

ピリダリル試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

ピリダリル

2. 装置

アルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ（GC-FTD）、高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ（GC-NPD）又は電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ（GC-ECD）

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/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。

グラファイトカーボンミニカラム（250 mg） 内径12～13 mmのポリエチレン製のカラム管に、グラファイトカーボン250 mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

ピリダリル標準品 本品はピリダリル98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

(1) 豆類の場合

試料10.0 gを量り採り、水20 mLを加え、2時間放置する。

これにアセトン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、アセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液にアセトンを加えて正確に200 mLとする。この100 mLを採り、40℃以下で約15 mLまで濃縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、*n*-ヘキサン100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

この残留物に*n*-ヘキサン50 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル50 mLずつで3回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及びトルエン（4：1）混液5 mLを加えて溶かす。

(2) 果実及び野菜の場合

試料20.0 gにアセトン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、アセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液にアセトンを加えて正確に200 mLとする。この100 mLを採り、40℃以下で約15 mLまで濃

縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、*n*-ヘキサン100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及びトルエン(4:1) 混液5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

(1) グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム(250 mg)にアセトン及びトルエン(4:1) 混液10 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、さらにアセトン及びトルエン(4:1) 混液15 mLを注入する。全溶出液を40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

(2) アミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(360 mg)に*n*-ヘキサン10 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*n*-ヘキサン10 mLを注入する。全溶出液を40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、豆類の場合は正確に1 mL、果実及び野菜の場合は正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ピリダリル標準品の0.1~2 mg/Lアセトン溶液を数点調製し、それぞれ2 µLをGC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2 µLをGCに注入し、5の検量線でピリダリルの含量を求める。

7. 確認試験

GC/MS又はGC/MS/MSにより確認する。

8. 測定条件

1) GC

検出器: FTD、NPD又はECD

カラム: メチルシリコン 内径 0.53 mm、長さ 15 m、膜厚 1 µm

カラム温度: 250°C

注入口温度: 250°C

検出器温度: 280°C

キャリアーガス：ヘリウム（ECDの場合は、高純度窒素ガス）

保持時間の目安：4分

2) GC/MS

カラム：5%フェニル-メチルシリコン 内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm

カラム温度：200 $^{\circ}\text{C}$ （1分） $-10^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -280°C （5分）

注入口温度：250 $^{\circ}\text{C}$

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード（電圧）：EI（70eV）

主なイオン（ m/z ）：204、164、146

注入量：1 μL

保持時間の目安：12分

9. 定量限界

0.02 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

ピリダリルを試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。果実及び野菜はそのまま、豆類はアセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、グラファイトカーボンミニカラム及びアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、GC（FTD、NPD又はECD）で測定し、GC/MSで確認する方法である。

2) 注意点

- (1) グラファイトカーボンミニカラム（250 mg）では、溶出溶媒としてアセトン及びトルエン（4：1）混液を用いているが、緑葉野菜のように夾雑物の比較的多い試料を対象とする場合は、酢酸エチル（20 mL）やアセトン（20 mL）でも溶出可能である。試料夾雑物の溶出量は、アセトン及びトルエンの混液で溶出するよりも若干低下することが期待できる。
- (2) 精製が不十分な場合は、シリカゲルミニカラム（690 mg）〔試料溶液を負荷した後、*n*-ヘキサン10 mLで洗浄、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：19）混液 10 mLで溶出〕やオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）〔試料溶液を負荷した後、アセトニトリル及び水（4：1）混液10 mLで洗浄、アセトニトリル10 mLで溶出〕による精製を追加するとよい。

(3) GC (ECD) 測定では、試料夾雑物による影響を受けやすく、試料による感度変動が大きい。また、GC/MS測定では、ピリダリルの感度が食品の品目によって大幅に高まる場合がある。

11. 参考文献

厚生労働省「ピリダリル試験法」（平成16年7月6日通知）

12. 類型

C