

## GC/MS によるトリコテセン系かび毒(タイプ B)の一斉試験法

### 1. 適用範囲

小麦及び大麦におけるガスクロマトグラフ質量分析計 ( GC/MS ) を使用したかび毒の分析に適用する。

### 2. 分析対象かび毒

デオキシニバレノール、ニバレノール、 3-アセチルデオキシニバレノール、 15-アセチルデオキシニバレノール及びフザレノン-X

### 3. 装置

振とう機: 往復振とう式のもの

遠心分離機: おおむね 1000 × g の遠心加速度がえられるもの

溶媒除去装置: 室温+5 ~ 70 に温度設定ができるもの

試験管ミキサー

ガスクロマトグラフ質量分析計

### 4. 試薬

デオキシニバレノール: 識別番号及び純度又は含有量が記載された分析証明書が発行されているもの

ニバレノール: 識別番号及び純度又は含有量が記載された分析証明書が発行されているもの

3-アセチルデオキシニバレノール: 識別番号及び純度又は含有量が記載された分析証明書が発行されているもの

15-アセチルデオキシニバレノール: 識別番号及び純度又は含有量が記載された分析証明書が発行されているもの

フザレノン-X : 識別番号及び純度又は含有量が記載された分析証明書が発行されているもの

サロゲート物質: 分析種の一部を安定同位体で標識化したもの又は分析種の類縁物質で、試料中の含有量が極めて少ない物質

アセトニトリル: 残留農薬分析用又は高速液体クロマトグラフ用

トリメチルクロロシラン

N-トリメチルシリルイミダゾール

N,O-ビス(トリメチルシリル)アセトアミド

2,2,4-トリメチルペンタン: 高速液体クロマトグラフ用

多機能ミニカラム: MycoSep #227 又は同等のもの

## 5. 標準液の調製

デオキシニバレノール、ニバレノール、3-アセチルデオキシニバレノール、15-アセチルデオキシニバレノール及びフザレノン-X をアセトニトリルに溶解し、10 ~ 100mg/L の溶液を調製する。

## 6. 試料の調製

### a 分析用試料の調製

分析用試料は試験室試料の全量を用いて調製する。ただし、試験室試料が 1kg 以上ある場合は、試験室試料を無作為に採取し分析用試料を 1kg 以上調製してもよい。試験室試料は異物を除きよく混合し、分析用試料の調製に用いる部位がすべて 425 $\mu$ m の標準網ふるいを通過する場合は、これを分析用試料とする。当該部位に 425 $\mu$ m の標準網ふるいを通過しないものがある場合は、スピードミル等を用いて均一に粉碎し、当該ふるいを通過するものをよく混合し分析用試料とする。

### b 試料溶液の調製

分析試料 25.0g を 200mL 容の共栓付き三角フラスコに採取し、アセトニトリル - 水 (84+16、v/v) 100mL 及びサロゲート物質の 2.5 mg/L アセトニトリル溶液 0.5mL を加え、60 分間振り混ぜる。抽出液の一部を遠心沈殿管に分取し、1000 × g で5分間遠心分離する。この上澄み液を多機能ミニカラムにゆっくりと負荷し、溶出液の 3mL を廃棄し、続く溶出液 4 mL を試験管に採取する。採取した溶出液の溶媒を 40 以下で除去し、窒素気流下で乾固させる。溶媒を除去した残留物に、トリメチルクロロシラン、N-トリメチルシリルイミダゾール及び N,O-ビス(トリメチルシリル)アセトアミドを体積比 2:3:3 となるように混合したもの 0.1mL を加え密栓した後、70 で 30 分間反応させる。反応液を室温まで放冷した後、2,2,4-トリメチルペンタン 0.5 mL を加え、試験管ミキサーを用いて 30 秒間振り混ぜる。これに水 0.5mL を加え 5 分間振り混ぜた後、静置して内容を 2 層に分離させ、上層を試料溶液とする。

## 7. 検量線用溶液の調製

標準液をアセトニトリルで希釈したものにサロゲート物質を加えて調製した、サロゲート物質を 0.1mg/L の濃度で含有する適当な濃度の標準液 1mL 又はこれと等量の分析種及びサロゲート物質を含むアセトニトリル溶液を試験管に採取する。この溶液の溶媒を 40 以下で除去し、窒素気流下で乾固させる。溶媒を除去した残留物に、トリメチルクロロシラン、N-トリメチルシリルイミダゾール及び N,O-ビス(トリメチルシリル)アセトアミドを体積比 2:3:3 となるように混合したもの 0.1mL を加え密栓した後、70 で 30 分間反応させる。反応液を室温まで放冷した後、2,2,4-トリメチルペンタン 1mL を加え、試験管ミキサーを用いて 30 秒間振り混ぜる。これに水 1mL を加え 5 分間振り混ぜた後、静置して内容を 2 層に分離させ、上層を検量線用溶液とする。

## 8. 測定

試料溶液をバイアルに充てんし、ガスクロマトグラフ質量計を用いて測定を行う。ガスクロマトグラフの測定条件は以下のとおりとする。

カラム：溶融石英製キャピラリーカラム（35%フェニル-メチルポリシロキサンコート、0.25 mm i.d. × 30 m、膜厚 0.25 μm）

カラム槽温度：初期温度 80 で 1 分間保持後、毎分 20 で昇温し、180 に到達後、毎分 5 で昇温し、300 に到達後、10 分間保持

注入口温度：250

キャリアーガス：ヘリウム 1.0 mL/min

インターフェイス温度：280

イオン化電圧：70 eV

イオン源温度：230

注入方式：スプリットレス

注入量：2 μL

イオン化法：電子衝撃イオン化法

選択イオン：デオキシニバレノール 422、235m/z、ニバレノール 379、289m/z、3-アセチルデオキシニバレノール 392、467m/z、15-アセチルデオキシニバレノール 392、295m/z、フザレノン-X 480、251m/z

## 9. 定性

定性は、試料溶液と標準液の測定結果の比較により行い、共に選択イオンが検出され、かつ、保持時間が一致した場合に当該物質を検出したものと判定する。

## 10. 定量及び計算

定量は、サロゲート物質との比に基づく内標準法により行う。検量線は、標準液から用時調製した検量線用溶液を用いて測定日毎に作成する。試料中の分析種濃度は次式により算出する。

$$\text{試料中濃度 (}\mu\text{g/g)} = \frac{\text{試料溶液中濃度 (}\mu\text{g/mL)} \times 100 \text{ (mL)}}{8 \times \text{試料採取量 (g)}}$$

## 11. 施上の注意

高濃度に汚染された器具の洗浄及び標準液の廃棄は適切に処理を行い、汚染物質の漏出防止に努めること。

デオキシニバレノール等は毒性物質であるので、その取り扱いには十分注意すること。特に標

準品のひょう取時は、これらを吸入する危険が最も高いので注意すること。