

フラボフォスフォリポール試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

モエノマイシンA

2. 対象食品

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。

モエノマイシンA標準品 本品はモエノマイシンA 95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 gに50℃に加温したアンモニア水及びメタノール（1：9）混液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50℃に加温したアンモニア水及びメタノール（1：9）混液80 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様に遠心分離する。上澄液を採り、先の上澄液に合わせ、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20 mLを分取し、40℃以下で濃縮乾固する。この残留物にアンモニア水、水及びメタノール（1：60：40）混液20 mLを加えて溶かす。これに酢酸エチル20 mLを加えて振とうし、毎分3,000回転で5分間遠心分離した後、酢酸エチル層を捨てる操作を2回繰り返す。アンモニア水、水及びメタノール混液層を40℃以下で濃縮乾固する。この残留物にギ酸、水及びメタノール（1：20：80）混液2 mLを加えて溶かす。

2) 精製

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5 mL、ギ酸、水及びメタノール（1：20：80）混液5 mLを注入し、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、メタノール5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アンモニア水及びメタノール（1：9）混液5 mLで1)で得られた溶液が入っていた容器を洗い、この洗液を先のカラムに注入する操作を2回繰り返し、溶出液を採る。さらにアンモニア水及びメタノール（1：9）混液10 mLを注入し、溶出液を先の溶出液に合わせる。40℃以下で約1 mLに濃縮し、0.3 vol%ギ酸及び0.3 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液（3：2）混液で正確に5 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

モエノマイシンA標準品をメタノールに溶かして標準原液を調製する。標準原液を0.3 vol%ギ酸及び0.3 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液（3：2）混液で適宜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、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0.002 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でモエノマイシン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：オクチ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℃

移動相：0.3 vol%ギ酸及び0.3 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液（3：2）混液で1分間保持した後、（3：2）から（1：3）までの濃度勾配を9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790、プロダクトイオン576、554

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

モエノマイシンAを試料から50℃に加温したアンモニア水及びメタノール（1：9）混液で抽出し、酢酸エチルで洗浄した後、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、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① 試料をホモジナイズ抽出する際にガラス製の遠心管を用いると、抽出液の温度が低下して、十分な回収が得られないことがある。このため、ホモジナイズ抽出時にはポリプロピレン製の容器を用いることが望ましい。
- ② モエノマイシンAは、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精製における負荷溶媒であるギ酸、水及びメタノール（1：20：80）混液への溶解が、試料によっては不十分となり容器内に残留する場合がある。このため、溶出溶媒であるアンモニア水及びメタノール（1：9）混液で容器を十分に洗い、洗液をカラムに注入し、この溶出液を採る。
- ③ モエノマイシン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 790、プロダクトイオン 576

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 790、プロダクトイオン 554

④ 試験法開発時に検討した食品：豚の筋肉、豚の脂肪、豚の肝臓、鶏卵

12. 参考文献

なし

13. 類型

C