

ナラシン試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

ナラシン A

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。

ナラシン A 標準品 本品はナラシン A85%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料 10.0 g を量り採る。これにメタノール 50 mL を加え、ホモジナイズする。毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離した後、メタノール層を採る。残留物にメタノール 30 mL を加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離する。メタノール層を採り、先のメタノール層と合わせ、メタノールを加えて正確に 100 mL とする。この溶液から正確に 5 mL を分取し、水 1 mL を加える。

2) 精製

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 (500 mg) にメタノール 5 mL、水及びメタノール (1 : 9) 混液 5 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、水及びメタノール (1 : 9) 混液 5 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、水及びメタノール (1 : 19) 混液 10 mL を注入し、溶出液を採り、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリルに溶解し、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

ナラシン A 標準品のアセトニトリ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 0.005 mg/kg に相当する試験溶液中の濃度は 0.0025 mg/L である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6 の検量線でナラシン 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 5 μm

カラム温度：40℃

移動相：0.1 vol% ギ酸・アセトニトリル溶液及び 0.1 vol% ギ酸の混液 (4 : 1) から (19 : 1) までの濃度勾配を 5 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 764、プロダクトイオン 255、87

注入量：5 μL

保持時間の目安：3 分

10. 定量限界

0.005 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

ナラシン A を試料からメタノールで抽出する。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 ナラシン 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 764、プロダクトイオン 87

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 764、プロダクトイオン 255

② 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉、牛の脂肪及び牛の肝臓

③ 試験法開発時には、ナラシン A 標準品は高純度の標準品が入手できなかったため、4. 試薬、試液では「ナラシン A 標準品 本品はナラシン A 85%以上を含む。」とされたが、入手可能な場合には純度 95%以上の標準品を試験に用いることが望ましい。

12. 参考文献

なし

13. 類型

C