

## ブロフラニリド分析法（農作物）

### 1. 分析対象化合物

- ・ブロフラニリド

### 2. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

### 3. 試薬、試液

アセトニトリル	:	残留農薬試験用
アセトニトリル	:	LC/MS用
水	:	PURELAB Flex System (Veolia Water Solutions&Technologies, SaintMaurice) で精製したもの
ブロフラニリド	:	分析用標準品
ギ酸	:	特級
C <sub>18</sub> ミニカラム	:	InertSep C <sub>18</sub> -C, 1 g/6 mL (ジーエルサイエンス製)

### 4. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

均一化した試料20 gにアセトニトリル及び水（4：1）混液100 mLを加え、30分間振とうした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を同混液50 mLで洗い、同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、同混液を加えて、正確に200 mLとする。

#### 2) 精製

C<sub>18</sub>ミニカラムによる精製

C<sub>18</sub>ミニカラムにアセトニトリル及びギ酸（100：1）混液及び水及びギ酸（100：1）混液を順次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2 mL（試料0.2 g相当量）と水及びギ酸（100：1）混液5 mLを混合したものを注入する。その後、アセトニトリル、水及びギ酸（40：60：1）混液5 mLで容器内を洗浄し、これをC<sub>18</sub>ミニカラムに注入して、流出液を捨てる。次にアセトニトリル、水及びギ酸（80：20：1）混液5 mLを注入して溶出液をとる。溶出液にアセトニトリル、水及びギ酸（80：20：1）混液を加えて定容し、必要に応じて希釈し、試験溶液とする。

### 5. 検量線の作成

ブロフラニリド標準品をアセトニトリルに溶解し、200 µg/mLの標準溶液を調製する。調製した標準液をアセトニトリル及びアセトニトリル、水及びギ酸

(80 : 20 : 1) 混液で希釈して検量線用の標準液を数点調製し、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

装置	: 1290HPLC (Agilent Technologies 製) / 6460 Triple Quad LC/MS (Agilent Technologies 製)
カラム	: ZORBAX Eclipse Plus C <sub>18</sub> 1.8 μm (2.1 mm i.d. × 50 mm)
カラム温度	: 40 °C
移動相	: アセトニトリル / 0.1%ギ酸 (1 : 1) - 3分 - アセトニトリル / 0.1%ギ酸 (13 : 7)
流量	: 0.25 mL/min
注入量	: 5 μL
保持時間の目安	: ブロフラニリド ; 4.8~5.0分
イオン化モード	: ESI (+)

モニタリング イオン		プレカーサーイオン ( <i>m/z</i> )	プロダクトイオン ( <i>m/z</i> )
	ブロフラニリド	664.9	645.0

## 8. 定量限界

0.01 ppm

## 9. 添加回収試験を実施した食品

ねぎ

## 10. 留意事項

本分析法がブロフラニリドの主要な作物残留試験に用いた残留農薬分析法であるが、想定機器の検出感度が低い場合は(2)の分析法を使用した。

※ 本分析法は、農作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。

## ブロフラニリド分析法（農作物（2））

### 1. 分析対象化合物

- ・ブロフラニリド

### 2. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

### 3. 試薬、試液

アセトニトリル	:	LC/MS用
水	:	Analytic PRA-0015-0V0 (オルガノ製) で精製したもの
ブロフラニリド	:	分析用標準品
ギ酸、アセトニトリル、酢酸エチル	:	特級
多孔性ケイソウ土カラム	:	Chem Elut 20mL (Agilent Technologies 製)
SCXミニカラム	:	BOND ELUT JR-SCX 1000mg (Agilent Technologies 製)

### 4. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

均一化した試料20 gにアセトニトリル及び水（4：1）混液100 mLを加え、30分間振とうした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を同混液30 mLで2回洗い、同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、同混液を加えて、正確に200 mL定容とする。定容液から20 mL（試料2.0 g相当量）を分取し、40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、アセトニトリルを留去する。

#### 2) 誘導体化、加水分解など

1) の濃縮液を多孔性ケイソウ土カラムに注入し5分間放置した後、酢酸エチル150 mLを注入して溶出液をとり、溶出液を40℃以下の水浴中で5 mLまで減圧濃縮する。

#### 3) 精製

##### SCXミニカラムによる精製

SCXミニカラムに酢酸エチル10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに2) で得られた濃縮液を注入する。その後、酢酸エチル10 mLで容器内を洗浄し、これをSCXミニカラムに注入して溶出液をとる。溶出液を40℃以下の水浴中で2 mLまで減圧濃縮し、通風で乾固した後、アセトニトリルで4 mLに定容し、必要に応じてアセトニトリルで希釈し、試験溶液とする。

## 5. 検量線の作成

ブロフラニリド標準品をアセトニトリルに溶解し、200 µg/mLの標準溶液を調製する。調製した標準液をアセトニトリルで希釈して検量線用の標準液を数点調製し、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

装置 : LC-20AD シリーズ (島津製作所製) / API 3200 Q TRAP (AB Sciex 製)  
 カラム : Inertsil ODS-3 4 µm (2.1 mm i.d. × 100 mm) (ジーエルサイエンス製)  
 カラム温度 : 40 °C  
 移動相 : アセトニトリル / 0.1%ギ酸 (13 : 7)  
 流量 : 0.2 mL/min  
 注入量 : 2 µL  
 保持時間の目安 : ブロフラニリド ; 7.5~7.6分  
 イオン化モード : ESI (+)

モニタリングイオン	プレカーサーイオン (m/z)	プロダクトイオン (m/z)
ブロフラニリド	664.9	645.0

## 8. 定量限界

0.01 ppm

## 9. 添加回収試験を実施した食品

みずな

## 10. 留意事項

本分析法は、測定機器の検出感度が低い場合に使用した。

※ 本分析法は、農作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。