

テトラニリプロール分析法（畜産物）

1. 分析対象化合物

・テトラニリプロール

2. 装置

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

| | | |
|-----------------------|---|---|
| テトラニリプロール | : | 分析用標準品 |
| 同 安定同位体標識体 | : | 分析用標準品 |
| アセトニトリル、水 | : | Optima Grade |
| <i>n</i> -ヘキサン | : | HPLC 及び GC 用 |
| ギ酸（99%）、氷酢酸 | : | 特級 |
| C ₁₈ ミニカラム | : | Bond Elute C18、50 mg/1 mL（Agilent Technologies 製） |
| グラフアイトカーボン ミニカラム | : | InertSep GC、0.5 g/6 mL（ジーエルサイエンス製） |

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 筋肉、肝臓、腎臓及び乳の場合

均質化した試料 5 g にアセトニトリル及び水（4 : 1, v/v）混液 20 mL 及びギ酸 0.2 mL を加えて磨砕抽出（2 分）し、遠心分離（3,000 G、5 分）した後、抽出液をデカントしてろ過する。さらにアセトニトリル及び水（4 : 1, v/v）混液 20 mL を加えて、前と同様に磨砕抽出、遠心分離及びろ過する。得られたろ液をあわせ、1.0 µg/mL の内部標準溶液 0.250 mL を加え、アセトニトリル及び水（4 : 1, v/v）混液で 50 mL とする。

② 脂肪の場合

均質化した試料 5 g にアセトニトリル及び水（4 : 1, v/v）混液 20 mL、ギ酸 0.2 mL 及び *n*-ヘキサン 20 mL を加えて磨砕抽出（2 分）し、遠心分離（2,000 G、5 分）した後、ヘキサン層を捨て、水層をろ過する。さらにアセトニトリル及び水（4 : 1, v/v）混液 20 mL を加えて、前と同様に磨砕抽出、遠心分離及びろ過する。得られたろ液をあわせ、1.0 µg/mL の内部標準溶液 0.250 mL を加え、アセトニトリル及び水（4 : 1, v/v）混液で 50 mL とする。

2) 精製

1) で得られた抽出液 2 mL を取り、50°C で溶媒を留去した後、0.1% ギ酸水溶液 1 mL に溶解する。この溶液をアセトニトリル及び水で前処理した C₁₈

ミニカラムに移した後、アセトニトリル及び水 (4 : 1, v/v) 混液 0.5 mL を C₁₈ ミニカラム注入する。0.1%ギ酸水溶液 0.5 mL を含む HPLC 用バイアルに溶出液を取り、試験溶液とする。

5. 検量線の作成

テトラニリプロール標準品をアセトニトリルに溶解し、100 µg/mL の標準原溶液を調製する。次いで、この標準原液をアセトニトリルで希釈して、10.0、1.0 及び 0.10 µg/mL の標準溶液を調製する。またテトラニリプロールの安定同位体標識標準品をアセトニトリルに溶解し、100 µg/mL の内標準原液を調製する。次いで、この内標準原液をアセトニトリルで希釈し、1.0 µg/mL の内標準溶液を調製する。標準溶液と内標準溶液を所定の割合で混合した後、水、アセトニトリル及び酢酸 (920 : 80 : 2, v/v/v) 混液で 50 mL とし、数点の検量線用標準溶液を調製する。これらの溶液を LC-MS/MS に注入し、ピークの面積比法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、5. の検量線を用いて畜産物中の含量を定量する。

7. 測定条件

(例)

装置 : HPLC ; LC-20ADXR pump、CBM-20A controller (島津製作所製)
MS ; 6500 Triple Quadrupole (A B Sciex 製)
カラム : Phenomenex Kinetex C8、粒径 ; 2.6 µm、3.0 mm i.d.×100 mm (Phenomenex 製)
カラム温度 : 50 °C
移動相 : 移動相 A ; 0.1%ギ酸水溶液
移動相 B ; 0.1%ギ酸アセトニトリル溶液

グラジエントプログラム :

| 時間 (分) | 移動相 A (%) | 移動相 B (%) |
|--------|-----------|-----------|
| 0.00 | 70 | 30 |
| 0.10 | 70 | 30 |
| 4.00 | 5 | 95 |
| 6.00 | 5 | 95 |
| 6.01 | 70 | 30 |
| 7.00 | 70 | 30 |

流量 : 0.6 mL/min
注入量 : 20 µL
保持時間の目安 : 約 2.7 分
イオン化モード : ESI (+)

イオン検出法 : MRM 法
モニタリング :
イオン :

| | プリカーサー イオン (m/z) | プロダクト イオン (m/z) |
|-----------------|-------------------------|------------------------|
| テトラニリプ ロール | 545.1 | 356.1 |
| 標識テトラニ リプロール | 550.1 | 356.0 |

8. 定量限界
0.01 ppm

9. 添加回収試験を実施した食品
牛の乳、牛の筋肉、牛の肝臓、牛の腎臓、牛の脂肪

10. 留意事項
特になし

※ 本分析法は、畜産物における残留試験等において用いられた残留農薬等分析法であり、新たな試験法の開発等に際して参考として下さい。なお、当該分析法をもとに開発した試験法を食品規格への適合判定のために使用する場合には、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について（平成 22 年 12 月 24 日薬食発 1224 第 1 号）」に従って使用する試験法の妥当性を評価する必要があります。