

フルシラゾール試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

フルシラゾール

[ビス（4-フルオロフェニル）メチル] シラノール（以下「代謝物D」という。）

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

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

フルシラゾール標準品 本品はフルシラゾール98%以上を含む。

代謝物D標準品 本品は代謝物D 90%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 筋肉、肝臓、腎臓、乳、卵及び魚介類の場合

試料10.0 gにアセトン100 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ン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に200 mLとする。この20 mLを採り、40°C以下で約4 mLまで濃縮した後、水10 mLを加える。

② はちみつの場合

試料10.0 gに水20 mLを加え溶解する。これにアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に水10 mL及びアセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に200 mLとする。この20 mLを採り、40°C以下で約4 mLまで濃縮した後、水10 mLを加える。

③ 脂肪の場合

試料5.00 gにアセトン100 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ン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に200 mLとする。この40 mLを採り、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30 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン4 mLを加えて溶かした後、水10 mLを加える。

2) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）にアセトニトリル及び水各5 mLを順次注入し、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、アセトニトリル及び水（2：3）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及び水（3：2）混液10 mLを注入し、流出液をアセトニトリル及び水（3：2）混液で正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

フルシラゾール標準品及び代謝物D標準品のアセトニトリル及び水（3：2）混液の溶液を数点調製し、それぞれを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。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各化合物とも0.001 mg/Lである。なお、代謝物Dについては、フルシラゾールに換算した値である。

6. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、5の検量線でフルシラゾール及び代謝物Dの含量を求める。代謝物Dを含むフルシラゾールの含量を求める場合には、次式により求める。

フルシラゾール（代謝物Dを含む。）の含量（ppm）＝A+B×1.260

A：フルシラゾールの含量（ppm）

B：代謝物Dの含量（ppm）

7. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

8. 測定条件

（例）

カラム：1-ジイソプロピルシリル-3-ミリスチルアミデートシリカゲル 内径2.1 mm、長さ150 mm、
粒子径5 μm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び5 mmol/L酢酸アンモニウムの混液（3：7）から（19：1）までの濃度勾配を15分間で行う。

イオン化モード

フルシラゾール：ESI（+）

代謝物D：ESI（-）

主なイオン（*m/z*）

フルシラゾール：プリカーサーイオン 316、プロダクトイオン 247、165

代謝物D：プリカーサーイオン 249、プロダクトイオン 153、173

注入量：10 μL

保持時間の目安

フルシラゾール：9分

代謝物D：10分

9. 定量限界

各化合物0.01 mg/kg（代謝物Dはフルシラゾール換算）

10. 留意事項

1) 試験法の概要

フルシラゾール及び代謝物Dを試料からアセトンで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂（脂肪の場合のみ）する。オクタデシルシリル化シリカゲル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 代謝物Dは減圧濃縮時に損失しやすいため、約1 mLまで減圧濃縮した後、窒素ガスを緩やかに送って溶媒を除去する。

② フルシラゾール及び代謝物D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。

フルシラゾール

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 316、プロダクトイオン 247

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 316、プロダクトイオン 165

代謝物D

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 249、プロダクトイオン 153

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 249、プロダクトイオン 173

③ 試験法開発時には、代謝物Dは純度90%以上の標準品のみが入手可能であったため、3の試薬、試液では、「代謝物D標準品 本品は代謝物D 90%以上を含む。」とされたが、入手可能な場合には純度95%以上の標準品を試験に用いるのが望ましい。

1 1. 参考文献

なし

1 2. 類型

C