

テトラニリプロール分析法（農産物）

1. 分析対象化合物

- ・テトラニリプロール

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

テトラニリプロール	:	分析用標準品
アセトニトリル	:	残留農薬試験用、LC/MS 用
トルエン	:	残留農薬試験用
酢酸	:	HPLC 用、特級
水	:	PURELAB Flex System（Veolia Water Solutions & Technologies 製）で精製した水
C ₁₈ ミニカラム	:	InertSep C18-C、1 g/6 mL（ジーエルサイエンス製）
グラファイトカーボンミニカラム	:	InertSep GC、0.5 g/6 mL（ジーエルサイエンス製）

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類及び豆類の場合

粉砕した試料 10 g に水 20 mL を加え、30 分間放置する。これにアセトニトリル、水及び酢酸（90 : 10 : 0.5, v/v/v）混液 100 mL を加え、30 分間振とうした後、吸引ろ過する。残留物をアセトニトリル、水及び酢酸（90 : 10 : 0.5, v/v/v）混液 50 mL で洗い、同様にろ過する。得られたろ液をあわせ、アセトニトリル、水及び酢酸（90 : 10 : 0.5, v/v/v）混液を加えて 200 mL とする。

② 果実及び野菜の場合

均一化した試料 20 g にアセトニトリル、水及び酢酸（90 : 10 : 0.5, v/v/v）混液 100 mL を加え、30 分間振とうした後、吸引ろ過する。残留物をアセトニトリル、水及び酢酸（90 : 10 : 0.5, v/v/v）混液 50 mL で洗い、同様にろ過する。得られたろ液をあわせ、アセトニトリル、水及び酢酸（90 : 10 : 0.5, v/v/v）混液を加えて 200 mL とする。

③ 茶の場合

粉砕した試料 5 g に水 20 mL を加え、30 分間放置する。これにアセト

ニトリル、水及び酢酸（90：10：0.5, v/v/v）混液 100 mL を加え、30 分間振とうした後、吸引ろ過する。残留物をアセトニトリル、水及び酢酸（90：10：0.5, v/v/v）混液 50 mL で洗い、同様にろ過する。得られたろ液をあわせ、アセトニトリル、水及び酢酸（90：10：0.5, v/v/v）混液を加えて 200 mL とする。

2) 精製

①穀類及び豆類の場合

C₁₈ ミニカラムに 0.1%酢酸含有アセトニトリル及び 0.1%酢酸を順次 5 mL ずつ流下して前処理する。このカラムに 1) で得られた抽出液 2 mL 及び 0.1%酢酸 5 mL の混液を流下する。次にアセトニトリル、水及び酢酸（30：70：0.1, v/v/v）混液 5 mL で容器内を洗浄した後、これをミニカラムに流下し、流出液を捨てる。その後、アセトニトリル、水及び酢酸（70：30：0.1, v/v/v）混液 10 mL で容器内を洗浄した後、これをミニカラムに流下し、溶出液を取る。これをアセトニトリル、水及び酢酸（70：30：0.1, v/v/v）混液で 20 mL に定容して試験溶液とする。

②果実及び野菜の場合

C₁₈ ミニカラムに 0.1%酢酸含有アセトニトリル及び 0.1%酢酸を順次 5 mL ずつ流下して前処理する。このカラムに 1) で得られた抽出液 1 mL 及び 0.1%酢酸 4 mL の混液を流下する。次にアセトニトリル、水及び酢酸（30：70：0.1, v/v/v）混液 5 mL で容器内を洗浄した後、これをミニカラムに流下し、流出液を捨てる。その後、アセトニトリル/水、水及び酢酸（70：30：0.1, v/v/v）混液 10 mL で容器内を洗浄した後、これをミニカラムに流下し、溶出液を取る。これをアセトニトリル、水及び酢酸（70：30：0.1, v/v/v）混液で 20 mL に定容して試験溶液とする。

③茶の場合

グラファイトカーボンミニカラムにアセトニトリル及び水を順次 5 mL ずつ流下して前処理する。このカラムに 1) で得られた抽出液 2 mL 及び水 5 mL の混液を流下する。次にアセトニトリル 5 mL で容器内を洗浄した後、これをミニカラムに流下し、流出液を捨てる。その後、アセトニトリル及びトルエン（3：1, v/v）混液 15 mL で容器内を洗浄した後、これをミニカラムに流下し、溶出液を取る。これを 40°C 以下の水浴中で減圧濃縮し、窒素気流下で溶媒を留去する。

C₁₈ ミニカラムに 0.1%酢酸含有アセトニトリル及び 0.1%酢酸を順次 5 mL ずつ流下して前処理する。前の操作の濃縮物をアセトニトリル、水及び酢酸（30：70：0.1, v/v/v）混液 5 mL に溶解した後、これをミニカラムに流下し、流出液を捨てる。さらにアセトニトリル、水及び酢酸（30：70：0.1, v/v/v）混液 5 mL で容器内を洗浄した後、これをミニカラムに流下し、流出液を捨てる。その後、アセトニトリル、水及び酢酸（70：30：0.1, v/v/v）混液 9.5 mL で容器内を洗浄した後、これをミニカラムに流下し、溶出液を取る。これを

アセトニトリル、水及び酢酸（70：30：0.1, v/v/v）混液で 10 mL に定容して試験溶液とする。

5. 検量線の作成

① 穀類、豆類及び茶の場合

テトラニリプロール標準品をアセトニトリルに溶解し、0.1 µg/mL の標準原液を調製する。これをアセトニトリル、水及び酢酸（70：30：0.1, v/v/v）混液で希釈して検量線用の標準溶液を数点調製し、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。

② 果実及び野菜の場合

テトラニリプロール標準品をアセトニトリルに溶解し、0.2 µg/mL の標準原液を調製する。これをアセトニトリル、水及び酢酸（70：30：0.1, v/v/v）混液で希釈して検量線用の標準溶液を数点調製し、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、5. の検量線を用いて農産物中の含量を定量する。

7. 測定条件

(例)

装置	:	HPLC ; UltraLC 110-XL (AB Sciex 製)															
	:	MS ; Triple Quad 4500 (AB Sciex 製)															
カラム	:	Zorbax Eclipse Plus C ₁₈ 、粒径 ; 1.8 µm、2.1 mm i.d.×100 mm, (Agilent Technologies 製)															
カラム温度	:	40 °C															
移動相	:	移動相 A ; 0.1%酢酸 移動相 B ; 0.1%酢酸含有アセトニトリル (v/v)															
グラジエントプログラム	:	<table border="1"><thead><tr><th>時間 (分)</th><th>移動相 A (%)</th><th>移動相 B (%)</th></tr></thead><tbody><tr><td>0.0</td><td>70</td><td>30</td></tr><tr><td>0.5</td><td>70</td><td>30</td></tr><tr><td>5.0</td><td>10</td><td>90</td></tr><tr><td>5.5</td><td>10</td><td>90</td></tr></tbody></table>	時間 (分)	移動相 A (%)	移動相 B (%)	0.0	70	30	0.5	70	30	5.0	10	90	5.5	10	90
時間 (分)	移動相 A (%)	移動相 B (%)															
0.0	70	30															
0.5	70	30															
5.0	10	90															
5.5	10	90															
流量	:	0.3 mL/min															
注入量	:	2 µL															
保持時間の目安	:	約 3.8 分															
イオン化モード	:	ESI (+)															
イオン検出法	:	MRM 法															

モニタリング
イオン

:

	プリカーサー イオン (m/z)	プロダクト イオン (m/z)
テトラニリ プロール	545.1	355.8

8. 定量限界
0.01 ppm

9. 添加回収試験を実施した食品
玄米、だいた、はくさい、りんご、茶

10. 留意事項
特になし

※ 本分析法は、農産物における作物残留試験等において用いられた残留農薬分析法であり、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。