

クレソキシムメチル試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

クレソキシムメチル

2- [2- (4-ヒドロキシ-2-メチルフェノキシメチル) フェニル] -2-メトキシイミノ酢酸（以下「代謝物M9」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。

クレソキシムメチル標準品 本品はクレソキシムメチル97%以上を含む。

代謝物M9標準品 本品は代謝物M9 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 gに0.5 vol%ギ酸・アセトン溶液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0.5 vol%ギ酸・アセトン溶液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、0.5 vol%ギ酸・アセトン溶液を加えて正確に200 mLとする。この溶液から正確に2 mLを分取する。

2) 精製

① グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム（250 mg）に0.5 vol%ギ酸・アセトン溶液5 mLを注入し、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、0.5 vol%ギ酸・アセトン溶液10 mLを注入し全溶出液を採り、0.1 vol%ギ酸10 mLを加え、40℃以下で10 mL以下まで濃縮する。

② オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）に、メタノール及び0.1 vol%ギ酸各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、0.1 vol%ギ酸及びメタノール（3：2）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次い

で0.1 vol%ギ酸・メタノール溶液10 mLを注入し、溶出液を採り、0.1 vol%ギ酸・メタノール溶液を加えて正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

クレソキシムメチル標準品及び代謝物M9標準品をそれぞれ溶かして標準原液を調製する。各標準原液を適宜混合して、0.1 vol%ギ酸・メタノール溶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（代謝物M9はクレソキシムメチル換算）に相当する試験溶液中濃度は0.0001 mg/L（代謝物M9はクレソキシムメチル換算）である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でクレソキシムメチル及び代謝物M9の各含量を求める。代謝物M9を含むクレソキシムメチルの含量を求める場合には、次式により求める。

クレソキシムメチル（代謝物M9を含む。）の含量（ppm）=A+B×0.9938

A：クレソキシムメチルの含量（ppm）

B：代謝物M9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2.1 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0.01 vol%ギ酸の混液（2：3）から（7：3）までの濃度勾配を10分間で行い、（7：3）で3分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）：

クレソキシムメチル：プリカーサーイオン 314、プロダクトイオン 131、116

代謝物M9：プリカーサーイオン 316、プロダクトイオン 269、116

注入量：5 μL

保持時間の目安：クレソキシムメチル：12分

代謝物M9：5分

10. 定量限界

各0.01 mg/kg (代謝物M9はクレソキシムメチル換算)

11. 留意事項

1) 試験法の概要

クレソキシムメチル及び代謝物M9を試料からギ酸酸性下アセトンで抽出し、グラファイトカーボンミニカラム及びオクタデシルシリル化シリカゲル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、クレソキシムメチル及び代謝物M9それぞれについて定量を行い、代謝物M9を含むクレソキシムメチルの含量を求める場合には、代謝物M9の含量に換算係数を乗じてクレソキシムメチルの含量に変換し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

① クレソキシムメチル及び代謝物M9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。

・クレソキシムメチル

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 314、プロダクトイオン 116

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 314、プロダクトイオン 131

・代謝物M9

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 316、プロダクトイオン 269

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 316、プロダクトイオン 116

② 試験法開発に検討した食品：牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳、うなぎ、しじみ

12. 参考文献

なし

13. 類型

C