

ピリフルキナゾン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

ピリフルキナゾン

1,2,3,4-テトラヒドロ-3-[(3-ピリジルメチル)アミノ]-6-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]キナゾリン-2-オン（以下「代謝物B」という。）

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

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

ピリフルキナゾン標準品 本品はピリフルキナゾン95%以上を含む。

代謝物B標準品 本品は代謝物B 95%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類、豆類及び種実類の場合

試料10.0 gに水20 mLを加え、30分間放置する。これにアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に200 mLとする。この10 mLを採り、水20 mLを加える。

② 果実及び野菜の場合

試料20.0 gにアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に200 mLとする。この5 mLを採り、水10 mLを加える。

③ 茶の場合

試料5.00 gに水20 mLを加え、30分間放置する。これにアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に200 mLとする。この10 mLを採り、水20 mLを加える。

2) 精製

ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (500 mg) にアセトニトリル及び水各10 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル及び水 (3 : 7) 混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及び水 (1 : 1) 混液10 mLを注入し、溶出液をアセトニトリル及び水 (1 : 1) 混液で正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ピリフルキナゾン標準品及び代謝物B標準品のアセトニトリル及び水 (1 : 1) 混液の溶液を数点調製し、それぞれをLC-MS/MSに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。本法に従って試験溶液を調製した場合、穀類、豆類、種実類、果実及び野菜では試料中0.01 mg/kgに相当する試験溶液中濃度は各化合物とも0.0005 mg/Lであり、茶では試料中0.02 mg/kgに相当する試験溶液中濃度は各化合物とも0.0005 mg/Lである。なお、代謝物Bについては、ピリフルキナゾンに換算した値である。

6. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、5の検量線でピリフルキナゾン及び代謝物Bの含量を求める。代謝物Bを含むピリフルキナゾンの含量を求める場合には、次式により求める。

ピリフルキナゾン（代謝物Bを含む。）の含量（ppm） = $A+B \times 1.100$

A：ピリフルキナゾンの含量（ppm）

B：代謝物Bの含量（ppm）

7. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

8. 測定条件

（例）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2.0 mm、長さ150 mm、粒子径5 μm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び5 mmol/L酢酸アンモニウム溶液（1：1）混液

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）

ピリフルキナゾン：プリカーサーイオン 465、プロダクトイオン 423、107、93、92

代謝物B：プリカーサーイオン 423、プロダクトイオン 107、93、92

注入量：10 μL

保持時間の目安

ピリフルキナゾン：8分

代謝物B：6分

9. 定量限界

各化合物 0.01 mg/kg（代謝物Bはピリフルキナゾン換算）

茶の場合は、各化合物 0.02 mg/kg（代謝物Bはピリフルキナゾン換算）

10. 留意事項

1) 試験法の概要

ピリフルキナゾン及び代謝物Bを試料からアセトンで抽出し、ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製した後、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

① メタノールの使用により、ピリフルキナゾンの一部が代謝物Bに変換される可能性がある。

② ピリフルキナゾン及び代謝物BのLC-MS/MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

ピリフルキナゾン

定量イオン（*m/z*）：プリカーサーイオン 465、プロダクトイオン 92

定性イオン（*m/z*）：プリカーサーイオン 465、プロダクトイオン 423、107、93

代謝物B

定量イオン（*m/z*）：プリカーサーイオン 423、プロダクトイオン 92

定性イオン（*m/z*）：プリカーサーイオン 423、プロダクトイオン 107、93

1 1. 参考文献

なし

1 2. 類型

C