

アバメクチン試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

アベルメクチンB_{1a}

アベルメクチンB_{1b}

8,9-Z-アベルメクチンB_{1a}

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。

アベルメクチン B_{1a} 標準品 本品はアベルメクチン B_{1a} 95%以上を含む。

アベルメクチン B_{1b} 標準品 本品はアベルメクチン B_{1b} 95%以上を含む。

8,9-Z-アベルメクチン B_{1a} 標準品 本品は 8,9-Z-アベルメクチン B_{1a} 95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 筋肉、肝臓及び腎臓の場合

試料 10.0 g 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、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以下で濃縮して、アセトンを除去する。これに 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL を加え、酢酸エチル 50 mL ずつで 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、ろ液を 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 3 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 2 mL を加えて溶かす。

② 脂肪及び乳の場合

試料 5.00 g 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、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 20 mL を分取し、40°C以下で濃縮して、アセトンを除去する。これに 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL を加え、酢酸エチル 50 mL ずつで 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、ろ液を 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 3 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 2 mL を加えて溶かす。

2) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にアセトニトリル 10 mL を注入し、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た後、アセトニトリル 20 mL を注入し、負荷液を含む全溶出液を採り、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリルに溶かし、正確に 1 mL としたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

各標準品をそれぞれアセトニトリルに溶かして標準原液を調製する。各標準原液を適宜混合してアセトニトリル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 0.005 mg/kg に相当する試験溶液中濃度は 0.005 mg/L である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. の検量線でアベルメクチン B_{1a}、アベルメクチン B_{1b} 及び 8,9-Z-アベルメクチン B_{1a} 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 150 mm、粒子径 3 µm

カラム温度：40°C

移動相：5 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・アセトニトリル溶液の混液 (1 : 9) で 1 分間保持した後、(1 : 19) までの濃度勾配を 7 分間で行い、(1 : 19) で 2 分間保持する。

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (*m/z*)

アベルメクチン B_{1a}：プリカーサーイオン 891、プロダクトイオン 567、305、145

アベルメクチン B_{1b}：プリカーサーイオン 877、プロダクトイオン 553、291、145

8,9-Z-アベルメクチン B_{1a}：プリカーサーイオン 891、プロダクトイオン 567、305、145

注入量：5 µL

保持時間の目安

アベルメクチン B_{1a}：5 分

アベルメクチン B_{1b}：4 分

8,9-Z-アベルメクチン B_{1a}：6 分

10. 定量限界

各化合物 0.005 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

アベルメクチン B_{1a}、アベルメクチン B_{1b} 及び 8,9-Z-アベルメクチン B_{1a} を試料からアセトンで抽出し、酢酸エチルに転溶する。アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂し、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/MS で定量及び確認する方法である。アベルメクチン B_{1a}、アベルメクチン B_{1b} 及び 8,9-Z-アベルメクチン B_{1a} のそれぞれについて定量を行い、これらの含量の和を分析値とする。

2) 注意点

- ① 市販の標準品には、それぞれ互いの分析対象化合物を含有している場合があることから、混合標準溶液を調製する場合には単一物質として精製された標準品を用いること。
- ② アベルメクチン B_{1a}、アベルメクチン B_{1b} 及び 8,9-Z-アベルメクチン B_{1a} 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。

アベルメクチン B_{1a}

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 891、プロダクトイオン 567

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 891、プロダクトイオン 305

アベルメクチン B_{1b}

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 877、プロダクトイオン 553

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 877、プロダクトイオン 291

8,9-Z アベルメクチン B_{1a}

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 891、プロダクトイオン 567

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 891、プロダクトイオン 305

- 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

12. 参考文献

なし

13. 類型

C