

プレドニゾン試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

プレドニゾン

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。

プレドニゾン標準品 本品はプレドニゾン98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0gに *n*-ヘキサン50mLを加え、ホモジナイズした後、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル50mLを加え、さらにホモジナイズした後、毎分3,000回転で10分間遠心分離し、アセトニトリル層を採る。残留物及び *n*-ヘキサン層にアセトニトリル25mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離し、得られたアセトニトリル層を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に100mLとする。この溶液から正確に10mLを分取して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及び水（1：9）混液5mLを加えて溶かす。

2) 精製

オクタデシ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及びアセトニトリル及び水（1：9）混液10mLを順次注入し、各流出液は捨てる。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。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムに1)で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル及び水（1：9）混液10mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムの下部にエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムを接続した後、アセトニトリル10mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を水及びメタノール（9：1）混液に溶かし、正確に1mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

プレドニゾン標準品の水及びメタノール（9：1）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、試料中0.0005mg/kgに相当する試験溶液中の濃度は0.0005mg/Lである。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. の検量線でプレドニゾロンの含量を求める。

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2.1mm、長さ150mm、粒子径 3 μ m

カラム温度：40°C

移動相：0.1vol%ギ酸及び0.1vol%ギ酸・メタノール溶液の混液（3：2）から（2：3）までの濃度勾配を20分間で行い、その後（1：9）までの濃度勾配を2分間で行い、8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405、プロダクトイオン329、295

注入量：10 μ L

保持時間の目安：17分

10. 定量限界

0.0005mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

プレドニゾロンを試料から *n*-ヘキサン存在下、アセトニトリルで抽出し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム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 プレドニゾロンの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405、プロダクトイオン329

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン405、プロダクトイオン295

② 試験法開発時に検討した食品：豚の筋肉、豚の脂肪、豚の肝臓、牛乳

12. 参考文献

なし

13. 類型

C