

ピリミスルファン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

ピリミスルファン

2. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC-MS）

3. 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。

シリカゲルミニカラム（800 mg） 内径8～9 mmのポリエチレン製のカラム管に、カラムクロマトグラフィー用に製造したシリカゲル800 mgを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。

ピリミスルファン標準品 本品はピリミスルファン98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

(1) 穀類、豆類及び種実類の場合

試料10.0 gに水20 mLを加え、30分間放置する。これにアセトン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て、アセトンを加え正確に200 mLとする。この20 mLを採り、40℃以下で約2 mLまで濃縮し、0.05 vol%ギ酸10 mLを加える。

(2) 果実及び野菜の場合

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て、アセトンを加え正確に200 mLとする。この10 mLを採り、40℃以下で約1 mLまで濃縮し、0.05 vol%ギ酸10 mLを加える。

(3) 茶の場合

試料5.00 gに水20 mLを加え、30分間放置する。これにアセトン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て、アセトンを加え正確に200 mLとする。

2) 精製

(1) グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー（茶の場合のみ）

グラファイトカーボンミニカラム（500 mg）にアセトン5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1）(3)で得られた溶液20 mLを注入した後、アセトン10 mLを注入する。全溶出液を40℃以下で約2 mLまで濃縮し、0.05 vol%ギ酸10 mLを加える。

(2) オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）にアセトニトリル及び0.05 vol%ギ酸各5 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに穀類、豆類、種実類、果実及び野菜の場合は1）で得られた溶液を、茶の場合は2）(1)で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル及び0.05 vol%ギ酸（3：7）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトニトリル及び0.05 vol%ギ酸（3：2）混液10 mLを注入し、溶出液にアセトニトリル及び0.05 vol%ギ酸（3：2）混液を加えて正確に10 mLとする。この5 mLを採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン1 mLを加えて溶解した後、*n*-ヘキサン19 mLを加える。

(3) シリカゲルカラムクロマトグラフィー

シリカゲルミニカラム（800 mg）にアセトン及び*n*-ヘキサン（1：19）混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに2）(2)で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン及び*n*-ヘキサン（3：7）混液20 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び0.05 vol%ギ酸（3：2）混液に溶解し、穀類、豆類、種実類、果実及び野菜の場合は正確に5 mL、茶の場合は正確に2.5 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ピリミルスルファン標準品のアセトニトリル及び0.05 vol%ギ酸（3：2）混液の溶液を数点調製し、それぞれLC-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0.001 mg/Lである。

6. 定量

試験溶液をLC-MSに注入し、5の検量線でピリミルスルファンの含量を求める。

7. 確認試験

LC-MSにより確認する。

8. 測定条件

(例)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル内径2.0 mm、長さ150 mm、粒子径3 μm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び0.05 vol%ギ酸（1：3）から（3：1）までの濃度勾配を15分間で行い、（3：1）で3分間保持する。

イオン化モード：ESI（－）、ESI（＋）

主なイオン (m/z)：418 [ESI（－）]、420 [ESI（＋）]

注入量：5 μL

保持時間の目安：15分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

ピリミルスルファンを試料からアセトンで抽出し、グラファイトカーボンミニカラム（茶の場合のみ）、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びシリカゲルミニカラムで精製した後、LC-MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

(1) ピリミルスルファンは n -ヘキサンへの溶解性が低いため、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム精製後の残留物を溶解する際には、アセトンに溶解した後に n -ヘキサンを加える。このとき溶解が不十分であると、回収率が低下したりばらつくことがあるので、溶解の際に超音波処理をすると良い。

(2) ピリミルスルファンのLC-MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

定量イオン (m/z)：418 [ESI（－）]

定性イオン (m/z)：420 [ESI（＋）]

また、LC-MS/MS測定の例を以下に示す。

イオン化モード：ESI（＋）

主なイオン (m/z)：プリカーサーイオン420、プロダクトイオン370、255

(3) ピリミルスルファンの n -ヘキサン溶液あるいは酢酸エチル溶液では、無水硫酸ナトリウムによるピリミルスルファンの損失が報告されている。

11. 参考文献

なし

12. 類型

C