

フェリムゾン試験法（水産物）

1. 分析対象化合物

フェリムゾン（E体）

フェリムゾン（Z体）

2. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC-MS）又は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。

フェリムゾン（E体）標準品 本品はフェリムゾン（E体）99%以上を含み、融点は109～113℃である。

フェリムゾン（Z体）標準品 本品はフェリムゾン（Z体）98%以上を含み、融点は174～178℃である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

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 10 mL を採り、10%塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、*n*-ヘキサン 100 mL 及び 50 mL で2回振とう抽出する。抽出液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、40℃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℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン（1：9）混液 5 mL を加えて溶かす。

2) 精製

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910 mg）にアセトン及び *n*-ヘキサン（1：9）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、アセトン及び *n*-ヘキサン（1：9）混液 5 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン及び *n*-ヘキサン（1：4）混液 10 mL を注入し、溶出液を 40℃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水（1：1）混液に溶解し、正確に 5 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

フェリムゾン (E 体) 及びフェリムゾン (Z 体) 標準品の各 0.001~0.01 mg/L 溶液 (アセトニトリル及び水 (1:1) 混液) を数点調製し、それぞれ 5 µL を LC-MS 又は 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。

6. 定量

試験溶液 5 µL を LC-MS 又は LC-MS/MS に注入し、5 の検量線でフェリムゾン (E 体) 及びフェリムゾン (Z 体) の含量を求める。次式により、フェリムゾンの含量を求める。

$$\text{フェリムゾンの含量 (ppm)} = A + B$$

A : フェリムゾン (E 体) の含量 (ppm)

B : フェリムゾン (Z 体) の含量 (ppm)

7. 確認試験

LC-MS 又は LC-MS/MS により確認する。

8. 測定条件

カラム : トリアコンチルシリル化シリカゲル 内径 2.0 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 µm

カラム温度 : 40°C

移動相 : A 液及び B 液について下の表の濃度勾配で送液する。

A 液 : 2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B 液 : アセトニトリル

時間 (分)	A 液 (%)	B 液 (%)
0	70	30
20	10	90
25	10	90
25	70	30

イオン化モード : ESI (+)

主なイオン (m/z) :

1) LC-MS の場合 255

2) LC-MS/MS の場合 プリカーサーイオン 255、プロダクトイオン 132、91

保持時間の目安 : フェリムゾン (Z 体) 11 分、フェリムゾン (E 体) 12 分

9. 定量限界

0.01 mg/kg (フェリムゾン (E 体) 及びフェリムゾン (Z 体) とも)

10. 留意事項

1) 試験法の概要

フェリムゾン (*E* 体) 及びフェリムゾン (*Z* 体) を試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂し、合成ケイ酸マグネシウムミニカラムで精製した後、LC-MS 又は LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。

2) 注意点

① アセトニトリル/ヘキサン分配を行う際、転溶後、濃縮乾固した残留物が *n*-ヘキサンに対して溶解が不十分なことがある。分液漏斗に移す際、*n*-ヘキサンのみならず *n*-ヘキサン飽和アセトニトリルでも洗い込みを行うことで、回収率の低下を防ぐことが出来る。

② LC の分離カラムについては、フェリムゾン (*E* 体) 及びフェリムゾン (*Z* 体) がオクタデシルシリル化シリカゲル (C₁₈) カラムでは十分に分離しなかったため、トリアコンチルシリル化シリカゲル (C₃₀) カラムを用いている。

③ LC-MS/MS の場合、主なイオンの他に観察されるプロダクトイオンとして、*m/z* 124 及び *m/z* 117 がある。

11. 参考文献

環境省告示第 71 号「フェリムゾン試験法」(平成 3 年 11 月 1 日)

12. 類型

C