

プロポキシカルバゾン試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

プロポキシカルバゾン

2. 適用食品

畜産物

3. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

4. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

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。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 g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℃以下で約1 mLに濃縮する。これに*n*-ヘキサン30 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃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。標準原液を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に相当する試験溶液中濃度は0.001 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6の検量線でプロポキシカルバゾンの含量を求める。

8. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

9. 測定条件

(例)

カラム：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℃

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 ）：プリカーサーイオン 397、プロダクトイオン 156、113

注入量：4 μL

保持時間の目安：9分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

プロポキシカルバゾンを試料からメタノールで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、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、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のLC-MS/MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

定量イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 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

- 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：牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳

12. 参考文献

なし

13. 類型

C