

酢酸イソ吉草酸タイロシン試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

酢酸イソ吉草酸タイロシン

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。

酢酸イソ吉草酸タイロシン標準品 本品は酢酸イソ吉草酸タイロシン 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① はちみつ以外の場合

試料を正確に量り、重量比で9/10量のエタノール及び水（1：1）混液及び重量比で1/10量のリン酸をそれぞれ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。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、アセトンを加えて正確に200 mLとする。この溶液から正確に4 mLを分取し、水15 mLを加える。

② はちみつの場合

試料を正確に量り、重量比で9/10量のエタノール及び水（1：1）混液及び重量比で1/10量のリン酸をそれぞれ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。これに水20 mLを加え、よく均一化した後、アセトン100 mLを加え、ホモジナイズし吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に水10 mL及びアセトン50 mLを加えて、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトンを加えて正確に200 mLとする。この溶液から正確に4 mLを分取し、水15 mLを加える。

2) 精製

ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（200 mg）にメタノール10 mL、次いで水及びメタノール（3：2）混液10 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、水及びメタノール（3：2）混液10 mLを注入し流出液は捨てる。次いで、メタノール10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶かし、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

酢酸イソ吉草酸タイロシン標準品のメタノール溶液を数点調製し、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、5. 試験溶液の調製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の検量線で酢酸イソ吉草酸タイロシンの含量を求める。

8. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

9. 測定条件

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℃

移動相：0.05 vol%ギ酸及び0.05 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液の混液（7：3）から（0：10）までの濃度勾配を15分間で行う。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 1043、プロダクトイオン 174、109

注入量：5 µL

保持時間の目安：9分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

酢酸イソ吉草酸タイロシンを試料からリン酸酸性下でアセトン抽出し、ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体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 酢酸イソ吉草酸タイロシンのLC-MS/MS測定で、試験法開発時に使用したイオン（ m/z ）を以下に示す。

定量イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 1043、プロダクトイオン109

定性イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 1043、プロダクトイオン174

- ② 溶媒除去後のメタノールへの再溶解操作は速やかに行うこと。

- ③ 試験法開発に検討した食品：豚の筋肉・脂肪・肝臓、鶏の筋肉・肝臓・卵、牛の乳、はちみつ、しじみ、うなぎ

12. 参考文献

なし

13. 類型

C