

ガミスロマイシン分析法（畜産物）

1. 分析対象化合物

ガミスロマイシン

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

アセトニトリル、メタノール、水	: HPLC 用
その他の試薬	: 特級
ガミスロマイシン	: 分析用標準品
重水素化ガミスロマイシン	: 分析用内標準品
強酸性陽イオン交換樹脂ミニカラム	: Oasis MCX 150 mg/6 cc（Waters 製）

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 豚の筋肉、肝臓、腎臓、心臓および皮膚の場合

試料 2.00 g に 10 µg/mL 重水素化ガミスロマイシン 100 µL を添加し、0.1 mol/L リン酸二水素カリウム溶液（pH 約 4.5）15 mL を加え、約 30 秒間激しく振とうし、さらに 5 分間振とうした後、遠心分離する。残留物に 0.1 mol/L リン酸二水素カリウム溶液（pH 約 4.5）15 mL を加え、上記と同様に振とう抽出し、遠心分離する。得られた溶液を合わせ、*n*-ヘキサン 10 mL を加えて振とうした後、遠心分離し、*n*-ヘキサン層を捨てる。

② 牛の筋肉、肝臓、腎臓、脂肪および小腸の場合

試料 2.00 g に 10 µg/mL 重水素化ガミスロマイシン 100 µL を添加し、0.1 mol/L リン酸二水素カリウム溶液（pH 約 4.5）20 mL を加えてホモジナイズした後、遠心分離する。残留物に 0.1 mol/L リン酸二水素カリウム溶液（pH 約 4.5）10 mL を 2 回加え、振とう抽出し、遠心分離する。得られた溶液を合わせ、遠心分離する。脂肪の場合には、10 mL の *n*-ヘキサンを加え、振とうし、遠心分離し、*n*-ヘキサン層を捨てる。

2) 精製

① 豚の筋肉、肝臓、腎臓、心臓および皮膚の場合

強酸性陽イオン交換樹脂ミニカラムにメタノール及び 0.1 mol/L リン酸二水素カリウム溶液各 2 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに 1) ①で得られた全ての水層溶液を注入した後、水、5%メタノール、アセトニトリル及び水（7:3）混液各 6 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、5%水酸化アンモニア含有

アセトニトリル及びメタノール（7：3）混液 2 mL を注入し、溶出液を 60℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にメタノール 2 mL を加えて溶かす。この溶液から正確に 100 µL を分取し、10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液（pH 約 3.6）、アセトニトリル及びメタノール（3：1：1）混液 100 µL を加えたものを試験溶液とする。

② 牛の筋肉、肝臓、腎臓、脂肪および小腸の場合

強酸性陽イオン交換樹脂ミニカラムにメタノール及び 0.1 mol/L リン酸二水素カリウム溶液各 2 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに 1) ②で得られた溶液を注入した後、水、5%メタノール、アセトニトリル及びメタノール（3：7）混液各 6 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、5%水酸化アンモニア含有アセトニトリル及びメタノール（7：3）混液 4 mL を 2 回注入し、溶出液を 60℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にメタノール 2 mL を加えて溶かす。この溶液を遠心分離したものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ガミスロマイシン標準品及び重水素化ガミスロマイシンをそれぞれメタノールに溶解し、2000 µg/mL の標準溶液及び 100 µg/mL の内標準溶液を調製する。調製した標準溶液をメタノールで希釈して数点の溶液を調製し、重水素化ガミスロマイシン内標準溶液を添加する（ガミスロマイシン濃度 0.03～3 µg/mL、重水素化ガミスロマイシン濃度 0.5 µg/mL）。それぞれ HPLC に注入し、ピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、5. の検量線を用いて含量を定量する。

7. 測定条件

(例)

機器	:	Waters Alliance HT2795 Waters Quattro micro または、 Agilent 1100 System、Shimadzu LC-10AD（スイッチングバルブ） Sciex API 4000
カラム	:	PLRP-S 5 µm、2.1 mm i.d.×150 mm（Agilent 製） L-column2 ODS 5 µm、2.1 mm i.d.×100 mm（化学物質評価研究機構製）など
カラム温度	:	50±5℃
移動相	:	（アイソクラティック溶出） 10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液（pH 約 3.6）、アセトニトリル 及びメタノール（3：1：1）混液
流量	:	0.3 mL/min
注入量	:	装置により 5～40 µL

保持時間の目安 : ガミスロマイシン及び重水素化ガミスロマイシン ; 約 2.5 分
イオン化モード : ESI (positive)
イオン検出法 : MRM 法
モニタリングイオン :

	プリカーサーイオン (<i>m/z</i>)	プロダクトイオン (<i>m/z</i>)
ガミスロマイシン	777.60	619.50
重水素化 ガミスロマイシン	782.58	624.60

8. 定量限界

牛 : 0.01 mg/kg、豚 : 0.05 mg/kg

9. 添加回収を実施した食品

牛、豚

(肝臓、腎臓、心臓、腰部筋肉、皮膚、注射部位中心部と中心周辺組織)

10. 留意事項

特になし

※本分析法は、農産物における作物残留試験等において用いられた残留農薬分析法であり、新たな試験法の開発等の際に参考として下さい。なお、当該分析法をもとに開発した試験法を食品規格への適合判定のために使用する場合には、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について（平成 22 年 12 月 24 日薬食発 1224 第 1 号）」に従って使用する試験法の妥当性を評価する必要があります。