

フルチアニル試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

フルチアニル

2. 適用食品

農産物

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。

グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム 内径12~13 mmのポリエチレン製のカラム管に、上層にグラファイトカーボンを、下層にエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルを各500 mg充てん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。

0.5 mol/L リン酸緩衝液（pH 7.0） リン酸水素二カリウム（ K_2HPO_4 ）52.7 g 及びリン酸二水素カリウム（ KH_2PO_4 ）30.2 g を量り採り、水約 500 mL に溶解し、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液又は 1 mol/L 塩酸を用いて pH を 7.0 に調整した後、水を加えて 1 L とする。

フルチアニル標準品 本品はフルチアニル98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類、豆類及び種実類の場合

試料10.0 gに水20 mLを加え、30分間放置する。これにアセトニトリル50 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20 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に100 mLとする。この溶液から正確に20 mLを分取し、塩化ナトリウム10 g及び0.5 mol/Lリン酸緩衝液（pH 7.0）20 mLを加え、10分間振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）にアセトニトリル10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記のアセトニトリル層を注入し、さらに、アセトニトリル2 mLを注入して、全溶出液を採り、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℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液2 mLを加えて溶かす。

② 果実、野菜及びハーブの場合

試料20.0 gにアセトニトリル50 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20 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に100 mLとする。この溶液から正

確に20 mLを分取し、塩化ナトリウム10 g及び0.5 mol/Lリン酸緩衝液 (pH 7.0) 20 mLを加え、10分間振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。アセトニトリル層に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℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液2 mLを加えて溶かす。

③ 茶及びホップの場合

試料5.00 gに水20 mLを加え、30分間放置する。これにアセトニトリル50 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20 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に100 mLとする。この溶液から正確に5 mLを分取し、アセトニトリル15 mL、塩化ナトリウム10 g及び0.5 mol/Lリン酸緩衝液 (pH 7.0) 20 mLを加え、10分間振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にアセトニトリル10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記のアセトニトリル層を注入し、さらに、アセトニトリル2 mLを注入して、全溶出液を採り、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℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液2 mLを加えて溶かす。

2) 精製

① 穀類、豆類、種実類、果実、野菜及びハーブの場合

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) にアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液10 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、さらにアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液20 mLを注入して、全溶出液を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶かして、穀類、豆類及び種実類の場合は正確に4 mL、果実、野菜及びハーブの場合は正確に8 mLとしたものを試験溶液とする。

② 茶及びホップの場合

グラファイトカーボン/エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (500 mg/500 mg) に、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液10 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、さらにアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液20 mLを注入して、全溶出液を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶かして、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

フルチアニル標準品のメタノール溶液を数点調製し、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0.01 mg/kgに相当する試験溶液中濃度は、穀類、豆類、種実類、果実、野菜及びハーブでは0.005 mg/Lであり、茶及びホップでは0.0025 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でフルチアニルの含量を求める。

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2.1 mm、長さ150 mm、粒子径3.5 μm

カラム温度：40°C

移動相：A液及びB液について下表の濃度勾配で送液する。

A液：5 mmol/L酢酸アンモニウム溶液

B液：5 mmol/L酢酸アンモニウム・メタノール溶液

時間 (分)	A液 (%)	B液 (%)
0	85	15
1	60	40
3.5	60	40
6	50	50
8	45	55
17.5	5	95
30	5	95
30	85	15

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (m/z)：プリカーサーイオン427、プロダクトイオン411、201、192、132

注入量：5 μL

保持時間の目安：17分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

フルチアニルを試料からアセトニトリルで抽出し、塩析で水を除いた後、果実、野菜及びハーブについてはそのまま、穀類、豆類、種実類、茶及びホップについてはオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製後、穀類、豆類、種実類、果実、野菜及びハーブについては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で精製し、茶及びホップについてはグラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層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。

2) 注意点

① 本法は「LC/MSによる農薬等の一斉試験法I (農産物)」に準拠したものである。

- ② フルチアニルの 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。
定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 427、プロダクトイオン 411
定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 427、プロダクトイオン 192
- ③ 本法における測定条件下では、フルチアニルのピーク形状にリーディングが生じるが、定量性に問題はない。また、移動相にアセトニトリルを用いることによりピーク形状が改善することが報告されている。
- ④ 試験法開発時に検討した食品：玄米、大豆、かぼちゃ、ほうれんそう、なす、ばれいしょ、オレンジ、いちご、茶

12. 参考文献

厚生労働省通知食安発第1129002号「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について（一部改正）」（平成17年11月29日）、「LC/MSによる農薬等の一斉試験法I（農産物）」

13. 類型

C