

ピフルブミド分析法（農産物）

1. 分析対象化合物

- ・ピフルブミド
- ・3'-イソブチル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド（代謝物B）

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

アセトン、アセトニトリル、 ヘキサン、メタノール	: 残留農薬試験用
メタノール	: LC-MS 用
水	: 脱イオン水を Milli-Q System (Millipore 製) で精製したもの の分析用標準品
ピフルブミド、代謝物 B	: 分析用標準品
その他の試薬	: 特級
グラファイトカーボンミニカラム	: InertSep GC、150 mg/3 mL (ジーエルサイエンス製)

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 果実の場合

均一化した試料 20.0 g にアセトン 100 mL を加え、30 分間振とう抽出した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン 50 mL を加え、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。この溶液から正確に 2 mL を分取し、これに飽和食塩水 4 mL を加え、*n*-ヘキサン 6 mL で振とう抽出する。その後、*n*-ヘキサン層を分取する。

② 茶の場合

粉砕した試料 5.0g に水 20 mL を加え、2 時間放置する。これにアセトン 80 mL を加え、30 分間振とう抽出した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン及び水（4：1）混液 50 mL を加えて、同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトン及び水（4：1）混液を加えて正確に 200 mL とする。この溶液から正確に 2 mL を分取し、これに飽和食塩水 4 mL を加え、*n*-ヘキサン 6 mL で振とう抽出する。その後、*n*-ヘキサン層を分取する。

2) 精製

グラファイトカーボンミニカラムに *n*-ヘキサン 5 mL を注入し、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、*n*-ヘキサン 4 mL を注入し、全ての溶出液を 40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に水及びメタノール（2：3）混液を加えて溶かし、20～100 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ピフルブミド及び代謝物Bの標準品をアセトニトリルに溶解し、500 mg/L 標準溶液を調製する。この溶液を水及びメタノール（2：3）混液で希釈して数点調製し、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. の検量線を用いて含量を定量する。

7. 測定条件

(例)

装置 Agilent 1290 シリーズ HPLC
Agilent 6460 Triple Quadrupole LC/MS

カラム : Zorbax SB-C18
(2.1 μ m、1.8 mm i.d.×100mm、Agilent 製)

カラム温度 : 40 °C

移動相 : メタノール/0.1%酢酸
60:40 (2 分間保持) – 90:10 (3 分間保持)

流量 : 0.3 mL/min

注入量 : 2 μ L

保持時間の目安 : ピフルブミド ; 3.6 分、代謝物 B ; 3.3 分

イオン化法 : ESI (positive)

モニタリングイオン		プリカーサーイオン (<i>m/z</i>)	プロダクトイオン (<i>m/z</i>)
	ピフルブミド	536.2	155.1
	代謝物 B	466.1	137.1

8. 定量限界

ピフルブミド : 0.01~0.05 ppm

代謝物 B : 0.02~0.06 ppm

9. 添加回収を実施した食品

りんご、茶、あずき、ピーマン、なす、きゅうり、すいか、メロン、さやいんげん、みかん、なつみかん、日本なし、もも、うめ、おうとう、いちご、ぶどう、かき及びいちじく。

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。