

ピラジフルミド分析法（農産物）

1. 分析対象化合物

- ・ピラジフルミド
- ・*N*-(3',4'-ジフルオロ-5-ヒドロキシビフェニル-2-イル)-3-(トリフルオロメチル)ピラジン-2-カルボキサミド（代謝物 B）（抱合体を含む）

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

- 酢酸エチル、トルエン : 残留農薬試験用、高速液体クロマトグラフ用
アセトニトリル
水 : Analytic PRA-0015-0V0（オルガノ製）で精製された水を使用
その他の試薬 : 特級
ピラジフルミド : 分析用標準品
代謝物 B : 分析用標準品
オクタデシルシリル化 : InertSep C₁₈ 1 g/6 mL（ジーエルサイエンス製）
シリカゲルミニカラム
NH₂ミニカラム : InertSep Slin-J NH₂ 1000 mg（ジーエルサイエンス製）

4. 試験溶液の調整

1) 抽出

試料 20.0 g にアセトニトリル及び 0.1 mol/L 塩酸（4 : 1）混液 100 mL を加え、振とう抽出し、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に 0.1 mol/L 塩酸（4 : 1）混液 40 mL を 2 回加えて同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトニトリル及び 0.1 mol/L 塩酸（4 : 1）混液を加えて正確に 250 mL とする。この溶液から正確に 25 mL（試料 2.00 g 相当量）を分取し、40°C 以下で約 10 mL に濃縮する。

2) 加水分解（代謝物 B（抱合体を含む））

1) で得られた濃縮液に水 3 mL を加えて 13 mL とする。これに 12 mol/L 塩酸を 6 mL 加えて 50°C で 16 時間加水分解する。この溶液を放冷した後、酢酸エチル 20 mL を加え、3 回振とう抽出する。更に、水層にトルエン 20 mL を加えて 2 回振とう抽出する。得られた酢酸エチル層とトルエン層を合わせ、液相分離ろ紙にて脱水した後、40°C 以下で約 2 mL に濃縮する。

3) 精製

① C₁₈ミニカラムによる精製

C₁₈ミニカラムにアセトニトリル及び水（1：4）混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに2）で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル及び水（1：4）混液 20 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル 5 mL を注入し、溶出液を 40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトニトリル及びギ酸（99：1）混液 5 mL を加えて溶かす。

② NH₂ミニカラムによる精製

NH₂ミニカラムにアセトニトリル 10 mL を注入し、流出液は捨てる。更に、アセトニトリル及びギ酸（99：1）混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに3）①で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル及びギ酸（99：1）混液 10 mL を注入し、溶出液を合わせ、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を正確に 4 mL 加えたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ピラジフルミド標準品をアセトニトリルに溶解し、100 µg/mLの標準溶液を調製する。調製した標準液をアセトニトリルで希釈して数点調製し、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)

機器 : Shimadzu LC-20AD
Sciex API 3200 QTRAP
カラム : Inertsil ODS-3
(4 µm、2.1 mm i.d.×100 mm、ジーエルサイエンス製)
カラム温度 : 40℃
移動相 : 移動相 A : アセトニトリル
移動相 B : 0.1%ギ酸

グラジエント

時間 (分)	0.0	5.0	7.0	10.0	20.0
移動相 A (%)	50	95	95	50	50
移動相 B (%)	50	5	5	50	50

流量 : 0.2 mL/min
注入量 : 1.0 µL
保持時間の目安 : ピラジフルミド ; 6.3 分
代謝物 B ; 4.3 分
イオン化モード : ESI (negative)

イオン検出法 : MRM 法
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>)
ピラジフルミド	377.9	147.0
代謝物 B	394.0	246.0

8. 定量限界

0.01 ppm

9. 添加回収を実施した食品

キャベツ、りんご

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。