

## ジクロベニル及びフルオピコリド試験法（農産物）

### 1. 分析対象化合物

ジクロベニル

2,6-ジクロロベンズアミド

フルオピコリド

### 2. 適用食品

果実及び野菜

### 3. 装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC-MS）

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

### 4. 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。

グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム（500 mg / 500 mg）内径12～13 mmのポリエチレン製のカラム管に、上層にグラファイトカーボンを、下層にエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルを各500 mg充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

ジクロベニル標準品 本品はジクロベニル 98%以上を含む。

2,6-ジクロロベンズアミド標準品 本品は 2,6-ジクロロベンズアミド 98%以上を含む。

フルオピコリド標準品 本品はフルオピコリド 98%以上を含む。

### 5. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

果実及び野菜の場合は試料 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。この溶液から正確に 40 mL を分取し、40℃以下で約 6 mL に濃縮する。これに 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 30 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン（7：3）混液 30 mL ずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液に 2 w/v%ジエチレングリコール・アセトン溶液 0.5 mL を加えて 40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトニトリル 2 mL を加えて溶かす。

#### 2) 精製

グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム（500 mg / 500 mg）にアセトニトリル 10 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、さらにアセトニトリル 15 mL を注入して全溶出液を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶かし正確に 2 mL としたものをジクロベニル及び 2,6-ジクロロベンズアミドの試験溶液とする。ジクロベニル及び 2,6-ジクロロベンズアミドの試験溶液から正確に 0.2 mL を分取し、水及びメタノール（1：1）混液を加えて正確に 1 mL としたものをフルオピコリドの試験溶液とする。

### 6. 検量線の作成

#### 1) ジクロベニル及び 2,6-ジクロロベンズアミド

ジクロベニル及び 2,6-ジクロロベンズアミド標準品の 0.5 w/v% ジエチレングリコール・アセトン溶液を数点調製し、それぞれ GC-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。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中 0.01 mg/kg に相当する試験溶液中濃度は 0.02 mg/L である。

## 2) フルオピコリド

フルオピコリド標準品の水及びメタノール (1 : 1) 混液の溶液を数点調製し、それぞれ 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。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中 0.01 mg/kg に相当する試験溶液中濃度は 0.004 mg/L である。

## 7. 定量

### 1) ジクロベニル及び 2,6-ジクロロベンズアミド

ジクロベニル及び 2,6-ジクロロベンズアミドの試験溶液を GC-MS に注入し、6. 1) の検量線でジクロベニル及び 2,6-ジクロロベンズアミドの各含量を求める。

2,6-ジクロロベンズアミドを含むジクロベニルの含量を求める場合には、次式により求める。

ジクロベニル (2,6-ジクロロベンズアミドを含む。) の含量 =  $A + B \times 0.9052$

A : ジクロベニルの含量 (ppm)

B : 2,6-ジクロロベンズアミドの含量 (ppm)

### 2) フルオピコリド

フルオピコリドの試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. 2) の検量線でフルオピコリドの含量を求める。

## 8. 確認試験

GC-MS 又は LC-MS/MS により確認する。

## 9. 測定条件

(例)

### 1) GC-MS

カラム : 50%フェニル-メチルシリコン 内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25  $\mu$ m

カラム温度 : 50°C (1分) - 20°C/分 - 300°C (12分)

注入口温度 : 250°C

キャリアーガス : ヘリウム

イオン化モード (イオン化エネルギー) : EI (70 eV)

主なイオン ( $m/z$ )

ジクロベニル : 173、171

2,6-ジクロロベンズアミド : 175、173

注入量 : 1  $\mu$ L

保持時間の目安

ジクロベニル : 8分

2,6-ジクロロベンズアミド : 11分

### 2) LC-MS/MS

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲル 内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3.5  $\mu$ m

カラム温度 : 40°C

移動相 : 0.1 vol%ギ酸及び 5mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液の混液 (9 : 1)

から (1 : 9) までの濃度勾配を 14 分間で行う。

イオン化モード : ESI (+)

主なイオン ( $m/z$ )

フルオピコリド : プリカーサーイオン 383、プロダクトイオン 365、173、  
プリカーサーイオン 385、プロダクトイオン 175

注入量 : 5  $\mu$ L

保持時間の目安 : フルオピコリド 13 分

## 10. 定量限界

各化合物 0.01 mg/kg

## 11. 概要

ジクロベニル、2,6-ジクロロベンズアミド及びフルオピコリドを試料からアセトンで抽出し、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (7 : 3) 混液に転溶する。グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製した後、ジクロベニル及び 2,6-ジクロロベンズアミドは GC-MS で定量及び確認し、フルオピコリドは LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。なお、各化合物について定量を行い、2,6-ジクロロベンズアミドを含むジクロベニルの含量を求める場合には、2,6-ジクロロベンズアミドの含量に換算係数を乗じてジクロベニルの含量に変換し、これらの和をジクロベニルの分析値とする。

## 12. 注意点

1) ジクロベニルは濃縮時に揮散しやすいため、濃縮時にキーパーとしてジエチレングリコールを加える。減圧濃縮時には乾固させないように充分注意する。アセトン抽出液の濃縮の際は、試料中の水分がキーパーとして働くと考えられるが、過剰に濃縮するとジクロベニルが揮散する可能性がある。また、キーパー存在下であっても、窒素気流を強く吹きつけたり、溶媒が概ね除去されてからも窒素気流吹きつけを続けるとジクロベニルが揮散することがあるため、注意する。

2) GC-MS 測定において、試験溶液中に残存するジエチレングリコールが定量値に影響を及ぼす可能性がある。このため、検量線の作成に用いる標準液に、試験溶液と同等の濃度となるようジエチレングリコールを添加する。

3) フルオピコリドについても GC-MS で定量しても良い。ただし、食品によっては定量値が真値より高くなる可能性があるため、マトリックスの影響を確認した上で実施する。また、2,6-ジクロロベンズアミドを LC-MS/MS で定量及び確認することも可能である。

4) 各化合物をガスクロマトグラフ・タンデム型質量分析計 (GC-MS/MS) で定量することも可能である。

5) 各化合物の測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

### GC-MS

ジクロベニル

定量イオン ( $m/z$ ) : 171、定性イオン ( $m/z$ ) : 173

2,6-ジクロロベンズアミド

定量イオン ( $m/z$ ) : 173、定性イオン ( $m/z$ ) : 175

フルオピコリド (保持時間の目安 : 14 分)

定量イオン ( $m/z$ ) : 347、定性イオン ( $m/z$ ) : 209

### GC-MS/MS

ジクロベニル

定量イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 171、プロダクトイオン 100

定性イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 171、プロダクトイオン 136

2,6-ジクロロベンズアミド

定量イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 189、プロダクトイオン 173

定性イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 173、プロダクトイオン 145

フルオピコリド (保持時間の目安 : 14分)

定量イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 209、プロダクトイオン 182

定性イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 347、プロダクトイオン 172

#### LC-MS/MS

2,6-ジクロロベンズアミド (保持時間の目安 : 6分)

定量イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 190、プロダクトイオン 173

定性イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 190、プロダクトイオン 145、109

フルオピコリド

定量イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 383、プロダクトイオン 173

定性イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 385、プロダクトイオン 175

プリカーサーイオン 383、プロダクトイオン 365

6) 試験法開発時に検討した食品 : ばれいしょ、キャベツ、ほうれんそう、りんご及びぶどう

#### 13. 参考文献

農薬残留分析法研究班編「最新 農薬の残留分析法 (改訂版)」ジクロベニル、p.278-280、中央法規出版 (2006)

#### 14. 類型

C