

カスガマイシン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

カスガマイシン

2. 適用食品

農産物

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。

アンモニア水 25%アンモニア水（特級）

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（500 mg）
内径 8~9 mm のポリエチレン製のカラム管に、強酸性陽イオン交換樹脂 500 mg を充填した
もの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

カスガマイシン塩酸塩一水和物標準品 本品はカスガマイシン塩酸塩一水和物 98%以上
を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合は、試料 10.0 g に水 20 mL を加え、30 分間放置する。果
実及び野菜の場合は試料 20.0 g を量り採る。茶及びホップの場合は、試料 5.00 g に水 20 mL
を加え、30 分間放置する。

これにエタノール及び 2 vol% 酢酸（1 : 1）混液 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 2 vol% 酢酸及びエタノール（1 : 1）混液 50 mL を加え
てホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、エタノール及び 2 vol%
酢酸（1 : 1）混液を加えて正確に 200 mL とする。

2) 精製

① オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）にメタノール及び水各 10
mL を順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られた溶液から正確に 5 mL
を分取して注入した後、水 15 mL を注入し、全溶出液を採り、水を加えて正確に 50 mL
とする。

② 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カラムクロマトグラフィー

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 (500 mg) にメタノール及び水各 10 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに①で得られた溶液から、穀類、豆類、種実類、茶及びホップの場合は正確に 40 mL、果実及び野菜の場合は正確に 20 mL を分取して注入し、流出液は捨てる。更に水及びメタノール各 10 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、アンモニア水及びメタノール (1 : 19) 混液 15 mL を注入し、溶出液を 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶かし、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

カスガマイシン塩酸塩一水和物標準品の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 0.002 mg/L である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6 の検量線でカスガ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 : スルホベタイン基化学結合型シリカゲルカラム 内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 µm

カラム温度 : 40°C

移動相 : アセトニトリル及び 0.1 vol% ギ酸混液 (4 : 1) から (1 : 1) までの濃度勾配を 5 分間で行い、(1 : 1) で 10 分間保持する。

イオン化モード : ESI (+)

主なイオン (m/z) : プリカーサーイオン 380

プロダクトイオン 200、112

注入量 : 5 µL

保持時間の目安 : 11 分

10. 定量限界

0.01 mg/kg (茶及びホップにあつては 0.04 mg/kg)

11. 留意事項

1) 試験法の概要

カスガマイシンを試料からエタノール及び 2 vol% 酢酸 (1 : 1) 混液で抽出し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及び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 カスガマイシンの標準品については、カスガマイシン塩酸塩一水和物以外にカスガマイシン塩酸塩が市販されている。

② カスガマイシンの 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 380、プロダクトイオン 112

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 380、プロダクトイオン 200

③ カスガマイシンはガラスに吸着しやすいので、標準溶液を調製後、速やかにポリプロピレン製等のガラス製以外の容器に移す。また、試験溶液用バイアルもポリプロピレン製等のものを使用するとよい。

④ 多検体の試料を連続して測定する場合には、スルホベタイン基化学結合型シリカゲルカラムの再現性を維持するために、カスガマイシン溶出後にアセトニトリル及び 0.1 vol% ギ酸 (2 : 3) 混液での洗浄を約 20 分間行うとよい。

⑤ 試験法開発時に検討した食品 : 玄米、大豆、らっかせい、ばれいしょ、キャベツ、ほうれんそう、オレンジ、りんご、茶及びコリアンダーの種子

12. 参考文献

なし

13. 類型

C