

ジメトモルフ試験法（畜水産物）

1．分析対象化合物

ジメトモルフ（*E*体）、ジメトモルフ（*Z*体）

2．装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）又は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。

ジメトモルフ（*E*体及び*Z*体）標準品 本品はジメトモルフ（*E*体及び*Z*体）98 %以上を含み、融点は127～148 である。

4．試験溶液の調製

1）抽出

筋肉、肝臓、腎臓、魚介類、乳、卵及びはちみつの場合は、試料 10.0 g を量り採る。脂肪の場合は、試料 5.00 g を量り採る。

これに 0.01 mol/L 塩酸 10 mL を加え、ホモジナイズした後、アセトニトリル 50 mL、*n*-ヘキサン 25 mL 及びケイソウ土 2 g を加え、さらにホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ液からアセトニトリル層を分取し、残った *n*-ヘキサン層及びろ紙上の残留物に 0.01 mol/L 塩酸 5 mL 及びアセトニトリル 25 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。*n*-ヘキサン層を捨て、得られたアセトニトリル層を合わせ、アセトニトリルを加え正確に 100 mL とする。

この抽出液 20 mL を採り、塩化ナトリウム 3 g を加え、5 分間振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。

2）精製

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。このカラムに上記のアセトニトリル層を注入し、さらに、アセトニトリル 2 mL を注入し、全溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン（1：1）混液 2 mL を加えて溶かす。

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）にメタノール 5 mL 次いでアセトン及び *n*-ヘキサン（1：1）混液 10 mL を順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに得られた溶液を注入し、さらに、アセトン及び *n*-ヘキサン（1：1）混液 20 mL を注入して、全溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をメタノールに溶解し、正確に 2 mL（脂肪の場合には 1 mL）としたものを試験溶液とする。

5．検量線の作成

ジメトモルフ標準品の 0.01～0.2 mg/L メタノール溶液を数点調製し、それぞれ 3 μ L を LC/MS 又は LC/MS/MS に注入し、*E*体及び*Z*体それぞれのピーク面積（又はピーク高さ）の和を用いてピーク面積法（又はピーク高法）で検量線を作成する。

6．定量

試験溶液 3 μ L を LC/MS 又は LC/MS/MS に注入し、5 の検量線でジメトモルフの含量を求める。

7．確認試験

LC/MS 又は LC/MS/MS により確認する。

8. 測定条件

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル、内径 2 ~ 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 3 ~ 3.5 μm

カラム温度：40

移動相：A 液及び B 液について下表の濃度勾配で送液する。

移動相流速：0.2 mL/分

A 液：5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液

B 液：5 mmol/L 酢酸アンモニウム含有メタノール溶液

時間(分)	A 液 (%)	B 液 (%)
0	85	15
1	60	40
3.5	60	40
6	50	50
8	45	55
17.5	5	95
30	5	95
30	85	15

注入量：3 μL

保持時間の目安：15 ~ 17 分（*E* 体、*Z* 体の順に流出する。）

イオン化モード：

ESI (+)

主なイオン (m/z):

1) LC/MS の場合 388

2) LC/MS/MS の場合

プリカーサーイオン 388、プロダクトイオン 301、165

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

ジメトモルフを試料から塩酸、アセトニトリル及び *n*-ヘキサンで抽出する。*n*-ヘキサンを分離後、塩析で水を除き、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、LC/MS 又は LC/MS/MS で定量し、LC/MS 又は LC/MS/MS で確認する方法である。

2) 注意点

LC/MS/MS で測定する場合はプロダクトイオンについて、 m/z : 301 を定量イオン、 m/z : 165 を確認イオンとする。

ジメトモルフはジメトモルフ (*E* 体) 及びジメトモルフ (*Z* 体) の和を分析値とする。

ジメトモルフの標準品としては、*E* 体及び *Z* 体のそれぞれの標準品を使用してもよい。また、*E* 体及び *Z* 体それぞれのピーク面積 (又はピーク高さ) を用いてピーク面積法 (又はピーク高法) で検量線を作成してもよい。

ホモジナイズの際にケイソウ土を加えなくてもよい。その場合には、吸引ろ過の際にろ過助剤としてケイソウ土を使用する。また、吸引ろ過の代わりに遠心分離など他の適切な方法を用いてもよい。

11. 参考文献

なし

12. 類型
C