

## フィプロニル試験法（畜産物）

### 1. 分析対象化合物

フィプロニル

(±) -5-アミノ-1-(2,6-ジクロロ- $\alpha$ ,  $\alpha$ ,  $\alpha$ -トリフルオロ-*p*-トリル)-4-トリフルオロメチルスルホニルピラゾロール-3-カルボニトリル（以下「代謝物 B」という。）

### 2. 適用食品

畜産物

### 3. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

### 4. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の 3 に示すものを用いる。

アルミナ（中性）ミニカラム（1,000mg） 内径 12~13mm のポリエチレン製のカラム管に、アルミナ（中性）1,000mg を充填したもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

10mmol/L ギ酸アンモニウム溶液（pH9） ギ酸アンモニウム 0.63g を量り採り水約 950 mL に溶解し、アンモニア水を用いて pH を 9 に調整した後、水を加えて 1 L とする。

フィプロニル標準品 本品はフィプロニル 98%以上を含む。

代謝物 B 標準品 本品は代謝物 B 98%以上を含む。

### 5. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

試料 10.0g に *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 50mL、*n*-ヘキサン 50mL 及び酢酸 1 mL を加えてホモジナイズした後、無水硫酸ナトリウム 20g を加えてさらにホモジナイズする。毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離した後、*n*-ヘキサン層を捨て、アセトニトリル層を採る。残留物にアセトニトリル 50mL を加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離する。アセトニトリル層を採り、先のアセトニトリル層と合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100mL とする。この溶液から正確に 5 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 *n*-ヘキサン 2 mL を加えて溶かす。

#### 2) 精製

アルミナ（中性）ミニカラム（1,000 mg）に *n*-ヘキサン 5 mL を注入し、流出液は捨

てる。このカラムに、1) で得られた溶液を注入した後、さらに *n*-ヘキサン 5 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、エタノール及び *n*-ヘキサン (1 : 19) 混液 15 mL を注入し、溶出液を採り、40°C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及び 10mmol/L ギ酸アンモニウム溶液 (pH 9) (4 : 1) 混液に溶解し、正確に 1 mL としたものを試験溶液とする。

## 6. 検量線の作成

フィプロニル標準品及び代謝物 B 標準品をそれぞれアセトニトリルに溶かして標準原液とする。各標準原液を適宜混合してアセトニトリル及び 10mmol/L ギ酸アンモニウム溶液 (pH 9) (4 : 1) 混液で希釈した溶液を数点調製し、それぞれ LC-MS/MS に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中 0.001mg/kg に相当する試験溶液中の濃度は 0.0005mg/L である。

## 7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6 の検量線でフィプロニル及び代謝物 B の含量を求める。次式により、代謝物 B を含むフィプロニルの含量を求める。

フィプロニル (代謝物 B を含む。) の含量 (ppm) =  $A + B \times 0.9647$

A : フィプロニルの含量 (ppm)

B : 代謝物 B の含量 (ppm)

## 8. 確認試験

LC-MS/MS により確認する。

## 9. 測定条件

(例)

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲル 内径 3 mm、長さ 150 mm、粒子径 3  $\mu$  m

カラム温度 : 40°C

移動相 : アセトニトリル及び 10mmol/L ギ酸アンモニウム溶液 (pH 9) (4 : 1) 混液

イオン化モード : ESI (-)

主なイオン (*m/z*)

フィプロニル : プリカーサーイオン 435、プロダクトイオン 330

プリカーサーイオン 437、プロダクトイオン 332、 330

代謝物 B : プリカーサーイオン 451、プロダクトイオン 282

プリカーサーイオン 453、プロダクトイオン 284、 282

注入量 : 5  $\mu$  L

保持時間の目安

フィプロニル：3分

代謝物B：3分

## 10. 定量限界

各 0.001mg/kg (代謝物Bはフィプロニル換算)

## 11. 留意事項

### 1) 試験法の概要

フィプロニル及び代謝物Bを、酢酸酸性下、*n*-ヘキサン及び無水硫酸ナトリウム存在下、アセトニトリルで抽出する。アルミナ（中性）ミニカラムで精製した後、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。なお、フィプロニル及び代謝物Bのそれぞれについて定量を行い、代謝物Bを含むフィプロニルの含量を求める場合には、代謝物Bの含量に換算係数を乗じてフィプロニル含量に変換し、これらの和を分析値とする。

### 2) 注意点

① フィプロニル及び代謝物BのLC-MS/MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

#### ・フィプロニル

定量イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 435、プロダクトイオン 330

定性イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 437、プロダクトイオン 332

#### ・代謝物B

定量イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 451、プロダクトイオン 282

定性イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 453、プロダクトイオン 284

② 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳、鶏の筋肉、鶏卵

## 12. 参考文献

なし

## 13. 類型

C