

ヒメキサゾール（ヒドロキシイソキサゾール）個別分析法

1. 装置

ガスクロマトグラフ：7890A（アジレント・テクノロジー製）

2. 試薬試液

ジエチルエーテル、ジクロロメタン、塩酸、塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム、ジエチレングリコール、炭酸カリウム：試薬特級

アセトン：残留農薬試験用

水：純水製造装置で製造した水（オルガノ製 Analytic ,PRA-0015-0V0）

ヒドロキシイソキサゾール標準品：純度 99.7%（和光純薬工業製）

3. 試験溶液の調製

(1) 抽出

試料 200mL を 500mL 容分液ロートに量り取り、塩化ナトリウム 10g、25%炭酸カリウム溶液 2mL 及びジクロロメタン 50mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振とうし、暫時放置した後、水層を分取した。水層に 6mol/L 塩酸溶液 5mL を加え、pH を 2 付近に調整した後、ジエチルエーテル 100mL を加え振とう機を用いて 5 分間激しく振とうし、暫時放置した後、ジエチルエーテル層を分取した。残った水層についてもジエチルエーテル 100mL を加え、同様の振とう及び分取の操作を繰り返した。

(2) 脱水・濃縮

分取したジエチルエーテル層は無水硫酸ナトリウムをのせたろ紙を通過させ脱水した後、ジエチルエーテル 20mL を用いて無水硫酸ナトリウムを洗い、ジエチルエーテル層及び洗液をナス型フラスコに取り合わせ、2%ジエチレングリコール含有アセトン溶液 1mL を加え、減圧濃縮器を用いて 30℃以下で約 2mL まで濃縮し、窒素ガスで乾固した。残留物にアセトン 2mL を加えて溶解し、試験溶液とした。

4. 測定機器の操作条件

ガスクロマトグラフの操作条件

検出器：NPD

充填剤：TC-FFAP

カラム：内径 0.53mm、長さ 15m、膜厚 1.0μm

カラム温度：180℃

注入口温度：190℃

検出器温度：300℃

ガス流量：キャリアガス；ヘリウム 10mL/分、

水素 3mL/分、空気 60mL/分

注入量：1 μ L

保持時間：約 2.9 分

5. 検量線の作成

ヒドロキシイソキサゾール標準品 20mg（純度換算相当量）を正確に量り取り、アセトンに溶解して 100mL に定容し、200mg/L 標準原液を調製した。この原液をアセトンで希釈して 0.1、0.5、1、1.5 及び 2mg/L の標準溶液を調製した。この 1 μ L を前記条件のガスクロマトグラフに注入し、データ処理装置を用いてピーク高さを測定し、検量線を作成した。

6. 定量試験

試験溶液から 1 μ L を前記のガスクロマトグラフに注入し、検量線よりヒドロキシイソキサゾールの重量を求め、試料中のヒドロキシイソキサゾールの濃度を算出した。

定量限界

定量限界相当量 (ng)	試料採取量 (mL)	最終溶液 (mL)	注入量 (μ L)	定量限界 (μ g/L)
0.1	200	2	1	1

7. 回収試験

分析法確認のため、10 μ g/L 添加濃度における回収試験を 3 連で実施した。回収試験の結果を示す。

添加濃度 (μ g/L)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
10	98, 86, 86	90

ヒメキサゾール（ヒドロキシイソキサゾール）個別分析法

1. 装置

液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS) : 6120

(アジレント・テクノロジー製)

2. 試薬試液

ジエチルエーテル、塩酸、塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム、ぎ酸 : 試薬特級

アセトン : 残留農薬試験用

アセトニトリル : 高速液体クロマトグラフィー用

水 : 純水製造装置で製造した水 (オルガノ製 Analytic ,PRA-0015-0V0)

ヒドロキシイソキサゾール標準品 : 純度 99.7% (和光純薬工業製)

3. 試験溶液の調製

試料 50mL を 300mL 容分液ロートに量り取り、塩化ナトリウム 10g 及び 1mol/L 塩酸 0.5mL を加え、pH を 2 付近に調整した。ジエチルエーテル 100mL を加え振とう機を用いて 5 分間激しく振とうし、暫時放置した後、ジエチルエーテル層を分取した。残った水層についてもジエチルエーテル 100mL を加え、同様の振とう及び分取の操作を繰り返した。

分取したジエチルエーテル層は無水硫酸ナトリウムをのせたろ紙を通過させ脱水した後、ジエチルエーテル 20mL を用いて無水硫酸ナトリウムを洗い、ジエチルエーテル層及び洗液をナス型フラスコに取り合わせ、水 2mL を加え、減圧濃縮器を用いて 40°C 以下で溶媒を留去した。残留した溶液を、水を用いて標線付メスシリンダーに移した後 10mL に定容し、試験溶液とした。

4. 測定機器の操作条件

液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS)の操作条件

充填剤 : YMC Pack ODS-AQ、粒径 5 μ m

カラム : 内径 6.0mm、長さ 15cm、ステンレス製

カラム温度 : 40°C

溶離液 : アセトニトリル/0.1%ぎ酸溶液 (20 : 80 v/v) 混液

流速 : 0.5mL/分

イオン化法 : エレクトロスプレーイオン化法 (Positive)

乾燥ガス温度 : 350°C

乾燥ガス流量 : 12L/分

ネブライザーガス : 35psi

フラグメンター電圧 : 100V

キャピラリー電圧：3500V

イオン化検出法：SIM 法

選択イオン：m/z 100.1

注入量：15 μ L

保持時間：約 8.5 分

5. 検量線の作成

ヒドロキシイソキサゾール標準品 20mg（純度換算相当量）を正確に量り取り、アセトンに溶解し、100mL に定容して 200mg/L 標準原液を調製した。この原液を水で希釈して 0.005、0.01、0.025、0.05、0.075 及び 0.1mg/L の標準溶液を調製した。この 15 μ L を前記条件の液体クロマトグラフ質量分析計に注入し、データ処理装置を用いてピーク高さを測定して検量線を作成した。

6. 定量試験

試験溶液から 15 μ L を前記の液体クロマトグラフ質量分析計に注入し、検量線よりヒドロキシイソキサゾールの重量を求め、試料中のヒドロキシイソキサゾールの濃度を算出した。

定量限界

定量限界相当量 (ng)	試料採取量 (mL)	最終溶液 (mL)	注入量 (μ L)	定量限界 (μ g/L)
0.075	50	10	15	1

7. 回収試験

分析法確認のため、10 μ g/L 添加濃度における回収試験を 3 連で実施した。回収試験の結果を示す。

添加濃度 (μ g/L)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
10	117, 112, 109	113