

シアントラニリプロール分析法（農産物）

1. 分析対象化合物

シアントラニリプロール

2. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC-MS/MS）

3. 試薬、試液

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

超純水（純水を限外ろ過膜で精製したもの）

酢酸 : 試薬特級

C₁₈ミニカラム : Bond Elut C₁₈、1 g/6 mL、Agilent Technologies社製

SAXミニカラム : InertSep SAX、500 mg/6 mL、ジーエルサイエンス社製

SCX ミニカラム : Bond Elut SCX、1 g/6 mL、Agilent Technologies社製

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 果実、野菜、ハーブの場合

試料20gにアセトニトリル／水（9:1、v/v）混液100mLを加え30分間振とうする。抽出物を吸引ろ過し、残渣を同混液50mLで洗い、同様にろ過する。ろ液を合わせアセトニトリルで200mL定容とし、その2mLを取り水10mLを添加後、40℃以下の水浴中で減圧濃縮し溶媒を留去する。

② 穀類、豆類及び種実類の場合

試料 10g に 20 mL の水を加えて 2 時間膨潤させてから、アセトニトリル／水（9:1、v/v）混液 100 mL を加え 30 分間振とうする。抽出物を吸引ろ過し、残渣を同混液 50 mL で洗い、同様にろ過する。ろ液を合わせアセトニトリルで 200 mL 定容とし、その 4 mL を取り水 10 mL を添加後、40℃以下の水浴中で減圧濃縮し溶媒を留去す

る。

③ 茶の場合

試料 5 g に水 20 mL を添加し 2 時間膨潤後、アセトニトリル／水 (9:1、v/v) 混液 100 mL を加え 30 分間振とうする。抽出物を吸引ろ過し、残渣を同混液 50 mL で洗い、同様にろ過する。ろ液を合わせアセトニトリルで 200 mL 定容とし、その 2 mL を取り水 10 mL を添加後、40°C 以下の水浴中で減圧濃縮し溶媒を留去する。

2) 精製

① 果実、野菜、ハーブの場合

メタノール及び水を順次 5 mL ずつ流下して前処理した C₁₈ ミニカラムに濃縮液を流下した後、水／メタノール (3:2、v/v) 混液 10 mL で容器内を洗浄し、これをカラムに移して流下し、これらの流出液を捨てる。次に、水／メタノール (3:7、v/v) 混液 10 mL で容器内を洗浄してカラムに移して流下する。溶出液を取り、40°C 以下の水浴中で減圧濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去する。

SAX ミニカラム及び SCX ミニカラムに各々メタノール 5 mL を流下して前処理する。SAX ミニカラムを SCX ミニカラムの下に連結し、残留物をメタノール 5 mL に溶解 (超音波処理により十分に溶解) して連結カラムに移して流下する。同様の操作を繰り返した後、さらにメタノール 20 mL を流下し、全ての溶出液 (30 mL) を取り、40°C 以下の水浴中で減圧濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去する。残留物を適量 (10~25 mL) のメタノール／水 (13:7、v/v) 混液に溶解し、試験溶液とする。

② 穀類、豆類及び種実類の場合

メタノール及び水を順次 5 mL ずつ流下して前処理した C₁₈ ミニカラムに濃縮液を流下した後、水／メタノール (3:2、v/v) 混液 10 mL で容器内を洗浄し、これをカラムに移して流下し、これらの流出液を捨てる。次に、水／メタノール (3:7、v/v) 混液 10 mL で容器内を洗浄してカラムに移して流下する。溶出液を取り、40°C 以下の水浴中で減圧濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去する。

SAX ミニカラム及び SCX ミニカラムに各々メタノール 5 mL を流下して前処理する。SAX ミニカラムを SCX ミニカラムの下に連結し、残留物をメタノール 5 mL に溶解 (超音波処理により十分に溶解) して連結カラムに移して流下する。同様の操作を繰り返した後、さらにメタノール 20 mL を流下し、全ての溶出液 (30 mL) を取り、40°C 以下の水浴中で減圧濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去する。残留物を適量 (10~25 mL) のメタノール／水 (13:7、v/v) 混液に溶解し試験溶液とする。

③ 茶の場合

メタノール及び水を順次5 mLずつ流下して前処理したC₁₈ミニカラムに濃縮液を流下した後、水/メタノール (3:2、v/v) 混液10mLで容器内を洗浄し、これをカラムに移して流下し、これらの流出液を捨てる。次に、水/メタノール (3:7、v/v) 混液10 mLで容器内を洗浄してカラムに移して流下する。溶出液を取り、40°C以下の水浴中で減圧濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去する。

SAX ミニカラム及び SCX ミニカラムに各々メタノール 5 mL を流下して前処理する。SAX ミニカラムを SCX ミニカラムの下に連結し、残留物をメタノール 5 mL に溶解 (超音波処理により十分に溶解) して連結カラムに移して流下する。同様の操作を繰り返した後、さらにメタノール 20 mL を流下し、全ての溶出液 (30 mL) を取り、40°C以下の水浴中で減圧濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去する。残留物を適量 (10~400 mL) のメタノール/水 (13:7、v/v) 混液に溶解し試験溶液とする。

5. 検量線の作成

シアントラニリプロール標準品をアセトニトリルに溶解して200 mg/L溶液を調製する。調製した標準液をメタノール/水 (13:7、v/v) 混液で希釈して検量線用の標準溶液の各 10 µLを後述 7. の条件に設定した液体クロマトグラフ・質量分析計に注入し、シアントラニリプロールのピーク面積とそれに対応した重量から検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液10 µLをLC-MS/MSに注入し、得られたピーク面積と 5. で作成した検量線を用いて試料中のシアントラニリプロール残留濃度を算出する。

7. 測定条件

・液体クロマトグラフ

カラム	: Luna Phenyl-Hexyl (Phenomenex, Inc., CA, USA) (内径2.0mm、長さ150mm、粒径3µm)
カラム温度	: 40°C
移動相	: メタノール/水/2%酢酸 (13:6:1、v/v/v)
流量	: 0.2 mL/分
保持時間の目安	: シアントラニリプロール 5.3 ~5.6分

・質量分析計

イオン化法	: エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)、正モード
乾燥ガス温度	: 400°C

乾燥ガス流量	: 800 L/時
イオン導入電圧	: 3.85 kV
コーン電圧	: 20 V
コリジョン電圧	: 20 V
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 ; シアントラニリプロール m/z 474.8 プロダクトイオン ; シアントラニリプロール m/z 285.6

8. 定量限界

0.01ppm

9. 添加回収を実施した食品

玄米、大豆、茶及びキャベツ

10. 留意事項

なし

※ 本分析法は、農作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ください。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用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の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。