

フルキサメタミド分析法（農産物）

1. 分析対象化合物

- ・フルキサメタミド

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

フルキサメタミド標準品	:	分析用標準品（純度 99.7%）
アセトニトリル	:	残留農薬試験用、HPLC 用、特級
トルエン	:	残留農薬試験用
メタノール	:	HPLC 用
ギ酸	:	特級
水	:	水道水を超純水製造装置（Milli-Q Integral 5（日本ミリポア製））で精製したもの
ケイソウ土	:	HYFLO SUPER-CEL（CELITE 製）
グラファイトカーボン/PSA 積層ミニカラム	:	Supelclean ENVI-CarbII/PSA SPE Tube 500 mg/500 mg/6 mL（SUPELCO 製）
C ₁₈ ミニカラム（茶の分析時のみ使用）	:	InertSep C18-C 1 g/6 mL（GL サイエンス製）

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

①野菜の場合

均一化した試料 20 g にケイソウ土 3 g、アセトニトリル及び超純水（4 : 1, v/v）混液 100 mL を加え、30 分間振とう抽出する。抽出物をろ紙を敷いたブフナーロートで吸引ろ過し、残渣をアセトニトリル及び超純水（4 : 1, v/v）混液 20 mL で洗浄後同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトニトリル及び超純水（4/1, v/v）混液を加えて、正確に 150 mL とする。

②だいたいの場合

粉碎した試料 10 g に超純水 20 mL を加え、30 分間放置する。これにケイソウ土 3 g 及びアセトニトリル 80 mL を加え、30 分間振とう抽出する。抽出物をろ紙を敷いたブフナーロートで吸引ろ過し、残渣をアセトニトリル及び超純水（4 : 1, v/v）混液 30 mL で洗浄後同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトニトリル及び超純水（4 : 1, v/v）混液を加えて、正確に 150 mL とする。

③茶の場合

粉碎した試料 5 g に超純水 20 mL を加え、30 分間放置する。これにケイソウ土 3 g 及びアセトニトリル 80 mL を加え、30 分間振とう抽出する。抽出物をろ紙を敷いたブフナーロートで吸引ろ過し、残渣をアセトニトリル及び超純水 (4 : 1, v/v) 混液 30 mL で洗浄後同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトニトリル及び超純水 (4 : 1, v/v) 混液を加えて、正確に 150 mL とする。

2) 精製

①野菜及びだいずの場合

グラファイトカーボン/PSA 積層ミニカラムによる精製

グラファイトカーボン/PSA 積層ミニカラムにアセトニトリルを 5 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られた抽出液 3 mL (だいずは 6 mL) を注入する。その後、アセトニトリル 5 mL で 2 回ミニカラムを洗浄した後、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1, v/v) 混液 20 mL を注入し、溶出液を採取する。溶出液を 40 °C 以下で濃縮し、更に窒素気流下で溶媒を留去した後、メタノール及び超純水 (1 : 1, v/v) 混液 2 mL に溶解し、試験溶液とする。

②茶の場合

C₁₈ およびグラファイトカーボン/PSA 積層ミニカラムによる精製

C₁₈ ミニカラムにアセトニトリル及び超純水 (1 : 1, v/v) 混液 5 mL を注入し、流出液を捨てる。このカラムに 1) で得られた抽出液 12 mL 及び超純水 10 mL の混液を注入する。その後、アセトニトリル及び超純水 (1 : 1, v/v) 混液 5 mL でミニカラムを洗浄する。

グラファイトカーボン/PSA 積層ミニカラムにアセトニトリルを 5 mL を注入し、流出液を捨てる。グラファイトカーボン/PSA 積層ミニカラムを C₁₈ ミニカラムの下部に連結する。連結カラムにアセトニトリル及び超純水 (7 : 3, v/v) 混液 15 mL を注入し、流出液を捨てる。連結カラムから C₁₈ ミニカラムを取り除き、捨てる。グラファイトカーボン/PSA 積層ミニカラムをアセトニトリル 5 mL で 2 回洗浄した後、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1, v/v) 混液 20 mL を注入し、溶出液を採取する。溶出液を 40 °C 以下で濃縮し、更に窒素気流下で溶媒を留去した後、メタノール及び超純水 (1 : 1, v/v) 混液 2 mL に溶解し、試験溶液とする。

5. 検量線の作成

フルキサメタミド標準品をアセトニトリルに溶解し、1,000 µg/mL の標準原液を調製する。調製した標準原液をメタノール及び超純水 (1 : 1, v/v) 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 10 µL を 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 ; alliance 2695 (Waters 製) MS ; Quatro micro API (Waters 製)
カラム	: YMC-Pack Pro C18、粒径 ; 5 μ m、2.0 mm i.d.×150 mm(YMC 製)
カラム温度	: 40 °C
移動相	: 移動相 A : メタノール 移動相 B : 超純水及びギ酸 (500 : 1, v/v) 混液 移動相 A : 移動相 B (9 : 1) のコンスタントフロー
流量	: 0.2 mL/min
注入量	: 10 μ L
保持時間の目安	: 約 4.1 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

	フリカーサーイオン (<i>m/z</i>)	プロダクトイオン (<i>m/z</i>)
フルキサメタミド [*]	474.0	400.0

8. 定量限界

0.01 ppm

9. 添加回収試験を実施した食品

ピーマン、だいず、茶 (あら茶)

10. 留意事項

- ・移動相にはメタノールを使用すること。
- ・フルキサメタミドの標準溶液はアセトニトリル中、暗所-10°C以下で 182 日間安定である。また、アセトニトリル及び/超純水 (1 : 1, v/v) 混液中、暗所 10°C以下で 182 日間安定である。

※ 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。