

測定結果

日時：平成 15 年 8 月 1 日

測定

①測定試料

(1) 試験試料

「よこたさん家のあまめしば」

(2) 標準試料

塩酸パパペリン(塩野義製薬社製)2mg/mL水溶液 100uLを希アンモニア水でpH9~10にし、ジクロロメタン・イソプロパノール (9:1) 1mLを加え、1分間ボルテックスミキサーで混和する。窒素気流下(40℃)溶媒を乾固した後、メタノール 1mLに溶解し、GC-MSの標準試料(200ug/mL)とする。また上記メタノール溶液 100uLを窒素気流下(40℃)溶媒を乾固して、アセトニトリル:20mMギ酸アンモニウム緩衝液(pH 3.5) (9:1)に2mL溶解してLC-MSの標準試料(10ug/mL)とする。

②前処理及び分析法(あへん中あへんアルカロイドの抽出法に準拠)

- (1) 試験試料 100mgに2.5%酢酸 3 mLを加え、超音波下 10分間抽出を行う。
- (2) 3000rpmで5分間、遠心分離を行い、上清を分取する。
- (3) 25%アンモニア水を加え、pH9~10にする。
- (4) ジクロロメタン・イソプロパノール (9:1) 3mLを加え、1分間ボルテックスミキサーで混和する。
- (5) 水層を分取し、(4)と同様の操作を再び行う。
- (6) (4)及び(5)のジクロロメタン層をあわせ、窒素気流下(40℃)溶媒を乾固する。
- (7) メタノール 300uLに溶解し、GC-MSの試料とする。また、窒素気流下(40℃)メタノールを乾固し、メタノールと同量のアセトニトリル:20mMギ酸アンモニウム緩衝液(pH 3.5) (9:1)に溶解してLC-MSの試料とする。

I. HPLC分析条件

カラム: Inertsil ODS-3 (2.1 x 150 mm, 5 µm, GLサイエンス)

移動相: A; 20mMギ酸アンモニウム緩衝液(pH 3.5)

B; アセトニトリル

Bを10から40%まで20分間で直線的にグラジエント溶出後、5分間A:B(60:40)で溶出
流速: 0.3 mL/min カラム温度: 40℃ 注入量: 10 µL

検出器: ダイオードアレイ検出器及びESI-MS

イオン化条件:

ESI positive mode

Drying Gas; 10.0L/min, Nebulizer pressure; 50 psig, Drying gas temperature; 325℃

Capillary voltage; 3500 V, Fragmentor; 100 V, Mass range; 50.0-500.0

II. GC-MS 分析条件

カラム : DB-5MS (15 m, 0.25 mm i.d., 0.25 μ m 膜厚、J&W Scientific 社製)

キャリアーガス : He, 1.0 mL/min

注入口温度 : 250°C, Splitless

カラム温度 : 100°C(1 min hold) - 15°C/min - 280°C(10 min)

検出器温度 : 280°C

イオン化法 : EI 法

測定結果

GC/MS : パパベリンの溶出位置に、ピークは検出されなかった。検出限界 (10 μ g/g, 10ppm)

LC/MS : パパベリンの溶出位置に定量限界 50ng/g (50ppb) 以上のピークは検出されなかった。

別に、酸性抽出を行い、ヘキサンで脱脂後、アンモニアアルカリ性下の酢酸抽出物について、ドラージェンドルフ試薬による TLC 分析を行ったが、papaverine と考えられるスポットは、検出されなかった。