

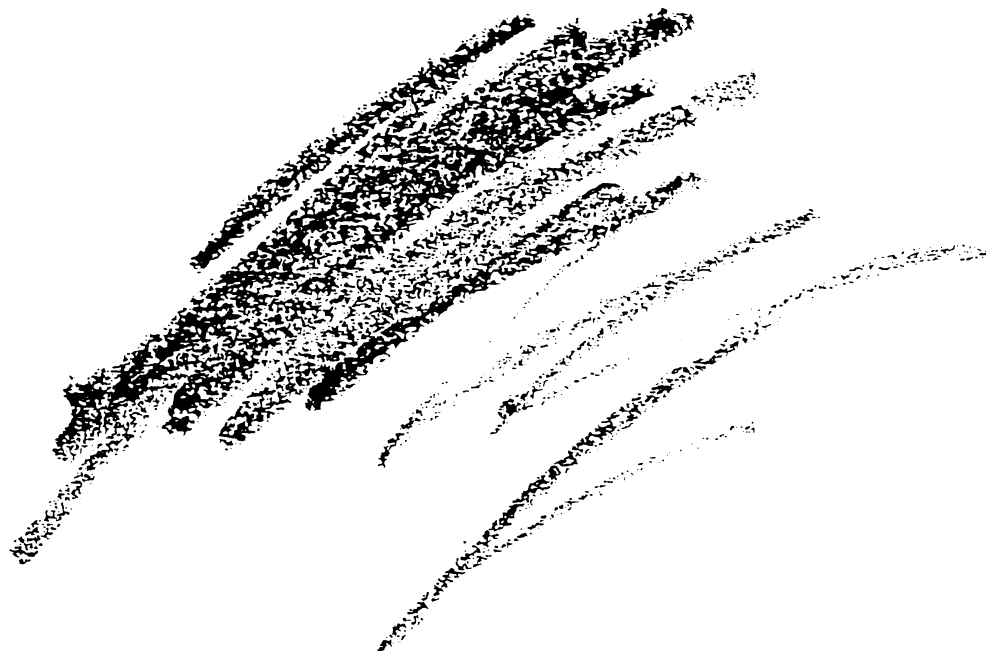


LC Application News

Application Brief

No.71

HPLCを用いたテトラサイクリン系抗生物質の分析



テトラサイクリン系抗生物質は、動物の飼料中に経口、非経口薬剤として添加され、世界中で幅広く使われています。テトラサイクリン系抗生物質は広範囲抗生物質で、家畜や養殖魚に対して高い活性度を示します。^{1,2}

ここでは、ダイオードアレイ - 逆相HPLCによる食肉中のテトラサイクリン系抗生物質の分析例を紹介します。食肉中のタンパク質からのテトラサイクリン系抗生物質の抽出は、食肉に鉱酸を添加し、ホモジナイズまたは細かく刻んだ後、液/液抽出により試料を脱脂し、必要に応じて除タンパク質、精製、濃縮を行います。³ 成分同定はダイオードアレイ検出器により得られたUVスペクトルを用いて評価しました。

Fig. 1にクロマトグラムを示します。検出限界は100ppbでした。連続10回分析した時の保持時間の再現性は0.2%以下 (RSD)、ピーク面積値の再現性は2% (RSD)以下でした。

テトラサイクリン系抗生物質のクロマトグラム

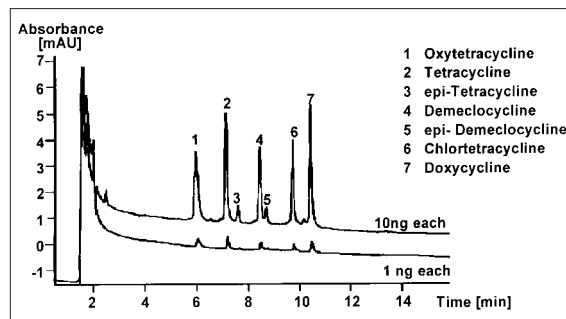


Fig.1 Analysis of tetracyclines by HPLC.

装置および方法

Table 1に装置構成、Table 2に分析条件を示します。

Table 1 System configuration

Quaternary pump	G1354A
Automatic sampler	G1313A
Column compartment	G1316A
Diode array detector	G1315A
3D ChemStation	G1319A

Table 2 Analytical conditions

Column	: 100 × 4.0 mm Hypersil BDS, 3 μm
Mobile phase	A : H ₂ O, pH=2.1 with sulfuric acid B : Acetonitrile
Gradient time	min : 0 10 B(%) : 15 60
Flow rate	: 0.5 ml/min
Column temp.	: 25
Detector	: Diode array detector
Signal / Reference	: 355 nm / 600 nm

サンプルの前処理

1. サンプル1gをクエン酸100mgと混合します。
2. 30%硝酸または0.1Mシユウ酸を加えます。
3. メタノールを4mL加え、5分間超音波をかけます。
4. 水を加え、全量10mLとします。
5. 遠心分離します。
6. 上澄を注入します。

オキシテトラサイクリン(1-10ng)の直線性

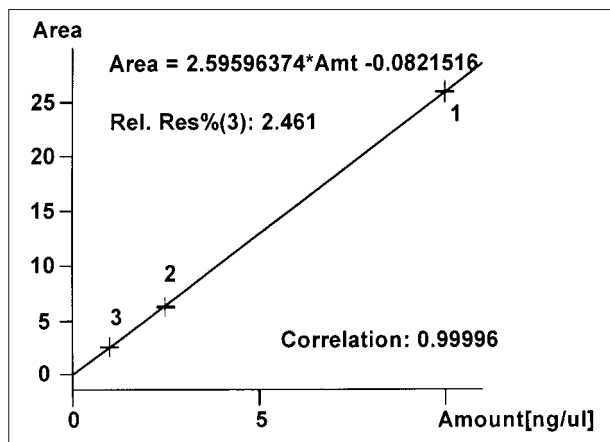


Fig.2 Linearity for oxytetracycline 1 - 10ng.

100ppbのテトラサイクリンを分析した時のUVスペクトル

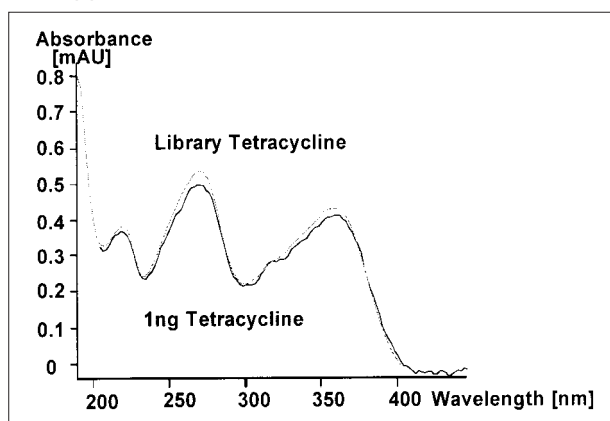


Fig.3 Analysis of tetracyclines at 100ppb by HPLC

文献

1. H. Malisch et al., "Determination of residues of chemotherapeutic and antiparasitic drugs in food stuffs of anomaly origin with HPLC and UV-Vis diode-array detection" *J. Liq. Chromatogr.*, 1988, 11(13), 2801-2827.14.
2. M. H. Thomas, *J. Assoc. Off. Anal.*; 1989, 72(4)564.
3. Farrington et al., "Food Additives and Contaminats", 1991, Vol.8, No.1, 55-64