

ジチアノン試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

ジチアノン

2. 適用食品

畜産物

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。

ジチアノン標準品 本品はジチアノン95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料を正確に量り、重量比で3/10量のエタノール及び重量比で3/10量の6 mol/L塩酸を加えて磨砕均一化した後、試料10.0 gに相当する量を量り採る。これにアセトン50 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25 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、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10 mLを分取し、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20 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル20 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、酢酸及び水（6：1：13）混液10 mLを加えて溶かす。

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）にアセトニトリル及び水各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。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、酢酸及び水（6：1：13）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及び酢酸（19：1）混液10 mLを注入し、溶出液に水を加えて正確に20 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

ジチアノン標準品をアセトンに溶解して標準原液とする。標準原液をアセトニトリル、酢酸及び水（19：1：20）混液で希釈した溶液を数点調製し、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0.0005 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6.の検量線でジチアノンの含量を求める。

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 100 mm、粒子径 3.5 μm

カラム温度：40°C

移動相：0.01 vol%ギ酸及び0.01 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液（7：3）混液で1分間保持した後、（2：3）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 296、プロダクトイオン 264、238

注入量：5 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

ジチアノンを、重量比で3/10量のエタノール及び重量比で3/10量の6 mol/L塩酸を加えて磨砕均一化した試料からアセトンで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂する。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 ジチアノンの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 296、プロダクトイオン 264
定性イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 296、プロダクトイオン 238
- ② ジチアノンは溶液状態では不安定であるため、試験溶液の調製から測定までを当日中に終わらせることが望ましい。また、検量線用標準溶液は用時調製する。なお、アセトンで調製した標準原液（1,000 mg/L）は、4°C以下で6か月間安定である。
- 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、鶏卵

12. 参考文献

なし

13. 類型

C