

アミスルブロム分析法（畜産物）

1. 分析対象化合物

- ・アミスルブロム
- ・3-ブロモ-6-フルオロ-2-メチル-1-(1*H*-1,2,4-トリアゾール-3-イルスルホニル)インドール（代謝物 D）

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）
： API 5000 （Sciex 製）

3. 試薬、試液

アセトニトリル	：	高速液体クロマト用
メタノール	：	高速液体クロマト用
トルエン	：	残留農薬試験用
ギ酸	：	試薬特級
ギ酸アンモニウム	：	LC-MS 用
水	：	高速液体クロマト用
アミスルブロム標準品	：	純度 99.8%
代謝物 D 標準品	：	純度 99.5%
グラフアイトカーボンミニカラム	：	ENVI-Carb 500 mg（SUPELCO 製）
C ₁₈ ミニカラム	：	C ₁₈ 1000 mg（Phenomenex 製）

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

均一化した試料5 gにアセトニトリル30 mLを加えてホモジナイザーで3分間破碎抽出する。ホモジナイザーの刃をアセトニトリル5 mLで洗浄する。抽出物を3500 rpmで5分間遠心分離し、上清を250 mL容ポリプロピレンチューブに採取する。残渣にアセトニトリル30 mLを加えて、同様に破碎抽出及び遠心分離を繰り返し、上清を合わせる。残渣にアセトニトリル及び水（1：1）混液30 mLを加えて、同様に破碎抽出及び遠心分離を繰り返し、上清を合わせる。残渣にアセトニトリル及び水（1：1）混液30 mLを加えて、同様に破碎抽出及び遠心分離を繰り返し、上清を合わせる。抽出液をアセトニトリルで150 mLに定容する。

2) 精製

抽出液3 mL及び1 vol %ギ酸（100：1）混液10 mLを15 mL容チューブに採取し、混合する。これをあらかじめアセトニトリル及び水及びギ酸（100：1）混液各5 mLを流下させコンディショニングしたC₁₈ミニカラム

に流下し、流出液を捨てる。アセトニトリル、水及びギ酸（20 : 80 : 1）混液5 mLで15 mL容チューブを2回洗浄後、洗液をC₁₈ミニカラムに流下し、流出液を捨てる。次いで、あらかじめアセトニトリル及び水（7 : 3）混液5 mLでコンディショニングしたグラファイトカーボンミニカラムをC₁₈ミニカラムの下部に連結させる。連結カラムにアセトニトリル及び水（7 : 3）混液15 mLを流下させ、流出液を捨てる。C₁₈ミニカラムを取り除く。グラファイトカーボンミニカラムにアセトニトリル5 mLを流下させ、流出液を捨てる。さらにアセトニトリル、トルエン及びギ酸（75 : 25 : 1）混液30 mLを流下させて、溶出液を100 mL容ナスフラスコに分取する。これを、ロータリーエバポレーターを用いて水浴40℃以下で減圧濃縮した後、窒素気流で乾固させる。濃縮残渣をアセトニトリル及び0.2 vol%ギ酸（1 : 1）混液6 mLに溶解させて試験溶液とする。

5. 検量線の作成

アミスルブロム及び代謝物 D 標準品をメタノールに溶解し、1000 µg/mL の標準溶液を調製する。調製した標準液を各々混合し、アセトニトリル及び水 0.2 vol%ギ酸（1 : 1）混液で希釈して検量線用の標準液を数点調製し、それぞれ 10 µL を 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	: Inertsil ODS 3, 3.5 µm (2.1 mm i.d.×150 mm, GL Sciences 製)
カラム温度	: 40℃
移動相	: A 液 : 0.1 vo%ギ酸及び 0.01M ギ酸アンモニウム含有、水及びメタノール（9 : 1）混液 B 液 : 0.1 vo%ギ酸メタノール溶液 A 液/B 液（3 : 7, v/v）
流量	: 0.2 mL/min
注入量	: 10 µL
保持時間の目安	: アミスルブロム : 16.7 分 代謝物 D : 9.2 分
イオン化モード	: Electrospray ionization アミスルブロム : Positive 代謝物 D : Negative

モニタリング
イオン

:

	プレカーサー イオン (<i>m/z</i>)	プロダクト イオン (<i>m/z</i>)
アミスルブロム	468	229
代謝物 D	359	131

8. 定量限界
0.01 mg/kg

9. 留意事項

- ・アミスルブロム及び代謝物 D の標準溶液はアセトニトリル、水及びギ酸 (250 : 250 : 1) 混液中、暗所 2～8℃以下で 8 日間安定であった。

※ 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。