

フルメツラム試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

フルメツラム

2. 適用食品

畜水産物

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（500 mg/500 mg）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。

フルメツラム標準品 本品はフルメツラム 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 筋肉、肝臓、腎臓、乳、卵、魚介類及びはちみつの場合

試料10.0 gにアセトン及び0.1 mol/L塩酸（9：1）混液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及び0.1 mol/L塩酸（9：1）混液50 mLを加えて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て、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に2 mLを分取し、40℃以下で濃縮し、アセトンを除去する。この残留物に0.1 mol/L塩酸3 mLを加えて溶かす。

② 脂肪の場合

試料5.00 gにアセトン及び0.1 mol/L塩酸（9：1）混液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及び0.1 mol/L塩酸（9：1）混液50 mLを加えて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て、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に4 mLを分取し、40℃以下で濃縮し、アセトンを除去する。この残留物に0.1 mol/L塩酸3 mLを加えて溶かす。

2) 精製

① 多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィー

1) で得られた溶液を多孔性ケイソウ土カラム（5 mL保持用）に注入し、5分間放置する。*n*-ヘキサン20 mLで1) で得られた溶液が入っていた容器を洗い、洗液を多孔性ケイソウ土カラムに注入し、さらに*n*-ヘキサン20 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル10 mLで1) で得られた溶液が入っていた容器を洗い、洗液を多孔性ケイソウ土カラムに注入し、さらに酢酸エチル30 mLを注入する。全溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン5 mLを加えて溶かす。

② 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カラムクロマトグラフィー

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) にメタノール及びアセトン各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに2) ①で得られた溶液を注入した後、さらにアセトン5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、ギ酸及びメタノール (1 : 49) 混液20 mLを注入し、溶出液を40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を0.1 vol%ギ酸及びメタノール (1 : 1) 混液に溶かし、正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

フルメツラム標準品の1 vol%ギ酸及びメタノール (1 : 1) 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。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0.0005 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6の検量線でフルメツラムの含量を求める。

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2.0 mm、長さ150 mm、粒子径5 µm

カラム温度：40°C

移動相：0.1%ギ酸及びメタノール溶液 (4 : 1) から (2 : 3) までの濃度勾配を13分間で行い、(2 : 3) で2分間保持する。

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (*m/z*)：プリカーサーイオン 326、プロダクトイオン 129、109

注入量：4 µL

保持時間の目安：9分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

フルメツラムを試料からアセトン及び0.1 mol/L塩酸 (9 : 1) 混液で抽出し、多孔性ケイソウ土カラム及び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 残留物中の脂質等の溶解には0.1 mol/L塩酸のみでは不十分なため、多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィー操作において、洗浄溶媒の*n*-ヘキサン及び溶出溶媒の酢酸エチルで負荷溶

液の入っていた容器を洗い込む。

② フルメツラムの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。

ESI (+) での測定条件

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン326、プロダクトイオン129

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン326、プロダクトイオン109

また、そのほかのイオンの例を以下に示す。 イオン化モード : ESI (-)

主なイオン (m/z) : プリカーサーイオン324、プロダクトイオン133、66

③ 試験法開発時に検討した食品 : 牛の筋肉・脂肪・肝臓、牛乳、鶏の筋肉、鶏卵、はちみつ、さけ、うなぎ及びしじみ

12. 参考文献

なし

13. 類型

C