

**技術レポート****1 飼料中のシアヌル酸の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による分析法の検討**

長久保 眞平\*, 野村 昌代\*, 青山 幸二\*

**Study of Determination Method of Cyanuric Acid in Feed by LC-MS/MS**

Shinpei NAGAKUBO\*, Masayo NOMURA\* and Koji AOYAMA\*

(\* Fertilizer and Feed inspection Department, Food and Agricultural Materials Inspection Center)

We have studied a quantitative determination method of the cyanuric acid concentration in feed using a liquid chromatograph-electrospray ionization-tandem mass spectrometer (LC-ESI-MS/MS).

Cyanuric acid was extracted with acetonitrile-water (1:1), and the extracted solution was centrifuged. 4 mL of the supernatant was then diluted with acetonitrile-water (1:1) to a volume of 10 mL. The diluted solution was purified with a SPE column (Oasis MAX, Waters Co.; Milford, MA, USA), and injected into a LC-MS/MS to determine the concentration of cyanuric acid. LC separation was then carried out on a hydrophilic interaction chromatography column (SeQuant ZIC-HILIC, 2.1 mm i.d. × 150 mm, 5 μm, Merck Millipore Inc.; Burlington, MA, USA) with a gradient of acetonitrile-10 mmol/L ammonium acetate solution (19:1) and 10 mmol ammonium acetate dissolved in acetonitrile-water (1:1) as a mobile phase. In the MS/MS analysis, the negative mode electrospray ionization (ESI-) was used.

Recovery tests were conducted on two kinds of formula feed, fish meal, soybean meal and dried skim milk. Cyanuric acid was intentionally added at the levels of 0.5 mg/kg and 2.5 mg/kg to samples respectively. The resulting mean recoveries ranged from 79.0 % to 111 %. The repeatability in the form of the relative standard deviation (RSD<sub>r</sub>) was less than 14 % on two kinds of formula feed, fish meal and soybean meal, and less than 31 % on dried skim milk.

**Key words:** cyanuric acid; liquid chromatograph-tandem mass spectrometer (LC-MS/MS); electrospray ionization (ESI); formula feed; fish meal; soybean meal; dried skim milk

**キーワード:** シアヌル酸; 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計; エレクトロスプレーイオン化法; 配合飼料; 魚粉; 大豆油かす; 脱脂粉乳

**1 緒 言**

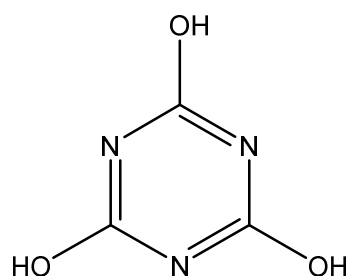
シアヌル酸は、一般にプラスチック製造や消毒剤、プールの塩素安定剤として使用されている<sup>1)</sup>。シアヌル酸及び類似化合物であるメラミンは、安価で入手が容易であり、窒素原子を多く含んでいるため、たん白質含量を多く見せる欺瞞剤として用いられることがある<sup>1)</sup>。シアヌル酸及びメラミンは、単独で摂取した場合の急性毒性は比較的低い<sup>1)</sup>が、同時に摂取した場合、腎不全を誘発する結晶を形成することが示唆されている<sup>1)</sup>。2007年に米国において、メラミン関連化合物に汚染されたペットフードを摂取したイヌとネコにおける腎不全症例が大規模に発生した。中国においては、

\* 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

メラミン関連化合物が不正に混入された乳幼児用調製粉乳が原因と思われる乳幼児等の腎結石等の被害が報告された<sup>2)</sup>。日本において、飼料の有害物質の指導基準及び管理基準<sup>3)</sup>の中で、家畜等用飼料（飼料原料（尿素を除く）を含む）中のメラミンの管理基準値は 2.5 mg/kg と設定されている。最近では、ベトナム産イカミール等からシアヌル酸が検出される事例も発生している。これを受けて、急遽、シアヌル酸の管理基準等を設定してモニタリングを行う必要が生じた。しかし、シアヌル酸については、その分析法が飼料分析基準<sup>4)</sup>に記載されていないため、分析法の確立が急務となった。

今回、米国食品医薬品局（FDA）から示されている液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による定量法<sup>5)</sup>（以下「FDA 法」という。）を基に、飼料中のシアヌル酸の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計（以下「LC-MS/MS」という。）による定量法の飼料分析基準への適用の可否を検討したので、その概要を報告する。

参考にシアヌル酸の構造式等を Fig 1 に示した。



1,3,5-triazinane-2,4,6-trione

C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> MW: 129.075 CAS No.: 108-80-5

Fig. 1 Chemical structure of cyanuric acid

## 2 実験方法

### 2.1 試料

配合飼料（ブロイラー肥育後期用，成鶏飼育用，子豚育成用，肉豚肥育用，あゆ育成用及びあまご育成用），魚粉，イカミール，エビミール及び大豆油かすをそれぞれ目開き 1 mm のスクリーンを装着した粉碎機で粉碎した。脱脂粉乳については 1 mm のふるいを通させた。エビミール 2 点はマレーシア産及びベトナム産を用いた。イカミール 2 点の産地は不明であった。その他の試料は国産を用いた。

なお、検討に用いた配合飼料の配合割合を Table 1 に示した。

Table 1 Compositions of the formula feeds

Formula feed types	Ingredient types	Proportion (%)	Ingredients
For broiler finishing chick	Grains	65	Corn, brown rice
	Oil seed meal	26	Soybean meal, rapeseed meal, corn gluten meal
	Brans	1	Rice bran
	Others	8	Vegetable oil, calcium phosphate, calcium carbonate, salt, feed additives
For layers	Grains	60	Corn, milled rice
	Oil seed meal	19	Soybean meal, rapeseed meal, corn gluten meal, enzyme-treated soybean, palm meal
	Brans	7	Distiller's dried grains with solubles, rice bran
	Animal by-products	1	Fish meal
	Others	13	Calcium carbonate, animal fat, calcium phosphate, salt, glucose, lactic acid bacterium, fructo-oligo saccharide syrup, fructo-oligo saccharide, paprika extract, silicic acid, silicic anhydride, bifidobacteria, feed additives
For growing pigs	Grains	71	Corn, milled rice, wheat flour, bread crumb, wheat, milo
	Oil seed meal	16	Soybean meal, rapeseed meal, corn germ meal
	Brans	2	Wheat bran
	Animal by-products	2	Fish meal, bone and meat meal (derived from pork and chicken)
	Others	9	Food industry by-product, molasses, corn steep liquor, calcium carbonate, calcium phosphate, salt, vegetable oil, betaine, silicic acid, animal fat, feed additives
For pork pigs	Grains	73	Heat and press-treated corn, milo, corn, heat-treated corn, heat-treated barley
	Oil seed meal	22	Heat and press-treated soybean meal, rapeseed meal, soybean meal
	Others	5	Animal fat, calcium carbonate, salt, calcium phosphate, vegetable oil, feed additives
For sweet fish	Animal by-products	56	Fish meal, krill meal
	Grains	31	Wheat flour
	Oil seed meal	7	Soybean meal
	Others	6	Calcium phosphate, seaweed powder, feed yeast, wheat germ, shelly fossil powder, garlic powder, calcium carbonate, soybean lecithin, silicic acid, feed additives
For oncorhynchus rhodurus	Animal by-products	56	Fish meal
	Grains	26	Wheat flour
	Oil seed meal	7	Soybean meal
	Brans	6	Defatted rice bran
	Others	5	Feed yeast, calcium phosphate, seaweed powder, calcium carbonate, feed additives

## 2.2 試薬

- 1) アセトニトリルは LC-MS 用, アンモニア水は特級 (質量分率 28%), ギ酸は LC-MS 用 (質量分率 99%), ジエチルアミンは特級, 酢酸アンモニウム溶液は 1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 LC 用を用いた (いずれも富士フィルム和光純薬製). 水は Milli-Q Integral 5 (Merck Millipore 製) により精製した超純水 (JIS K0211 の 5218 に定義された超純水) を用いた.
- 2) シアヌル酸標準原液  
シアヌル酸標準品 (富士フィルム和光純薬製, 純度 99.2%) 10 mg を正確に量って 20 mL

の全量フラスコに入れ、水を加えて溶かし、更に標線まで水を加えてシアヌル酸標準原液を調製した（この液 1 mL は、シアヌル酸として 500  $\mu\text{g}$  を含有する．）．

3) 安定同位体元素標識シアヌル酸（シアヌル酸- $^{13}\text{C}_3$ ）内標準原液

シアヌル酸- $^{13}\text{C}_3$  標準品（林純薬工業製，純度  $^{13}\text{C}_3$  97.3 %）5 mg を正確に量って 20 mL の全量フラスコに入れ、水を加えて溶かし、更に標線まで水を加えてシアヌル酸- $^{13}\text{C}_3$  内標準原液を調製した（この液 1 mL は、シアヌル酸- $^{13}\text{C}_3$  として 250  $\mu\text{g}$  を含有する．）．

4) 検量線作成用シアヌル酸標準液

使用に際して、シアヌル酸標準原液及びシアヌル酸- $^{13}\text{C}_3$  内標準原液の一定量をギ酸-アセトニトリル（1+24）で正確に希釈し、1 mL 中にシアヌル酸として 2.5, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 及び 200 ng を含有し、かつシアヌル酸- $^{13}\text{C}_3$  として 10 ng を含有する各検量線作成用シアヌル酸標準液を調製した（用時調製）．

5) 安定同位体元素標識シアヌル酸（シアヌル酸- $^{13}\text{C}_3$ ）内標準液

使用に際して、シアヌル酸- $^{13}\text{C}_3$  内標準原液の一定量を水で正確に希釈し、1 mL 中にシアヌル酸- $^{13}\text{C}_3$  として 2  $\mu\text{g}$  を含有する内標準液を調製した（用時調製）．

6) 溶離液 A アセトニトリル-10 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液（19+1）

7) 溶離液 B 1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 10 mL にアセトニトリル-水（1+1）を加えて 1 L とした．

## 2.3 装置及び器具

1) 粉砕機：ZM 200 Retsch 製（目開き 1 mm スクリーン，使用時回転数 14000 rpm）

2) 超音波洗浄機：MCS-6 アズワン販売

3) ホモジナイザー：POLYTRON PT20SK KINEMATICA 製

4) 強塩基性陰イオン交換体ミニカラム（以下「ミニカラム」という．）：Oasis MAX（充てん剤量 150 mg，リザーバー容量 6 mL，粒径 60  $\mu\text{m}$ ）Waters 製

5) メンブランフィルター：13HP045AN（孔径 0.45  $\mu\text{m}$ ，直径 13 mm，ポリテトラフルオロエチレン）東洋濾紙製

6) LC-MS/MS：

LC 部：Nexera X2 島津製作所製

MS 部：LCMS-8040 島津製作所製

## 2.4 定量方法

1) 抽出

i 脱脂粉乳 分析試料 1 g を正確に量って 50 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、水 10 mL を加えた後、15 分間超音波処理した．この遠心沈殿管にアセトニトリル 10 mL を加え、更にシアヌル酸- $^{13}\text{C}_3$  内標準液 250  $\mu\text{L}$  を正確に加えた後、ホモジナイザーで 1 分間かき混ぜて抽出した．抽出液を 1600 $\times$ g で 10 分間遠心分離し、上澄み液 4 mL を 10 mL の全量フラスコに正確に入れた．全量フラスコの標線までアセトニトリル-水（1+1）を加え、カラム処理に供する試料溶液とした．

ii その他の飼料 分析試料 1 g を正確に量って 50 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、アセトニトリル-水（1+1）20 mL を加えた．更にこの遠心沈殿管にシアヌル酸- $^{13}\text{C}_3$  内標準液 250  $\mu\text{L}$  を正確に加えた後、ホモジナイザーで 1 分間かき混ぜて抽出した．抽出液を 1600 $\times$ g で 10

分間遠心分離し、上澄み液 4 mL を 10 mL の全量フラスコに正確に入れた。全量フラスコの標線までアセトニトリル-水 (1+1) を加え、カラム処理に供する試料溶液とした。

## 2) カラム処理

ミニカラムをアセトニトリル 5 mL 及びアンモニア水-水 (5+23) 5 mL で順次洗浄した。試料溶液 2 mL をあらかじめアンモニア水-水 (5+23) 3 mL を入れたミニカラムに加え混和し、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた。更にアセトニトリル 5 mL をミニカラムに加えて全量を流出させた (流速は 1~2 mL/min 程度となるように吸引マニホールドを使用した。以下同様。)。10 mL の共栓試験管をミニカラムの下に置き、ギ酸-アセトニトリル (1+24) 2 mL をミニカラムに正確に加えてシアヌル酸を溶出させた。溶出液をメンブランフィルターでろ過し、LC-MS/MS による測定に供する試料溶液とした。

## 3) LC-MS/MS による測定

試料溶液及び各検量線作成用シアヌル酸標準液各 5  $\mu$ L を LC-MS/MS に注入し、選択反応検出 (以下「SRM」という。) クロマトグラムを得た。測定条件を Table 2 及び 3 に示した。

Table 2 Operating conditions of LC-MS/MS

Column	SeQuant ZIC-HILIC (2.1 mm i.d. $\times$ 150 mm, 5 $\mu$ m), MERCK
Mobile phase	Solution A – solution B (19:1) (hold for 8 min) $\rightarrow$ 2 min $\rightarrow$ (2:3) (hold for 10 min) $\rightarrow$ 2 min $\rightarrow$ (19:1) (hold for 5 min) Solution A: acetonitrile-10 mmol/L ammonium acetate solution (19:1) Solution B: 10 mmol ammonium acetate dissolved in acetonitrile-water (1:1)
Flow rate	0.3 mL/min
Column temperature	40 $^{\circ}$ C
Ionization	Electrospray ionization (ESI)
Mode	Negative
Nebulizer gas	N <sub>2</sub> (3 L/min)
Drying gas	N <sub>2</sub> (15 L/min)
Interface temperature	350 $^{\circ}$ C
Heat block temperature	300 $^{\circ}$ C
Desolvation line temperature	250 $^{\circ}$ C

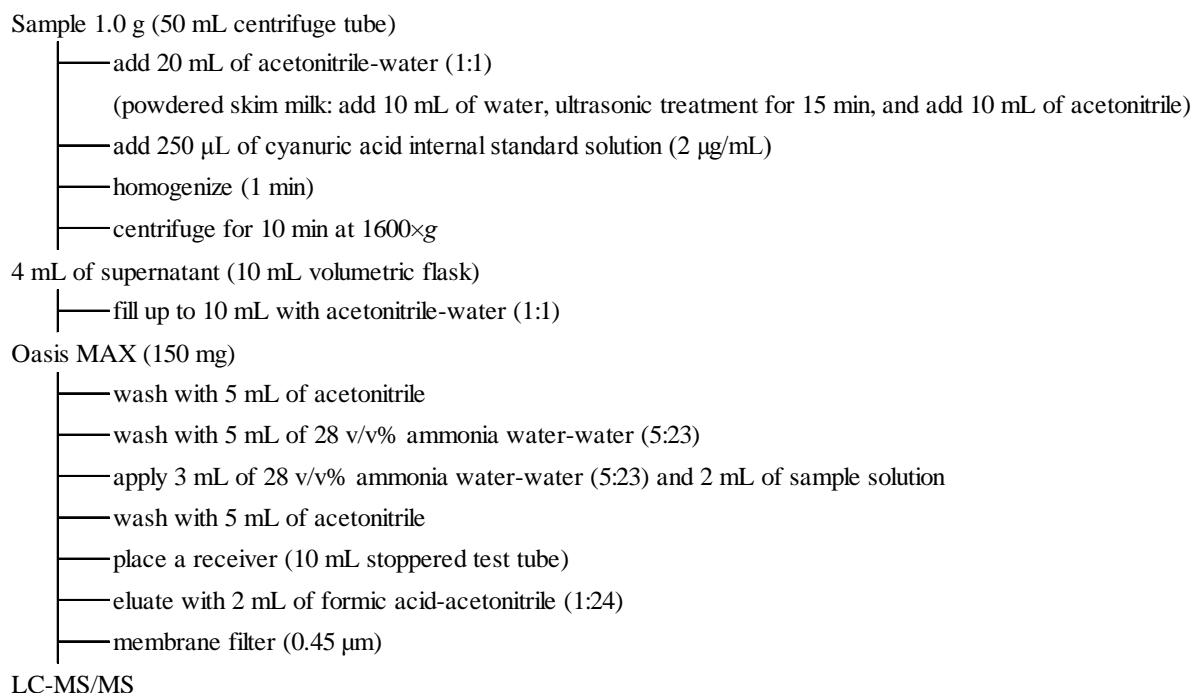
Table 3 MS/MS parameters

Target	Precursor ion ( <i>m/z</i> )	Product ion		Collision energy (eV)
		Quantifier ( <i>m/z</i> )	Qualifier ( <i>m/z</i> )	
Cyanuric acid	128	42	-	17
		-	85	10
Cyanuric acid- <sup>13</sup> C <sub>3</sub>	131	43	-	16
		-	87	11

## 4) 計 算

得られた SRM クロマトグラムからシアヌル酸及びシアヌル酸-<sup>13</sup>C<sub>3</sub> のピーク面積を求めて内標準法により検量線を作成し、試料中のシアヌル酸量を算出した。

なお、定量法の概要を Scheme 1 に示した。



Scheme 1 Analytical procedure for cyanuric acid in feed

## 2.5 妨害物質の検討で用いた定量方法

2.4 に従って得られたピークに妨害ピークが重なっているか確認するため、2.4 の 3)の LC-MS/MS 測定条件のうちカラム及びグラジエントを以下のとおり変更して測定することにより確認を行った。

カラム：TSK gel Amide-80（内径 2.1 mm，長さ 150 mm，粒径 3  $\mu$ m） 東ソー製

溶離液：10 mmol/L 酢酸アンモニウム-アセトニトリル（19+1）（8 min 保持）→ 2 min →  
（2+3）（10 min 保持）→ 2 min →（19+1）（5 min 保持）

## 2.6 添加回収試験

2.2 の 2)のシアヌル酸標準原液を水で正確に希釈し添加に用いた。

配合飼料（成鶏飼育用及びあまご育成用），大豆油かす，魚粉及び脱脂粉乳について，シアヌル酸として，0.5 及び 2.5 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で 10 及び 50 ng/mL）になるようにそれぞれ添加後よく混合し，一夜静置した後に本法に従って添加回収試験を実施し，平均回収率及び繰返し精度を求めた。なお，回収率は各試料のブランク値を差し引いて算出した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 検量線

2.2 の 4)により調製した各検量線作成用シアヌル酸標準液各 5  $\mu$ L を LC-MS/MS に注入し，得られた SRM クロマトグラムからシアヌル酸及びシアヌル酸- $^{13}\text{C}_3$  のピーク面積比を求めて検量線を作成した。

得られた検量線の一例は Fig 2 のとおりであり，シアヌル酸として 2.5~200 ng/mL（注入量と

して 0.0125~1 ng 相当量) の範囲で直線性を示した。

なお、当該検量線の濃度範囲は、シアヌル酸を 0.125~10 mg/kg 含有する分析用試料を本法に従い調製した最終試料溶液中のシアヌル酸濃度範囲に相当する。

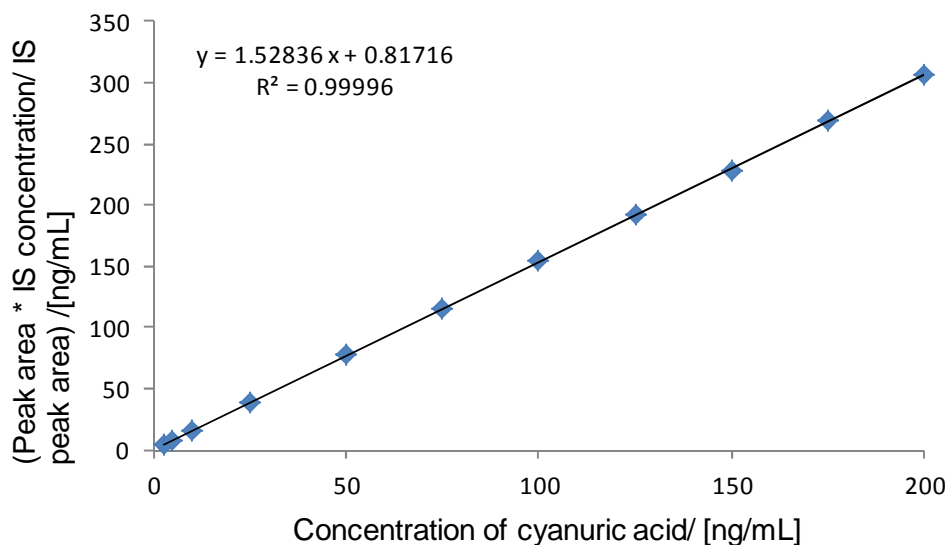


Fig. 2 Internal standard calibration curves of cyanuric acid by peak area

### 3.2 妨害物質の検討

鶏用配合飼料 2 検体 (ブロイラー肥育後期用及び成鶏飼育用), 豚用配合飼料 2 検体 (子豚育成用及び肉豚肥育用), 養魚用配合飼料 2 検体 (あゆ育成用及びあまご育成用), 大豆油かす 2 検体, 魚粉 2 検体, イカミール 2 検体, エビミール 2 検体及び脱脂粉乳 2 検体を用い, 2.4 により調製 (シアヌル酸- $^{13}\text{C}_3$  内標準液の添加は行わなかった.) した試料溶液を LC-MS/MS に注入し, 得られた SRM クロマトグラムを確認した. なお, 得られた SRM クロマトグラムの一例を Fig 3-1 及び Fig 3-2 に示した. その結果, 全てシアヌル酸と同じ保持時間にピークが認められ (0.07~0.28 mg/kg), 定量イオンと確認イオンの比も標準液と同等であった. そこで, 2.5 に従ってカラム及びグラジエント条件を変更して確認を行ったところ, その定量値に大きな違いがなかったことから, シアヌル酸であると判断した. また, その他に定量を妨げるピークは認められなかった.

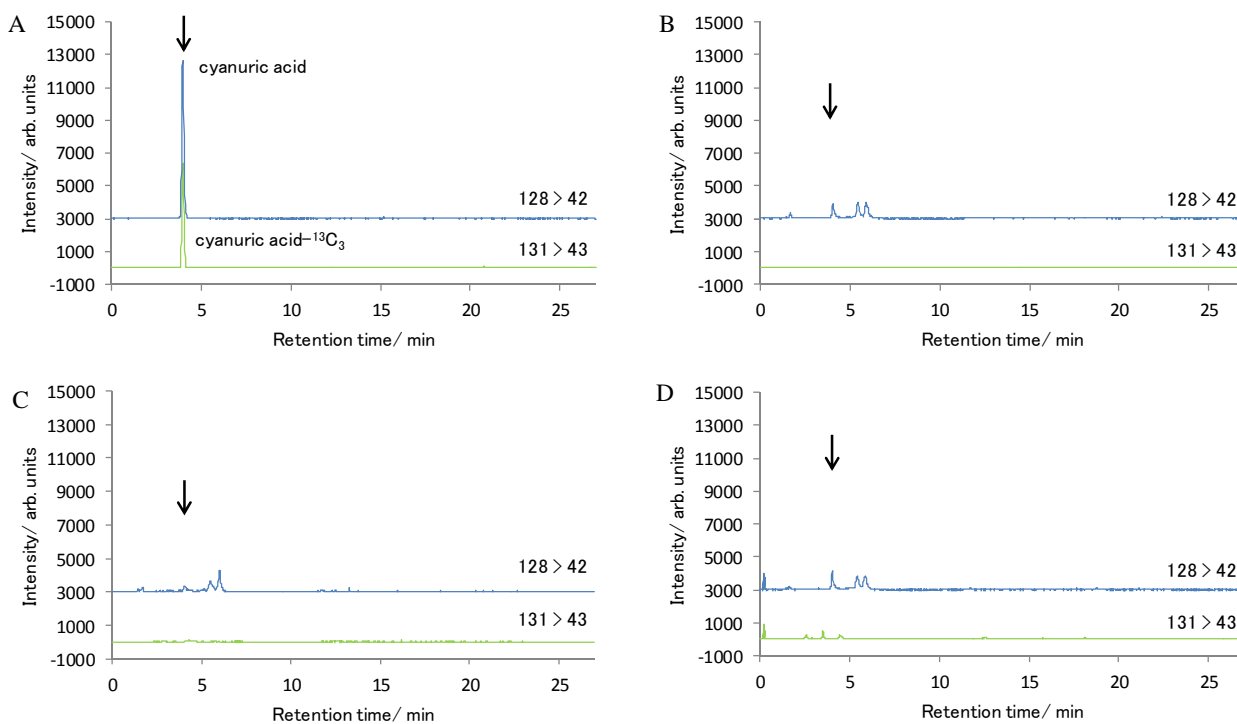


Fig. 3-1 Selected reaction monitoring (SRM) chromatograms of standard and blank sample solutions

(LC-MS/MS conditions are shown in Tables 2 and 3. Arrows indicate the retention times of cyanuric acid.)

A: Standard solution (10 ng/mL: 0.05 ng as cyanuric acid)

B~D: Blank sample solutions (B: formula feed for layer, C: formula feed for pork pig,

D: formula feed for oncorhynchus rhodurus)



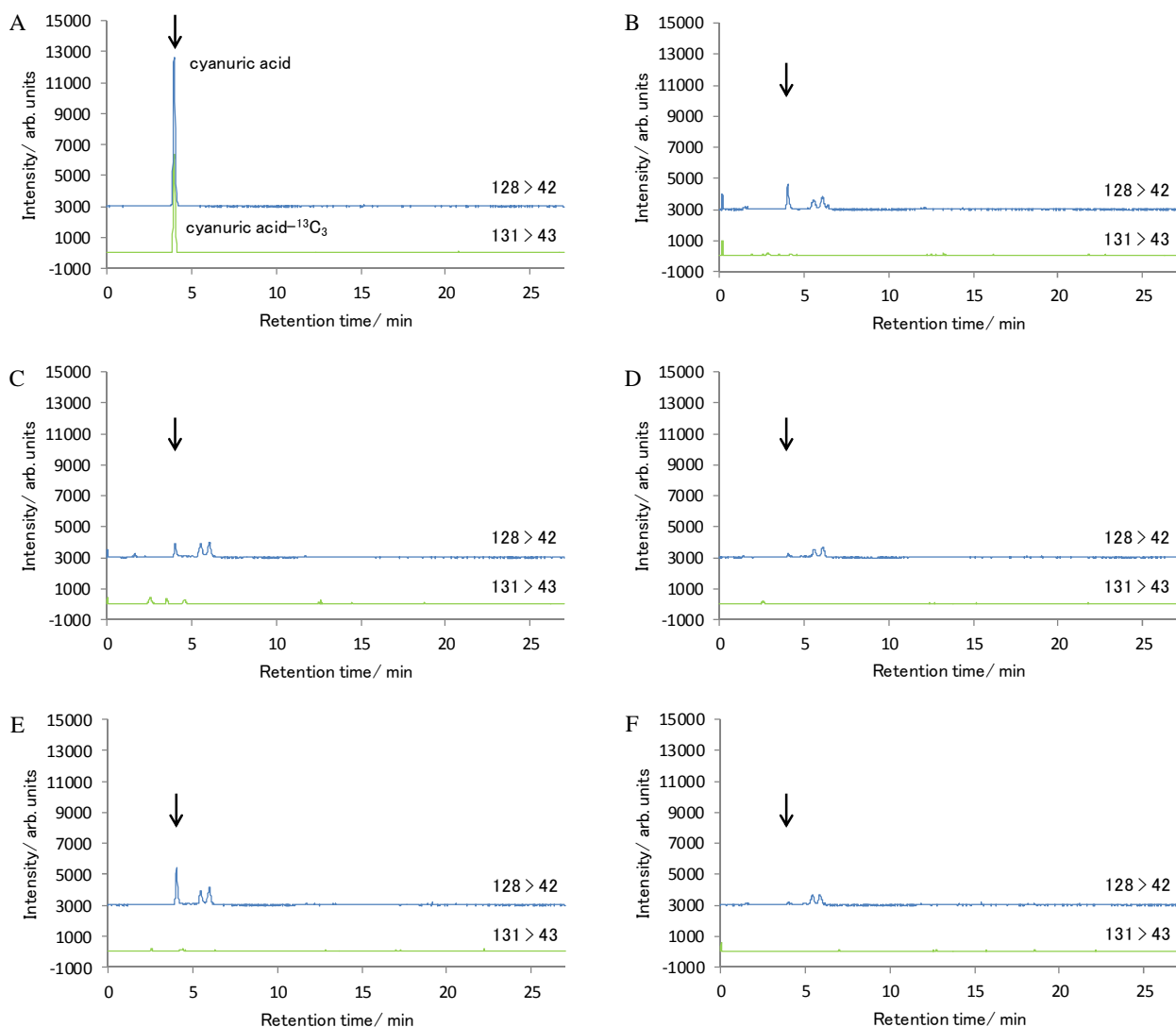


Fig. 3-2 SRM chromatograms of standard and blank sample solutions (LC-MS/MS conditions are shown in Tables 2 and 3. Arrows indicate the retention times of cyanuric acid.)

A: Standard solution (10 ng/mL: 0.05 ng as cyanuric acid)

B~F: Blank sample solutions (B: soybean meal, C: fish meal, D: squid meal, E: shrimp meal, F: powdered skim milk)

### 3.3 添加回収試験

2.6により添加回収試験を実施した。その結果はTable 4のとおり、脱脂粉乳を除く4試料の平均回収率は79.0~111%，その繰返し精度は相対標準偏差（ $RSD_r$ ）として14%以下の成績が得られ、飼料分析基準別表3の妥当性確認法ガイドライン（以下「妥当性確認法ガイドライン」という。）に定められた真度及び併行精度の目標値を満たす良好な結果であった。

脱脂粉乳については、平均回収率は81.0~108%， $RSD_r$ は31%以下の成績が得られ、妥当性確認法ガイドラインに定められた併行精度の目標値に対して超過するものがあつた。また、脱脂粉乳でのシアヌル酸- $^{13}C_3$ 回収率は31%以下と低かつた。これらのことから、脱脂粉乳の繰返し精度及びシアヌル酸- $^{13}C_3$ 回収率を改善するため、分析法の更なる検討が必要であると考えられた。

なお、得られた SRM クロマトグラムの一例を Fig. 4 に示した。

Table 4 Recoveries for cyanuric acid

Spiked level (mg/kg)	Formula feed for layers			Formula feed for oncorhynchus rhodurus		
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery of cyanuric acid- <sup>13</sup> C <sub>3</sub> <sup>a)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery of cyanuric acid- <sup>13</sup> C <sub>3</sub> <sup>a)</sup> (%)
0.5	99.3	4.6	74.0	79.0	5.4	73.0
2.5	95.8	0.9	60.3	95.6	3.1	65.3

Spiked level (mg/kg)	Soybean meal			Fish meal		
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery of cyanuric acid- <sup>13</sup> C <sub>3</sub> <sup>a)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery of cyanuric acid- <sup>13</sup> C <sub>3</sub> <sup>a)</sup> (%)
0.5	103	7.6	75.1	111	14	64.3
2.5	94.8	3.6	63.8	97.7	1.7	65.3

Spiked level (mg/kg)	Powdered skim milk		
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery of cyanuric acid- <sup>13</sup> C <sub>3</sub> <sup>a)</sup> (%)
0.5	81.0	31	30.9
2.5	108	16	22.8

a) Mean ( $n = 5$ )

b) Relative standard deviation of repeatability

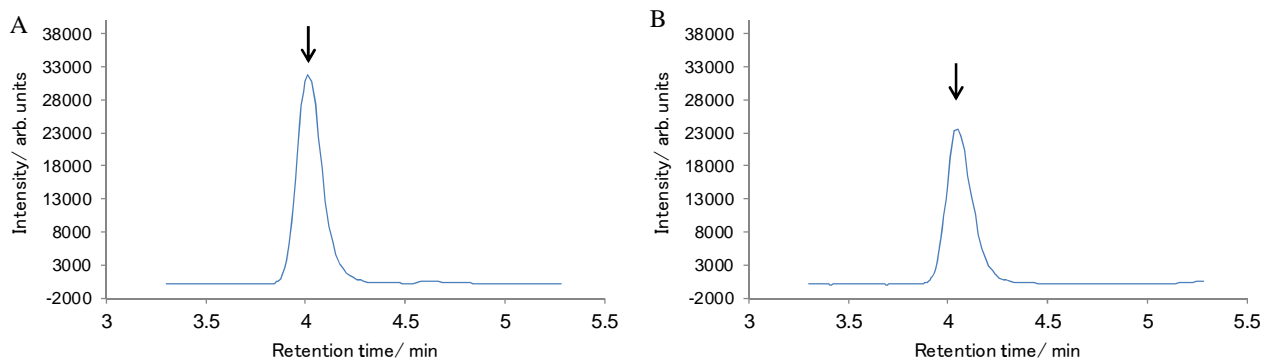


Fig. 4 SRM chromatograms on recovery test

(LC-MS/MS conditions are shown in Tables 2 and 3. Arrows indicate the peaks of cyanuric acid.)

A: Standard solution (50 ng/mL: 0.25 ng as cyanuric acid)

B: Sample solution of fish meal (spiked at 2.5 mg/kg of cyanuric acid (as 50 ng/mL in sample solution))

### 3.4 定量下限及び検出下限の検討

シアヌル酸検量線が直線性を示した範囲 2.5~200 ng/mL の下端付近となる濃度（試料中で 0.5 mg/kg 相当量（最終試料液中濃度 10 ng/mL 相当量））の添加回収試験の結果、得られたピークの SN 比が 10 以上であったため、シアヌル酸の定量下限の濃度は試料中で 0.5 mg/kg とした。

本法の検出下限を確認するため、添加回収試験により得られたピークの SN 比が 3 となる濃度を求めた。その結果、検出下限は試料中で 0.15 mg/kg であった。

なお、Table 4 に示したとおり、当該定量下限濃度における添加回収試験結果は脱脂粉乳を除いて良好であった。

#### 4 まとめ

飼料中に残留するシアヌル酸について、FDA 法を基に、LC-MS/MS を用いた定量法の飼料分析基準への適用の可否について検討したところ、以下の結果が得られた。

- 1) 検量線は 2.5~200 ng/mL (注入量として 0.0125~1 ng 相当量) の範囲で直線性を示した。

なお、当該検量線の濃度範囲は、シアヌル酸を 0.125~10 mg/kg 含有する分析用試料を本法に従い調製した最終試料溶液中のシアヌル酸濃度範囲に相当する。

- 2) 鶏用配合飼料 2 検体 (ブロイラー肥育後期用及び成鶏飼育用)、豚用配合飼料 2 検体 (子豚育成用及び肉豚肥育用)、養魚用配合飼料 2 検体 (あゆ育成用及びあまご育成用)、大豆油かす 2 検体、魚粉 2 検体、イカミール 2 検体、エビミール 2 検体及び脱脂粉乳 2 検体について、本法に従って得られたクロマトグラムを確認したところ、全てシアヌル酸と同じ保持時間にピークが認められたが、定量イオンと確認イオンの比が標準液と同等であったこと、カラム及びグラジェント条件を変更しても定量値に大きな違いが認められなかったことから、当該ピークはシアヌル酸であると判断した。また、その他に定量を妨げるピークは認められなかった。
- 3) 配合飼料 (成鶏飼育用及びあまご育成用)、大豆油かす、魚粉及び脱脂粉乳にシアヌル酸として 0.5 及び 2.5 mg/kg 相当量を添加し、本法に従って 5 点併行分析を実施し、回収率及び繰返し精度を求めたところ、脱脂粉乳以外の試料については、妥当性確認法ガイドラインに定められた真度及び併行精度の目標値を満たす良好な結果が得られた。脱脂粉乳については、併行精度の目標値を満たさない結果となり、シアヌル酸-<sup>13</sup>C<sub>3</sub> の回収率も低い結果であったことから、分析法の更なる検討が必要であると考えられた。
- 4) 本法のシアヌル酸の定量下限は 0.5 mg/kg、検出下限は 0.15 mg/kg であった。

#### 文 献

- 1) E. Braekevelt, B. P.-Y. Lau, S. Feng, C. Ménard and S. A. Tittlemier: Determination of melamine, ammeline, ammelide and cyanuric acid in infant formula purchased in Canada by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Food Addit Contam*, 28,698-704 (2011).
- 2) Sherri Turnipseed, Christine Casey, Cristina Nochetto and David N. Heller: Determination of Melamine and Cyanuric Acid Residues in Infant Formula using LC-MS/MS, *Laboratory Information Bulletin No. 4421*, 24,1-14 (2008), U.S. Food and Drug Administration.
- 3) 農林水産省畜産局長通知：飼料の有害物質の指導基準及び管理基準について、昭和 63 年 10 月 14 日、63 畜 B 第 2050 号 (1988).
- 4) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について、平成 20 年 4 月 1 日、19 消安第 14729 号 (2008).
- 5) Michael Smoker and Alexnder J. Krynitsky: Interim Method for Determination of Melamine and Cyanuric Acid Residues In Foods using LC-MS/MS: Version 1.0, *Laboratory Information Bulletin No. 4422*, 1-26 (2008), U.S. Food and Drug Administration.