

プロポキシカルバゾン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

プロポキシカルバゾン

メチル 2- [[[[4,5-ジヒドロ-3- (2-ヒドロキシプロポキシ) -4-メチル-5-オキソ-1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-イル] カルボニル] アミノ] スルホニル] ベンゾエート（以下「代謝物A」という。）

2. 適用食品

穀類

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。

プロポキシカルバゾンナトリウム塩標準品 本品はプロポキシカルバゾンナトリウム塩98%以上を含む。

代謝物A標準品 本品は代謝物A 97%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 gに水20 mLを加え、30分間放置する。これにメタノール100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にメタノール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、メタノールを加えて正確に200 mLとする。この溶液から正確に20 mLを分取し、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトニトリル5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）に、水及びアセトニトリル各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに1)で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及び水（7：3）混液10 mLを注入し、溶出液を採り、アセトニトリル及び水（7：3）混液を加えて正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

プロポキシカルバゾンナトリウム塩標準品をメタノールに溶かして200 mg/L (プロポキシカルバゾン換算) とし標準原液とする。同様に代謝物A標準品をメタノールに溶かして200 mg/Lの標準原液とする。各標準原液を適宜混合してアセトニトリル及び水 (7 : 3) 混液で適宜希釈した溶液を数点調製し、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 (代謝物Aはプロポキシカルバゾン換算) に相当する試験溶液中濃度は0.001 mg/L (代謝物Aはプロポキシカルバゾン換算) である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6の検量線でプロポキシカルバゾン及び代謝物Aの各含量を求める。

代謝物Aを含むプロポキシカルバゾンの含量を求める場合には、次式により求める。

プロポキシカルバゾン (代謝物Aを含む。) の含量 (ppm) = A + B × 0.9614

A : プロポキシカルバゾンの含量 (ppm)

B : 代謝物Aの含量 (ppm)

8. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

9. 測定条件

(例)

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2.1 mm、長さ150 mm、粒子径5 µm

カラム温度 : 40°C

移動相 : アセトニトリル及び0.1 vol%ギ酸の混液 (3 : 7) から (7 : 3) までの濃度勾配を10分間で行った後、(9 : 1) で5分間保持する。

イオン化モード : ESI (-)

主なイオン (m/z)

プロポキシカルバゾン : プリカーサーイオン 397、プロダクトイオン 156、113

代謝物A : プリカーサーイオン 413、プロダクトイオン 172、113

注入量 : 4 µL

保持時間の目安

プロポキシカルバゾン : 9分

代謝物A : 5分

10. 定量限界

各化合物0.01 mg/kg (代謝物Aはプロポキシカルバゾン換算)

11. 留意事項

1) 試験法の概要

プロポキシカルバゾン及び代謝物Aを試料からメタノールで抽出し、エチレンジアミン-N-プロピ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である。

2) 注意点

- ① プロポキシカルバゾン及び代謝物AのLC-MS/MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

プロポキシカルバゾン

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 397、プロダクトイオン 156

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 397、プロダクトイオン 113

代謝物A

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 413、プロダクトイオン 172

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 413、プロダクトイオン 113

- ② プロポキシカルバゾンはアセトニトリルに溶けにくいため、標準原液調製時には作成する濃度によっては注意すること。
- ③ 試験法開発時に検討した食品：小麦

12. 参考文献

なし

13. 類型

C