

フルベンダゾール試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

フルベンダゾール

(2-アミノ-1*H*-ベンズイミダゾール-5-イル) - (4-フルオロフェニル) -メタノン（以下「代謝物R35475」という。）

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。

フルベンダゾール標準品 本品はフルベンダゾール98%以上を含む。

代謝物R35475標準品 本品は代謝物R35475 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 gにアセトン50 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン25 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に100 mLとする。

2) 精製

ベンゼンスルホンプロピルシリカゲルミニカラム（500 mg）にアセトン5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液から正確に2 mLを分取して注入した後、アセトン5 mL、水5 mL及びアセトニトリル5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及びアンモニア水（97：3）混液10 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4 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

フルベンダゾール標準品及び代謝物R35475標準品の混合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0.005 mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.00025 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でフルベンダゾール及び代謝物R35475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 μm

カラム温度：40°C

移動相：5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液及び5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液の混液 (2 : 3) から (1 : 19) までの濃度勾配を20分間で行う。

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (m/z) :

フルベンダゾール：プリカーサーイオン 314、プロダクトイオン 123、95

代謝物R35475：プリカーサーイオン 256、プロダクトイオン 123、95

注入量：5 μL

保持時間の目安：フルベンダゾール：15分

代謝物R35475：12分

10. 定量限界

フルベンダゾール：0.005 mg/kg

代謝物R35475：0.005 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

フルベンダゾール及び代謝物R35475を試料からアセトンで抽出した後、ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲル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。

2) 注意点

① フルベンダゾール及び代謝物 R35475 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。

・フルベンダゾール

定量イオン (m/z)：プリカーサーイオン 314、プロダクトイオン 123

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 314、プロダクトイオン 95

・代謝物R35475

定量イオン (m/z)：プリカーサーイオン 256、プロダクトイオン 123

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 256、プロダクトイオン 95

② フルベンダゾール及び代謝物R35475の各標準品は溶媒に溶けにくいので、標準溶液調製の際には完全に溶けていることを確認する。

③ 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、鶏卵

12. 参考文献

なし

13. 類型

C