

塩酸ホルメタネート試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

塩酸ホルメタネート

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。

塩酸ホルメタネート標準品 本品は塩酸ホルメタネート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100 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分3,000回転で5分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にアセトニトリル50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様に遠心分離し、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に200 mLとする。

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、30分間放置する。これにアセトニトリル100 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分3,000回転で5分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にアセトニトリル50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様に遠心分離し、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に200 mLとする。

2) 精製

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）にアセトニトリル20 mLを注入し、流出液は捨てる。グラフアイトカーボンミニカラム（500 mg）にアセトニトリル20 mLを注入し、流出液は捨てる。エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムの下部にグラフアイトカーボンミニカラムを接続し、このカラムに1)で得られた溶液から穀類、豆類及び種実類の場合は正確に5 mLを、果実及び野菜の場合は正確に2.5 mLを、茶の場合は正確に10 mLを分取して注入した後、アセトニトリル20 mLを注入し、全溶出液を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水（1:1）混液に溶かし、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

塩酸ホルメタネート標準品のアセトニトリル及び水（1:1）混液の溶液を数点調製し、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 の検量線で塩酸ホルメタネートの含量を求める。

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100 mm、粒子径5 μ m

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び5 mmol/L酢酸アンモニウム溶液（1：19）で1分間保持した後、（1：19）から（19：1）までの濃度勾配を7分間で行う。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（ m/z ）：プリカーサーイオン222、プロダクトイオン165、93

注入量：5 μ L

保持時間の目安：3分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

塩酸ホルメタネートを試料からアセトニトリルで抽出し、エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムとグラファイトカーボンミニカラムの連結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 塩酸ホルメタネートはメタノール及び水溶液中では不安定であるが、アセトニトリル中では安定である。
- ② 塩酸ホルメタネートは試験溶液中で徐々に分解しやすいので、測定は試験溶液の調製後、速やかに行う。また、測定中は試験溶液を冷却することが望ましい。
- ③ 塩酸ホルメタネートの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 222、プロダクトイオン 165
定性イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 222、プロダクトイオン 93
- ④ 試験法開発時に検討した食品：玄米、大豆、ほうれんそう、キャベツ、ばれいしょ、オレンジ、ライム、りんご、ネクタリン及び緑茶

12. 参考文献

なし

13. 類型

C