

ピカルブトラゾクス分析法（農産物）

1. 分析対象化合物

- ・ピカルブトラゾクス
- ・異性体（TZ-1E）

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、メタノール、トルエン、ギ酸	: 特級
アセトニトリル、メタノール	: 高速液体クロマトグラフ用
水	: Milli-Q System（Millipore製）で精製したもの
ピカルブトラゾクス	: 分析用標準品
TZ-1E	: 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	: InertSep C ₁₈ 1000 mg/6 mL (ジーエルサイエンス製)
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	: InertSep GC /PSA 500 mg/500 mg/6 mL (ジーエルサイエンス製)

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類の場合

試料 10.0 g に水 20 mL を加え、1 時間放置する。これにメタノール 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にメタノール 50 mL を加え、同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、メタノールを加えて正確に 200 mL とする。この溶液から正確に 5 mL を分取し、水 4 mL を加える。

② 果実及び野菜の場合

試料 20.0 g にメタノール 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にメタノール 50 mL を加え、同様にろ過する。得られたろ液をあわせ、メタノールを加えて正確に 200 mL とする。この溶液から正確に 5 mL を分取する。

2) 精製

① 穀類の場合

C₁₈ ミニカラムにメタノールおよび水各 5 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。また、グラファイトカーボン・PSA 積層ミニカラムにアセトニトリル及びトルエン（3 : 1）混液及びメタノールを各 5 mL ずつ順次注入し、カラム充填剤の上部から約 1 cm の高さにメタノールが残るまで流出液は捨てる。

C₁₈ ミニカラムに 1) ① で得られた溶液を注入した後、水及びメタノール（1 :

1) 混液 5 mL を 2 回注入し、各流出液は捨てる。この C₁₈ ミニカラムの下に、グラファイトカーボン・PSA 積層ミニカラムを接続し、メタノール 10 mL を注入し、流出液は捨てる。C₁₈ ミニカラムを取り除いた後、グラファイトカーボン・PSA 積層ミニカラムにアセトニトリル 5 mL を 2 回注入し、各流出液は捨てる。その後、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 5 mL を注入し、溶出液を 40°C 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 (1 : 1) 混液 2.5 mL を加えて溶かし、試験溶液とする

② 果実及び野菜の場合

グラファイトカーボン・PSA 積層ミニカラムにアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液及びメタノールを各 5 mL ずつ順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) ② で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル 5 mL を 2 回注入し、各流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 5 mL を注入し、溶出液を 40°C 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 (1 : 1) 混液 5.0 mL を加えて溶かし、必要に応じて水及びメタノール (1 : 1) 混液でさらに希釈し試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ピカルブトラゾクス及び異性体 TZ-1E 標準品をメタノールに溶解し、各 100 µg/mL の標準原液を調製する。調製した標準原液をそれぞれ等量ずつ混合し、水及びメタノール (1 : 1) 混液で希釈し、10 µg/mL の混合標準液を調製する。調整した混合標準液を水及びメタノール (1 : 1) 混液で希釈して数点の溶液を調製し、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 Waters Acquity TQD LC-MS/MS System
 カラム : Ascentis Express C₁₈
 2.7 µm、2.1 mm i.d. × 100 mm (SUPELCO 製)
 カラム温度 : 40 °C
 移動相 : 移動相 A ; 0.1%ギ酸水溶液
 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)	0.0	3.0	5.2	5.5	6.5
移動相 A (%)		85	40	40	85	85
移動相 B (%)		15	60	60	15	15

流量 : 0.3 mL/min
 注入量 : 10 µL
 保持時間の目安 : ピカルブトラゾクス ; 5.4 分
 TZ-1E ; 5.0 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>)
ピカルブトラゾクス	409.8	309.8
TZ-1E	409.8	309.8

8. 定量限界

ピカルブトラゾクス : 0.005 ppm

TZ-1E : 0.005 ppm

9. 添加回収を実施した食品

米、ブロッコリー、てんさい、だいこん、はくさい、キャベツ、レタス、リーフレタス、
サラダ菜、たまねぎ、ミニトマト、きゅうり、すいか、メロン、ほうれんそう、しょうが、
みょうが

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。