

フルピリミン分析法（農産物）

1. 分析対象化合物

・フルピリミン

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

フルピリミン	:	分析用標準品
アセトニトリル	:	残留農薬試験用、LC/MS 用
メタノール	:	残留農薬試験用
ギ酸	:	HPLC 用、試薬特級
水	:	PURELAB Flex System（Veolia Water Solutions & Technologies 製）で精製した脱イオン水を Milli-Q System（Millipore 製）で精製したもの
その他の試薬	:	特級
陰イオン交換系ミニカラム	:	InertSep SAX、500 mg/6 mL（ジーエルサイエンス製）
ポリマー系ミニカラム	:	InertSep PLS-2、500 mg/6 mL（ジーエルサイエンス製）

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

粉碎した試料 10 g に水 20 mL を加えて 2 時間膨潤後、アセトン及び水（4 : 1, v/v）混液 100 mL を加え、30 分間振とうし、吸引ろ過する。残渣を同混液 50 mL で洗い、同様にろ過する。残渣を円筒ろ紙に移し、自動ソックスレー抽出装置にて同混液 120 mL 程度で 17 時間抽出する。全ての抽出液（ろ液）を合わせて同混液で 400 mL に定容し、そのうちの 200 mL を分取して以後これを抽出液とする。抽出液の 4 mL（試料 0.1 g 相当量）を取り、水 5 mL を加えて、40°C 以下の水浴中で減圧濃縮し、アセトンを留去し濃縮液とする。

2) 精製

① 陰イオン交換系ミニカラム（SAX ミニカラム）による精製

SAX ミニカラムにアセトニトリル及び水を順次 5 mL ずつ流下し前処理する。濃縮液を流下した後、水 3 mL で容器内を洗浄し、これを再度カラムに移して流下する操作を 2 回繰り返す、全溶出液を得る。

② ポリマー系ミニカラムによる精製

ポリマー系ミニカラムにアセトニトリル及び水を順次 5 mL ずつ流下し

前処理する。SAX ミニカラムの溶出液をこのポリマー系ミニカラムに流下する。アセトニトリル及び水 (1 : 9, v/v) 混液 5 mL で容器内を洗浄し、これをポリマー系ミニカラムに移して流下し、これら流出液を捨てる。次にアセトニトリル、水及びギ酸 (600 : 400 : 1, v/v/v) 混液 5 mL を流下し、溶出液を取る操作を 2 回繰り返す。ポリマー系ミニカラム溶出液を水及びギ酸 (1000 : 1, v/v) 混液で 20 mL に定容し試験溶液とする。検量線の濃度範囲外となる場合はアセトニトリル、水及びギ酸 (300 : 700 : 1, v/v/v) 混液でさらに希釈し、試験溶液とする。

5. 検量線の作成

フルピリミン標準品をアセトニトリルに溶解し、200 µg/mL 標準原液を調製する。さらにアセトニトリルで希釈し 5 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、水及びギ酸 (300 : 700 : 1, v/v/v) 混液で希釈し、検量線用の標準液を数点調製する。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)

装置	:	HPLC ; 1290 HPLC (Agilent Technologies 製)																		
		MS ; 6460 Triple Quad (Agilent Technologies 製)																		
カラム	:	ZORBAX Eclipse Plus C18、粒径;1.8 µm、2.1 mm i.d.×50 mm (Agilent Technologies 製)																		
カラム温度	:	40 °C																		
移動相	:	移動相 A : 0.1%ギ酸 移動相 B : アセトニトリル																		
グラジエントプログラム	:	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>0</th> <th>1</th> <th>6</th> <th>7</th> <th>STOP</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>移動相 A(%)</td> <td>95</td> <td>95</td> <td>20</td> <td>20</td> <td>95</td> </tr> <tr> <td>移動相 B(%)</td> <td>5</td> <td>5</td> <td>80</td> <td>80</td> <td>5</td> </tr> </tbody> </table>	時間 (分)	0	1	6	7	STOP	移動相 A(%)	95	95	20	20	95	移動相 B(%)	5	5	80	80	5
時間 (分)	0	1	6	7	STOP															
移動相 A(%)	95	95	20	20	95															
移動相 B(%)	5	5	80	80	5															
流量	:	0.2 mL/min																		
注入量	:	2 µL																		
保持時間の目安	:	約 5.4 分																		
イオン化モード	:	ESI (+)																		
イオン検出法	:	MRM 法																		
モニタリングイオン	:	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>プリカーサーイオン (m/z)</th> <th>プロダクトイオン (m/z)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>フルピリミン</td> <td>316.0</td> <td>126.1</td> </tr> </tbody> </table>		プリカーサーイオン (m/z)	プロダクトイオン (m/z)	フルピリミン	316.0	126.1												
	プリカーサーイオン (m/z)	プロダクトイオン (m/z)																		
フルピリミン	316.0	126.1																		

8. 定量限界
0.005 ppm

9. 添加回収試験を実施した食品
玄米、粳米

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の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。