

ポリオキシシンD亜鉛塩分析法（農産物）

1. 分析対象化合物

ポリオキシシンD

2. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計（LC-MS/MS）

3. 試薬、試液

ポリオキシシンD	:	分析用標準品
アセトニトリル、メタノール	:	残留農薬試験用
メタノール	:	LC/MS用
ギ酸、トリフルオロ酢酸	:	HPLC用
水	:	PURELAB Flex Systemで精製した水
水酸化アンモニウム	:	28%アンモニア水、特級
PRSミニカラム	:	InertSep PRS, 500 mg/6 mL（ジーエルサイエンス社製）
C ₁₈ ミニカラム	:	Supelclean ENVI-Carb, 0.5 g/6 mL（シグマアルドリッチジャパン社製）
ガラス繊維ろ紙	:	GFP φ95 mm（桐山製作所製）
メンブレンフィルター	:	Millex-LG 0.20 mm（メルク社製）

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

均一化した試料20 gにメタノール、水及びトリフルオロ酢酸（800 : 200 : 1）混液100 mL加え、30分間振とうした後、抽出物をガラス繊維ろ紙で吸引ろ過する。また、残渣を同混液50 mLで洗い、同様にろ過する。全てのろ液を合わせ、同混液で200 mLに定容する。

2) 精製

① PRSミニカラムによる精製

PRSミニカラムにアセトニトリル5 mLおよび水5 mLを順次流下し前処理する。1) で得られた抽出液2 mLを分取し、水5 mLを加え混合し、前処理したPRSミニカラムに負荷し、流出液は捨てる。分取した容器をアセトニトリル及び水各5 mLで洗浄し、洗浄液をPRSミニカラムに流下して、流出液を捨てる。次に、水及び水酸化アンモニウム（49 : 1）混液10 mLを負荷し、溶出液を得る。

② 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5 mL及び、水及び水酸化アンモニウム（49 : 1）混液5 mLを順次流下し前処理する。①で得られた溶出液をC₁₈ミニカラムに負荷し、流出液は捨てる。水5 mLで容器内を洗浄し、C₁₈ミニカ

ラムに負荷する操作を2回繰り返す、流出液を捨てる。次に水、アセトニトリル及びギ酸（70：30：1）混液10 mLを負荷し、溶出液を得る。これを40℃以下で減圧濃縮し、窒素気流下で溶媒を除去する。残留物を正確に適量の水、アセトニトリル及びギ酸（900：100：1）混液に溶解し、メンブレンフィルターでろ過して試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ポリオキシシンD標準品を水に溶解し、標準原液を調製する。水、アセトニトリル及びギ酸（900：100：1）混液で段階的に希釈し0.00015～0.01 mg/Lの検量線標準液を調製する。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

装置	： HPLC ; Nexera X2 System（島津製作所社製） MS ; Triple Quad 4500（エービー・サイエックス製）			
カラム	： Hypercarb（サーモフィッシャーサイエンティフィック製）内径 2.1 mm, 長さ 150 mm, 粒径 5 μm			
カラム温度	： 60 °C			
移動相	： A : 0.1 vol%ギ酸溶液 B : 1 vol%ギ酸アセトニトリル溶液			
流量	時間 (分)	%A	%B	流量 (mL/min)
	0.0	90	10	0.3
	1.0	90	10	0.3
	5.0	30	70	0.3
	6.0	30	70	0.3
注入量	： 10 μL			
保持時間の目安	： ポリオキシシンD : 4.6分			
イオン化モード	： ESI (+)			
イオン化温度	： 700℃			
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 (m/z)	プロダクト イオン (m/z)
ポリオ キシンD	522.0	305.0

8. 定量限界
0.01 mg/kg

9. 留意事項
特になし

※ 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。