

ノシヘプタイト試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

ノシヘプタイト

2. 適用食品

畜水産物

3. 装置

蛍光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-FL）

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。

ノシヘプタイト標準品 純度が明らかなもの。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 筋肉、肝臓、腎臓、乳、卵、魚介類及びはちみつの場合

試料10.0 gに5 vol%酢酸20 mLを加え、混合する。これにアセトン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、上記と同様にろ過する。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10 mLを分取し、水50 mL及び酢酸0.5 mLを加える。

② 脂肪の場合

試料5.00 gに5 vol%酢酸20 mLを加え、混合する。これにアセトン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、上記と同様にろ過する。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20 mLを分取し、水50 mL及び酢酸0.5 mLを加える。これに、*n*-ヘキサン20 mLを加え振とうし、水層を分取する。

2) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）に、メタノール及び5 vol%酢酸各5 mLを順次注入し、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、さらに酢酸、水及びメタノール（1：50：50）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸、水及びメタノール（1：5：95）混液5 mLを注入し、溶出液に酢酸、水及びメタノール（1：5：95）混液を加えて正確に5 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

ノシヘプタイト標準品を1 vol%酢酸・メタノール溶液に溶解して100 mg/Lとし標準原液とする。標準原液を酢酸、水及びメタノール（1：5：95）混液で希釈した溶液を数点調製し、

それぞれHPLC-FL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0.001 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をHPLC-FLに注入し、6. の検量線でノシヘプタイドの含量を求める。

8. 確認試験

HPLC-FLにより確認する。

9. 測定条件

(例)

検出器：蛍光光度型検出器（励起波長365 nm、蛍光波長515 nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル、内径4.6 mm、長さ150 mm、粒子径5 µm

カラム温度：40°C

移動相：酢酸、水及びメタノール（1：35：65）混液

注入量：20 µL

保持時間の目安：10分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

ノシヘプタイドを試料から酢酸酸性下でアセトン抽出し、脂肪はヘキサン洗浄で脱脂する。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、HPLC-FLで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

① ノシヘプタイド標準品については、純度が明らかなものとしたが、入手可能な場合には理化学的純度が95%以上の標準品を試験に用いることが望ましい。なお、ノシヘプタイドの力価は、ノシヘプタイド（ $C_{51}H_{43}O_{12}N_{13}S_6$ ）としての量を質量（力価）で示し、1 µg（力価）は、標準ノシヘプタイド1 µgに相当する。

② ノシヘプタイドは不安定であるため、試験操作は速やかに行い、検量線用標準溶液等は用時調製する。なお、標準原液は、0~4°C保存で6か月間安定である。

③ 機器測定において、調製する移動相の若干の組成違いにより保持時間にずれが生じることがある。

④ 確認条件

(例)

検出器：蛍光光度型検出器（励起波長365 nm、蛍光波長515 nm）

カラム：アミノプロピルシリル化シリカゲル、内径4.6 mm、長さ150 mm、粒子径3 μm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル、酢酸及び水（950：1：50）混液

注入量：20 μL

保持時間の目安：9分

- ⑤ 試験法開発時に検討した食品：豚の筋肉・脂肪、鶏の肝臓・卵、牛乳、さけ、うなぎ、えび、しじみ及びはちみつ

12. 参考文献

なし

13. 類型

C