液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計による畜産物中シクラニリド分析法

小林　麻紀[a]，田口　貴章[b]

畜産物中のシクラニリド分析法について検討を行った．アセトンで抽出し，アセトニトリル-ヘキサン分配で脱脂後，オクタデシルシリル化シリカゲル（C_{18}）及びエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル（PSA）ミニカラムで精製後，液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計(LC–MS/MS)で測定を行い，絶対検量線法で定量した．4 品目の畜産物（牛の筋肉，牛の脂肪，牛の肝臓及び牛乳）を対象に残留基準値濃度または定量下限濃度（0.01 ppm）における添加回収試験を行った結果，真度（*n*=5）は 83.3–111.0%，併行精度は 1.6–7.3%であり定量限界は 0.01 mg/kg であった．

キーワード：シクラニリド，植物成長調整剤，畜産物 ，液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計

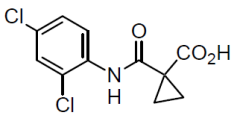
は　じ　め　に

シクラニリド（Fig. 1）はオーキシン輸送阻害作用を持つ植物成長調整剤（枯凋剤）である．植物成長調整剤であるエテホンと同時に使用され，エテホンと協調的に作用することによってオーキシンの輸送阻害作用を増強し，綿の開じょ促進に効果を示すと考えられている [1,2]．

国際的にはFAO/WHO 合同残留農薬専門家会議（JMPR）における毒性評価は行われておらず，国際基準も設定されていない．一方，アメリカ及びオーストラリアでは綿実，畜産物等に，EU では綿実に基準値が設定されている．また，シクラニリドはアメリカで農薬登録がされており，2002 年 4 月に許容一日摂取量（ADI）を 0.0009 mg/kg 体重/日と設定されている．シクラニリドの分析法の対象として，オーストラリアではシクラニリド及びシクラニリドのメチルエステル体を，アメリカではシクラニリド（2,4-ジクロロアニリンとして測定）を規制対象としている．

我が国ではシクラニリドは農薬登録はされていないが，ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値が牛及び豚の筋肉や肝臓等に 0.05–2 ppm と設定されている．また，食品安全委員会はシクラニリドの ADI を 0.0063 mg/kg 体重/日と設定している [1,2]．

作物残留試験（農薬散布で栽培した作物の残留農薬を測定し残留量を把握する安全性試験．結果が農薬登録基準に適合すると農薬登録可能）では，分析対象をシクラニリド（メチルエステル体を含む）としている [2]．しかし，薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会（平成 23 年 11 月 10 日）において，植物代謝及び家畜代謝試験において代謝物の生成がわずかであったことから，「残留の規制対象はシクラニリド本体のみとする」とされた．なお，食品安全委員会による食品健康影響評価においては，農産物及び畜産物中の暴露評価対象物質としてシクラニリド（親化合物のみ）を設定している [2]．一方，畜産物を対象としたシクラニリドの試験法はほとんど報告されていない．そこで，定量限界が一律基準0.01 ppm を満たす，簡便かつ迅速なシクラニリド個別試験法を開発し，畜産物への適用性について検討したので報告する．



$C_8HCl_3N_2O$
MW : 247.47

Fig. 1. Structure of cyclanilide

実　験　方　法

1. 試料

基準値が設定されている牛を対象とし，東京都内の小売店にて市販品を購入した．牛の筋肉，牛の脂肪，牛の肝臓及び牛乳の計4種類を用いた．

牛の筋肉，牛の脂肪及び牛の肝臓は，細切した後よく均一化した．牛乳は振とう混和して均一化した．

均一化した試料は検査実施まで －20°Cで保管した．

2. 試薬

1) 標準溶液

シクラニリド標準品は富士フイルム和光純薬製（純度98%）を用いた．この 10.0 mg を量りとり，メタノールに溶解し，正確に 10 mL として標準原液とした．標準原液をメタノールで適宜希釈したものを検量線用標準溶液とした．同様にアセトンで希釈したものを添加回収用標準溶液とし，アセトニトリルで希釈したものを脱脂検討用に，メタノール又は水との混液で適宜希釈したものをミニカラム精製検討用とした．

[a] 東京都健康安全研究センター食品化学部残留物質研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1
[b] 国立医薬品食品衛生研究所
210-9501 神奈川県川崎市川崎区殿町3-25-26

2) ミニカラム

InertSep C_{18} 500 mg/6 mL（オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム）及び InertSep PSA 1 g/6 mL（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）はジーエルサイエンス（株）製を用いた．

3) その他の試薬

アセトン及び*n*-ヘキサンは富士フイルム和光純薬（株）製の残留農薬試験用，アセトニトリルは同社製残留農薬試験用及びLC/MS用を用いた．酢酸エチルは関東化学（株）製の残留農薬試験用，メタノールは同社製LC/MS用を用いた．

酢酸アンモニウムは富士フイルム和光純薬（株）製高速液体クロマトグラフ用，塩酸は容量分析用，ギ酸はLC/MS用を用いた．

3. 装置

1) 液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計

LC部：Waters社製 ACQUITY H-CLASS

MS 部：Waters 社製 Xevo TQD

4. 測定条件

1) LC条件

分析カラム：化学物質評価研究機構製 L-column2 ODS Metal free column，2.0 mm i.d.×100 mm，粒子径 3 μm，移動相：A 液 0.1%ギ酸・2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液，B 液 メタノール，グラジエント条件：0 分 A：B=1：1→3 分 A：B=1:9→5 分 A：B=1:49→8 分，流量：0.2 mL/min，カラム温度：40°C

2) LC-MS/MS条件

イオン化法：ESI(+)，キャピラリー電圧：0.6 kV，ソース温度：120°C，デソルベーション温度：400°C，コーンガス流量：N_2，50 L/h，デソルベーションガス流量：N_2，650 L/h，定量イオン（*m/z*）：272.0→159.9［コーン電圧 25 V，コリジョンエネルギー24 eV］，定性イオン（*m/z*）：272.0→228.0［コーン電圧25 V，コリジョンエネルギー12 eV］

クロマトグラムを Fig. 4に示した．

5. 分析方法

試験溶液の調製方法をScheme 1に示す（Scheme 1）．

1) 抽出法

試料 10.0 g に水 10 mL とアセトン 50 mL を加えた．これをホモジナイズした後，1,820×*g* で 5 分間遠心分離し，その上澄液を分取した．残さにアセトン 25 mL を加え，1 回目と同様にホモジナイズした後，遠心分離した．上澄液を合わせ，アセトンで 100 mL に定容し，試料抽出溶液とした．この試料抽出溶液 5 mL を分取し，窒素吹き付け濃縮装置を用いて 40°C 以下で溶媒を除去した．

2) 脱脂法

残留物に*n*-ヘキサン5 mL及び*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル5 mLを加え，超音波処理により溶解し，5分間振とうした．静置した後，アセトニトリル層を分取した．*n*-ヘキサン層に*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル5 mLを加え，上記と同様の操作を繰り返し，分取したアセトニトリル層を合わせ，窒素吹き付け濃縮装置を用いて40°C以下で溶媒を除去した．残留物にメタノール・水（1：9）混液1 mLを加え，超音波溶解したものを抽出液とした．

3) 精製法

C_{18} ミニカラムをあらかじめ 0.1 mol/L 塩酸 10 mL，メタノール 5 mL 及び水 10 mL でコンディショニングし，1)で得られた抽出液を全量負荷した．メタノール・水（1：9）混液 10 mL 次いでメタノール・水（1：1）混液 10 mL で洗浄後，0.5 vol%ギ酸・メタノール混液 10 mL で溶出した．溶出液全量を採取し，窒素吹き付け濃縮装置を用いて 40°C 以下で溶媒を除去した．残留物にメタノール 1 mL を加え，超音波溶解した．

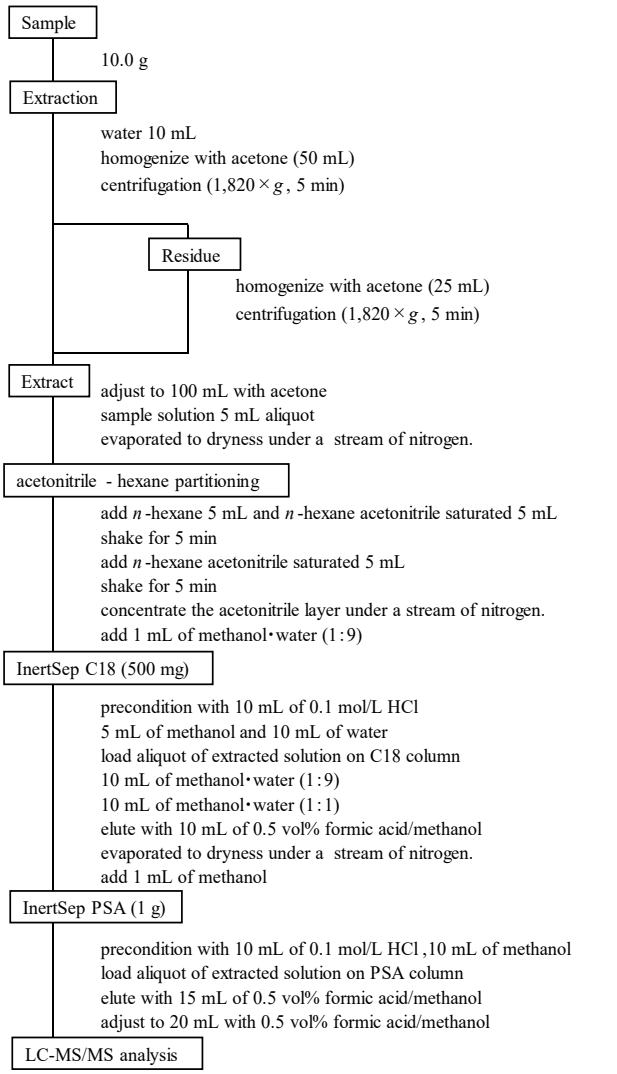


Fig. 2. Sample preparation method for analysis

PSA ミニカラムを 0.1 mol/L 塩酸 10 mL 及びメタノール 10 mL でコンディショニングし，超音波溶解した液を全量負荷した後，0.5 vol%ギ酸・メタノール 15 mL で溶出し，メタノールで正確に 20 mL としたものを試験溶液とした．

結果及び考察

1. LC及びMS条件の検討

1) MS条件の検討

シクラニリドをLC-MS/MSで測定するためのMS条件の検討を行った．イオン化モードについてはエレクトロスプレーイオン化法（ESI）を用いることとし，スキャン測定を行った．ESI（＋）モードではシクラニリドのプロトン付加分子（*m/z* 274.0 $[M+H]^+$）を，ESI（－）モードでは既報[2-4] における検出イオンと一致した脱プロトン化分子（*m/z* 272.0 $[M-H]^-$）のモノアイソトピック質量272.9に関するスペクトルが観察された（Fig. 2）．ESI（－）モードでのイオン強度はESI（＋）モードの1/10程度であったが，牛の肝臓で採用した精製条件においても面積比が0.51及び0.61（それぞれ0.01 mg/kg及び2 mg/kg添加相当濃度）と夾雑成分の影響を受けた．ESI（－）モードでは面積比が0.94及び0.97と夾雑成分の影響がESI（＋）モードより少なかったことから，ESI（－）モードを用いることとした．

シクラニリドの脱プロトン化分子のうち，最も強度の高い*m/z* 272.0をプリカーサーイオンとした場合，プロダクトイオンとして，*m/z* 159.9及び228.0が観測された（Fig. 3）．SRM測定を行った結果，高いSN比が得られた*m/z* 159.9を定量用イオンに，*m/z* 228.0を定性用イオンとすることとした．

2) LC条件の検討

分析カラムは，汎用されているオクタデシルシリル化シリカゲル（ODS）充填カラムである，CAPCELL PAK C18 MGII（2.1 mm，100 mm，粒子径 5 µm：大阪ソーダ製），Inertsil ODS3（2.1 mm，100 mm，粒子径 3 µm：ジーエルサイエンス製），Inertsil ODS4（2.1 mm，100 mm，粒子径 3 µm：ジーエルサイエンス製），L-column2 ODS（2.0 mm，100 mm，粒子径 3 µm：化学物質評価研究機構製），L-column2 ODS メタルフリー（2.0 mm，100 mm，粒子径 3 µm：化学物質評価研究機構製）及び Mightysil RP-18（2.1 mm，100 mm，粒子径 3 µm：関東化学製）を比較検討した．その結果，L-column2 ODS メタルフリーを使用することで，シクラニリドのピーク形状，分離及び再現性について良好な結果が得られた．

移動相として汎用されているギ酸及び酢酸アンモニウム溶液を用いて検討したところ，0.1 vol%ギ酸・1 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液及びメタノールでシクラニリドのピーク強度が最大となり，感度が良好となった．0.1 vol%ギ酸・1 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液（1：1）から 3 分までに（1：9），5 分までに（1：49）のグラジエント条件とし，分析カラムからの試料成分流出のため，（1：49）で 3 分間保持した場合，シクラニリドの保持時間は 5.9 分であった．

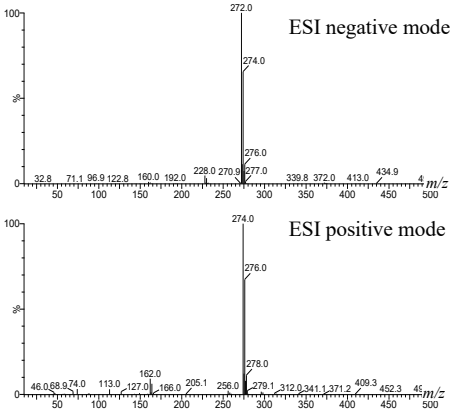


Fig. 3. Mass spectrum of cyclanilide standard

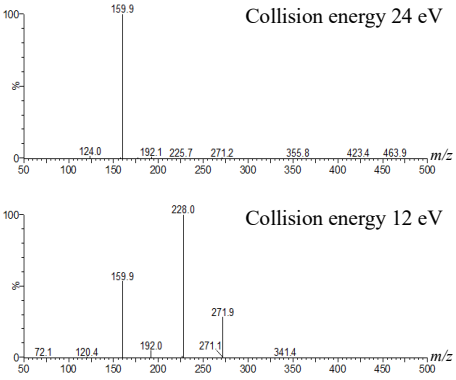


Fig. 4. Product ion spectra obtained for precursor ion (*m/z* 272.0) of cyclanilide

本条件を用いて添加回収試験の濃度範囲である0.000125–0.015 mg/L で検量線を作成したところ，良好な直線性（r^2=0.999 以上）を示した．

2. 抽出法の検討

抽出溶媒としてアセトニトリル，アセトン，アセトン・*n*-ヘキサン混液（1：1），酢酸エチル及びメタノールについて検討した．水10 mL にシクラニリド添加回収用標準溶液5 mg/L（アセトン溶液）0.1 mL を添加し，各溶媒を50 mL加えてホモジナイズ後，5 分間遠心分離（1,820×*g*）した．上層を分取し，各溶媒で100 mLに定容した（1回目）．残さに各溶媒25 mLを加えて同様に操作し，得られた上層を100 mLに定容した（2回目）．1回目及び2回目からそれぞれ5 mL 分取し，窒素吹き付け濃縮装置を用いて40°C以下で溶媒を除去した．メタノールに溶解し，LC-MS/MS で測定した．その結果，アセトニトリル，アセトン及びメタノールで1回目：96-99%，2回目：1-4%と2回あわせて100%の回収であった．今回は脂肪を十分に分散可能なアセトン及びメタノールを用いて検討を行うことと

した．

牛の肝臓を試料として，アセトン及びメタノールを用いて抽出した溶液をアセトニトリル-ヘキサン分配後，C_{18}ミニカラム及びPSAミニカラムで精製し，LC-MS/MSで測定した．その結果，メタノールよりもアセトンで抽出した液の方が試料由来の夾雑成分の影響が少なかった．また，窒素吹き付け濃縮装置での溶媒除去時間がメタノールよりも短時間であることから，アセトンを抽出溶媒に用いることとした．

3. 脱脂法の検討

脱脂法としてアセトニトリル-ヘキサン分配を検討した．

シクラニリド脱脂検討用標準溶液0.05 mg/L（アセトニトリル溶液）0.5 mLを*n*-ヘキサン30 mLに加え，*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLで分液ロートを用いて5分間振とうし，3回抽出を行った場合と，15 mLポリプロピレン製遠心チューブ（遠心チューブ）にシクラニリド脱脂検討用標準溶液0.05 mg/L（アセトニトリル溶液）0.5 mLを*n*-ヘキサン5 mLに加え，*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル5 mLで5分間振とうし，3回抽出を行った．その結果，いずれも2回の抽出で100%の回収が得られた．簡便及び迅速化のため，溶媒量が少ない遠心チューブでアセトニトリル-ヘキサン分配を行うこととした．

4. 精製法の検討

1) ミニカラム精製の検討

(1) C_{18} ミニカラム

精製に汎用され，既報[3,4]で用いられている C_{18} ミニカラムについて検討した．

ア 溶出

カラムからメタノールでの溶出を検討した．カラムをメタノール 10 mL でコンディショニングした後，シクラニリドミニカラム精製検討用標準溶液 0.05 mg/L（メタノール溶液）0.5 mL を負荷し，メタノール溶液で溶出したが，シクラニリドは溶出されなかった．次に，カラムを0.1 mol/L 塩酸 10 mL 及び 0.1 vol%ギ酸・メタノール溶液 10 mL でコンディショニングした後，シクラニリドミニカラム精製検討用標準溶液 0.05 mg/L（メタノール溶液）0.5 mL を負荷し，0.1 –1 vol%ギ酸・メタノール溶液で溶出した．シクラニリドはギ酸が 0.5 vol%以上の濃度の場合に溶出液 10 mL で 100%回収されたため，0.5 vol%ギ酸・メタノール溶液 10 mL で溶出することとした．

イ 洗浄

マトリックスの影響を考慮し，シクラニリドのマトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対する面積比を求めたところ，牛の筋肉 1.25，牛の脂肪 2.80，牛の肝臓 0.54 及び牛乳 0.90 と牛乳以外は精製が不十分であった．

次に洗浄操作が可能か，メタノール及び水との混液について洗浄条件の検討を行った．

Table 1.Recovery of Cyclanilide from mini column

Solid-phase extraction cartridge columun	Formic acid (vol%)	Recovery(%)[1)] Formic acid・Methanol(mL) 0 – 5	5 – 10	10 – 15	15 – 20	20 – 25	Total
C_{18} 500 mg	0.1	95	4	1	0	0	100
	0.2	95	4	1	0	0	100
	0.5	98	2	0	0	0	100
	1	98	2	0	0	0	100
PSA 1 g	0.1	90	7	2	1	0	100
	0.2	95	3	1	1	0	100
	0.5	97	2	1	0	0	100
	1	98	1	1	0	0	100

1) 0.5 mL of standard solution (0.05 mg/L in methanol) was loaded on the mini column, and eluted with methanol・Formic acid(0.1, 0.2, 0.5 and 1 vol%) ; then was divided every 5 mL. *n*=1

C_{18} カラムを 0.1 mol/L 塩酸 10 mL，メタノール 5 mL 及び水 10 mL でコンディショニングした後，シクラニリドミニカラム精製検討用標準溶液 0.05 mg/L（メタノール・水（1：9）混液）0.5 mL を負荷し，メタノール・水（1：9），（1：4），（3：7），（2：3）及び（1：1）混液各 5 mL で順次溶出したところ，シクラニリドは溶出されなかった．そこで，メタノール・水混液で負荷し，カラムに保持させ，メタノール・水混液で洗浄後，0.5 vol%ギ酸・メタノール溶液で溶出する方法を検討した．

マトリックスのカラム保持への影響確認のため， 0.01 mg/kg 添加相当濃度（溶液中濃度 0.0005 mg/L）でのマトリックス添加標準溶液（脱脂・溶媒除去後に 0.0005 mg/mL メタノール・水（1：9）混液 1 mL に溶解）をカラムに負荷し，メタノール・水（1：1）混液で洗浄したところ，10 mL で 50%のシクラニリドの溶出が見られた．次にマトリックス添加標準溶液をカラムに負荷し，メタノール・水（1：9）混液 10 mL，次いでメタノール・水（1：1）混液 10 mL で洗浄した場合は溶出されず，カラムに保持された．順次メタノール濃度をあげることでマトリックスの影響を受けずにカラムに保持されたことから，負荷はメタノール・水（1：9）混液に溶解して行い，メタノール・水（1：9）混液 10 mL，次いでメタノール・水（1：1）混液 10 mL で洗浄し，0.5 vol%ギ酸・メタノール溶液 10 mL で溶出することとした（Table 1）．

C_{18} ミニカラムで牛の肝臓におけるマトリックスの影響を確認したところ，シクラニリドのマトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対する面積比は 0.67 と不十分であった．

(2) PSA ミニカラム

C_{18} ミニカラムの脂質除去のみでは不十分であったことから，色素及び脂肪酸の除去に効果のある PSA（1 g）ミ

ニカラムについて検討した．

PSA ミニカラムをメタノール 10 mL でコンディショニングした後，シクラニリドミニカラム精製検討用標準溶液 0.05 mg/L（メタノール溶液）0.5 mL を負荷し，メタノール 50 mL で溶出したが，シクラニリドは溶出されなかった．

次に，酸性での溶出を検討した．0.1 vol%ギ酸・メタノール溶液を用いて溶出を行った．カラムを 0.1 vol%ギ酸・メタノール溶液 10 mL でコンディショニングした後，シクラニリドミニカラム精製検討用標準溶液 0.05 mg/L（メタノール溶液）0.5 mL を負荷し，0.1 vol%ギ酸・メタノール溶液 50 mL で溶出した結果，シクラニリドは溶出されなかった．

PSA ミニカラムを 0.1 mol/L 塩酸 10 mL で洗浄し，次いでカラムを 0.1 vol%ギ酸・メタノール溶液 10 mL でコンディショニングした後，シクラニリドミニカラム精製検討用標準溶液 0.05 mg/L（メタノール溶液）0.5 mL を負荷し，0.1 vol%ギ酸・メタノール溶液で溶出した．シクラニリドは 10 mL で 100%回収された．

充てん剤を塩酸で洗浄することにより，充てん剤に含有されている金属が除去され，金属による吸着の影響がなくなったと考えられる．また，充てん剤が酸性になったため，シクラニリドの溶出率が高まり，0.1 vol%ギ酸・メタノール溶液 10 mL で溶出されたと考えられる．

シクラニリドはギ酸が 0.5 vol%以上の濃度の場合に 15 mL で 100%回収されたため（Table 1），0.5 vol%ギ酸・メタノール溶液 15 mL で溶出することとした．

PSA ミニカラムでのシクラニリドのマトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対する面積比を求めた．その結果，牛の筋肉 0.84，牛の脂肪 0.83，牛の肝臓 0.62 及び牛乳 0.94 と牛の肝臓でイオン化抑制が認められた．

(3) C_{18} 精製・濃縮後の PSA による精製検討

C_{18} 及び PSA ミニカラムともに 1 種類のみの精製では不十分であった．そこで，C_{18} ミニカラムをメタノール・水混液で洗浄後，PSA ミニカラムと連結して 0.5 vol%ギ酸・メタノール溶液で溶出した．しかし，牛の肝臓におけるマトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対する面積比は 0.70 と改善しなかった．

次に，C_{18} ミニカラムで精製し，濃縮したものを PSA ミニカラムで精製することを検討した．PSA ミニカラム内での試料溶液のバンド幅を狭くすることで溶出される夾雑成分量が減少するか確認した．

C_{18} ミニカラムを 0.1 mol/L 塩酸 10 mL，メタノール 5 mL 及び水 10 mL でコンディショニングした後，牛の筋肉，牛の脂肪，牛の肝臓及び牛乳の無添加試料溶液（アセトン抽出，アセトニトリル/ヘキサン分配濃縮後，メタノール・水（1 : 9）混液 1 mL に溶解）を負荷した．メタノール・水（1 : 9）混液 10 mL 及びメタノール・水（1 : 1）混液 10 mL で洗浄し，0.5 vol%ギ酸・メタノール溶液 10 mL で溶出後，濃縮した残さをメタノール 1 mL に溶解した．その後，0.1 mol/L 塩酸 10 mL，メタノール 10 mL でコンディショニングした PSA ミニカラムに負荷後，0.5 vol%ギ酸・メタノール溶液 15 mL で溶出し，0.5 vol%ギ酸・メタノール溶液で 20 mL に定容した．

マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対する面積比は，牛の筋肉 1.02，牛の脂肪 0.94，牛の肝臓 0.94 及び牛乳 1.00 であり，マトリックスの影響が十分に軽減されたことを確認した．

5. 検量線

0.000125–0.015 ng/mL 及び 0.125–0.75 ng/mL の検量線用標準溶液（メタノール溶液）を各濃度範囲で 6 点調製し，2 μL を LC-MS/MS に注入し，ピーク面積で検量線を作成した．決定係数（r^2）は 0.999 以上で良好な直線性が得られた．

6. 添加回収試験

シクラニリドが検出されないことを確認した 4 食品（牛の筋肉，牛の脂肪，牛の肝臓及び牛乳）に残留基準値濃度及び 0.01 mg/kg となるようにシクラニリドを添加し，30 分間放置した後，本法に従って操作して 5 併行の回収率を求めた．その結果，真度は 83.3–111.0%，併行精度は 1.6–7.3%（Table 2）と，いずれも真度 70–120%，併行精度 10%未満と目標値（Table 3：非公開．国立医薬品食品衛生研究所食品部：残留農薬等試験法開発事業実施要領 令和 4 年度, 10-13，2022 年 1 月）を満たした．なお，検討したいずれ

Table 2. Recovery of Cyclanilide from livestock products

Sample	MRL[1] (mg/kg)	Fortified level (mg/kg)	Recovery[2] (%)	RSD[3] (%)	Peak area ratioc[4]
Cattle muscle	0.05	0.05	97.0	1.6	1.04
		0.01	91.6	6.2	1.02
Cattle fat	0.1	0.1	107.3	2.1	0.98
		0.01	111.0	7.3	0.94
Cattle liver	2	2	85.5	1.6	0.97
		0.01	83.3	4.9	0.94
Milk	0.05	0.05	100.8	3.8	1.01
		0.01	91.5	2.9	1.00

1) Maximum residue limits
2) n=5, 3) Relative standard deviation,
4) Matrix standard / standard in solvent, n=2

Table 3. Additive Concentration and Target Value

Additive Concentration (ppm)	Number of trials	Trueness (%)	Repeatablility (%RSD)
≦0.001	5	70–120	< 30
0.001＜－≦0.01	5	70–120	< 25
0.01＜－≦0.1	5	70–120	< 15
0.1＜	5	70–120	< 10

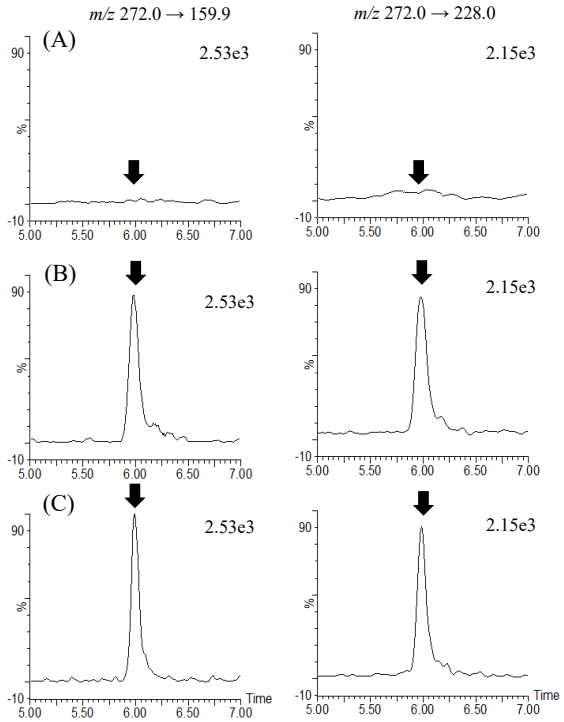


Fig. 4. SRM chromatograms of (A) Cattle liver blank, (B) Cattle liver fortified with 0.01 mg/kg of cyclanilide (C) Standard solution of cyclanilide (0.0005 mg/L).

の試料においても，シクラニリドの定量を妨害するピークは認められず（Fig. 4），選択性も良好であった．

試料マトリックスの測定への影響について添加回収試験における0.01 mg/kg及び基準値の溶媒標準溶液と同濃度になるようにマトリックス添加標準溶液を調製し，マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積比を求めた．面積比は0.94–1.02といずれの試料においても，マトリックスの測定への顕著な影響は認められなかった．

0.01 mg/kg 添加相当になるように調製したマトリックス添加標準溶液での S/N 比を求めたところ，20–26 と全ての食品で S/N≧10 を満たしており，本法による定量限界を 0.01 mg/kg に設定した．

ま　と　め

LC-MS/MS を用いた畜産物中のシクラニリド試験法を検討した．試料からはアセトンで抽出し，アセトニトリル-ヘキサン分配で脱脂後，C_{18} 及び PSA ミニカラムで精製した後，LC-MS/MS で測定した．4 品目の畜産物（牛の筋肉，牛の脂肪，牛の肝臓及び牛乳）を対象に添加回収試験を行った．残留基準値または一律基準値濃度となるように添加したときの本法の真度は 83.3–111.0%，併行精度は 1.6–7.3%であり，良好な結果が得られた．定量限界は，検討したいずれの畜産物においても 0.01 mg/kg であり，シクラニリドの分析法として有用と思われる．

謝　　辞

本研究は，厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課「令和4年度食品に残留する農薬等の成分である物質の試験法開発・検証業務」により実施したものである．本試験法は令和7年4月18日に通知された（消食基第244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」の一部改正について）．関係各位に深謝いたします．

文　　献

1） 食品安全委員会農薬専門調査会：農薬評価書 シクラニリド，2011年6月，https://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20080303002（2026年6月26日現在．なお本URLは変更または抹消の可能性がある）

2） 内閣府食品安全委員会農薬専門調査会：薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会資料，【シクラニリド（農薬）】，平成23年11月10日，https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzenbu/0000083758.pdf（2026年6月26日現在．なお本URLは変更または抹消の可能性がある）

3） 小西友彦，中村正規：福岡保健環境研報，**34**, 105–109, 2008.

4） 小山知生，益永利久，林　裕美，他：都内農産物の安全性確保に向けた残留農薬分析技術の確立〔平成 21–23 年度〕，https://www.tokyo-aff.or.jp/uploaded/attachment/6230.pdf（2026年6月26日現在．なお本URLは変更または抹消の可能性がある）

5） 平井知里，中村雅子，山岸　浩，他：福井衛環境研セ年報，**12**, 108–117, 2013.

利益相反（COI）利益相反はない．

Analytical Method for Cyclanilide in Livestock Products by liquid chromatography–tandem mass spectrometry

Maki KOBAYASHI[a] and Takaaki TAGUCHI[b]

An analytical method based on liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC–MS/MS) was developed for the determination of cyclanilide, a synthetic plant-growth regulator, in livestock products. Crude samples extracted with acetone were defatted by acetonitrile and n-hexane partitioning. After cleanup through an octadecylsilyl silica gel (C18) and ethylene diamine-*N*-propyl silylation silica gel mini-columns under acidic conditions, the sample solution was analyzed using LC–MS/MS and an external solvent calibration curve. The average cyclanilide recoveries (n = 5) from four livestock products (cattle muscle, cattle fat, cattle liver and milk), spiked either at their maximum residue limits or at a uniform limit (0.01 mg/kg), were 83.3%–111.0% (relative standard deviation: 1.6%–7.3%). The calculated limit of quantitation of the developed method was 0.01 mg/kg.

Keywords: cyclanilide, plant growth regulator, livestock products, liquid chromatography–tandem mass spectrometry

[a] Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan
[b] National Institute of Health Sciences
3-25-26, Tonomachi, Kawasaki-ku, Kawasaki City, Kanagawa, 210-9501, Japan