

イプフルフェノキン分析法（農作物）

1. 分析対象化合物

- ・イプフルフェノキン

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

イプフルフェノキン	:	分析用標準品
アセトニトリル	:	特級
酢酸	:	精密分析用
アセトニトリル	:	HPLC用
水	:	水道水をMilli-Q System（Millipore製）で精製したもの
PLS-2ミニカラム	:	InertSep PLS-2（ジーエルサイエンス製） 500mg/6mL

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類及び豆類の場合

粉碎した試料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及び水（4：1）混液100 mLを加え、30分間振とうした後、毎分8500回転で5分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にアセトニトリル及び水（4：1）混液50 mLを加え、10分間振とうした後、遠心分離し、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせ、水を加えて正確に200 mLとする。

② 果実及び野菜の場合

均一化した試料20 gにアセトニトリル及び水（4：1）混液100 mLを加え、3分間ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物をアセトニトリル及び水（4：1）混液50 mLで洗浄し、洗浄液をろ過する。得られたろ液を合わせ、水を加えて正確に200 mLとする。

③ 茶の場合

粉碎した試料5 gに水10 mLを加え、30分間放置する。これにアセトニトリル及び水（4：1）混液100 mLを加え、3分間ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物をアセトニトリル及び水（4：1）混液50 mLで洗浄し、洗浄液をろ過する。得られたろ液を合わせ、水を加えて正確に200 mLとする。

2) 精製

PLS-2ミニカラムによる精製

① 穀類及び豆類の場合

PLS-2ミニカラムにアセトニトリル5 mL、アセトニトリル及び水（2：3）混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1）で得られた抽出液2 mLを注入し、流出液は捨てる。その後、アセトニトリル及び水（2：3）混液8 mLを注入し、流出液及びカラム内の残液は捨てる。次いで、アセトニトリル5 mLを注入し、溶出液を目盛付容器に捕集して、アセトニトリルで10 mLに定容し、試験溶液とする。

② 果実及び野菜の場合

PLS-2ミニカラムにアセトニトリル5 mL、アセトニトリル及び水（2：3）混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1）で得られた抽出液2 mLを注入し、流出液は捨てる。その後、アセトニトリル及び水（2：3）混液8 mLを注入し、流出液及びカラム内の残液は捨てる。次いで、アセトニトリル5 mLを注入し、溶出液を目盛付容器に捕集して、アセトニトリルで20 mLに定容し、試験溶液とする。

③ 茶の場合

PLS-2ミニカラムにアセトニトリル5 mL、アセトニトリル及び水（2：3）混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1）で得られた抽出液2 mLを注入し、流出液は捨てる。その後、アセトニトリル及び水（2：3）混液8 mLを注入し、流出液及びカラム内の残液は捨てる。次いで、アセトニトリル5 mLを注入し、溶出液を目盛付容器に捕集して、アセトニトリルで5 mLに定容し、試験溶液とする。

5. 検量線の作成

イプフルフェノキン標準品をアセトニトリルに溶解し、100 µg/mLの標準原液を調製する。調製した標準原液をアセトニトリルで希釈して検量線用の標準液を数点調製し、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. の検量線を用いて含量を定量する。

7. 測定条件

装置	: LC-30AD シリーズ（島津製作所製）／QTRAP5500 （AB Sciex 製）
カラム	: ACQUITY UPLC BEH C ₁₈ 1.7 µm （2.1 mm i.d.×100 mm,）

カラム温度 : 40 °C

移動相 移動相A : 0.1%酢酸
移動相B : 0.1%酢酸アセトニトリル溶液

グラジエント	時間 (分)	0.0	6.0	6.5	6.6	8.0
	移動相A (%)	90	10	10	90	90
	移動相B (%)	10	90	90	10	10

流量 : 0.5 mL/min

注入量 : 10 µL

保持時間の目安 : イプフルフェノキン ; 4.8分

イオン化モード : APCI (+)

モニタリング イオン		プレカーサー イオン (m/z)	プロダクト イオン (m/z)
	イプフルフェノキン	348.1	330.1

8. 定量限界

イプフルフェノキン : 0.005 mg/kg

9. 添加回収試験を実施した食品

あずき、きゅうり、りんご、温州みかん、玄米、粳米

10. 留意事項

イオン化モードとしてESI (+) を使用する場合には、マトリックス効果に注意する。

※ 本分析法は、農作物及び畜産物における残留試験等において用いられた残留農薬等分析法であり、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。