

ジルパテロール試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

ジルパテロール

2. 適用食品

畜産物、乳、卵

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。

0.6 mol/L 塩酸・エタノール及び水（1：1）混液溶液 塩酸 50 mL にエタノール及び水（1：1）混液を加えて 1000 mL とする。

ジルパテロール塩酸塩標準品 本品はジルパテロール 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び卵の場合は、試料を正確に量り、重量比で 1/2 量の 0.6 mol/L 塩酸・エタノール及び水（1：1）混液溶液を加え磨砕均一化した後、試料 10.0 g に相当する量を量り採る。乳の場合は試料 10.0 g を量り採り、1.2 mol/L 塩酸 2.5 mL を加える。

これに *n*-ヘキサン 50 mL を加えてホモジナイズし、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 50 mL を加えてさらにホモジナイズした後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層を採る。残留物と *n*-ヘキサン層を合わせ、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 25 mL を加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離し、得られたアセトニトリル層を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とする。

2) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 g）及びベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）にそれぞれアセトニトリル及び水（1：1）混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムの下部にベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラムを接続し、1) で得られた溶液を正確に 5 mL 注入した後、アセトニトリル及び水（1：1）混液 10 mL を注入し、流出液を捨てる。次いで、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムを取り外し、ベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラムに

25%アンモニア水及びアセトニトリル（1：99）混液 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。この残留物をアセトニトリル及び水（1：9）混液に溶解し、正確に 2 mL としたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

ジルパテロール塩酸塩標準品のアセトニトリル及び水（1：9）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 0.0025 mg/L である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. の検量線でジルパテロールの含量を求める。

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%ギ酸混液（1：49）から（4：1）までの濃度勾配を 10 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 262、プロダクトイオン 244、202、185

注入量：5 µL

保持時間の目安：6 分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

ジルパテロールを試料から *n*-ヘキサンの存在下で、アセトニトリルで抽出する。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びベンゼンスルホニル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。

2) 注意点

① ジルパテロールの 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。

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 262、プロダクトイオン 185

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 262、プロダクトイオン 244 及び 202

② ジルパテロールは、肝臓及び腎臓などの試料中では分解し易いことから、分解を防止するために試料調製時に塩酸を添加する。また、試料採取中の分解をできるだけ避けるために、検体を包丁などで細切したものを試料として用いる。エタノールは試料を均一化するために併せて添加する。なお、乳ではエタノールを添加しなくても均一な試料が得られることから、塩酸のみを添加する。内臓以外の試料では塩酸を添加しなくとも試験可能であるが、操作を統一するために全ての試料に対して塩酸を添加する方法としている。

③ 5. 1) 抽出における遠心分離操作において、アセトニトリル層を採る際に残留物が混入する場合は必要に応じて綿栓ろ過を行うと良い。

④ 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉・脂肪・肝臓・腎臓・乳、鶏卵

12. 参考文献

なし

13. 類型

C