

## ビコザマイシン試験法（畜水産物）

### 1. 分析対象化合物

ビコザマイシン

### 2. 適用食品

畜水産物

### 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。

トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲル/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム（500 mg/500 mg） 内径 12~13 mm のポリエチレン製のカラム管に、上層にトリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルを、下層にエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルを各 500 mg 充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

ビコザマイシン標準品 本品はビコザマイシン 95%以上を含む。

### 5. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

試料 10.0 g に *n*-ヘキサン 50 mL を加え、ホモジナイズした後、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 50 mL を加え、さらにホモジナイズした後、毎分 3,000 回転で 10 分間遠心分離し、アセトニトリル層を採る。残留物及び *n*-ヘキサン層に *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離し、得られたアセトニトリル層を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とする。この溶液から正確に 1 mL を分取して 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン（4 : 1）混液 5 mL を加えて溶かす。

#### 2) 精製

トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲル/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム（500 mg/500 mg）にアセトン 10 mL、アセトン及び *n*-ヘキサン（4 : 1）混液 10 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、アセトン及び *n*-ヘキサン（4 : 1）混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン及び水（19 : 1）混液 15 mL を注入し、溶出液を 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及び水（9 : 1）混液に溶かし、正確に 5 mL としたものを試験溶液とする。

### 6. 検量線の作成

ビコザマイシン標準品のアセトニトリル及び水（9 : 1）混液の溶液を数点調製し、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の濃度は 0.0002 mg/L である。

## 7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. の検量線でビコザマイシンの含量を求める。

## 8. 確認試験

LC-MS/MS により確認する。

## 9. 測定条件

(例)

カラム：スルホベタイン基結合型シリカゲル 内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3.5  $\mu$ m

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び 0.1 vol%ギ酸の混液 (9 : 1) から (1 : 1) までの濃度勾配を 10 分間で行い、10 分間保持する。

イオン化モード：ESI (－)

主なイオン ( $m/z$ )：プリカーサーイオン 301、プロダクトイオン 209、184

注入量：10  $\mu$ L

保持時間の目安：5 分

## 10. 定量限界

0.01 mg/kg

## 11. 留意事項

### 1) 試験法の概要

ビコザマイシンを試料から *n*-ヘキサン存在下アセトニトリルで抽出し、トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲル/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製し、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。

### 2) 注意点

① ビコザマイシンの 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 301、プロダクトイオン 184

定性イオン ( $m/z$ )：プリカーサーイオン 301、プロダクトイオン 209

② 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、ブリ

## 12. 参考文献

なし

### 13. 類型

C