

フェンチオン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

フェンチオン

フェンチオンスルホキシド（以下「代謝物B」という。）

フェンチオンスルホン（以下「代謝物C」という。）

フェンチオンオキソン（以下「代謝物D」という。）

フェンチオンオキシンスルホキシド（以下「代謝物E」という。）

フェンチオンオキシンスルホン（以下「代謝物F」という。）

2. 適用食品

農産物

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。

フェンチオン標準品 本品はフェンチオン97%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。

代謝物C標準品 本品は代謝物C 98%以上を含む。

代謝物D標準品 本品は代謝物D 98%以上を含む。

代謝物E標準品 本品は代謝物E 98%以上を含む。

代謝物F標準品 本品は代謝物F 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類、豆類、種実類及び茶の場合

試料10.0 g（茶は5.00 g）に2 vol%ギ酸20 mLを加え、30分間放置する。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、上記と同様に吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に2 mLを分取し、*n*-ヘキサン30 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLずつで2回振とう抽出する。

② 果実及び野菜の場合

試料20.0 g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、上記と同様に吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に2 mLを分取し、*n*-ヘキサン30 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLずつで2回振とう抽出す

る。

2) 精製

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (500 mg/500 mg) に*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル10 mLを注入し流出液は捨てる。このカラムに1) で得られたアセトニトリル層を注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン2 mLを加えて溶かす。

3) 酸化反応

2) で得られた溶液に5 w/v%過マンガン酸カリウム溶液1 mLを加え、軽く振り混ぜ室温で10分間放置した後、40℃以下で約1 mLまで濃縮し水3 mLを加える。

4) 精製

多孔性ケイソウ土カラム (5 mL保持用) に3) で得られた溶液を注入し、室温で5分間放置した後、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 1) 混液40 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を水及びメタノール (1 : 1) 混液に溶かし、穀類、豆類及び種実類の場合は正確に2 mL、果実及び野菜の場合は正確に4 mL、茶の場合は正確に1 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

代謝物C標準品及び代謝物F標準品をそれぞれアセトンに溶かして500 mg/Lとし標準原液とする。各標準原液を適宜混合して水及びメタノール (1 : 1) 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0.0005 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線で代謝物C及び代謝物Fの各含量を求める。代謝物を含むフェンチオンの含量を求める場合には、次式により求める。

フェンチオン (代謝物を含む。) の含量 (ppm) = $A \times 0.8969 + B \times 0.9459$

A : 代謝物Cの含量 (ppm)

B : 代謝物F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：2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液及びメタノールの混液（7：3）から（3：7）までの濃度勾配を10分間で行った後、（3：7）で5分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（ m/z ）：

代謝物C：プリカーサーイオン 311、プロダクトイオン 125、109

代謝物F：プリカーサーイオン 295、プロダクトイオン 217、104

注入量：5 μ L

保持時間の目安

代謝物C：11分

代謝物F：6分

10. 定量限界

各化合物0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

フェンチオン及び代謝物を試料からアセトンで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製する。過マンガン酸カリウムで酸化して代謝物C又は代謝物Fに変換した後、多孔性ケイソウ土カラムで精製し、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① 豆類の一部において、抽出時に水を加えて30分間放置した際に代謝物Fの減少が見られたため、穀類、豆類、種実類及び茶の場合は、減少防止のために水の代わりに2 vol%ギ酸を用いる。
- ② 多孔性ケイソウ土カラムによる精製時にアセトンが残っていると過マンガン酸カリウムの除去が不十分となり、紫色を呈する液が溶出するため、濃縮時には十分にアセトンを除去する。
- ③ 代謝物C及び代謝物F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。

代謝物C

定量イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 311、プロダクトイオン 125

定性イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 311、プロダクトイオン 109

代謝物F

定量イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 295、プロダクトイオン 217

定性イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 295、プロダクトイオン 104

- ④ 試験法開発に検討した食品：玄米、大豆、らっかせい、ほうれんそう、キャベツ、ばれいしょ、オレンジ、りんご、茶及びぶどう

12. 参考文献

なし

13. 類型

C