

フルピラジフロン分析法（畜産物）

1. 分析対象化合物

フルピラジフロン及び代謝物 M33（ジフルオロ酢酸）

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、メタノール、
n-ヘプタン

: 液体クロマトグラフ用

水

: 脱イオン水を Milli-Q System
(Millipore 製) で精製したもの

フルピラジフロン、ジフルオ
ロ酢酸

: 分析用標準品

その他の試薬

: 特級

4. 試験溶液の調製

① 筋肉、肝臓、腎臓及び卵

均一化した試料 5 g にアセトニトリル及び水（4 : 1）混液 10~15 mL を加え、1 分間磨砕抽出した後、吸引ろ過する。残留物にアセトニトリル及び水（4 : 1）混液 10~15 mL を加え、1 分間磨砕抽出した後、吸引ろ過を繰り返して得られた抽出液を合わせる。ギ酸 110 µL を加えた後、アセトニトリル及び水（4 : 1）混液を加えて正確に 50 mL とする。この溶液 0.5 mL に水 0.4 mL 及び 2.2 mL/L ギ酸のアセトニトリル及び水（4 : 1）溶液 0.1 mL を加え、試験溶液とする。

② 脂肪及び乳

均一化した試料 5 g を遠沈管に量り取り、そこにアセトニトリル及び水（4 : 1）混液 10~15 mL 及び n-ヘプタン 50 mL を加え、1 分間磨砕抽出した後、遠心分離後、上清を分液漏斗に移す。残留物にアセトニトリル及び水（4 : 1）混液 10~15 mL 及び n-ヘプタン 50 mL を加え、1 分間磨砕抽出した後、同様に遠心分離する。得られた上清を先の分液漏斗に加える。残留物をアセトニトリル及び水（4 : 1）混液 5 mL で洗浄した後、先の分液漏斗に加え、静置後、下層を分取し、ギ酸 110 µL を加えた後、アセトニトリル及び水（4 : 1）混液を加えて正確に 50 mL とする。この溶液 0.5 mL に水 0.4 mL 及び 2.2 mL/L ギ酸のアセトニトリル及び水（4 : 1）溶液 0.1 mL を加え、試験溶液とする。

5. 検量線の作成

所定量のフルピラジフロン及び代謝物 M33 の標準品をアセトニトリルに溶解し、約 1000 mg/L 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

及び水（4：1）混液あるいは2.2 mL/L ギ酸のアセトニトリル及び水（4：1）溶液で段階的に希釈し、標準溶液混合液を調製する。無処理の筋肉、肝臓、腎臓、卵、脂肪及び乳を用いて調製した試験溶液 0.4 mL に水 0.5 mL 及び所定濃度の標準溶液混合液 0.1 mL を混合し、マトリックス標準溶液を数点調製し、それぞれ LC-MS/MS に注入して、ピーク面積を測定し、横軸に重量、縦軸にピーク面積をとって、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

フルピラジフロン

カラム : Gemini C18、5 μ m
(2.0 mm i.d. \times 150 mm、Phenomenex製)
プレカラム
Acquity UPLC® BEH C18、1.7 μ m
(2.1 mm i.d. \times 5 mm)

カラム温度 : 60 $^{\circ}$ C

移動相 : A: 1 mL/L 酢酸溶液

B: 1 mL/L 酢酸アセトニトリル溶液

時間 (min)	A	B
0.00	90	10
0.10	90	10
1.30		
2.00	5	95
2.60	5	95
2.60	90	10
4.00	90	10

流量 : 0.5 mL/min

注入量 : 5 μ L

保持時間の目安 : 1.9 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)
	289	126
確認用	289	90

代謝物 M33 (ジフルオロ酢酸)

カラム : ZIC®-HILIC SeQuant™、5 µm
(4.6 mm i.d. ×150 mm、Merck製)

カラム温度 : 室温

移動相 : A: 1 mL/L 酢酸溶液
B: 1 mL/L 酢酸アセトニトリル溶液

時間 (min)	A	B
0.00	5	95
2.80		
4.80		
6.00	15	85
6.10	90	10
8.10	90	10
8.20	5	95
12.00	5	95

流量 : 0.7 mL/min

注入量 : 5 µL

保持時間の目安 : 代謝物 M33 : 3.6 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)
95	51

8. 定量限界

フルピラジフロンの : 0.01 ppm

代謝物 M33 (ジフルオロ酢酸) : 0.02 ppm (フルピラジフロンの換算)

9. 留意事項

なし

※ 本分析法は、農作物及び畜産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。