

スピネトラム試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

スピネトラム-J
スピネトラム-L

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。

シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg） 内径8～9 mmのポリエチレン製のカラム管に、シクロヘキシルシリル化シリカゲル500 mg を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。

スピネトラム-J標準品 本品はスピネトラム-J 95%以上を含む。

スピネトラム-L標準品 本品はスピネトラム-L 90%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 gに1 vol%ギ酸2 mL及びアセトン100 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50 mLを加えてホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に2 mLを分取し、*n*-ヘキサン20 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル40 mLずつで3回振とう抽出する。抽出液を合わせ40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に水10 mLを加えて溶かす。

2) 精製

シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）に、アセトニトリル及び水各5 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、アセトニトリル10 mLを注入し、流出液を捨てる。次いでアセトニトリル及びアンモニア水（49：1）混液10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水（1：1）混液に溶かし、正確に2.5 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

スピネトラム-J標準品及びスピネトラム-L標準品をそれぞれアセトン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及び水（1：1）混液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、5. 試験溶液の調製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濃度は0.0004 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でスピネトラム-J及びスピネトラム-L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2.0 mm、長さ150 mm、粒子径5 µm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液（17：3）混液

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）

スピネトラム-J：プリカーサーイオン 749、プロダクトイオン 142、98

スピネトラム-L：プリカーサーイオン 761、プロダクトイオン 142、98

注入量：10 µL

保持時間の目安

スピネトラム-J：12分

スピネトラム-L：14分

10. 定量限界

スピネトラム-J：0.01 mg/kg

スピネトラム-L：0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

スピネトラム-J及びスピネトラム-Lを試料からギ酸酸性下でアセトン抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂する。シクロヘキ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。なお、スピネトラムは、スピネトラム-J及びスピネトラム-Lのそれぞれについて定量を行い、両者の含量の和を分析値とする。

2) 注意点

① スピネトラム-L標準品については、試験法開発時に入手可能であった標準品の純度

規格が90%以上であったため、4. では「スピネトラム-L標準品 本品はスピネトラム-L 90%以上を含む。」とされたが、入手可能な場合には純度95%以上の標準品を試験に用いるのが望ましい。

- ② スピネトラム-J及びスピネトラム-Lの水への溶解度はそれぞれ10.0 mg/L (20℃) 及び31.9 mg/L (20℃) であるため、溶媒留去後の水への再溶解操作では超音波洗浄機等を使用する。
- ③ スピネトラム-J及びスピネトラム-L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。
スピネトラム-J
定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 749、プロダクトイオン 142
定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 749、プロダクトイオン 98
スピネトラム-L
定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 761、プロダクトイオン 142
定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 761、プロダクトイオン 98
- ④ 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉・脂肪・肝臓、牛の乳及び鶏の卵

12. 参考文献

「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法の一部改正について」(平成27年12月22日付け生食発1222第4号の別添「スピネトラム試験法(農産物)」)

13. 類型

C