

トリアファモン分析法（農産物）

1. 分析対象化合物 トリアファモン

2. 装置 高速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	:	特級、HPLC用
アセトン	:	特級
メタノール	:	特級
酢酸	:	特級
水	:	脱イオン水をMilli-Q System（Millipore製）で精製したもの
トリアファモン	:	分析用標準品
C ₁₈ ミニカラム	:	InertSep C18、1 g/6 mL（ジーエルサイエンス製）
NH ₂ ミニカラム	:	Strata NH ₂ 、500 mg/6 mL（Phenomenex製）

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

粉碎した試料10 gに水20 mLを加え、1時間放置する。これにアセトン80 mLを加え、20分間振とうした後、毎分11,000回転で5分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にアセトン80 mLを加え、上記と同様、振とうした後に遠心分離する。得られた上澄液を合わせて、アセトンを加えて正確に200 mLとする。これから10 mLを分取し溶媒留去後、アセトニトリル及び水（3：17）混液5 mLに溶解する。

2) 精製

①C₁₈カラムクロマトグラフィーによる精製

C₁₈ミニカラムにアセトニトリル及び水を順次5 mLずつ注入し、流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた抽出液5 mLを注入する。その後、アセトニトリル及び水（3：17）混液5 mLで容器を2回洗浄し、C₁₈ミニカラムへ注入し、流出液は捨てる。ミニカラムを1分間吸引して脱水した後、アセトニトリル10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去した後、メタノール5 mLに溶解する。

②NH₂カラムクロマトグラフィーによる精製

NH₂ミニカラムにメタノール5 mLを注入し、流出液は捨てる。①で得られた溶液5 mLを注入し、メタノール5 mLで容器を洗浄しミニカラムに注入する。全ての溶出液を40℃以下で濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去した後、アセトニトリル、酢酸及び水（25：0.1：25）混液で定容し、試験溶液とする。

5. 検量線の作成

トリアファモン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。調製した標準溶液をアセトニトリル、酢酸及び水（25:0.1:25）混液で希釈して数点（0.00025～0.005 µg/mL）の溶液を調製し、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 : Agilent 1100 HPLC System
Sciex API 4000

カラム : Ascentis Express C18、2.7 μm 、2.1 mm i.d. \times 150 mm
SUPELCO (Sigma-Aldrich Japan 製)

カラム温度 : 40°C

移動相 : 移動相A : 0.2%酢酸水溶液
移動相B : 0.2%酢酸含有アセトニトリル溶液

グラジエント :

時間 (分)	0.0	2.0	7.5	8.0	8.1	15.0
移動相A	55	55	5	5	55	55
移動相B	45	45	95	95	45	45

流量 : 0.2 mL/min

注入量 : 10 μL

保持時間の目安 : トリアファモン ; 5.6分

イオン化モード : ESI (positive)

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)
トリアファモン	407.0	245.2

8. 定量限界

0.01 ppm

9. 添加回収を実施した食品

玄米

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。