

アシノナピル分析法（農産物）

1. 分析対象化合物

- ・アシノナピル
- ・3-endo-[2-プロポキシ-4-(トリフルオロメチル)フェノキシ]-9-アザビシクロ[3.3.1]ノナン（以下、「代謝物 C」）

2. 装置

高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

3. 試薬、試液

アシノナピル、代謝物 C	:	分析用標準品
アセトニトリル	:	HPLC 用, 特級
酢酸	:	精密分析用
水	:	水道水を Milli-Q System (Millipore 製) で精製したもの
炭酸水素アンモニウム	:	和光一級
2 mol/L 炭酸水素アンモニウム水溶液	:	炭酸水素アンモニウム 79 g に水 500 mL の割合で加える。
SAX/PSA ミニカラム	:	InertSep SAX/PSA 500 mg/500 mg/6 mL (ジーエルサイエンス製)
中性アルミナミニカラム	:	InertSep AL-N 1 g/6 mL (ジーエルサイエンス製)

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 果実及び野菜の場合

細断した試料 500 g に対し 2 mol/L 炭酸水素アンモニウム水溶液を 50 g の割合で加え均一化した試料 22 g (試料 20 g 相当量) にアセトニトリル及び水 (4 : 1, v/v) 混液 100 mL を加え、3 分間磨砕抽出する。遠心分離 (8500 rpm、5 分間) した後、上澄み液をろ過する。残渣にアセトニトリル及び水 (4 : 1, v/v) 混液 50 mL を加え振とう機で 10 分間振とうした後、同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、水を加えて正確に 200 mL とする。

② 茶の場合

粉碎した試料 5 g に水 10 mL を加え、30 分間放置する。これにアセトニトリル 100 mL を加え、3 分間磨砕抽出する。遠心分離 (8,500 rpm、5 分間) した後、上澄みをろ過する。残渣にアセトニトリル 50 mL を加え振とう機で 10 分間振とうした後、吸引ろ過する。残渣及び容器をアセトニトリル 50 mL で洗い、同様にろ過する。得られた

る液をあわせ、水を加えて正確に 400 mL とする。

2) 精製

①果実及び野菜の場合

SAX/PSA ミニカラムにアセトニトリル及び水 (1:1, v/v) 混液 5 mL を注入し、流出液は捨てる。

このカラムに 1) で得られた抽出液 5 mL を注入する。その後、アセトニトリル及び水 (1:1, v/v) 混液 2 mL を注入し、全ての溶出液を目盛付容器に捕集して、アセトニトリル及び水 (1:1, v/v) 混液で 10 mL に定容し、試験溶液とする。

②茶の場合：中性アルミナミニカラムによる精製

1) で得られた抽出液 4 mL を注入する。その後、アセトニトリル及び水 (1:1, v/v) 混液 2 mL を注入し、全ての溶出液を目盛付容器に捕集して、アセトニトリル及び水 (1:1, v/v) 混液で 10 mL に定容し、試験溶液とする。

5. 検量線の作成

アシノナピル及び代謝物 C 標準品をアセトニトリルに溶解し、それぞれ 100 µg/mL の標準原液を調製する。調製した標準原液をアセトニトリルで希釈して 10 µg/mL の混合標準液を調製する。これを段階的にアセトニトリルで希釈して 0.05 及び 0.5 µg/mL の混合標準液を調製する。

0.05 µg/mL 混合標準液をアセトニトリル及び水 (1:1, v/v) 混液で希釈して検量線用の標準液を数点調製し、それぞれ LC-MS/MS に注入し、ピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、5. の検量線を用いて含量を定量する。

7. 測定条件

(例)

装置 : HPLC ; LC-30AD シリーズ (島津製作所製)
: MS ; Triple Quad 5500 (AB Sciex 製)
カラム : ACQUITY UPLC BEH Shield RP18,
: 粒径 ; 1.7 µm, 2.1 mm i.d.×100 mm (Waters 製)
カラム温度 : 40 °C
移動相 : 移動相 A : 0.1% 酢酸水溶液
: 移動相 B : 0.1% 酢酸アセトニトリル溶液

グラジエントプログラム	時間(分)	0.0	5.0	8.0	8.1	10.0	10.1	12.0
	移動相 A(%)	90	20	20	5	5	90	90
	移動相 B(%)	10	80	80	95	95	10	10

