

フェントラザミド試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

フェントラザミド

2. 適用食品

畜水産物

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。

フェントラザミド標準品 本品はフェントラザミド98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 筋肉、肝臓、腎臓、乳、鶏卵及び魚介類の場合

試料を正確に量り、重量比で3/10量のリン酸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。。これにアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に4 mLを分取し、水16 mLを加える。

② 脂肪の場合

試料を正確に量り、重量比で3/10量のリン酸を加え磨砕均一化した後、試料5.00 gに相当する量を量り採る。。これにアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に8 mLを分取し、水20 mLを加える。

③ はちみつの場合

試料10.0 gに1.5 mol/Lリン酸20 mLを加え溶解する。これにアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に4 mLを分取し、水16 mLを加える。

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 mg）に、アセトニトリル及び水各

5 mLを順次注入し、流出液は捨てる。グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) に、アセトニトリル及び水各5 mLを順次注入し、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に1) で得られた溶液を注入した後、さらにアセトニトリル及び水 (2 : 3) 混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、このカラムの下部にグラファイトカーボンミニカラムを接続し、アセトニトリル及び水 (7 : 3) 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を除去した後、グラファイトカーボンミニカラムにアセトニトリル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 : 1) 混液に溶かし、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

フェントラザミド標準品のアセトニトリル及び水 (1 : 1) 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濃度は0.001 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でフェントラザミドの含量を求める。

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2.0 mm、長さ150 mm、粒子径5 µm

カラム温度 : 40°C

移動相 : アセトニトリル及び2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液 (1 : 9) から (9 : 1) までの濃度勾配を5分間で行い、(9 : 1) で5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 350、プロダクトイオン 197、154

注入量 : 5 µL

保持時間の目安 : 9分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 概要

フェントラザミドを試料からリン酸酸性下アセトンで抽出し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びグラファイトカーボン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。

12. 参考

1) フェントラザミドは肝臓などの試料中で分解されやすいためpHを十分に下げ、酵素を失活させる必要がある。

2) フェントラザミドの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 350、プロダクトイオン 154

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 350、プロダクトイオン 197

3) 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳、鶏の筋肉、鶏卵、はちみつ、さけ、うなぎ及びしじみ

13. 参考文献

なし

14. 類型

C