

## フェリムゾンの測定方法

### (1) 装置

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計を用いる。

### (2) 試薬試液

ヘキサン、トルエン、無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用またはこれと同等のもの

酢酸エチル、アセトニトリル、メタノール：高速液体クロマトグラフィー用またはこれと同等のもの

塩化ナトリウム、塩酸、ギ酸アンモニウム：試薬特級またはこれと同等のもの

エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル（以降PSAミニカラムと略記）またはこれと同等のもの

フェリムゾン標準品、フェリムゾン(E体)標準品

### (3) 試験溶液の調製

#### ア 抽出①

試料1Lを1.5L容分液ロートに量り取り、塩化ナトリウム50gを加え溶解後、酢酸エチル100mLを加え5分間振とうする。静置分離後、酢酸エチル層は300mL容分液ロートに移し、水層には新たに酢酸エチル100mLを加え同様の操作を繰り返す。酢酸エチル層を合わせヘキサン50mLを加え約10秒間手振りした後、30分間静置分離する。酢酸エチル層は脱水しながら抽出②の抽出層に合わせる。

（ただし、透視度20度以下の試料についてはろ紙(GA-200)でろ過後抽出）

#### イ 抽出②

先の水層に6M塩酸5mLおよび酢酸エチル80mLを加え5分間振とうする。静置分離後、酢酸エチル層は300mL容分液ロートに移し、水層には新たに酢酸エチル80mLを加え同様の操作を繰り返す。酢酸エチル層を合わせヘキサン50mLを加え約10秒間手振りした後、30分間静置分離し、無水硫酸ナトリウムをのせたらろ紙(No.5A)を通過させ脱水しながら300mL容ナス型フラスコに受け、ロータリーエバポレーター（水浴40℃以下）を用いて約2mLまで減圧濃縮後、窒素気流下で乾固する。残留物は直ちに酢酸エチル5mLに溶解し、それに抽出①の酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムで脱水しながら合わせた後、ロータリーエバポレーター（水浴40℃以下）を用いて約5mLまで減圧濃縮する。

#### ウ PSAミニカラムクロマトグラフィ精製

PSAミニカラムをミニカラム吸引装置に取り付け、トルエン/アセトニトリル(25:75 v/v)10mLを流下させてカラムを洗浄する。先の濃縮液をカラムに移し入れ、流速2～5mL/分で流下させ、更にトルエン/アセトニトリル(25:75 v/v) 30mLを用いてナス型フラスコを洗いながらカラムに移し入れ同様に流下させフェリムゾンを溶出する。溶出液を100mL容ナス型フラスコに受け、ロータリーエバポレーター（水浴40℃以下）を用いて約2mLまで減圧濃縮後、窒素ガス気流下で乾固する。残留物はメタノール2mLに溶解し、試験溶液とする。

### (4) 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計操作条件

#### 液体クロマトグラフ部

カラム：シリカゲルにオクタデシルシランを化学的に結合させたものを内径2～2.1mm、長さ15～30cmのステンレス管に充填したものまたはこれと同等の分離性能を有するものを用いる。

カラム槽温度：40℃

溶離液：5mMギ酸アンモニウム水溶液および5mMギ酸アンモニウムメタノール溶液混液(85:15)から(5:95)までの濃度勾配を約16分間で行う。フェリムゾンが16～20分で流出するように流速を調整する。

質量分析部

イオンモード:ESI(+)

測定質量数:255.2→91.0

感度:フェリムゾンの0.005ng、フェリムゾン(E体)の0.005ngが十分確認できるように感度を調整する。

(5) 検量線の作成

フェリムゾン標準品およびフェリムゾン(E体)標準品を各々アセトニトリルで溶解し1000mg/Lの標準原液を調製する。この溶液を等量ずつとり、メタノールで希釈して、フェリムゾンおよびフェリムゾン(E体)の含量0.005～0.1mg/L溶液を数点調製し、それぞれ2 $\mu$ Lずつ液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、ピーク高またはピーク面積を測定し、フェリムゾンおよびフェリムゾン(E体)の検量線をそれぞれ作成する。

(6) 定量試験

試験溶液から2 $\mu$ Lを取り、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、(5)の検量線によりフェリムゾンおよびフェリムゾン(E体)の重量を求め、これに基づき、試料中のフェリムゾン(E体を含む)の濃度を算出する。