

イミドカルブ試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

イミドカルブ

2. 適用食品

畜水産物

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。

イミドカルブ標準品 本品はイミドカルブ 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、乳、卵及び魚介類の場合

試料 10.0 g（脂肪の場合は 5.00 g）に *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 50 mL、*n*-ヘキサン 50 mL、30 w/v%水酸化ナトリウム溶液 2 mL 及び無水硫酸ナトリウム 20 g を加え、ホモジナイズした後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層と *n*-ヘキサン層をそれぞれ採る。次いで、先の *n*-ヘキサン層を遠心分離後の残留物に加え、さらに *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 50 mL を加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離する。*n*-ヘキサン層を捨て、得られたアセトニトリル層を先のアセトニトリル層に合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とする。この溶液から正確に 10 mL（脂肪の場合は正確に 20 mL）を分取し、2-プロパノール 2 mL を加えて、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水（2 : 3）混液に溶かし、正確に 1 mL としたものに *n*-ヘキサン 0.5 mL を積層する。毎分 13,000 回転で 5 分間遠心分離した後、*n*-ヘキサン層を除去し、アセトニトリル-水層を試験溶液とする。

2) はちみつの場合

試料 10.0 g に水 50 mL を加えて溶解する。30 w/v%水酸化ナトリウム 2 mL、アセトニトリル 50 mL 及び塩化ナトリウム 25 g を加え振とう抽出する。毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層を採る。水層及び残留物にアセトニトリル 50 mL を加えて振とう抽出し、上記と同様に遠心分離する。得られたアセトニトリル層を先のアセトニトリル層に合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とする。この溶液から正確に 10 mL を分取し、2-プロパノール 1 mL を加えて、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残

留物をアセトニトリル及び水（2：3）混液に溶解し、正確に 1 mL としたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

イミドカルブ標準品をメタノールに溶解して 1 mg/mL とし標準原液とする。標準原液をアセトニトリル及び水（2：3）混液で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 0.01 mg/L である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. の検量線でイミドカルブの含量を求める。

8. 確認試験

LC-MS/MS により確認する。

9. 測定条件

(例)

カラム：親水性ビニルポリマーゲル 内径 2.0 mm、長さ 100 mm、粒子径 7 µm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び 50 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液（7：3）混液

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン (m/z)：プリカーサーイオン 349、プロダクトイオン 188、162

注入量：5 µL

保持時間の目安：5 分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

イミドカルブを試料（はちみつを除く。）から塩基性条件下アセトニトリルで抽出し、脂質及び脂溶性きょう雑物は *n*-ヘキサンで除き、水及び水溶性きょう雑物は無水硫酸ナトリウムで除いた後、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。

はちみつについては、イミドカルブを試料から塩基性条件下アセトニトリルで抽出すると同時に、塩析により水及び水溶性きょう雑物を除いた後、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① 5. の 1) において、残留物をアセトニトリル及び水 (2:3) 混液に溶解したものに *n*-ヘキサンを積層して遠心分離し、アセトニトリル-水層を試験溶液とする操作は、脂肪等の脂質を多く含む試料では脱脂が不十分な場合があるので、脂質の除去のために実施している。また、毎分 13,000 回転の高速で遠心することにより、脂質等の浮遊物の除去効果が高くなるが、試験法の性能に影響がないことが確認できれば、他の条件 (毎分 3,000 回転等) に変更することも可能である。
- ② 残留物をアセトニトリル及び水 (2:3) 混液に溶解する際には、超音波処理をしながら溶解すると良い。
- ③ イミドカルブの 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 349、プロダクトイオン 188
定性イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 349、プロダクトイオン 162
- ④ 試験法開発時に検討した食品 : 牛の筋肉・脂肪・肝臓・腎臓、鶏卵、牛乳、はちみつ、うなぎ (蒲焼き)、さけ及びしじみ

12. 参考文献

なし

13. 類型

C