

ラサロシド試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

ラサロシドA

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。

ギ酸・メタノール試液 ギ酸5 mLに水及びメタノール（1：99）混液を加えて1,000 mLとする。

ラサロシドAナトリウム標準品 本品はラサロシドAナトリウム95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 gにメタノール100 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分3,000回転で5分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にメタノール50 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、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせ、メタノールを加えて正確に200 mLとする。この溶液から正確に2 mLを分取する。

2) 精製

① トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）にメタノール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、メタノール10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、ギ酸・メタノール試液10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に水及びメタノール（9：1）混液5 mLを加えて溶かす。

② ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体カラムクロマトグラフィー

ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（500 mg）にメタノール及び水各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、水10 mL、水及びメタノール（1：1）混液10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、メタノール20 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を水及びメタノール（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

ラサロシドAナトリウム標準品の水及びメタノール(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(ラサロシドAとして)に相当する試験溶液中の濃度は0.0002 mg/L(ラサロシドAとして)である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6.の検量線でラサロシドA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・メタノール溶液の混液
(9:1)から(1:99)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589、プロダクトイオン235、121

注入量：10 µL

保持時間の目安：14分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

ラサロシドAを試料からメタノールで抽出し、トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体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 ラサロシドA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589、プロダクトイオン235

定性イオン(m/z)：プリカーサーイオン589、プロダクトイオン121

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、牛乳、鶏卵

12. 参考文献

なし

13. 類型

C