

エトキシキン試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

エトキシキン

2. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

3. 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。

エトキシキン標準品 本品はエトキシキン96%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

[1]はちみつ以外の場合

試料10.0 g（脂肪は5.00 g）に10 w/v%炭酸ナトリウム溶液20 mL及び50 mg/Lジブチルヒドロキシトルエン（以下BHTと略す）・アセトン溶液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50 mg/L BHT・アセトン溶液50 mLを加え、ホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、50 mg/L BHT・アセトン溶液で正確に200 mLとする。この10 mLを採り、水10 mLを加える。

[2]はちみつの場合

試料10.0 gに水20 mLを加え、よく均一化する。これに10 w/v%炭酸ナトリウム溶液20 mL及び50 mg/L BHT・アセトン溶液100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に水10 mL及び50 mg/L BHT・アセトン溶液50 mLを加え、ホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、50 mg/L BHT・アセトン溶液で正確に200 mLとする。この10 mLを採り、水10 mLを加える。

2) 精製

[1]脂肪以外の場合

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）にアセトニトリル5 mL、次いで水10 mLを注入し、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、アセトニトリル及び水（3：7）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル10 mLを注入し、溶出液を採り、アセトニトリルを加えて正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

[2]脂肪の場合

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にアセトニトリル5 mL、次いで水10 mLを注入し、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、アセトニトリル及び水 (3 : 7) 混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル10 mLを注入し、溶出液を40°C以下で約2 mLまで濃縮し、アセトニトリルを加えて正確に5 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

エトキシキン標準品の0.0005~0.01 mg/L溶液 (50 mg/L BHT・アセトニトリル溶液) を数点調製し、それぞれ5 µLを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。

6. 定量

試験溶液5 µLをLC-MS/MSに注入し、5の検量線でエトキシキンの含量を求める。

7. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

8. 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2.0 mm、長さ150 mm、粒子径5 µm

カラム温度 : 40°C

移動相 : 2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液及びメタノール混液 (9 : 11) から (1 : 19) までの濃度勾配を10分間で行い、(1 : 19) 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 218、プロダクトイオン 174、148

保持時間の目安 : 11分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

エトキシキンを試料から塩基性下でアセトンで抽出し、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である。

2) 注意点

[1] エトキシキンの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 218、プロダクトイオン148

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 218、プロダクトイオン174

[2] エトキシキンは、抽出操作中に分解しやすいことから、分解防止のためにBHTを添加している。BHTを添加しても回収率が安定しない場合には、抽出操作時に氷冷することによって改善する場合がある。

[3] エトキシキンは、濃縮乾固により損失がみられたため、濃縮乾固を行わない方法とした。乾固させなければ減圧濃縮は可能である。

[4] 脂肪について精製後の溶出液を濃縮する際、乾固させないように注意が必要である。また、溶出液の濃縮を省略し、アセトニトリルを加えて正確に10 mLとしたものを試験溶液とし、注入量を10 μ Lとしてもよい。

11. 参考文献

佐々木ら、果実中のエトキシキン分析法の評価、食品衛生学雑誌、43、366-370 (2002)

12. 類型

C