

※本報告書は、試験法開発における検討結果をまとめたものであり、試験法の実施に際して参考として下さい。なお、報告書の内容と通知または告示試験法との間に齟齬がある場合には、通知または告示試験法が優先することをご留意ください。

## 食品に残留する農薬等の成分である物質 (スピネトラム)の試験法開発事業報告書

## スピネトラム（畜産物）試験法の検討結果

### [緒言]

#### 1. 目的及び試験法の検討方針

スピネトラムは、米国ダウ・アグロサイエンス社がスピノシン誘導体の一連の探索研究から開発したマクロライド系殺虫剤である。「薬事食品衛生審議会 食品衛生分科会報告書」に記載されている規制対象物質及び残留基準値案を踏まえ、試験法の開発を行った。

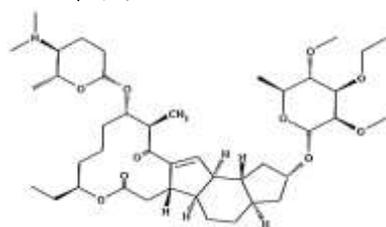
#### 1) 規制対象物質

スピネトラム-J及びスピネトラム-L

#### 2. 分析対象化合物の構造式、物理化学的性質及び基準値等に関する情報

##### 1) 構造式及び物理化学的性質

スピネトラム-J



スピネトラム-J

化学式：C<sub>42</sub>H<sub>69</sub>NO<sub>10</sub>

分子量：748.02

化学名 (IUPAC) : (2*R*,3*aR*,5*aR*,5*bS*,9*S*,13*S*,14*R*,16*aS*,16*bR*)-2-(6-deoxy-3-*O*-ethyl-2,4-di-*O*-methyl- $\alpha$ -L-mannopyranosyloxy)-13-[(2*R*,5*S*,6*R*)-5-(dimethylamino)tetrahydro-6-methylpyran-2-yloxy]-9-ethyl-2,3,3*a*,4,5,5*a*,5*b*,6,9,10,11,12,13,14,16*a*,16*b*-hexadecahydro-14-methyl-1*H*-as-indaceno[3,2-*d*]oxacyclododecine-7,15-dione

外 観：白色粉末

融 点：143.4℃

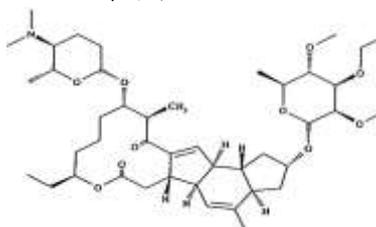
蒸気圧：5.3×10<sup>-5</sup> Pa (20℃)

溶解性：水 10.0 mg/L (20℃)

アセトン、キシレン、酢酸エチル>250 g/L

メタノール163 g/L

スピネトラム-L



スピネトラム-L

化学式：C<sub>43</sub>H<sub>69</sub>NO<sub>10</sub>

分子量：760.03

化学名 (IUPAC) : (2*R*,3*aR*,5*aS*,5*bS*,9*S*,13*S*,14*R*,16*aS*,16*bS*)-2-(6-deoxy-3-*O*-ethyl-2,4-di-*O*-methyl- $\alpha$ -L-mannopyranosyloxy)-13-[(2*R*,5*S*,6*R*)-5-(dimethylamino)tetrahydro-6-methylpyran-2-yloxy]-9-ethyl-2,3,3*a*,5*a*,5*b*,6,9,10,11,12,13,14,16*a*,16*b*-tetradecahydro-4,14-dimethyl-1*H*-as-indaceno[3,2-*d*]oxacyclododecine-7,15-dione

外 観：白～黄色結晶

融 点：70.8℃

蒸気圧：2.1×10<sup>-5</sup> Pa (20℃)

溶解性：水 31.9 mg/L (20℃)

アセトン、キシレン、酢酸エチル、メタノール>250 g/L

(出典：農薬抄録、農薬評価書)

## 2) 基準値

- 牛、豚、その他の陸棲哺乳類に属する動物、鶏及びその他の家きんの筋肉 0.01 ppm  
牛、豚及びその他の陸棲哺乳類に属する動物の脂肪 0.2 ppm  
鶏及びその他の家きんの脂肪 0.01 ppm  
牛、豚、その他の陸棲哺乳類に属する動物、鶏及びその他の家きんの肝臓 0.01 ppm  
牛、豚、その他の陸棲哺乳類に属する動物、鶏及びその他の家きんの腎臓 0.01 ppm  
牛、豚、その他の陸棲哺乳類に属する動物、鶏及びその他の家きんの食用部分 0.01 ppm  
乳 0.01 ppm  
鶏及びその他の家きんの卵 0.01 ppm

### [実験方法]

#### 1. 試料

##### 1) 購入先

都内のスーパーにて購入した。

##### 2) 試料の採取方法

- ①牛の筋肉は可能な限り脂肪層を除き、細切均一化した。
- ②牛の脂肪は可能な限り筋肉部を除き、細切均一化した。
- ③牛の肝臓は、全体を細切均一化した。
- ④乳は全体をよく混合して均一化した。
- ⑤鶏の卵は、殻を除き卵白と卵黄を合わせてよく混合し均一化した。

#### 2. 試薬・試液

##### 1) 標準品

- スピネトラム-J標準品：純度98.5%（林純薬工業製）  
スピネトラム-L標準品：純度98%（林純薬工業製）

##### 2) 試薬

- アセトニトリル、アセトン及び*n*-ヘキサン：残留農薬試験用（関東化学製）  
アセトニトリル：高速液体クロマトグラフ用（関東化学製）  
ギ酸、酢酸アンモニウム：試薬特級（関東化学製）  
アンモニア水（28%）：試薬特級（小宗化学薬品製）  
ケイソウ土：セライト545（関東化学製）  
シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム：InertSep Slim-J CH（充てん量500 mg、ジーエルサイエンス製）

##### 3) 標準溶液、試液の調製方法

###### ①標準溶液の調製方法

標準原液：スピネトラム-J及びスピネトラム-L標準品各10 mgを精秤し、アセトンで溶解して各200 mg/L溶液を調製した。

検量線用混合標準溶液：スピネトラム-J標準原液及びスピネトラム-L標準原液をアセトニトリル及び水（1：1）混液で希釈し、0.0002～0.012 mg/Lの濃度の混合標準溶液を調製した。

添加用混合標準溶液：スピネトラム-J標準原液及びスピネトラム-L標準原液をアセトンで希釈して0.2、及び4 mg/Lの濃度の混合標準溶液を調製した。

## ②試液の調製方法

### 1 vol%ギ酸溶液

ギ酸2 mLに水を加えて混合し、200 mLとした。

### n-ヘキサン飽和アセトニトリル

n-ヘキサン200 mL及びアセトニトリル1000 mLを混合し、5分間振とうした後アセトニトリル層を採った。

アセトニトリル及びアンモニア水 (49 : 1) 混液

アセトニトリル98 mL及びアンモニア水2 mLを混合した。

アセトニトリル及び水 (1 : 1) 混液

アセトニトリル100 mL及び水100 mLを混合した。

### 1 mol/L酢酸アンモニウム溶液

酢酸アンモニウム15.43 gを水に溶解し200 mLとした。

### 2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液

1 mol/L酢酸アンモニウム溶液2 mLに水を加えて1000 mLとした。

## 3. 装置

ホモジナイザー：ウルトラタラックスT-25ベーシック（イカ・ジャパン製）

ロータリーエバポレーター：R-200（柴田科学製）等

## LC-MS/MS

	型式	会社
MS 装置	API-3200Q トラップ	AB SCIEX
LC 装置	Agilent1200	Agilent Technologies
データ処理	Analyst	AB SCIEX

## 4. 測定条件

LC 条件	
カラム	Mightysil RP-18 GP 内径 2.0 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μm：関東化学製
移動相流速 (mL/min)	0.2
注入量 (μL)	10
カラム温度 (°C)	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の混液 (17 : 3)
MS 条件	
測定モード	MS/MS、SRM（選択反応モニタリング）
イオン化モード	ESI（+）
キャピラリー電圧 (V)	5500
脱溶媒温度 (°C)	700
脱溶媒ガス	窒素 70 psi
コリジョンガス	窒素
定量イオン (m/z)	スピネトラム-J：749→142[コーン電圧：71 (V)] スピネトラム-L：761→142[コーン電圧：56 (V)] スピネトラム-J 及びスピネトラム-L[コリジョンエネルギー：43 (eV)]
定性イオン (m/z)	スピネトラム-J +749→98[コーン電圧：71 (V)、コリジョンエネルギー：91 (eV)] スピネトラム-L +749→98[コーン電圧：56 (V)、コリジョンエネルギー：95 (eV)]
保持時間 (min)	スピネトラム-J：12.5、スピネトラム-L：14.7

## 5. 定量

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解し、200 mg/Lの標準原液を調製した。この溶液をアセトニトリル及び水（1：1）混液で希釈し、0.0002、0.0003、0.0004、0.0005、0.0006、0.002、0.004、0.006、0.008、0.01及び0.012 mg/Lの濃度の混合標準溶液を調製した。混合標準溶液10 µLをLC-MS/MSに注入し、得られたピーク面積から絶対検量線法で検量線を作成した。試験溶液10 µLをLC-MS/MSに注入し、得られたピーク面積と作成した検量線からスピネトラム-J及びスピネトラム-Lの量を算出した。

## 6. 添加試料の調製

2. 3) で調製した添加用混合標準溶液を使用した。

牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、乳及び鶏の卵（添加濃度：0.01 ppm相当）：試料10.0 gに添加用混合標準溶液0.2 mg/Lを0.5 mL添加しよく混合した後、30分間放置した。

牛の脂肪（添加濃度：0.2 ppm相当）：試料10.0 gに添加用混合標準溶液4 mg/Lを0.5 mL添加しよく混合した後、30分間放置した。

## 7. 試験溶液の調製

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/ヘキサン分配を行った後、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、LC-MS/MSで定量及び確認した。

### 1) 抽出

試料10.0 gを200 mL遠心管に量り採り、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、ケイソウ土を厚さ約1 cmに敷いたろ紙（直径60 mm、No. 4、桐山製作所製）を用いて吸引ろ過し、200 mL容メスフラスコに採取した。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、上記と同様にろ過した。得られたろ液を合わせて、アセトンで正確に200 mLとした。この溶液から正確に2 mLを分取し100 mL分液漏斗に採り、*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で3回振とう抽出した。抽出液を200 mLなす形フラスコに合わせ、ロータリーエバポレーターを用いて40°C以下で約1 mLに濃縮し、更に窒素を吹き付けて溶媒を除去した。この残留物を水10 mLに溶解した。

### 2) 精製

シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム [InertSep Slim-J CH (500 mg)] にアセトニトリル及び水各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てた。シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラムに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、流出液は捨てた。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50 mL容遠心管に採り、ロータリーエバポレーターを用いて40°C以下で約1 mLに濃縮し、更に窒素を吹き付けて溶媒を除去した。この残留物をアセトニトリル及び水（1：1）混液に溶解し、正確に2.5 mLとしたものを試験溶液とした。

[分析法フローチャート]

秤 取

↓ 試料10.0 g

アセトン抽出

- | 1 vol%ギ酸2 mL及びアセトン100 mLを加え、ホモジナイズ
  - | 吸引ろ過
  - | 残留物にアセトン50 mLを加え、ホモジナイズ
  - | 吸引ろ過
  - | ろ液を合わせて、アセトンで正確に200 mLとする
- ↓ 抽出液2 mL分取

アセトニトリル/ヘキサン分配

- | *n*-ヘキサン20 mL
  - | *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル40 mLを加え、5分間振とう
  - | アセトニトリル層を採る
  - | *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル40 mLを加え、5分間振とう
  - | アセトニトリル層を採り合わせる
  - | *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル40 mLを加え、5分間振とう
- ↓ 飽和アセトニトリル層を採り合わせる

濃縮 (溶媒除去)

↓ 残留物を水10 mLに溶解

シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) 精製

- | アセトニトリル及び水各5 mLでコンディショニング
  - | 全量注入
  - | アセトニトリル10 mLで洗浄
- ↓ アセトニトリル及びアンモニア水 (49 : 1) 混液10 mLで溶出

濃縮 (溶媒除去)

↓ 残留物をアセトニトリル及び水 (1 : 1) 2.5 mLに溶解

LC-MS/MS定量

10 µL注入

8. マトリックス添加標準溶液の調製

牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、乳及び鶏の卵はブランク試験溶液から0.5 mL分取し溶媒を除去した後、0.0004 mg/Lの検量線用混合標準溶液0.5 mLに溶解したものを、添加濃度0.01 ppm相当のマトリックス添加標準溶液とした。

牛の脂肪はブランク試験溶液から0.5 mL分取し溶媒を除去した後、0.008 mg/Lの検量線用混合標準溶液0.5 mLに溶解したものを、添加濃度0.2 ppm相当のマトリックス添加標準溶液とした。

[結果及び考察]

1. 測定条件の検討

1) MS条件の検討

MS条件についてはスピネトラム試験法（農産物）と同様の条件を採用した。

スピネトラム-J及びスピネトラム-LはESI (+) モードでの測定が可能であった。スピネトラム-J及びスピネトラム-LのESI (+) モード測定時のマススペクトルを図1及び2に示した。その結果から、基準ピークとしてスピネトラム-J は749、スピネトラム-L は761が得られたので、スピネトラム-Jはプロトン付加分子( $m/z$  749 [M+H]<sup>+</sup>)をプリカーサーイオンとし、スピネトラム-Lはプロトン付加分子( $m/z$  761 [M+H]<sup>+</sup>)をプリカーサーイオンとした。スピネトラム-J では $m/z$  749、スピネトラム-L では $m/z$  761をプリカーサーイオンとした場合のプロダクトイオンスペクトルを図3及び4に示した。スピネトラム-J の $m/z$  749をプリカーサーイオンとした場合、プロダクトイオン $m/z$  142及び $m/z$  98が検出され、スピネトラム-L の $m/z$  761をプリカーサーイオンとした場合、プロダクトイオン $m/z$  142及び $m/z$  98が検出された。

以上のことからスピネトラム-JはESI (+) モードでの $m/z$  749→142を定量イオンとし、スピネトラム-LはESI (+) モードでの $m/z$  761→142を定量イオンとした。また、スピネトラム-JはESI (+) モードでの $m/z$  749→98を定性イオンとし、スピネトラム-LはESI (+) モードでの $m/z$  761→98を定性イオンとした。

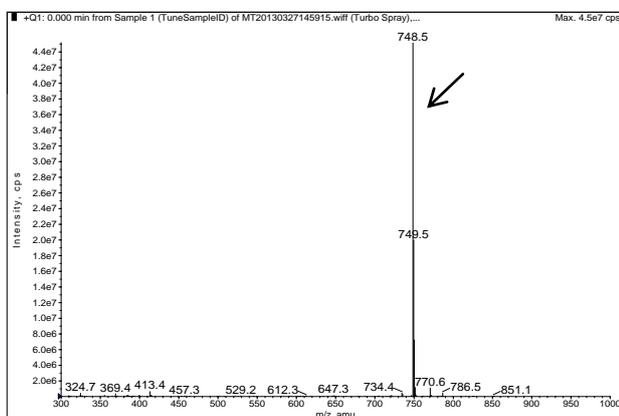


図1 スピネトラム-Jのマススペクトル  
スキャン範囲：300～1000  $m/z$   
測定条件：ESI (+)、CV=71  
(CV：コーン電圧)

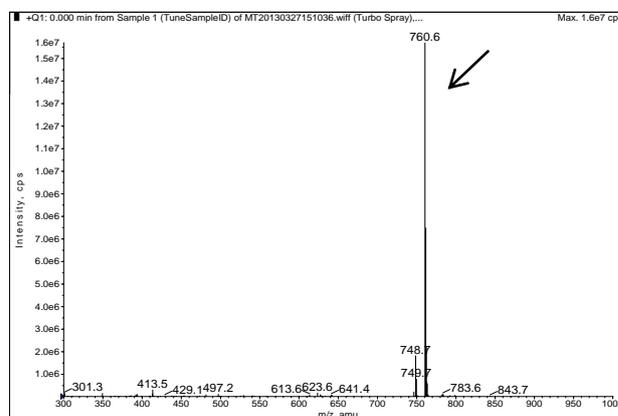


図2 スピネトラム-Lのマススペクトル  
スキャン範囲：300～1000  $m/z$   
測定条件：ESI (+)、CV=56  
(CV：コーン電圧)

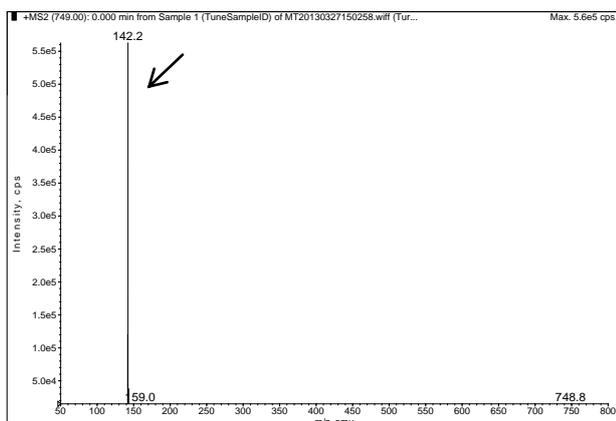


図3-1 スピネトラム-Jのプロダクトイオンスペクトル  
プリカーサーイオン： $m/z$  749  
スキャン範囲：50～800  $m/z$   
測定条件：ESI (+)、CV=71、CE=43  
(CV：コーン電圧、CE：コリジョンエネルギー)

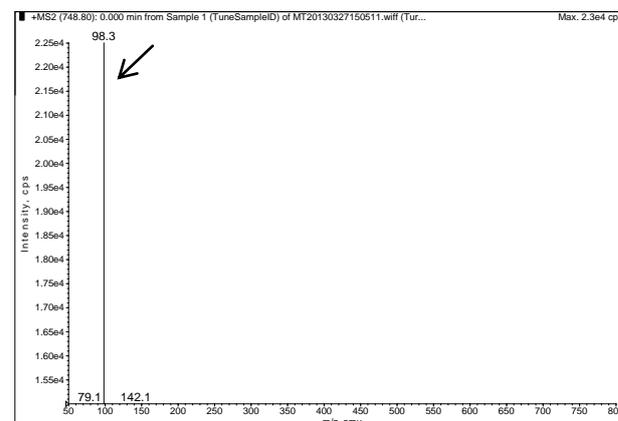


図3-2 スピネトラム-Lのプロダクトイオンスペクトル  
プリカーサーイオン： $m/z$  749  
スキャン範囲：50～800  $m/z$   
測定条件：ESI (+)、CV=71、CE=91  
(CV：コーン電圧、CE：コリジョンエネルギー)

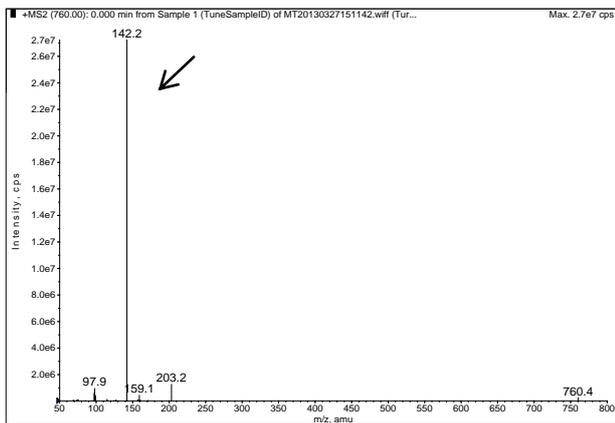


図 4-1 スピネトラム-Lのプロダクトイオンスペクトル  
 プリカーサーイオン： $m/z$  761  
 スキャン範囲：50～800  $m/z$   
 測定条件：ESI (+)、CV=56、CE=43  
 (CV：コーン電圧、CE：コリジョンエネルギー)

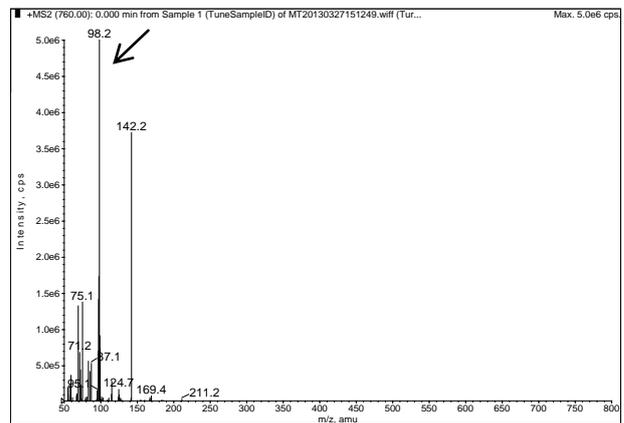


図 4-2 スピネトラム-Lのプロダクトイオンスペクトル  
 プリカーサーイオン： $m/z$  761  
 スキャン範囲：50～800  $m/z$   
 測定条件：ESI (+)、CV=56、CE=95  
 (CV：コーン電圧、CE：コリジョンエネルギー)

## 2) LC条件の検討

LC条件についてもスピネトラム試験法（農産物）と同様の条件を採用した。

分離カラムは、Mightysil RP-18 GP（内径2.0 mm、長さ150 mm、粒子径5  $\mu\text{m}$ ）を、移動相条件についてはアセトニトリル及び2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液の混液（17：3）を用いた。

## 3) 検量線

図5にスピネトラム-J及びスピネトラム-Lの検量線の例を示した。0.0002 mg/L (0.002 ng) ～0.0006 mg/L (0.006 ng) 及び0.002 mg/L (0.02 ng) ～0.012 mg/L (0.12 ng) の濃度範囲で作成した検量線の決定係数は0.997以上であり良好な直線性を示した。

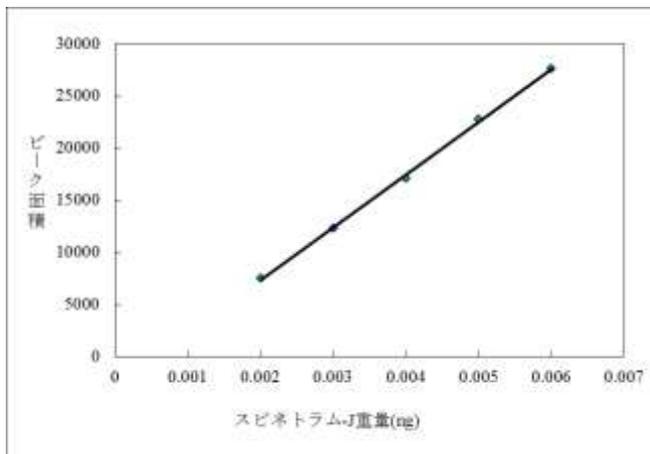


図 5-1 スピネトラム-J 検量線例 ( $m/z$  748→142)

データ処理装置設定条件の一例  
 データ処理ソフトウェア（メーカー）：Analyst  
 （AB SCIEX製）  
 ピークの定量方法：ピーク面積法  
 検量線の種類：最小二乗法  
 検量線基準ピークの重量：0.002 ng～0.006 ng  
 $y=5060000x-2790$   
 $R^2=0.9990$

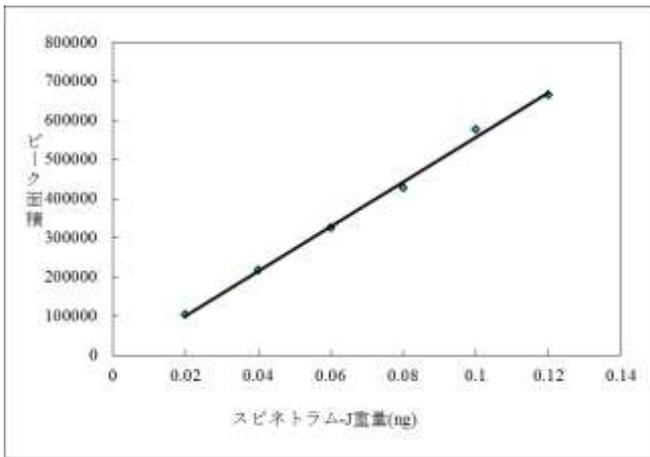


図 5-2 スピネトラム-J 検量線例 ( $m/z$  748→142)

データ処理装置設定条件の一例  
 データ処理ソフトウェア (メーカー) : Analyst  
 (AB SCIEX製)  
 ピークの定量方法: ピーク面積法  
 検量線の種類: 最小二乗法  
 検量線基準ピークの重量: 0.02 ng~0.12 ng  
 $y=5700000x-13100$   
 $R^2=0.9972$

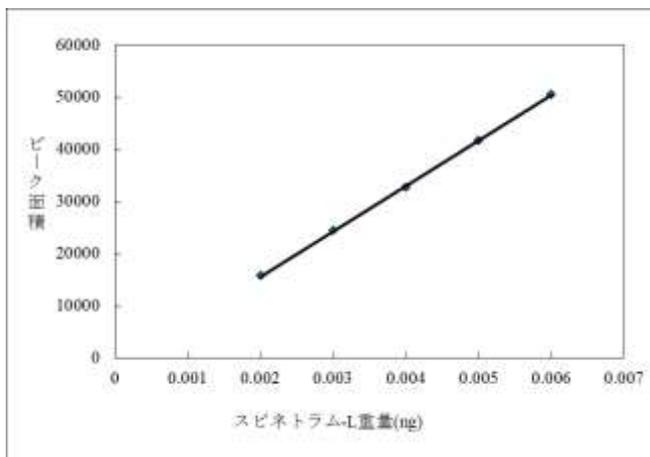


図 5-3 スピネトラム-L 検量線例 ( $m/z$  760→142)

データ処理装置設定条件の一例  
 データ処理ソフトウェア (メーカー) : Analyst  
 (AB SCIEX製)  
 ピークの定量方法: ピーク面積法  
 検量線の種類: 最小二乗法  
 検量線基準ピークの重量: 0.002 ng~0.006 ng  
 $y=8690000x-1830$   
 $R^2=0.9998$

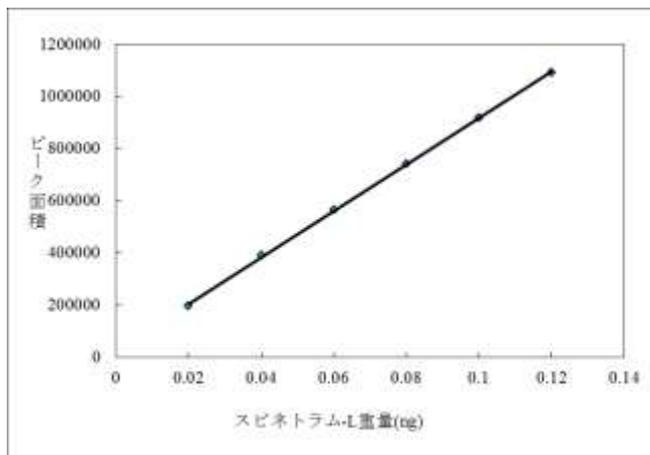


図 5-4 スピネトラム-L 検量線例 ( $m/z$  760→142)

データ処理装置設定条件の一例  
 データ処理ソフトウェア (メーカー) : Analyst  
 (AB SCIEX製)  
 ピークの定量方法: ピーク面積法  
 検量線の種類: 最小二乗法  
 検量線基準ピークの重量: 0.02 ng~0.12 ng  
 $y=8910000x+26900$   
 $R^2=0.9998$

#### 4) 定量限界

定量限界の算出結果を以下に示した。

$$0.01 \text{ mg/kg} [(2.5 \text{ mL}/0.1 \text{ g}^*) \times (0.004 \text{ ng}/10 \text{ }\mu\text{L})]$$

$$* 10.0 \text{ g} \times 2 \text{ mL}/200 \text{ mL}$$

#### 2. 試験溶液調製法の検討

##### 1) 抽出方法の検討

スピネトラム-J及びスピネトラム-Lの溶解性を考慮し、抽出溶媒としてアセトンを選択した。スピネトラム試験法(農産物)においては玄米等でアセトンのみの抽出では添加回収試験の結果が低回収となり、抽出時にギ酸を加えて抽出しているが、今回対象となる畜産物5種(牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、乳及び鶏の卵)を用いてギ酸を加えず添加回収試験を実施したところ良好な回収率が得られた。添加回収試験の結果を表1に示した。

なお、鶏の卵については抽出時にpHを確認したところ、9.2程度であり若干塩基性ではあったが、回収率に問題はないことから(玄米では6.1程度)、農産物試験法開発時に玄米等で見られた低回収の原因は、特定のサンプル種への吸着であると考えられた。吸着の原因は特定できず、畜産物においても対象となる試料の適用拡大等が、今後あった場合に同様の現象がないとは言いきれないため、農産物と同様にギ酸酸性下で抽出を行うこととした。

表1 ギ酸を加えず抽出した添加回収試験結果 (%)

	牛の筋肉	牛の脂肪	牛の肝臓	鶏卵	乳
スピネトラム-J	99	90	88	94	102
スピネトラム-L	97	86	95	85	101

添加量：各0.1  $\mu\text{g}$

##### 2) 転溶操作の検討

###### ①n-ヘキサン転溶について

n-ヘキサン転溶について検討した。スピネトラム-J及びスピネトラム-L各0.1  $\mu\text{g}$ を10 w/v%塩化ナトリウム溶液100 mLに添加し、n-ヘキサンで3回振とう抽出を行った結果を表2に示した。スピネトラム-J及びスピネトラム-Lはn-ヘキサンでは十分に抽出することができなかった。

表2 n-ヘキサンへの転溶率 (%)

	100 mL	50 mL	50 mL	合計
	(1回目)	(2回目)	(3回目)	
スピネトラム-J	31	25	0	56
スピネトラム-L	26	21	0	47

添加量：各0.1  $\mu\text{g}$

②酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液転溶について

酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液転溶について検討した。スピネトラム-J及びスピネトラム-L各0.1 µgを10 w/v%塩化ナトリウム溶液100 mLに添加し、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液で3回振とう抽出を行った結果を表3に示した。スピネトラム-J及びスピネトラム-Lは酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液では1回の抽出でほぼ100%抽出することができた。

表3 酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液への転溶率（%）

	100 mL	50 mL	50 mL	合計
	(1回目)	(2回目)	(3回目)	
スピネトラム-J	94	0	0	94
スピネトラム-L	91	0	0	91

添加量：各0.1 µg

上記の結果より、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液での転溶操作が可能であったが、スピネトラム-J及びスピネトラム-Lは高感度で測定が可能であり、転溶操作を省略することが可能であったため、転溶操作は行わない方法とした。

3) 脱脂操作の検討

脱脂方法としてアセトニトリル/ヘキサン分配について検討した。転溶操作を省略し、抽出液を分取し、分配操作を行うことを考慮し、スピネトラム-J及びスピネトラム-L各0.1 µgをアセトン2 mL及び*n*-ヘキサン30 mLに1 vol%ギ酸20 µLを加えた溶液に添加し、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLで3回振とう抽出を行った結果を表4に示した。スピネトラム-J及びスピネトラム-Lはいずれも3回の抽出では抽出しきれず、*n*-ヘキサン層に2%残存してしまう結果となった。

表4 アセトニトリル/ヘキサン分配の検討①（%）

	アセトン 2 mL	<i>n</i> -ヘキサン飽和アセトニトリル			合計
	+ <i>n</i> -ヘキサン 30 mL	30 mL	30 mL	30 mL	
		(1回目)	(2回目)	(3回目)	
スピネトラム-J	2	71	17	5	95
スピネトラム-L	2	66	19	5	92

添加量：各 0.1 µg

次に*n*-ヘキサンと*n*-ヘキサン飽和アセトニトリルの比率を変えて検討した。スピネトラム-J及びスピネトラム-L各0.1 µgをアセトン2 mL及び*n*-ヘキサン20 mLに1 vol%ギ酸20 µLを加えた溶液に添加し、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル40 mLで3回振とう抽出を行った結果を表5に示した。スピネトラム-J及びスピネトラム-Lは2回の抽出でほぼ100%抽出された。

表5 アセトニトリル/ヘキサン分配の検討②（%）

	アセトン 2 mL	<i>n</i> -ヘキサン飽和アセトニトリル			合計
	+ <i>n</i> -ヘキサン 20 mL	40 mL	40 mL	40 mL	
		(1回目)	(2回目)	(3回目)	
スピネトラム-J	0	86	13	0	99
スピネトラム-L	0	85	13	tr	98

添加量：各0.1 µg

標準品レベルでの操作では $n$ -ヘキサン飽和アセトニトリル40 mL2回の抽出でほぼ100%抽出が行えていたが、2回目の抽出時に10%以上抽出されていたため、試料共存下での分配率について検討した。牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、乳及び鶏の卵をギ酸酸性下アセトン抽出した抽出液を分取し、スピネトラム-J及びスピネトラム-L各0.1  $\mu\text{g}$ を添加し、 $n$ -ヘキサン20 mL及び $n$ -ヘキサン飽和アセトニトリル40 mLで3回振とう抽出を行った結果を表6に示した。スピネトラム-J及びスピネトラム-Lは3回目の抽出にも1~3%抽出されていたため、分配操作は $n$ -ヘキサン20 mLから $n$ -ヘキサン飽和アセトニトリル40 mLで3回抽出することとした。

表6 試料共存下でのアセトニトリル/ヘキサン分配の検討 (%)

		抽出液 2 mL + $n$ -ヘキサン 20 mL	$n$ -ヘキサン飽和アセトニトリル			合計
			40 mL (1回目)	40 mL (2回目)	40 mL (3回目)	
牛の筋肉	スピネトラム-J	0	95	11	2	108
	スピネトラム-L	0	100	12	1	113
牛の脂肪	スピネトラム-J	0	81	13	2	96
	スピネトラム-L	0	82	14	3	99
牛の肝臓	スピネトラム-J	0	85	11	2	98
	スピネトラム-L	0	96	13	2	111
乳	スピネトラム-J	0	92	12	2	106
	スピネトラム-L	0	93	13	2	108
鶏の卵	スピネトラム-J	0	91	12	2	105
	スピネトラム-L	0	90	14	2	106

添加量：各0.1  $\mu\text{g}$

#### 4) 精製方法の検討

##### ①シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラムによる精製について

スピネトラム試験法（農産物）で用いられているシクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラムを用いた精製を検討した。アセトニトリル及び水各5 mLで予備洗浄した後、スピネトラム-J及びスピネトラム-L各0.1  $\mu\text{g}$ を添加し水10 mLで負荷し、アセトニトリル10 mLで洗浄した後、アセトニトリル及びアンモニア水（49：1）混液で溶出したときの溶出状況を表7に示した。スピネトラム-J及びスピネトラム-Lは水10 mL及びアセトニトリル10 mLでは溶出されず、アセトニトリル及びアンモニア水（49：1）混液10 mLで溶出された。

表7 シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラムからの溶出率 (%)

	水	アセトニトリル	アセトニトリル及びアンモニア (49：1)		
	10 mL	10 mL	0-10 mL	10-15 mL	
スピネトラム-J	0	0	99	0	99
スピネトラム-L	0	0	99	0	99

InertSep Slim-J CH（充てん量500 mg、ジーエルサイエンス製）

添加量：各0.1  $\mu\text{g}$

②合成ケイ酸マグネシウムミニカラムによる精製について

精製カラムとして汎用されている合成ケイ酸マグネシウムミニカラムを用いた精製を検討した。*n*-ヘキサン及びアセトン (19 : 1) 混液5 mLで予備洗浄した後、スピネトラム-J及びスピネトラム-L各0.1 µgを添加し、*n*-ヘキサン及びアセトン (19 : 1) 混液10 mLで負荷、*n*-ヘキサン及びアセトン (7 : 3) 混液で溶出したときの溶出状況を表8に示した。スピネトラム-J及びスピネトラム-Lは*n*-ヘキサン及びアセトン (19 : 1) 混液10 mLでは溶出されず、*n*-ヘキサン及びアセトン (7 : 3) 混液15 mLで溶出された。

表8 合成ケイ酸マグネシウムミニカラムからの溶出率 (%)

	<i>n</i> -ヘキサン及びアセトン混液				合計
	(19 : 1)	(7 : 3)			
	10 mL	0-10 mL	10-15 mL	15-20 mL	
スピネトラム-J	0	87	3	0	90
スピネトラム-L	0	86	3	0	89

Sep-pak plus Florisil (充てん量910 mg、Waters製)

添加量 : 各0.1 µg

③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による精製

スピネトラムと同じマクロライド系殺虫剤であるスピノサドの畜水産物試験法に用いられており、脂肪酸等の除去効果が高いとされ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での精製を検討した。アセトン及び*n*-ヘキサン (1 : 1) 混液10 mLで予備洗浄した後、スピネトラム-J及びスピネトラム-L各0.1 µgを添加し、アセトン及び*n*-ヘキサン (1 : 1) 混液で溶出したときの溶出状況を表9に示した。スピネトラム-J及びスピネトラム-Lはアセトン及び*n*-ヘキサン (1 : 1) 15 mLで溶出された。

表9 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からの溶出率 (%)

	アセトン及び <i>n</i> -ヘキサン (1 : 1) 混液			
	0-10 mL (負荷)	10-15 mL	15-20 mL	
スピネトラム-J	73	18	0	91
スピネトラム-L	69	18	0	87

InertSep SAX/PSA (充てん量500 mg/500 mg、ジールサイエンス製)

添加量 : 各0.1 µg

スピネトラム-J及びスピネトラム-Lはシクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム、合成ケイ酸マグネシウムミニカラム及び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による精製が可能であったが、合成ケイ酸マグネシウムミニカラムで精製を行った場合、牛の筋肉等の試料では前に注入した試験溶液の影響でイオン化が抑制され低回収となる事象が確認される場合があるため、測定時間に注意することが必要であった。また、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による精製では牛の筋肉及び牛の脂肪において回収率が70%未満となったため、不採用とした。シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラムでの精製で十分に測定が可能であったため、精製カラムは農産物と同様にシクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラムを採用した。

### 3. 添加回収試験

牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、乳及び鶏の卵の5食品を用いて、〔実験方法〕7. 試験溶液の調製に従って添加回収試験を実施した。

添加回収試験における回収率100%相当の溶媒標準溶液、各食品のブランク試料及び添加試料の代表的なクロマトグラムを図6及び7に示した。また、各食品のブランク試料のスキャン測定による代表的なトータルイオンクロマトグラムを図8に示した。

#### 1) 選択性

選択性の結果を表10に示した。検討した何れの試料においてもスピネトラム-J及びスピネトラム-Lの定量を妨害するようなピークは認められず、選択性は良好であった。

表10 選択性の評価

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 [検出限界] (mg/kg)	基準値 (ppm)	妨害ピークの許容範囲の評価			ピーク面積(高さ) <sup>*1</sup>						選択性の 評価 <sup>*3</sup>	備 考		
					評価濃度 (ppm)	評価基準	面積又は 高さの別	ブランク			マトリックス添加標準溶液 <sup>*2</sup>					面積(高さ) 比 (a)/(b)	
								n=1	n=2	平均 (a)	n=1	n=2	平均 (b)				
1	スピネトラム-J	牛の筋肉	0.01	0.01	定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0			#DIV/0!	#DIV/0!	○	
		牛の脂肪	0.01	0.2	基準値	0.2	< 0.100	面積	0	0	0			#DIV/0!	#DIV/0!	○	
		牛の肝臓	0.01	0.01	定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0			#DIV/0!	#DIV/0!	○	
		乳	0.01	0.01	定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0			#DIV/0!	#DIV/0!	○	
		鶏の卵	0.01	0.01	定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0			#DIV/0!	#DIV/0!	○	
2	スピネトラム-L	牛の筋肉	0.01	0.01	定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0			#DIV/0!	#DIV/0!	○	
		牛の脂肪	0.01	0.2	基準値	0.2	< 0.100	面積	0	0	0			#DIV/0!	#DIV/0!	○	
		牛の肝臓	0.01	0.01	定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0			#DIV/0!	#DIV/0!	○	
		乳	0.01	0.01	定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0			#DIV/0!	#DIV/0!	○	
		鶏の卵	0.01	0.01	定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0			#DIV/0!	#DIV/0!	○	

\*1 ブランク試料、標準溶液の順に注入して測定した結果から評価する。(必要に応じて起爆注入を行う。)

\*2 試料中の濃度が「評価濃度」相当になるように、ブランク試料の試験溶液で調製した標準溶液(マトリックス添加標準溶液)を用いる。ブランク試料に妨害ピークが観察されなかった場合には、標準溶液のピーク面積(高さ)は求めなくても良い。

\*3 面積(高さ)比が、妨害ピークの許容範囲の評価基準に適合する場合には「○」、適合しない場合には「×」を記載する。

#### 2) 真度、精度及び定量限界

真度及び併行精度の検討結果を表11に示した。スピネトラム-Jの真度は87.3~96.2%、併行精度は4.6~13.6%であり、目標値を十分に満たした。スピネトラム-Lの真度は82.6~103.7%、併行精度は4.3~10.4%であり、目標値を十分に満たした。スピネトラム-JのS/N比の平均値は128.0~257.2、スピネトラム-LのS/N比の平均値は128.8~215.8でありでありS/N $\geq$ 10を十分に満たした。

表11 真度、精度及び定量限界の評価

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 [検出限界] (mg/kg)	基準値 (ppm)	添加濃度 (ppm)	定量限界 の評価 <sup>*1</sup>	検量線					回収率(%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	S/N <sup>2</sup>			備 考
							傾き	切片	r <sup>2</sup> 値	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	Max.	Min.			平均値			
																				n=1	n=2	
1	スピネトラム-J	牛の筋肉	0.01	0.01	0.01	S/N	5060000	-2790	0.9990	92.9	81.9	100.0	102.1	92.2	93.8	8.5	192.4	139.0	165.7			
		牛の脂肪	0.01	0.2	0.01	S/N	2980000	-501	0.9978	88.0	99.9	76.4	98.0	74.2	87.3	13.6	163.3	92.6	128.0			
		牛の肝臓	0.01	0.2	0.2	-	5700000	-13100	0.9972	95.2	88.2	100.6	90.6	104.3	95.8	7.0	-	-	#DIV/0!			
		乳	0.01	0.01	0.01	S/N	5060000	-2790	0.9990	84.6	92.1	83.6	81.9	84.8	85.4	4.6	183.7	174.3	179.0			
		鶏の卵	0.01	0.01	0.01	S/N	5720000	-1140	0.9934	99.7	91.3	101.8	95.9	92.4	96.2	4.7	310.8	203.5	257.2			
2	スピネトラム-L	牛の筋肉	0.01	0.01	0.01	S/N	5720000	-1140	0.9934	103.4	104.9	97.4	92.4	80.3	95.7	10.4	305.8	195.1	250.5			
		牛の脂肪	0.01	0.01	0.01	S/N	11300000	-3870	0.9980	104.2	84.6	105.7	106.6	97.2	99.7	9.2	200.8	168.3	184.6			
		牛の肝臓	0.01	0.2	0.01	S/N	8690000	-1830	0.9998	80.8	91.3	76.0	91.8	73.1	82.6	10.4	164.5	93.0	128.8			
		乳	0.01	0.2	0.2	-	8910000	26900	0.9998	95.2	88.5	101.2	94.6	105.5	97.0	6.7	-	-	#DIV/0!			
		鶏の卵	0.01	0.01	0.01	S/N	11300000	-3870	0.9980	87.9	93.8	94.1	85.1	90.4	90.3	4.3	224.5	207.0	215.8			
		牛の脂肪	0.01	0.01	0.01	S/N	8410000	8.71	0.9978	101.4	90.2	102.4	90.7	101.2	97.2	6.3	192.0	168.3	180.2			
		乳	0.01	0.01	0.01	S/N	8410000	8.71	0.9978	101.4	90.2	102.4	90.7	101.2	97.2	6.3	192.0	168.3	180.2			
		鶏の卵	0.01	0.01	0.01	S/N	8410000	8.71	0.9978	107.5	109.4	104.7	104.2	92.6	103.7	6.3	210.8	176.4	193.6			

\*1 S/Nを求める必要がある場合には「S/N」と表示される。

\*2 得られた回収率の中で最大値を与えるピーク(Max.)及び最小値を与えるピーク(Min.)のそれぞれのS/Nを求める。

### 3) 試料マトリックスの測定への影響

試料マトリックスの測定への影響について検討した結果を表12に示した。添加回収試験における回収率100%相当濃度になるように調製したマトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積比を求めた。スピネトラム-Jの面積比は0.90~1.01、スピネトラム-Lの面積比は0.96~1.04であり、測定への影響はないものと考えられた。

添加回収試験における真度を表12で求めたピーク面積比で除して補正真度を求め、表13に示した。補正真度はスピネトラム-J 88.0~100.2%、スピネトラム-L 86.0~108.0%であり、試料マトリックスの測定への影響と真度との間に矛盾は見られなかった。

表12 試料マトリックスの測定への影響

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 [検出限界] (mg/kg)	基準値 (ppm)	添加濃度 (ppm)	標準溶液 濃度 <sup>*1</sup> (mg/L)	面積又は 高さの別	ブランク <sup>*3</sup>	ピーク面積(高さ) <sup>*2</sup>						備考	
									マトリックス添加標準溶液 <sup>*4</sup>			溶媒標準溶液				
									n=1	n=2	平均	n=1	n=2	平均		
1	スピネトラム-J	牛の筋肉	0.01	0.01	0.01	0.0004	面積	0	21910	22670	22290	21610	22580	22095	1.01	
		牛の脂肪	0.01	0.2	0.01	0.0004	面積	0	14180	13620	13900	15120	15630	15375	0.90	
		牛の脂肪	0.01	0.2	0.2	0.008	面積	0	244600	237500	241050	248900	247200	248050	0.97	
		牛の肝臓	0.01	0.01	0.01	0.0004	面積	0	21920	22790	22355	23330	22740	23035	0.97	
		乳	0.01	0.01	0.01	0.0004	面積	0	11660	11870	11765	12580	11950	12265	0.96	
		鶏の卵	0.01	0.01	0.01	0.0004	面積	0	11040	11850	11445	11460	11540	11500	1.00	
2	スピネトラム-L	牛の筋肉	0.01	0.01	0.01	0.0004	面積	0	48590	48150	48370	45090	47800	46445	1.04	
		牛の脂肪	0.01	0.2	0.01	0.0004	面積	0	35210	34830	35020	36780	36400	36590	0.96	
		牛の脂肪	0.01	0.2	0.2	0.008	面積	0	659000	647300	653150	670900	681800	676350	0.97	
		牛の肝臓	0.01	0.01	0.01	0.0004	面積	0	45260	46160	45710	46480	46170	46325	0.99	
		乳	0.01	0.01	0.01	0.0004	面積	0	29860	29430	29645	28710	29790	29250	1.01	
		鶏の卵	0.01	0.01	0.01	0.0004	面積	0	29120	27840	28480	30330	29230	29780	0.96	

\*1 添加回収試験における回収率100%相当濃度になるように、ブランク試料の試験溶液で調製した標準溶液(マトリックス添加標準溶液)及び溶媒で調製した標準溶液(溶媒標準溶液)を作成する。

\*2 マトリックス添加標準溶液及び溶媒標準溶液の順に交互に2回以上測定した結果から評価する。(必要に応じて起爆注入を行う。)

\*3 ブランクにピークが認められた場合には、マトリックス添加標準溶液の値はブランク値を差し引いた値を用いる。

\*4 マトリックス添加標準溶液は試験当日のブランク試料の試験溶液を用いて調製する。

\*5 マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積(又は高さ)の比を求めめる。

表13 補正真度

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (ppm)	基準値 <sup>*1</sup> (ppm)	添加濃度 (ppm)	真度 (%)	ピーク面積 比 (%)	補正真度 (%)	備考
1	スピネトラム-J	牛の筋肉	0.01	0.01	0.01	93.8	1.01	92.9	
		牛の脂肪	0.01	0.2	0.01	87.3	0.90	97.0	
		牛の脂肪	0.01	0.2	0.2	95.8	0.97	98.8	
		牛の肝臓	0.01	0.01	0.01	85.4	0.97	88.0	
		乳	0.01	0.01	0.01	96.2	0.96	100.2	
		鶏の卵	0.01	0.01	0.01	95.7	1.00	95.7	
2	スピネトラム-L	牛の筋肉	0.01	0.01	0.01	99.7	1.04	95.9	
		牛の脂肪	0.01	0.2	0.01	82.6	0.96	86.0	
		牛の脂肪	0.01	0.2	0.2	97.0	0.97	100.0	
		牛の肝臓	0.01	0.01	0.01	90.3	0.99	91.2	
		乳	0.01	0.01	0.01	97.2	1.01	96.2	
		鶏の卵	0.01	0.01	0.01	103.7	0.96	108.0	

\*1 基準値は、基準値未設定の場合には一律基準(0.01 ppm)を用いる。

### 4. 考察

抽出は農産物試験法と同様にギ酸酸性下アセトン抽出を行った。脱脂操作として、アセトニトリル/ヘキサン分配を検討したところ、通常のn-ヘキサンとn-ヘキサン飽和アセトニトリルの比率(1:1)では十分に分配操作が行えなかったが、比率を(1:2)に変更することで、良好な結果が得られた。精製カラムについては、シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム、合成ケイ酸マグネシウムミニカラム及び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について検討したところ、シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラムのみでの精製で良好な結果が得られた。

開発した方法を用いて、牛の筋肉等5食品の添加回収試験を行った結果、選択性は良好で何れの試料においても妨害ピークは認められず、スピネトラム-Jの真度は87.3～96.2%、併行精度は4.6～13.6%、スピネトラム-Lの真度は82.6～103.7%、併行精度は4.3～10.4%の良好な結果が得られたことから、本試験法は、陸棲哺乳類に属する動物の筋肉、脂肪及び肝臓並びに鶏の卵等の畜水産物に適応可能であると考えられた。

#### [結論]

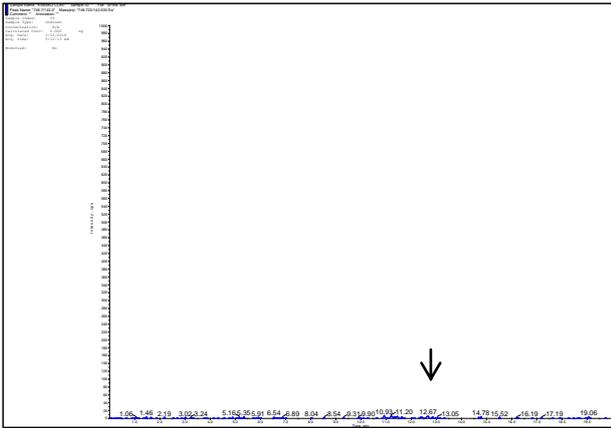
畜水産物中のスピネトラムの試験法として、スピネトラム-J及びスピネトラム-Lを試料からギ酸酸性下アセトンで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配を行った後シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、LC-MS/MSで定量及び確認する方法を開発した。

開発した試験法を牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、乳及び鶏の卵に適用した結果、選択性は良好で何れの試料においても妨害ピークは認められず、スピネトラム-Jの真度は87.3～96.2%、スピネトラム-Lの真度は82.6～103.7%、定量限界は0.01 mg/kgが可能であることが確認できた。

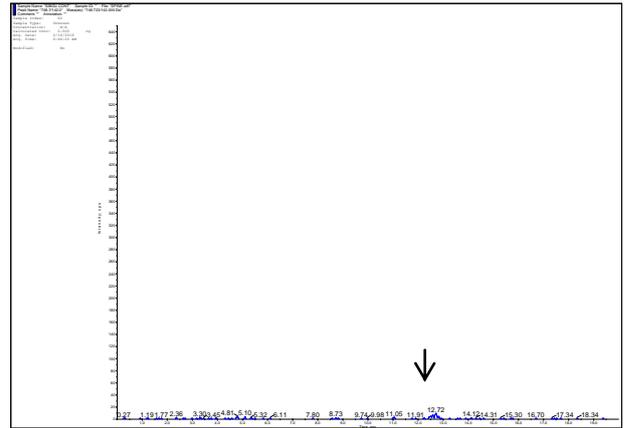
#### [参考文献]

- 1) 厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部長 生食発1222第4号「スピネトラム試験法（農産物）」（平成27年12月22日）
- 2) スピネトラム農薬抄録（平成21年1月30日）

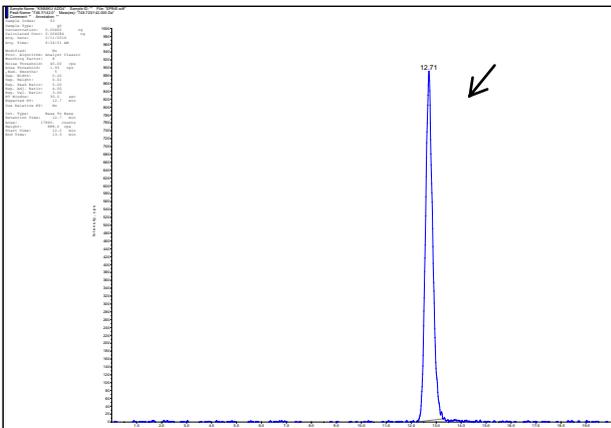
スピネトラム-Jの添加回収試験におけるクロマトグラム  
 ブランク



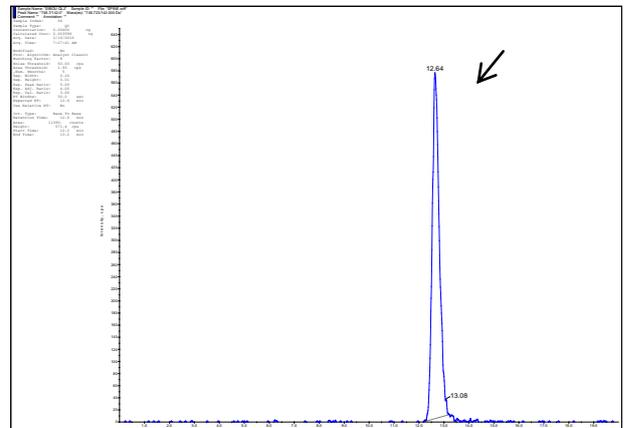
ブランク



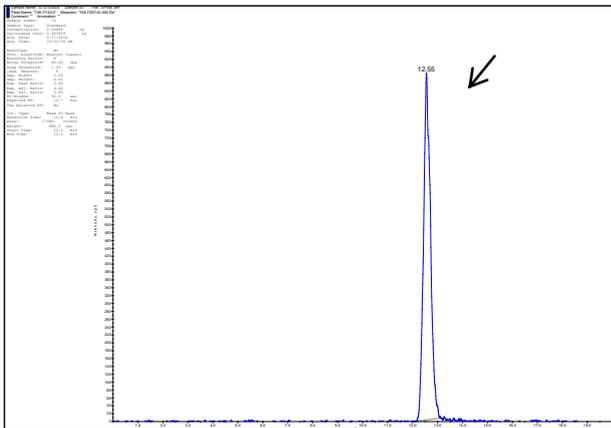
添加試料



添加試料



標準溶液



標準溶液

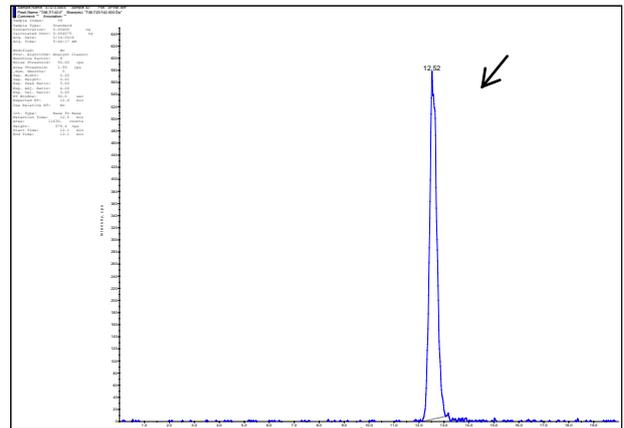
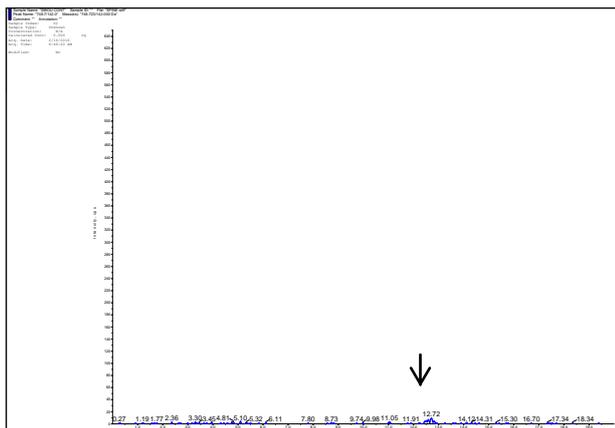


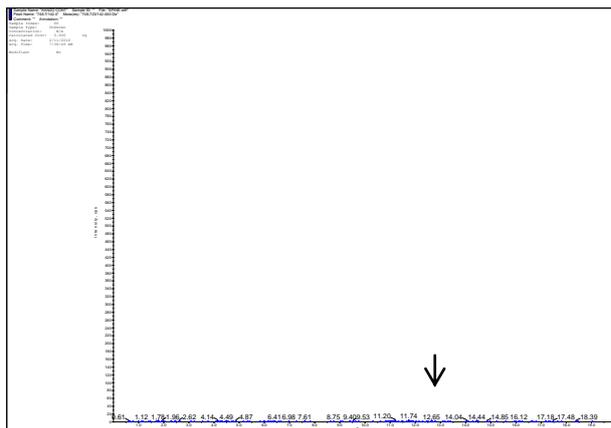
図 6-1 牛の筋肉の SRM クロマトグラム  
 スピネトラム-J ( $m/z$  +748→142)  
 添加濃度 : 0.01 ppm

図 6-2 牛の脂肪の SRM クロマトグラム  
 スピネトラム-J ( $m/z$  +748→142)  
 添加濃度 : 0.01 ppm

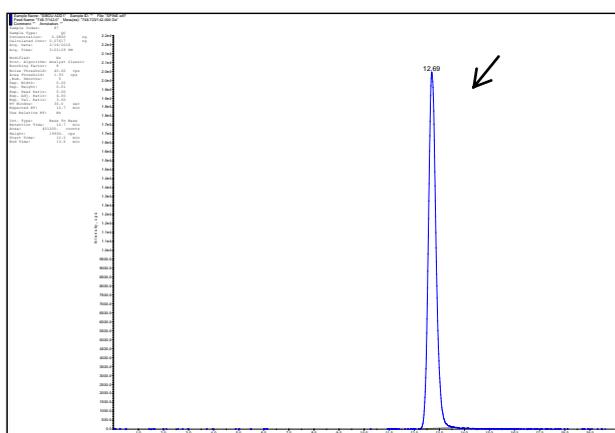
ブランク



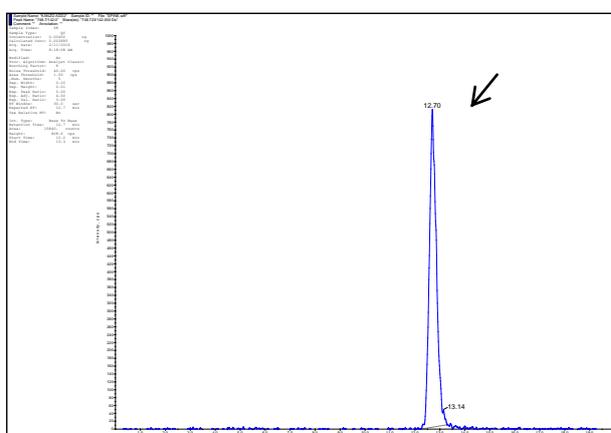
ブランク



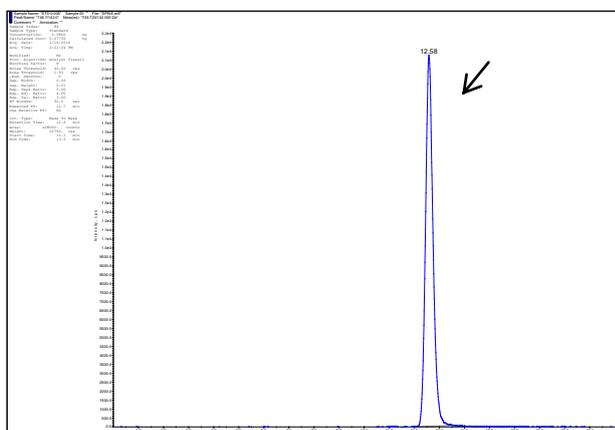
添加試料



添加試料



標準溶液



標準溶液

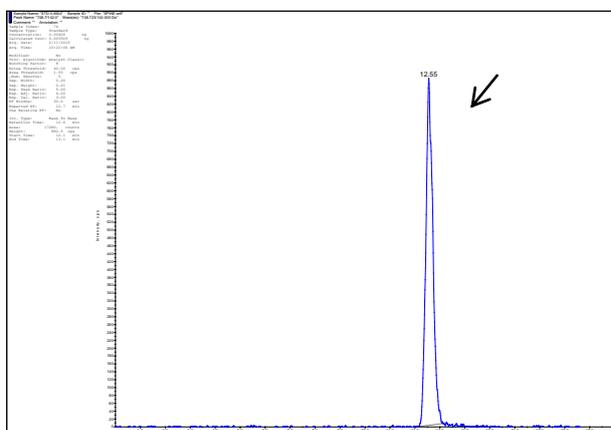
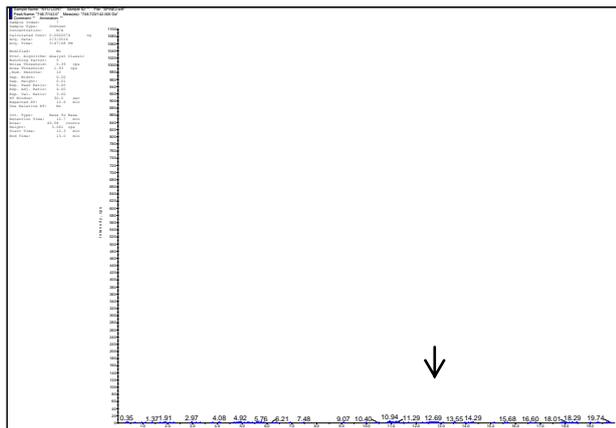


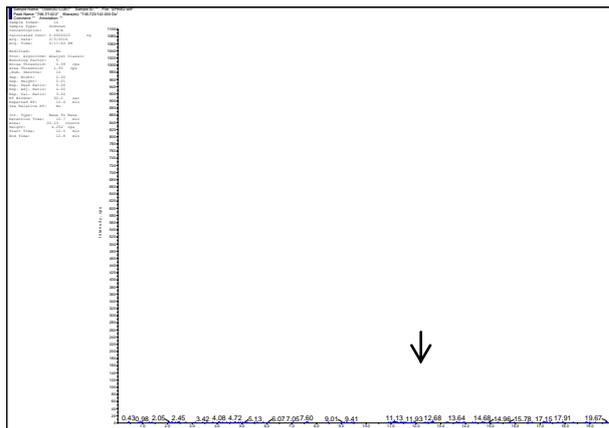
図 6-3 牛の脂肪の SRM クロマトグラム  
スピネトラム-J ( $m/z$  +748→142)  
添加濃度 : 0.2 ppm

図 6-4 牛の肝臓の SRM クロマトグラム  
スピネトラム-J ( $m/z$  +748→142)  
添加濃度 : 0.01 ppm

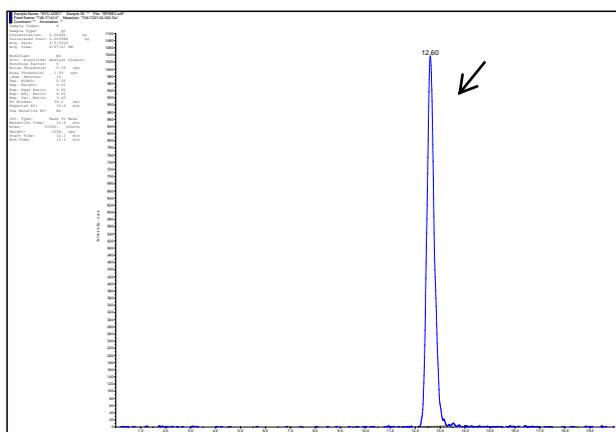
ブランク



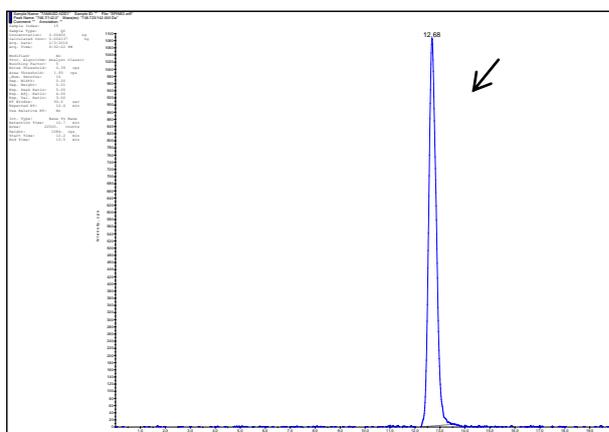
ブランク



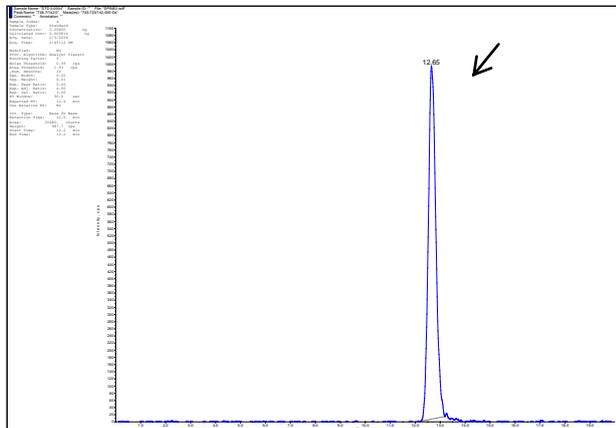
添加試料



添加試料



標準溶液



標準溶液

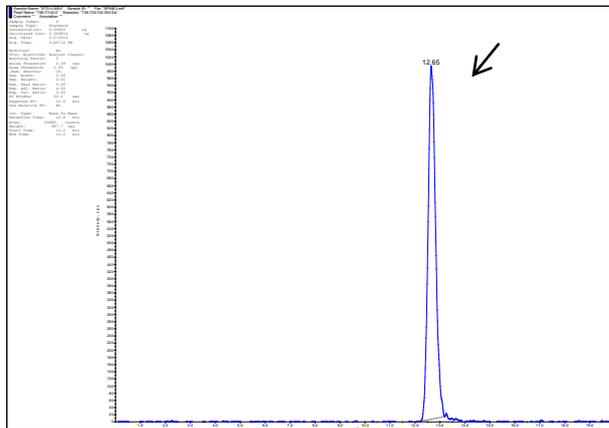
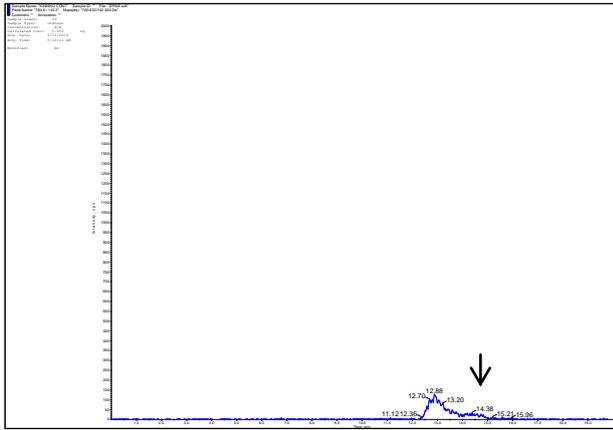


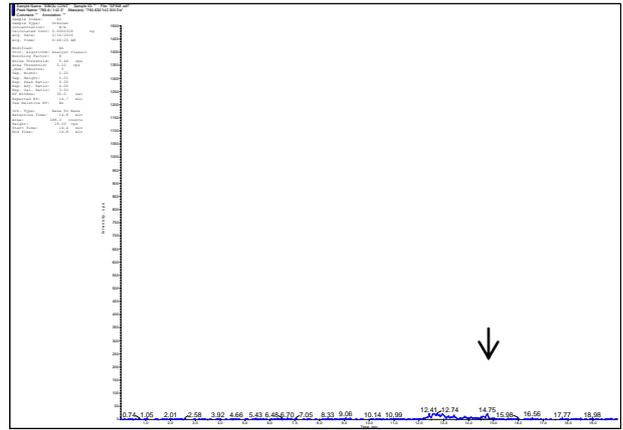
図 6-5 乳の SRM クロマトグラム  
スピネトラム-J ( $m/z$  +748→142)  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 6-6 鶏の卵の SRM クロマトグラム  
スピネトラム-J ( $m/z$  +748→142)  
添加濃度 : 0.01 ppm

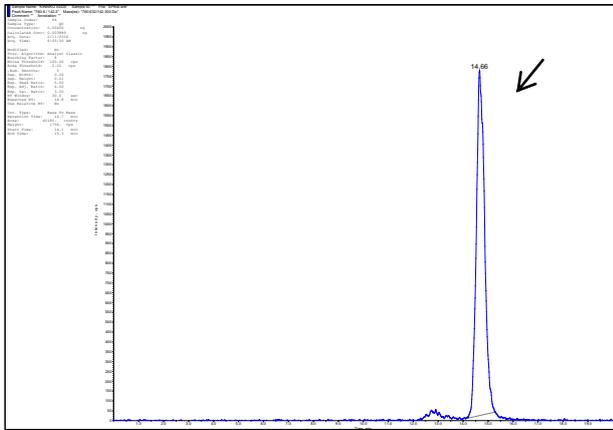
スピネトラム-Lの添加回収試験におけるクロマトグラム  
 ブランク



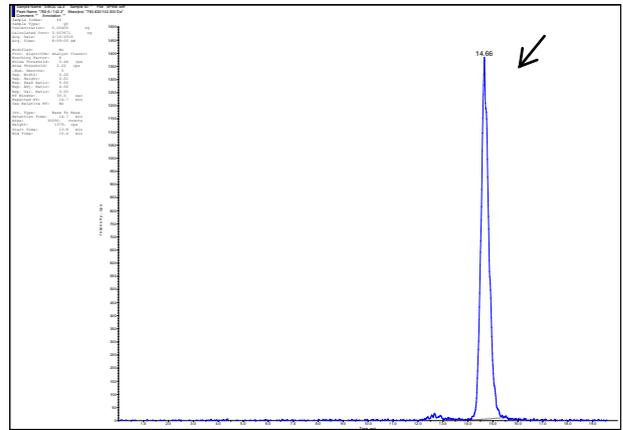
ブランク



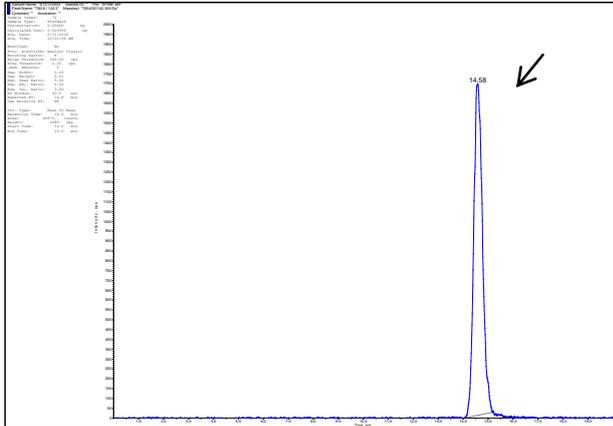
添加試料



添加試料



標準溶液



標準溶液

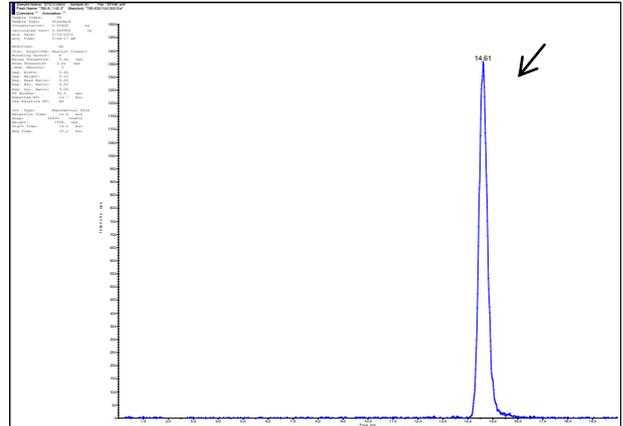
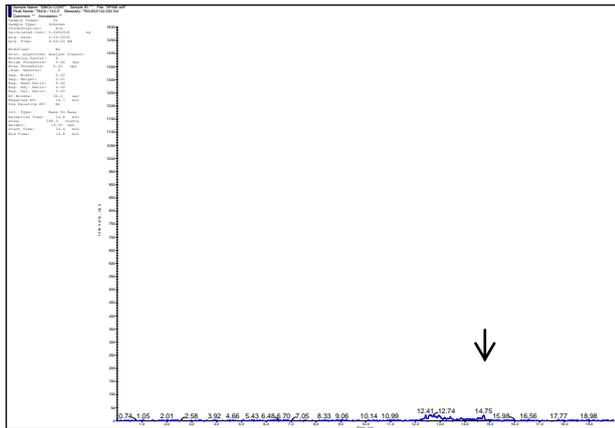


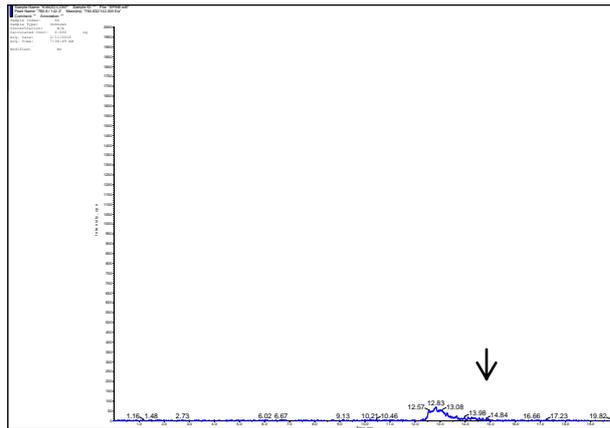
図 7-1 牛の筋肉の SRM クロマトグラム  
 スピネトラム-L ( $m/z$  +760→142)  
 添加濃度 : 0.01 ppm

図 7-2 牛の脂肪の SRM クロマトグラム  
 スピネトラム-L ( $m/z$  +760→142)  
 添加濃度 : 0.01 ppm

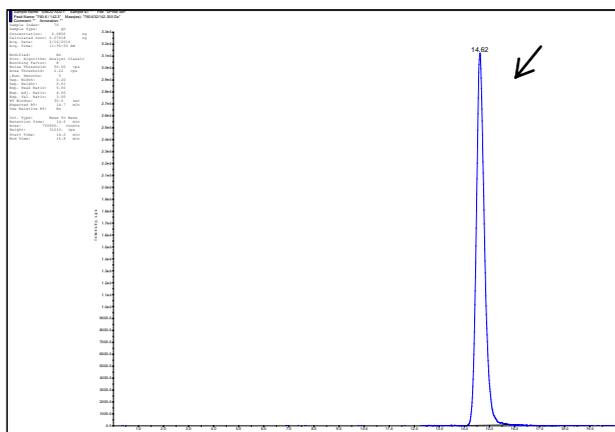
ブランク



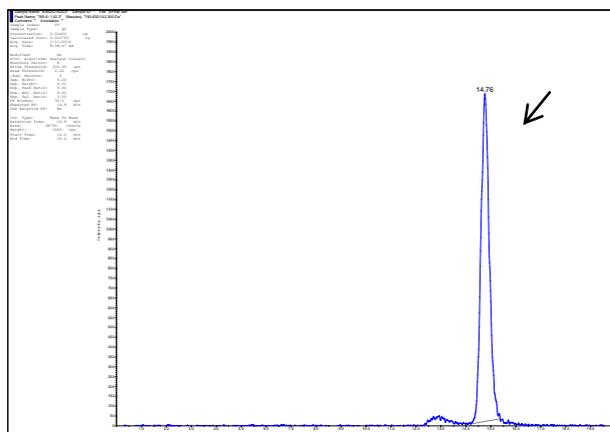
ブランク



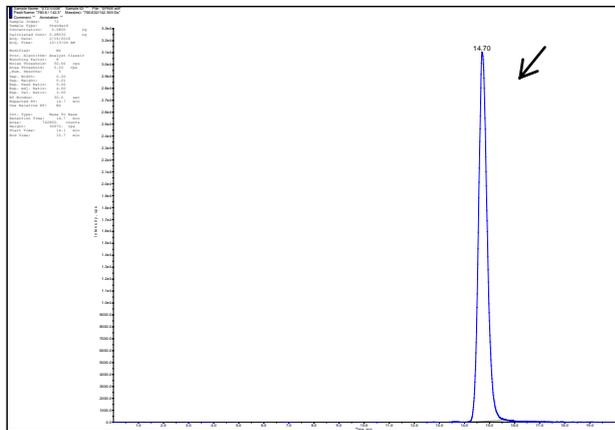
添加試料



添加試料



標準溶液



標準溶液

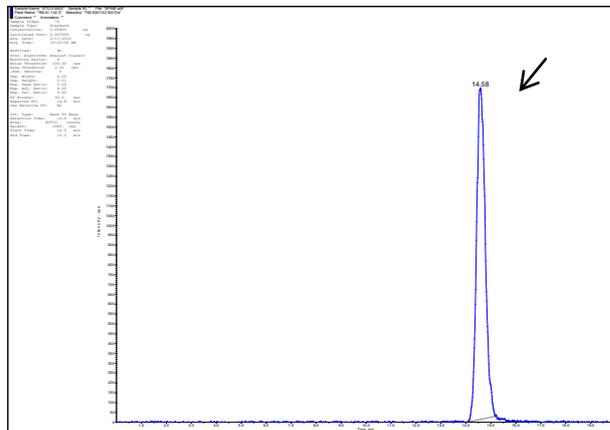
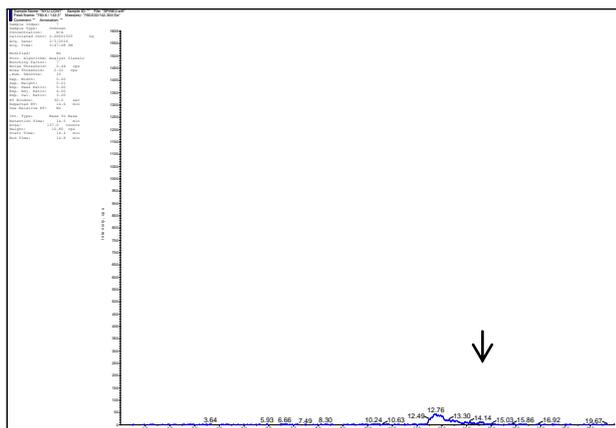


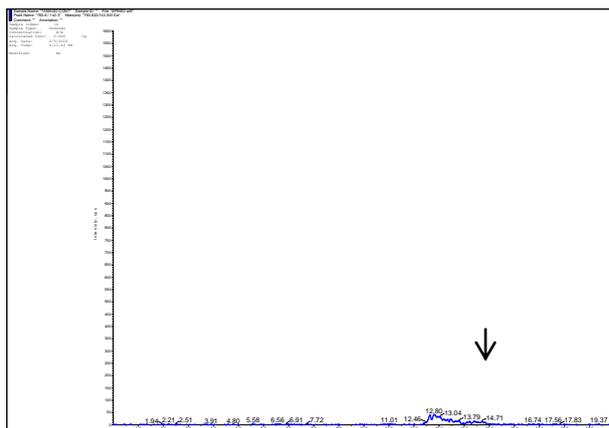
図 7-3 牛の脂肪の SRM クロマトグラム  
スピネトラム-L ( $m/z$  +760→142)  
添加濃度 : 0.2 ppm

図 7-4 牛の肝臓の SRM クロマトグラム  
スピネトラム-L ( $m/z$  +760→142)  
添加濃度 : 0.01 ppm

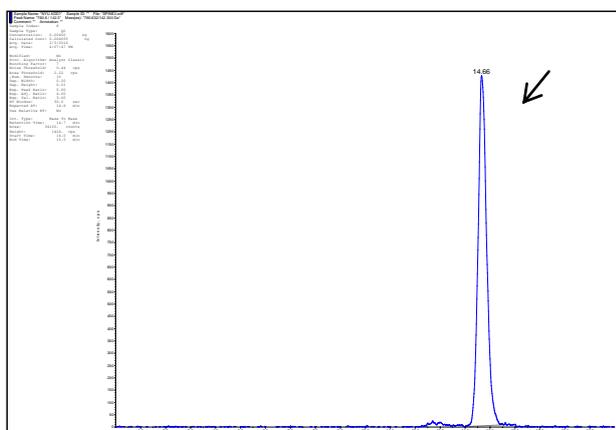
ブランク



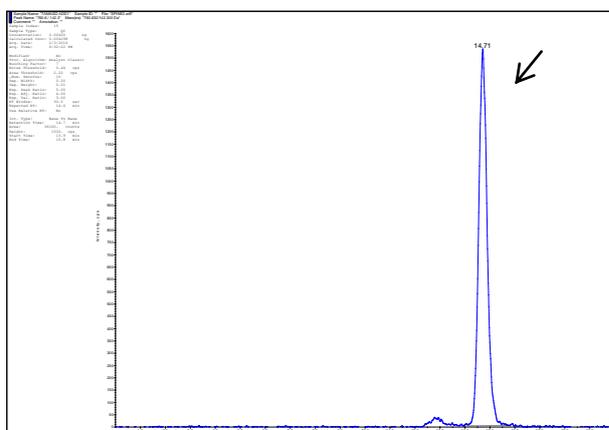
ブランク



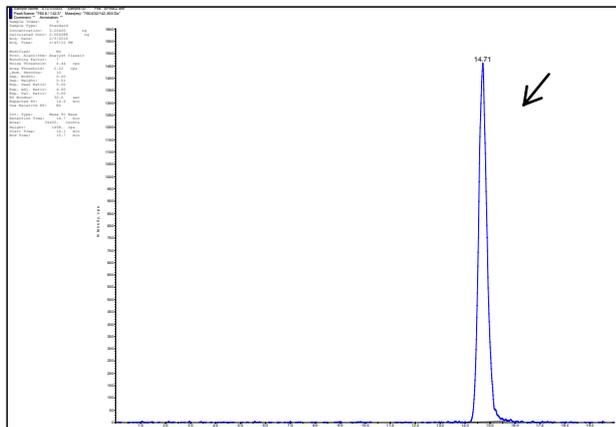
添加試料



添加試料



標準溶液



標準溶液

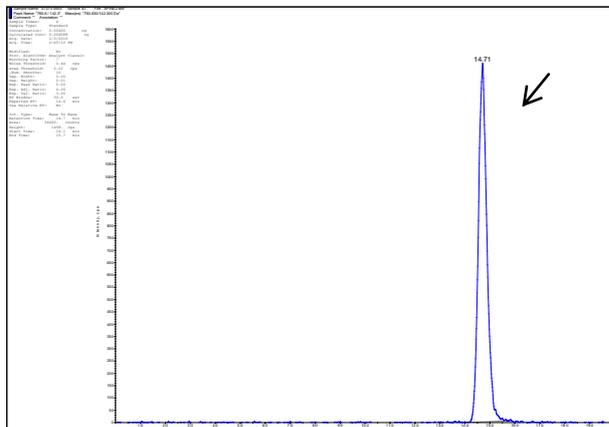
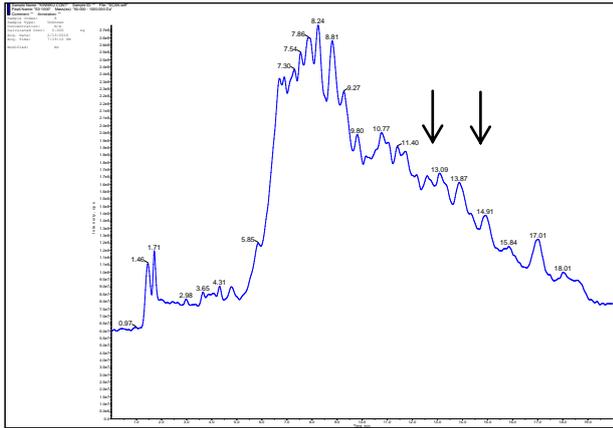


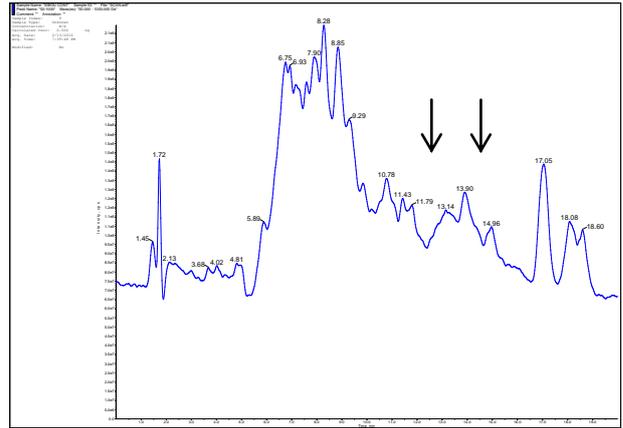
図 7-5 乳の SRM クロマトグラム  
スピネトラム-L ( $m/z$  +760→142)  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 7-6 鶏の卵の SRM クロマトグラム  
スピネトラム-L ( $m/z$  +760→142)  
添加濃度 : 0.01 ppm

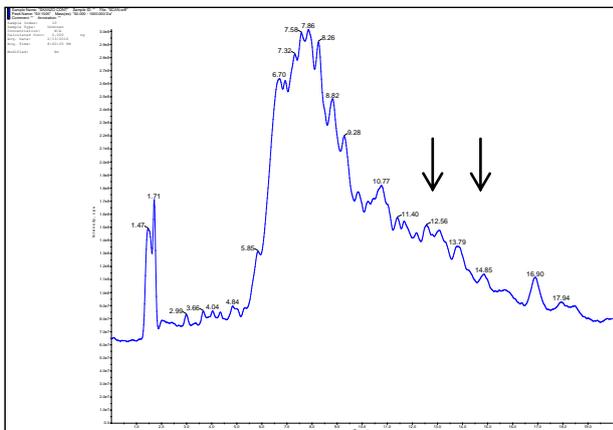
牛の筋肉



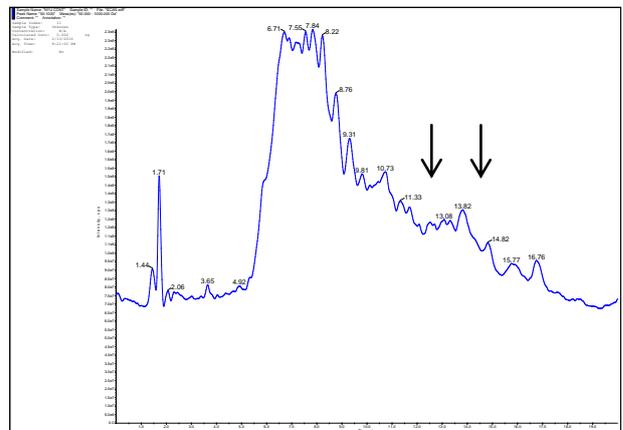
牛の脂肪



牛の肝臓



乳



鶏の卵

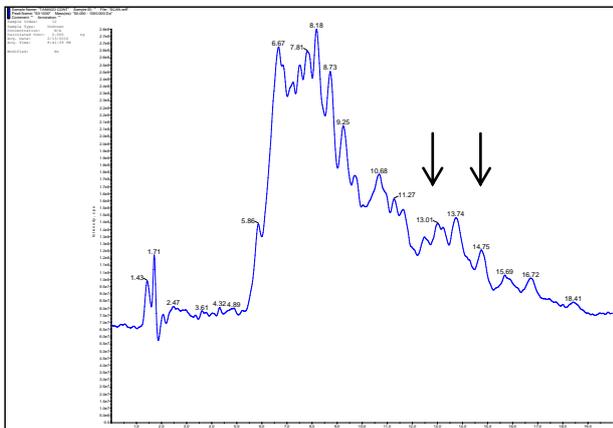


図 8 ブランク試料のトータルイオンクロマトグラム  
(スキャン範囲 : 50~1000  $m/z$ 、コーン電圧 : 71 (V) )