

※本報告書は、試験法開発における検討結果を取りまとめたものであり、試験法の実施に際して参考として下さい。なお、報告書の内容と通知または告示試験法との間に齟齬がある場合には、通知または告示試験法が優先することをご留意下さい。

# 食品に残留する農薬等の成分である物質の 試験法開発事業報告書

## アバメクチン試験法（農産物・畜産物）

## アバメクチン試験法（農産物・畜産物）の検討結果

### 〔緒言〕

#### 1. 目的及び試験法の検討方針等

アバメクチンは、16員環マクロライド骨格を有する殺虫剤である。農薬及び動物用医薬品として使用される。作用機構は、グルタミン酸受容体（塩素イオンチャネル）のアゴニストとして働き、塩素イオン透過性を亢進させて神経や筋の活動電位発生を抑制し、昆虫や寄生虫等の運動機能を抑制して作用を発現すると考えられている。また、動物用医薬品として、海外において牛、羊等の家畜を対象とした内部寄生虫（線虫類等）及び外部寄生虫（ダニ類等）の駆除剤（皮下投与剤、外皮塗布剤等）として使用されている。日本では動物用及びヒト用医薬品として承認されていない。

アバメクチンの試験法は、LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ（農産物）においてアベルメクチン B<sub>1a</sub>のみが検討されている。その他の試験法として、蛍光誘導体化－高速液体クロマトグラフ法（蛍光検出器）で分析可能であるが、アベルメクチン B<sub>1a</sub>と8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub>、アベルメクチン B<sub>1b</sub>と8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub>は同一ピークとして測定されるため、個々の化合物の分別定量は不可能である。

現在、アベルメクチン B<sub>1a</sub>、アベルメクチン B<sub>1b</sub>及び8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub>の総和により設定されている基準値に対応できる試験法は整備されていない。

そこで、本事業では、試験法開発に当たり、各物質の高純度標準品を入手し、各化合物の試験操作中での挙動を検証するとともに、同時分析可能な試験法の検討を行った。

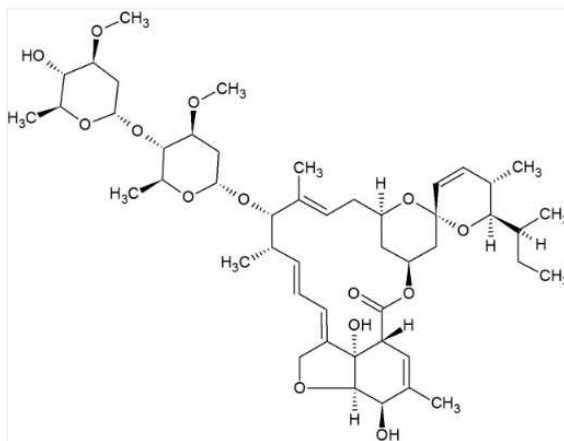
#### 2. 分析対象化合物の構造式及び物理化学的性質

##### 1) 分析対象化合物：アベルメクチン B<sub>1a</sub>

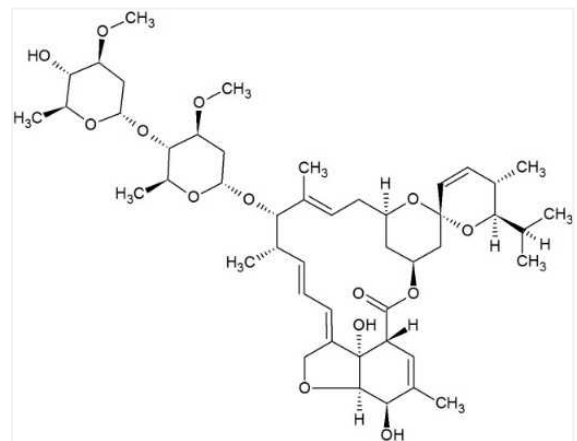
アベルメクチン B<sub>1b</sub>

8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub>(代謝産物)

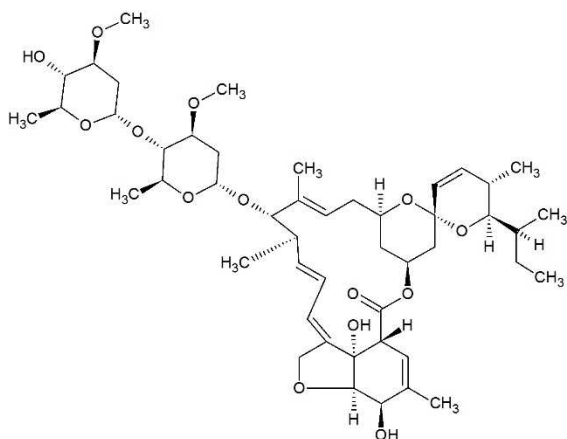
##### 2) 構造式及び物理化学的性質



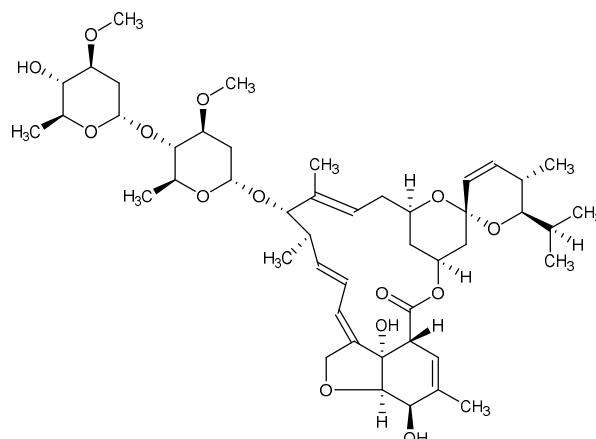
アベルメクチン B<sub>1a</sub>



アベルメクチン B<sub>1b</sub>



8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub>



8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub>

化学名：アベルメクチン B<sub>1a</sub> (IUPAC)

(10*E*,14*E*,16*E*)-(1*R*,4*S*,5'*S*,6*S*,6'*R*,8*R*,12*S*,13*S*,20*R*,21*R*,24*S*)-6'-[(*S*)-*sec*-butyl]-21,24-dihydroxy-5',11,13,22-tetramethyl-2-oxo-3,7,19-trioxatetracyclo[15.6.1.1<sup>4,8</sup>.0<sup>20,24</sup>]pentacos-10,14,16,22-tetraene-6-spiro-2'-(5',6'-dihydro-2'*H*-pyran)-12-yl ,6-dideoxy-4-*O*-(2,6-dideoxy-3-*O*-methyl- $\alpha$ -L-arabino-hexopyranosyl)-3-*O*-methyl - $\alpha$ -L-arabino-hexopyranoside

アベルメクチン B<sub>1b</sub> (IUPAC)

(10*E*,14*E*,16*E*)-(1*R*,4*S*,5'*S*,6*S*,6'*R*,8*R*,12*S*,13*S*,20*R*,21*R*,24*S*)-21,24-dihydroxy-6'-isopropyl-5',11,13,22-tetramethyl-2-oxo-3,7,19-trioxatetracyclo[15.6.1.1<sup>4,8</sup>.0<sup>20,24</sup>]pentacos-10,14,16,22-tetraene-6-spiro-2'-(5',6'-dihydro-2'*H*-pyran)-12-yl ,6-dideoxy-4-*O*-(2,6-dideoxy-3-*O*-methyl- $\alpha$ -L-arabino-hexopyranosyl)-3-*O*-methyl- $\alpha$ -L-arabino-hexopyranoside

8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub> (IUPAC)

(10*E*,14*E*,16*E*,22*Z*)-(1*R*,4*S*,5'*S*,6*S*,6'*R*,8*R*,12*S*,13*S*,20*R*,21*R*,24*S*)-6'-[(*S*)-*sec*-butyl]-21,24-dihydroxy-5',11,13,22-tetramethyl-2-oxo-3,7,19-trioxatetracyclo[15.6.1.1<sup>4,8</sup>.0<sup>20,24</sup>]pentacos-10,14,16,22-tetraene-6-spiro-2'-(5',6'-dihydro-2'*H*-pyran)-12-yl -2,6-dideoxy-4-*O*-(2,6-dideoxy-3-*O*-methyl- $\alpha$ -L-arabino-hexopyranosyl)-3-*O*-methyl - $\alpha$ -L-arabino-hexopyranoside

8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub> (IUPAC)

(10*E*,14*E*,16*E*,22*Z*)-(1*R*,4*S*,5'*S*,6*S*,6'*R*,8*R*,12*S*,13*S*,20*R*,21*R*,24*S*)-21,24-dihydroxy-6'-isopropyl-5',11,13,22-tetramethyl-2-oxo-3,7,19-trioxatetracyclo[15.6.1.1<sup>4,8</sup>.0<sup>20,24</sup>]pentacos-10,14,16,22-tetraene-6-spiro-2'-(5',6'-dihydro-2'*H*-pyran)-12-yl -2,6-dideoxy-4-*O*-(2,6-dideoxy-3-*O*-methyl- $\alpha$ -L-arabino-hexopyranosyl)-3-*O*-methyl - $\alpha$ -L-arabino-hexopyranoside

化学式：アベルメクチン B <sub>1a</sub>	C <sub>48</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub>
アベルメクチン B <sub>1b</sub>	C <sub>47</sub> H <sub>70</sub> O <sub>14</sub>
8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1a</sub>	C <sub>48</sub> H <sub>72</sub> O <sub>14</sub>
8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1b</sub>	C <sub>47</sub> H <sub>70</sub> O <sub>14</sub>

分子量：アベルメクチン B <sub>1a</sub>	873.08
アベルメクチン B <sub>1b</sub>	859.05
8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1a</sub>	873.08
8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1b</sub>	859.05

CAS No : アバメクチン 71751-41-2  
 アベルメクチン B<sub>1a</sub> 65195-55-3  
 アベルメクチン B<sub>1b</sub> 65195-56-4  
 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub> N/A  
 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub> N/A

以下、アバメクチンの物理化学的性質

色調・形状及・臭気：類白色・結晶粉末・無臭 (25°C)

融点：161.8～169.4°C

沸点：融点で分解するため測定不能

蒸気圧：<3.7×10<sup>-6</sup> Pa (25°C)

安定性：室温～150°Cまで安定

溶解度：水 (蒸留水) 1.21 mg/L (25°C)

ヘキサン 110 mg/L (25°C)

トルエン 23 g/L (25°C)

ジクロロメタン 470 g/L (25°C)

アセトン 72 g/L (25°C)

酢酸エチル 160 g/L (25°C)

メタノール 13 g/L (25°C)

オクタノール 83 g/L (25°C)

解離定数 (pKa)：解離せず (pH 1～12)

オクタノール/水分配係数： log Pow=4.4 (pH 7.2)

加水分解性：安定 (50°C、pH 4、5及び7)、半減期193日 (25°C、pH 9)

水中光分解性：緩衝液(pH 7)半減期1.0日(アベルメクチンB<sub>1a</sub>、24.7°C、38.8 W/m<sup>2</sup>、300～400 nm)

「出典：アバメクチン農薬抄録 (FAMIC)」

### 3. 基準値

食品名	基準値 (ppm)
ばれいしよ	0.01
さといも類 (やつがしらを含む)	0.01
かんしよ	0.01
やまいも (長いものをいう)	0.01
その他のいも類	0.01
レタス (サラダ菜及びちしやを含む)	0.05
ねぎ (リーキを含む)	0.1
その他のせり科野菜	0.05
トマト	0.02
ピーマン	0.5
なす	0.2
その他のなす科野菜	0.2
きゅうり (ガーキンを含む)	0.01
かぼちや (スカッシュを含む)	0.01
すいか	0.05
メロン類果実	0.05
その他のうり科野菜	0.01

しょうが	0.01
その他の野菜	0.01
なつみかんの果実全体	0.01
レモン	0.01
オレンジ (ネーブルオレンジを含む)	0.01
グレープフルーツ	0.01
ライム	0.01
その他のかんきつ類果実	0.01
りんご	0.02
日本なし	0.02
西洋なし	0.02
ネクタリン	0.09
あんず (アプリコットを含む)	0.09
すもも (プルーンを含む)	0.09
おうとう (チェリーを含む)	0.09
いちご	0.02
綿実	0.01
くり	0.01
ペカン	0.01
アーモンド	0.01
くるみ	0.01
茶	1
ホップ	0.2
その他のハーブ	0.03
牛の筋肉	0.01
その他の陸棲哺乳類に属する動物の筋肉	0.01
牛の脂肪	0.1
豚の脂肪	0.02
その他の陸棲哺乳類に属する動物の脂肪	0.01
牛の肝臓	0.1
豚の肝臓	0.02
その他の陸棲哺乳類に属する動物の肝臓	0.1
牛の腎臓	0.06
豚の腎臓	0.01
その他の陸棲哺乳類に属する動物の腎臓	0.1
牛の食用部分	0.06
豚の食用部分	0.02
その他の陸棲哺乳類に属する動物の食用部分	0.1
乳	0.02
とうがらし (乾燥させたもの)	0.2

アベルメクチン B<sub>1a</sub>、アベルメクチン B<sub>1b</sub> 及び 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub> の総和をいう。

## [実験方法]

### 1. 試料

玄米は、県内の生産農家から直接購入、その他はスーパーにて購入した。

- (1) 玄米は、ローターミルを用いて425  $\mu\text{m}$  の標準網ふるいを通るように粉碎し均一化した。
- (2) 大豆は、ローターミルを用いて425  $\mu\text{m}$  の標準網ふるいを通るように粉碎し均一化した。
- (3) ほうれんそうは、ひげ根及び変質葉を除き、フードプロセッサーを用いて細切均一化した。
- (4) ねぎは、外皮及びひげ根を除去し、フードプロセッサーを用いて細切均一化した。
- (5) ばれいしょは、泥を水で軽く洗い落とし、フードプロセッサーを用いて細切均一化した。
- (6) オレンジは、試料全体をフードプロセッサーを用いて細切均一化した。
- (7) りんごは、花おち、しん及び果梗の基部を除き、フードプロセッサーを用いて細切均一化した。
- (8) 茶は、ローターミルを用いて425  $\mu\text{m}$  の標準網ふるいを通るように粉碎し均一化した。
- (9) 牛の筋肉は、脂肪層をできる限り除き、細切均一化した。
- (10) 牛の脂肪は、筋肉部をできる限り除き、細切均一化した。
- (11) 牛の肝臓は、全体を細切均一化した。
- (12) 牛乳は、全体をよく混合して均一化した。

### 2. 試薬・試液

#### 1) 試薬及び標準品

アセトニトリル、アセトン、トルエン、塩化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム（残留農薬試験用）

アセトニトリル、メタノール（高速液体クロマトグラフィー用）

酢酸アンモニウム（LC-MS用）

ジブチルヒドロキシトルエン（試薬特級）

ケイソウ土（セライト545）

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム

（Bond Elut C18、充てん量1 g/6mL、アジレント社製）

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム

（Supelclean ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub>、充てん量500 mg/500 mg/6mL、SUPELCO製）

10 w/v%塩化ナトリウム溶液

アバメクチン標準品（純度 B<sub>1a</sub> : 94.5%、B<sub>1b</sub> : 0.5%、Dr.Ehrenstorfer製）

アベルメクチンB<sub>1a</sub>標準品（純度 >95%、フナコシ株式会社：Chem Scene製）

アベルメクチンB<sub>1a</sub>標準品（純度 97%、フナコシ株式会社：Tront Research Chemicals Inc.製）

アベルメクチンB<sub>1b</sub>標準品（純度 >99%、フナコシ株式会社：Bioaustralis製）

8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>標準品（純度 98.1%、林純薬工業株式会社）

8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub>標準品（純度 95.4%、林純薬工業株式会社）

#### 2) 標準溶液の調製方法

標準原液：アベルメクチン B<sub>1b</sub> を除く各標準品の純度から求めた 2.5 mg 相当量を精秤し、アセトニトリルで溶解して正確に 25 mL とした。この溶液は各標準品を 100 mg/L 含む。

検量線用標準溶液：標準原液をアセトニトリルで適宜希釈して、0.001~0.05 mg/L の濃度の混合標準溶液を調製した。

添加用標準溶液：標準原液の溶媒を窒素ガスを吹き付けて除去し、アセトンで希釈して調製した。各試料への添加量を表 1 に示す。

表 1-1 各試料への添加用混合標準溶液の添加量（基準値濃度添加）

試料	添加濃度 (ppm)	試料量 (g)	加水量 (mL)	添加用標準溶液 濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	添加量 (mL)
玄米	0.01 (一律)	10	20	0.1	1.0
大豆	0.01 (一律)	10	20	0.1	1.0
ほうれんそう	0.01 (一律)	20	—	0.2	1.0
ねぎ	0.1	20	—	2	1.0
ばれいしょ	0.01	20	—	0.2	1.0
オレンジ	0.01	20	—	0.2	1.0
りんご	0.02	20	—	0.4	1.0
茶	1	5	20	5	1.0
牛筋肉	0.01	10	—	0.1	1.0
牛脂肪	0.1	5	—	0.5	1.0
牛肝臓	0.1	10	—	1	1.0
牛乳	0.02	5	—	0.1	1.0

表 1-2 各試料への添加用混合標準溶液の添加量（定量限界値濃度添加）

試料	添加濃度 (ppm)	試料量 (g)	加水量 (mL)	添加用標準溶液 濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	添加量 (mL)
玄米	0.005	10	20	0.05	1.0
大豆	0.005	10	20	0.05	1.0
ほうれんそう	0.00125	20	—	0.025	1.0
ねぎ	0.00125	20	—	0.025	1.0
ばれいしょ	0.00125	20	—	0.025	1.0
オレンジ	0.00125	20	—	0.025	1.0
りんご	0.00125	20	—	0.025	1.0
茶	0.02	5	20	0.10	1.0
牛筋肉	0.005	10	—	0.05	1.0
牛脂肪	0.005	5	—	0.025	1.0
牛肝臓	0.005	10	—	0.05	1.0
牛乳	0.005	5	—	0.025	1.0

### 3. 装置

粉砕器（ローターミル）：ULTRA CENTRIFUGAL MILL DR1000（レッチェ製）  
 フードプロセッサ：（Panasonic製）

#### LC-MS/MS

装置	型式	会社
MS	API-3000	AB SCIEX
LC	LC-1100	Agilent Technologies
データ処理	Analyst 1.6	AB SCIEX

### 4. 測定条件

測定条件を記載する。

#### LC-MS/MS

LC 条件			
カラム	InertSustain C18（内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 μm：ジューエルサイエンス株式会社製）		
移動相流速（mL/min）	0.20		
注入量（μL）	5		
カラム温度（℃）	40		
移動相	A 液：5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 B 液：5 mmol/L 酢酸アンモニウム・アセトニトリル溶液		
グラジエント条件	時間（分）	A 液（%）	B 液（%）
	0.0	10	90
	1.0	10	90
	8.0	5	95
	10.0	5	95
	10.1	10	90
	12.0	10	90
MS 条件			
測定モード	MRM（多重反応モニタリング）、又は SRM（選択反応モニタリング）		
イオン化モード	ESI（+）		
イオンスプレー電圧（IS）	4500 V		
カーテンガス（CUR）	10.0 単位なし		
ネブライザーガス（NEB）	10.0 単位なし		
脱溶媒温度（TEM）	400℃		
脱溶媒ガス	窒素、6 L/min		
コリジョンガス（CAD）	窒素 4.0 単位なし		
定量イオン（m/z）	測定イオン	CE	DP
	アベルメクチン B <sub>1a</sub>	+890.8→567.1	21 41
	アベルメクチン B <sub>1b</sub>	+876.6→552.8	21 41
	8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1a</sub>	+890.7→567.1	21 41
	8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1b</sub>	+876.6→552.8	21 41
CE：Collision Energy、DP：Declustering Potential			



定性イオン ( $m/z$ )	測定イオン	CE	DP	
	アベルメクチン B <sub>1a</sub>	+890.7→304.9	35	41
	アベルメクチン B <sub>1b</sub>	+876.6→291.0	39	41
	8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1a</sub>	+890.7→304.9	35	41
	8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1b</sub>	+876.6→291.0	39	41
CE : Collision Energy、 DP : Declustering Potential				
保持時間 (min)	保持時間	保持指標		
	アベルメクチン B <sub>1a</sub>	5.2	1.44	
	アベルメクチン B <sub>1b</sub>	4.3	1.39	
	8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1a</sub>	6.0	1.48	
	8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1b</sub>	5.2	1.44	
保持指標 : イソキサフルトールの保持時間に対する相対値				

## 5. 定量

アベルメクチンB<sub>1a</sub>、アベルメクチンB<sub>1b</sub>、8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>及び8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub>のそれぞれ2.5 mgをアセトニトリルに溶解し、標準原液100 mg/Lを調製した。この溶液をアセトニトリルで希釈し、0.001~0.05 mg/Lの濃度の混合標準溶液を調製した。各標準溶液5 µLをLC-MSに注入し、得られたピーク面積値を用いて検量線を作成した。試験溶液5 µLをLC-MSに注入し、検量線から絶対検量線法によりアベルメクチンB<sub>1a</sub>、アベルメクチンB<sub>1b</sub>、8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>及び8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub>の含量を算出した。

## 6. 添加試料の調製

### (1) 基準値濃度での添加

#### ① 穀類、豆類、種実類

玄米及び大豆（添加濃度：0.01 ppm）：試料10.0 gに添加用標準溶液0.1 µg/mLを1 mL添加し、水20 mLを加えてよく混合した後、30分間放置した。

#### ② 野菜・果実

ほうれんそう、ばれいしょ及びオレンジ（添加濃度：0.01 ppm）：試料20.0 gに添加用標準溶液0.2 µg/mLを1 mL添加し、よく混合した後、30分間放置した。

#### ③ ねぎ（添加濃度：0.1 ppm）：試料20.0 gに添加用標準溶液2.0 µg/mLを1 mL添加し、よく混合した後、30分間放置した。

#### ④ りんご（添加濃度：0.02 ppm）：試料20.0 gに添加用標準溶液0.4 µg/mLを1 mL添加し、よく混合した後、30分間放置した。

#### ⑤ 茶

茶（添加濃度：1 ppm）：試料5.0 gに添加用標準溶液5.0 µg/mLを1 mL添加し、水20 mLを加えてよく混合した後、30分間放置した。

#### ⑥ 牛の筋肉（添加濃度：0.01 ppm）：試料10.0 gに添加用標準溶液0.1 µg/mLを1 mL添加し、よく混合した後、30分間放置した。

#### ⑦ 牛の肝臓（添加濃度：0.1 ppm）：試料10.0 gに添加用標準溶液1.0 µg/mLを1 mL添加し、よく混合した後、30分間放置した。

#### ⑧ 脂肪（添加濃度：0.1 ppm）：試料5.00 gに添加用標準溶液0.5 µg/mLを1 mL添加し、よく混合した後、30分間放置した。

#### ⑨ 牛乳（添加濃度：0.02 ppm）：試料5.00 gに添加用標準溶液0.1 µg/mLを1 mL添加し、よく混合した後、30分間放置した。

## (2) 定量限界値濃度での添加

### ① 穀類、豆類、種実類

玄米及び大豆（添加濃度：0.005 ppm）：試料10.0 gに添加用標準溶液0.05 µg/mLを1 mL添加し、水20 mLを加えてよく混合した後、30分間放置した。

### ② 野菜・果実

ほうれんそう、ねぎ、ばれいしょ、オレンジ及びりんご（添加濃度：0.00125 ppm）：試料20.0 gに添加用標準溶液0.025 µg/mLを1 mL添加し、よく混合した後、30分間放置した。

### ③ 茶

茶（添加濃度：0.02 ppm）：試料5.0 gに添加用標準溶液0.1 µg/mLを1 mL添加し、水20 mLを加えてよく混合した後、30分間放置した。

### ④ 牛の筋肉及び肝臓（添加濃度：0.005 ppm）：試料10.0 gに添加用標準溶液0.05 µg/mLを1 mL添加し、よく混合した後、30分間放置した。

### ⑤ 牛の肝臓（添加濃度：0.1 ppm）：試料10.0 gに添加用標準溶液1.0 µg/mLを1 mL添加し、よく混合した後、30分間放置した。

### ⑥ 牛脂肪及び牛乳（添加濃度：0.005 ppm）：試料5.00 gに添加用標準溶液0.025 µg/mLを1 mL添加し、よく混合した後、30分間放置した。

## 7. 試験溶液の調製

### 概要

アベルメクチンB<sub>1a</sub>、アベルメクチンB<sub>1b</sub>及び8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>を試料からアセトンで抽出する。抽出液の一部を量り取り酢酸エチルに転溶し、脱水した後溶媒を除去する。

この残留物に、野菜・果実の場合、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製する。

穀類・豆類・種実類及び茶の場合、アセトニトリル・ヘキサン（1：1）分配により油脂を除去し、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製する。

茶の場合、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、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製する。

畜産物の場合、アセトニトリル・ヘキサン（1：1）分配により油脂を除去し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製する。

### (1) 農産物の場合

#### a) 抽出

##### ① 穀類・豆類及び種実類

玄米及び大豆では、試料10.0 gをホモジナイズカップに採り、水20 mLを加え、30分間放置した。これにアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙（直径60 mm、No.6、桐山製作所製）を用いて吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトン25 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に100 mLとした。この液から10 mL（試料1.00 g相当）を採り、40℃以下で濃縮し、アセトンを除去した。

残留物を、あらかじめ10w/v%塩化ナトリウム溶液50 mLを入れた200 mLの分液漏斗に移す。酢酸エチル50 mLを用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせた。振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を200 mLの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル50 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、ナス型フラスコ中にろ過し、酢酸エチル20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返した。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で酢酸エチルを除去した。

残留物に*n*-ヘキサン30 mLを加え、100 mLの分液漏斗に移した。これに*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をナス型フラスコ中に移した。*n*-ヘキサン層に*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLを加え、上記と同様の操作を2回繰り返す、アセトニトリル層をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下でアセトニトリルを除去した。この残留物にアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液2 mLを加えて溶かした。

## ② 野菜、果実及び種実類

試料20.0 gをホモジナイズカップに採り、これにアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙（直径60 mm、No.6、桐山製作所製）を用いて吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトン25 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に100 mLとした。この液から20 mL（試料4.00 g相当）を採り、40°C以下で濃縮し、アセトンを除去した。

残留物に、あらかじめ10w/v%塩化ナトリウム溶液50 mLを入れた200 mLの分液漏斗に移す。酢酸エチル50 mLを用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせた。振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を200 mLの三角フラスコに移した。水層に酢酸エチル50 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、ナス型フラスコ中にろ過し、酢酸エチル20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返した。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で酢酸エチルを除去した。残留物にアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液2 mLを加えて溶かした。

## ③ 茶

試料5.00 gをホモジナイズカップに採り、水20 mLを加え、30分間放置した。これにアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙（直径60 mm、No.6、桐山製作所製）を用いて吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトン25 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に100 mLとした。この液から5 mL（試料0.25 g相当）を採り、40°C以下で濃縮し、アセトンを除去した。

残留物に酢酸エチル50 mLを用いて、あらかじめ10w/v%塩化ナトリウム溶液50 mLを入れた200 mLの分液漏斗に移す。振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を200 mLの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル50 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせた。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、ナス型フラスコ中にろ過し、酢酸エチル20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返した。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で酢酸エチルを除去した。この残留物にアセトニトリル2 mLを加えて溶かした。

## b) 精製

### ①野菜及び果実（茶以外）の場合

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム（500 mg/500 mg）に、アセトニトリル及びトルエン（3：1）混液 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに抽出操作で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル及びトルエン（3：1）混液 2 mL で2回洗い込み、21 mL で溶出させた。全溶出液を 40°C以下で濃縮し、窒素ガスを吹き付けて溶媒を除去した。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した。

### ②茶の場合

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム [Bond Elut C18 (1 g/6 mL)] にアセトニトリル10 mL

を注入し、流出液は捨てた。このカラムに、抽出操作で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル 2 mL で容器を 2 回洗い込む操作を含め、全量 20 mL のアセトニトリルで溶出させた。全溶出液を併せ、40°C 以下で濃縮し、窒素ガスを吹き付けて溶媒を除去した。残留物にアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 2 mL を加えて溶かした。

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (500 mg/500 mg) に、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに上記で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 2 mL で 2 回洗い込み、21 mL で溶出させた。全溶出液を 40°C 以下で濃縮し、窒素ガスを吹き付けて溶媒を除去した。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した。

## (2) 畜産物の場合

### a) 抽出

筋肉及び肝臓の場合、試料 10.0 g、脂肪及び牛乳の場合試料 5.0 g をホモジナイズカップに採り、これにアセトン 50 mL を加えてホモジナイズした後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙 (直径 60 mm、No.6、桐山製作所製) を用いて吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトン 25 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に 100 mL とした。この液から、筋肉及び肝臓の場合、10 mL (試料 1.00 g 相当)、脂肪及び牛乳の場合 20 mL (試料 1.00 g 相当) を採り、40°C 以下で濃縮し、アセトンを除去した。

残留物を、あらかじめ 10 w/v% 塩化ナトリウム溶液 50 mL を入れた 200 mL の分液漏斗に移す。酢酸エチル 50 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせた。振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を 200 mL の三角フラスコに移した。水層に酢酸エチル 50 mL を加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせた。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過し、酢酸エチル 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返した。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C 以下で酢酸エチルを除去した。

この残留物に *n*-ヘキサン 30 mL を加え、100 mL の分液漏斗に移す。これに *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をナス型フラスコ中に移す。*n*-ヘキサン層に *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、上記と同様の操作を 2 回繰り返す。アセトニトリル層をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C 以下でアセトニトリルを除去する。この残留物にアセトニトリル 2 mL を加えて溶かした。

### b) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム [Bond Elut C18 (1 g/6 mL)] にアセトニトリル 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに、抽出操作で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル 2 mL で容器を 2 回洗い込む操作を含め、全量 20 mL のアセトニトリルで溶出させた。全溶出液を併せ、40°C 以下で濃縮し、窒素ガスを吹き付けて溶媒を除去した。

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した。

## 8. マトリックス添加標準溶液の調製

別途ブランク試験溶液を調製し、溶媒を除去した後、各検討対象食品の添加回収試験における回収率 100% 相当濃度の溶媒標準溶液を加えて溶解したものをマトリックス添加標準溶液とした。

## 9. 測定

0.001 ppm から 0.02 ppm に調製した標準溶液をそれぞれ LC-MS/MS に 5  $\mu$ L (0.005 ng~0.1 ng) 注入し、検量線を作成した。添加試料中の各アベルメクチン濃度が 0.005 ppm となるように、上記操作で得

られた試験溶液を水及びアセトニトリル（1：9）混液で希釈して測定した。

[分析法フローチャート] 農産物（穀類・豆類及び種実類）

秤 取

| 試料 10.0 g に水 20 mL を加え 30 分間放置

↓

アセトン抽出

| アセトン 50 mL を加え、ホモジナイズ

| 吸引ろ過

| 残留物にアセトン 25 mL を加え、ホモジナイズ

| 吸引ろ過

| アセトン層を合わせ、100 mL に定容

↓

酢酸エチル転溶

| 抽出液 10 mL

| 減圧濃縮、アセトン除去

| 10w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL

| 酢酸エチル 50 mL を加え、5 分間振とう

| 酢酸エチル層を採る

| 水層に酢酸エチル 50 mL を加え、5 分間振とう

| 酢酸エチル層を合わせる

| 無水硫酸ナトリウム脱水、ろ過

| 減圧濃縮、酢酸エチル除去

↓

アセトニトリル/ヘキサン分配

| *n*-ヘキサン 30 mL

| *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、5 分間振とう

| アセトニトリル層を採る

| （上記の操作を 2 回繰り返す）

| アセトニトリル層を合わせる

| 減圧濃縮、窒素乾固

| 残留物にアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液 2 mL を加え溶解

↓

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム

| アセトニトリル及びトルエン（3：1）混液 10 mL でコンディショニング

| 試料液負荷

| アセトニトリル及びトルエン（3：1）混液 25 mL で溶出

↓

試験溶液

| 全溶出液を合わせ、減圧濃縮、窒素乾固

| 水及びアセトニトリル（1：9）で正確に 1 mL とし、試験溶液とする

↓

LC-MS /MS 定量

[分析法フローチャート] 農産物（野菜及び果実）の場合

秤 取

| 試料 20.0 g



アセトン抽出

| アセトン 50 mL を加え、ホモジナイズ

| 吸引ろ過

| 残留物にアセトン 25 mL を加え、ホモジナイズ

| 吸引ろ過

| アセトン層を合わせ、100 mL に定容



酢酸エチル転溶

| 抽出液 20 mL

| 減圧濃縮、アセトン除去

| 10w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL

| 酢酸エチル 50 mL を加え、5 分間振とう

| 酢酸エチル層を採る

| 水層に酢酸エチル 50 mL を加え、5 分間振とう

| 酢酸エチル層を合わせる

| 無水硫酸ナトリウム脱水、ろ過

| 減圧濃縮、酢酸エチル除去

| 残留物にアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液 2 mL を加え溶解



グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム

| アセトニトリル及びトルエン（3：1）混液 10 mL でコンディショニング

| 試料液負荷

| アセトニトリル及びトルエン（3：1）混液 25 mL で溶出



試験溶液

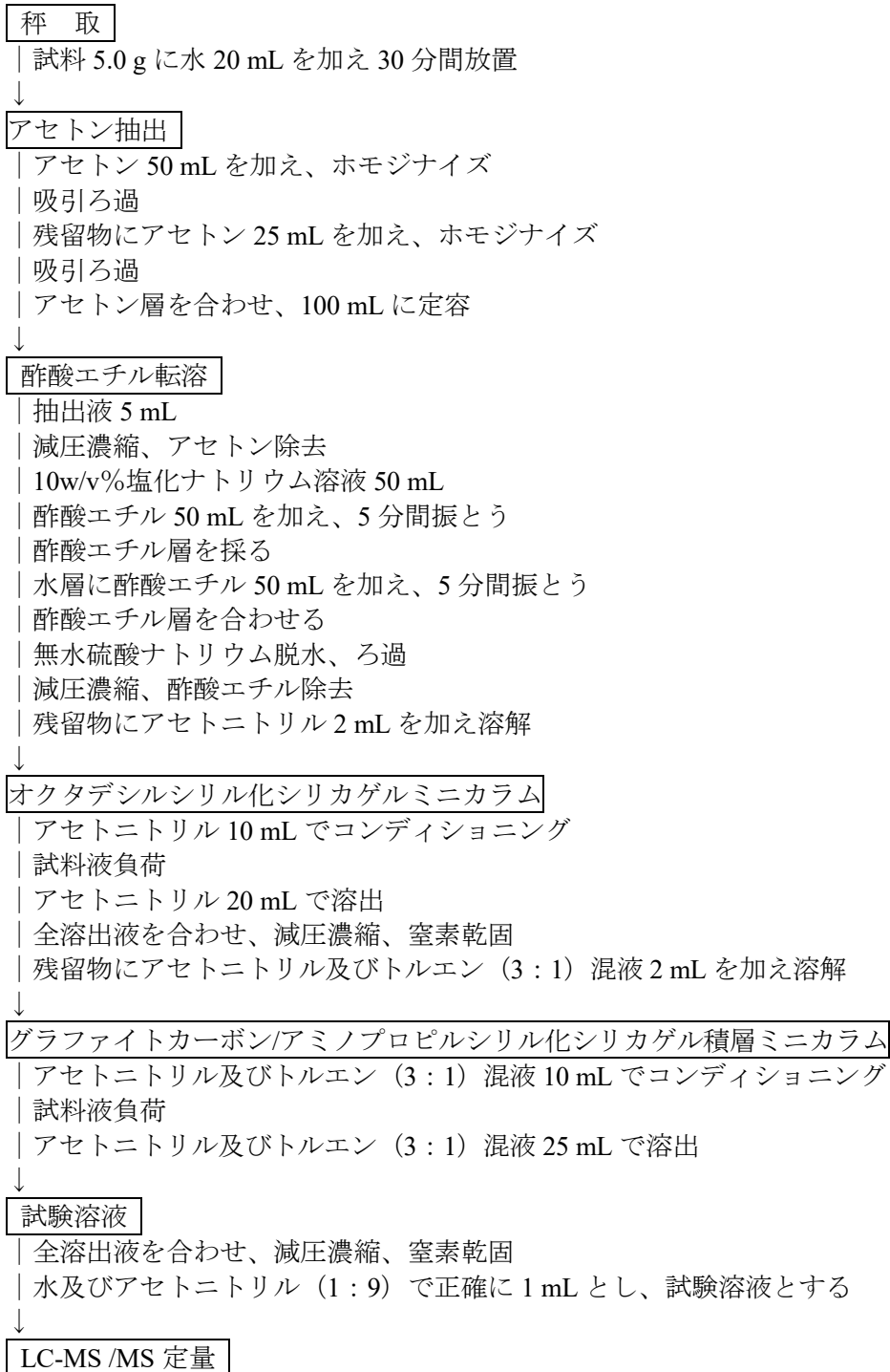
| 全溶出液を合わせ、減圧濃縮、窒素乾固

| 水及びアセトニトリル（1：9）で正確に 1 mL とし、試験溶液とする



LC-MS /MS 定量

[分析法フローチャート] 農産物（茶）の場合





[分析法フローチャート] 畜産物の場合

秤 取

- | 筋肉・肝臓：試料 10.0 g
- | 脂肪・牛乳：試料 5.0 g

↓

アセトン抽出

- | アセトン 50 mL を加え、ホモジナイズ
- | 吸引ろ過
- | 残留物にアセトン 25 mL を加え、ホモジナイズ
- | 吸引ろ過
- | アセトン層を合わせ、100 mL に定容

↓

酢酸エチル転溶

- | 抽出液（筋肉・肝臓：10 mL，脂肪・牛乳：20 mL）
- | 減圧濃縮、アセトン除去
- | 10w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL
- | 酢酸エチル 50 mL を加え、5 分間振とう
- | 酢酸エチル層を採る
- | 水層に酢酸エチル 50 mL を加え、5 分間振とう
- | 酢酸エチル層を合わせる
- | 無水硫酸ナトリウム脱水、ろ過
- | 減圧濃縮、酢酸エチル除去

↓

アセトニトリル/ヘキサン分配

- | *n*-ヘキサン 30 mL
- | *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、5 分間振とう
- | アセトニトリル層を採る
- | （上記の操作を 2 回繰り返す）
- | アセトニトリル層を合わせる
- | 減圧濃縮、窒素乾固
- | 残留物にアセトニトリル 2 mL を加え溶解

↓

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム

- | アセトニトリル 10 mL でコンディショニング
- | 試料液負荷
- | アセトニトリル 20 mL で溶出

↓

試験溶液

- | 全溶出液を合わせ、減圧濃縮、窒素乾固
- | 水及びアセトニトリル（1：9）で正確に 1 mL とし、試験溶液とする

↓

LC-MS /MS 定量

## [結果及び考察]

### (1) LC及びMS/MS条件の検討

#### ①MS/MS条件

各標準品のアセトニトリル溶液をインフュージョンによりMS部に導入し、対象物質のイオンを確認したところ、ESI(+)及びESI(-)の両モードとも分析可能であった。

ESI(+)モードで確認されたイオンを図1-1～図1-6に示した。アンモニウム付加体  $[M+NH_4]^+$  及びナトリウム付加体  $[M+Na]^+$  が観測され、プロトン付加分子  $[M+H]^+$  は十分な感度では観測されなかった。また、ESI(-)モードでは脱プロトン分子  $[M-H]^-$  が観測された。

ここで得られたイオンをプリカーサーイオンとして、インフュージョンによる最適化を行った。ESI(+)及びESI(-)の各モードで得られた測定イオンのうち、測定感度順に上位2イオンを分析イオンとして選定した。ESI(+)モードにおける測定イオンを表1-1に、ESI(-)モードにおける測定イオンを表1-2に示した。

測定感度を比較した結果、ESI(+)ではESI(-)の約10倍の感度が得られたことから、ESI(+)モードをイオン化法として選択した。

アベルメクチンB<sub>1a</sub>及び8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>では、アンモニウム付加分子  $m/z$ 891をプリカーサーイオンとして、プロダクトイオン  $m/z$  567 を定量用イオンに、 $m/z$ 305を定性用イオンとした。アベルメクチンB<sub>1b</sub>及び8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub>では、アンモニウム付加分子  $m/z$ 877をプリカーサーイオンとして、プロダクトイオン  $m/z$ 553 を定量用イオンに、 $m/z$ 291を定性用イオンとした。

ESI(+)モード測定時での各標準物質のマススペクトルを図2-1～図2-4に、定量用及び定性用プロダクトイオンスペクトルを図3-1～図3-8に示した。

表1-1 ESI(+)モードにおける測定イオン

	測定イオン	CE	DP
アベルメクチン B <sub>1a</sub>	+890.8→567.1	21	41
	+890.7→304.9	35	41
アベルメクチン B <sub>1b</sub>	+876.6→552.8	21	41
	+876.6→291.0	39	41
8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1a</sub>	+890.7→567.1	21	41
	+890.7→304.9	35	41
8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1b</sub>	+876.6→552.8	21	41
	+876.6→291.0	39	41

CE : Collision Energy、DP : Declustering Potential

表1-2 ESI(-)モードにおける測定イオン

	測定イオン	CE	DP
アベルメクチン B <sub>1a</sub>	-871.5→229.0	-44	-81
	-871.5→84.1	-74	-81
アベルメクチン B <sub>1b</sub>	-857.6→551.5	-38	-71
	-857.6→108.8	-68	-71
8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1a</sub>	-871.5→229.0	-44	-81
	-871.5→84.1	-74	-81
8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1b</sub>	-857.6→551.5	-38	-71
	-857.6→108.8	-68	-71

CE : Collision Energy、DP : Declustering Potential

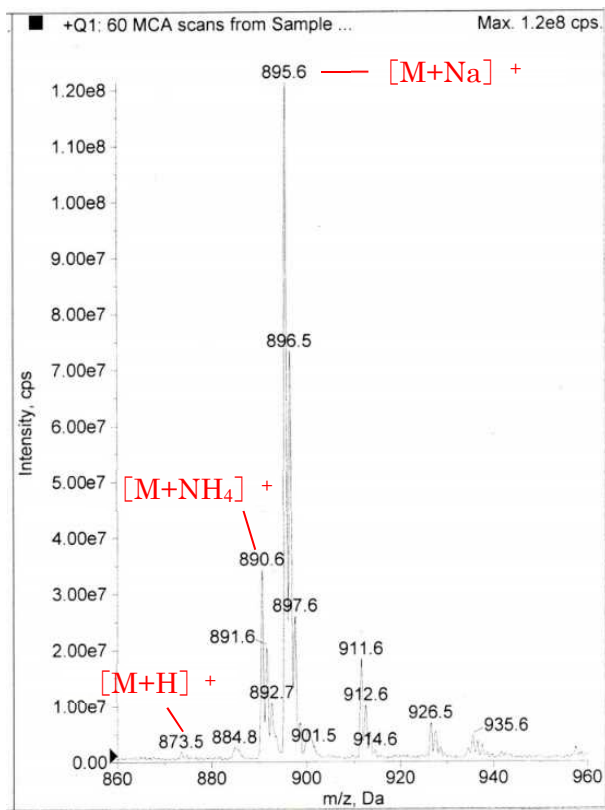


図 1-1 アバメクチン標準品

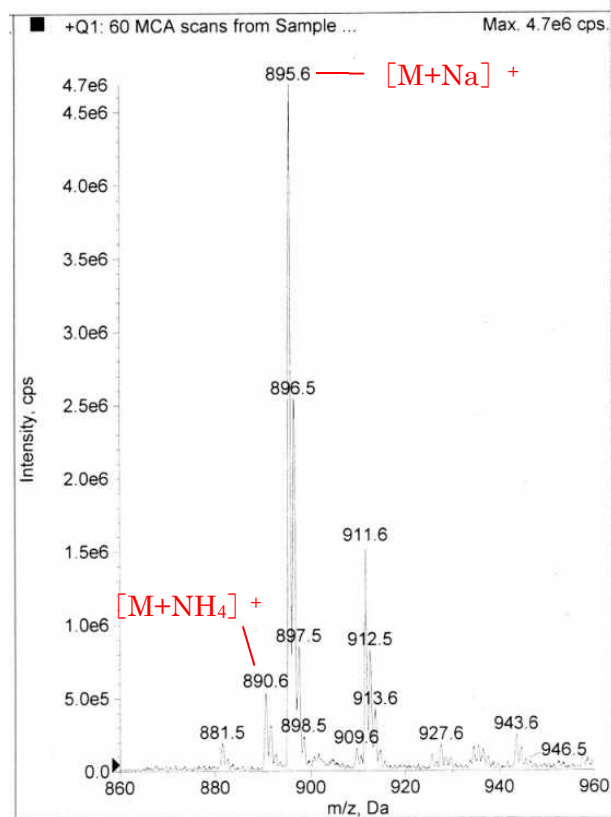


図 1-2 アバメクチン B<sub>1a</sub> (CEM) 標準品

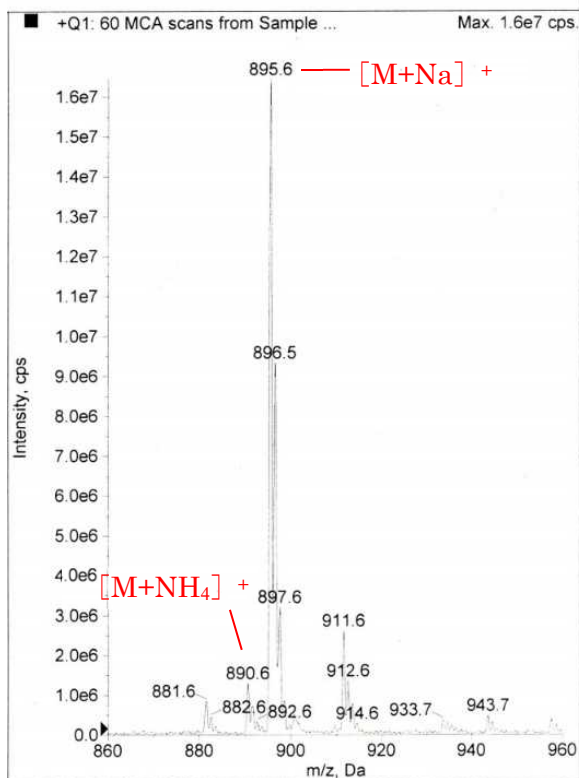


図 1-3 アバメクチン B<sub>1a</sub> (BAU) 標準品

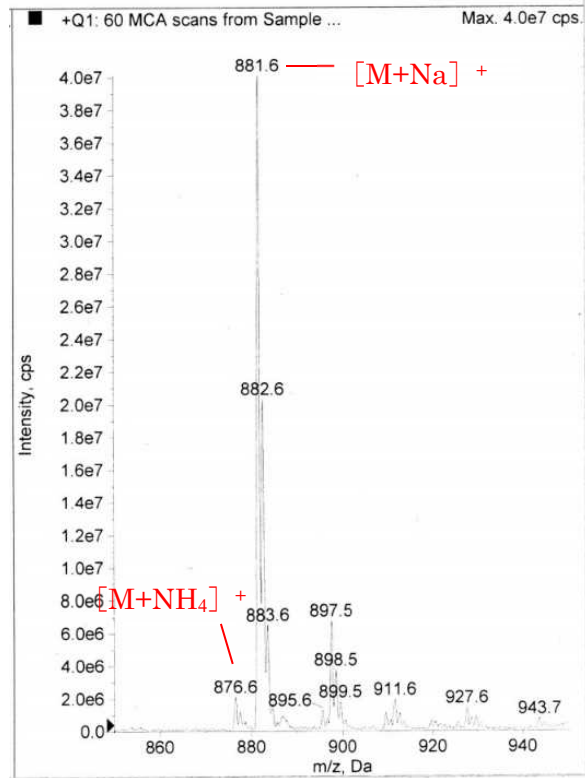


図 1-4 アバメクチン B<sub>1b</sub> (TRC) 標準品

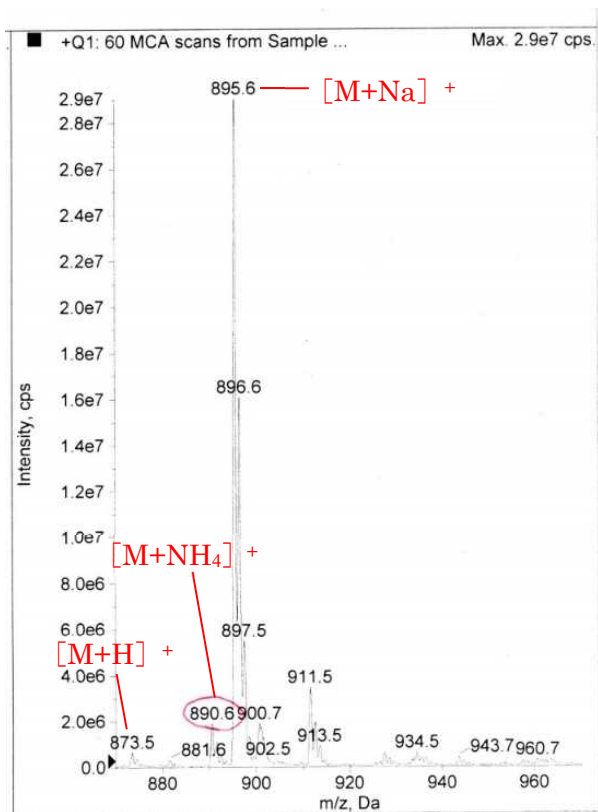


図 1-5 8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> (林純薬)  
標準品

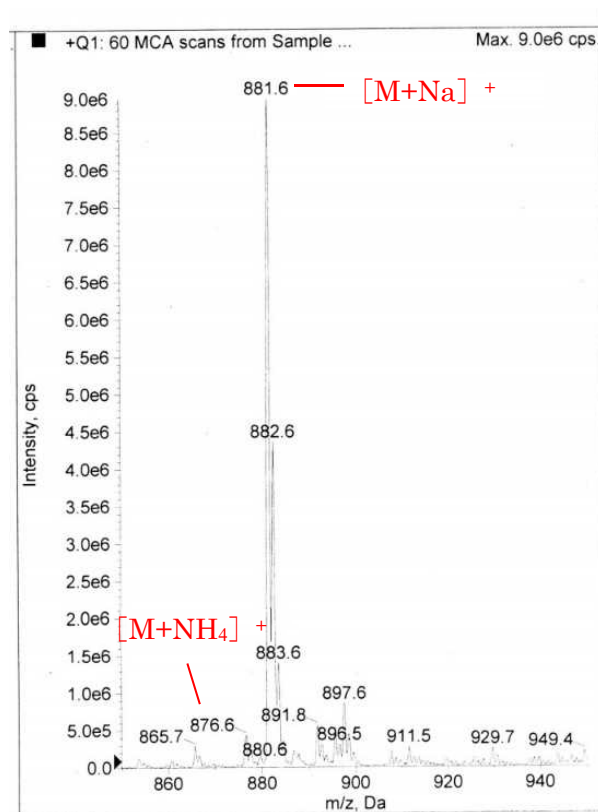


図 1-6 8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> (林純薬)  
標準品

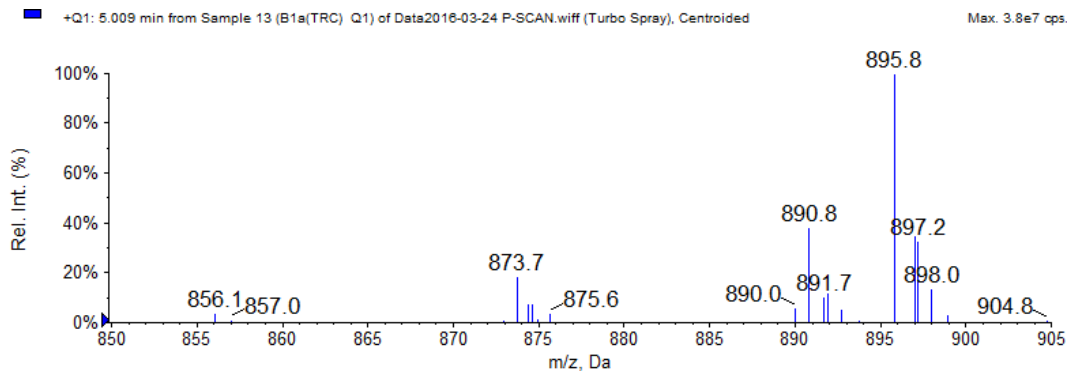


図2-1 アベルメクチンB<sub>1a</sub>のマススペクトル

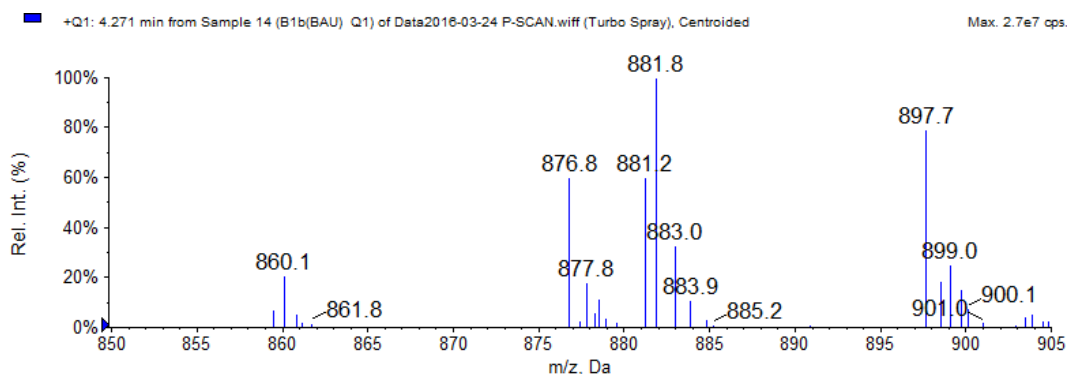


図2-2 アベルメクチンB<sub>1b</sub>のマススペクトル

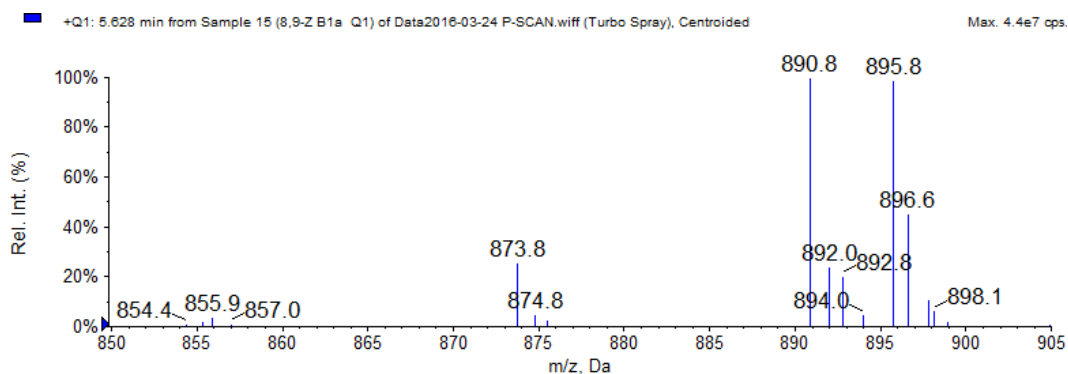


図2-3 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>のマススペクトル

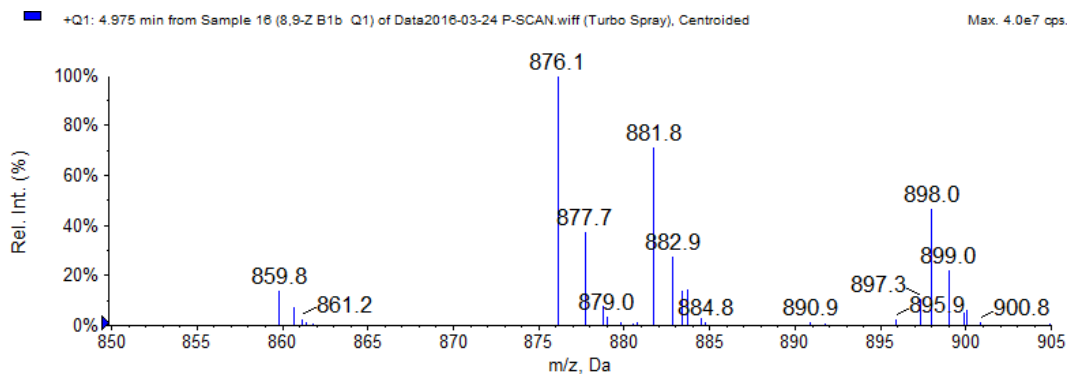


図2-4 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub>のマススペクトル

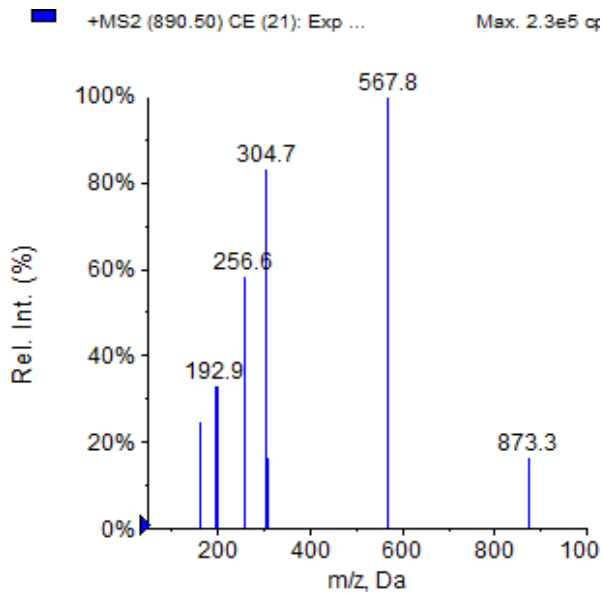


図3-1 アベルメクチンB<sub>1a</sub>の  
プロダクトイオンスペクトル (定量用)  
プリカーサーイオン :  $m/z$  891  
測定条件 : ESI(+), CE=21 V、DP=41V  
(CE : Collision energy、DP : Declustering Potential)  
アベルメクチンB<sub>1a</sub> : 10 mg/L

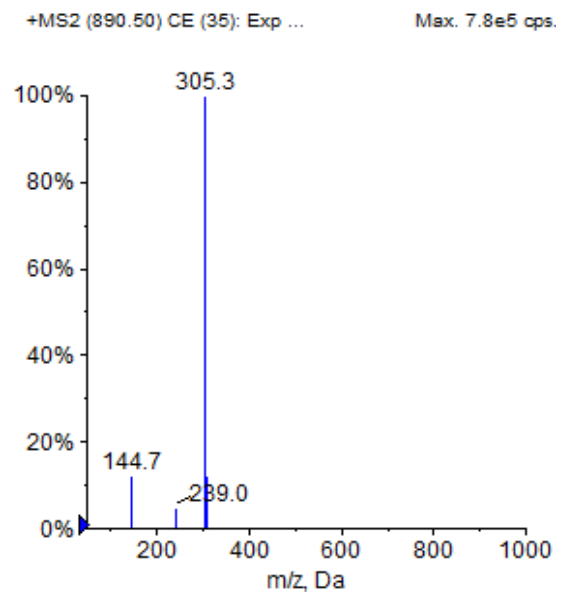


図3-2 アベルメクチンB<sub>1a</sub>の  
プロダクトイオンスペクトル (定性用)  
プリカーサーイオン :  $m/z$  891  
測定条件 : ESI(+), CE=35 V、DP=41V  
(CE : Collision energy、DP : Declustering Potential)  
アベルメクチンB<sub>1a</sub> : 10 mg/L

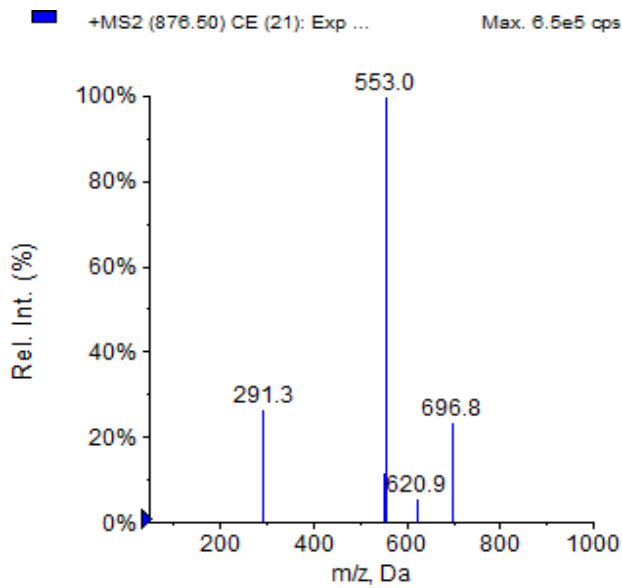


図3-3 アベルメクチンB<sub>1b</sub>の  
プロダクトイオンスペクトル (定量用)  
プリカーサーイオン :  $m/z$  877  
測定条件 : ESI(+), CE=21V、DP=41V  
(CE : Collision energy、DP : Declustering Potential)  
アベルメクチンB<sub>1b</sub> : 10 mg/L

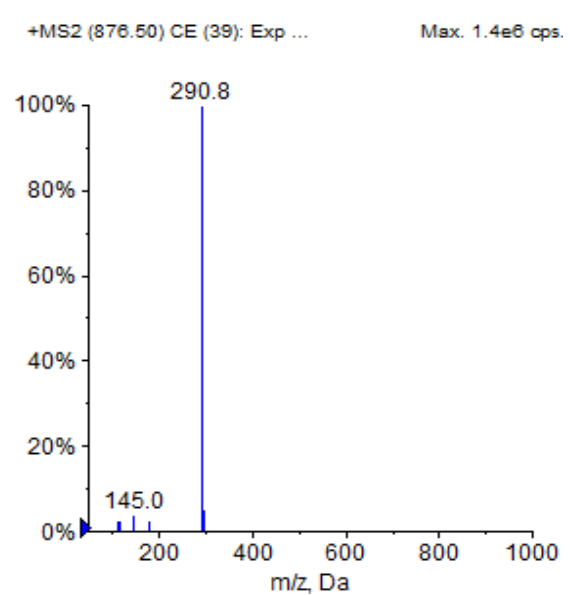


図3-4 アベルメクチンB<sub>1b</sub>の  
プロダクトイオンスペクトル (定性用)  
プリカーサーイオン :  $m/z$  877  
測定条件 : ESI(+), CE=39V、DP=41V  
(CE : Collision energy、DP : Declustering Potential)  
アベルメクチンB<sub>1b</sub> : 10 mg/L

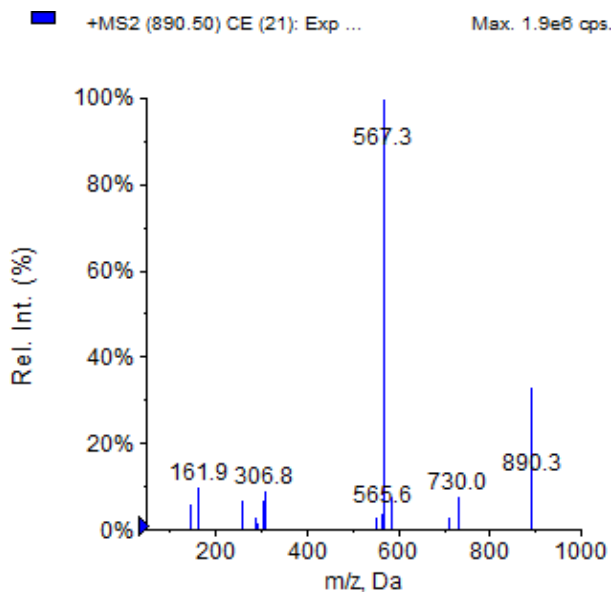


図3-5 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>の  
プロダクトイオンスペクトル (定量用)  
プリカーサーイオン :  $m/z$  891  
測定条件 : ESI(+), CE=21V、DP=41V  
(CE : Collision energy, DP : Declustering Potential)  
8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub> : 10 mg/L

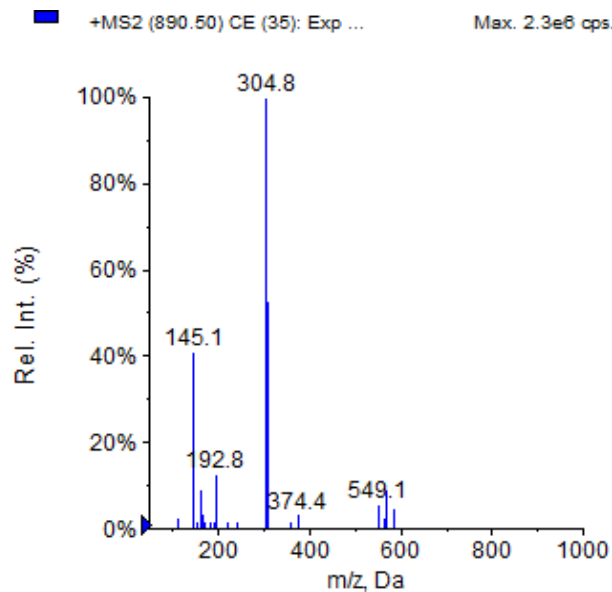


図3-6 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>の  
プロダクトイオンスペクトル (定性用)  
プリカーサーイオン :  $m/z$  891  
測定条件 : ESI(+), CE=35V、DP=41V  
(CE : Collision energy, DP : Declustering Potential)  
8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub> : 10 mg/L

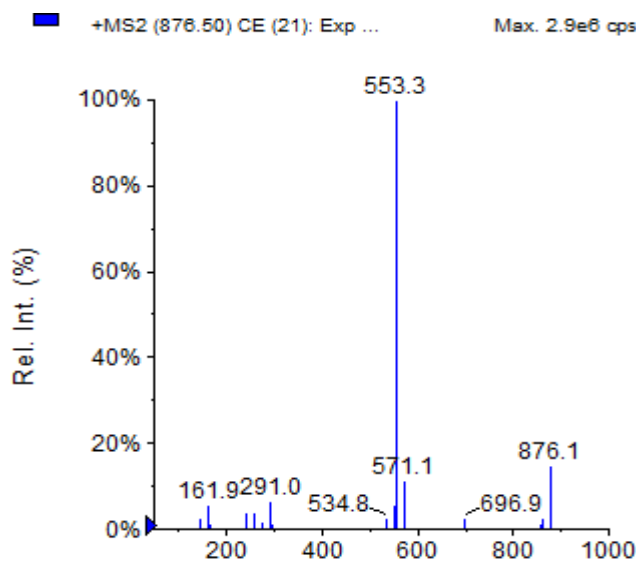


図3-7 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub>の  
プロダクトイオンスペクトル (定量用)  
プリカーサーイオン :  $m/z$  877  
測定条件 : ESI(+), CE=21V、DP=41V  
(CE : Collision energy, DP : Declustering Potential)  
8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub> : 10 mg/L

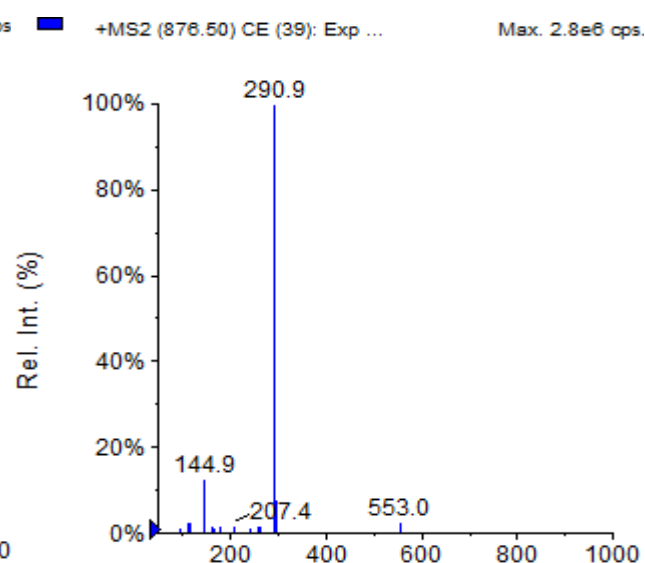


図3-8 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub>の  
プロダクトイオンスペクトル (定性用)  
プリカーサーイオン :  $m/z$  877  
測定条件 : ESI(+), CE=39V、DP=41V  
(CE : Collision energy, DP : Declustering Potential)  
8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub> : 10 mg/L

②分析カラムの検討

分析カラムについて、Inertsustain C18(2.1×150 mm、3 μm、GL Science 製)及び Inertsil ODS-4 (2.1×150 mm、3 μm、GL Science 製)、Kinetics (2.1×150 mm、5 μm、Phenomenex 製) 及び Ascentis Express C18 (2.1×150 mm、5 μm、SUPELCO 製) を用いた場合のピーク形状、分離、再現性、感度について検討を行った。検討に用いた分析カラムを用いて同一条件で測定したクロマトグラムを図 4-1～図 4-4 に示した。何れのカラムにおいても測定は可能であったが、充填剤の粒子形状、エンドキャッピング処理が高度に施されており、アベルメクチン B<sub>1a</sub> と 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub> のピーク分離度が最も高く、ピーク形状、分離能が優れていた InertSustain C18 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 μm : ジーエルサイエンス株式会社製) を使用することとした。

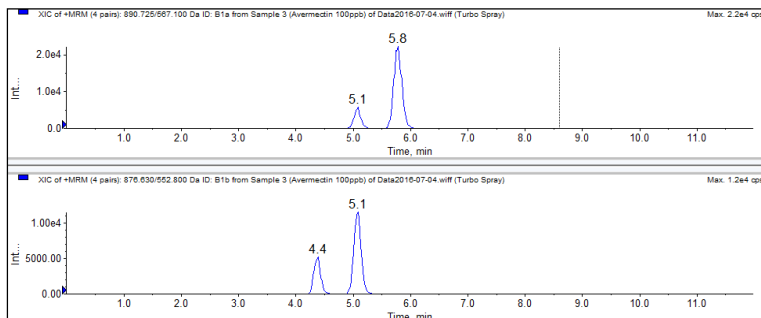


図 4-1  
GL-Science 製  
InertSustainC18(P)  
2.1 mm×150 mm (3 μm)  
B<sub>1a</sub>/8,9-ZB<sub>1a</sub> の分離度 : 3.60  
B<sub>1b</sub>/8,9-ZB<sub>1b</sub> の分離度 : 3.18

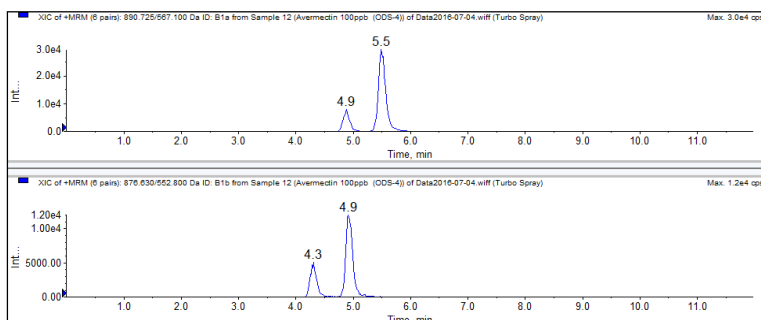


図 4-2  
GL-Science 製  
ODS-4  
2.1 mm×150 mm (3 μm)  
B<sub>1a</sub>/8,9-ZB<sub>1a</sub> の分離度 : 3.57  
B<sub>1b</sub>/8,9-ZB<sub>1b</sub> の分離度 : 3.33

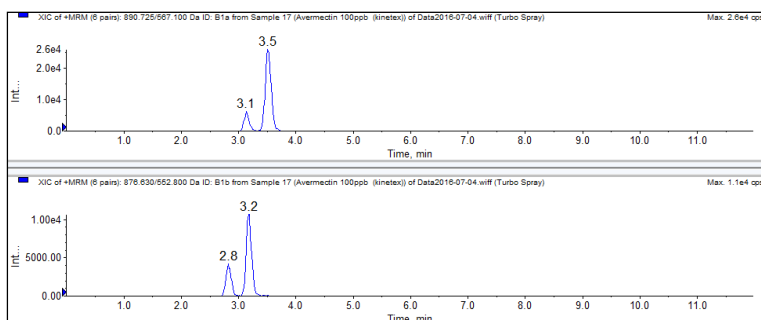


図 4-3  
Phenomenex 製  
Kinetics  
2.1 mm×150 mm (5 μm)  
B<sub>1a</sub>/8,9-ZB<sub>1a</sub> の分離度 : 3.43  
B<sub>1b</sub>/8,9-ZB<sub>1b</sub> の分離度 : 2.98

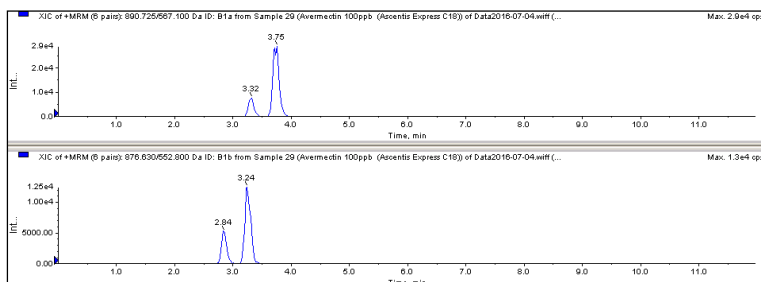


図 4-4  
SUPELCO 製  
Ascentis Express C18  
2.1 mm×150 mm (5 μm)  
B<sub>1a</sub>/8,9-ZB<sub>1a</sub> の分離度 : 3.50  
B<sub>1b</sub>/8,9-ZB<sub>1b</sub> の分離度 : 3.27



### ③移動相の検討

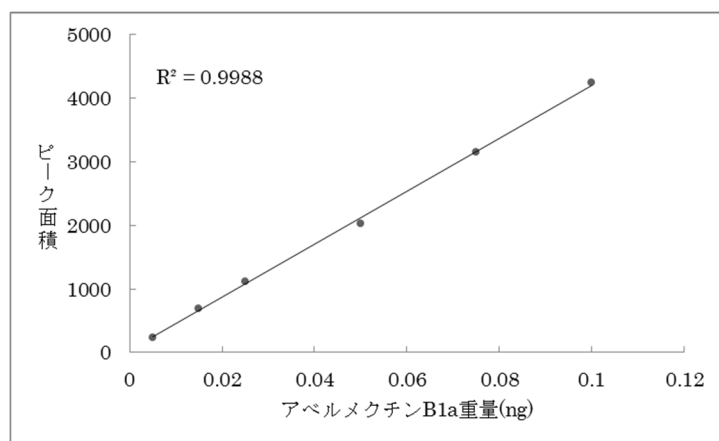
測定に用いるプリカーサーイオンとしてアンモニウム付加イオンを選択したことから、アンモニアイオン付加分子のイオン化効率を高めるために、5 mmol/L 酢酸アンモニウムを採用した。

5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム・アセトニトリル溶液の混液による溶出条件を検討した結果、リテンションタイム 4 分にアベルメクチン B<sub>1b</sub>、5 分にアベルメクチン B<sub>1a</sub> 及び 8,9-*Z*アベルメクチン B<sub>1b</sub>、約 6 分に 8,9-*Z*アベルメクチン B<sub>1a</sub> の良好なクロマトグラムが得られた、

5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム・アセトニトリル溶液の混液 (1 : 9) で 1 分間保持、(1 : 19) までの濃度勾配を 7 分間、(1 : 19) で 2 分間保持するグラジエント条件を採用した。

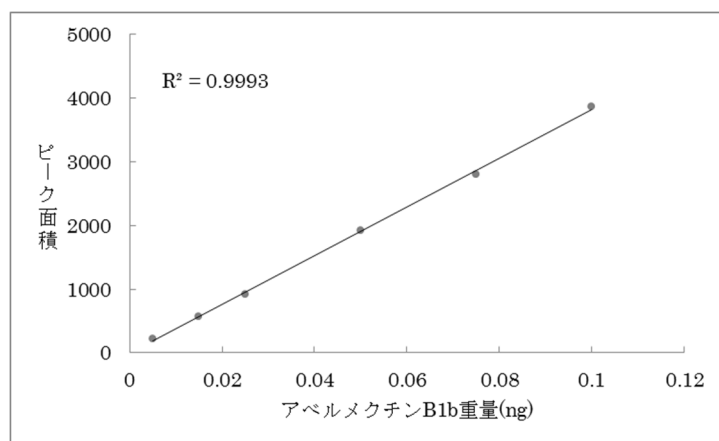
### (2) 検量線の直線性

0.001ppm から 0.02ppm に調製した標準溶液をそれぞれ 5  $\mu$ L (0.005 ng~0.1 ng) 注入し、検量線を作成した。図 5-1~図 5-4 に各標準品の検量線の例を示した。決定係数は、いずれも 0.999 に近似の値が得られており、良好な直線性を示した。



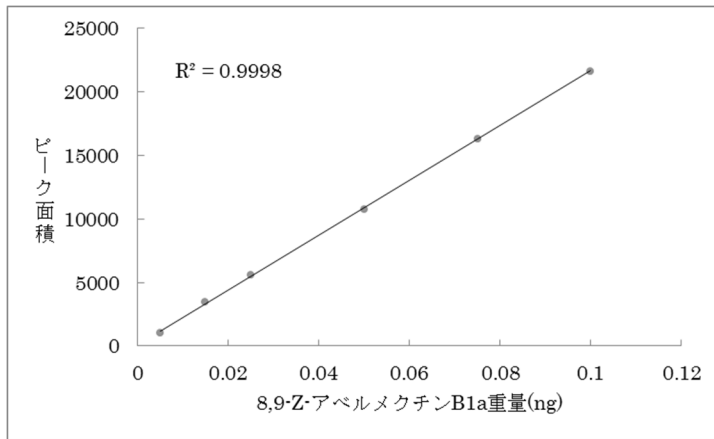
データ処理装置設定条件の一例  
データ処理ソフトウェア：Analyst (AB SCIEX 製)  
ピークの定量方法：ピーク面積法  
検量線の種類：最小二乗法  
検量線基準ピークの重量：0.005 ng~0.1 ng  
傾き (a) : a=41694  
切片 (b) : b=33.589  
R<sup>2</sup> : 0.9988

図 5-1 アベルメクチン B<sub>1a</sub> 検量線例 ( $m/z$  +890.8→567.1)



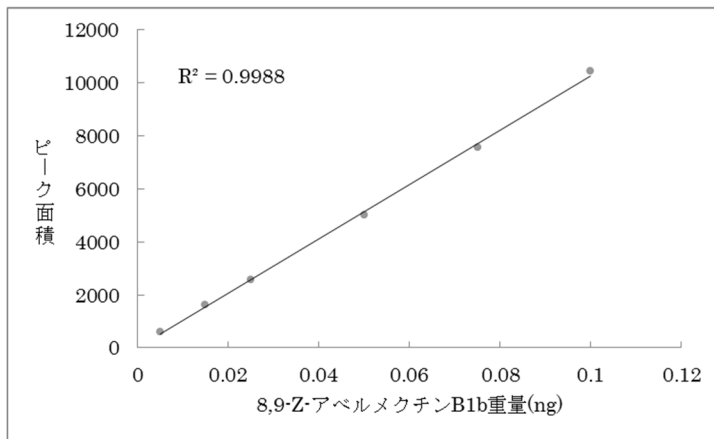
データ処理装置設定条件の一例  
データ処理ソフトウェア：Analyst (AB SCIEX 製)  
ピークの定量方法：ピーク面積法  
検量線の種類：最小二乗法  
検量線基準ピークの重量：0.005 ng~0.1 ng  
傾き (a) : a=38312  
切片 (b) : b=8.8286  
R<sup>2</sup> : 0.9993

図 5-2 アベルメクチン B<sub>1b</sub> 検量線例 ( $m/z$  +876.6→552.8)



データ処理装置設定条件の一例  
 データ処理ソフトウェア：Analyst (AB SCIEX 製)  
 ピークの定量方法：ピーク面積法  
 検量線の種類：最小二乗法  
 検量線基準ピークの重量：0.005 ng～0.1 ng  
 傾き (a) : a= 215886  
 切片 (b) : b=85.547  
 R<sup>2</sup> : 0.9998

図 5-3 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub> 検量線例 (m/z +890.7→567.1)



データ処理装置設定条件の一例  
 データ処理ソフトウェア：Analyst (AB SCIEX 製)  
 ピークの定量方法：ピーク面積法  
 検量線の種類：最小二乗法  
 検量線基準ピークの重量：0.005 ng～0.1 ng  
 傾き (a) : a= 102598  
 切片 (b) : b=20.972  
 R<sup>2</sup> : 0.9988

図 5-4 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub> 検量線例 (m/z +876.6→552.8)

(3) 定量限界

定量限界の算出結果を以下に示した。

$$\text{定量限界値 (mg/kg)} = \left[ \frac{\text{試験用量 (mL)}}{\text{試験溶液中の試料量(g)}} \right] \times \left[ \frac{\text{分析対象化合物の定量限界相当量(ng)}}{\text{注入量 (\mu L)}} \right]$$

穀類・豆類・種実類の場合@ : 0.005 mg/kg [(1 mL/1 g\*<sub>1</sub>) × (0.025 ng/5 μL)]

\*1 10.0 g × 10 mL/100 mL

野菜・果実の場合 : 0.00125 mg/kg [(1 mL/4 g\*<sub>2</sub>) × (0.025 ng/5 μL)]

\*2 20.0 g × 20 mL/100 mL

茶の場合 : 0.02 mg/kg [(1 mL/0.25 g\*<sub>3</sub>) × (0.025 ng/5 μL)]

\*3 5.0 g × 5 mL/100 mL

筋肉・肝臓の場合 : 0.005 mg/kg [(1 mL/1 g\*<sub>4</sub>) × (0.025 ng/5 μL)]

\*4 10.0 g × 10 mL/100 mL

脂肪・牛乳の場合 : 0.005 mg/kg [(1 mL/1 g\*<sub>5</sub>) × (0.025 ng/5 μL)]

\*5 5.0 g × 20 mL/100 mL

## 2. 試験溶液調製法の検討

### (1) 抽出方法の検討

アベルメクチンのオクタノール/水分配係数は4.4 (pH7.2) であり、溶解度の大きさはジクロロメタン>酢酸エチル>オクタノール>アセトン>トルエン>メタノール>ヘキサンの順となっている。アベルメクチンの高い脂溶性から、特に、畜産物中の脂肪組織からの抽出を考慮して、試料から抽出する溶媒として、アセトンを採用した。

アセトンに溶解させたアベルメクチン混合標準溶液を水20 mLに添加して抽出操作を行った。得られた抽出液からは、添加した標準物質の全量が回収されており、ろ過に用いたケイソウ土への吸着も見られなかった。抽出に用いるアセトンの溶媒量については、1回目50 mL、2回目25 mLを用いて抽出し、アセトンで100 mL定容とする方法を検討したところ、何れの試料においても概ね良好な結果が得られた。しかし、アバメクチンは比較的低極性の化合物であることから、脂質の多い試料においては、十分な溶媒量を用いた抽出が必要である。また、他の通知試験法との整合性も考慮し、何れの試料においても、1回目100 mL、2回目50 mLを用いて抽出し、アセトンで200 mL定容とする方法を採用した。

### (2) 転溶溶媒の検討

酢酸エチルへの転溶率を表2に示した。

水20 mLにアセトンを加えて100 mLとし、この溶液20 mLにアベルメクチン混合標準溶液 (1 µg/mL アセトン溶液) 1 mLを添加した溶液を試料溶液とした。この試料溶液を減圧濃縮してアセトンを除去した後、あらかじめ10 w/v%塩化ナトリウム溶液50 mLを入れた分液ロートに移した。酢酸エチル50 mLで3回転溶操作を繰り返し、それぞれの転溶操作での転溶率 (%) を求めた。2回の転溶操作で十分な回収率が得られたため、転溶回数は50 mLで2回を採用した。

表2 酢酸エチルへの転溶率 (%)

	1回目 (50mL)	2回目 (50mL)	3回目 (50mL)	合計
アベルメクチンB <sub>1a</sub>	96	tr	0	96
アベルメクチンB <sub>1b</sub>	101	tr	0	101
8,9-Z-アベルメクチンB <sub>1a</sub>	94	tr	0	94
8,9-Z- -アベルメクチンB <sub>1b</sub>	97	tr	0	97

tr: : trace (微量、検出限界未満)

### (3) 脱脂方法の検討

アセトニトリル/ヘキサン分配について検討した。

アセトニトリル/ヘキサン分配による回収率を表3に示した。

アベルメクチン混合標準溶液 (1 µg/mL アセトン溶液) 1 mLをなすフラスコに採り、窒素乾固後 *n*-ヘキサン 30 mLに溶解し、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mLで3回抽出した。1回目の抽出で90%以上の良好な回収率が得られているが、3回目まで微量に検出されていることから、*n*-ヘキサン及び *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 1:1の比率で3回抽出を採用した。

表3 アセトニトリル/ヘキサン分配 (%)

	1回目	2回目	3回目	合計
アベルメクチンB <sub>1a</sub>	91	2	tr	93
アベルメクチンB <sub>1b</sub>	101	tr	tr	101
8,9-Z-アベルメクチンB <sub>1a</sub>	90	3	tr	93
8,9-Z-アベルメクチンB <sub>1b</sub>	91	3	tr	94

#### (4) カラム精製の検討

##### 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カラムクロマトグラフィーからの溶出状況を表4に示した。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムをアセトニトリル10 mLで予備洗浄した後、アベルメクチン混合標準溶液 2 mL (1 µg/mL) を負荷し、アセトニトリル20 mLで溶出した。負荷後、8 mLで約90%が溶出され、20 mLでほぼ全量が溶出する良好な回収率が得られた。

表4 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からの溶出状況 (%)

	0-4 mL	4-8 mL	8-12 mL	12-16 mL	16-20 mL	合計
アベルメクチンB <sub>1a</sub>	15	77	4	2	2	99
アベルメクチンB <sub>1b</sub>	31	60	3	2	2	98
8,9-Z-アベルメクチンB <sub>1a</sub>	2	84	7	1	1	94
8,9-Z-アベルメクチンB <sub>1b</sub>	8	85	4	1	1	99

##### ②グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムからの溶出状況を表5に示した。

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムをアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液10 mLで予備洗浄した後、アベルメクチン混合標準溶液 2 mL (1 µg/mL) を負荷し、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液25 mLで溶出した。負荷後、16 mLで約90%が溶出され、25 mLでほぼ全量が溶出する良好な回収率が得られた。

表5 グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム  
クロマトグラフィーからの溶出状況 (%)

	0-4 mL	4-8 mL	8-12 mL	12-16 mL	16-20 mL	20-25 mL	合計
アベルメクチンB <sub>1a</sub>	1	1	20	63	18	tr	102
アベルメクチンB <sub>1b</sub>	1	1	44	49	8	tr	102
8,9-Z-アベルメクチンB <sub>1a</sub>	1	13	76	10	2	tr	103
8,9-Z-アベルメクチンB <sub>1b</sub>	1	14	72	10	2	tr	99

### 3. 添加回収試験

#### (1) 選択性

定量限界値濃度で添加した試料については、測定時の試料溶液中の試料重量が、玄米、大豆については試料1 g/mL、ほうれんそう、ねぎ、ばれいしょ、オレンジ、りんごについては試料4 g/mL、茶については試料0.25 g/mL、牛筋肉、牛脂肪、牛肝臓、牛乳については試料1 g/mLとなるブランク試料溶液で評価した。基準値濃度で添加した試料については、添加した標準物質濃度が5 ppb相当となる希釈倍率 (2倍～80倍希釈) で希釈したブランク試料溶液で評価した。その結果、農産物及び畜産物の何れの試料においても、定量を妨害するピークは認められず、選択性の評価基準に適合していた。

#### (2) 真度、精度及び定量限界

玄米、大豆、ほうれんそう、ねぎ、ばれいしょ、オレンジ、りんご、茶、牛筋肉、牛脂肪、牛肝臓及び牛乳の12品目を試料として、基準値濃度及び定量限界濃度となるように標準物質を添加して回収試験を行った。その結果を、表6-1～表6-8に示した。

基準値濃度で添加した試料では、ねぎ及び茶において回収率が低い傾向が認められたが、定量限界値濃度で添加した試料では、何れも真度及び併行精度の評価目標値に適合していた。

表6-1 アベルメクチンB<sub>1a</sub>の添加回収試験結果（基準値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5		
玄米	0.01	77	72	96	100	89	87	13.6
大豆	0.01	84	85	94	92	91	89	4.8
ほうれんそう	0.01	81	88	93	84	83	86	5.6
ねぎ	0.1	60	69	70	77	61	68	10.7
ばれいしょ	0.01	71	77	80	92	85	81	9.7
オレンジ	0.01	83	92	85	86	78	85	6.0
りんご	0.02	90	84	89	90	94	89	4.1
茶	1	70	73	76	71	72	72	3.4
牛筋肉	0.01	70	88	79	87	86	82	9.5
牛脂肪	0.1	79	93	100	84	72	85	12.9
牛肝臓	0.1	82	90	82	76	85	83	6.1
牛乳	0.02	95	95	88	81	76	87	9.8

表6-2 アベルメクチンB<sub>1a</sub>の添加回収試験結果（定量限界値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5		
玄米	0.005	83	84	77	83	85	82	3.6
大豆	0.005	85	78	68	71	80	76	8.9
ほうれんそう	0.00125	107	95	91	88	95	95	7.9
ねぎ	0.00125	94	98	90	89	88	92	4.5
ばれいしょ	0.00125	89	94	84	88	91	89	4.3
オレンジ	0.00125	93	96	94	103	97	97	3.8
りんご	0.00125	88	86	96	95	99	93	6.0
茶	0.02	96	94	82	105	114	98	12.2
牛筋肉	0.005	99	92	94	97	91	94	3.4
牛脂肪	0.005	107	103	94	102	100	101	4.9
牛肝臓	0.005	94	93	97	92	102	96	4.1
牛乳	0.005	95	98	94	102	104	99	4.2

表6-3 アベルメクチンB<sub>1b</sub>の添加回収試験結果（基準値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5		
玄米	0.01	94	87	85	80	93	88	6.6
大豆	0.01	93	112	102	103	94	101	7.8
ほうれんそう	0.01	83	81	80	80	71	79	5.7
ねぎ	0.1	92	70	82	79	87	82	10.1
ばれいしょ	0.01	78	81	75	83	82	80	4.2
オレンジ	0.01	85	77	82	81	83	81	3.5
りんご	0.02	99	93	110	89	95	97	8.1
茶	1	84	81	83	80	82	82	2.3
牛筋肉	0.01	76	81	71	83	83	79	6.7
牛脂肪	0.1	89	90	77	90	78	85	7.9
牛肝臓	0.1	91	76	74	77	89	81	10.2
牛乳	0.02	83	75	96	95	81	86	10.6

表6-4 アベルメクチンB<sub>1b</sub>の添加回収試験結果（定量限界値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5		
玄米	0.005	92	83	85	81	81	85	5.4
大豆	0.005	88	79	83	70	69	78	10.5
ほうれんそう	0.00125	90	85	99	95	90	92	5.6
ねぎ	0.00125	104	96	104	97	104	101	3.9
ばれいしょ	0.00125	91	84	87	88	91	88	3.7
オレンジ	0.00125	87	102	99	90	97	95	6.5
りんご	0.00125	92	82	89	89	94	89	5.0
茶	0.02	112	99	90	98	98	99	8.2
牛筋肉	0.005	96	92	89	96	92	93	3.2
牛脂肪	0.005	90	87	89	89	92	90	2.2
牛肝臓	0.005	96	104	99	110	107	103	5.4
牛乳	0.005	95	102	110	92	90	98	8.4

表6-5 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>の添加回収試験結果（基準値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5		
玄米	0.01	95	94	95	101	101	97	3.7
大豆	0.01	84	96	94	84	89	90	6.2
ほうれんそう	0.01	68	72	73	86	77	75	9.1
ねぎ	0.1	71	68	68	78	67	71	6.4
ばれいしょ	0.01	71	74	73	73	74	73	1.5
オレンジ	0.01	86	78	79	82	76	80	4.9
りんご	0.02	80	83	83	78	85	82	3.4
茶	1	91	91	98	96	96	94	3.5
牛筋肉	0.01	84	89	91	95	91	90	4.1
牛脂肪	0.1	86	84	87	89	89	87	2.7
牛肝臓	0.1	78	79	81	82	87	81	4.7
牛乳	0.02	87	83	87	88	85	86	2.2

表6-6 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>の添加回収試験結果（定量限界値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5		
玄米	0.005	85	86	80	89	87	85	3.8
大豆	0.005	75	74	80	80	81	78	3.9
ほうれんそう	0.00125	96	92	83	91	89	90	5.3
ねぎ	0.00125	80	85	77	79	79	80	3.7
ばれいしょ	0.00125	72	73	73	74	79	74	4.1
オレンジ	0.00125	92	97	99	100	94	96	3.6
りんご	0.00125	102	98	94	91	96	96	4.4
茶	0.02	90	94	95	87	89	91	3.8
牛筋肉	0.005	99	97	100	98	97	98	1.2
牛脂肪	0.005	97	96	96	97	96	96	0.7
牛肝臓	0.005	93	100	98	94	96	96	3.0
牛乳	0.005	96	89	85	95	96	92	5.4

表6-7 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub>の添加回収試験結果（基準値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5		
玄米	0.01	88	102	103	108	111	102	8.6
大豆	0.01	84	88	83	84	84	85	2.5
ほうれんそう	0.01	78	83	82	79	78	80	3.0
ねぎ	0.1	72	63	75	77	70	71	7.5
ばれいしょ	0.01	71	60	64	75	74	69	9.3
オレンジ	0.01	88	85	86	89	89	88	2.1
りんご	0.02	91	95	89	89	80	89	6.2
茶	1	82	86	82	83	87	84	2.9
牛筋肉	0.01	90	86	86	89	85	87	2.8
牛脂肪	0.1	81	67	78	73	70	74	8.0
牛肝臓	0.1	82	73	82	76	73	77	6.0
牛乳	0.02	85	81	94	87	87	87	5.4

表6-8 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub>の添加回収試験結果（定量限界値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5		
玄米	0.005	80	87	83	86	82	83	3.3
大豆	0.005	76	73	74	84	74	76	5.8
ほうれんそう	0.00125	90	94	86	91	88	90	3.5
ねぎ	0.00125	87	87	87	81	80	84	4.0
ばれいしょ	0.00125	77	71	79	77	74	75	3.9
オレンジ	0.00125	92	99	98	93	91	95	3.8
りんご	0.00125	103	91	93	102	101	98	5.9
茶	0.02	102	88	85	92	95	92	7.0
牛筋肉	0.005	87	88	88	88	88	88	0.7
牛脂肪	0.005	101	99	96	95	96	97	2.6
牛肝臓	0.005	89	89	87	91	92	90	2.2
牛乳	0.005	97	91	94	94	92	94	2.5



(3) 試料マトリックスの測定への影響

各食品のマトリックス溶液に基準値濃度及び定量限界濃度となるようにブランク試料の試験溶液で調製した標準溶液及び溶媒で調製した標準溶液をそれぞれ作成し、マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積の比を求めてマトリックスの測定への影響を確認した。その結果を、表7-1～表7-2に示した。定量限界値濃度では、牛肝臓のアベルメクチンB<sub>1a</sub>で1.33とやや高め、同じく牛乳のアベルメクチンB<sub>1b</sub>で0.79とやや低めの値となったが、その他については、大きな影響は認められなかった。

表7-1 試料マトリックスの測定への影響（基準値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	avermectin B <sub>1a</sub>	avermectin B <sub>1b</sub>	8,9-Z- avermectin B <sub>1a</sub>	8,9-Z-avermectin B <sub>1b</sub>
玄米	0.01	1.02	1.00	0.98	1.06
大豆	0.01	0.94	1.04	0.93	1.00
ほうれんそう	0.01	0.96	0.97	1.03	0.95
ねぎ	0.1	0.92	0.95	1.02	1.07
ばれいしょ	0.01	1.02	1.02	1.04	0.99
オレンジ	0.01	1.06	0.94	0.97	0.99
りんご	0.02	1.09	0.91	1.02	1.04
茶	1	0.92	0.96	1.02	0.92
牛筋肉	0.01	0.87	0.90	0.90	0.96
牛脂肪	0.01	1.00	0.84	0.93	0.96
牛肝臓	0.01	0.91	0.97	1.00	0.97
牛乳	0.01	1.06	0.94	0.95	0.97

表7-2 試料マトリックスの測定への影響（定量限界値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	avermectin B <sub>1a</sub>	avermectin B <sub>1b</sub>	8,9-Z- avermectin B <sub>1a</sub>	8,9-Z-avermectin B <sub>1b</sub>
玄米	0.005	0.96	0.80	0.81	0.91
大豆	0.005	0.94	0.85	0.83	0.77
ほうれんそう	0.00125	0.96	0.90	1.01	0.89
ねぎ	0.00125	0.98	1.03	0.86	0.90
ばれいしょ	0.00125	0.96	0.94	0.94	0.97
オレンジ	0.00125	0.94	0.89	0.90	0.98
りんご	0.00125	1.02	0.99	1.01	0.98
茶	0.02	0.98	0.94	0.81	0.74
牛筋肉	0.005	0.90	0.88	0.83	0.93
牛脂肪	0.005	0.94	0.83	0.82	0.90
牛肝臓	0.005	1.33	1.10	0.94	0.94
牛乳	0.005	0.83	0.79	0.85	0.89

〔結論〕

農産物では、何れの試料もアセトンで抽出し、酢酸エチルに転溶した後、野菜・果実についてはその

ま、穀類・豆類等についてはアセトニトリル/ヘキサン分配により脱脂後、茶についてはオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製後、いずれもグラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製し、LC-MS/MS で定量及び確認する方法を提案する。また、畜産物では、何れの試料もアセトンで抽出し、酢酸エチルに転溶した後、アセトニトリル/ヘキサン分配により脱脂し、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、LC-MS/MS で定量及び確認する方法を提案する。

#### 4. その他の試験法検討に関連する事項

##### (1) 各標準品の純度の検討

国内の試薬メーカーを通じて購入した標準品を表 8 に示した。

アバメクチン標準品は、アベルメクチン B<sub>1a</sub> 及びアベルメクチン B<sub>1b</sub> の混合物として、その他の標準品は、それぞれ純品として市販されているものを購入した。

表 8 検討に用いたアベルメクチン標準品

	製造元	取り扱い先	容量	純度
アバメクチン標準品	Dr.Ehrenstorfer 製	関東化学	250mg	94.5%
アベルメクチンB <sub>1a</sub> 標準品	Chem Scene 製 (CEM)	フナコシ	5mg	>95%
アベルメクチンB <sub>1a</sub> 標準品	Tront Research chemicals 製 (TRC)	フナコシ	1g	97%
アベルメクチンB <sub>1b</sub> 標準品	Bioaustralia 製 (BAU)	フナコシ	2.5mg	>99%
8,9-Z-アベルメクチンB <sub>1a</sub> 標準品	林純薬工業	林純薬工業	10mg	99.1%
8,9-Z-アベルメクチンB <sub>1b</sub> 標準品	林純薬工業	林純薬工業	5mg	95.4%

各標準品に表示されている純度から 100%相当濃度となる量を精密に量り取り 1 µg/mL 標準溶液をそれぞれ調製した。これらの標準溶液を用いて他の標準溶液に含まれるアベルメクチン B<sub>1a</sub>、アベルメクチン B<sub>1b</sub>、8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub> 及び 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub> の含量 (%) を求めた。その結果を表 9 に示した。

この結果から、アベルメクチン B<sub>1a</sub> 標準品には、混合物であるアバメクチン標準品と同程度のアベルメクチン B<sub>1b</sub> を含んでいることが判明した。また、代謝物である 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub> 標準品及び 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub> 標準品においても、アベルメクチン B<sub>1a</sub> 及びアベルメクチン B<sub>1b</sub> が含まれていた。

これらの標準品を用いて混合標準溶液を調製すると標準液濃度に正の誤差を与えることから、正確な定量値を求める場合には、より純度の高い標準品を入手する必要がある。入手が困難な場合には、単一の標準物質で検量線を作成して定量する必要がある。

表9 各標準品の純度 (%)

	B <sub>1a</sub>	B <sub>1b</sub>	8,9-Z- B <sub>1a</sub>	8,9-Z- B <sub>1b</sub>
アバメクチン標準品	94.5 (表示値)	4.8	N.D.	N.D.
アベルメクチン B <sub>1a</sub> 標準品(CEM)	>95 (表示値)	2.2	N.D.	N.D.
アベルメクチン B <sub>1a</sub> 標準品(TRC)	97 (表示値)	4.1	N.D.	N.D.
アベルメクチン B <sub>1b</sub> 標準品(BAU)	N.D.	>99 (表示値)	N.D.	N.D.
8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1a</sub> 標準品	0.8	N.D.	99.1 (表示値)	N.D.
8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1b</sub> 標準品	3.8	3.4	0.5	95.4 (表示値)

## (2) 各標準溶液の経時安定性の検討

アベルメクチンの緩衝液（リン酸緩衝液、pH 7）中での光照射による推定半減期は、SFO モデル（Simple First Order Kinetics Model）により算出したところ、1.0 日（東京春換算5.0日）であり、光照射により、アベルメクチン骨格の8,9 位の異性化による代謝物8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>、8a位の酸化による代謝物8aオキソ-アベルメクチンB<sub>1a</sub>への変換のほか、多くの分解物に変換されるとの報告<sup>1)</sup>がある。また、国内試薬メーカーから販売されているアバメクチン代謝物標準品には、酸化防止剤として0.1%BHTが添加されており、分解若しくは異性化による濃度変化が懸念されていることから、本試験実施中におけるアベルメクチンの安定性について検討した。

アベルメクチン B<sub>1a</sub>、アベルメクチン B<sub>1b</sub>、8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub> 及び 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub> をそれぞれアセトニトリルで希釈して 0.1 µg/mL とした溶液について、遮光して 5°C に調節した冷蔵庫で及び常温の実験室内に保管し、調製後 7 日後及び 30 日後の濃度測定を行った。

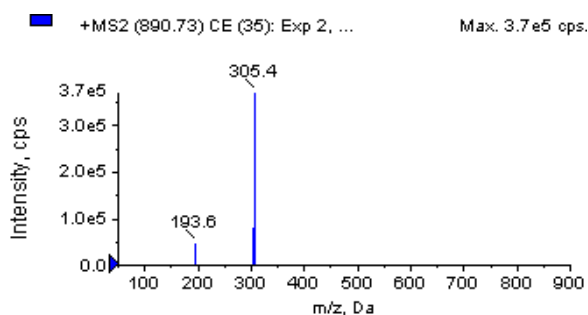
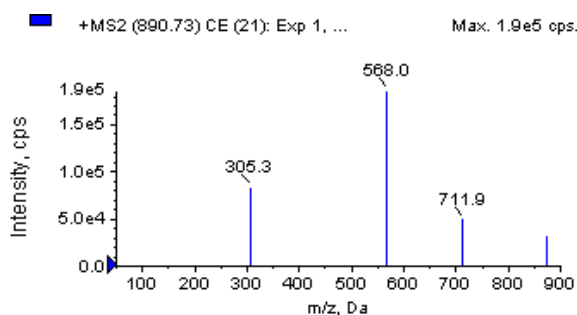
この結果、何れも顕著な濃度変化は認められなかった。

## 参考文献

1) アバメクチン審査報告書、農林水産省消費・安全局農産安全管理課、独立行政法人農林水産消費安全技術センター（平成 25 年 10 月 22 日）

(1) 標準品のプロダクトイオンスペクトル

アベルメクチン B<sub>1a</sub> (CEM)



アベルメクチン B<sub>1a</sub> (TRC)

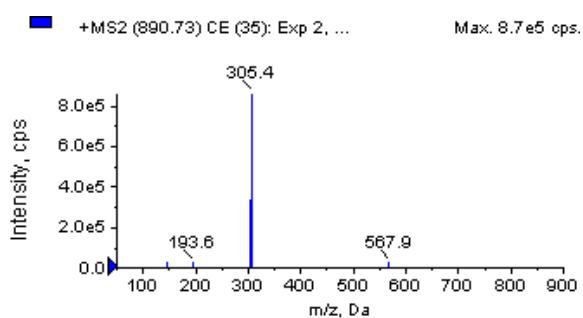
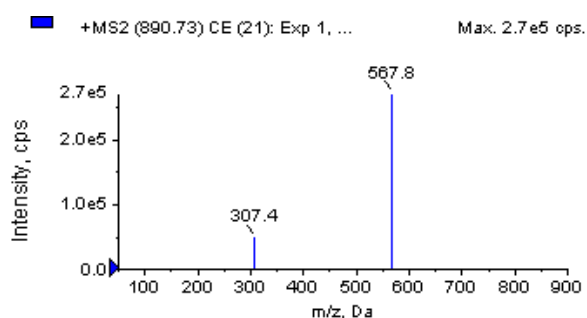


図6-1 アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
プロダクトイオンスペクトル (定量用)  
プリカーサーイオン :  $m/z$  891  
測定条件 : ESI(+), CE=21 V、DP=41V  
(CE : Collision energy、DP : Declustering Potential)  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> : 10 mg/L

図6-2 アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
プロダクトイオンスペクトル (定性用)  
プリカーサーイオン :  $m/z$  891  
測定条件 : ESI(+), CE=35 V、DP=41V  
(CE : Collision energy、DP : Declustering Potential)  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> : 10 mg/L

アベルメクチン B<sub>1b</sub> (BAU)

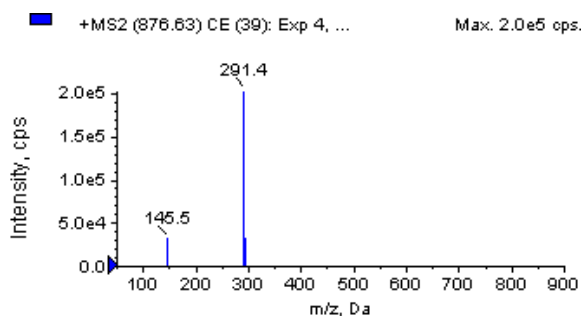
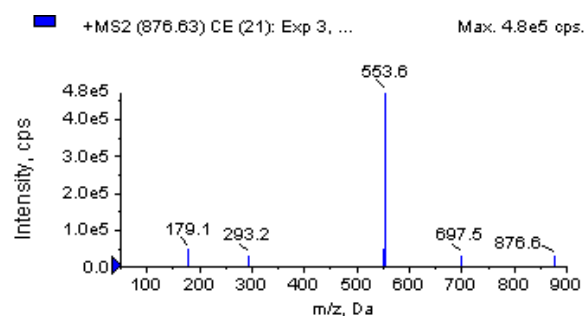


図6-3 アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
プロダクトイオンスペクトル (定量用)

プリカーサーイオン :  $m/z$  877  
測定条件 : ESI(+), CE=21V、DP=41V  
(CE : Collision energy、DP : Declustering Potential)  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> : 10 mg/L

図6-4 アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
プロダクトイオンスペクトル (定性用)

プリカーサーイオン :  $m/z$  877  
測定条件 : ESI(+), CE=39V、DP=41V  
(CE : Collision energy、DP : Declustering Potential)  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> : 10 mg/L

## 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub>

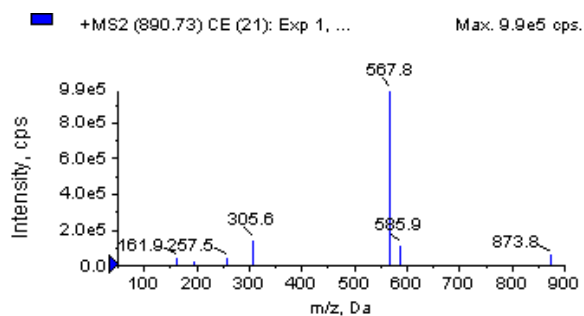


図6-5 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>のプロダクトイオンスペクトル (定量用)

プリカーサーイオン :  $m/z$  890.5  
 測定条件 : ESI(+), CE=21V、DP=41V  
 (CE: Collision energy, DP:Declustering Potential)  
 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub> : 10 mg/L

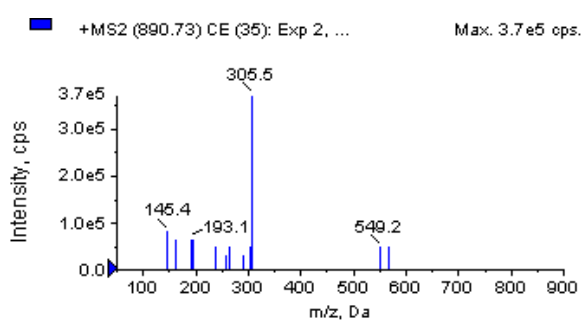


図6-6 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>のプロダクトイオンスペクトル (定性用)

プリカーサーイオン :  $m/z$  890.5  
 測定条件 : ESI(+), CE=35V、DP=41V  
 (CE: Collision energy, DP:Declustering Potential)  
 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub> : 10 mg/L

## 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub>

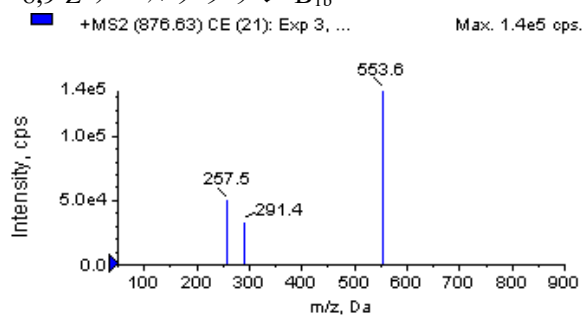


図6-7 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub>のプロダクトイオンスペクトル (定量用)

プリカーサーイオン :  $m/z$  876.5  
 測定条件 : ESI(+), CE=21V、DP=41V  
 (CE: Collision energy, DP:Declustering Potential)  
 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub> : 10 mg/L

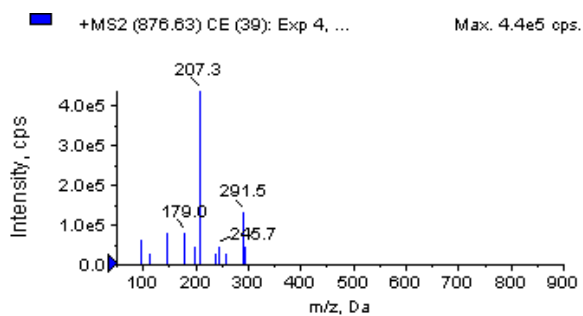
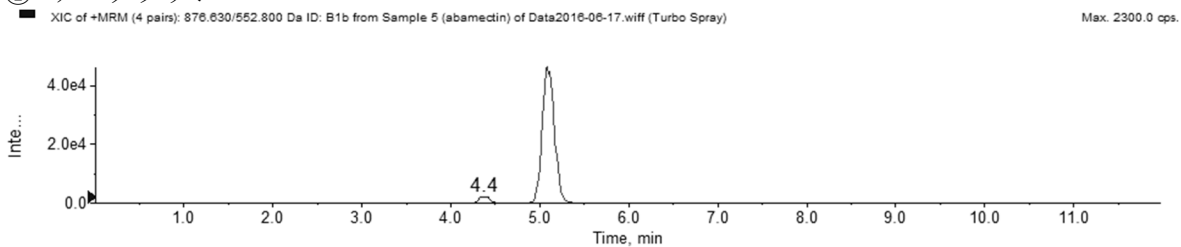


図6-8 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub>のプロダクトイオンスペクトル (定性用)

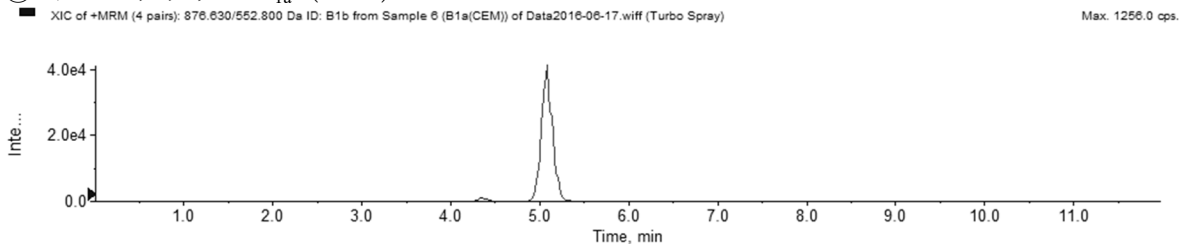
プリカーサーイオン :  $m/z$  876.5  
 測定条件 : ESI(+), CE=39V、DP=41V  
 (CE: Collision energy, DP:Declustering Potential)  
 8,9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub> : 10 mg/L

(2) 標準品のクロマトグラム

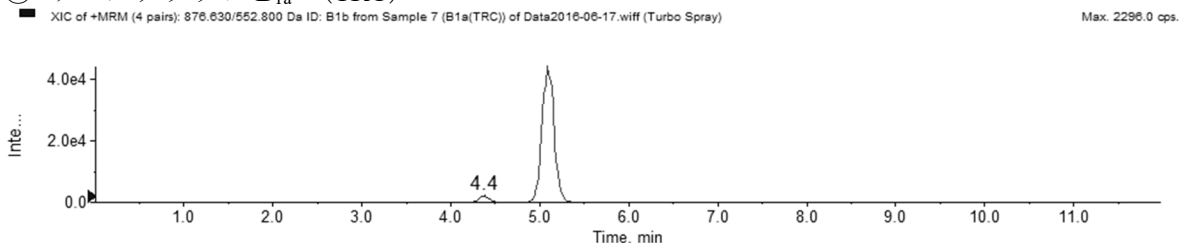
① アバメクチン



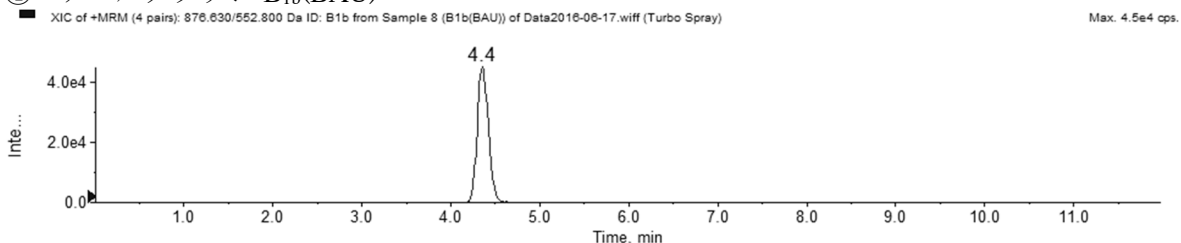
② アベルメクチン B<sub>1a</sub> (CEM)



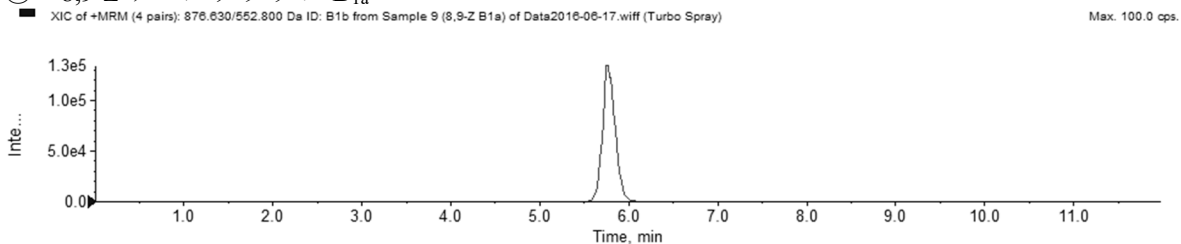
③ アベルメクチン B<sub>1a</sub> (TRC)



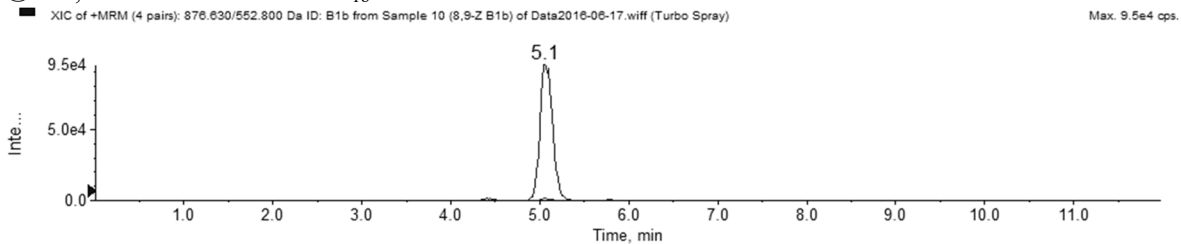
④ アベルメクチン B<sub>1b</sub>(BAU)



⑤ 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub>

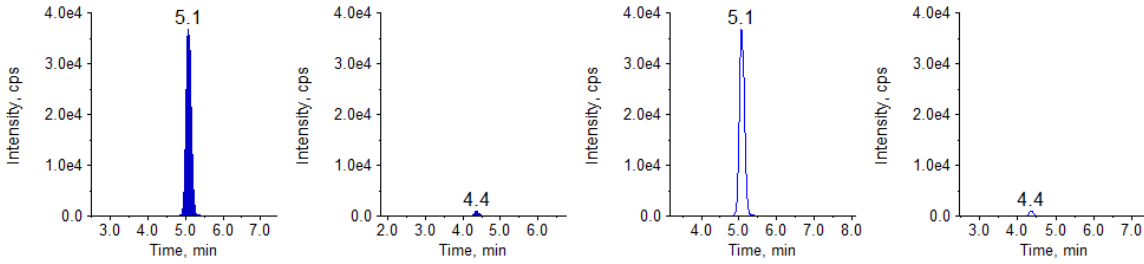


⑥ 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub>



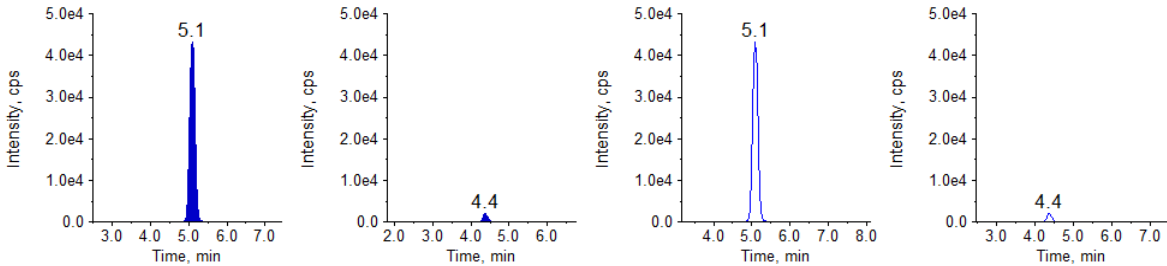
### アベルメクチン B<sub>1a</sub> (CEM)

■ B1a(CEM) - B1a (Unknown) 890.725/5. Area: 356260. counts Height: 3.71e+...  
■ B1a(CEM) - B1b (Unknown) 876.630/552.80. Area: 8988.5 counts Height: 1.09e+003 c.  
■ B1a(CEM) - 8,9-Z B1a (Unknown) 890.725/5. Area: 774.92 counts Height: 6.58e+001 c.  
■ B1a(CEM) - 8,9-Z B1b (Unknown) 876.630/5. Area: 186.82 counts Height: 2.35e+001 cp



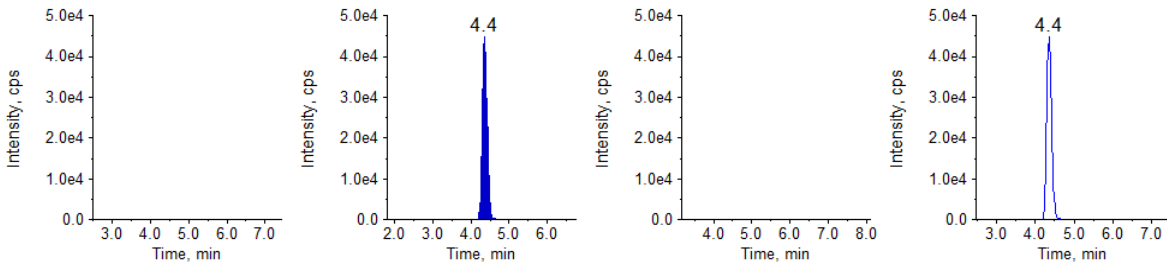
### アベルメクチン B<sub>1a</sub> (TRC)

■ B1a(TRC) - B1a (Unknown) 890.725/567.10. Area: 425350. counts Height: 4.31e+004.  
■ B1a(TRC) - B1b (Unknown) 876.630/552.80. Area: 17750. counts Height: 2.03e+003 c.  
■ B1a(TRC) - 8,9-Z B1a (Unknown) 890.725/5. Area: 599.82 counts Height: 7.61e+001 c.  
■ B1a(TRC) - 8,9-Z B1b (Unknown) 876.630/55. Area: 308.79 counts Height: 3.46e+001 cp



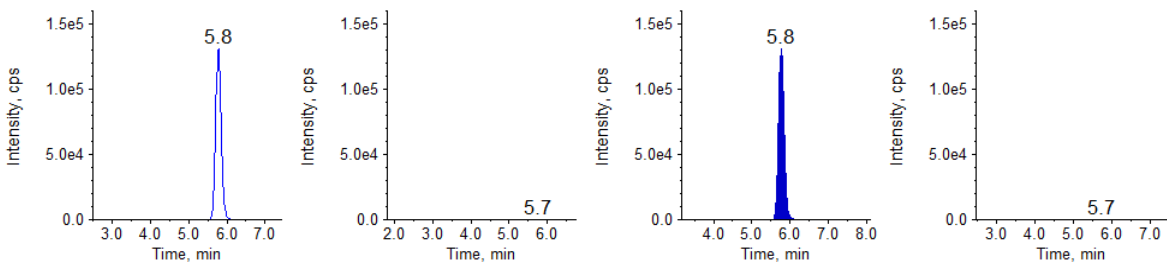
### ④ アベルメクチン B<sub>1b</sub>(BAU)

■ B1b(BAU) - B1a (Unknown) 890.725/5. Area: 215.62 counts Height: 2.36e+0...  
■ B1b(BAU) - B1b (Unknown) 876.630/552.80. Area: 398200. counts Height: 4.48e+004.  
■ B1b(BAU) - 8,9-Z B1a (Unknown) 890.725/5. Area: 16.691 counts Height: 3.57e+000 c.  
■ B1b(BAU) - 8,9-Z B1b (Unknown) 876.630/55. (peak not found)



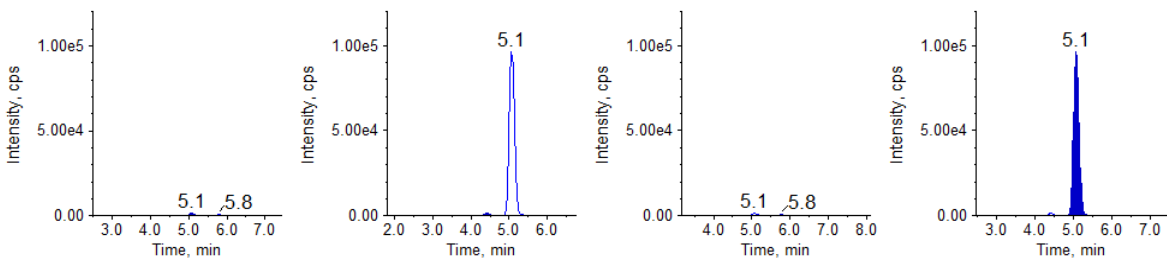
### 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub>

■ 8,9-Z B1a - B1a (Unknown) 890.725/567.10. Area: 5084.7 counts Height: 5.47e+002 c.  
■ 8,9-Z B1a - B1b (Unknown) 876.630/552.80. Area: 137.57 counts Height: 1.73e+001 c.  
■ 8,9-Z B1a - 8,9-Z B1a (Unknown) 890.725/5. Area: 1352100. counts Height: 1.32e+005  
■ 8,9-Z B1a - 8,9-Z B1b (Unknown) 876.630/55. Area: 49.739 counts Height: 6.45e+000 cp



### 8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub>

■ 8,9-Z B1b - B1a (Unknown) 890.725/56. Area: 14548. counts Height: 1.37e+0...  
■ 8,9-Z B1b - B1b (Unknown) 876.630/552.80. Area: 13720. counts Height: 1.52e+003 c.  
■ 8,9-Z B1b - 8,9-Z B1a (Unknown) 890.725/5. Area: 6272.5 counts Height: 6.29e+002 c.  
■ 8,9-Z B1b - 8,9-Z B1b (Unknown) 876.630/55. Area: 981500. counts Height: 9.63e+004 c



(1) 添加回収における代表的なクロマトグラム

玄米 (基準値濃度添加)

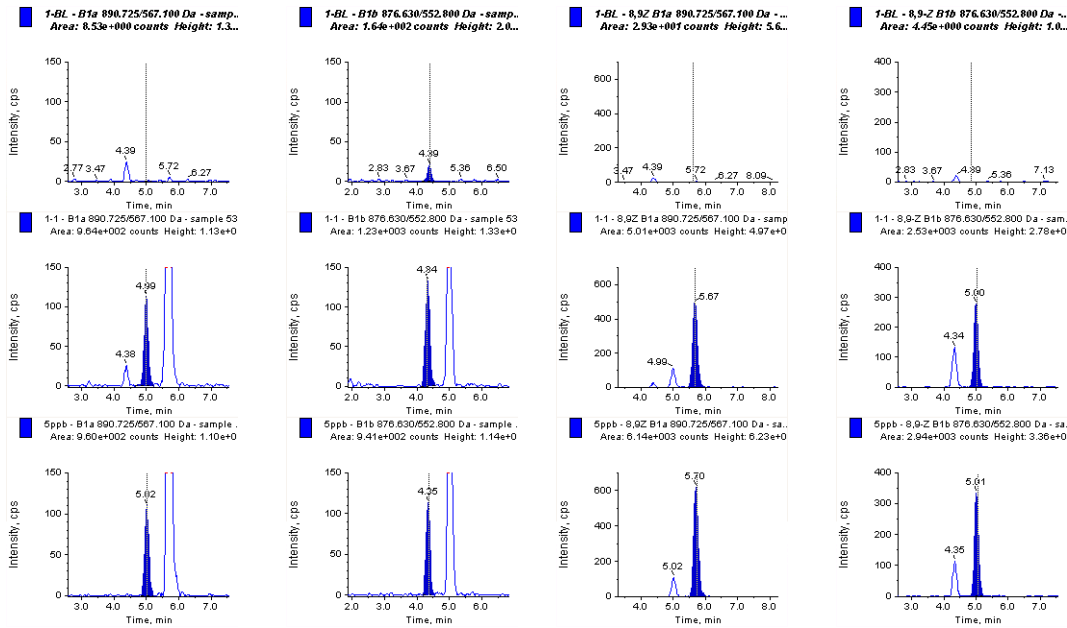


図 7-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 7-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 7-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 7-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.01 ppm

大豆 (基準値濃度添加)

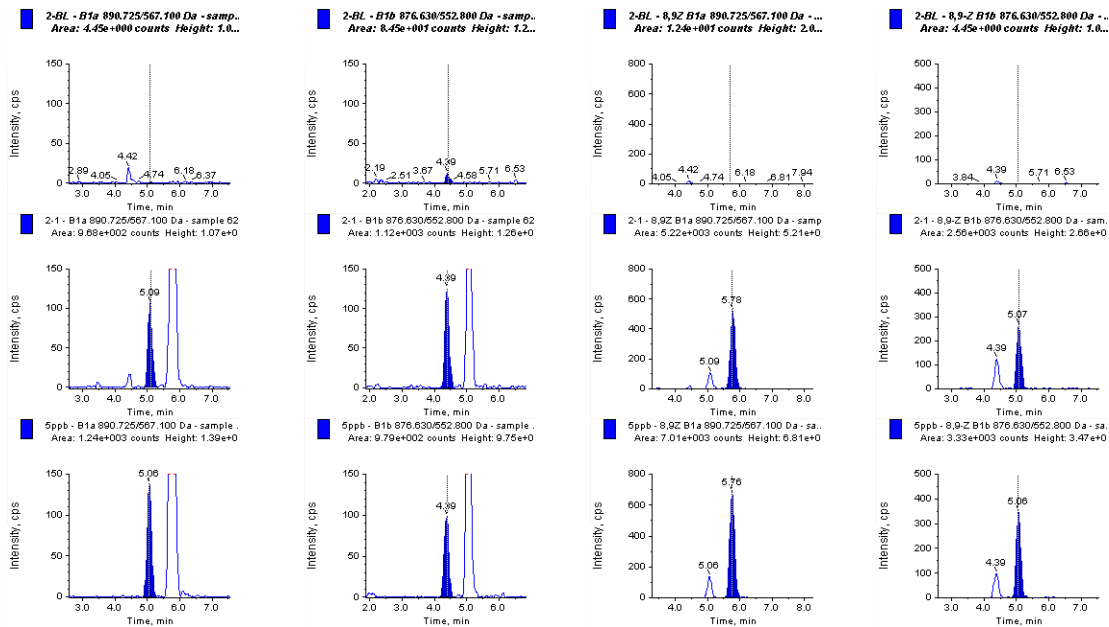


図 8-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 8-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 8-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 8-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.01 ppm



ほうれんそう (基準値濃度添加)

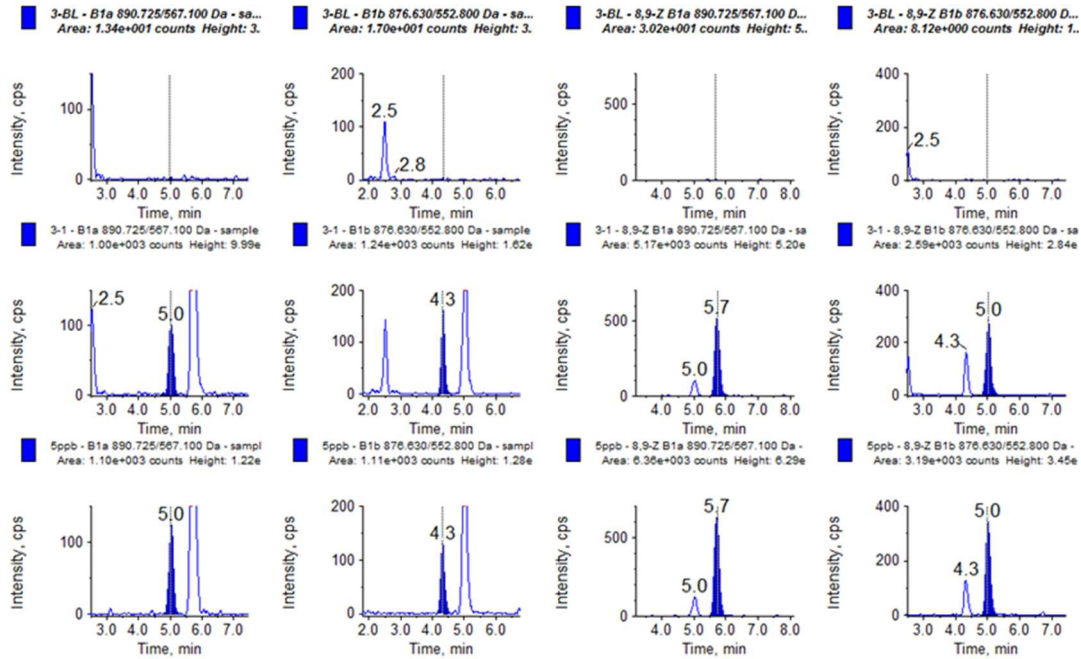


図 9-1  
アベタルメチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 9-2  
アベタルメチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 9-3  
8,9-Zアベタルメチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 9-4  
8,9-Zアベタルメチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.01 ppm

ねぎ (基準値濃度添加)

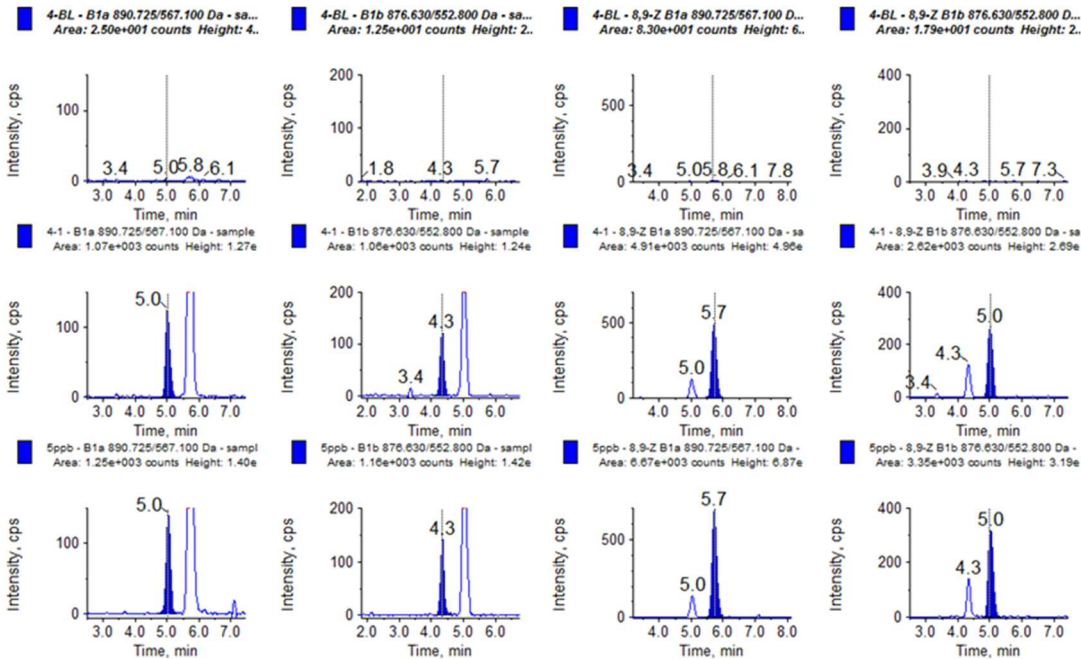


図 10-1  
アベタルメチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.1 ppm

図 10-2  
アベタルメチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.1 ppm

図 10-3  
8,9-Zアベタルメチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.1 ppm

図 10-4  
8,9-Zアベタルメチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.1 ppm

ばれいしよ (基準値濃度添加)

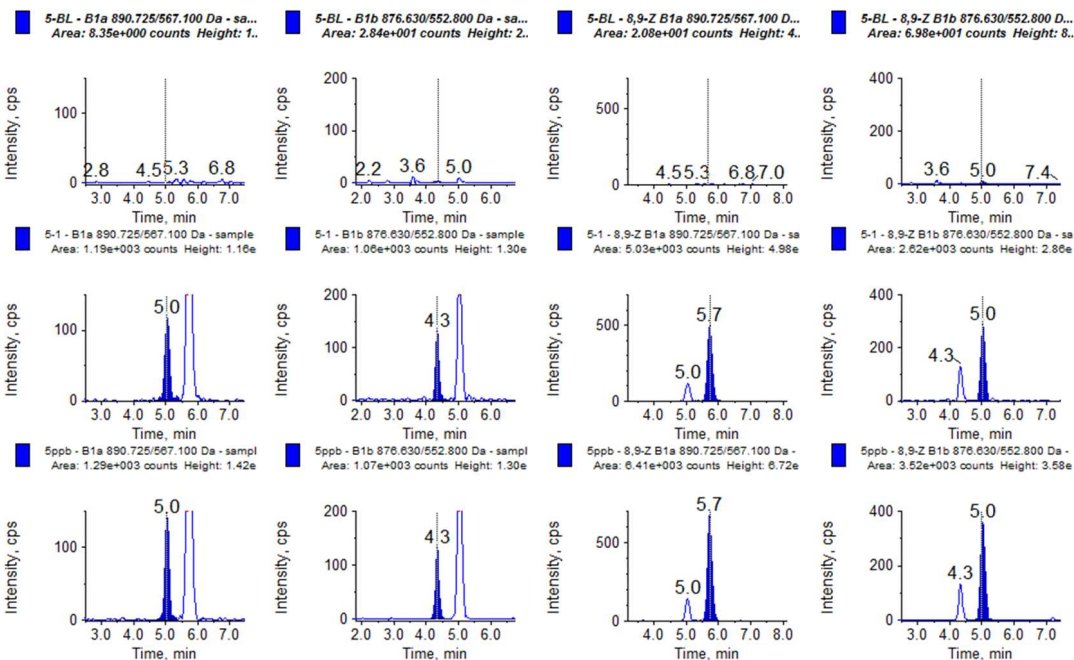


図 11-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z+890.7 \rightarrow 567.1$ )  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 11-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z+876.6 \rightarrow 552.8$ )  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 11-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z+890.7 \rightarrow 567.1$ )  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 11-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z+876.6 \rightarrow 552.8$ )  
添加濃度 : 0.01 ppm

オレンジ (基準値濃度添加)

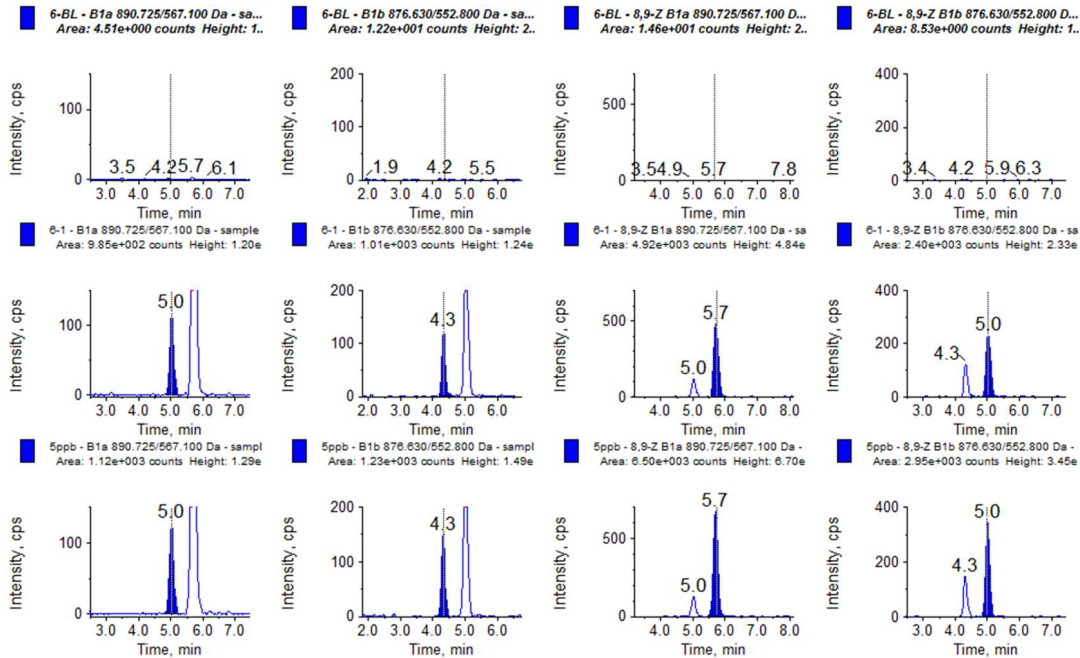


図 12-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z+890.7 \rightarrow 567.1$ )  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 12-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z+876.6 \rightarrow 552.8$ )  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 12-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z+890.7 \rightarrow 567.1$ )  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 12-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z+876.6 \rightarrow 552.8$ )  
添加濃度 : 0.01 ppm

りんご (基準値濃度添加)

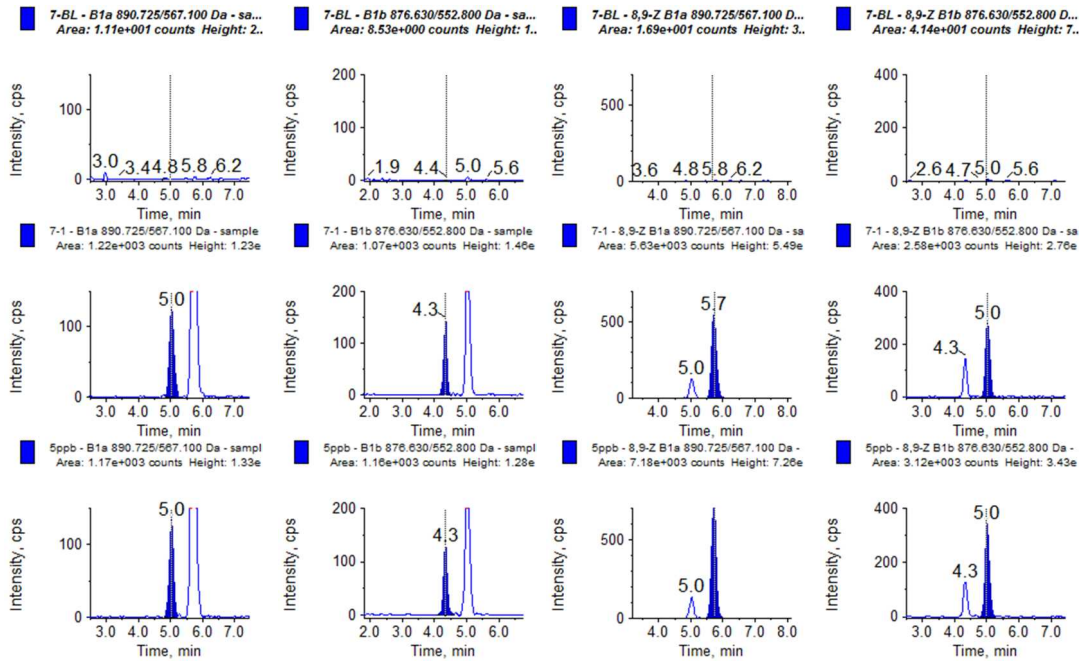


図 13-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.02 ppm

図 13-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.02 ppm

図 13-3  
8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.02 ppm

図 13-4  
8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.02 ppm

茶 (基準値濃度添加)

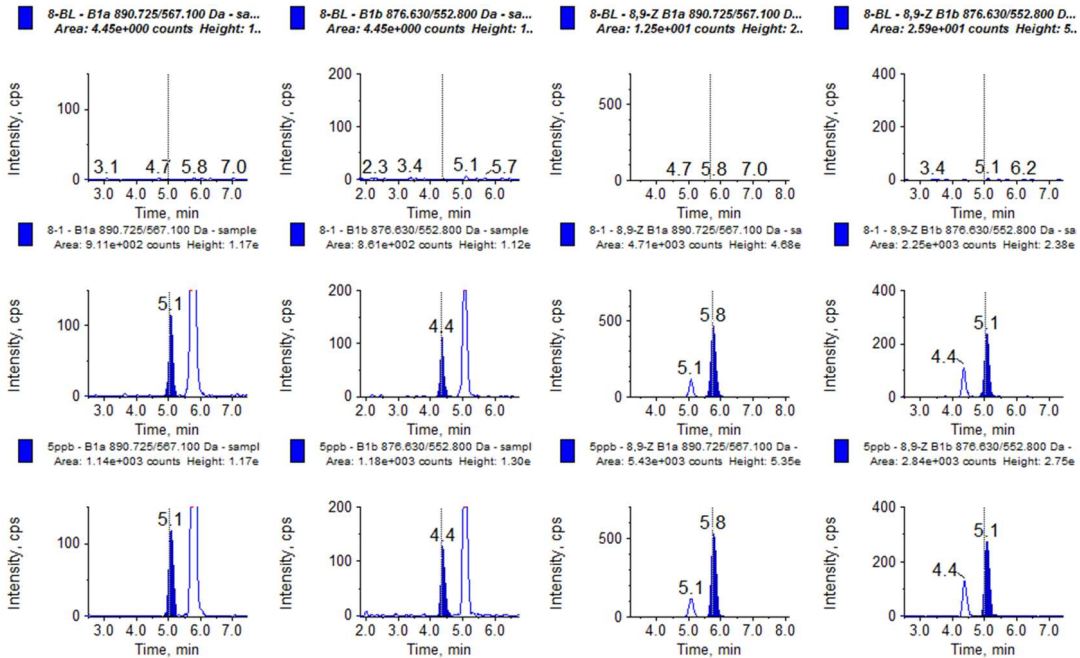


図 14-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 1 ppm

図 14-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 1 ppm

図 14-3  
8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 1 ppm

図 14-4  
8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 1 ppm

牛筋肉 (基準値濃度添加)

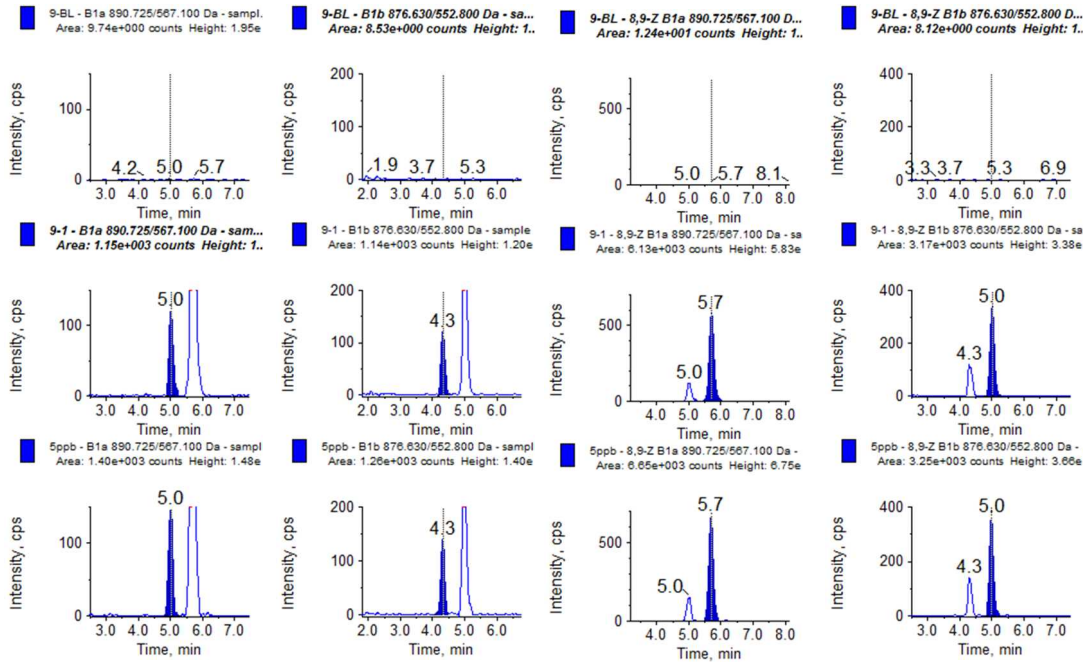


図 15-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 15-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub>  
の MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 15-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.01 ppm

図 15-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.01 ppm

牛脂肪 (基準値濃度添加)

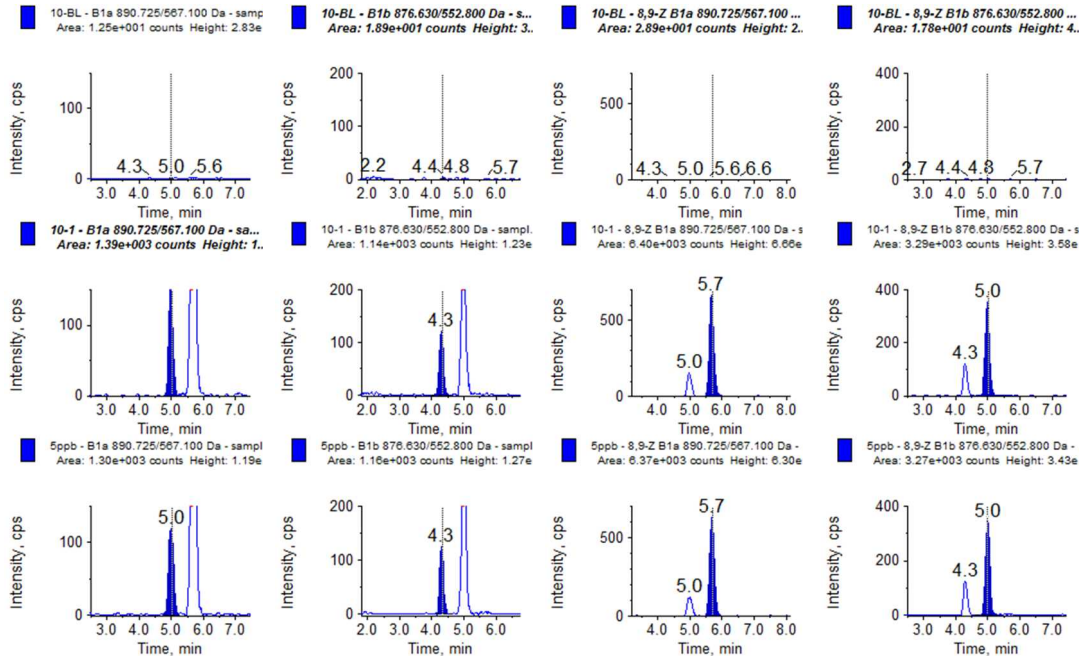


図 16-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.1 ppm

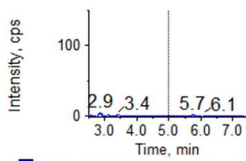
図 16-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.1 ppm

図 16-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.1 ppm

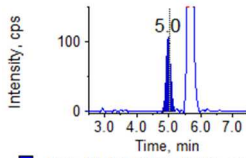
図 16-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub>の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.1 ppm

牛肝臓 (基準値濃度添加)

11-BL - B1a 890.725/567.100 Da - samp  
Area: 4.45e+000 counts Height: 1.02e



11-1 - B1a 890.725/567.100 Da - sa...  
Area: 9.89e+002 counts Height: 1.



5ppb - B1a 890.725/567.100 Da - sampl  
Area: 1.17e+003 counts Height: 1.19e

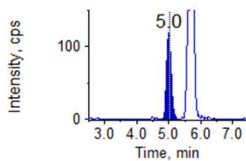
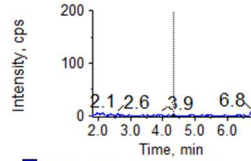
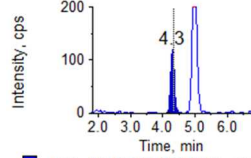


図 17-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.1 ppm

11-BL - B1b 876.630/552.800 Da - s...  
Area: 8.41e+000 counts Height: 1.



11-1 - B1b 876.630/552.800 Da - sampl  
Area: 1.02e+003 counts Height: 1.20e



5ppb - B1b 876.630/552.800 Da - sampl  
Area: 1.35e+003 counts Height: 1.50e

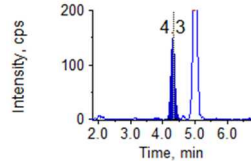
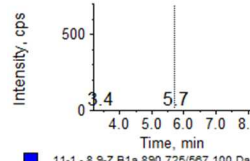
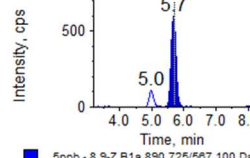


図 17-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.1 ppm

11-BL - 8,9-Z B1a 890.725/567.100 ...  
Area: 9.12e+000 counts Height: 2.



11-1 - 8,9-Z B1a 890.725/567.100 Da - s  
Area: 6.34e+003 counts Height: 5.98e



5ppb - 8,9-Z B1a 890.725/567.100 Da -  
Area: 5.97e+003 counts Height: 6.11e

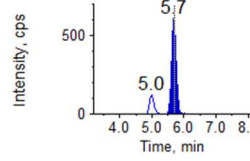
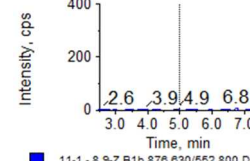
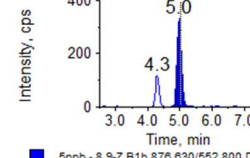


図 17-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.1 ppm

11-BL - 8,9-Z B1b 876.630/552.800 ...  
Area: 9.10e+000 counts Height: 1.



11-1 - 8,9-Z B1b 876.630/552.800 Da - s  
Area: 3.18e+003 counts Height: 3.32e



5ppb - 8,9-Z B1b 876.630/552.800 Da -  
Area: 3.13e+003 counts Height: 3.27e

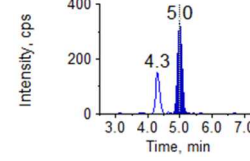
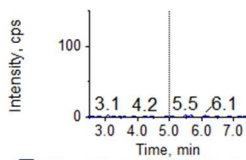


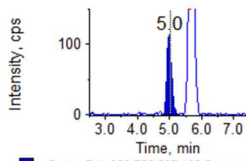
図 17-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.1 ppm

牛乳 (基準値濃度添加)

12-BL - B1a 890.725/567.100 Da - samp  
Area: 4.45e+000 counts Height: 1.02e



12-1 - B1a 890.725/567.100 Da - sa...  
Area: 1.12e+003 counts Height: 1.



5ppb - B1a 890.725/567.100 Da - sampl  
Area: 1.19e+003 counts Height: 1.10e

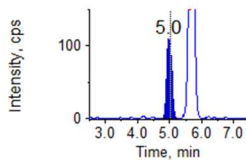
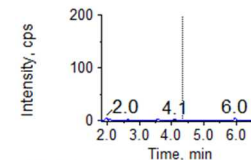
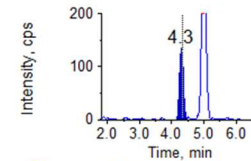


図 18-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.02 ppm

12-BL - B1b 876.630/552.800 Da - s...  
Area: 1.28e+001 counts Height: 2.



12-1 - B1b 876.630/552.800 Da - sampl  
Area: 1.18e+003 counts Height: 1.34e



5ppb - B1b 876.630/552.800 Da - sampl  
Area: 1.24e+003 counts Height: 1.39e

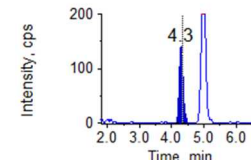
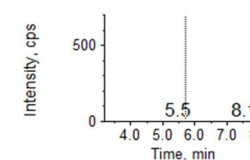
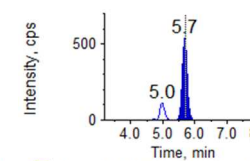


図 18-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.02 ppm

12-BL - 8,9-Z B1a 890.725/567.100 ...  
Area: 8.90e+000 counts Height: 2.



12-1 - 8,9-Z B1a 890.725/567.100 Da - s  
Area: 5.67e+003 counts Height: 5.41e



5ppb - 8,9-Z B1a 890.725/567.100 Da -  
Area: 5.94e+003 counts Height: 5.73e

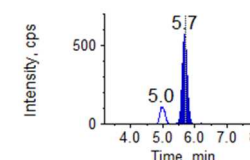
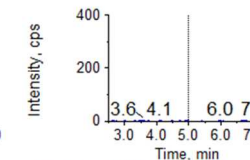
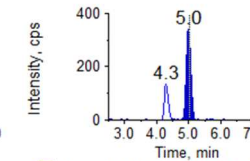


図 18-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.02 ppm

12-BL - 8,9-Z B1b 876.630/552.800 ...  
Area: 1.77e+000 counts Height: 6.



12-1 - 8,9-Z B1b 876.630/552.800 Da - s  
Area: 3.43e+003 counts Height: 3.44e



5ppb - 8,9-Z B1b 876.630/552.800 Da -  
Area: 2.86e+003 counts Height: 2.99e

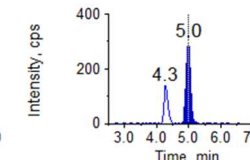


図 18-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.02 ppm

玄米 (定量限界値濃度添加)

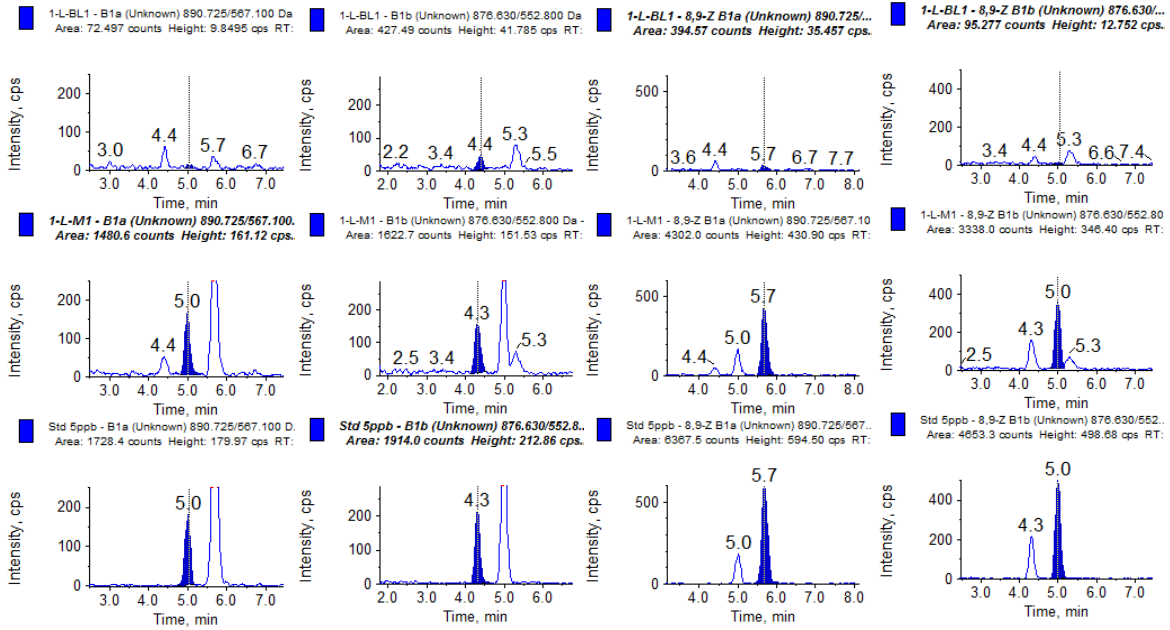


図 19-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.005 ppm

図 19-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.005 ppm

図 19-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.005 ppm

図 19-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.005 ppm

大豆 (定量限界値濃度添加)

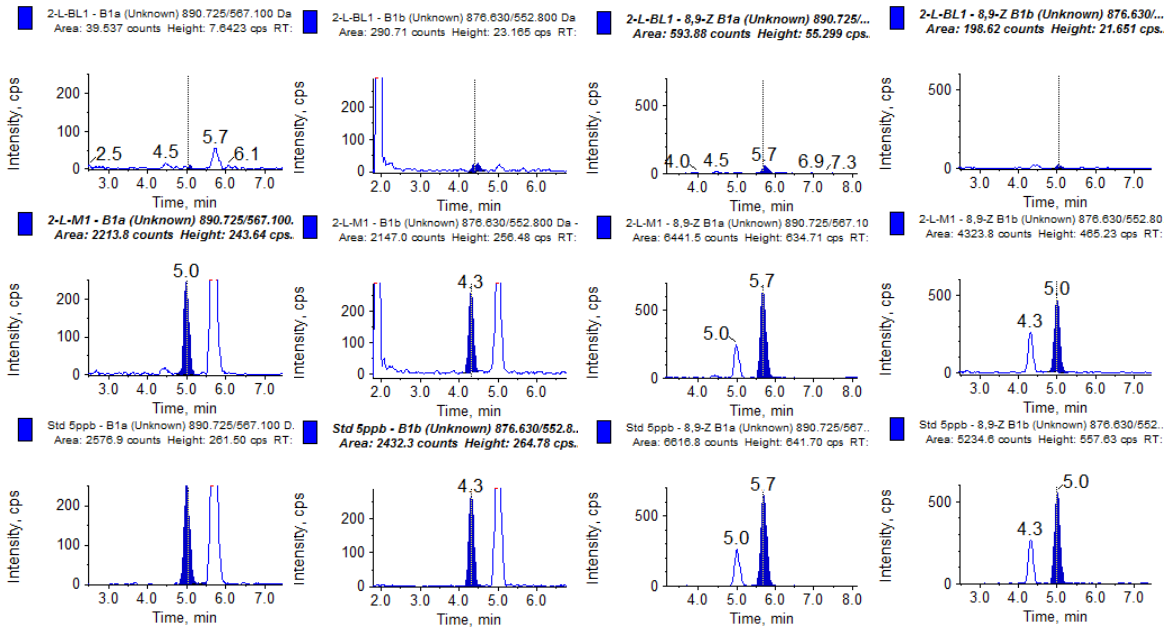


図 20-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.005 ppm

図 20-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.005ppm

図 20-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度 : 0.005 ppm

図 20-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度 : 0.005 ppm

ほうれんそう（定量限界値濃度添加）

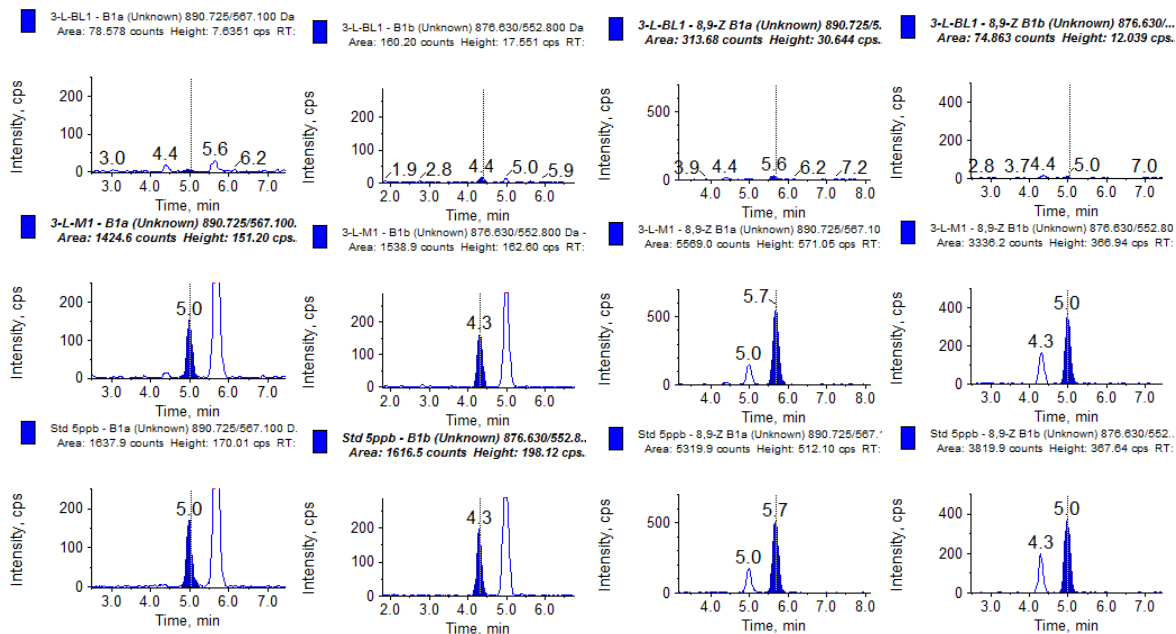


図 21-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.00125 ppm

図 21-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.00125 ppm

図 21-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.00125 ppm

図 21-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.00125 ppm

ねぎ（定量限界値濃度添加）

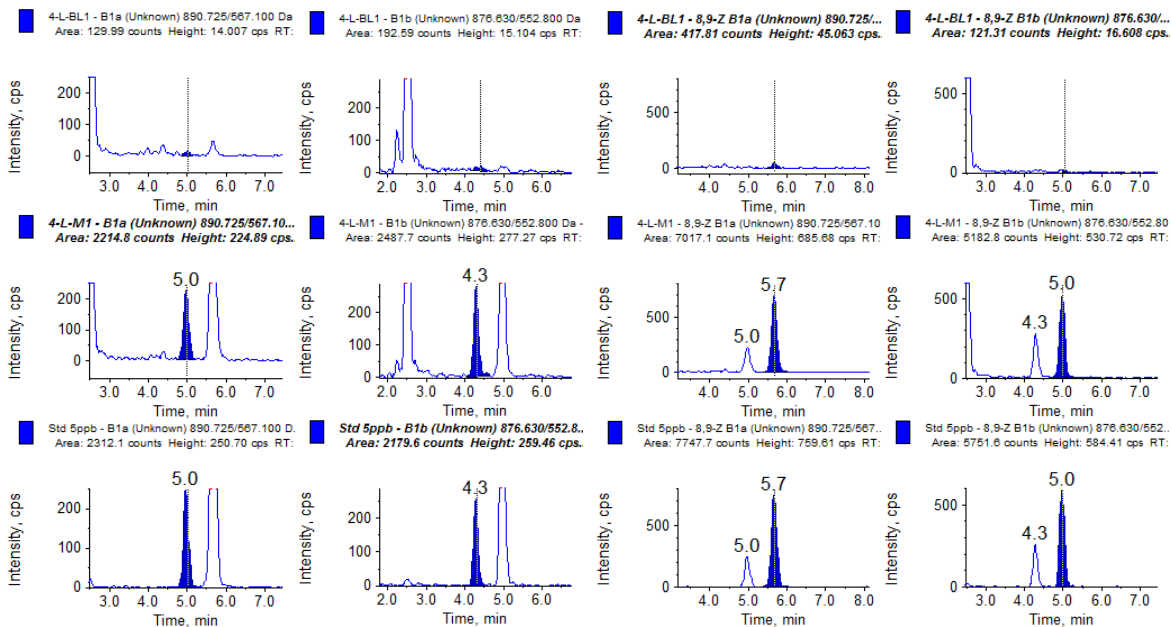


図 22-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.00125 ppm

図 22-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.00125 ppm

図 22-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.00125 ppm

図 22-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.00125 ppm

ばれいしょ (定量限界値濃度添加)

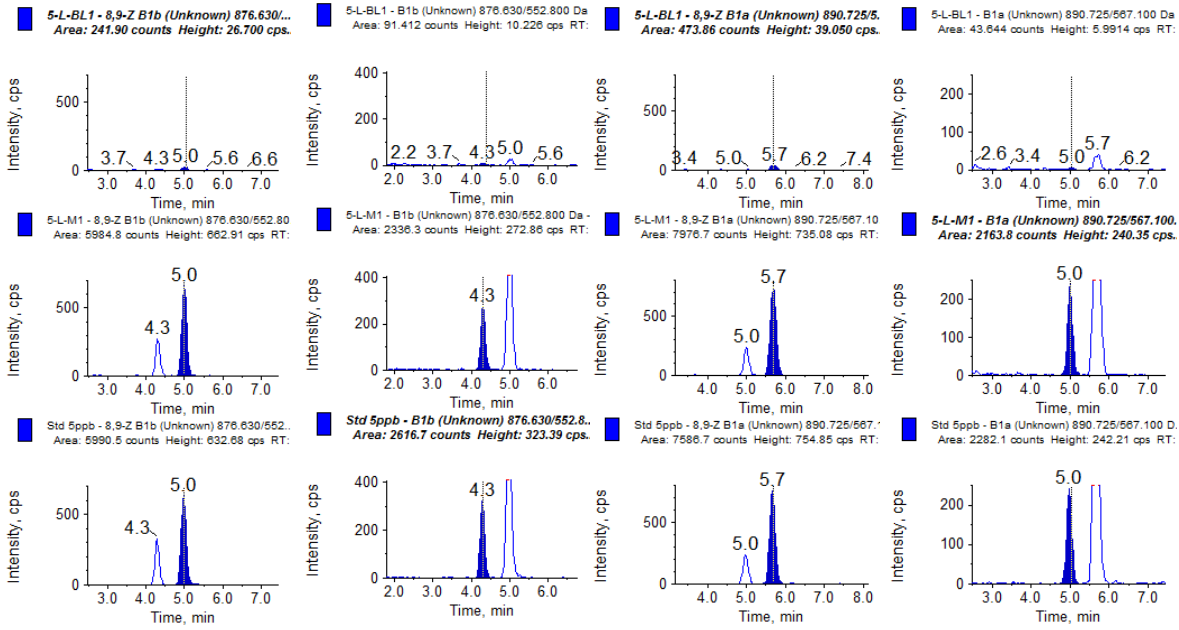


図 23-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度: 0.00125 ppm

図 23-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度: 0.00125 ppm

図 23-3  
8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度: 0.00125 ppm

図 23-4  
8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度: 0.00125 ppm

オレンジ (定量限界値濃度添加)

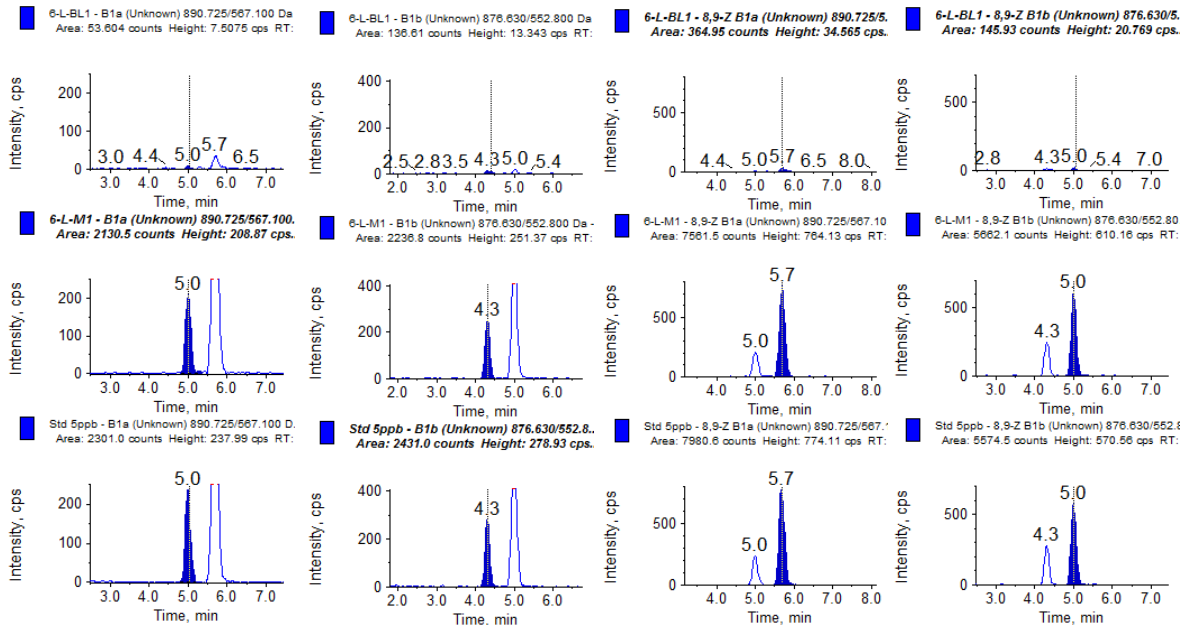


図 24-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度: 0.00125 ppm

図 24-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度: 0.00125 ppm

図 24-3  
8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度: 0.00125 ppm

図 24-4  
8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度: 0.00125 ppm



りんご（定量限界値濃度添加）

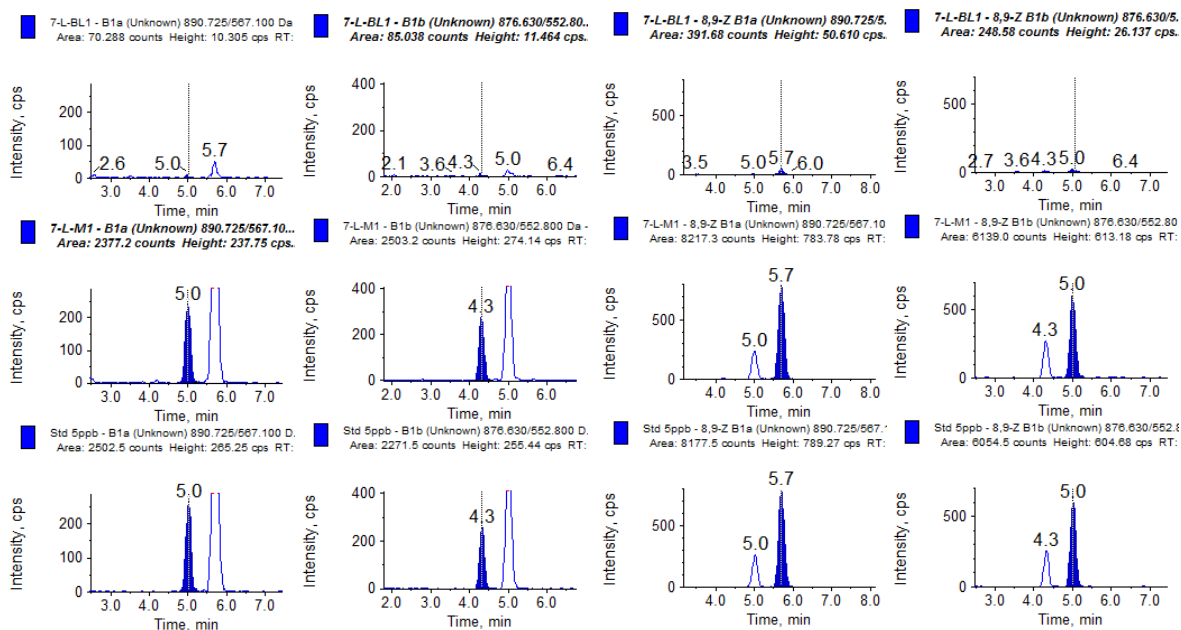


図 25-1

アベルメクチン B1a の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.00125 ppm

図 25-2

アベルメクチン B1b の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.00125 ppm

図 25-3

8,9-Zアベルメクチン B1a の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.00125 ppm

図 25-4

8,9-Zアベルメクチン B1b の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.00125 ppm

茶（定量限界値濃度添加）

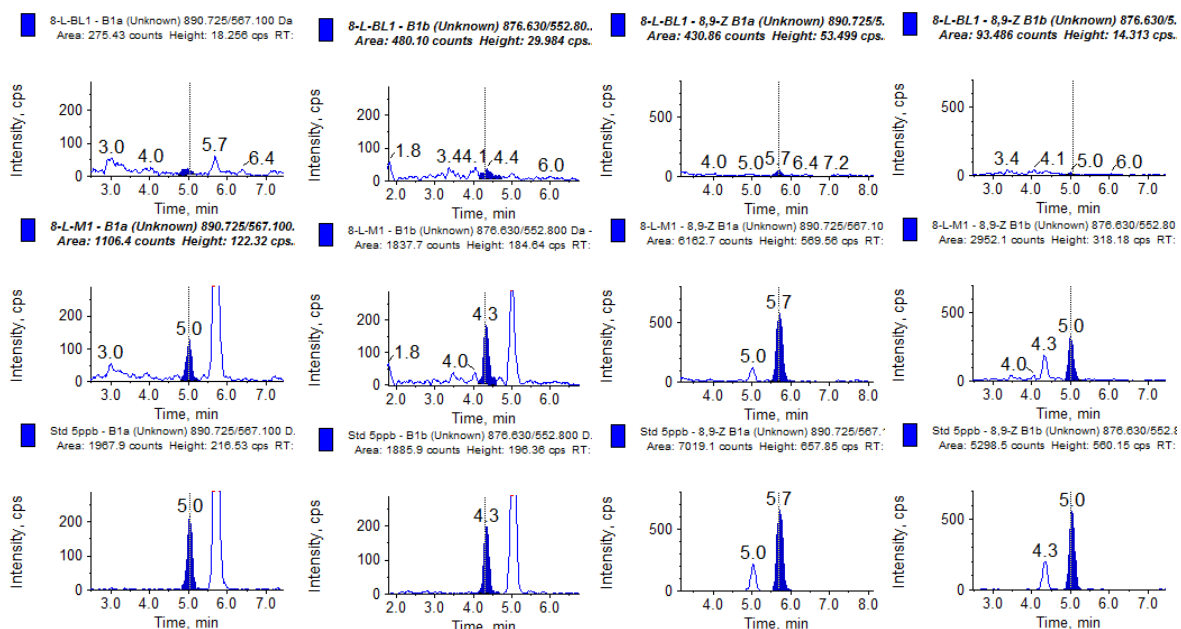


図 26-1

アベルメクチン B1a の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.02 ppm

図 26-2

アベルメクチン B1b の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.02 ppm

図 26-3

8,9-Zアベルメクチン B1a の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.02 ppm

図 26-4

8,9-Zアベルメクチン B1b の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.02 ppm

牛筋肉（定量限界値濃度添加）

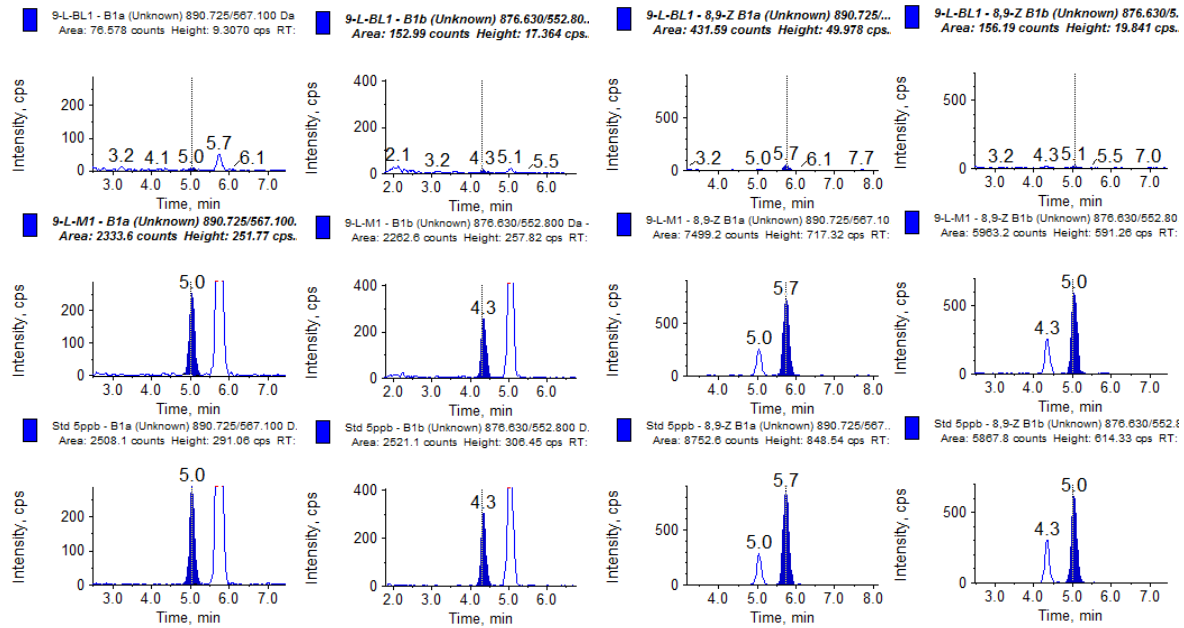


図 27-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.005 ppm

図 26-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.005 ppm

図 26-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.005 ppm

図 26-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.005 ppm

牛脂肪（定量限界値濃度添加）

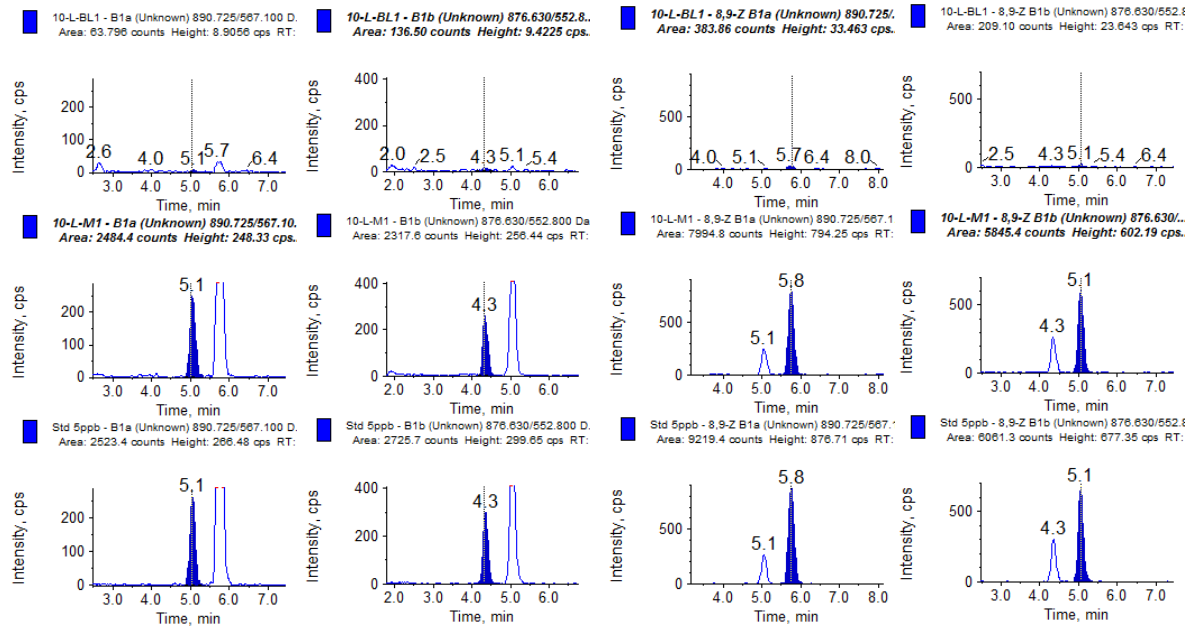


図 27-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.005 ppm

図 27-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.005 ppm

図 27-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.005 ppm

図 27-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.005 ppm

牛肝臓（定量限界値濃度添加） 抽出液 20mL 分取

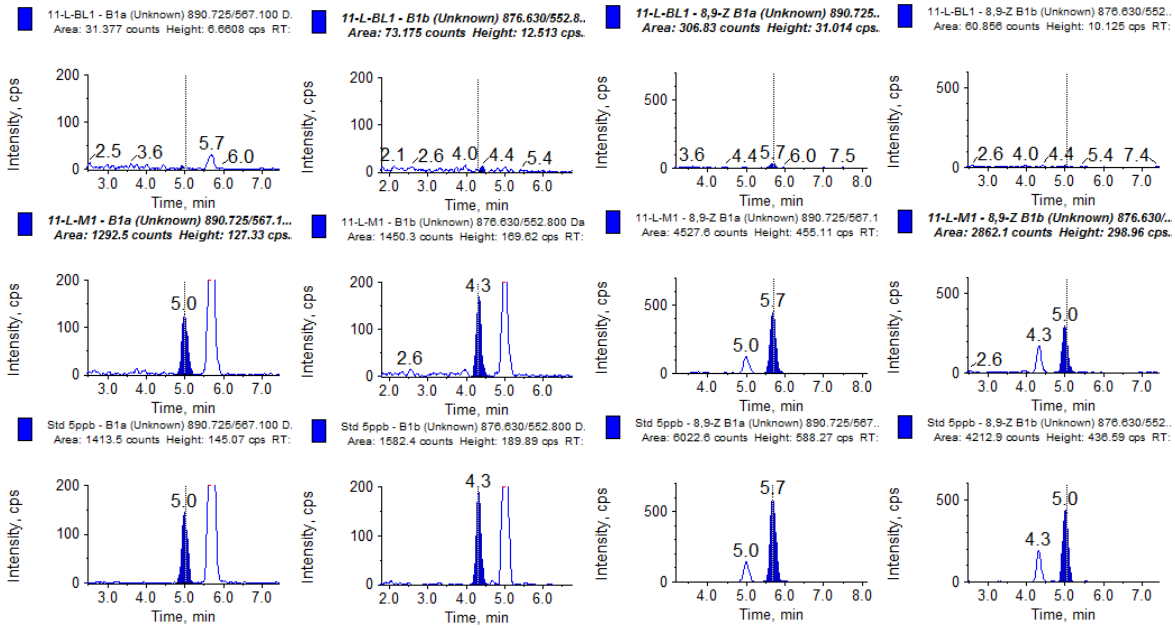


図 28-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.005 ppm

図 28-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.005 ppm

図 28-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.005 ppm

図 28-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.005 ppm

牛乳（定量限界値濃度添加）

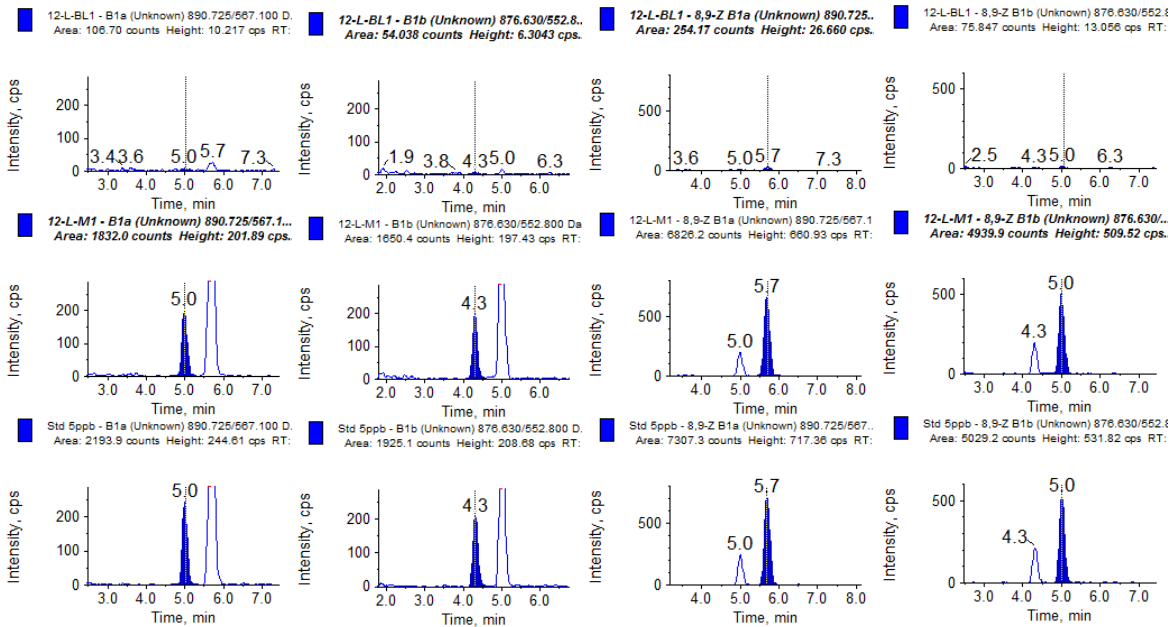


図 29-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.005 ppm

図 29-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.005 ppm

図 29-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.005 ppm

図 29-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.005 ppm

茶（定量限界値濃度添加） 抽出液 5mL 分取

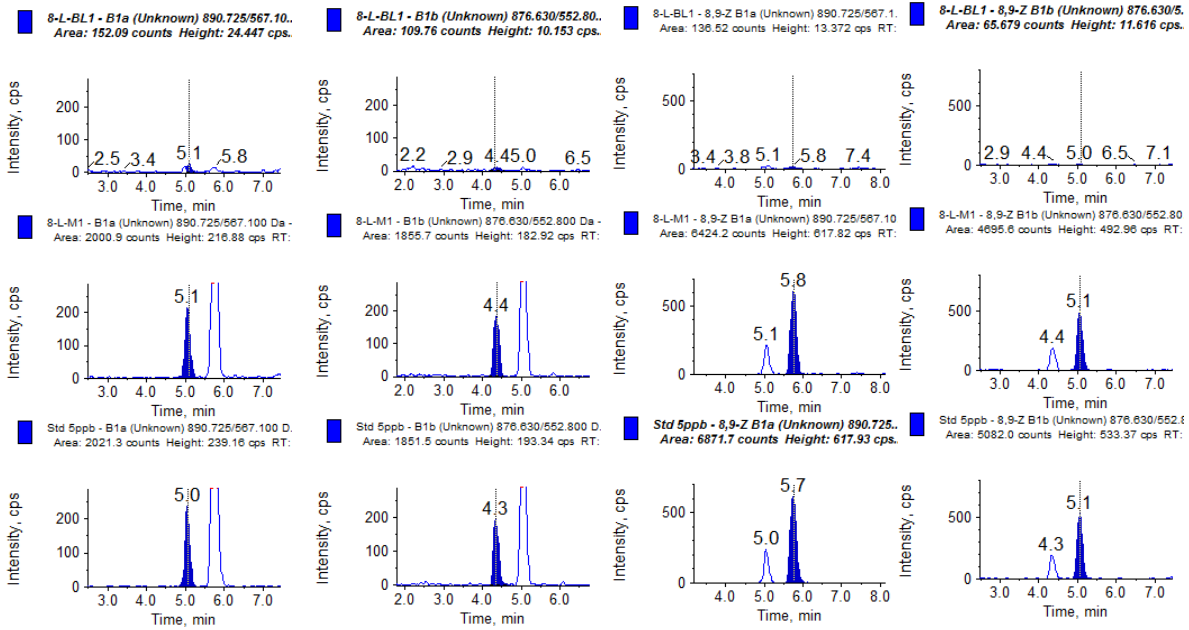


図 8-1L-2  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.02 ppm

図 8-2L-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.02 ppm

図 8-3L-2  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.02 ppm

図 8-4L-2  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.02 ppm

牛肝臓（定量限界値濃度添加） 抽出液 10mL 分取

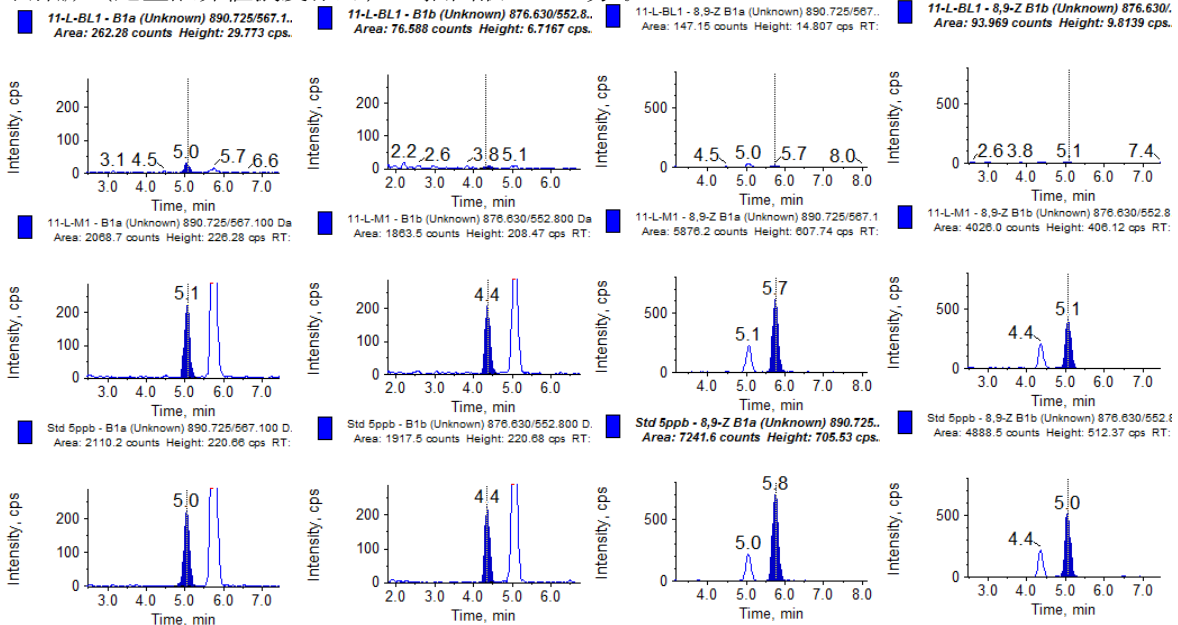


図 30-1  
アベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.005 ppm

図 30-2  
アベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.005 ppm

図 30-3  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1a</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +890.7→567.1)  
添加濃度：0.005 ppm

図 30-4  
8,9-Zアベルメクチン B<sub>1b</sub> の  
MRM クロマトグラム  
( $m/z$  +876.6→552.8)  
添加濃度：0.005 ppm



表 11 選択性の評価（定量限界値濃度添加）

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 [検出限界] (mg/kg)	基準値 (ppm)	妨害ピークの許容範囲の評価			ピーク面積(高さ) <sup>1)</sup>						選択性 の評価 <sup>3)</sup>	備考		
					評価濃度 (ppm)	評価基準	面積又は 高さの別	ブランク			マトリックス添加標準溶液 <sup>2)</sup>					面積(高さ) 比(a)/(b)	
								n=1	n=2	平均(a)	n=1	n=2	平均(b)				
1-1	avermectin B1a	玄米	0.005	0.01	定量限界	0.005	< 0.333	面積	72	61	67	1981	1831	1906	0.036	○	
1-2	avermectin B1b	玄米	0.005	0.01	定量限界	0.005	< 0.333	面積	127	144	136	1623	1616	1619	0.092	○	
1-3	8,9-Z-avermectin B1a	玄米	0.005	0.01	定量限界	0.005	< 0.333	面積	395	310	352	5302	5718	5510	0.068	○	
1-4	8,9-Z-avermectin B1b	玄米	0.005	0.01	定量限界	0.005	< 0.333	面積	95	120	108	4338	4223	4281	0.026	○	
2-1	avermectin B1a	大豆	0.005	0.01	定量限界	0.005	< 0.333	面積	40	106	73	2214	2548	2381	0.031	○	
2-2	avermectin B1b	大豆	0.005	0.01	定量限界	0.005	< 0.333	面積	191	116	153	2147	2217	2182	0.076	○	
2-3	8,9-Z-avermectin B1a	大豆	0.005	0.01	定量限界	0.005	< 0.333	面積	594	353	473	6442	6229	6335	0.081	○	
2-4	8,9-Z-avermectin B1b	大豆	0.005	0.01	定量限界	0.005	< 0.333	面積	199	190	194	4324	4256	4290	0.047	○	
3-1	avermectin B1a	ほうれんそう	0.00125	0.01	基準値	0.01	< 0.100	面積	79	56	67	1625	1697	1661	0.042	○	
3-2	avermectin B1b	ほうれんそう	0.00125	0.01	基準値	0.01	< 0.100	面積	60	86	73	1539	1605	1572	0.049	○	
3-3	8,9-Z-avermectin B1a	ほうれんそう	0.00125	0.01	基準値	0.01	< 0.100	面積	314	300	307	5569	5437	5503	0.059	○	
3-4	8,9-Z-avermectin B1b	ほうれんそう	0.00125	0.01	基準値	0.01	< 0.100	面積	75	163	119	3336	3626	3481	0.035	○	
4-1	avermectin B1a	ねぎ	0.00125	0.1	基準値	0.1	< 0.100	面積	130	86	108	2215	2353	2284	0.050	○	
4-2	avermectin B1b	ねぎ	0.00125	0.1	基準値	0.1	< 0.100	面積	93	134	113	2488	2392	2440	0.049	○	
4-3	8,9-Z-avermectin B1a	ねぎ	0.00125	0.1	基準値	0.1	< 0.100	面積	418	430	424	7017	7203	7110	0.063	○	
4-4	8,9-Z-avermectin B1b	ねぎ	0.00125	0.1	基準値	0.1	< 0.100	面積	121	252	187	5183	5154	5169	0.037	○	
5-1	avermectin B1a	ばれいしょ	0.00125	0.01	基準値	0.01	< 0.100	面積	44	9	26	2164	2224	2194	0.012	○	
5-2	avermectin B1b	ばれいしょ	0.00125	0.01	基準値	0.01	< 0.100	面積	91	53	72	2336	2366	2351	0.032	○	
5-3	8,9-Z-avermectin B1a	ばれいしょ	0.00125	0.01	基準値	0.01	< 0.100	面積	474	399	436	7977	7810	7893	0.059	○	
5-4	8,9-Z-avermectin B1b	ばれいしょ	0.00125	0.01	基準値	0.01	< 0.100	面積	242	160	201	5985	5471	5728	0.036	○	
6-1	avermectin B1a	オレンジ	0.00125	0.01	基準値	0.01	< 0.100	面積	54	54	54	2131	2408	2269	0.024	○	
6-2	avermectin B1b	オレンジ	0.00125	0.01	基準値	0.01	< 0.100	面積	137	103	120	2237	2278	2257	0.056	○	
6-3	8,9-Z-avermectin B1a	オレンジ	0.00125	0.01	基準値	0.01	< 0.100	面積	365	456	411	7562	7899	7730	0.056	○	
6-4	8,9-Z-avermectin B1b	オレンジ	0.00125	0.01	基準値	0.01	< 0.100	面積	146	213	179	5662	5682	5672	0.033	○	
7-1	avermectin B1a	りんご	0.00125	0.02	基準値	0.02	< 0.100	面積	70	72	71	2377	2457	2417	0.030	○	
7-2	avermectin B1b	りんご	0.00125	0.02	基準値	0.02	< 0.100	面積	85	125	105	2503	2389	2446	0.045	○	
7-3	8,9-Z-avermectin B1a	りんご	0.00125	0.02	基準値	0.02	< 0.100	面積	392	464	428	8217	8753	8485	0.053	○	
7-4	8,9-Z-avermectin B1b	りんご	0.00125	0.02	基準値	0.02	< 0.100	面積	249	212	230	6139	5800	5969	0.040	○	
8-1	avermectin B1a	茶	0.02	1.	基準値	1.	< 0.100	面積	25	95	60	2087	1980	2034	0.031	○	
8-2	avermectin B1b	茶	0.02	1.	基準値	1.	< 0.100	面積	80	95	88	1896	1899	1897	0.048	○	
8-3	8,9-Z-avermectin B1a	茶	0.02	1.	基準値	1.	< 0.100	面積	431	524	477	6303	5778	6041	0.086	○	
8-4	8,9-Z-avermectin B1b	茶	0.02	1.	基準値	1.	< 0.100	面積	93	220	157	4101	4187	4144	0.039	○	
9-1	avermectin B1a	牛筋肉	0.005	0.01	定量限界	0.005	< 0.333	面積	77	65	71	2334	2256	2295	0.032	○	
9-2	avermectin B1b	牛筋肉	0.005	0.01	定量限界	0.005	< 0.333	面積	153	170	162	2283	2374	2318	0.075	○	
9-3	8,9-Z-avermectin B1a	牛筋肉	0.005	0.01	定量限界	0.005	< 0.333	面積	432	464	448	7499	7939	7719	0.062	○	
9-4	8,9-Z-avermectin B1b	牛筋肉	0.005	0.01	定量限界	0.005	< 0.333	面積	156	202	179	5963	5423	5693	0.033	○	
10-1	avermectin B1a	牛脂肪	0.005	0.1	基準値	0.1	< 0.100	面積	64	86	75	2484	2308	2396	0.032	○	
10-2	avermectin B1b	牛脂肪	0.005	0.1	基準値	0.1	< 0.100	面積	137	82	109	2318	2455	2386	0.048	○	
10-3	8,9-Z-avermectin B1a	牛脂肪	0.005	0.1	基準値	0.1	< 0.100	面積	384	447	416	7995	7811	7903	0.056	○	
10-4	8,9-Z-avermectin B1b	牛脂肪	0.005	0.1	基準値	0.1	< 0.100	面積	209	195	202	5845	5561	5703	0.037	○	
11-1	avermectin B1a	牛肝臓	0.005	0.1	基準値	0.1	< 0.100	面積	31	34	33	2069	1871	1970	0.017	○	
11-2	avermectin B1b	牛肝臓	0.005	0.1	基準値	0.1	< 0.100	面積	73	96	85	1864	1924	1894	0.047	○	
11-3	8,9-Z-avermectin B1a	牛肝臓	0.005	0.1	基準値	0.1	< 0.100	面積	307	225	266	5876	6112	5994	0.046	○	
11-4	8,9-Z-avermectin B1b	牛肝臓	0.005	0.1	基準値	0.1	< 0.100	面積	61	121	91	4026	4088	4057	0.023	○	
12-1	avermectin B1a	牛乳	0.005	0.02	基準値	0.02	< 0.100	面積	107	50	78	1832	1872	1852	0.044	○	
12-2	avermectin B1b	牛乳	0.005	0.02	基準値	0.02	< 0.100	面積	54	92	73	1650	1779	1715	0.045	○	
12-3	8,9-Z-avermectin B1a	牛乳	0.005	0.02	基準値	0.02	< 0.100	面積	254	326	290	6826	6529	6677	0.045	○	
12-4	8,9-Z-avermectin B1b	牛乳	0.005	0.02	基準値	0.02	< 0.100	面積	76	137	106	4940	4393	4666	0.023	○	

<sup>1)</sup> ブランク試料、標準溶液の順に注入して測定した結果から評価する。(必要に応じて起爆注入を行う。)

<sup>2)</sup> 試料中の濃度が「評価濃度」相当になるように、ブランク試料の試験溶液で調製した標準溶液(マトリックス添加標準溶液)を用いる。ブランク試料に妨害ピークが観察されなかった場合には、標準溶液のピーク面積(高さ)は求めなくても良い。

<sup>3)</sup> 面積(高さ)比が、妨害ピークの許容範囲の評価基準に適合する場合には「○」、適合しない場合には「×」を記載する。











## アバメクチン試験法（農産物）

### ねぎ、ばれいしょについて、基準値相当の高濃度添加の群の回収率の再検証

ねぎ、ばれいしょについて、基準値添加の回収率は目標値を満たしていないため、追加検討を行った。

#### [ 予備試験（グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムの溶出量の確認）の実施内容 ]

##### 1. 試料

弊会近隣のスーパーにて購入

- 1) ねぎは、外皮及びひげ根を除去し、フードプロセッサーを用いて細切均一化した。
- 2) ばれいしょは、泥を水で軽く洗い落とし、フードプロセッサーを用いて細切均一化した。

##### 2. 試薬、試液

###### 2-1. 各標準品

分析対象化合物	メーカー	純度又は濃度
アベルメクチン B <sub>1a</sub> 標準品	林純薬工業製	99.4%
アベルメクチン B <sub>1b</sub> 標準品	林純薬工業製	100 mg/ L (アセトニトリル溶液)
8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1a</sub> 標準品	林純薬工業製	98.6%
8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1b</sub> 標準品	林純薬工業製	96.0%

###### 2-2. 試薬

製品名	メーカー	規格
アセトニトリル(HPLC)	Fisher Scientific 製	HPLC 用
アセトン 300	富士フイルム和光純薬製	残留農薬・PCB 試験用
酢酸エチル 300	富士フイルム和光純薬製	残留農薬・PCB 試験用
アセトニトリル 300	富士フイルム和光純薬製	残留農薬・PCB 試験用
トルエン 300	富士フイルム和光純薬製	残留農薬・PCB 試験用
ケイソウ土	富士フイルム和光純薬製	セライト 545
塩化ナトリウム	関東化学製	特級
酢酸アンモニウム	富士フイルム和光純薬製	特級
Supelclean ENVI-Carb/LC-NH <sub>2</sub>	SUPELCO 製	500 mg/500 mg/6 mL

## 2-3. 標準溶液、試液等の調製法

### 2-3-1. 標準原液の調製法

各標準品 2.5 mg を精秤し、アセトニトリルで 25 mL に定容して、100 mg/L とした。  
(アベルメクチン B<sub>1b</sub> 標準品についてはそのまま)

### 2-3-2. 標準溶液の調製法

各標準原液を混合し添加用はアセトンにて、検量線用はアセトニトリルにて希釈し標準溶液を調製した。

#### <添加用標準溶液>

2 mg/L : 各標準原液×1 mL→50 mL (添加用標準溶液：ねぎ)

0.2 mg/L : 2 mg/L×2 mL→20 mL (添加用標準溶液：ばれいしょ)

#### <検量線用標準溶液>

2 mg/L : 各標準原液×2 mL→100 mL

0.05 mg/L : 2 mg/L×2.5 mL→100 mL

0.03 mg/L : 0.05 mg/L×6 mL→10 mL

0.025 mg/L : 0.05 mg/L×5 mL→10 mL

0.02 mg/L : 0.05 mg/L×4 mL→10 mL

0.015 mg/L : 0.05 mg/L×3 mL→10 mL

0.01 mg/L : 0.05 mg/L×2 mL→10 mL

0.005 mg/L : 0.05 mg/L×1 mL→10 mL

### 2-3-3. 試液の調製法

試液名	調製方法
10 w/v%塩化ナトリウム溶液	塩化ナトリウム 100 g に水を加えて 1 L に定容
アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液	アセトニトリル 750 mL 及びトルエン 250 mL を混合
5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液	酢酸アンモニウム 0.385 g に水を加えて 1 L に定容
5 mmol/L 酢酸アンモニウム・アセトニトリル溶液	酢酸アンモニウム 0.385 g に水 5 mL を加えて溶かし、アセトニトリルを加えて 1 L に定容

## 3. 装置

装置	型式	会社
MS 装置	Xevo TQ S-micro	Waters
LC 装置	Acquity UPLC H-Class	Waters
データ処理装置	MassLynx	Waters

#### 4. 測定条件

##### LC-MS/MS

LC 条件																								
カラム	InertSustain C18 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 μm : ジーエルサイエンス製)																							
移動相流速 (mL/min)	0.20																							
注入量 (μL)	5																							
カラム温度 (°C)	40																							
移動相	A 液 : 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 B 液 : 5 mmol/L 酢酸アンモニウム・アセトニトリル溶液																							
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>A 液 (%)</th> <th>B 液 (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>1.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>8.0</td> <td>5</td> <td>95</td> </tr> <tr> <td>10.0</td> <td>5</td> <td>95</td> </tr> <tr> <td>10.1</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>12.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> </tbody> </table>			時間 (分)	A 液 (%)	B 液 (%)	0.0	10	90	1.0	10	90	8.0	5	95	10.0	5	95	10.1	10	90	12.0	10	90
時間 (分)	A 液 (%)	B 液 (%)																						
0.0	10	90																						
1.0	10	90																						
8.0	5	95																						
10.0	5	95																						
10.1	10	90																						
12.0	10	90																						
MS 条件																								
測定モード	MRM																							
イオン化モード	ESI (+)																							
キャピラリ電圧 (V)	2000																							
ソース温度 (°C)	150																							
脱溶媒温度 (°C)	400																							
コーンガス	窒素、50 L/hr																							
脱溶媒ガス	窒素、1000 L/hr																							
コリジョンガス	アルゴン																							
定量イオン (m/z)	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>測定イオン</th> <th>CV</th> <th>CE</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>アベルメクチン B<sub>1a</sub></td> <td>+890.8→567.4</td> <td>16</td> <td>14</td> </tr> <tr> <td>アベルメクチン B<sub>1b</sub></td> <td>+876.8→553.4</td> <td>20</td> <td>14</td> </tr> <tr> <td>8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub></td> <td>+890.8→567.5</td> <td>24</td> <td>14</td> </tr> <tr> <td>8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub></td> <td>+876.8→553.5</td> <td>16</td> <td>16</td> </tr> </tbody> </table>				測定イオン	CV	CE	アベルメクチン B <sub>1a</sub>	+890.8→567.4	16	14	アベルメクチン B <sub>1b</sub>	+876.8→553.4	20	14	8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1a</sub>	+890.8→567.5	24	14	8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1b</sub>	+876.8→553.5	16	16	
	測定イオン	CV	CE																					
アベルメクチン B <sub>1a</sub>	+890.8→567.4	16	14																					
アベルメクチン B <sub>1b</sub>	+876.8→553.4	20	14																					
8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1a</sub>	+890.8→567.5	24	14																					
8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1b</sub>	+876.8→553.5	16	16																					

定性イオン ( $m/z$ )	測定イオン	CV	CE	
	アベルメクチン B <sub>1a</sub>	+890.8→305.3	16	26
	アベルメクチン B <sub>1b</sub>	+876.8→291.3	20	22
	8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1a</sub>	+890.8→305.4	24	32
	8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1b</sub>	+876.8→291.4	12	26
保持時間 (min)	保持時間			
	アベルメクチン B <sub>1a</sub>	3.9		
	アベルメクチン B <sub>1b</sub>	3.4		
	8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1a</sub>	4.4		
	8,9-Z-アベルメクチン B <sub>1b</sub>	3.9		

## 5. 定量

アベルメクチン B<sub>1a</sub>、8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub>及び8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub>のそれぞれ 2.5 mgをアセトニトリルに溶解し、標準原液 100 mg/Lを調製した（アベルメクチン B<sub>1b</sub>は 100 mg/Lを購入）。この溶液をアセトニトリルで希釈し、0.005～0.03 mg/Lの濃度の混合標準溶液を調製した。各標準溶液 5  $\mu$ LをLC-MS/MSに注入し、得られたピーク面積値を用いて検量線を作成した。試験溶液 5  $\mu$ LをLC-MS/MSに注入し、検量線から絶対検量線法によりアベルメクチン B<sub>1a</sub>、アベルメクチン B<sub>1b</sub>、8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub>及び8,9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub>の含量を算出した。

## 6. 試験溶液の調製

### 6-1. 抽出

試料 20.0 gを量り採り、添加試料ではこれに添加用標準溶液 1 mLを添加してよく攪拌した後、30分間放置した。これにアセトン 50 mLを加えてホモジナイズした後、ケイソウ土を 1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトン 25 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に 100 mLとした。この液から 20 mL（試料 4.00 g相当）を採り、40°C以下で濃縮し、アセトンを除去した。

この残留物に、10 w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mLを加えて溶かし、酢酸エチル 50 mLずつで2回振とう抽出した。酢酸エチル層に適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、ナス型フラスコ中へろ過し、酢酸エチル 20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返した。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で酢酸エチルを除去した。この残留物にアセ

トニトリル及びトルエン（3：1）混液 2 mL を加えて溶かした。

## 6-2. 精製

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム（500 mg/500 mg）に、アセトニトリル及びトルエン（3：1）混液 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに抽出操作で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル及びトルエン（3：1）混液 2 mL で 2 回洗い込み、さらに 44 mL で溶出させ、注入した溶液も含めた全溶出液を捕集した（0～4 mL の溶出液をフラクション 1、4～8 mL の溶出液をフラクション 2、8～12 mL の溶出液をフラクション 3、12～16 mL の溶出液をフラクション 4、16～20 mL の溶出液をフラクション 5、20～25 mL の溶出液をフラクション 6、25～30 mL の溶出液をフラクション 7、30～40 mL の溶出液をフラクション 8、40～50 mL の溶出液をフラクション 9 とした）。

各溶出液を 40℃以下で濃縮し、窒素ガスを吹き付けて溶媒を除去した。この残留物をアセトニトリルに溶解し、正確に 20 mL（ばれいしょは 2 mL）としたものを試験溶液とした。

### 6-3. 試験操作のフローチャート

#### 秤 取

| 試料 20.0 g

↓

#### アセトン抽出

| アセトン 50 mL を加え、ホモジナイズ

| 吸引ろ過

| 残留物にアセトン 25 mL を加え、ホモジナイズ

| 吸引ろ過

| アセトン抽出液を合わせ、100 mL に定容

↓

#### 酢酸エチル転溶

| 抽出液 20 mL

| 減圧濃縮、アセトン除去

| 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL

| 酢酸エチル 50 mL を加え、5 分間振とう

| 酢酸エチル層を採る

| 水層に酢酸エチル 50 mL を加え、5 分間振とう

| 酢酸エチル層を合わせる

| 無水硫酸ナトリウム脱水、ろ過

| 減圧濃縮、酢酸エチル除去

| 残留物にアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 2 mL を加え溶解

↓

#### グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム

| アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 10 mL でコンディショニング

| 試料溶液負荷

| アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 50 mL で溶出

↓

#### 試験溶液

| 全溶出液を合わせ、減圧濃縮、窒素乾固

| アセトニトリルで正確に 20 mL (ばれいしょは 2 mL) とし、試験溶液とする

↓

#### LC-MS /MS 定量



## 7. マトリックス添加標準溶液の調製

無添加の試験溶液 500  $\mu$ L を分取し、窒素気流下で溶媒を除去した。残留物に 0.02 mg/L (回収率 100%相当) の標準溶液 500  $\mu$ L を加えて溶かしてマトリックス添加標準溶液とし、マトリックス効果 (マトリックス添加標準溶液の面積値を同濃度の検量線用標準溶液の面積値で除した値) を確認した。

なお、表 1-1 から表 2-4 のマトリックス効果については、フラクションごとにマトリックスの組成が異なるため、フラクションごとの無添加の試験溶液を用いて、マトリックス添加標準溶液を調製した。

## 8. グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムの検討

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムからの溶出状況を表 1 及び表 2 に示した。ネギ及びばれいしょのいずれの検体においても 20 mL までで溶出し、溶出量は 25 mL で十分であると考えられた。

表 1-1. アベルメクチン B<sub>1a</sub> の溶出状況 (試料: ねぎ)

フラクション No.	溶出量	フラクション回収率(%)			マトリックス効果
		カラム前添加 1	カラム前添加 2	添加回収	
1	0-4 mL	0	0	0	0.97
2	4-8 mL	17.9	4	7.6	0.93
3	8-12 mL	64.6	77.9	69.0	0.95
4	12-16 mL	3	12.7	2.1	0.97
5	16-20 mL	0	0	0	1.01
6	20-25 mL	0	0	0	0.93
7	25-30 mL	0	0	0	0.96
8	30-40 mL	0	0	0	0.99
9	40-50 mL	0	0	0	0.96
合計		85.5	94.6	78.7	

カラム前添加: 6.試験溶液の調製において 6-2.精製の前に標準溶液を添加したもの

(ねぎの添加量: 0.4 mg、ばれいしょの添加量 0.04 mg)

添加回収: 6.試験溶液の調製において 6-1.抽出の前に標準溶液を添加したもの

(ねぎの添加量: 2 mg、ばれいしょの添加量 0.2 mg)

マトリックス効果: マトリックス添加標準溶液の面積値を同濃度の検量線用標準溶液の面積値で除した値

表 1-2. アベルメクチン B<sub>1b</sub> の溶出状況 (試料: ねぎ)

フラクション No.	溶出量	フラクション回収率(%)			マトリックス 効果
		カラム前添加 1	カラム前添加 2	添加回収	
1	0-4 mL	0	0	0	0.96
2	4-8 mL	27.7	5.8	16.2	0.99
3	8-12 mL	60.1	79.8	69	0.94
4	12-16 mL	0	3.6	0	1.00
5	16-20 mL	0	0	0	0.99
6	20-25 mL	0	0	0	0.93
7	25-30 mL	0	0	0	0.97
8	30-40 mL	0	0	0	0.97
9	40-50 mL	0	0	0	0.96
合計		87.8	89.2	85.2	

表 1-3. 8.9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub> の溶出状況 (試料: ねぎ)

フラクション No.	溶出量	フラクション回収率(%)			マトリックス 効果
		カラム前添加 1	カラム前添加 2	添加回収	
1	0-4 mL	0	0	0	0.94
2	4-8 mL	72.9	55.6	68.5	0.97
3	8-12 mL	19.2	36.3	20.3	0.94
4	12-16 mL	0	0	0	1.01
5	16-20 mL	0	0	0	1.02
6	20-25 mL	0	0	0	0.93
7	25-30 mL	0	0	0	0.99
8	30-40 mL	0	0	0	0.96
9	40-50 mL	0	0	0	0.99
合計		92.1	91.9	88.8	

表 1-4. 8.9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub> の溶出状況 (試料: ねぎ)

フラクション No.	溶出量	フラクション回収率(%)			マトリックス 効果
		カラム前添加 1	カラム前添加 2	添加回収	
1	0-4 mL	0	0	0	0.93
2	4-8 mL	74.7	56.6	70.9	0.94
3	8-12 mL	18.4	37.5	19.2	0.95
4	12-16 mL	0	0	0	0.99
5	16-20 mL	0	0	0	0.99
6	20-25 mL	0	0	0	0.93
7	25-30 mL	0	0	0	1.03
8	30-40 mL	0	0	0	0.94
9	40-50 mL	0	0	0	0.97
合計		93.1	94.1	90.1	

表 2-1. アベルメクチン B<sub>1a</sub> の溶出状況 (試料: ばれいしょ)

フラクション No.	溶出量	フラクション回収率 (%)			マトリックス 効果
		カラム前添加 1	カラム前添加 2	添加回収	
1	0-4 mL	0	0	0	0.91
2	4-8 mL	0	0	0	0.92
3	8-12 mL	19.6	17.8	13.0	0.96
4	12-16 mL	53.4	57.5	55.3	0.97
5	16-20 mL	16.4	12.6	17.9	1.06
6	20-25 mL	0	0	0	0.96
7	25-30 mL	0	0	0	0.94
8	30-40 mL	0	0	0	1.02
9	40-50 mL	0	0	0	0.96
合計		89.4	87.9	86.2	

表 2-2. アベルメクチン B<sub>1b</sub> の溶出状況 (試料: ばれいしょ)

フラクション No.	溶出量	フラクション回収率 (%)			マトリックス 効果
		カラム前添加 1	カラム前添加 2	添加回収	
1	0-4 mL	0	0	0	0.93
2	4-8 mL	0	0	0	1.00
3	8-12 mL	40.8	37.7	27.5	0.93
4	12-16 mL	48.9	52.6	49.4	0.98
5	16-20 mL	10.6	7.8	10.3	1.07
6	20-25 mL	0	0	0	0.96
7	25-30 mL	0	0	0	0.95
8	30-40 mL	0	0	0	1.04
9	40-50 mL	0	0	0	0.98
合計		100.3	98.1	87.2	

表 2-3. 8.9-Z-アベルメクチン B<sub>1a</sub> の溶出状況 (試料: ばれいしょ)

フラクション No.	溶出量	フラクション回収率 (%)			マトリックス 効果
		カラム前添加 1	カラム前添加 2	添加回収	
1	0-4 mL	0	0	0	0.97
2	4-8 mL	13.7	12.0	8.0	0.95
3	8-12 mL	77.6	77.4	74.6	0.98
4	12-16 mL	10.5	9.4	7.7	0.96
5	16-20 mL	0.7	0.4	0.6	1.05
6	20-25 mL	0	0	0	0.97
7	25-30 mL	0	0	0	0.94
8	30-40 mL	0	0	0	1.01
9	40-50 mL	0	0	0	0.95
合計		102.5	99.2	90.9	

表 2-4. 8.9-Z-アベルメクチン B<sub>1b</sub> の溶出状況 (試料: ばれいしょ)

フラクション No.	溶出量	フラクション回収率 (%)			マトリックス 効果
		カラム前添加 1	カラム前添加 2	添加回収	
1	0-4 mL	0	0	0	0.92
2	4-8 mL	12.3	10.3	5.6	0.92
3	8-12 mL	59.8	65.5	61.3	0.95
4	12-16 mL	9.7	8.3	6.3	0.97
5	16-20 mL	2	1.9	1.9	1.06
6	20-25 mL	0	0	0	0.98
7	25-30 mL	0	0	0	0.94
8	30-40 mL	0	0	0	1.03
9	40-50 mL	0	0	0	0.97
合計		83.8	86.0	75.1	

## [ 本試験（併行再現性：5 試行）の実施内容 ]

1. 試料、2. 試薬、試液、3.装置、4.測定条件、5.定量、7. マトリックス添加標準溶液の調製 については、予備試験と同様に実施した。

### 6. 試験溶液の調製

#### 6-1. 抽出

試料20.0 gを量り採り、添加試料ではこれに添加用標準溶液1 mLを添加してよく攪拌した後、30分間放置した。これにアセトン100 mLを加えてホモジナイズした後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過した。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、上記と同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に200 mLとした。この液から40 mL（試料4.00 g相当）を採り、40℃以下で濃縮し、アセトンを除去した。

この残留物に、10 w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL を加え、酢酸エチル 50 mL ずつで2回振とう抽出した。酢酸エチル層に適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、ナス型フラスコ中へろ過し、酢酸エチル 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返した。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で酢酸エチルを除去した。この残留物にアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液 2 mL を加えて溶かした。

#### 6-2. 精製

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム（500 mg/500 mg）に、アセトニトリル及びトルエン（3：1）混液10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに抽出操作で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル及びトルエン（3：1）混液2 mL で2回洗い込み、さらに19 mLで溶出させ、注入した溶液も含めた全溶出液を捕集した。溶出液を40℃以下で濃縮し、窒素ガスを吹き付けて溶媒を除去した。この残留物をアセトニトリルに溶解し、正確に20 mL（ばれいしょは2mL）としたものを試験溶液とした。

### 6-3. 試験操作のフローチャート

#### 秤 取

| 試料 20.0 g

↓

#### アセトン抽出

| アセトン 100 mL を加え、ホモジナイズ

| 吸引ろ過

| 残留物にアセトン 50 mL を加え、ホモジナイズ

| 吸引ろ過

| アセトン抽出液を合わせ、200 mL に定容

↓

#### 酢酸エチル転溶

| 抽出液 40 mL

| 減圧濃縮、アセトン除去

| 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL

| 酢酸エチル 50 mL を加え、5 分間振とう

| 酢酸エチル層を採る

| 水層に酢酸エチル 50 mL を加え、5 分間振とう

| 酢酸エチル層を合わせる

| 無水硫酸ナトリウム脱水、ろ過

| 減圧濃縮、酢酸エチル除去

| 残留物にアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 2 mL を加え溶解

↓

#### グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム

| アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 10 mL でコンディショニング

| 試料溶液負荷

| アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 25 mL で溶出

↓

#### 試験溶液

| 全溶出液を合わせ、減圧濃縮、窒素乾固

| アセトニトリルで正確に 20 mL (ばれいしょは 2 mL) とし、試験溶液とする

↓

#### LC-MS /MS 定量

## 8. 添加回収試験結果

ねぎ及びばれいしょを試料として、基準値濃度となるように標準物質を添加して回収試験（5 試行）を行った。その結果を、表 3-1～表 3-4 に示した。

ばれいしょのアベルメクチン B<sub>1b</sub> の真度において評価基準を下回る値が認められた。

表 3-1 アベルメクチンB<sub>1a</sub>の添加回収試験結果（基準値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	マトリック ス 効果
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5			
ねぎ	0.1	86.6	86.0	87.2	88.6	92.3	88.1	2.6	0.97
ばれいしょ	0.01	97.4	103.9	87.9	89.9	93.9	94.6	6.0	1.01

表 3-2 アベルメクチンB<sub>1b</sub>の添加回収試験結果（基準値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	マトリック ス 効果
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5			
ねぎ	0.1	98.3	102.3	87.6	87.8	85.9	92.4	7.2	0.91
ばれいしょ	0.01	65.2	39.2	51.7	58.5	58.6	54.6	16.1	0.66

表 3-3 8.9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>の添加回収試験結果（基準値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	マトリック ス 効果
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5			
ねぎ	0.1	88.5	83.3	84.8	83.2	84.3	84.8	2.3	0.91
ばれいしょ	0.01	86.3	96.9	80.7	74.7	81.9	84.1	8.8	0.98

表 3-4 8.9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub>の添加回収試験結果（基準値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	マトリック ス 効果
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5			
ねぎ	0.1	97.2	99.1	88.6	85.6	82.3	90.6	7.2	1.01
ばれいしょ	0.01	91.8	94.2	83.8	79.5	92.7	88.4	6.5	1.03

## 9. 追加試験

ばれいしょのアベルメクチン B<sub>1b</sub> の真度において評価基準を下回る値が認められたため、マトリックス効果の影響の低減を目的として、試験溶液を 2 倍に希釈した試験溶液で測定したところ、良好な結果が得られた。その結果を表 4-1～表 4-4 に示した。

表 4-1 アベルメクチンB<sub>1a</sub>の添加回収試験結果（基準値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	マトリックス 効果
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5			
ばれいしょ	0.01	95.9	102.7	97.4	102.7	106.7	101.1	3.9	1.06

表 4-2 アベルメクチンB<sub>1b</sub>の添加回収試験結果（基準値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	効果
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5			
ばれいしょ	0.01	93.0	92.4	89.5	92.1	99.0	93.2	6.0	0.96

表 4-3 8.9-Z-アベルメクチンB<sub>1a</sub>の添加回収試験結果（基準値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	マトリックス 効果
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5			
ばれいしょ	0.01	85.3	88.4	86.1	87.6	95.1	88.5	3.9	0.90

表 4-4 8.9-Z-アベルメクチンB<sub>1b</sub>の添加回収試験結果（基準値濃度）

食品名	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	マトリックス 効果
		n=1	n=2	n=3	n=4	n=5			
ばれいしょ	0.01	93.5	101.9	90.5	96.9	105.5	97.7	5.6	1.03

## 10. 注意点

測定に際して食品マトリックスの影響がある場合には、試験溶液の希釈や測定条件の検討を行うことが望ましい。



## 添加回収試験における代表的なクロマトグラム

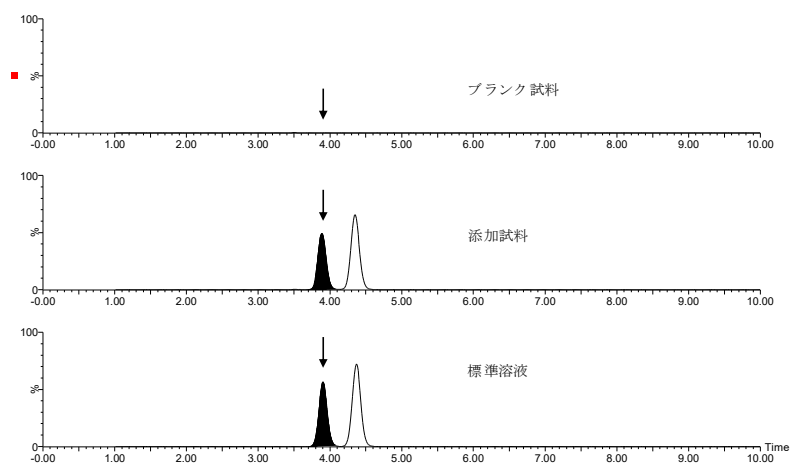


図 1-1. ねぎの MRM クロマトグラム (アベルメクチン B1a)

( $m/z$  890.8 $\rightarrow$ 567.4)

添加濃度 : 0.1 ppm

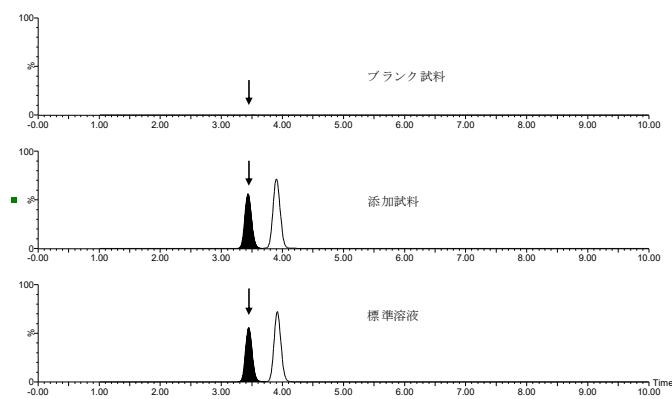


図 1-2. ねぎの MRM クロマトグラム (アベルメクチン B1b)

( $m/z$  876.8 $\rightarrow$ 553.4)

添加濃度 : 0.1 ppm

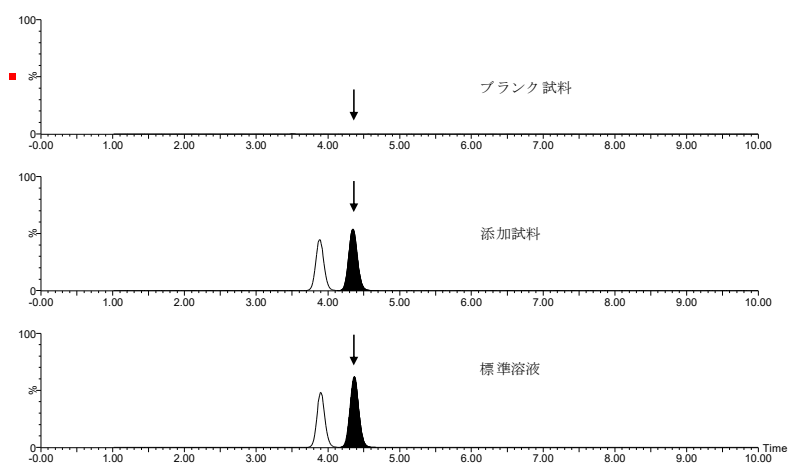


図 1-3. ねぎの MRM クロマトグラム (8,9-Z-アベルメクチン B1a)  
 ( $m/z$  890.8→567.5)  
 添加濃度 : 0.1 ppm

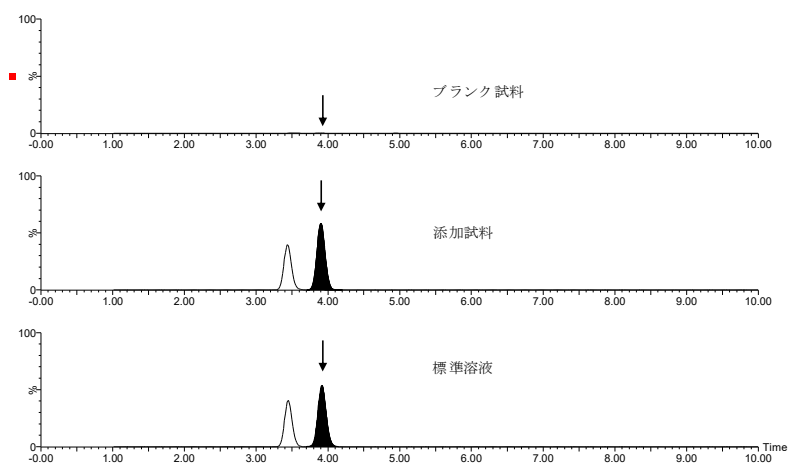


図 1-4. ねぎの MRM クロマトグラム (8,9-Z-アベルメクチン B1b)  
 ( $m/z$  876.8→553.5)  
 添加濃度 : 0.1 ppm

## 添加回収試験における代表的なクロマトグラム

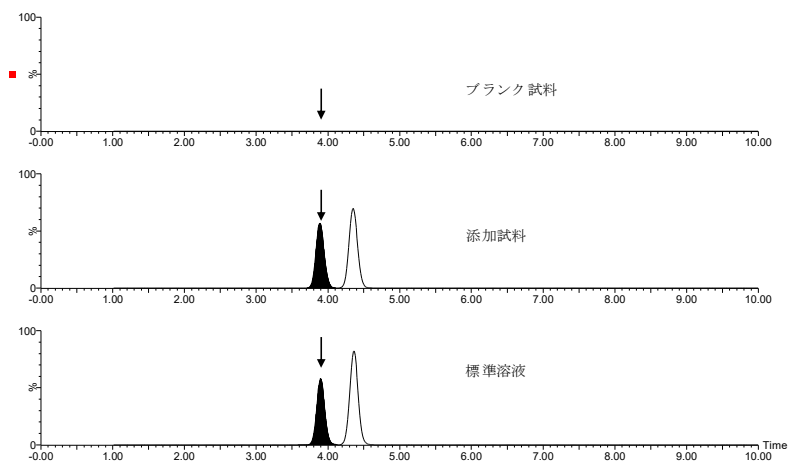


図 2-1. ばれいしょの MRM クロマトグラム (アベルメクチン B1a)

( $m/z$  890.8 $\rightarrow$ 567.4)

添加濃度 : 0.01 ppm

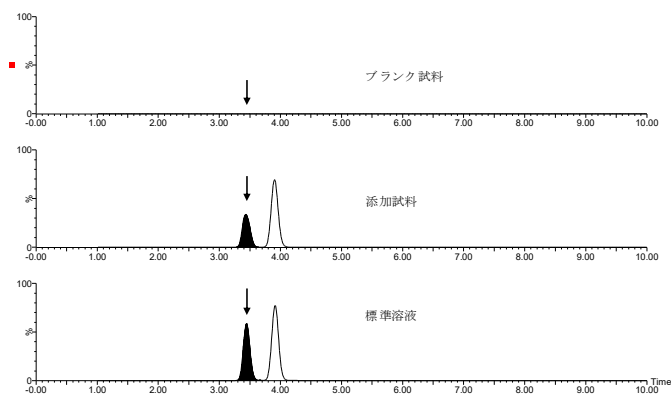


図 2-2. ばれいしょの MRM クロマトグラム (アベルメクチン B1b)

( $m/z$  876.8 $\rightarrow$ 553.4)

添加濃度 : 0.01 ppm

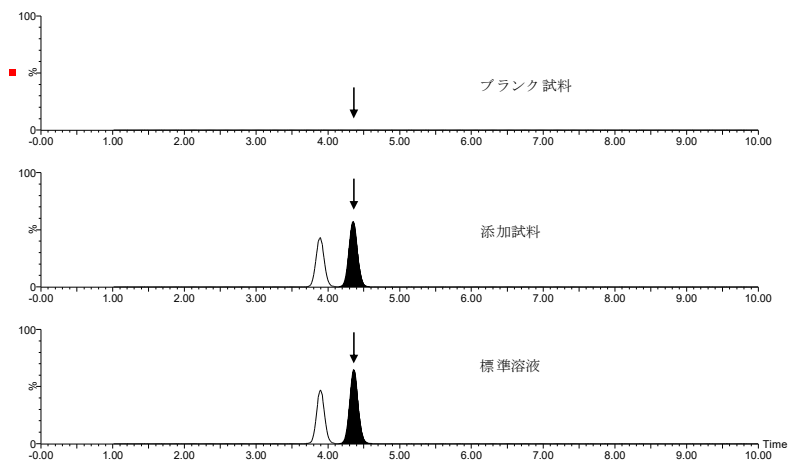


図 2-3. ばれいしょの MRM クロマトグラム (8,9-Z-アベルメクチン B1a)  
 ( $m/z$  890.8 $\rightarrow$ 567.5)  
 添加濃度 : 0.01 ppm

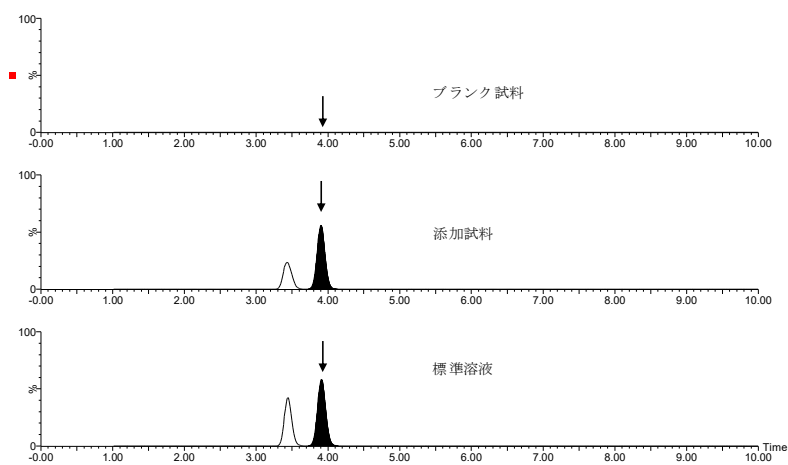


図 2-4. ばれいしょの MRM クロマトグラム (8,9-Z-アベルメクチン B1b)  
 ( $m/z$  876.8 $\rightarrow$ 553.5)  
 添加濃度 : 0.01 ppm

### 添加回収試験における代表的なクロマトグラム

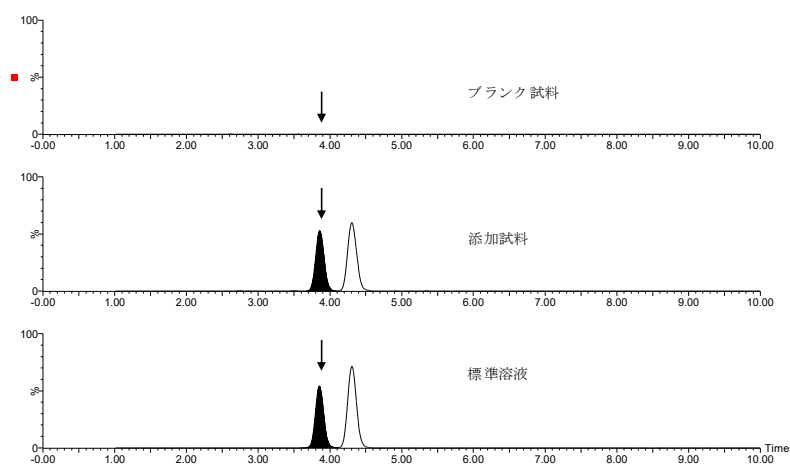


図 3-1. ばれいしょ(2倍希釈)のMRMクロマトグラム (アベルメクチン B1a)

( $m/z$  890.8 $\rightarrow$ 567.4)

添加濃度 : 0.01 ppm

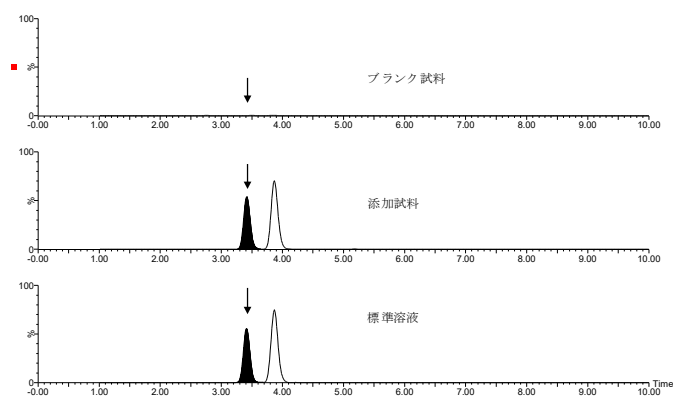


図 3-2. ばれいしょ(2倍希釈)のMRMクロマトグラム (アベルメクチン B1b)

( $m/z$  876.8 $\rightarrow$ 553.4)

添加濃度 : 0.01 ppm

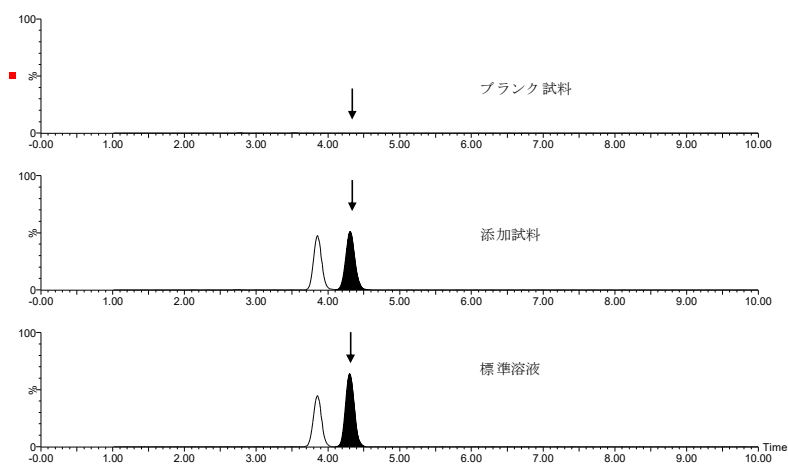


図 3-3. ばれいしょ(2倍希釈)のMRMクロマトグラム (8,9-Z-アベルメクチン B1a)  
 $(m/z\ 890.8 \rightarrow 567.5)$   
 添加濃度 : 0.01 ppm

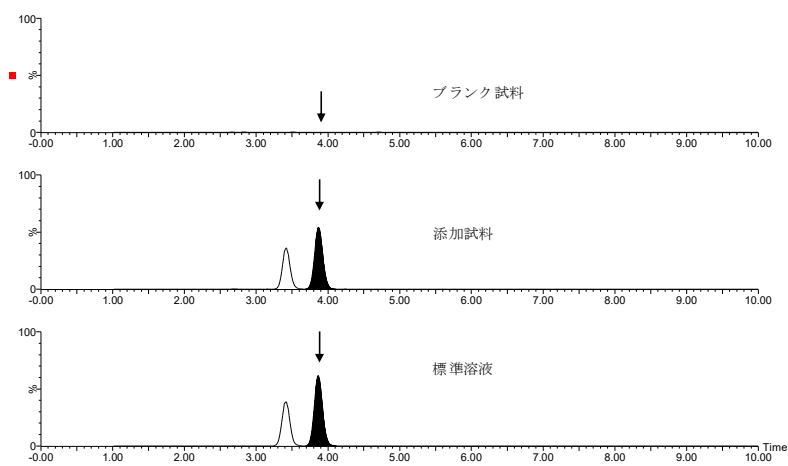


図 3-4. ばれいしょ(2倍希釈)のMRMクロマトグラム (8,9-Z-アベルメクチン B1b)  
 $(m/z\ 876.8 \rightarrow 553.5)$   
 添加濃度 : 0.01 ppm