

ベダプロフェン試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

ベダプロフェン

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。

ベダプロフェン標準品 本品はベダプロフェン98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、魚介類、乳及び卵の場合

試料 10.0 g にアセトン 100 mL 及び 1 mol/L 塩酸 1 mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 3,500 回転で 5 分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にアセトン 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様に遠心分離し、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせて 40℃以下で約 15 mL まで濃縮する。これに 5 w/v% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、酢酸エチル 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン（1 : 1）混液 20 mL を加えて溶かす。

② はちみつの場合

試料 10.0 g に水 10 mL を加えて溶かした後、アセトン 100 mL 及び 1 mol/L 塩酸 1 mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 3,500 回転で 5 分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にアセトン 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様に遠心分離し、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせて 40℃以下で約 15 mL まで濃縮する。これに 5 w/v% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、酢酸エチル 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン（1 : 1）混液 20 mL を加えて溶かす。

2) 精製

弱塩基性陰イオン交換体ミニカラム (500 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 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、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 10 mL、アセトン 10 mL 及びメタノール 5 mL を順次注入し、流出液は捨てる。次いで酢酸及びメタノール (1 : 99) 混液 5 mL を注入し、溶出液を 40°C 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 10 mL としたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

ベダプロフェン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 0.01 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 の検量線でベダプロフェンの含量を求める。

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 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3.5 µm

カラム温度 : 40°C

移動相 : アセトニトリル及び 2.5 mmol/L ギ酸 (3 : 2) 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 281、プロダクトイオン 237

プリカーサーイオン 237、プロダクトイオン 235

注入量 : 5 µL

保持時間の目安 : 11 分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 概要

ベダプロフェンを試料から塩酸酸性下でアセトン抽出し、酢酸エチルに転溶後、弱塩基性陰イオン交換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。

12. 参考

1) ベダプロフェンの 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 281、プロダクトイオン 237

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 237、プロダクトイオン 235

2) LC-MS/MS による測定は、アイソクラティックで行うが、試料中の夾雑成分の影響を軽減するために、ベダプロフェンが溶出した後にアセトニトリル濃度を上げたグラジエント条件でカラムを洗浄することが望ましい。

3) 抽出後、残留物の溶解に用いるアセトン及び n -ヘキサン (1 : 1) 混液の液量が少量の場合では、脂肪分が多い試料では粘性が高くなり、弱塩基性陰イオン交換体ミニカラムを通過しにくくなるため 20 mL とした。

4) 遠心分離後の上澄液を採る際に、浮遊物等がある場合には綿栓ろ過を行うと良い。

5) 試験法開発時に検討した食品 : 馬の筋肉、牛の筋肉・脂肪・肝臓、さけ、うなぎ、しじみ、牛乳、鶏卵、はちみつ (そば蜜)

13. 参考文献

なし。

14. 類型

C