

フルピラジフロン分析法（農産物）

1. 分析対象化合物

- ・ フルピラジフロン
- ・ ジフルオロ酢酸（代謝物 M33）
- ・ 4-[(2,2-ジフルオロエチル)アミノ]フラン-2(5H)-オン（代謝物 M29）

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、水	: 高速液体クロマトグラフ用
水	: 精製水
ギ酸	: LC/MS 用
その他の試薬類	: 特級
フルピラジフロン	: 分析用標準品
代謝物 M29	: 分析用標準品
代謝物 M33	: 分析用標準品
グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル 化シリカゲル積層ミニカラム (500 mg/500 mg)	: ENVI-Carb/LC-NH ₂ (500 mg/500 mg) 6 mL (SUPELCO 製)
スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム (265 mg)	: Sep-Pak PS2 (265 mg) (Waters 製)

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 gに水20 mLを加え、2時間放置する。これにアセトニトリル、ギ酸及び水（4：0.011：1）混液60 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ニトリル、ギ酸及び水（4：0.011：1）混液30 mLを加え、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトニトリル、ギ酸及び水（4：0.011：1）混液を加えて正確に100 mLとする。

① フルピラジフロン及び代謝物M29

4. 1) の溶液から正確に2 mLを分取し、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に10%塩化ナトリウム溶液及び飽和炭酸水素ナトリウム溶液各5 mLを加え、酢酸エチル10 mLで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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、ろ液を40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル5 mLを加えて溶かす。

② 代謝物M33

4. 1) の溶液から正確に4 mLを分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に水4 mLを加え、更にジクロロメタン4 mLを加えて2回振とう抽出し、ジクロロメタン層は捨てる。抽出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に水4 mLを加えて溶かす。

2) 精製

① フルピラジフロン及び代謝物M29

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (0.5g/0.5g) に酢酸エチル2 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに4. 1) ①で得られた溶液を注入した後、酢酸エチル25 mLを注入し、全ての溶出液を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル、ギ酸及び水 (1 : 0.01 : 9) 混液に溶かし、正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

② 代謝物M33

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムにアセトニトリル及び水各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに4. 1) ②で得られた溶液を注入し、溶出した最初の1 mLは捨てる。残りの溶出液を試験溶液とする。

5. 検量線の作成

フルピラジフロン、代謝物 M29 及び代謝物 M33 標準品をアセトニトリルに溶解し、各 500 µg/mL の標準溶液を調製する。調製した標準原液をそれぞれ等量ずつ混合し、アセトニトリル、ギ酸及び水 (1 : 0.01 : 9) 混液で希釈して数点の溶液を調製し、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 AB Sciex 3200 Q TRAP
カラム	:	①フルピラジフロン及び代謝物 M29 TSK-GEL ODS-100V (5 µm、2.0 mm i.d.×150 mm、東ソー製) ②代謝物 M33 CAPCELLPAK C18AQ (5 µm、2.0 mm i.d.×150 mm、SHISEIDO 製)
カラム温度	:	40 °C

移動相 : 移動相 A ; 0.05%ギ酸、2mM ギ酸アンモニウム含有水
移動相 B ; 0.05%ギ酸含有アセトニトリル

グラジエント (フルピラジフロン 及び代謝物 M29)	(分)	0	5	10	10.1	STOP	
移動相 A (%)	50	1	1	50	50		
移動相 B (%)	50	99	99	50	50		
(代謝物 M33)	(分)	0	5	5.1	7.1	7.2	STOP
移動相 A (%)	90	90	1	1	90	90	
移動相 B (%)	10	10	99	99	10	10	

流量 : 0.2 mL/min

注入量 : 10 µL

保持時間の目安 : フルピラジフロン ; 5.7 分
代謝物 M29 ; 3.0 分
代謝物 M33 ; 7.1 分

イオン化モード : フルピラジフロン及び代謝物 M29 ; ESI (positive)
代謝物 M33 ; ESI (negative)

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 (<i>m/z</i>)	プロダクトイオン (<i>m/z</i>)
フルピラジフロン		289.0	126.1
代謝物 M29		164.0	73.1
代謝物 M33		94.9	50.8

8. 定量限界

フルピラジフロン : 0.010 ppm

代謝物 M33 : 0.04~0.050 ppm

代謝物 M29 : 0.010~0.020 ppm

(代謝物 M33 及び M29 については、換算係数 3.01 及び 1.77 を用いてフルピラジフロンに換算した値を示す。)

9. 添加回収を実施した食品

玄米

10. 留意事項

食品規格 (食品中の農薬の残留基準) の設定に関する規制対象 : フルピラジフロン

※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。