

ヘキシチアゾクス試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

ヘキシチアゾクス

塩基性条件下の加水分解により *trans*-5-(4-クロロフェニル)-4-メチルチアゾリジン-2-オン（以下、PT-1-3という）に変換される代謝物

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。

ヘキシチアゾクス標準品 本品はヘキシチアゾクス98%以上を含む。

PT-1-3標準品 本品はPT-1-3 98%以上を含む

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0gにアセトン100mLを加え、ホモジナイズした後、毎分3,000回転で10分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にアセトン50mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離し、得られた上澄液を合わせ、アセトンを加えて正確に200mLとする。この溶液から正確に2mLを分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサン30mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30mLずつで3回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で約2mLまで濃縮する。

2) 精製・加水分解

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（500mg）にアセトニトリル10mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記の濃縮液を注入した後、アセトニトリル10mLを注入し、負荷液を含む全溶出液を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にメタノール2mLを加えて溶かした後、0.1mol/L水酸化ナトリウム溶液20mLを加えて混合し、密栓して60℃で80分間加熱する。加熱後の溶液を放冷し、室温まで戻す。

3) 精製

ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (500mg) にメタノール及び水各10mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに先の加水分解溶液を注入した後、水10mLを注入し、流出液を捨てる。次いで、メタノール10mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶かし、正確に5 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

P T - 1 - 3 標準品のメタノール溶液を数点調製し、それぞれ LC-MS/MS に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中 0.01mg/kg に相当する試験溶液中の濃度は 0.0002mg/L (ヘキシチアゾクス換算) である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. の検量線で P T - 1 - 3 の含量を求め、次式によりヘキシチアゾクスの含量を求める。

ヘキシチアゾクス (塩基性条件下の加水分解で P T - 1 - 3 に変換される代謝物を含む) の含量 (ppm) = P T - 1 - 3 の含量 (ppm) × 1.550

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 2.1mm、長さ 150mm、粒子径 3 μ m

カラム温度：40℃

移動相：0.1vol%ギ酸及びメタノールの混液 (9 : 1) から (1 : 99) までの濃度勾配を 10 分間で行い、10 分間保持する。

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (*m/z*)：プリカーサーイオン 228、プロダクトイオン 168、116

注入量：10 μ L

保持時間の目安：12分

10. 定量限界

0.01mg/kg (ヘキシチアゾクス換算)

11. 留意事項

1) 試験法の概要

ヘキシチアゾクス及び代謝物を試料からアセトンで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配による脱脂及びエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムによる精製を行い、水酸化ナトリウム溶液を加えてヘキシチアゾクス及び代謝物をP T-1-3へ変換した後、ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製し、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① ヘキシチアゾクス及びP T-1-3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。

ヘキシチアゾクス

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン353、プロダクトイオン228

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン353、プロダクトイオン168

- ② 加水分解において、長時間加熱すると回収率が低下する可能性があるため、必ず試験前にヘキシチアゾクス標準品を用いてヘキシチアゾクスがP T-1-3へ変換することを確認し、最適な加熱時間で試験を行う。
- 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、鶏卵

12. 参考文献

なし

13. 類型

C