

ペンフルフェン分析法（農産物）

1. 分析対象化合物

ペンフルフェン

2. 装置

高速液体クロマトグラフ・質量分析計(LC-MS または 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	:	LC-MS 用
水	:	脱イオン水を Milli-Q System(Milipore 製)で精製したもの
ペンフルフェン	:	分析用標準品
その他の試薬	:	特級
多孔性ケイソウ土カラム	:	InertSep K-solute 5 mL 用(ジーエルサイエンス製)
PSA ミニカラム	:	Bond Elut Jr.PSA 500 mg (Varian 製)
C18 ミニカラム	:	InertSep C18-C, 1 g/6 mL (ジーエルサイエンス製)

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 玄米の場合

粉碎した試料 10 g に水 20 mL を加え、2 時間放置する。これにアセトニトリル-水混液 (8 : 2, V/V) 100 mL を加え超高速回転破砕機で 1 分間混合破砕し、30 分間激しく振とうした後、吸引ろ過器する。容器及びろ紙上の残留物を 50 mL の同混液で洗い、同様にろ過する。得られたろ液をあわせて、同混液を加えて正確に 200 mL とする。

② ばれいしょの場合

均一化した試料 20 g にアセトニトリル-水混液 (8 : 2, V/V) 100 mL を加え、30 分間激しく振とうした後、吸引ろ過する。容器及びろ紙上の残留物を 50 mL の同混液で洗い、同様にろ過する。得られたろ液をあわせて、同混液を加えて正確に 200 mL とする。

2) 精製

① 玄米の場合

(1) 多孔性ケイソウ土カラムによる精製

定容液 10 mL (試料 0.5 g 相当) を 40 °C 以下で減圧濃縮して約 0.5 mL とした後、水 3 mL を加えて軽く振り混ぜ、多孔性ケイソウ土カラムに移して 10 分間放置する。濃縮に用いた容器をヘキサン/酢酸エチル (7 : 3, V/V) 5 mL で洗い込む操作を 3 回繰り返し、同混液 5 mL を流下させペンフルフェンを溶出させる。

(2) PSA ミニカラムによる精製

PSA ミニカラムをヘキサン/ジエチルエーテル (95 : 5, V/V) 混液 5 mL を流下させて洗浄する。(1)の溶出液を 40 °C以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、室温で窒素ガスを通じて乾固させる。残留物を同混液 5 mL に溶解し、ミニカラムに移して流下させ、濃縮に用いた容器を同混液 5 mL で洗い込む操作を 2 回繰り返して流出液を捨てた後、同混液 20 mL を流下させペンフルフェンを溶出させる。溶出液を 40 °C以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、室温で窒素ガスを通じて乾固する。残留物を水/アセトニトリル (9 : 1, V/V) 混液 2 mL に溶解し、試験溶液とする。

② ばれいしょの場合

(1) C18 ミニカラムによる精製

C18 ミニカラムをアセトニトリル/ギ酸 (1000 : 1, V/V) 混液、および水/ギ酸 (1000 : 1, V/V) 混液 を順次 5 mL ずつ流下し前処理する。定容液 2 mL (試料 0.2 g 相当) を 40 °C以下で減圧濃縮してアセトニトリルを留去した後、水/ギ酸 (1000 : 1, V/V) 混液 5 mL を加えて混合し、前処理したカラムに流下する。次いで同混液 5 mL で容器を洗浄し、カラムに移して流下、さらに水/アセトニトリル/ギ酸 (800 : 200 : 1, V/V/V) 混液 10 mL を流下し、これらの流出液を捨てる。水/アセトニトリル/ギ酸/水 (400 : 600 : 1, V/V/V) 混液 10 mL を流下して溶出液を取り、40 °C以下で減圧濃縮し、最後は窒素気流下で乾固する。残留物を適量 (5~25 mL) の水/アセトニトリル/ギ酸 (900 : 100 : 5, V/V/V) 混液に溶解し、試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ペンフルフェンをアセトニトリルに溶解し、200 mg/L、または 20 mg/L 標準溶液を調製する。この標準原液をアセトニトリル/水 (1 : 9 V/V) 混液、または水/アセトニトリル/ギ酸 (180 : 20 : 1, V/V/V) 混液で希釈して数点 (0.00125~0.05 mg/L、または 0.0002~0.008 mg/L) の標準溶液を調製し、それぞれを LC-MS または LC-MS/MS に注入し、ピーク高法または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、または 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

(LC-MS 例 : 玄米)

カラム	: Cadenza CD-C18-3 μ m (2.0 mm i.d. x100 mm, Imtakt 製)
カラム温度	: 40°C
移動相	: アセトニトリル/0.1%ギ酸 (V/V) 35 : 65 → (8分) → 50 : 50 (15分)
流量	: 0.2 mL/min
注入量	: 10 μ L
保持時間の目安	: 17.7分

イオン化モード : ESI (+)
モニタリングイオン : $m/z = 318.2$

(LC-MS/MS 例：ばれいしょ)

カラム : Cadenza CD-C18-3 μm (2.0 mm i.d. x75 mm, Imtakt 製)
カラム温度 : 40°C
移動相 : 水/アセトニトリル/ギ酸(V/V/V)
695 : 300 : 5 → (5分) → 195 : 800 : 5 (5分)
流量 : 0.2 mL/min
注入量 : 5 μL
保持時間の目安 : 7.5 分
イオン化モード : ESI (+)
モニタリングイオン : プリカーサーイオン ; m/z 318.1
プロダクトイオン ; m/z 233.9

8. 定量限界

0.01ppm

9. 検討を実施した食品

玄米、ばれいしょ

10. 留意事項

特になし。

※ 本分析法は、農作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の際して参考としてください。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用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の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。