

ガミスロマイシン試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

ガミスロマイシン

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。

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（150 mg） 内径12～13 mmのポリエチレン製のカラム管に、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体150 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。

5 mmol/L酢酸アンモニウム溶液（pH 4.0） 酢酸アンモニウム0.39 gを量り採り水約950 mLに溶解し、酢酸を用いてpH 4.0に調整した後、水を加えて1 Lとする。

ガミスロマイシン標準品 本品はガミスロマイシン95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 g（脂肪の場合は5.00 g）にアセトン50 mLを加え、ホモジナイズする。毎分4,000回転で10分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にアセトン25 mLを加えてホモジナイズし、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、アセトンを加えて正確に100 mLとする。この溶液から正確に5 mLを分取し、酢酸12.5 μ L、1 mol/L酢酸アンモニウム溶液25 μ Lを加えてよく混合する。

2) 精製

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（150 mg）にメタノール10 mL及びアセトン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、水10 mL、メタノール10 mL及びアセトニトリル10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及びアンモニア水（20 : 1）混液10 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5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液に溶かし、正確に1 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

ガミスロマイシン標準品の5 mmol/L酢酸アンモニウム・メタノール溶液を数点調製し、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濃度は筋肉及び肝臓にあつては0.005 mg/L、脂肪にあつては0.0025 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でガミスロ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：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2.1 mm、長さ100 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 (pH 4.0) 及び5 mmol/L酢酸アンモニウム・メタノール溶液 (9 : 1) で1分間保持した後、(1 : 19) までの濃度勾配を8分間で行う。

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (m/z)：プリカーサーイオン778、プロダクトイオン620、158、116、83

注入量：5 µL

保持時間の目安：7分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

ガミスロマイシンを試料からアセトンで抽出し、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製した後、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

① ガミスロマイシンの測定で、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 778、プロダクトイオン 620

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 778、プロダクトイオン 158、116、83

② ガミスロマイシンは、溶解する溶媒によってはガラス容器に吸着する。このため、可能な限りポリプロピレン製やポリテトラフルオロエチレン製などプラスチック製の容器を用いるのが望ましい。

③ 開発時に用いた遠心分離機における毎分4,000回転は、約3,430×gである。

④ 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉、豚の肝臓、牛の脂肪

12. 参考文献

なし

13. 類型

C