

フロルピラウキシフェンベンジル分析法（畜産物）

1. 分析対象化合物

- ・フロルピラウキシフェンベンジル

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 | : | 残留農薬試験用 |
| メタノール | : | LC/MS用 |
| ギ酸 | : | 高速液体クロマトグラフィー用 |
| 水 | : | PURELAB Flex System（Veolia Water Solutions & Technologies製）で精製した水 |
| その他の試薬 | : | 特級 |
| フロルピラウキシフェンベンジル | : | 分析用標準品 |
| 4-アミノ-3-クロロ-6-[4-クロロ-2-フルオロ-3-ヒドロキシ(13C6)フェニル]-5-フルオロピリジン-2-カルボン酸 | : | 分析用標準品（ ¹³ C）（日本ダウ・アグロサイエンス製） |
| SPEミニカラム | : | Oasis HLB、60 mg/3mL（日本ウォーターズ製） |

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料5.0 gにアセトニトリル及び0.1 mol/L塩酸（9：1）100 mLを加えて、ホモジナイズし、その10 mlを遠心分離にかける。その上清2 mlにグリセロール及びメタノール（1：9）混液50 µLを加え、40°Cで200～300 µLに濃縮した後、0.1%ギ酸2 mLを加える。

2) 精製

SPEミニカラムによる精製

SPEミニカラムにアセトニトリル及びメタノール（1：1）混液及び0.1%ギ酸を順次3 mLずつ注入し、流出液は捨てる。各溶出後、SPEミニカラムを吸引する。

前処理をしたSPEミニカラムに1) で得られた抽出液を、吸引を使用して注入し、流出液は捨てる。メタノール及び水（1：9）混液1 mLで容器内を洗浄した後、SPEミニカラムに注入し、溶出液は捨てる。

完全吸引によりSPEミニカラムを乾燥させ、溶出液を分取する。

アセトニトリル及びメタノール (1:1) 混液1.5 mLで容器内を洗浄した後、洗浄液をSPEミニカラムに注入し、吸引を行い、溶出液を分取する。さらに同様の洗浄操作を3回おこなう。

溶出液にグリセロール及びメタノール (1:9) 混液50 µLと0.01 µg/mLの4-アミノ-3-クロロ-6-[4-クロロ-2-フルオロ-3-ヒドロキシ (13C6) フェニル]-5-フルオロピリジソン-2-カルボキシル酸標準原液100µLを加え、40°Cの窒素気流下で乾燥させる。

アセトニトリル及びメタノール (1:1) 混液1 mLを加えてよく混ぜた後、0.1%ギ酸1 mLを加えて、試験溶液とする

5. 検量線の作成

フロルピラウキシフェンベンジル標準品をメタノールに溶解し、0.01、0.015、0.05、1 µg/mLの標準原液を調製する。

4-アミノ-3-クロロ-6-[4-クロロ-2-フルオロ-3-ヒドロキシ (13C6) フェニル]-5-フルオロピリジソン-2-カルボキシル酸標準品をメタノールに溶解し、0.01 µg/mLの標準原液を調製する。

調製したフロルピラウキシフェンベンジル標準原液に内部標準物質標準原液を加え、メタノール及び水/ギ酸 (50:50:0.1) 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 : 1200 LC System (Agilent Technologies 製) / 5500 Triple QUAD MS System (AB Sciex 製)

カラム : Kinetex PFP、(Phenomenex製)
2.6 µm、75 x 4.6 mm

カラム温度 : 30 °C

移動相 : 移動相A ; 0.1%ギ酸
移動相B ; 0.1%ギ酸メタノール溶液

時間 (分 : 秒)	0:01	4:00	7:00	8:00	10:5	10:6	14:0
A%	50	30	10	0	0	50	50
B%	50	70	90	100	100	50	50

流量 : 0.4 mL/min

注入量 : 10 μ L
 保持時間の目安 : フロルピラウキシフェンベンジル ; 9.5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 :

	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>)
フロルピラウ キシフェン ベンジル	439.2	91.0

8. 定量限界
0.01 ppm

9. 添加回収試験を実施した食品
牛乳、牛の筋肉、肝臓、腎臓、脂肪

10. 留意事項
特になし

※ 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。