

フェンヘキサミド試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

フェンヘキサミド

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

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

フェンヘキサミド標準品 本品はフェンヘキサミド98%以上を含む。

4. 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1.5 mol/Lリン酸30 mLを加え、混合する。これにアセトン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4 mLを採り、1 vol%ギ酸16 mLを加える。

(2) 脂肪の場合

試料5.00 gに1.5 mol/Lリン酸30 mLを加え、混合する。これにアセトン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8 mLを採り、1 vol%ギ酸20 mLを加える。

2) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）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。グラファイトカーボンミニカラム（500 mg）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。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムに1) で得られた溶液を注入した後、1 vol%ギ酸・アセトニトリル及び水（3：7）溶液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、このカラムの下部にグラファイトカーボンミニカラムを接続し、1 vol%ギ酸・アセトニトリル及び水（7：3）溶液10 mLを注入し、流出液は捨てる。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムを除去した後、グラファイトカーボンミニカラムに1 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液30 mLを注入し、溶

出液を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）混液に溶解し、正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

フェンヘキサミド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0.001 mg/Lである。

6. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、5の検量線でフェンヘキサミドの含量を求める。

7. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

8. 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℃

移動相：アセトニトリル及び2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液（3：7）から（9：1）までの濃度勾配を10分間で行い、（9：1）で5分間保持する。

イオン化モード：ESI（-）又はESI（+）

主なイオン（ m/z ）：ESI（-）；プリカーサーイオン300、プロダクトイオン264

ESI（+）；プリカーサーイオン302、プロダクトイオン97

注入量：5 µL

保持時間の目安：8分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

フェンヘキサミドを試料から酸性下アセトンで抽出し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びグラファイトカーボン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) pH 3未満の条件下で抽出を行う必要があること。

(2) フェンヘキサミドの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。

定量用イオン (m/z) : ESI (-) ; プリカーサーイオン300、プロダクトイオン264

定性用イオン (m/z) : ESI (+) ; プリカーサーイオン302、プロダクトイオン97

また、そのほかのイオンの例を以下に示す。

ESI (-) ; プリカーサーイオン300、プロダクトイオン249

11. 参考文献

なし

12. 類型

C