

シエノピラフェン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

シエノピラフェン

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。

シエノピラフェン標準品 本品はシエノピラフェン 98%以上を含み、融点は107～108℃である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

果実及び野菜の場合は試料20.0 gを量り採る。穀類、豆類及び種実類の場合は試料10.0 g、茶の場合は試料5.00 gにそれぞれ水20 mLを加え、30分間放置する。

これにアセトニトリル及び水（4：1）混液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、アセトニトリル及び水（4：1）混液50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に200 mLとする。この2 mL（茶の場合は4 mL）を採り、これに水10 mLを加えて、40℃以下で約10 mLまで濃縮する。

2) 精製

[1] 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及びグラフアイトカーボン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水各5 mLを順次注入し、流出液は捨てる。グラフアイトカーボンミニカラム（500 mg）にアセトニトリル及び水（4：1）混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムに、1) で得られた溶液を注入した後、さらにアセトニトリル及び水（3：2）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでこのカラムの下部にグラフアイトカーボンミニカラムを接続し、アセトニトリル及び水（4：1）混液15 mLを注入する。溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：19）混液5 mLを加えて溶かす。

[2] 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 (690 mg) に酢酸エチル及び 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[1]で得られた溶液を注入した後、さらに酢酸エチル及び n -ヘキサン (1 : 19) 混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで酢酸エチル及び n -ヘキサン (1 : 4) 混液10 mLを注入し、溶出液を40°C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水 (3 : 1) 混液に溶解し、果実及び野菜の場合は正確に4 mL、穀類、豆類、種実類及び茶の場合は正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

シエノピラフェン標準品の0.0005~0.01 mg/L溶液 (アセトニトリル及び水 (3 : 1) 混液) を数点調製し、それぞれ5 μ Lを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。

6. 定量

試験溶液5 μ LをLC-MSに注入し、5の検量線でシエノピラフェンの含量を求める。

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2.1 mm、長さ150 mm、粒子径5 μ m

カラム温度 : 40°C

移動相 : A液及びB液の混液 (1 : 3) で15分間保持した後、(1 : 19) までの濃度勾配を0.5分間で行い、(1 : 19) で8分間保持する。

A液 : 0.1 vol%ギ酸

B液 : 0.1 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液

イオン化モード : ESI (+)

主なイオン (m/z) : 395、394

保持時間の目安 : 11分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

シエノピラフェンを試料からアセトニトリル及び水 (4:1) 混液で抽出し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムとグラファイトカーボン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] みかんの果皮を試験する場合は、試料10.0 gを用いて抽出し、試験溶液量を2 mLとする。

[2] シエノピラフェンの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) : 394

定性イオン (m/z) : 395

11. 参考文献

なし

12. 類型

C