

## MCPA 試験法（畜水産物）

### 1. 分析対象化合物

MCPA（MCPAの塩、MCPAのエステル体及び加水分解によりMCPAに変換される代謝物を含む。）

### 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。

MCPA標準品 本品はMCPA 95%以上を含む。

MCPA 2-エチルヘキシルエステル標準品 本品はMCPA 2-エチルヘキシルエステル 95%以上を含む。

### 5. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

試料 10.0 g にアセトン 50 mL を加え、ホモジナイズした後、エタノール及び 4 mol/L 塩酸（1 : 1）混液 75 mL を加え、還流冷却器を付けて 95°C で 1 時間加熱する。放冷した後、5 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 50 mL を加え、還流冷却器を付けて 80°C で 1 時間加熱する。放冷した後、6 mol/L 塩酸を加え pH を 7~8 に調整し、吸引ろ過する。この溶液に *n*-ヘキサン 100 mL を加え、振とうし、*n*-ヘキサン層を除去する操作を 2 回繰り返した後、6 mol/L 塩酸 5 mL 及び水を加えて正確に 200 mL とする。この溶液から正確に 2 mL を分取し、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン（1 : 4）混液 2 mL ずつで 2 回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に水 5 mL を加えて溶かす。

#### 2) 精製

トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）にメタノール及び水各 10 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、水及びメタノール各 10 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、1 vol% ギ酸・メタノール溶液 10 mL を注入し、溶出液を 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水（1 : 4）混液に溶かし、正確に 5 mL としたものを試験溶液とする。

### 6. 検量線の作成

MCPA 標準品のアセトニトリル及び水（1 : 4）混液の溶液を数点調製し、それぞれ LC-MS/MS に注入し、ピーク高法又はピーク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の濃度は 0.0002 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 MCPA (MCPA の塩、MCPA のエステル体及び加水分解により MCPA に変換される代謝物を含む。) の含量を求める。

## 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 3 μm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び 0.1 vol% ギ酸の混液 (1 : 4) から (4 : 1) までの濃度勾配を 15 分間で行い、10 分間保持する。

イオン化モード：ESI (－)

主なイオン ( $m/z$ )：プリカーサーイオン 199、プロダクトイオン 141

プリカーサーイオン 201、プロダクトイオン 143

注入量：5 μL

保持時間の目安：12 分

## 10. 定量限界

0.01 mg/kg

## 11. 留意事項

### 1) 試験法の概要

MCPA (MCPA の塩、MCPA のエステル体及び加水分解により MCPA に変換される代謝物を含む。) を、試料にアセトンを加えてホモジナイズした後、酸性条件及び塩基性条件での加水分解により抽出及び MCPA への変換を行う。加水分解後の溶液を pH 7~8 として *n*-ヘキサンで洗浄した後、酸性条件として酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液に転溶する。トリメチルアミノ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/MS で定量及び確認する方法である。なお、MCPA の分析値には、MCPA、MCPA の塩、MCPA のエステル体及び加水分解により MCPA に変換される代謝物が含まれる。

### 2) 注意点

- ① MCPA 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。

定量イオン ( $m/z$ )：プリカーサーイオン 199、プロダクトイオン 141

定性イオン ( $m/z$ )：プリカーサーイオン 201、プロダクトイオン 143

また、参考に MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステルの 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。

MCPA エチル

定量イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 246、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 246、プロダクトイオン 155

MCPA 2-エチルヘキシルエステル

定量イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 330、プロダクトイオン 155

定性イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン 330、プロダクトイオン 201

- ② MCPA 2-エチルヘキシルエステル標準品を用いて添加回収試験を実施し、MCPA への変換が十分に行われていることを確認すること。
- ③ 分析対象化合物は、MCPA、MCPA ナトリウム塩、MCPA エチル、MCPA ジメチルアミン塩、MCPA 2-エチルヘキシルエステル及び加水分解により MCPA に変換される代謝物を含む。
- ④ 加水分解後、水酸化ナトリウム溶液又は塩酸を加える際は発熱するので、氷冷しながら行う。
- ⑤ 酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液への転溶の際、エマルジョンが生成した場合は、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離を行うと良い。なお、開発時に用いた遠心分離機における毎分 3,000 回転は、約 1,690×g である。
- ⑥ 試験法開発時に検討した食品 : 牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳、鶏卵、うなぎ、しじみ

## 12. 参考文献

なし

## 13. 類型

C