

ピジフルメトフェン分析法（農作物）

I. ピジフルメトフェン試験法（農作物）（国内）

1. 分析対象化合物

- ・ピジフルメトフェン

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

- ピジフルメトフェン : 分析用標準品
標準品
- アセトニトリル : HPLC用
- 水 : Analytic. PRA-0015-0V0（オレガノ(株)製）で
精製したもの
- アセトニトリル、*n*-へ : 特級試薬
キサン、アセトン、
塩化ナトリウム、無
水硫酸ナトリウム、
ギ酸
- SIミニカラム : InertSep Slim-J SIミニカラム（1000 mg）
（ジーエルサイエンス(株)製）

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

均一化した試料20 gに水30 mLを加え2時間放置後、アセトニトリル100 mLを加え30分間振とうし、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を30 mLのアセトニトリルで2回洗う。ろ液及び洗液を合わせ、アセトニトリルで200 mL定容とする。

2) *n*-ヘキサン転溶

定容液10 mLをとり、10%塩化ナトリウム80 mL及び*n*-ヘキサン80 mLを加え5分間振とうする。静置分離後、*n*-ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムに通過させ脱水する。水層に*n*-ヘキサン80 mLを加え、同様の操作を繰り返す。脱水した*n*-ヘキサン層を合わせ、2 mLまで減圧濃縮後、通風乾固し、*n*-ヘキサン5 mLを加え溶解する。

3) 精製

SIミニカラムに*n*-へキサン10 mLを流下させ、カラムを洗浄する。溶解液をカラムに注入し流下させた後、アセトン及び*n*-へキサン（1：9）混液20 mLを注入し、流出液は捨てる。アセトン及び*n*-へキサン（1：4）混液10 mLを注入し、溶出液を40°C以下で2 mLまで減圧濃縮後、通風乾固し、アセトニトリル5 mLに溶解して測定溶液とする。

5. 検量線の作成

ピジフルメトフェン標準品をアセトニトリルに溶解し、200 mg/L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順次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、ピーク高さ法により検量線を作成する。

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 : HP1100シリーズ（アジレント・テクノロジー（株）製）
MS : API-2000アプライドバイオシステムズジャパン（株）製
又は
LC-MS/MS : API3200Q TRAP（アプライドバイオシステムズジャパン（株）製）

カラム : Inertsil ODS-3（4 μm 2.1 mm i.d.×100 mm, ジーエルサイエンス製）
又はInertsil ODS-4（3 μm 2.1 mm i.d.×100 mm, ジーエルサイエンス製）

カラム温度 : 40°C

移動相 : 移動相A : 0.1%ギ酸
移動相B : アセトニトリル

グラジエント :

| 時間 (分) | 移動相A(%) | 移動相B(%) |
|--------|---------|---------|
| 0.00 | 25 | 75 |
| 4.50 | 25 | 75 |
| 4.51 | 2 | 98 |
| 10.00 | 2 | 98 |
| 10.01 | 25 | 75 |
| 20.00 | 25 | 75 |

流量 : 0.2 mL/min
 注入量 : 2 μ L又は1 μ L
 保持時間の目安 : 3.8分
 イオン化モード : ESI (+)

モニタリングイオン :

| | フリカサーイオン (<i>m/z</i>) | プロダクトイオン (<i>m/z</i>) |
|-----------|----------------------------|----------------------------|
| ピジフルメトフェン | 426.0 | 192.9 |

8. 定量限界
0.005 mg/kg

9. 添加回収試験を実施した食品
小麦

10. 留意事項
特になし

※ 本分析法は、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。

II. ピジフルメトフェン分析法（農作物）（海外）

1. 分析対象化合物

- ・ピジフルメトフェン

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

| | | |
|---|---|-------------------------------|
| ピジフルメトフェン | : | 分析用標準品 |
| 標準品 | | |
| アセトニトリル、メ タノール、水 | : | HPLC用 |
| 水 | : | LC/MS用 |
| 濃縮ギ酸、氷酢酸 | : | ACS（アメリカ化学会規格） |
| C ₁₈ 粉末 | : | BONDECIL C18（40 μm）（Agilent製） |
| ジビニルベンゼン- <i>N</i> - ビニルピロリドン共 重合体ミニカラム | : | Oasis HLB（200 mg, 6 mL） |

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 水分量の多い農作物試料

試料10 gにアセトニトリル及び水（4：1）混液100 mLを加え、ホモジナイズした後、遠心分離し、上清を回収する。沈殿物にアセトニトリル及び水（4：1）混液100 mLを加え、ホモジナイズした後、遠心分離し、上清を先に回収した上清と取り合わせる。

② 乾燥した農作物試料の場合

試料10 gにアセトニトリル及び水（4：1）混液100 mLを加えて20分間放置し、ホモジナイズした後、遠心分離し、上清を回収する。沈殿物にアセトニトリル及び水（4：1）混液100 mLを加え、ホモジナイズした後、遠心分離し、上清を先に回収した上清と取り合わせる。

③ 油分量の多い農作物試料の場合

試料10 gにアセトニトリル100 mLを加えて15分間放置し、ホモジナイズした後、遠心分離し、上清を回収する。沈殿物にアセトニトリル100 mLを加え、ホモジナイズした後、遠心分離し、上清を先に回収した上清と取り合わせる。抽出液2.5 mLをC₁₈粉末100 mgに加えて混合し、0.20 μm PTFEシリンジフィルターを通してろ過液を回収する。

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 (200 mg) にメタノール、アセトニトリル、アセトニトリル及び水 (1 : 4) 混液各1 mLを順次注入する。このカラムに1) で得られた抽出液1.0 mL及び水4.0 mLの混液を注入し、溶出液は捨てる。アセトニトリル及び水 (1 : 4) 混液1 mLで5回ミニカラムを洗浄した後、アセトニトリル1 mLを3回注入し、溶出液を回収する。溶出液を窒素気流下約40°Cで約0.2 mLに濃縮した後、アセトニトリル及び水 (1 : 4) 混液で5.0 mL定容としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ピジフルメトフェン標準品をアセトニトリルに溶解し、1.0 µg/mLの標準溶液を作成する。調製した標準液をアセトニトリル及び水 (1 : 4) 混液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 : Surveyor Plus LC System (Thermo Scientific製)
 カラム : Discovery C8, 2.1 x 50 mm, 5.0 µm (Sigma Aldrich製)
 カラム温度 : 25°C
 移動相 : 移動相A : 0.1%ギ酸
 移動相B : 0.1%ギ酸アセトニトリル溶液

グラジエント :

| 時間 (分) | 移動相A(%) | 移動相B(%) |
|--------|---------|---------|
| 0.0 | 70 | 30 |
| 1.0 | 70 | 30 |
| 3.0 | 10 | 90 |
| 5.0 | 10 | 90 |
| 5.1 | 70 | 30 |
| 6.0 | 70 | 30 |

流量 : 0.35 mL/min
 注入量 : 50 µL
 保持時間の目安 : 4.14分
 イオン化モード : 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>) |
|-----------|-----------------------------|----------------------------|
| ビジフルメトフェン | 426.0 | 192.9 |

8. 定量限界
0.01 mg/kg

9. 添加回収試験を実施した食品

りんご、レタス、トマト、キャベツ、えんどうまめ、乾燥豆、穀類、ばれいしょ、なたね及びびぶどう

10. 留意事項
特になし

※ 本分析法は、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。