

メトプレン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

メトプレン

2. 装置

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-UV）

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/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。

メトプレン標準品 本品はメトプレン98%以上を含む

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

穀類及び豆類の場合は、試料10.0 gを量り採り、水20 mLを加え、2時間放置する。

野菜の場合は、試料20.0 gを量り採る。

これにアセトニトリル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、アセトニトリル50 mLを加え、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、塩化ナトリウム7 gを加え、振とうした後、静置し、分離した水層を捨てる。

アセトニトリル層をアセトニトリル飽和*n*-ヘキサン20 mLで洗浄した後、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物を酢酸エチル30 mLに溶かし、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を*n*-ヘキサン5 mLに溶かす。

2) 精製

クロマトグラフ管（内径15 mm）に、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム5 gをエーテル及び*n*-ヘキサン（1：19）混液に懸濁させて充てんし、無水硫酸ナトリウム約5 gを積層する。このカラムに1)で得られた溶液を注入した後、流出液は捨てる。さらに、エーテル及び*n*-ヘキサン（1：19）混液40 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、エーテル及び*n*-ヘキサン（3：17）混液80 mLを注入する。溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶解し、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

メトブレン標準品の0.05～1.0 mg/Lメタノール溶液を数点調製し、それぞれ20 µLをHPLC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。

6. 定量

試験溶液20 µLをHPLCに注入し、5の検量線でメトブレンの含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS又はGC/MSにより確認する。

8. 測定条件

1) HPLC

検出器：UV (265 nm)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径5 µm)、内径4.6 mm、長さ150 mm

カラム温度：40°C

移動相：水及びメタノール (1 : 9) 混液

移動相流速：0.8 mL/分

保持時間の目安：7分

2) LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径5 µm)、内径2 mm、長さ150 mm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び水 (9 : 1) 混液

移動相流速：0.2 mL/分

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (m/z) : 311、279

注入量：1 µL

保持時間の目安：8分

3) GC/MS

カラム：5%フェニル-メチルシリコン、内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 µm

カラム温度：80°C (2分) -20°C/分-200°C (2分) -10°C/分-260°C (8分)

注入口温度：250°C

キャリアーガス：ヘリウム

キャリアーガス流速：1 mL/分

イオン化モード (電圧) : EI (70 eV)

主なイオン (m/z) : 175、153、111

注入量 : 1 μ L

保持時間の目安 : 11分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

メトプレンを試料からアセトニトリルで抽出し、塩析で水層を除いた後、アセトニトリル飽和 n -ヘキサンで洗浄する。合成ケイ酸マグネシウムカラムで精製した後、HPLC-UVで測定し、LC/MS又はGC/MSで確認する方法である。

2) 注意点

(1) HPLCでは、メトプレンを溶出した後に、成分由来のピークが出現する。

(2) GC/MSで確認する場合は、試験溶液を n -ヘキサンに置換する。精製が不十分な場合は、試験溶液を中性アルミナミカラムに負荷し、エーテル及び n -ヘキサン (3 : 17) 混液20 mLで溶出する精製法を追加するとよい。

11. 参考文献

斎藤 勲ら、HPLCによる食品中メトプレンの分析法、食衛誌、47, 173 (2006)

12. 類型

C