

ラフォキサニド試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

ラフォキサニド

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）

3. 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。

ラフォキサニド標準品 本品はラフォキサニド 97%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

(1) 筋肉、肝臓、腎臓、乳、卵、魚介類及びはちみつの場合

試料10.0 gにアセトン100 mL（はちみつの場合は水20 mLを加えて溶解後アセトン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（はちみつの場合は水10 mLを加えて溶解後アセトン50 mL）を加えてホモジナイズし、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2 mLを採り、水2 mLを加える。

(2) 脂肪の場合

試料5.00 g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、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4 mLを採り、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以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン2 mLを加えて溶かした後、水2 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。このカラムに1) で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル及び水（7：3）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトニトリル10 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に溶解し、正確に4 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ラフォキサニド標準品のアセトニトリ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、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0.00025 mg/Lである。

6. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、5の検量線でラフォキサニドの含量を求める。

7. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

8. 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5 µm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び0.1 vol%ギ酸 (17 : 3) 混液

イオン化モード：ESI (-)

主なイオン (m/z)：プリカーサーイオン 624、プロダクトイオン 345、127

注入量：4 µL

保持時間の目安：10分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

ラフォキサニドを試料からアセトンで抽出する。アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂(脂肪の場合のみ)、オクタデシ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) ラフォキサニドはオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムの種類により溶出状況が大きく異なるため注意する。

(2) ラフォキサニドの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 624、プロダクトイオン 127

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 624、プロダクトイオン 345

11. 参考文献

なし

12. 類型

C