

エチプロール試験法（水産物）

1. 分析対象化合物

エチプロール

2. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC-MS）又は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。

エチプロール標準品 本品はエチプロール 98%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料 10.0 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、アセトンを加えて正確に 200 mL とする。この 40 mL を採り、40°C以下で約 2 mL まで濃縮する。これに 10%塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン（1 : 1）混液 100 mL 及び 50 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、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ニトリルを加えて溶かし、正確に 6 mL とする。この 3 mL を採り、さらに水 7 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（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。このカラムに 1) で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。次いでアセトニトリル及び水（1 : 1）混液 10 mL を注入し、溶出液にアセトニトリル及び水（1 : 1）混液を加えて正確に 10 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

エチプロール標準品の 0.001~0.02 mg/L 溶液（アセトニトリル及び水（1 : 1）混液）を数点調製し、それぞれ 5 µL を LC-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。

6. 定量

試験溶液 5 µL を LC-MS に注入し、5 の検量線でエチプロールの含量を求める。

7. 確認試験

LC-MS 又は LC-MS/MS により確認する。

8. 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 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 µm

カラム温度：40℃

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：2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B 液：アセトニトリル

時間 (分)	A 液 (%)	B 液 (%)
0	70	30
22	10	90
25	10	90
25	70	30

イオン化モード：

1) LC-MS の場合 ESI (-)、ESI (+)

2) LC-MS/MS の場合 ESI (-)

主なイオン (m/z)：

1) LC-MS の場合 395 (-) (定量用)

397 (+) (確認用)

2) LC-MS/MS の場合 プリカーサーイオン 395、プロダクトイオン 330、262

保持時間の目安：14 分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

エチプロールを試料からアセトンで抽出、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1:1) 混液に転溶する。アセトニトリル/ヘキサン分配及び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 で定量し、LC-MS 又は LC-MS/MS で確認する方法である。

2) 注意点

①本試験法は、水産物（魚介類）に適用できる。なお、畜産物（牛、豚及び鶏等）に対する検討は実施していない。

②LC-MS の場合、主なイオンの他に確認できるイオンとして、ESI (-) においては m/z 397 が、ESI (+) においては m/z 399 がある。

11. 参考文献

厚生労働省食品安全部長通知 食安発第 0124004 号「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物

用医薬品の成分である物質の試験法について」(エチプロール試験法)(平成 17 年 1 月 24 日)

1 2. 類型

C