

メタラキシル及びメフェノキサム分析法（畜産物）

1. 分析対象化合物

・メタラキシル（メタラキシルMを含む）及び加水分解により2,6-ジメチルアニリンに変換される代謝物

2. 装置

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

アセトニトリル	:	グラジエントグレード残留農薬試験用 （ChromaSolv®Sigma-Aldrich 34851）
メタノール	:	Sigma Aldrich 34860
蒸留水	:	Braun Melsungen, Aqua ad iniectabilia, No. 536108
水酸化ナトリウム、 <i>n</i> -ヘキサ ン、シクロヘキサ ン、イソプロパノール	:	Merck
99%メタンスルホン酸	:	Merck 8.06022.1000
シリコン消泡剤	:	Merck 1.07743.100
メタラキシルM、2,6-ジ メチルアニリン	:	分析用標準品

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 筋肉、腎臓、肝臓、乳の場合

試料25 g（肝臓は10 g）にアセトニトリル及び超純水（4 : 1）混液250 mLを加え、2分間以上ホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液50 mLをとる。（試料中の含有水分量を考慮すると、ろ液50 mLはそれぞれ筋肉で4.68 g、腎臓で4.65 g、肝臓で1.95 g、乳で4.60 gに相当する）

② 卵の場合

試料15 g（卵殻を除く）にアセトニトリル150 mLを加え、2分間以上ホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液50 mLをとる。（試料中の含有水分量を考慮すると、ろ液50 mLは鶏卵で4.66 gに相当する）

③ 脂肪の場合

試料5 gに酢酸エチル及びシクロヘキサン（1 : 1）混液13 mLを加え、40°Cの湯浴で試料を溶解する。湯浴から外し、アセトニトリル100 mLを加えた後、-20°Cに1時間おき脂肪試料を冷凍し、自然ろ過で脂肪を分離する。ろ紙上の残留物をアセトニトリル25 mLで洗い（2回）、同様にろ過する。得られたろ液をあわせて、超純水2.5 mL及び10%シリコン消泡剤イソプロ

パノール溶液1 mLを加えた後、40℃の湯浴で濃縮し溶媒を除去した後、蒸留水2.5 mLを加え超音波を用いて溶解する。

2) 加水分解

① 筋肉、腎臓、肝臓、乳、卵の場合

1) の抽出溶液50 mLを分液漏斗にとり、*n*-ヘキサン50 mLを加えて30秒間振とうした後、下層（水／アセトニトリル層）を分取し、同様の操作を再度行う。*n*-ヘキサン層をあわせ、アセトニトリル50 mLを加え30秒間振とうし、下層（アセトニトリル層）を分取し、水／アセトニトリル層に合わせる。*n*-ヘキサン層は捨てる。10%シリコン消泡剤イソプロパノール溶液1 mLを加えた後、40℃の湯浴で濃縮する。

99%メタンスルホン酸20 mLを加え、最高温度300℃に設定した還流冷却器で20分間還流を行った後、15分程室温で冷却し、冷却管を通して冷水（冷凍庫で30分冷却）100 mLを加える。攪拌を行いながら25% w/w水酸化ナトリウム水溶液25 mLを加えた後、冷却管を通して水20 mLを加える。pHが1であることを確認する。溶液を吸引ろ過し、還流に用いた容器をメタノール約10 mLで洗い同様に吸引ろ過する。得られたろ液を合わせて、メタノールを加えて正確に200 mLとする。

② 脂肪の場合

1) の抽出溶液に99%メタンスルホン酸20 mLを加え、最高温度300℃に設定した還流冷却器で20分間還流を行った後、15分程室温で冷却し、冷却管を通して冷水（冷凍庫で30分冷却）100 mLを加える。攪拌を行いながら25% w/w水酸化ナトリウム水溶液25 mLを加えた後、冷却管を通して水20 mLを加える。pHが1であることを確認する。溶液を吸引ろ過し、還流に用いた容器をメタノール約10 mLで洗い同様に吸引ろ過する。得られたろ液を合わせて、メタノールを加えて正確に200 mLとする。

5. 検量線の作成

2,6-ジメチルアニリン標準品をトルエンに溶解し、400 μ g/mLの標準原液を調製する。調製した標準原液をメタノールで希釈して100 ng/mLの溶液を調製し、さらに希釈して検量線用標準溶液を数点調製する（0.025, 0.100, 1.00, 2.50, 5.00及び10.0 ng/mLが望ましい）。調製した検量線用標準溶液をそれぞれ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、検量線を用いて含量を定量する。

7. 測定条件

カラム : Luna C18(2), 5 μ m
(150 mm \times 2.0 mm, Phenomenex)
カラム温度 : 40℃

移動相 : A: 0.2%ギ酸アセトニトリル溶液
B: 0.2%ギ酸水溶液

注入量 : 25 μ L

保持時間の目安 : 2,6-ジメチルアニリン ; 3.2分

流量 : 時間 (分) %A %B 流量 (mL/min)

0.0	5.0	95.0	0.60
4.0	40.0	60.0	0.60
7.0	90.0	10.0	0.60
10.0	90.0	10.0	0.60
10.1	5.0	95.0	0.60
14.0	5.0	95.0	0.60

イオン化モード : ESI (+)

モニタリングイオン	プレカーサーイオン (<i>m/z</i>)	プロダクトイオン (<i>m/z</i>)
2,6-ジメチルアニリン	122	105
	122	103

8. 定量限界

乳、鶏卵、筋肉、脂肪及び血液 : 0.01 ppm

肝臓、腎臓 : 0.05 ppm

9. 留意事項

添加回収用標準溶液 (Fortification solution) の作製

メタラキシルM標準品をアセトンに溶解し、400 μ g/mL標準溶液 (原液) を作製する。メタラキシルM標準溶液をアセトニトリルで希釈し、添加回収用標準溶液を数点作製する (25.0, 2.50及び0.250 ng/mLが望ましい)。

※ 本分析法は、農作物及び畜産物における残留試験等において用いられた残留農薬等分析法であり、新たな試験法の開発等に際して参考として下さい。なお、当該分析法をもとに開発した試験法を食品規格への適合判定のために使用する場合には、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について (平成 22 年 12 月 24 日薬食発 1224 第 1 号)」に従って使用する試験法の妥当性を評価する必要があります。