

シフルメトフェン試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

シフルメトフェン

α, α, α -トリフルオロ-*o*-トルイル酸（以下「代謝物B-1」という。）

2. 適用食品

畜産物（はちみつを除く）

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。

シフルメトフェン標準品 本品はシフルメトフェン95%以上を含む。

代謝物B-1標準品 本品は代謝物B-1 95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 gにメタノール50 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分3,000回転で10分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にメタノール25 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、メタノールを加えて正確に100 mLとする。この溶液から正確に25 mLを分取し、40°C以下で約1 mLに濃縮する。この溶液に0.1 vol%酢酸を加え、10 mLとする。

2) 精製

ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（200 mg）にメタノール及び0.1 vol%酢酸各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに1)で得られた溶液を注入した後、水5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、メタノール10 mLを注入し、溶出液を40°C以下で約1 mLに濃縮する。この溶液に水及びメタノール（2：3）混液を加え、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

シフルメトフェン標準品及び代謝物B-1標準品を用いてそれぞれ標準原液を調製する。各標準原液を適宜混合して水及びメタノール（2：3）混液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0.005 mg/kg（代謝物B-1はシフルメトフェン換算）に相当する試験溶液中濃度は0.0025 mg/L（代謝物B-1はシフルメトフェン換算）である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でシフルメトフェン及び代謝物B-1の各含量を求める。
なお、代謝物B-1を含むシフルメトフェンの含量を求める場合には、次式により求める。

シフルメトフェン（代謝物B-1を含む。）の含量（ppm）＝A + B × 2.354

A：シフルメトフェンの含量（ppm）

B：代謝物B-1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2.0 mm、長さ150 mm、粒子径3 μm

カラム温度：40℃

移動相：0.05 vol%酢酸及び0.05 vol%酢酸・メタノール溶液の混液（2：3）で1分間保持した後、
（1：19）までの濃度勾配を14分間で行う。

イオン化モード

シフルメトフェン：ESI（+）

代謝物B-1：ESI（-）

主なイオン（*m/z*）

シフルメトフェン：プリカーサーイオン448、プロダクトイオン249、173

代謝物B-1：プリカーサーイオン189、プロダクトイオン145、69

注入量：10 μL

保持時間の目安

シフルメトフェン：14分

代謝物B-1：4分

10. 定量限界

各化合物：0.005 mg/kg（代謝物B-1はシフルメトフェン換算）

11. 留意事項

1) 試験法の概要

シフルメトフェン及び代謝物B-1を試料からメタノールで抽出し、ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体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。なお、シフルメトフェン及び代謝物B-1のそれぞれについて定量を行い、代謝物B-1を含むシフルメトフェンの含量を求める場合には、代謝物B-1の含量に換算係数を乗じてシフルメトフェンの含量に換算し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

- ① LC-MS/MS測定では、試料中の夾雑成分のキャリーオーバーの影響を軽減させるため、シフルメトフェンが溶出した後に移動相のメタノール濃度を上げてカラムを洗浄するとよい。
- ② シフルメトフェン及び代謝物B-1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。

シフルメトフェン

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン448、プロダクトイオン249

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン448、プロダクトイオン173

代謝物B-1

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン189、プロダクトイオン145

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン189、プロダクトイオン69

- ③ 代謝物B-1は他の農薬の規制対象にも含まれている。
- ④ 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳

12. 参考文献

なし

13. 類型

C