

ジノテフラン試験法（畜産物（反すう動物））

1. 分析対象化合物

- ・ジノテフラン、代謝物 UF

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

アセトニトリル、ヘキサン、メ タノール	:	HPLC 用
水	:	超純水
ジノテフラン、UF	:	分析用標準品
アセトン	:	残留農薬試験用
塩酸	:	分析試験法
ギ酸、パーフルオロカプロン酸 C ₁₈ カートリッジ	:	SPE cartridges C ₁₈ , 1 g/6 mL (Phenomex 製)

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

①乳汁及びクリームの場合

均一化した試料 2 g もしくは 2 mL にアセトニトリル／水（4 : 1）混液 15 mL を添加し、混合した後、遠心分離により上清を分取する。残留物にアセトニトリル／水（4 : 1）混液 15 mL を加えて再抽出し、遠心分離により得た上清を合わせて抽出液とする。

②肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪の場合

均一化した試料 2 g にアセトニトリル／水（4 : 1）混液 15 mL を添加し、ホモジナイズする。その後、遠心分離により上清を分取する。残留物にアセトニトリル／水（4 : 1）混液 15 mL を加えて再抽出し、遠心分離により得た上清を合わせて抽出液とする。

2) 精製

抽出液にヘキサン 10 mL を加えて混合した後、上部のヘキサン層を除く。その後、抽出液にアセトン 50 mL を添加し、エバポレーターを用いて約 50°C で濃縮し、液量が約 3 mL になるまで溶媒を除去する。残った抽出液に水を加えて 6 mL に調製し、内 3 mL を分取してメタノール 2 mL を添加する。この溶液を、メタノール及び超純水で前処理した C₁₈カートリッジに注入し、溶出液を回収する。その後、メタノール／水（1 : 1）

混液 1 mL でカートリッジを洗浄し、前記の溶出液と合わせて回収する。
この溶出液を 50°C の湯浴につけ、窒素気流下で液量が 4 mL 未満になるまで濃縮した後、超純水で 4 mL に調製して試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ジノテフラン標準品及び代謝物 UF 標準品をアセトニトリルにそれぞれ溶解し、1 mg/mL の各標準溶液を調製する。調製した標準溶液を 0.1 M 塩酸で希釈して検量線用の標準液を数点調製し、それぞれ LC-MS/MS に注入し、ピーク面積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. の検量線を用いて含量を定量する。

7. 測定条件

カラム : AQUA (もしくは Columbus) C₁₈ (150 mm × 2 mm i.d., Phenomenex 製)
移動相 : 移動相 A ; 水/メタノール (19 : 1) 混液 (0.01% ギ酸及び 0.1% パーフルオロカプロン酸含有)
移動相 B ; 0.01% ギ酸及び 0.1% パーフルオロカプロン酸含有メタノール

グラジエント	時間 (分)	移動相 A (%)	移動相 B (%)
	0	100	0
	6	0	100
	12	0	100
	13	100	0

流量 : 0.2 mL/min
注入量 : 20 µL
保持時間の目安 : ジノテフラン ; 12 分
UF ; 10 分

イオン化モード : APCI+
モニタリングイオン :

	プレカーサー	プロダクトイオン
	イオン (m/z)	イオン (m/z)
ジノテフラン	203.1	129.1
代謝物 UF	159.1	102.1

8. 定量限界

各 0.01 mg/kg (乳汁では µg/mL)

9. 留意事項 なし

※ 本分析法は、農作物及び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。

ジノテフラン試験法（畜産物（家きん））

1. 分析対象化合物

- ・ジノテフラン、代謝物 UF

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

アセトニトリル、ヘキサン	:	HPLC 用
メタノール、酢酸アンモニウム	:	LC/MS 用
水	:	PureLab Plus water filtration system (ELGA LabWater 製) で精製したもの
ジノテフラン、代謝物 UF	:	分析用標準品
氷酢酸、塩酸	:	
遠心チューブフィルター	:	Costar Spin-X centrifuge tube filters, 0.22 μm nylon (Corning 製)

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

①卵、筋肉及び肝臓の場合

均一化した試料 2 g に 5.6 mL のアセトニトリル/水 (4 : 1) (1%酢酸及び 0.2%塩酸含有) を添加し、ホモジナイズする。その後、振とうし、遠心分離後、上清を分取して抽出液とする。

②脂肪の場合

均一化した試料 2 g に 7 mL のアセトニトリル/水 (4 : 1) +1%酢酸+0.2%塩酸を添加し、ホモジナイズする。その後 2 mL のヘキサンを加えて振とうし、遠心分離後、ヘキサン層下の中間層を分取して抽出液とする。

2) 精製

抽出液 0.5 mL を遠心チューブフィルター（膜孔径 0.22 μm ）に移し、遠心分離によってろ過する。得られた溶液の 0.3 mL を 1%酢酸アンモニウム水溶液 1.2 mL で希釈して試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ジノテフラン標準品及び代謝物 UF 標準品をアセトニトリル/水 (4 : 1) +1%酢酸+0.2%塩酸にそれぞれ溶解し、1 mg/mL の各標準溶液を調製す

る。10 mL 容メスフラスコに各標準溶液 1 mL を分注した後、アセトニトリル/水 (4 : 1) + 1%酢酸 + 0.2%塩酸で定容し、100 µg/mL の混合標準溶液を調製する。調製した混合標準溶液をアセトニトリル/水 (4 : 1) + 1%酢酸 + 0.2%塩酸で希釈して検量線用の標準液を数点調製し、それぞれ LC-MS/MS に注入し、ピーク面積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. の検量線を用いて含量を定量する。

7. 測定条件

カラム : Hypersil Gold, C18 (3 µm, 2.1 mm i.d. x 100 mm, Thermo Scientific 製)

カラム温度 : 50°C

移動相 : 移動相 A ; 1%酢酸アンモニウム溶液
移動相 B ; メタノール

グラジエント

時間 (分)	移動相 A (%)	移動相 B (%)	流量 (mL/min)
0.00	96	4	0.3
2.75	96	4	0.3
3.50	85	15	0.3
4.00	70	30	0.3
5.00	20	80	0.3
5.50	2	98	0.4
6.00	2	98	0.4
6.25	20	80	0.4
6.50	50	50	0.4
6.75	70	30	0.4
7.00	96	4	0.4
7.49	96	4	0.4
7.50	96	4	0.3
8.00	96	4	0.3

注入量 : 2 µL

保持時間の目安 : ジノテフラン : 5.1 分
代謝物 UF : 3.0 分

イオン化モード : ジノテフラン : ESI (-)
代謝物 UF ; ESI (+)

モニタリングイオン	プレカーサーイオン (m/z)	プロダクトイオン (m/z)
	ジノテフラン	60.9
	代謝物 UF	102.1

8. 定量限界
各 0.01 ppm

9. 留意事項
なし

※ 本分析法は、農作物及び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。