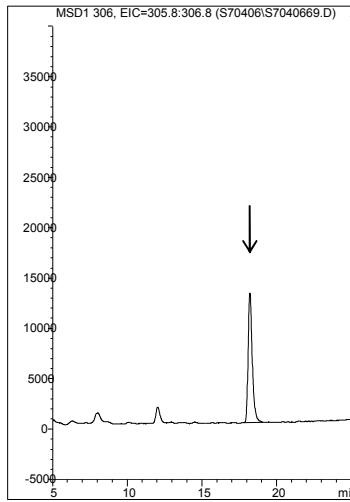


ぶどう 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

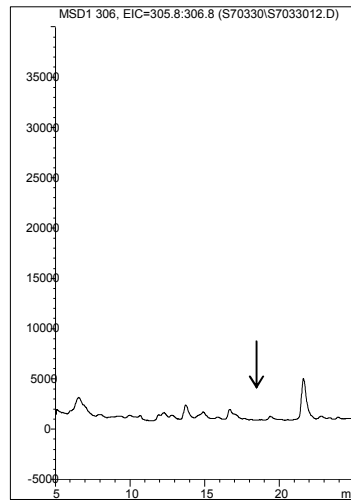


綿実 無添加
(5 μ L/10 mL/1 g)

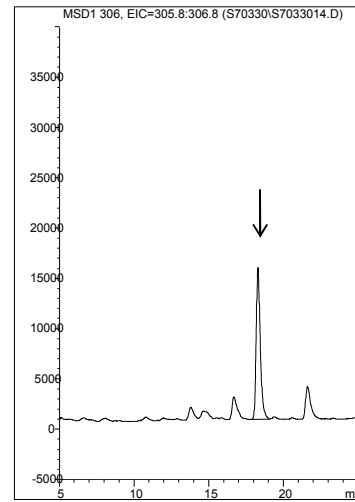
図 3-3. イマザモックスのクロマトグラム (続き)



綿実 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/10 mL/1 g)

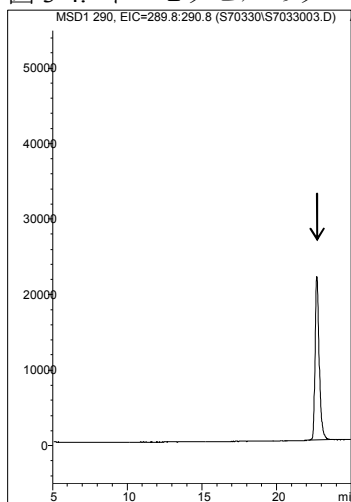


茶 無添加
(5 μ L/5 mL/0.5 g)

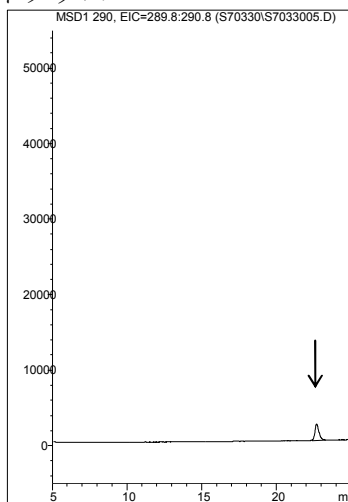


茶 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/5 mL/0.5 g)

図 3-4. イマゼタピルのクロマトグラム

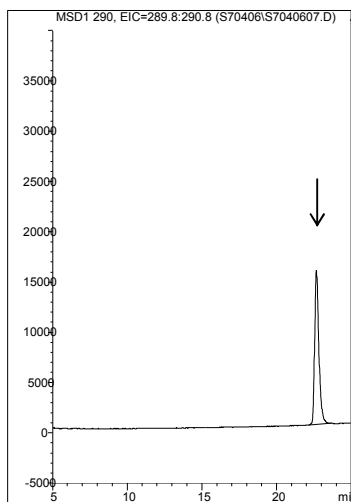


標準品 0.05 ng *

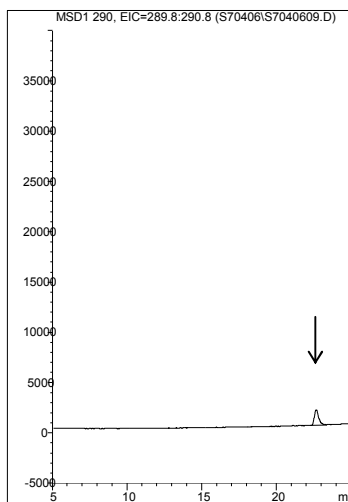


標準品 0.005 ng *

* 玄米、大豆、ばれいしょ、大根・葉、ネギ、ほうれんそう、
オレンジ、りんご、いちご、ぶどう、綿実及び茶試料測定時



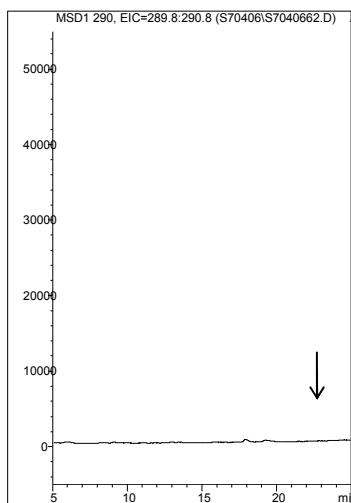
標準品 0.05 ng **



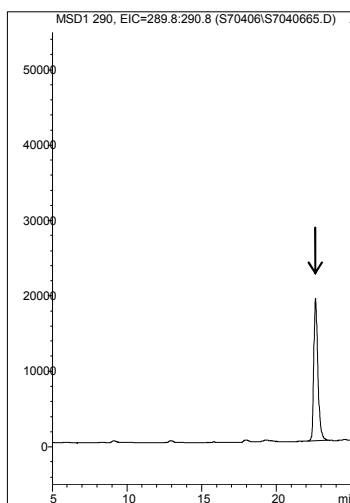
標準品 0.005 ng **

** 大根・根、キャベツ及びトマト試料測定時

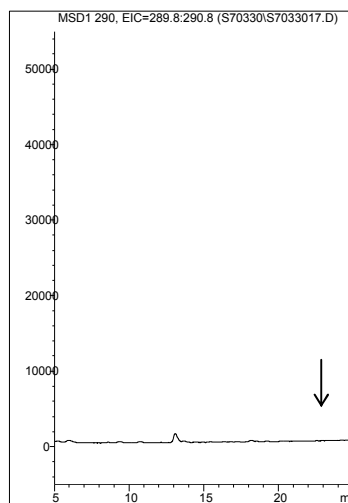
図 3-4. イマゼタピルのクロマトグラム (続き)



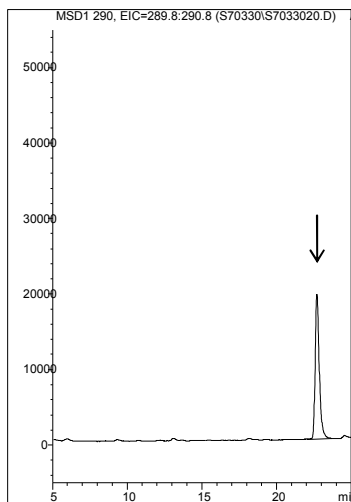
玄米 無添加 (5 μ L/10 mL/1 g)



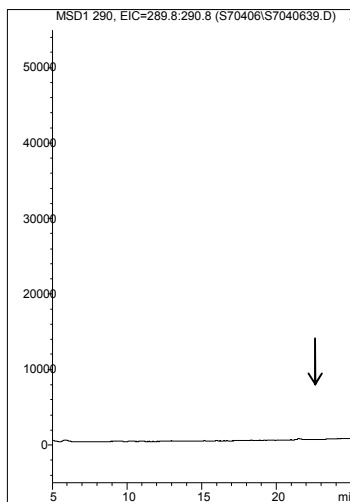
玄米 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/10 mL/1 g)



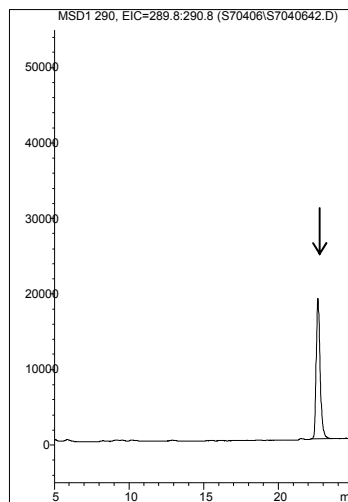
大豆 無添加 (5 μ L/10 mL/1 g)



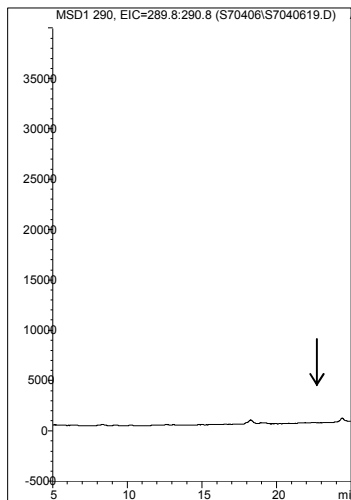
大豆 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/10 mL/1 g)



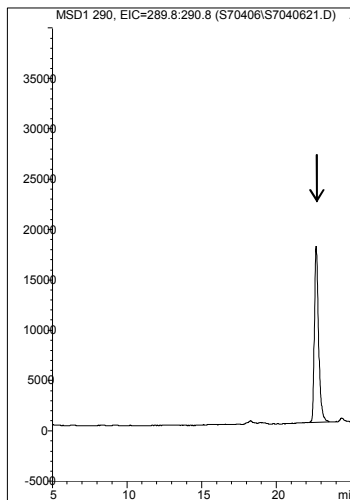
ばれいしょ 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



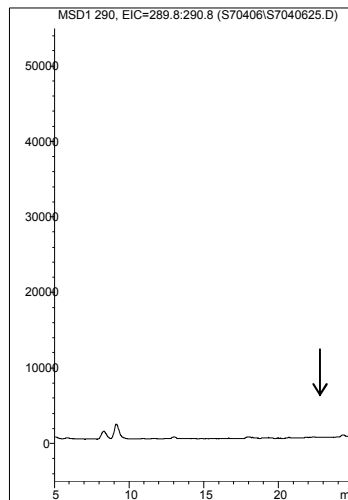
ばれいしょ 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



大根・根 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

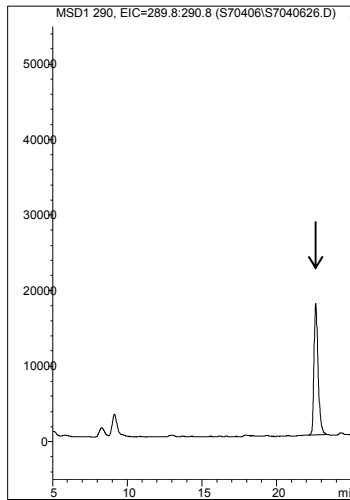


大根・根 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

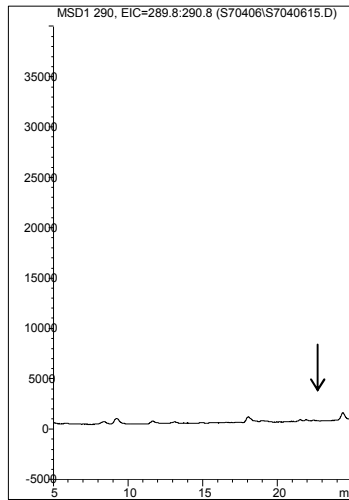


大根・葉 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

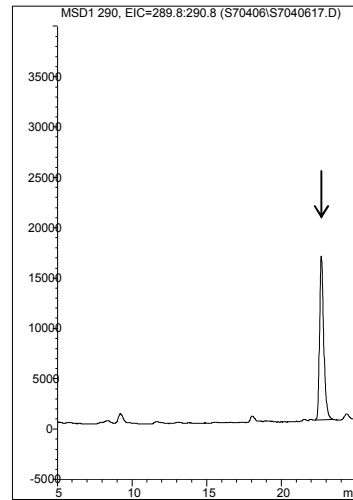
図 3-4. イマゼタピルのクロマトグラム (続き)



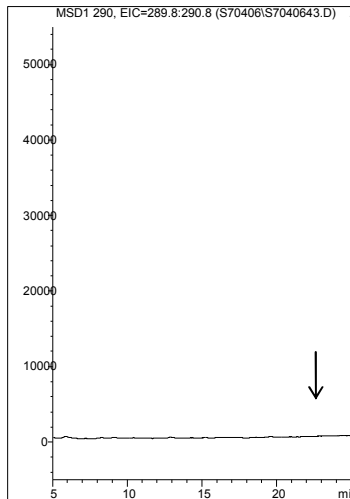
大根・葉 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)



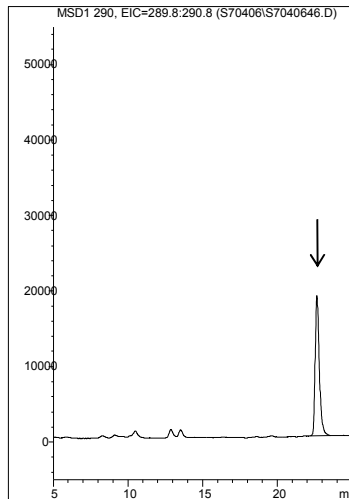
キャベツ 無添加
(5µL/20 mL/2 g)



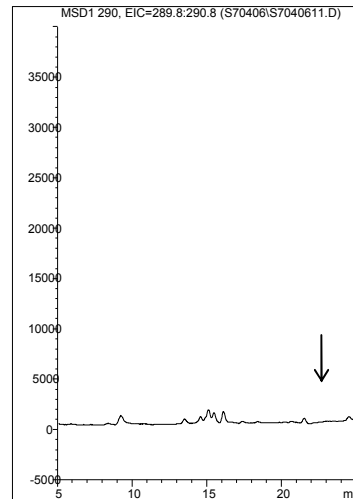
キャベツ 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)



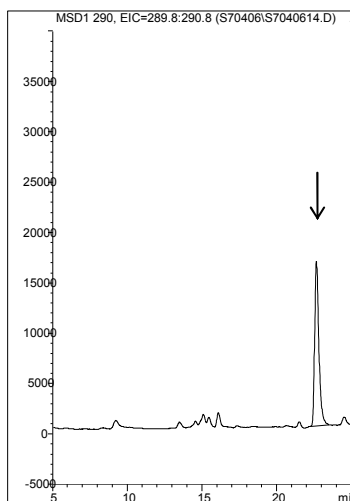
ネギ 無添加
(5µL/20 mL/2 g)



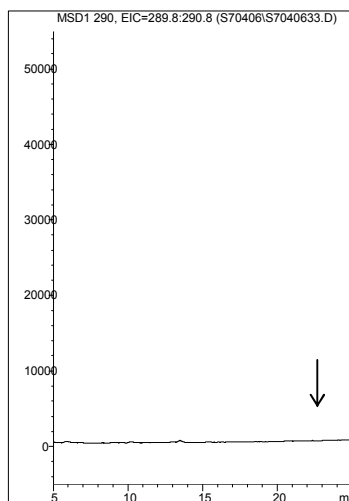
ネギ 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)



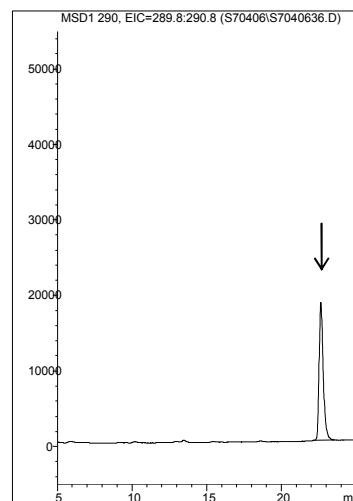
トマト 無添加
(5µL/20 mL/2 g)



トマト 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)

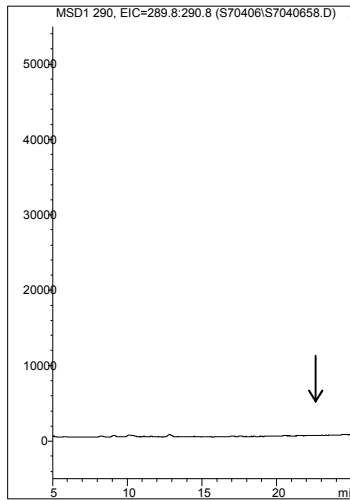


ほうれんそう 無添加
(5µL/20 mL/2 g)

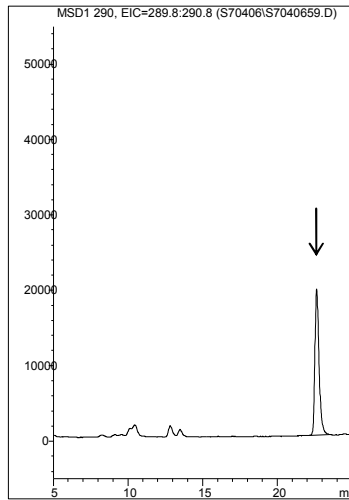


ほうれんそう 0.1 mg/kg 添加
(5µL/20 mL/2 g)

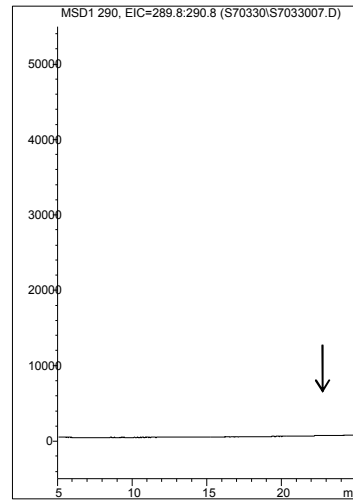
図 3-4. イマゼタピルのクロマトグラム (続き)



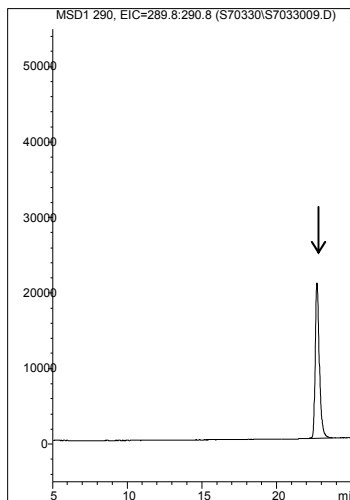
オレンジ 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



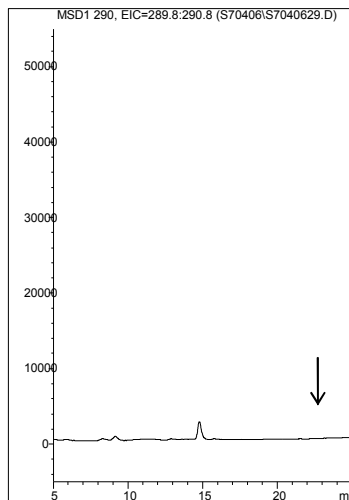
オレンジ 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



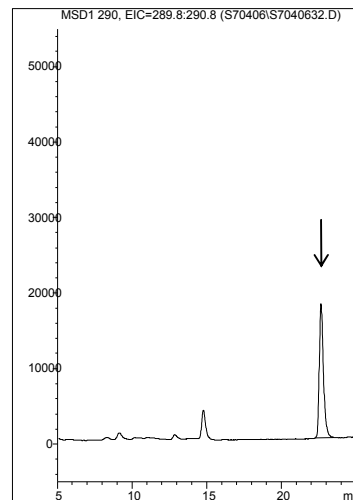
りんご 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



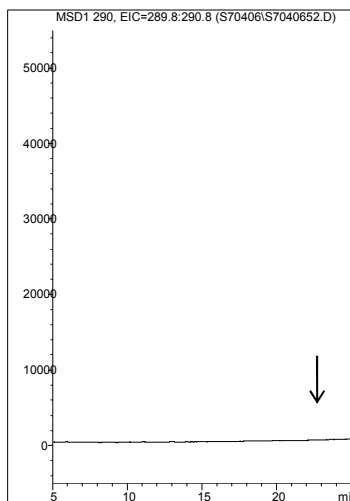
りんご 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



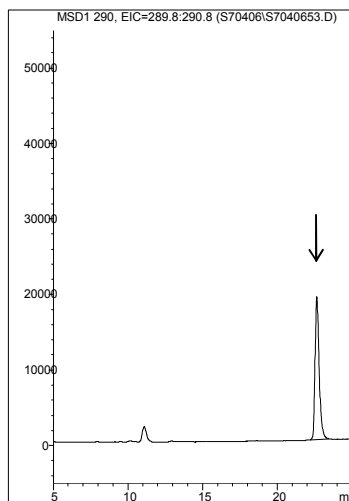
いちご 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



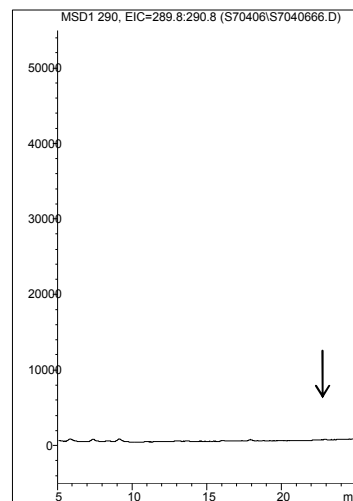
いちご 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)



ぶどう 無添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

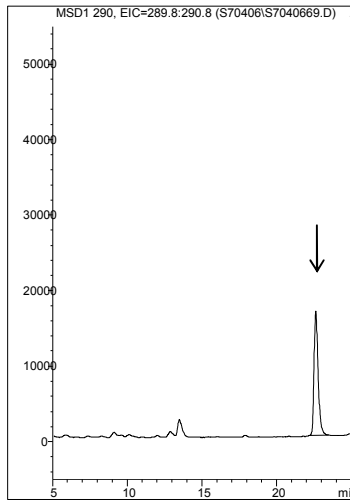


ぶどう 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/20 mL/2 g)

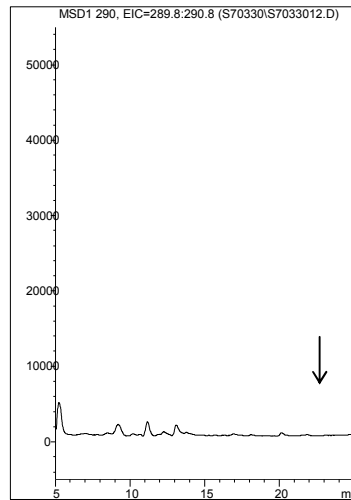


綿実 無添加
(5 μ L/10 mL/1 g)

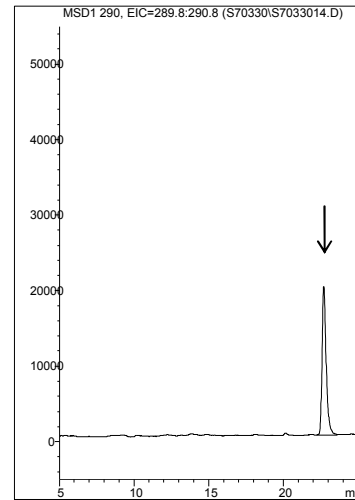
図 3-4. イマゼタピルのクロマトグラム (続き)



綿実 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/10 mL/1 g)



茶 無添加
(5 μ L/5 mL/0.5 g)



茶 0.1 mg/kg 添加
(5 μ L/5 mL/0.5 g)

図 4. クロマトグラム (LC-MS による 0.01 mg/kg 又は 0.008 mg/kg 添加回収率算出時)

図 4-1. イマザピックのクロマトグラム

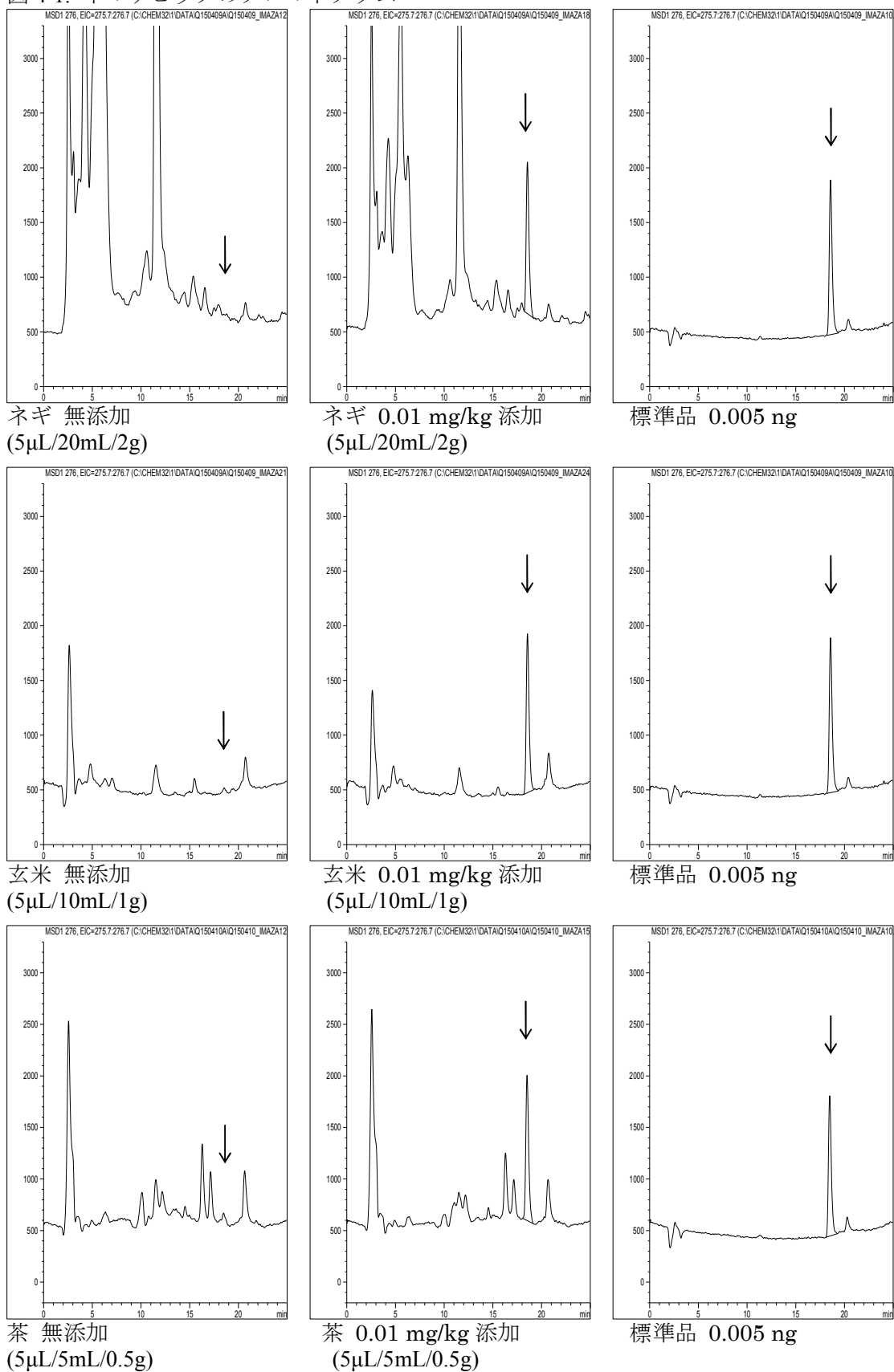
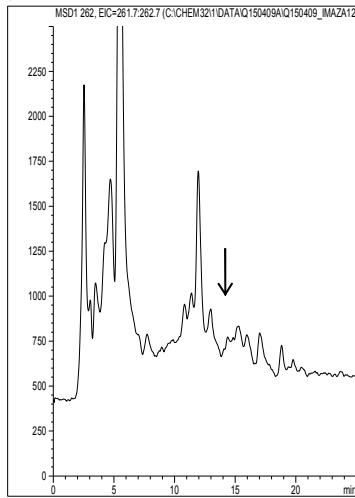
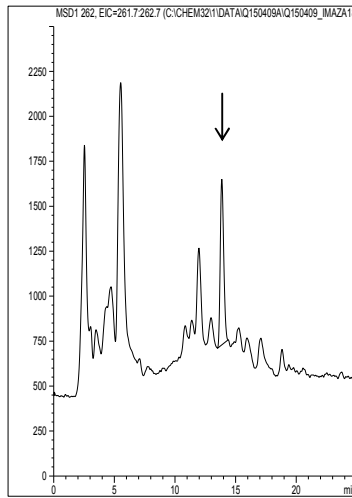


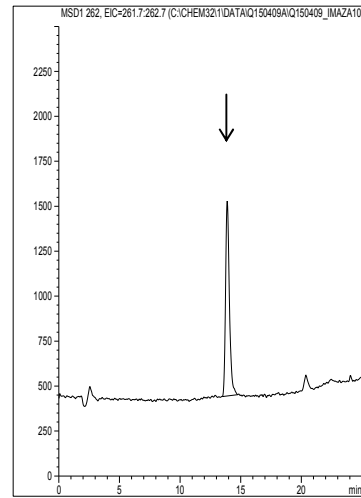
図 4-2. イマザピルのクロマトグラム



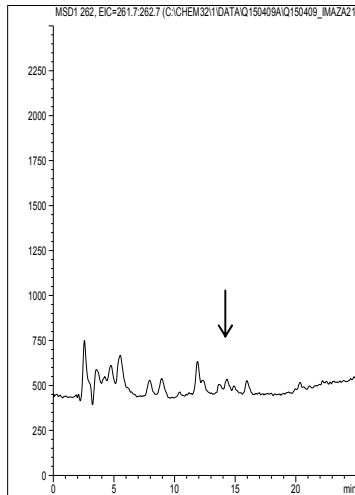
ネギ 無添加
(5 μ L/20mL/2g)



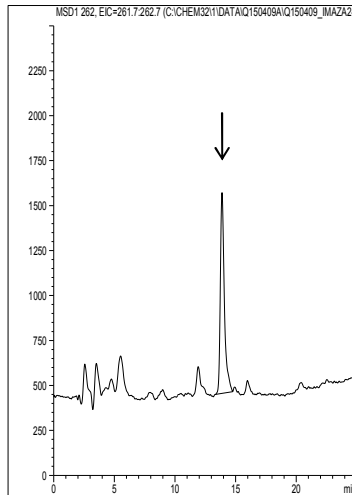
ネギ 0.01 mg/kg 添加
(5 μ L/20mL/2g)



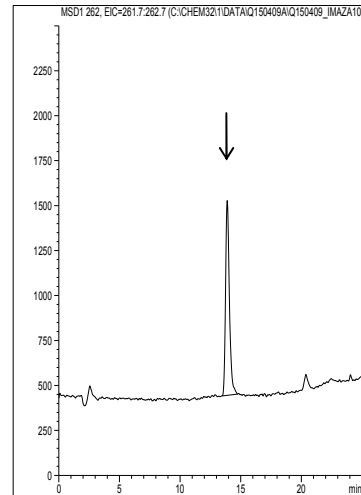
標準品 0.005 ng



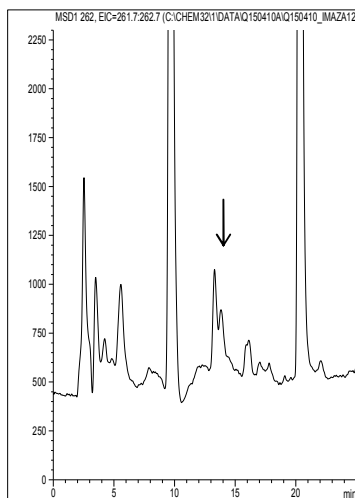
玄米 無添加
(5 μ L/10mL/1g)



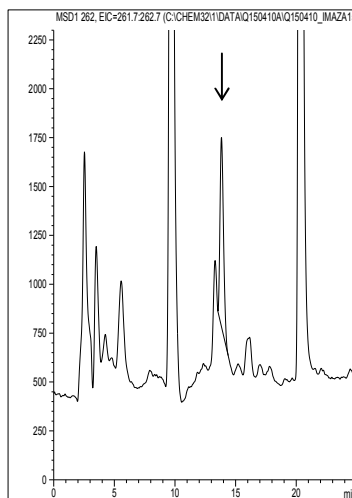
玄米 0.01 mg/kg 添加
(5 μ L/10mL/1g)



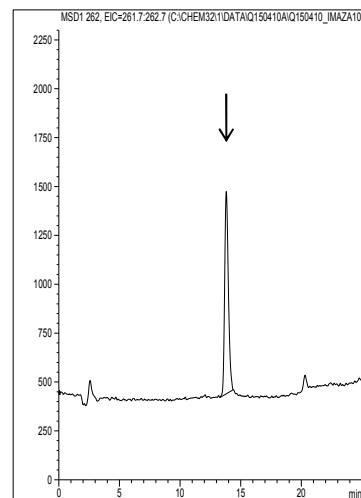
標準品 0.005 ng



茶 無添加
(5 μ L/5mL/0.5g)

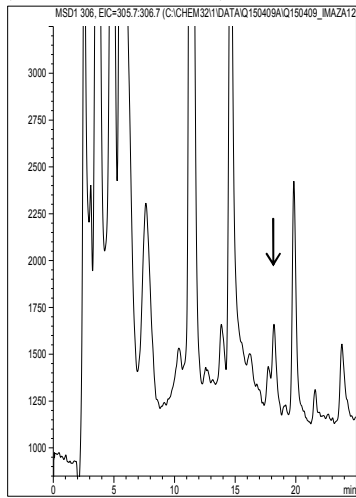


茶 0.01 mg/kg 添加
(5 μ L/5mL/0.5g)

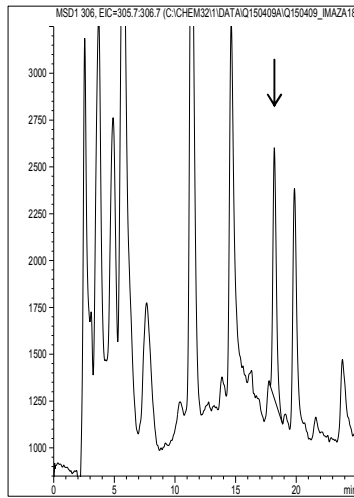


標準品 0.005 ng

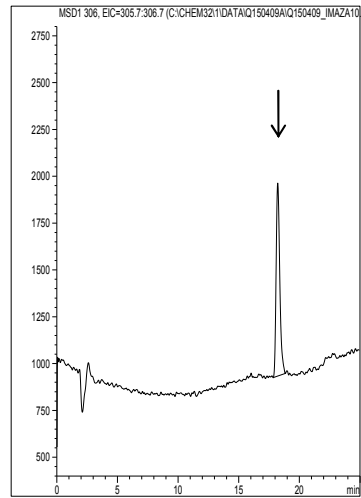
図 4-3. イマザモックスのクロマトグラム



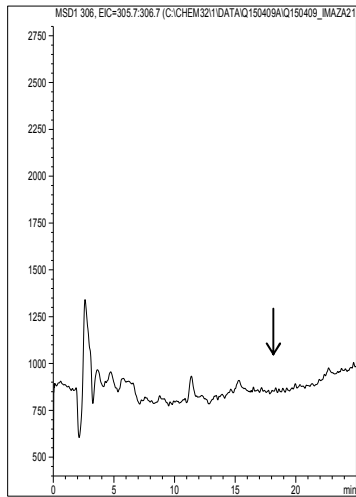
ネギ 無添加
(5 μ L/20mL/2g)



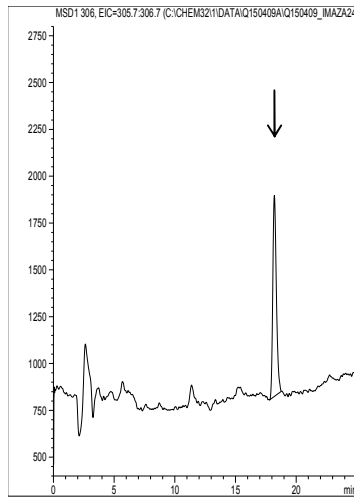
ネギ 0.008 mg/kg 添加
(5 μ L/20mL/2g)



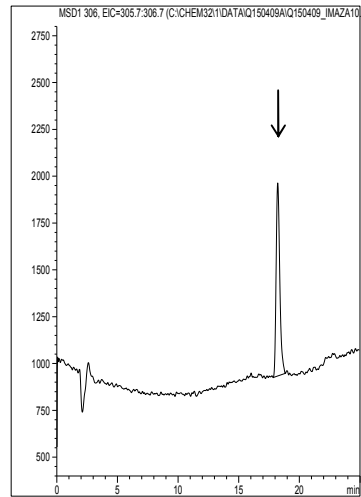
標準品 0.004 ng



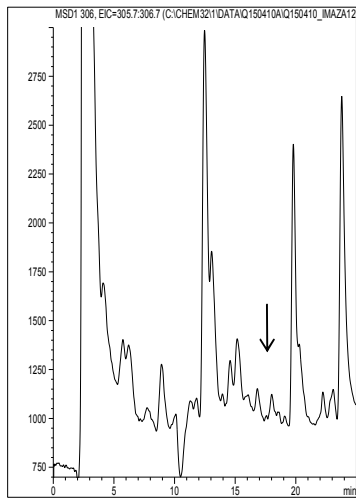
玄米 無添加
(5 μ L/10mL/1g)



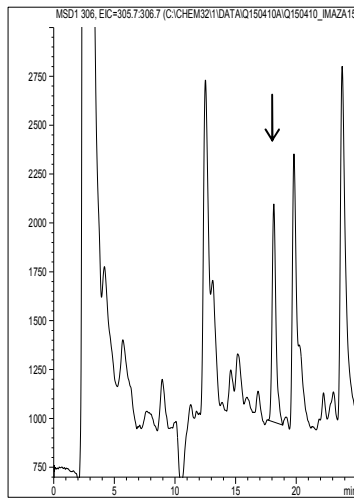
玄米 0.008 mg/kg 添加
(5 μ L/10mL/1g)



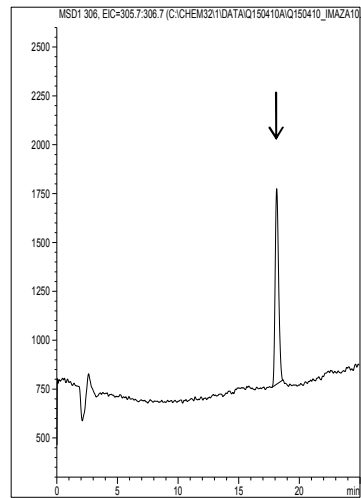
標準品 0.004 ng



茶 無添加
(5 μ L/5mL/0.5g)

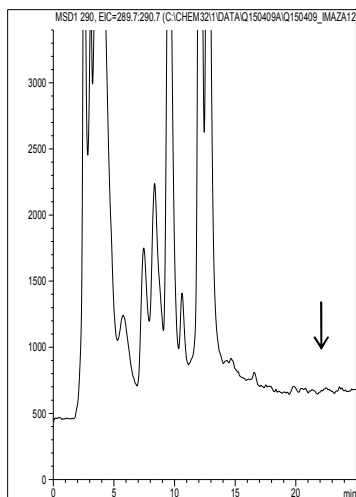


茶 0.008 mg/kg 添加
(5 μ L/5mL/0.5g)

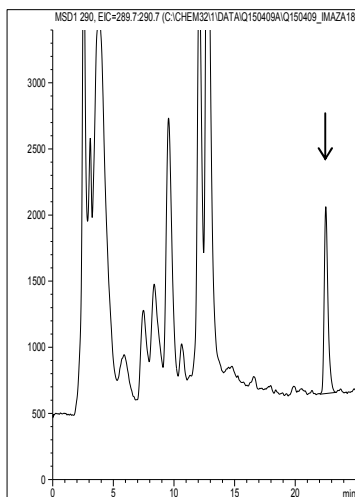


標準品 0.004 ng

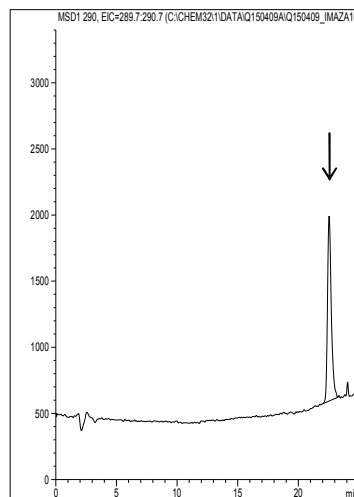
図 4-4. イマゼタピルのクロマトグラム



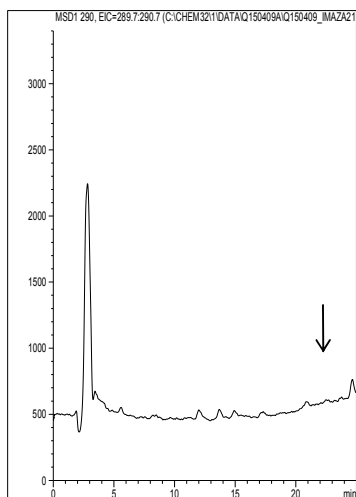
ネギ 無添加
(5 μ L/20mL/2g)



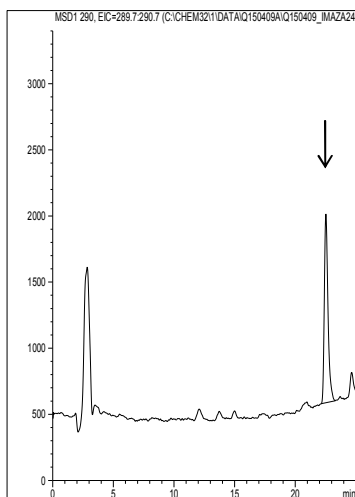
ネギ 0.008 mg/kg 添加
(5 μ L/20mL/2g)



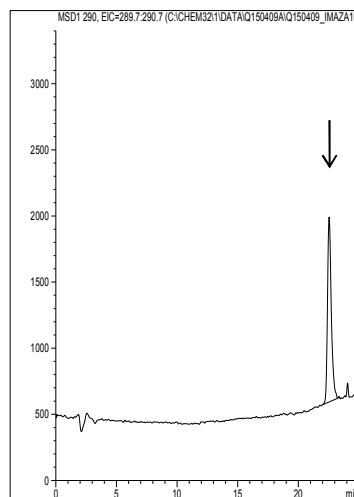
標準品 0.004 ng



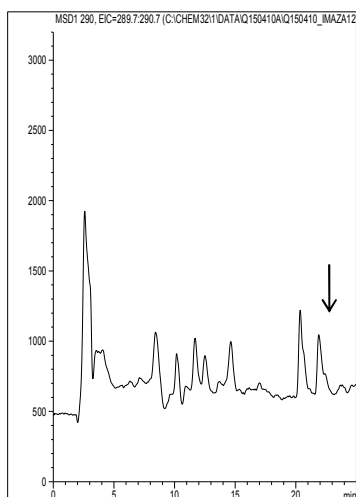
玄米 無添加
(5 μ L/10mL/1g)



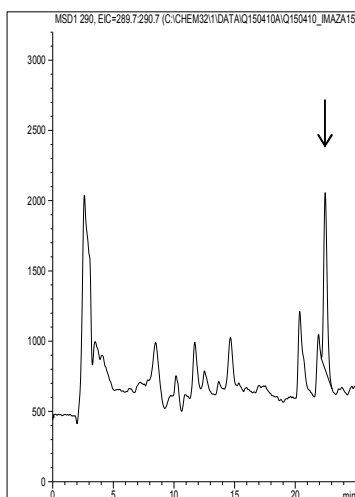
玄米 0.008 mg/kg 添加
(5 μ L/10mL/1g)



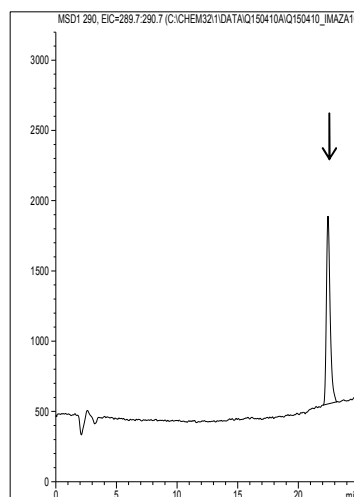
標準品 0.004 ng



茶 無添加
(5 μ L/5mL/0.5g)

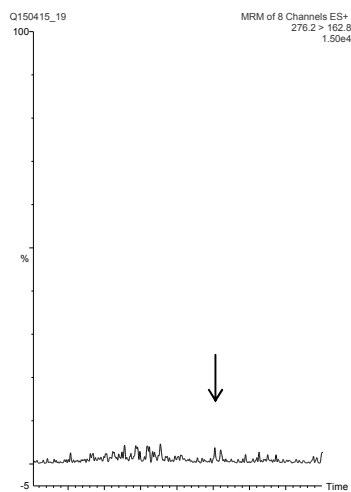


茶 0.008 mg/kg 添加
(5 μ L/5mL/0.5g)

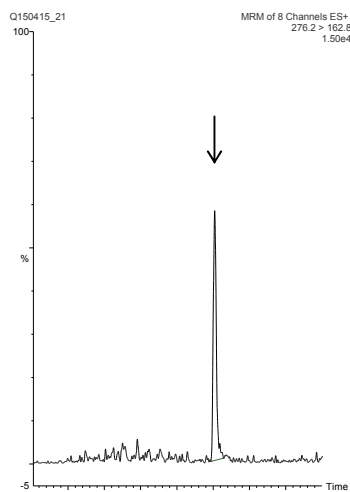


標準品 0.004 ng

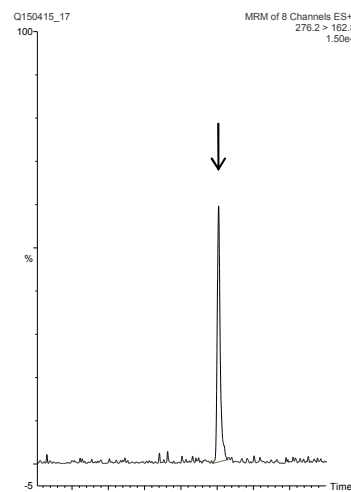
図 5. クロマトグラム (LC-MS/MS による 0.01 mg/kg 又は 0.008 mg/kg 添加回収率算出時)
図 5-1. イマザピックのクロマトグラム



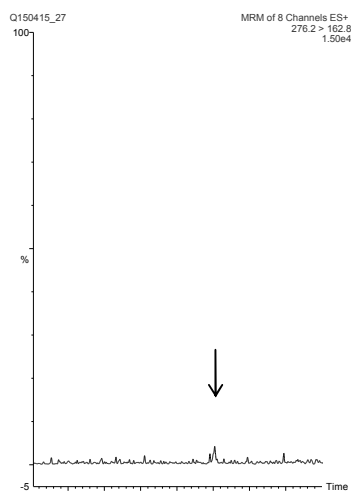
ネギ 無添加
(5 μ L/20mL/2g)



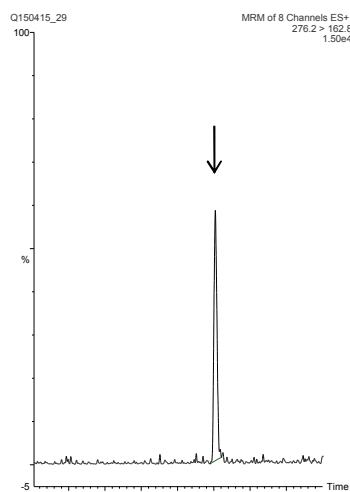
ネギ 0.01 mg/kg 添加
(5 μ L/20mL/2g)



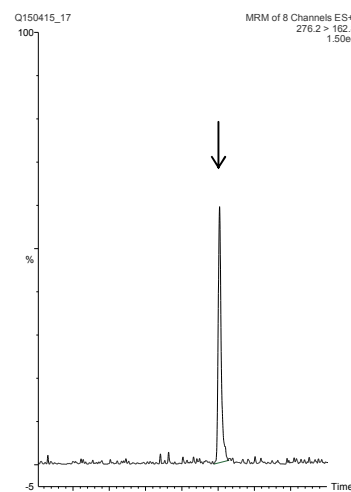
標準品 0.005 ng



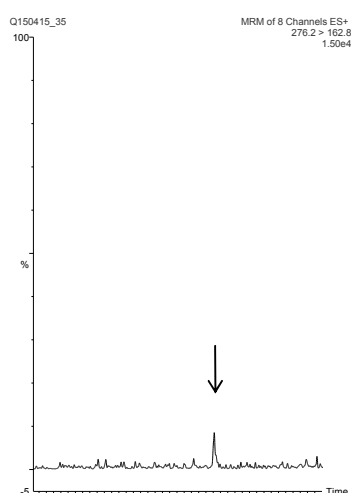
玄米 無添加
(5 μ L/10mL/1g)



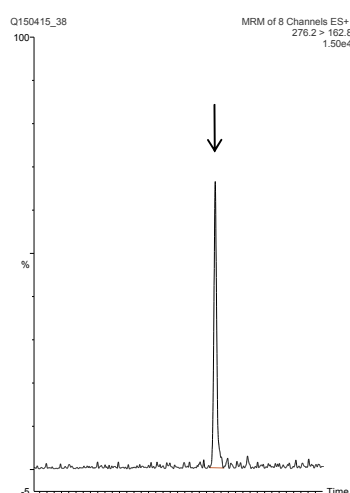
玄米 0.01 mg/kg 添加
(5 μ L/10mL/1g)



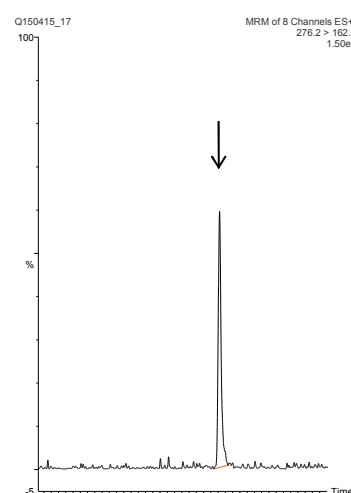
標準品 0.005 ng



茶 無添加
(5 μ L/5mL/0.5g)



茶 0.01 mg/kg 添加
(5 μ L/5mL/0.5g)



標準品 0.005 ng

図 5-2. イマザピルのクロマトグラム

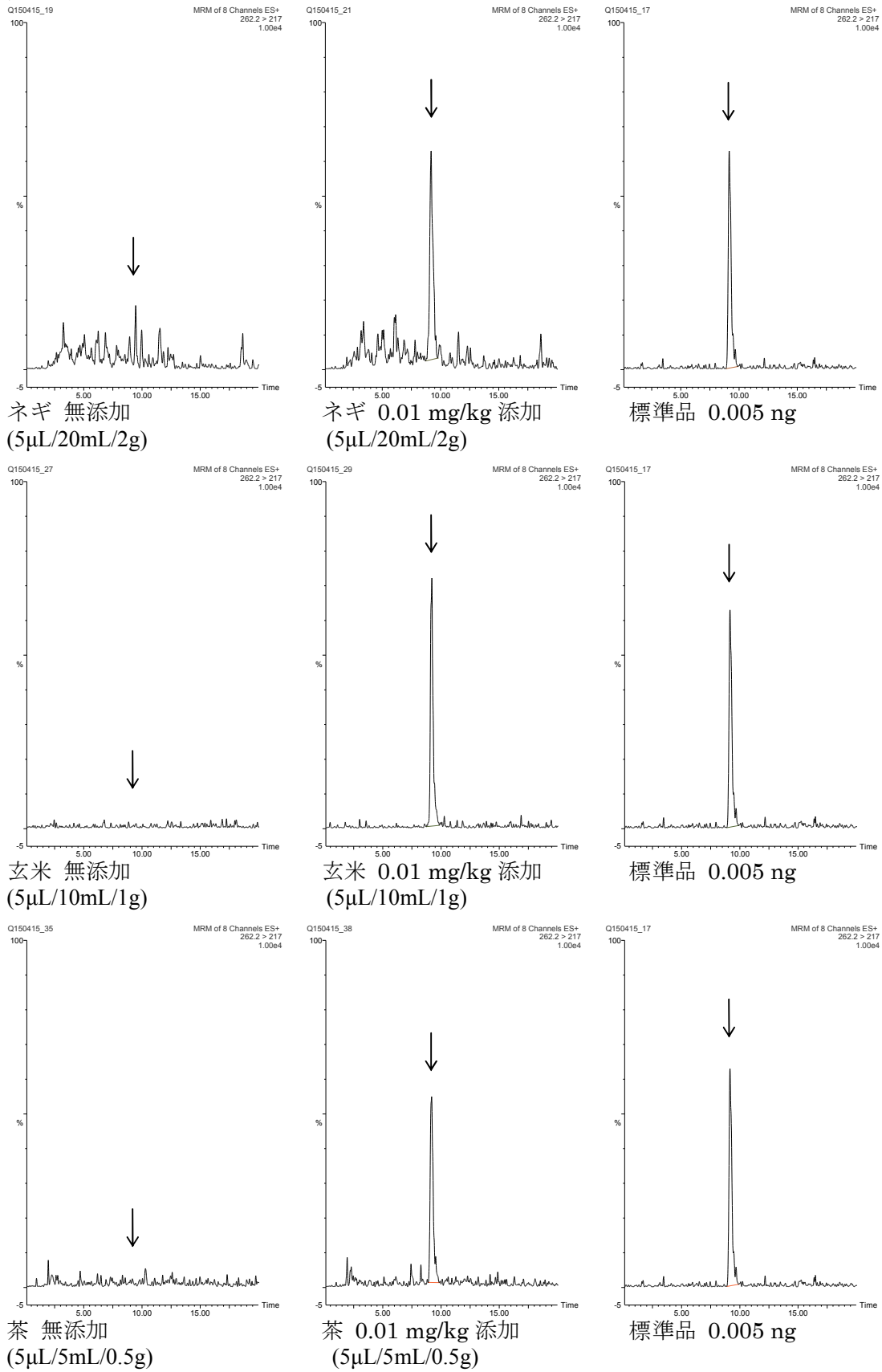


図 5-3. イマザモックスのクロマトグラム

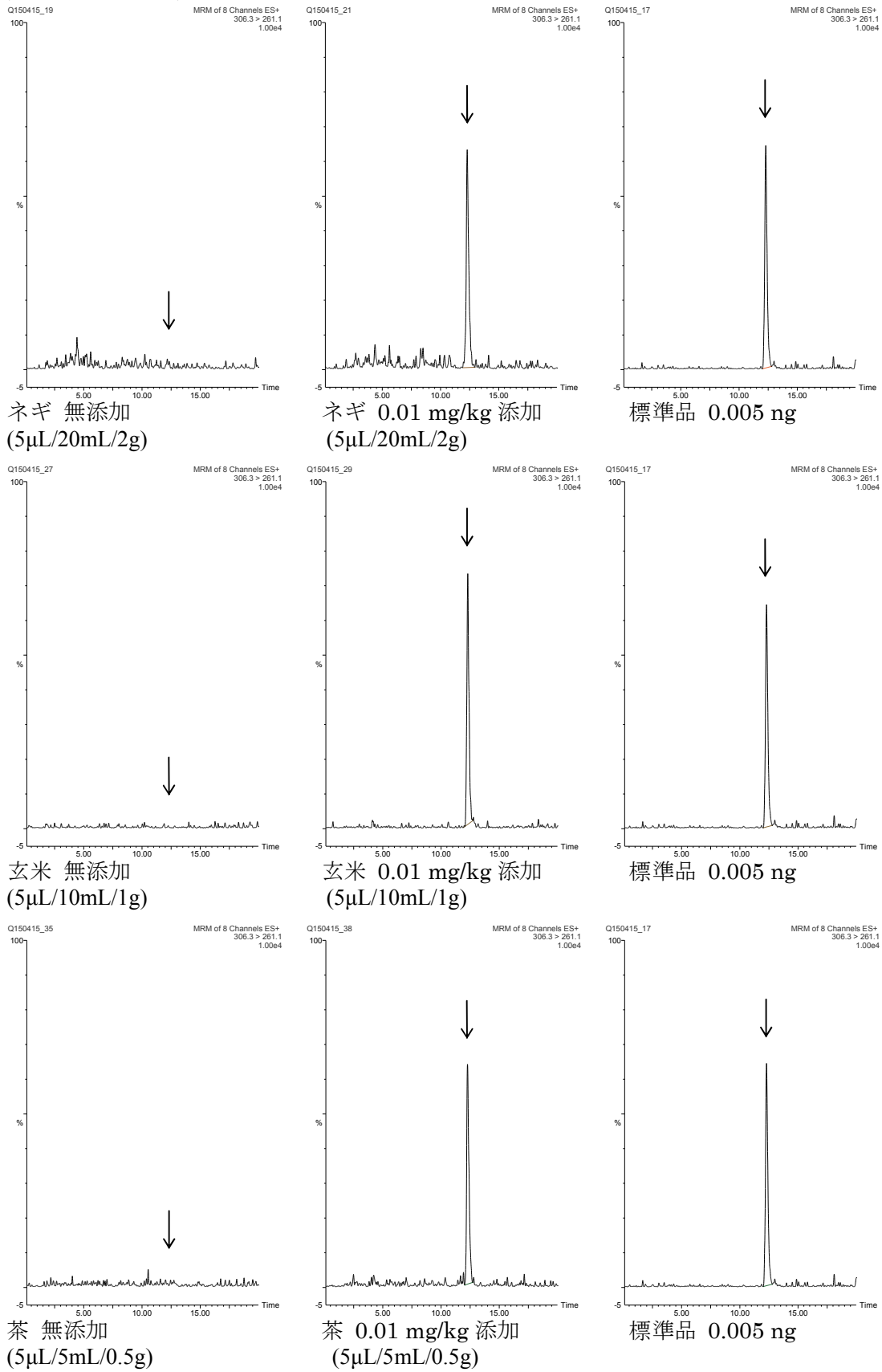


図 5-4. イマゼタピルのクロマトグラム

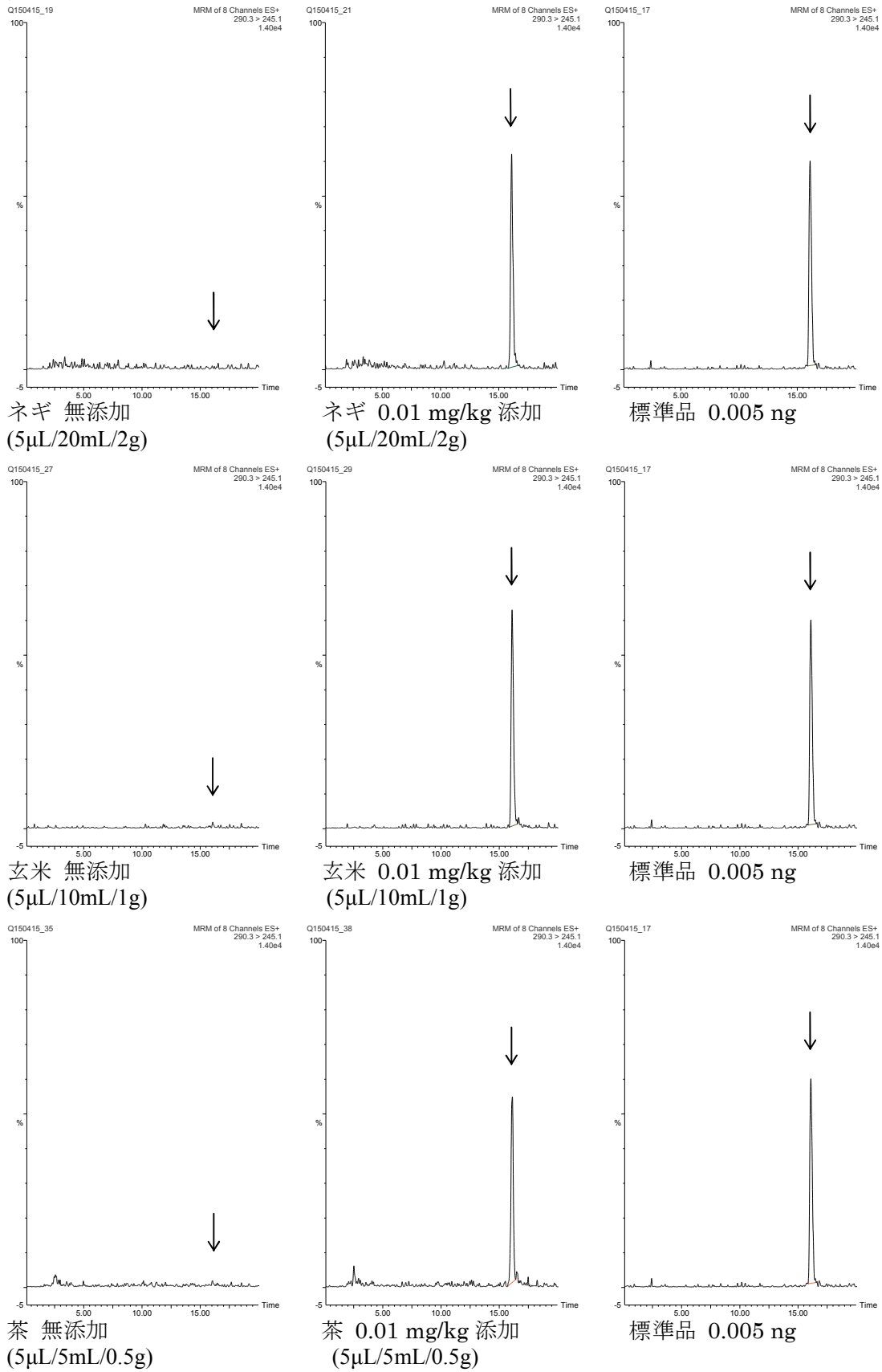
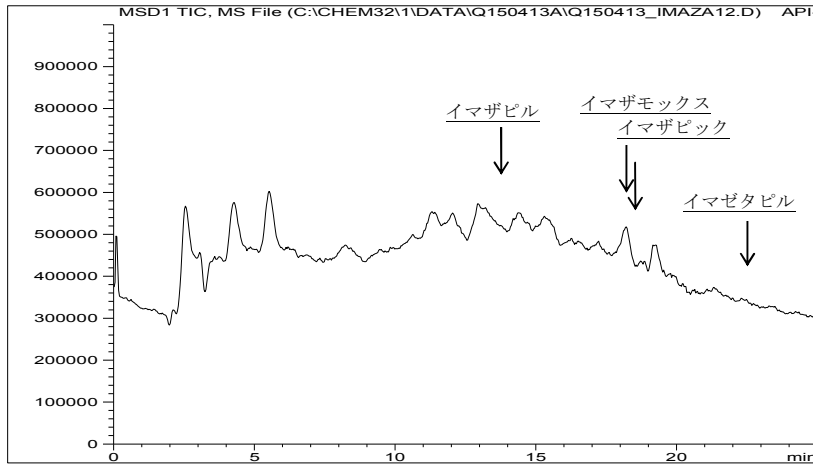
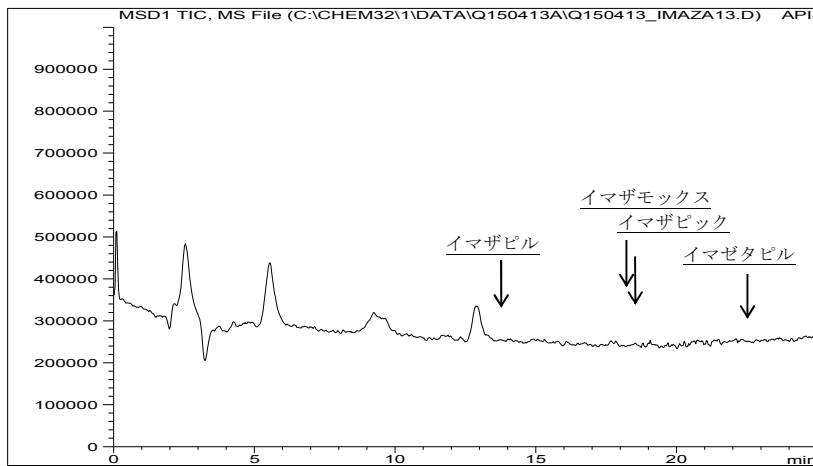


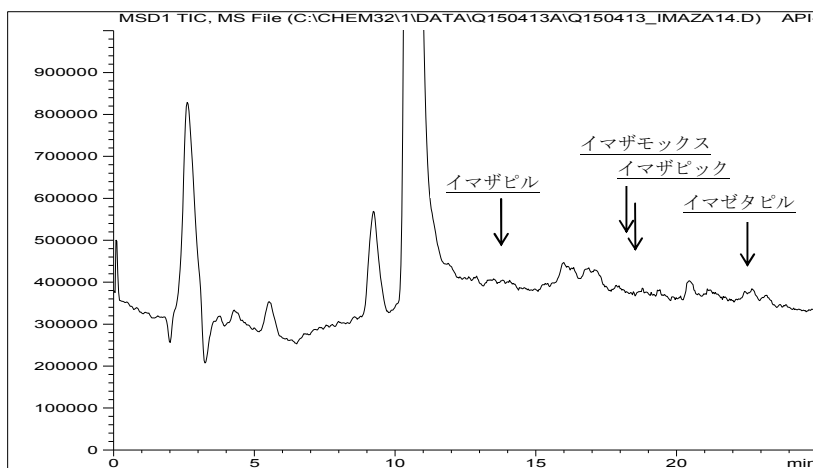
図 6. ブランク試料の代表的なトータルイオンクロマトグラム
(スキャン範囲 : m/z 40~610)



ネギ (スキャン範囲 : m/z 40~610, 矢印は各成分の保持時間を示す)



玄米 (スキャン範囲 : m/z 40~610, 矢印は各成分の保持時間を示す)



茶 (スキャン範囲 : m/z 40~610, 矢印は各成分の保持時間を示す)