

シクロプロトリン試験法（水産物）

1. 分析対象化合物

シクロプロトリン

2. 適用食品

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

以下に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

シクロプロトリン標準品 本品はシクロプロトリン 95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料 10.0 g にアセトン 50 mL を加えてホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン 25 mL を加えてホモジナイズした後、上記と同様に吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に 100 mL とする。この溶液から正確に 20 mL を分取し、10 w/v% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、*n*-ヘキサン 50 mL 及び 25 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサン 30 mL を加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL ずつで 2 回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40°C 以下で 1 mL 以下に濃縮する。

2) 精製

① オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (2,000 mg) にアセトニトリル 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、アセトニトリル 5 mL を注入し、負荷液を含む全溶出液を 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 19) 混液 1 mL を加えて溶かす。

② エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 19) 混液 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、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 19) 混液 10 mL を注入し、負荷液を含む全溶出液を 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶かし、正確に 1 mL としたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

シクロプロトリン標準品のメタノール溶液を数点調製し、LC-MS/MS に注入して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 0.02 mg/L である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. の検量線でシクロプロトリンの含量を求める。

8. 確認試験

LC-MS/MS により確認する。

9. 測定条件

(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 3.5 μm

カラム温度：40°C

移動相：A 液及び B 液について下表の濃度勾配で送液する。

A 液：5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B 液：5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液

時間 (分)	A 液 (%)	B 液 (%)
0	90	10
3	30	70
13	10	90
15	10	90

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (m/z)：プリカーサーイオン 499、プロダクトイオン 257、181

注入量：2 μL

保持時間の目安：13 分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

シクロプロトリンを試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製し、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。

2) 注意点

① シクロプロトリンの 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 499、プロダクトイオン 181

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 499、プロダクトイオン 257

② 試験法開発時に検討した食品：うなぎ、しじみ

12. 参考文献

なし

13. 類型

C