

ベンズピリモキサン分析法（畜産物）

1. 分析対象化合物

- ・ベンズピリモキサン
- ・代謝物 2-hydroxy-4-[4-(trifluoromethyl)]benzyloxy]pyrimidine-5-carboxylic acid

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

アセトニトリル	:	残留農薬試験用
アセトニトリル	:	HPLC用
ギ酸	:	HPLC用
水	:	HPLC用
アセトン	:	特級
ヘキサン	:	特級
ベンズピリモキサン	:	分析用標準品
2-hydroxy-4-[4-(trifluoromethyl)]benzyloxy]pyrimidine-5-carboxylic acid	:	分析用標準品
オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（C ₁₈ ミニカラム）	:	Waters Sep-Pak C ₁₈ （Waters製）100 mg/1mL
スチレンジビニルベンゼンポリマーゲルミニカラム（PLS-2ミニカラム）	:	InertSep PLS-2（ジーエルサイエンス製）265 mg/6 mL

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 肝臓、腎臓、筋肉、卵の場合

磨砕・均一化した試料5 gに、アセトニトリル及び水（1 : 1）混液40 mLを加え、20分間振とうする。2000 rpmで3分間遠心分離し、有機層を採る。残渣にアセトニトリル及び水（1 : 1）混液40 mLを加え、20分間振とうする。2000 rpmで3分間遠心分離し、有機層を採る。得られた有機層を先の有機層に合わせ、アセトニトリル及び水（1 : 1）で100 mLに定容する。

② 脂肪の場合

磨砕・均一化した試料5 gに、ヘキサン及びアセトン（4 : 1）混液40 mLを加え、20分間振とうする。2000 rpmで3分間遠心分離し、有機層を採る。残渣にアセトニトリル及び水（1 : 1）混液40 mLを加え、20分間振とうする。2000 rpmで3分間遠心分離し、有機層を採る。得られた有機層を先の有機層に合わ

せ、1分間振とうする。下層の有機層を別の容器に分取し、残った上層にアセトニトリル30 mLを加え、1分間振とうし、下層の有機層を採る。得られた有機層を先の有機層に合わせ、水で100 mLに定容する。

③ 乳の場合

抽出操作なし。試料5 gを50 mL用チューブに分取する。

2) 精製

① 肝臓、腎臓、筋肉、脂肪、卵の場合

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (C₁₈ミニカラム) による精製
C₁₈ミニカラムにアセトニトリル及び水を順次1 mLずつ注入し、前処理する。このカラムに1) で得られた抽出液2 mLを注入し、溶出液は捨てる。その後、アセトニトリル1 mLを注入し、溶出液を回収する。溶出液は水で6 mLに定容し、0.45 µm PVDFフィルターでろ過したものを試験溶液とする。

② 乳の場合

スチレンジビニルベンゼンポリマーゲルミニカラム (PLS-2ミニカラム) による精製

PLS-2ミニカラムにアセトニトリル及び水を順次5 mLずつ注入し、前処理する。このカラムに試料4.9 gを注入し、溶出液は捨てる。試料を入れていた50 mL容チューブを水5 mLで洗浄し、同ミニカラムに注入し、溶出液は捨てる。試料を入れていた50 mL容チューブをアセトニトリル5 mLで洗浄し、同ミニカラムに注入し、溶出液を回収する。溶出液のうち約300 µLを0.45 µm PVDFフィルターでろ過し、ろ液100µLをアセトニトリル及び水 (1 : 1) 混液 900 µLと混合したものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ベンズピリモキサン標準品及び2-hydroxy-4-[4-(trifluoromethyl)benzyloxy]pyrimidine-5-carboxylic acid標準品をそれぞれアセトニトリルに溶解し、0.1 mg/mLの標準溶液を調製する。調製した標準液をそれぞれ一定量ずつ混合し、10 µg/mLの混合標準溶液を調製する。それをさらに希釈溶液で希釈して1 µg/mLの混合標準溶液を調製し、さらに希釈溶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。

なお、希釈溶液は、マトリックスフリー検量線 (乳分析用) にはアセトニトリル及び水 (1 : 1) 混液を、マトリックスマッチ検量線 (肝臓、腎臓、脂肪分析用) にはそれぞれの無処理区の試料の抽出液を用いた。

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 : Agilent 1260 Series / API 4000 (AB Sciex 製)
 カラム : Imtakt Cadenza CD-C₁₈、粒子径3 μm (長さ75 mm×内径2 mm) 及びCD-C₁₈ (4 mm×2 mm) ガードカートリッジ
 カラム温度 : 40 °C
 移動相 : A) 0.1%ギ酸 (v/v)
 B) 0.1%ギ酸含有アセトニトリル溶液 (v/v)

グラジエント :

時間(分)	%A	%B
0.00	80	20
0.250	80	20
4.25	0	100
6.75	0	100
6.75	80	20
11.75	80	20

流量 : 0.3 mL/min
 注入量 : 10 μL
 保持時間の目安 : ベンズピリモキサン ; 5.8分
 : 2-hydroxy-4-[4-(trifluoromethyl)]benzyloxy]pyrimidine-5-carboxylic acid ; 4.1分

モニタリングイオン

分析対象	プリカーサーイオン (m/z)	プロダクトイオン (m/z)
ベンズピリモキサン	341.0	159.0
	341.0	109.0
NNI-1501-acid-2-OH	315.3	159.1
	315.3	109.4

8. 定量限界

ベンズピリモキサン : 0.01 mg/kg、
 2-hydroxy-4-[4-(trifluoromethyl)]benzyloxy]pyrimidine-5-carboxylic acid : 0.01 mg/kg

9. 添加回収試験を実施した食品

牛乳、牛の筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、鶏卵、鶏の筋肉、肝臓、脂肪

10. 留意事項

水産物は、畜産物の分析法を参考にして適宜改良して実施すること



※ 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。