

ラクトパミン試験法

1. 分析対象化合物

ラクトパミン

2. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計 (LC/MS)

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。

塩酸ラクトパミン標準品 本品は塩酸ラクトパミン99%以上を含み、融点は163.9～164.6℃である。

4. 試験溶液の調製

1) 筋肉、肝臓、腎臓及びその他の食用部分の場合

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。

肝臓、腎臓及びその他の食用部分の場合は、細切均一化した後、その5.00 gを量り採る。

これに酢酸エチル 20 mL及び4 mol/L炭酸カリウム溶液1 mLを加えてホモジナイズした後、毎分3,000回転で 10分間遠心分離を行い、酢酸エチル層を採る。遠心分離管の残留物に酢酸エチル 20 mLを加え、5分間振とうした後、上記と同様の条件で遠心分離を行い、得られた酢酸エチル層を合わせ、40℃以下で濃縮し、酢酸エチルを除去する。この残留物にアセトニトリル30 mLを加えて溶かし、分液ロートに移す。これにアセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 30 mLを加えて振とうし、*n*-ヘキサン層を捨てる操作を2回繰り返す。アセトニトリル層を40℃以下で濃縮し、アセトニトリルを除去する。この残留物にメタノール1.0 mLを加えて溶かし、これを試験溶液とする。

2) 脂肪の場合

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。

これにアセトニトリル 30 mL及びアセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 30 mLを加えてホモジナイズした後、毎分3,000回転で10分間遠心分離を行い、アセトニトリル層を分液ロートに採る。遠心分離管の *n*-ヘキサン層及び残留物にアセトニトリル 30 mLを加えて5分間振とうし、上記と同様の条件で遠心分離を行う。得られたアセトニトリル層を先の分液ロートに合わせ、これにアセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 30 mLを加える。5分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を採り、40℃以下で濃縮し、アセトニトリルを除去する。この残留物にメタノール1.0 mLを加えて溶解し、これを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

塩酸ラクトパミン標準品の 0.025~0.5 mg (ラクトパミンとして) /Lメタノール溶液を数点調製し、それぞれLC/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。

6. 定量

試験溶液をLC/MSに注入し、5. の検量線でラクトパミンの含量を求める。

7. 測定条件

LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 2~5 µm)、内径 2.0~6.0 mm、長さ 100~250 mmのステンレス管を用いる。

カラム温度： 40℃

移動相：アセトニトリル及び0.05%トリフルオロ酢酸の混液 (1 : 4)

主なイオン (m/z) : ESI (+) において302

保持時間の目安： 4~6分

8. 定量限界

0.01 mg/kg

9. 留意事項

1) 試験法の概要

ラクトパミンを試料から酢酸エチル又はアセトニトリルで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配により脱脂した後、LC/MSで測定及び確認する方法である。

2) 注意点

(1) ラクトパミンには4種類の光学異性体が存在する。用いるカラムによっては光学異性体が分離される場合があるので、複数のピークが認められる場合は、各ピーク高又はピーク面積の和をとり計算すること。

(2) 主なイオンは用いる装置により、最適なイオン化方法、生成するイオンが異なる場合があるので、装置ごとに最適条件を検討すること。

主なイオンの他に確認できるイオンとして、ESI (+) においては284 (m/z) がある。

10. 参考文献

なし

11. 類型

C