

## ジノテフラン試験法（畜産物）

### 1. 分析対象化合物

ジノテフラン

### 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）

### 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。

多孔性ケイソウ土カラム（5 mL保持用） 内径約20 mmのポリエチレン製のカラム管に、5 mLを保持することができる量のカラムクロマトグラフィー用に製造した顆粒状多孔性ケイソウ土を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

ジノテフラン標準品 本品はジノテフラン99%以上を含み、融点は107.5°Cである。

### 4. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、その他の食用部分及び乳の場合は、5.00 gを量り採る。これにアセトニトリル50 mL、アセトニトリル飽和*n*-ヘキサン50 mL及び無水硫酸ナトリウム10 gを加え、ホモジナイズした後、毎分3,000回転で5分間遠心分離を行う。アセトニトリル層を採り、*n*-ヘキサン層及び残留物にアセトニトリル50 mLを加え上記と同様に操作する。得られたアセトニトリル層を先のアセトニトリル層に合わせ、アセトニトリルを加え正確に200 mLとする。この100 mLを40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。

#### 2) 精製

##### (1) 多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィー

1) で得られた残留物に水5 mLを加えて溶かし、多孔性ケイソウ土カラム（5 mL 保持用）に流し入れ、10分間放置する。酢酸エチル50 mLを注入し、溶出液を40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル5 mLを加えて溶かす。

##### (2) 中性アルミナカラムクロマトグラフィー

中性アルミナミニカラム（1,710 mg）に酢酸エチル5 mLを注入し、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、酢酸エチル10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン20 mLを注入し、溶出液を40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を水に溶解し、正確に1 mLとしたものを試験溶液とする。

### 5. 検量線の作成

ジノテフラン標準品の0.025～0.5 mg/L水溶液を数点調製し、それぞれ40 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40 µLをHPLCに注入し、5の検量線でジノテフランの含量を求める。

## 7. 確認試験

LC/MSにより確認する。

## 8. 測定条件

### 1) HPLC

検出器：UV（波長270 nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径3～5 µm）、内径4.6 mm、長さ150～250 mm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び水（1：9）混液

保持時間の目安：8分

### 2) LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径3～5 µm）、内径2～2.1 mm、長さ150 mm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び2 mmol/L酢酸アンモニウム（1：9）混液

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（ $m/z$ ）：203

注入量：2 µL

保持時間の目安：5分

## 9. 定量限界

0.01 mg/kg

## 10. 留意事項

### 1) 試験法の概要

ジノテフランを試料からアセトニトリルで抽出し、*n*-ヘキサンで洗浄後、多孔性ケイソウ土カラム及び中性アルミナミニカラムで精製した後、HPLC-UVで測定、LC/MSで確認する方法である。

### 2) 注意点

夾雑成分の多い試料ではHPLC分析において、ジノテフラン溶出後に移動相を十分に流しカラム内に残存する夾雑物を溶出させた後に、次の分析を行う。

11. 参考文献

環境省告示第35号「ジノテフラン試験法」（平成14年4月24日）

12. 類型

C