

メタフルミゾン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

メタフルミゾン (*E*-異性体)

メタフルミゾン (*Z*-異性体)

p- [*m*- (トリフルオロメチル) フェナシル] ベンズニトリル (以下「メタフルミゾン代謝物」という。)

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。

メタフルミゾン (*E*-異性体) 標準品 本品はメタフルミゾン *E* 体 98%以上を含む。

メタフルミゾン (*Z*-異性体) 標準品 本品はメタフルミゾン *Z* 体 98%以上を含む。

メタフルミゾン代謝物標準品 本品はメタフルミゾン代謝物 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 を加えホモジナイズした後、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。この溶液から正確に 20 mL を分取し、40°C以下で約 5 mL に濃縮する。これに 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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°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及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 2 mL を加えて溶かす。

② 果実、野菜及び茶の場合

果実及び野菜の場合は試料 20.0 g を量り採る。茶の場合は、試料 5.00 g に水 20 mL を加えて 30 分間放置する。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、アセトン 50 mL を加えホモジナイズした後、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。この溶液から果実及び野菜の場合は正確に 10 mL (茶の場合は正確に 40 mL) を分取し、40°C以下で約 5 mL に濃縮する。これに 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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°C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 : 4) 混液 2 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 : 4) 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 : 4) 混液 15 mL を注入し、全溶出液を採り、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶解し、正確に 5 mL としたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

メタフルミゾン (*E*-異性体) 標準品、メタフルミゾン (*Z*-異性体) 標準品及びメタフルミゾン代謝物標準品をそれぞれアセトニトリルに溶解して 1 mg/mL とし標準原液とする。各標準原液を適宜混合してメタノール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 0.01 mg/kg に相当する試験溶液中濃度は、メタフルミゾン (*E*-異性体)、メタフルミゾン (*Z*-異性体) 及びメタフルミゾン代謝物はいずれも 0.002 mg/L である。なお、メタフルミゾン代謝物については、メタフルミゾンに換算した値である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. の検量線でメタフルミゾン (*E*-異性体)、メタフルミゾン (*Z*-異性体) 及びメタフルミゾン代謝物の含量を求める。メタフルミゾン代謝物を含むメタフルミゾンの含量を求める場合には、次式により求める。

メタフルミゾン (メタフルミゾン代謝物を含む。) の含量 (ppm) = $A+B+C \times 1.751$

A : メタフルミゾン (*E*-異性体) の含量 (ppm)

B : メタフルミゾン (*Z*-異性体) の含量 (ppm)

C : メタフルミゾン代謝物の含量 (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 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 μm

カラム温度 : 40°C

移動相 : アセトニトリル及び 0.1 vol%ギ酸の混液 (1 : 1) から (4 : 1) までの濃度勾配を 15 分間で行い、さらに (99 : 1) までの濃度勾配を 1 分間で行い (99 : 1) で 5 分間保持する。

イオン化モード : ESI (-)

主なイオン (*m/z*)

メタフルミゾン (*E*-異性体) 及びメタフルミゾン (*Z*-異性体) : プリカーサーイオン 505、
プロダクトイオン 302、117

メタフルミゾン代謝物 : プリカーサーイオン 288、プロダクトイオン 142、114

注入量 : 5 μL

保持時間の目安

メタフルミゾン (*E*-異性体) : 15 分

メタフルミゾン (*Z*-異性体) : 14 分

メタフルミゾン代謝物 : 9 分

10. 定量限界

各化合物 0.01 mg/kg (メタフルミゾン代謝物はメタフルミゾン換算)

11. 留意事項

1) 試験法の概要

メタフルミゾン (*E*-異性体)、メタフルミゾン (*Z*-異性体) 及びメタフルミゾン代謝物を試料からアセトンで抽出し、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1:4) 混液に転溶する。アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、合成ケイ酸マグネシウムミニカラムで精製し、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。なお、メタフルミゾン (*E*-異性体)、メタフルミゾン (*Z*-異性体) 及びメタフルミゾン代謝物のそれぞれについて定量を行い、メタフルミゾン代謝物を含むメタフルミゾンの含量を求める場合には、メタフルミゾン代謝物に換算係数を乗じてメタフルミゾンの含量に換算し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

- ① メタフルミゾン (*E*-異性体)、メタフルミゾン (*Z*-異性体) 及びメタフルミゾン代謝物の 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。

メタフルミゾン (*E*-異性体) 及びメタフルミゾン (*Z*-異性体)

定量イオン (m/z): プリカーサーイオン 505、プロダクトイオン 302

定性イオン (m/z): プリカーサーイオン 505、プロダクトイオン 117

メタフルミゾン代謝物

定量イオン (m/z): プリカーサーイオン 288、プロダクトイオン 142

定性イオン (m/z): プリカーサーイオン 288、プロダクトイオン 114

- ② 試験法開発時に検討した食品: 玄米、大豆、らっかせい、ばれいしょ、キャベツ、ほうれんそう、オレンジ、りんご、茶及びコリアンダーの種子

12. 参考文献

なし

13. 類型

C