

ビフェントリン分析法（畜産物）

乳牛

1. 分析対象化合物

ビフェントリン

2. 装置

ガスクロマトグラフィー・電子捕獲検出器（GC-ECD）

3. 試薬、試液

アセトン、酢酸エチル、 : 特級

n-ヘキサン、メタノール、
塩化メチレン、メチル-*t*-
ブチルエーテル、シクロ
ヘキサン

ビフェントリン標準品 : 分析用標準品

無水硫酸ナトリウム : 残留農薬試験用

水 : 脱イオン水

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

均一化した試料20 gにアセトン200 mL（乳の場合）またはアセトン及び*n*-ヘキサン（4 : 1）混液200 mL（組織の場合）を加え、2分間超音波で振とうした後、ろ過する（脂肪サンプルは吸引ろ過する。）。ろ紙上の残留物を50 mLのアセトンで洗い、得られたろ液を合わせて、アセトンを加えて、正確に280 mLとする。抽出液の70 mLを濃縮容器に移し、100 mLの*n*-ヘキサンを加え、20 mL以下まで濃縮する。濃縮溶液を50 mLの塩化ナトリウム溶液（5 g以下）に入れ、100 mLの*n*-ヘキサンと50 mLの水を加える。混合液の水層（下層）を別の容器に移し、*n*-ヘキサン抽出液（上層）を無水硫酸ナトリウムとガラスウールでろ過し、10 mL以下まで濃縮する。エバポレーターで1 mL以下まで濃縮し、濃縮液に塩化メチレン及びシクロヘキサン（3 : 17）混液で10 mLに定容して試験溶液とし、GPCで洗浄する。

2) 精製

フロリジルカラムによる精製

フロリジルカラムに*n*-ヘキサン100 mLと10 gのフロリジルを加え、流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた抽出液を定量入れ、*n*-ヘキサン100 mLを加え、流出液は捨てる。酢酸エチル及び *n*-ヘキサン（1 : 19）混液100 mLでビフェントリンを溶出し、溶出液をエバポレーターで10 mLまで濃縮し、試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ビフェントリン標準品の1 µg/µL、0.1 µg/µL及び0.5 ng/µL (*n*-ヘキサン) を調製し、それぞれGC-ECD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GC-ECD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

カラム : 2 mm I.D. × 122 cm glass containing 4% SE-30/6% OV-210 on 100/200 Chromosorb W HP (Supelco)
カラム温度 : 220°C (肝臓210°C)
注入口温度 : 250°C
保持時間の目安 : ビフェントリン ; 2.4分
キャリアガスと : 5%メタン 95%アルゴン 30 mL/min
カラム流量

8. 定量限界

乳 : 0.02 ppm、脂肪 : 0.10 ppm、組織 : 0.05 ppm

9. 留意事項

なし

産卵鶏-組織

1. 分析対象化合物

ビフェントリン

2. 装置

ガスクロマトグラフィー・電子捕獲検出器 (GC-ECD)

3. 試薬、試液

アセトン、酢酸エチル、 : 特級

n-ヘキサン、メタノール、
シクロヘキサン、ジクロ
ロメタン、

ビフェントリン標準品 : 分析用標準品

水 : 脱イオン水

2-メチル-3-フェニルベ
ンジルアルコール : ビフェニルアルコール標準品

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10 g (脂肪は1 g) を200 mLのアセトン及び*n*-ヘキサン (1 : 1) 混液を加え、ろ過し、10 mLに濃縮する。濃縮を繰り返し、0.5 mLまで濃縮した後、シクロヘキサン及びジクロロメタン (17 : 3) 混液を10 mL加える。

2) 精製

① シリカゲルによる精製

Sep-Pak を使用前に 10 mL の *n*-ヘキサンで洗浄する。サンプル溶液 5 mL 未満を Sep-Pak に注入し、*n*-ヘキサン溶出液は廃棄する。*n*-ヘキサン 9 mL で Sep-Pak を溶出し、*n*-ヘキサンを再度廃棄する。酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 3) 混液 10 mL を入れ、ビフェントリン分画を Sep-Pak から溶出する。酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 3) 混液を窒素還流下で蒸発させ、1 mL 以下とする。酢酸エチルを除くため 5 mL のメタノールを加え、再び 1 mL に濃縮する。

② フロリジルカラムによる精製

ガラスカラムをグラスウールで塞ぎ、*n*-ヘキサン100 mLを加える。10 g の3% フロリジル (100/200メッシュ)水懸濁液をゆっくりとカラムに加え、フロリジルが沈殿した後、サンプル溶液5 mL未満をカラムに注入する。100 mLの*n*-ヘキサンを加え、*n*-ヘキサン溶出液は 廃棄する。酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液100 mLを加えた後、約50 mLまで濃縮し、50 mLの*n*-ヘキサンを加え、さらに濃縮する。さらに50 mLの*n*-ヘキサンを加え、スチームバス上で約10 mLまで濃縮する。*n*-ヘキサンを蒸発させ、5 mLのメタノールを加え、5 mL以下まで濃縮する。最終容量をメタノールで調製し、試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ビフェントリン標準品の4~5濃度を調製し、それぞれGC-ECD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GC-ECD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

カラム : J&W Fused Silica Megabore methyl silicone, Part #125-1012, 15 m × 0.523 mm, film thickness = 1.5 um
カラム温度 : 初期温度 : 220°C (0分)、
最終温度 : 270°C (10分)
注入口温度 : 280°C
保持時間の目安 : ビフェントリン ; 3.6分
キャリアガスと : アルゴン中 10%メタン、25 mL/min
カラム流量 : ヘリウム : 10 mL/min、速度=45 cm/sec

8. 定量限界

筋肉 0.02 ppm、脂肪及び肝臓 0.05 ppm

9. 留意事項

なし

産卵鶏-卵

1. 分析対象化合物

ビフェントリン

2. 装置

ガスクロマトグラフィー・電子捕獲検出器 (GC-ECD)

3. 試薬、試液

アセトニトリル、ジクロ : 特級

ロメタン、*n*-ヘキサン、メ

チル-*t*-ブチルエーテル、

塩化ナトリウム、水、無

水硫酸ナトリウム、トル

エン

ビフェントリン標準品 : 分析用標準品

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

均一化した試料 20 g に 100 mL のアセトニトリルを加え、3 分間ホモジナイズし、抽出液を吸引ろ過する。100 mL のアセトニトリルを用いて再度抽出する。ろ液と合わせて、アセトニトリルを加えて、250 mL とする。

250 mL のうち 50 mL を 40°C で 1~2 mL まで蒸発し、残留物に 100 mL の水を加え、さらにジクロロメタン 50 mL を加える。塩化ナトリウム 20 g を加えた後、1 分間浸透し、有機層をろ過し、無水硫酸ナトリウム 40 g を加える。抽出液を乾固する直前まで濃縮し、*n*-ヘキサンを加えおよそ 5 mL とする。

2) 精製

フロリジルカラムによる精製

フロリシルカラムを *n*-ヘキサン及びメチル-*t*-ブチルエーテル (4 : 1) 混液 50 mL と *n*-ヘキサン 25 mL で予備洗浄する。試料をカラム上部に注入し、*n*-ヘキサン 5 mL を 2 回カラムに加え、流出液を捨てる。ビフェントリン含有画分を *n*-ヘキサン及びメチル-*t*-ブチルエーテル (9 : 1) 混液 50 mL で溶出し、約 5 mL まで濃縮させる。溶出液を 1.0 mL のトルエンで再溶解し、これを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ビフェントリン標準品の 0.04 及び 0.4 µg/mL (トルエン) を数点調製し、それぞれ GC-ECD 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 GC-ECD 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

カラム : 30 m fused silica capillary column DB-1 (J&W 122-1032)
Internal diameter 0.25 mm
Film thickness 0.25 μm

カラム温度 : 100°C (2分)
250°C (6分、7°C/分)
290°C (12分、20°C/分)

注入口温度 : 250°C

保持時間の目安 : ビフェントリン ; 27.2分

キャリアガスと : ヘリウム : 10 mL/min

カラム流量

8. 定量限界

0.10 ppm

9. 留意事項

なし

※ 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。