

ニコチン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

ニコチン

2. 装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

酢酸ブチル 酢酸ブチル（特級）

ニコチン標準品 本品はニコチン99%以上を含む。

[²H₃]メチルニコチン標準品 本品は [²H₃]メチルニコチン98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

試料3～5 gを正確に量り採り、内標準物質として [²H₃]メチルニコチン82 ngを添加し、よく混和する。これに、アンモニア水1 mLを加えて、pH 12に調整し、トルエン3 mLを加え、15時間振とう抽出する。4,200回転で遠心分離し、トルエン層2 mLを採る。これに0.05 mol/L塩酸1 mLを加え、1分間激しく混合し、水層0.7～0.8 mLを採り、これに5 mol/L水酸化ナトリウム溶液3滴及びトルエン0.5 mLを加え、1分間激しく混合する。トルエン層を採り、これを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ニコチン標準品及び [²H₃]メチルニコチンを0.01%トリエチルアミン含有酢酸ブチルに溶解し、それぞれ100 mg/L溶液を調製する。これらの溶液を混合し、0.01%トリエチルアミン含有酢酸エチルで希釈して、ニコチン12～240 ng/mL（ [²H₃]メチルニコチン各82 ng/mL含有）溶液を数点調製する。標準原液は暗所に冷凍保存し、使用の直前に希釈する。それぞれ2 μLをGC/MSに注入し、ニコチンと [²H₃]メチルニコチンのピーク高比又はピーク面積比を求め、検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液2 μLをGC/MSに注入し、5の検量線でニコチンの含量を求める。

7. 確認試験

GC/MSにより確認する。

8. 測定条件

GC/MS

カラム：5%フェニル-メチルシリコン、内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μm

カラム温度：70℃（1分）－25℃/分－280℃（3分）

注入口温度：235℃

検出器温度：280℃

イオン化モード（電圧）：EI（70 eV）

主なイオン（*m/z*）：ニコチン162、133、84、^[2H₃]メチルニコチン165、136、87

保持時間の目安：6分（ニコチン及び^[2H₃]メチルニコチンの保持時間はほぼ同じ）

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

内標準物質として^[2H₃]メチルニコチンを添加した試料から、塩基性条件下でニコチンをトルエンで抽出し、酸性条件下で水に転溶する。再度塩基性条件下でトルエンに転溶し、GC/MSで測定及び確認する方法である。

2) 注意点

- (1) 遠心分離を行ってもトルエン層が分離しにくい場合は、塩化ナトリウムを少量加えて混ぜ、再度遠心分離する。
- (2) 夾雑物が少ない試料では、遠心分離後の液々分配による精製を省略することができる。
- (3) 液々分配において、水層の分離が悪い場合は、遠心分離を行うとよい。
- (4) 不活性化処理したライナーに、不活性化処理したガラスウールを詰めて使用する。ライナーを交換した後は、120 ng/mLのニコチンと82 ng/mLの内標準を含む標準溶液を10～15回注入することにより装置を安定化させる必要がある。
- (5) 環境中のニコチンによる試薬や装置の汚染の可能性があるため、事前に確認する必要がある。

11. 参考文献

なし

12. 類型

D (Siegmund, B., et.al., Development of a simple sample preparation technique for gas chromatographic-mass spectrometric determination of nicotine in edible nightshades (Solanaceae) , Journal of Chromatography A, 840, 249-260, 1999)