

ジヒドロストレプトマイシン，ストレプトマイシン，スペクチノマイシン 及びネオマイシン試験法

1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
ジヒドロストレプトマイシン及びストレプトマイシン	ジヒドロストレプトマイシン，ストレプトマイシン
スペクチノマイシン	スペクチノマイシン
ネオマイシン	ネオマイシン

2. 装置

高速液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる。

3. 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。

ヘptaフルオロ酪酸 ヘptaフルオロ-*n*-酪酸

ヘptanスルホン酸ナトリウム 1-ヘptanスルホン酸ナトリウム(特級)

4. 標準品

塩酸スペクチノマイシン 本品1.000 mgは，スペクチノマイシン603 µg力価以上を含む。

硫酸ジヒドロストレプトマイシン 本品1.000 mgは，ジヒドロストレプトマイシン720 µg力価以上を含む。

硫酸ストレプトマイシン 本品1.000 mgは，ストレプトマイシン718 µg力価以上を含む。

硫酸ネオマイシン 本品1.000 mgは，ネオマイシン680 µg力価以上を含む。

5. 試験溶液の調製

a 抽出法

(1) 筋肉，脂肪，肝臓及び腎臓の場合

筋肉の場合は，可能な限り脂肪層を除き，細切均一化した後，その5.00 gを量り採る。

脂肪の場合は，可能な限り筋肉層を除き，細切均一化した後，その5.00 gを量り採る。

肝臓及び腎臓の場合は，細切均一化した後，その5.00 gを量り採る。

これに1%メタリン酸溶液25 mLを加え，細砕した後，毎分3,000回転で10分間遠心分離を行い，綿栓ろ過する。

(2) 乳の場合

試料5.00 gを量り採り，1%メタリン酸溶液25 mLを加え，振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後，毎分3,000回転で10分間遠心分離を行い，綿栓ろ過する。

(3) 卵の場合

卵の殻を除き，十分均一化した後，その5.00 gを量り採り，1%メタリン酸溶液25 mLを加え，均一化した後，毎分3,000回転で10分間遠心分離を行い，綿栓ろ過する。

b 精製法

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(500 mg)に，メタノール5 mL及び水10 mLを順次注入し，流出液は捨てる。このカラムに a 抽出法で得られた溶液及び水5 mLを順次注入し，流出液に0.1 mol/Lヘプタンスルホン酸ナトリウム溶液2 mLを加える。このカラムにメタノール5 mL及び水10 mLを順次注入し，流出液は捨てる。このカラムに，先にヘプタンスルホン酸ナトリウム溶液を加えた流出液及び水5 mLを順次注入し，流出液は捨てる。このカラムにメタノール10 mLを注入し，流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り，40°C以下でメタノールを除去する。この残留物にアセトニトリル及び0.005 mol/Lヘプタフルオロ酪酸溶液の混液（1：9）1.0 mLを加えて溶かし，これを試験溶液とする。

6. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲルを用いる。

カラム管 内径1.0～6.0 mm，長さ10～150 mmのステンレス管を用いる。

カラム温度 40°C

移動相 アセトニトリル及び0.005 mol/Lヘプタフルオロ酪酸溶液の混液（1：9）を用いる。スペクチノマイシンが約10分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき，ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

7. 定量限界

ジヒドロストレプトマイシン 0.02 mg/kg

ストレプトマイシン 0.02 mg/kg

スペクチノマイシン 0.02 mg/kg

ネオマイシン 0.02 mg/kg

8. 留意事項

(1) 試験溶液の調製

精製法において用いるオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムは、予め標準品を用いて、その保持、溶出性能及び精製効果を確認すると共に、定量限界がジヒドロストレプトマイシンについては0.02 mg/kg以下、ストレプトマイシンについては0.02 mg/kg以下、スペクチノマイシンについては0.02 mg/kg以下、ネオマイシンについては0.02 mg/kg以下であることを確認すること。

また、ジヒドロストレプトマイシン、ストレプトマイシン、スペクチノマイシン及びネオマイシン標準品を用いて添加・回収試験を行い、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムの精製効果、回収率（90～100%）を確認すること。

(2) 標準溶液の調製

- (1) ジヒドロストレプトマイシン10.0 mg（力価）に相当する標準品を水に溶解してジヒドロストレプトマイシン標準原液とすること（ジヒドロストレプトマイシン 100 mg（力価）/L）。本標準原液は、-20℃保存で6ヶ月間安定であること。
- (2) ストレプトマイシン10.0 mg（力価）に相当する標準品を水に溶解してストレプトマイシン標準原液とすること（ストレプトマイシン 100 mg（力価）/L）。本標準原液は、-20℃保存で6ヶ月間安定であること。
- (3) スペクチノマイシン10.0 mg（力価）に相当する標準品を水に溶解してスペクチノマイシン標準原液とすること（スペクチノマイシン100 mg（力価）/L）。本標準原液は、-20℃保存で6ヶ月間安定であること。
- (4) ネオマイシン10.0 mg（力価）に相当する標準品を水に溶解してネオマイシン標準原液とすること（ネオマイシン100 mg（力価）/L）。本標準原液は、-20℃保存で6ヶ月間安定であること。
- (5) ジヒドロストレプトマイシン、ストレプトマイシン、スペクチノマイシン及びネオマイシン各標準原液をメタノールで逡減希釈し、検量線作成用標準溶液とすること。

9. 参考文献

なし

10. 類型

A