

プロチオコナゾール試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

代謝物M17 [2- (1-クロロシクロプロピル) -1- (2-クロロフェニル) -3- (1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-イル) -2-プロパノール]（抱合体を含む。）

2. 適用食品

畜産物、乳

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。

代謝物M17標準品 本品は代謝物M17 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 g（脂肪の場合は5.00 g）を量り採る。アセトニトリル及び水（4：1）混液40 mL及び*n*-ヘキサン20 mL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。残留物にアセトニトリル及び水（4：1）混液40 mL及び*n*-ヘキサン20 mLを加え、ホモジナイズし、上記と同様に遠心分離し、得られた上澄液を合わせる。アセトニトリル及び水混液層を採り、消泡用シリコン3滴を加え、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

2) 加水分解

1) で得られた残留物に水10 mL及び5 mol/L塩酸20 mLを加え、還流装置に接続し、2時間加熱還流を行い、代謝物M17の抱合体を加水分解する。放冷後、反応液に水を加えて正確に100 mLとする。

3) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）に、アセトニトリル及び水各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。2) で得られた溶液から正確に10 mL（脂肪の場合は20 mL）を分取し、このカラムに注入した後、アセトニトリル及び水（1：4）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及び水（4：1）混液10 mLを注入し、溶出液をアセトニトリル及び水（4：1）混液で正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

代謝物M17標準品のアセトニトリル及び水（4：1）混液の溶液を数点調製し、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、筋肉、脂肪及び内臓にあつては、試料中0.01 mg/kg（プロチオコナゾール換算）に相当する試験溶液中濃度は0.001 mg/L（プロチオコナゾール換算）である。乳にあつては、試料中0.004 mg/kg（プロチオコナゾール換算）に相当する試験溶液中濃度は0.0004 mg/L（プロチオコナゾール換算）である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6の検量線で代謝物M17の含量を求め、次式により、プロチオコナゾール（代謝物M17及びその抱合体を含む）の含量を求める。

プロチオコナゾール（代謝物M17及びその抱合体を含む）の含量（ppm）=代謝物M17の含量（ppm）×1.103

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3 µm

カラム温度：40℃

移動相：5 mmol/L酢酸アンモニウム溶液及びアセトニトリルの混液（1：1）から（1：9）

までの濃度勾配を10分間で行い、（1：9）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 312、プロダクトイオン 125、70

注入量：4 µL

保持時間の目安：6分

10. 定量限界

筋肉、脂肪及び内臓：0.01 mg/kg（プロチオコナゾール換算）

乳：0.004 mg/kg（プロチオコナゾール換算）

11. 留意事項

1) 試験法の概要

代謝物M17及びその抱合体を試料から n -ヘキサン存在下アセトニトリル及び水（4：1）

混液で抽出する。代謝物M17の抱合体を塩酸で加水分解して代謝物M17とし、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。

なお、代謝物M17の含量に換算係数を乗じてプロチオコナゾールの含量に変換し分析値とする。

2) 注意点

- ① 代謝物M17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 312、プロダクトイオン 70
定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 312、プロダクトイオン 125
- ② 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

- ・ JAU6476 Independent Method Validation (Battelle Study Number A4-14-01-01)
- ・ [Phenyl-UL-¹⁴C]JAU6476-desthio Absorption, Distribution, Excretion, and Metabolism in the Lactating Goat

13. 類型

C