

トリフロキシストロビン試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

トリフロキシストロビン

(E,E) -メトキシイミノ- {2- [1- (3-トリフロロメチル-フェニル) -エチリデンアミノオキシメチル] -フェニル} -酢酸（以下、「代謝物 B」という。）

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。

トリフロキシストロビン標準品 本品はトリフロキシストロビン 98%以上を含む。

代謝物 B 標準品 本品は代謝物 B 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① はちみつ以外の場合

試料 10.0 g（脂肪は 5.00 g）に 4 mol/L 塩酸 5 mL 及びアセトン 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て、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 2 mL（脂肪は 4 mL）を分取し、水 10 mL を加える。

② はちみつの場合

試料 10.0 g に水 20 mL を加えて溶解する。これに 4 mol/L 塩酸 5 mL 及びアセトン 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に水 10 mL 及びアセトン 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て、アセトンを加えて正確 200 mL とする。この溶液から正確に 2 mL を分取し、水 10 mL を加える。

2) 精製

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム（500 mg）の下部にグラファイトカー

ボンミニカラム (500 mg) を連結し、アセトニトリル及び水各 10 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。この連結カラムに 1) で得られた溶液を注入した後、ギ酸、水及びメタノール (1 : 30 : 70) 混液 20 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、1 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液 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。この残留物をアセトニトリル、ギ酸及び水 (50 : 1 : 50) 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

トリフロキシストロビン標準品をアセトンに溶解して標準原液を調製する。また、代謝物 B 標準品を 1 vol%ギ酸・アセトン溶液に溶解して標準原液を調製する。各標準原液を適宜混合してアセトニトリル、ギ酸及び水 (50 : 1 : 50) 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 0.01 mg/kg に相当する試験溶液中濃度は各化合物とも 0.0005 mg/L (代謝物 B はトリフロキシストロビン換算) である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6 の検量線でトリフロキシストロビン及び代謝物 B の含量を求める。代謝物 B を含むトリフロキシストロビンの含量を求める場合には、次式により求める。

トリフロキシストロビン (代謝物 B を含む) の含量 (ppm) = $A+B \times 1.036$

A : トリフロキシストロビンの含量 (ppm)

B : 代謝物 B 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 : 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 μ m

カラム温度 : 40°C

移動相 : 0.1 vol%ギ酸及びアセトニトリル混液 (3 : 2) から (1 : 19) までの濃度勾配を 14 分間で行い、(1 : 19) で 7 分間保持する。

イオン化モード : ESI (+)

主なイオン (m/z) :

トリフロキシストロビン プリカーサーイオン 409

プロダクトイオン 186、145

代謝物 B プリカーサーイオン 395
プロダクトイオン 186、145

注入量：4 μ L

保持時間の目安：トリフロキシストロビン 13分
代謝物 B 11分

10. 定量限界

各化合物 0.01 mg/kg (代謝物 B はトリフロキシストロビン換算)

11. 留意事項

1) 試験法の概要

トリフロキシストロビン及び代謝物 B を試料から塩酸酸性下でアセトン抽出し、スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム及び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。なお、トリフロキシストロビン及び代謝物 B のそれぞれについて定量を行い、代謝物 B を含むトリフロキシストロビンの含量を求める場合には、代謝物 B の含量に換算係数を乗じてトリフロキシストロビンの含量に変換し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

① 代謝物 B は酸性化合物であるため、酸性条件下でアセトンにより抽出する。

② トリフロキシストロビン及び代謝物 B の LC-MS/MS 測定で使用したイオンを以下に示す。

トリフロキシストロビン

定量イオン (m/z) プリカーサーイオン 409、プロダクトイオン 186

定性イオン (m/z) プリカーサーイオン 409、プロダクトイオン 145

代謝物 B

定量イオン (m/z) プリカーサーイオン 395、プロダクトイオン 186

定性イオン (m/z) プリカーサーイオン 395、プロダクトイオン 145

③ 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉・脂肪・肝臓、豚の筋肉、牛乳、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