

## フロメトキン分析法（農産物）

### 1. 分析対象化合物

- ・フロメトキン
- ・2-エチル-3,7-ジメチル-6-[4-(トリフルオロメトキシ)フェノキシ]キノリン-4(1*H*)-オン  
（代謝物 M1）

### 2. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

### 3. 試薬、試液

アセトニトリル、アセトン、メタノール	： 残留農薬試験用、
アセトニトリル	： LC/MS用
ギ酸	： 特級
水	： 脱イオン水をMilli-Q System （Millipore 製）で精製したもの
フロメトキン	： 分析用標準品
代謝物M1	： 分析用標準品
オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム	： InertSep C <sub>18</sub> 1 g/6 mL（ジーエルサイエンス製）

### 4. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

##### ① 果実の場合

##### i) 果肉

果肉試料 20.0 g にアセトン 100 mL を加え、振とう抽出した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン及び水（4：1）混液 100 mL を加え、上記と同様に振とう抽出した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残渣をアセトン 50 mL で洗浄し、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 300 mL とする。この溶液から正確に 6 mL（試料 0.40 g 相当量）を分取し、これに 0.1% ギ酸 14 mL を加えて混合する。

##### ii) 果皮

試料 10.0 g にアセトン 70 mL を加え、ホモジナイズした後、アセトン 30 mL で洗浄し、振とう抽出した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン及び水（4：1）混液 70 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様に振とう抽出した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物をアセトン 50 mL で洗浄して、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 300 mL とする。この溶液から正確に 6 mL（試料 0.20 g 相当量）を分取し、これに 0.1% ギ酸 14 mL を加えて混合する。

##### ② 野菜の場合

試料 20.0 g にアセトン 100 mL を加え、振とう抽出した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン及び水（4：1）混液 100 mL を加え、上記と同様に振とう抽出した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物をアセトン 50 mL で洗浄し、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 300 mL とする。こ

の溶液から正確に 6 mL (試料 0.40 g 相当量) を分取し、これに 0.1%ギ酸 14 mL を加えて混合する。

### ③ 茶

#### i) 荒茶

試料 5.00 g に水 20 mL を加え、2 時間放置する。これにアセトン 100 mL を加え、振とう抽出した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン及び水 (4 : 1) 混液 100 mL を加え、上記と同様の振とう抽出した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物をアセトン 50 mL で洗浄し、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 300 mL とする。この溶液から正確に 30 mL (試料 0.50 g 相当量) を分取し、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトニトリル 2 mL を加えて溶かした後、0.1%ギ酸 6 mL を加えて混合する。

#### ii) 浸出液

荒茶試料 9.00 g に沸騰した水 540 mL を加え、5 分間放置した後、ろ過したものを浸出液とする。この浸出液から正確に 30 mL (試料 0.50 g 相当量) を分取し、アセトニトリル 10 mL 及び 4%ギ酸 1 mL を加えて混合する。

## 2) 精製

### ① 果実 (果肉、果皮) 及び野菜の場合

C<sub>18</sub> ミニカラムにアセトニトリル及び水各 5 mL を順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに、1) ①または 1) ②で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。次いで、0.1%ギ酸含有アセトニトリル及び水 (4 : 1) 混液 10 mL を注入し、溶出液を取る。この溶出液に 0.1%ギ酸含有アセトニトリル及び水 (4 : 1) 混液を加え、果肉と野菜の場合は正確に 20 mL、果皮の場合は正確に 50 mL としたものを試験溶液とする。

### ② 茶の場合

#### i) 荒茶

C<sub>18</sub> ミニカラムにアセトニトリル及び水各 5 mL を順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) ③ i) で得られた溶液を注入した後、0.1%ギ酸含有アセトニトリル及び水 (5 : 15) 混液 5 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、0.1%ギ酸含有アセトニトリル及び水 (17 : 3) 混液 10 mL 及び 8 mL を順次注入し、各溶出液を合わせる。この溶出液に 0.1%ギ酸含有アセトニトリル及び水 (17 : 3) 混液を加え、正確に 20 mL としたものを試験溶液とする。

#### ii) 浸出液

C<sub>18</sub> ミニカラムにアセトニトリル及び水各 5 mL を順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) ③ ii) で得られた溶液を注入した後、0.1%ギ酸含有アセトニトリル及び水 (5 : 15) 混液 5 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、0.1%ギ酸含有アセトニトリル及び水 (4 : 1) 混液 10 mL を注入し、溶出液を取る。この溶出液に 0.1%ギ酸含有アセトニトリル及び水 (4 : 1) 混液を加え、正確に 20 mL としたものを試験溶液とする。

## 5. 検量線の作成

フロメトキン標準品をアセトニトリルに溶解し、200 µg/mL の標準原液を調製する。また、代謝物 M1 標準品をメタノールに溶解し、200 µg/mL の標準原液を調製する。調製した標準原液をそれぞれ等量ずつ混合し、アセトニトリルで希釈し、20 µg/mL の混合標準液を調製する。整した混合標準液を 0.1%ギ酸含有アセトニトリル及び水 (4 : 1) 混液で希釈

して0.2 µg/mLの混合溶液を調製した後、0.1%ギ酸含有アセトニトリル及び水（4：1）混液で希釈して数点の溶液を調製し、それぞれLC-MS/MSに注入し、ピーク面積法で検量線を作成する。

## 6. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、5. の検量線を用いて含量を定量する。

## 7. 測定条件

(例)

装置 : Agilent 1290 HPLC System  
Agilent 6460 Triple Quadrupole MS system

カラム : ZORBAX Eclipse Plus C<sub>18</sub>  
1.8 µm、2.1 mm i.d.×100 mm (Agilent製)

カラム温度 : 40°C

移動相 : 移動相A ; 0.1%ギ酸  
移動相B ; アセトニトリル

グラジエント : 果実、野菜、茶浸出液

時間 (分)	0.0	0.5	3.0	5.5	STOP
移動相A (%)	60	60	5	5	5
移動相B (%)	40	40	95	95	95

荒茶

時間 (分)	0.0	3.0	12.0	14.0	STOP
移動相A (%)	90	90	5	5	5
移動相B (%)	10	10	95	95	95

流量 : 0.3 mL/min

注入量 : 1~2 µL

保持時間の目安 : 果実、野菜、茶浸出液 ; 約4.3分  
荒茶 ; 約11.9分

イオン化モード : ESI (positive)

イオン検出法 : MRM法

モニタリング

イオン

	プリカーサーイオン ( <i>m/z</i> )	プロダクトイオン ( <i>m/z</i> )
フロメトキン	436.0	376.1
代謝物M1	378.0	200.1

## 8. 定量限界

フロメトキン及び代謝物 M1 : 0.01 ppm (果実の果肉及び果皮、野菜及び茶)

## 9. 添加回収を実施した食品

温州みかん、ピーマン、茶

## 10. 留意事項

食品規格 (食品中の農薬の残留基準) の設定に関する規制対象 : フロメトキン

※ 本分析法は、農産物における作物残留試験等において用いられた残留農薬分析法であ

り、新たな試験法の開発等に際して参考として下さい。なお、当該分析法をもとに開発した試験法を食品規格への適合判定のために使用する場合には、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について（平成 22 年 12 月 24 日薬食発 1224 第 1 号）」に従って使用する試験法の妥当性を評価する必要があります。