

## パクロブトラゾールの測定方法

### (1) 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) を用いる。

### (2) 試薬試液

ヘキサン、トルエン、無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用又はこれと同等のもの  
酢酸エチル、アセトニトリル、メタノール：高速液体クロマトグラフィー用又はこれと同等のもの

塩化ナトリウム、塩酸、ギ酸、ギ酸アンモニウム：試薬特級

エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (PSAミニカラム)

パクロブトラゾール標準品

### (3) 試験溶液の調製

#### 1) 酢酸エチル抽出

1 Lの試料を分液ロートに量り取り、50 gの塩化ナトリウムを加え溶解後、100 mLの酢酸エチルを加え5分間振とうする。静置分離後、酢酸エチルを分取し、水層に新たに100 mLの酢酸エチルを加え同様の操作を繰り返す。酢酸エチル層を合わせ、50 mLのヘキサンを加え混合した後、30分間静置する。これを「酢酸エチル抽出①」とする。

先の水層に5 mLの6M塩酸及び80 mLの酢酸エチルを加え5分間振とうする。静置分離後、酢酸エチル層を分取し、水層に新たに80 mLの酢酸エチルを加え同様の操作を繰り返す。酢酸エチル層を合わせ、50 mLのヘキサンを加え混合した後、30分間静置する。これを無水硫酸ナトリウムをのせたろ紙を通過させ、ナス型フラスコに受ける。ロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮し、窒素ガス気流下で乾固する。残留物を5 mLの酢酸エチルに溶解し、酢酸エチル抽出①を無水硫酸ナトリウムで脱水したものと合わせ、ロータリーエバポレーターを用いて5 mLまで減圧濃縮する。

#### 2) PSAカラムによる精製

PSAカラムを、トルエン：アセトニトリル=1：3 (v/v) で洗浄する。抽出液をカラムに加え、トルエン：アセトニトリル=1：3 (v/v) を用いてナス型フラスコを洗いながら同様にカラムに加え、パクロブトラゾールを溶出する。ロータリーエバポレーターを用いて溶出液を約2 mLまで減圧濃縮後、窒素ガス気流下で乾固する。残留物を2 mLのメタノールに溶解し、試験溶液とする。

### (4) 高速液体クロマトグラフ質量分析計操作条件

高速液体クロマトグラフ部

カラム：Cadenza CD-18 粒径3 μm (長さ15 cm、内径2.0 mm、ステンレス製)又はこれと同等の分離性能を有するもの

溶離液： A 5 mMギ酸アンモニウム水溶液

B 5 mMギ酸アンモニウムメタノール溶液

	Time (分)	A(%)	B(%)
1	0.0	85	15
2	1.0	85	15
3	3.5	60	40
4	6.0	60	40
5	16.0	5	95
6	30.0	5	95

流速： 0.2 mL/min

質量分析部

イオンモード：ESI (+)

測定質量数：294.0→70.0

感度：0.005 ng が十分確認できるように感度を調整する。

#### (5) 検量線の作成

パクロブトラゾールの標準品を用いて1000 µg/mLのアセトニトリル溶液を調製し、これをアセトニトリルで順次希釈し数点の検量線用標準液を調製する。それぞれ2 µLずつ測定条件に設定した高速液体クロマトグラフ質量分析計に注入して分析し、ピーク面積を測定し検量線を作成する。

#### (6) 定量試験

試験溶液から2 µLを取り、高速液体クロマトグラフ質量分析計に注入し、(5)の検量線によりパクロブトラゾールの重量を求め、これに基づき試料中のパクロブトラゾール濃度を算出する。