

ダイオードアレイ検出器を用いた 食肉中の抗菌剤分析

Authors

野川 大地

熊谷 浩樹

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

私たちが普段食べている畜産物は、飼育の過程で疾病等を防ぐ目的で抗菌剤が投与されており、そうした食肉中の抗菌剤が人体を傷害しないよう、残留濃度を管理することは非常に重要です。厚生労働省が定める公定法では各薬剤の定量下限濃度や分析方法などが記載されています。そのうち、HPLCを用いた公定法では検出器として質量分析計を用いる一斉分析試験法その他、ダイオードアレイ検出器や蛍光検出器を用いた個別試験法が定められています。近年、一斉分析試験法への移行が進む一方で、個別試験法も依然として重要視されています。そこで、本アプリケーションノートでは、畜産動物に使用される抗菌剤であるナイカルバジン、チルミコシン、スピラマイシンを、Agilent 1260 Infinity II LC とダイオードアレイ検出器で分析した結果をご紹介します。

各化合物の検量線を作成したところ、全ての化合物において決定係数が0.999以上と良好な直線性を示すことが確認されました。また、それぞれの化合物において定量下限濃度のSN比と再現性(n=6)を解析したところ、全ての化合物でSN比63以上、再現性は保持時間(RT)のRSD 0.061%以下、面積のRSD 1.375%以下と良好な結果が得られました。

Key words：動物医薬品、抗菌剤、ダイオードアレイ検出器

システム

Agilent 1260 Infinity II HPLC システム
1260 Infinity II バイナリポンプ (G7112B)
1260 Infinity II バイアルサンプラ (G7129C)
内蔵カラムヒーター、サンプルクーラー付
1260 Infinity II ダイオードアレイ検出器 (DAD) (G7115A)

測定対象化合物

- ・ ナイカルバジン (富士フィルム和光純薬株式会社)
- ・ チルミコシン (富士フィルム和光純薬株式会社)
- ・ スピラマイシン (林純薬工業株式会社)

分析条件

公定法に従い各化合物の分析条件を表1-3に示します。なお、チルミコシンとスピラマイシンはUVレスポンスの向上のため、公定法に記載の条件よりカラム内径、粒子径が小さいものを使用致しました。

表1 ナイカルバジン

カラム	Agilent HC-C18 (2) 4.6 × 150 mm、5 μm (P/N 588915-902)
移動相	ACN / 0.025 mol/L リン酸1ナトリウム (1 : 1)
流速	1.2 mL/min
注入量	20 μL
カラム温度	40 °C
分析時間	8 min
検出	DAD. 350 (4) nm, Ref. 500 (100) nm

表2 チルミコシン

カラム	Poroshell 120 EC-C18 3.0 × 150 mm、2.7 μm (P/N 693975-302)
移動相	ACN / リン酸緩衝液 (pH2.5) (1 : 3)
流速	0.5 mL/min
注入量	20 μL
カラム温度	40 °C
分析時間	10 min
検出	DAD. 290 (4) nm, Ref. 400 (100) nm

表3 スピラマイシン

カラム	Poroshell 120 EC-C18 3.0 × 150 mm、2.7 μm (P/N 693975-302)
移動相	ACN / リン酸緩衝液 (pH 2.5) (1 : 3)
流速	0.25 mL/min
注入量	20 μL
カラム温度	40 °C
分析時間	7 min
検出	DAD. 235 (4) nm, Ref. 360 (100) nm

標準液調製

公定法に記載の濃度、及び溶媒に従い標準原液を作成し、定量下限 × (1/10)、定量下限 × (1/2)、定量下限、定量下限 × 2、定量下限 × 5の計5点の標準液を調製しました。なお、実サンプルは前処理過程で濃縮されるため、表4の通り定量下限濃度は濃縮分を考慮した濃度となっています。

表4 公定法及び濃縮考慮後の定量下限濃度

化合物	公定法 (μg/L)	濃縮考慮後 (μg/L)
ナイカルバジン	20	100
チルミコシン	50	250
スピラマイシン	50	250

結果

各化合物の検量線を図1に示します。全ての化合物で決定係数が0.999以上の良好な直線性が得られました。

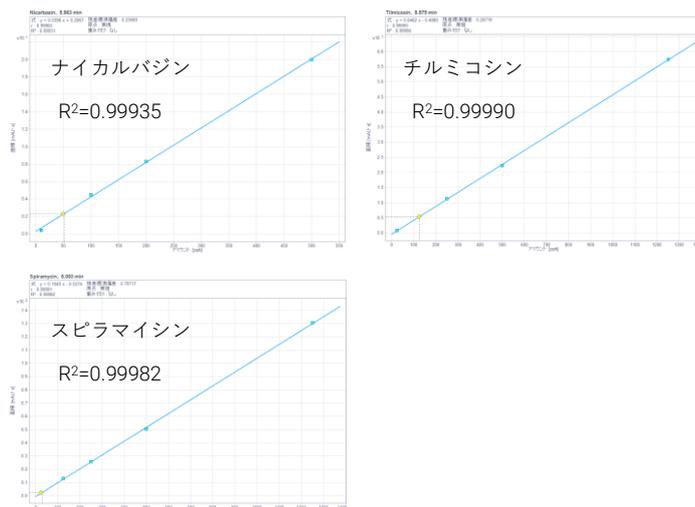


図1 検量線

次に、各化合物の定量下限濃度におけるSN比と再現性 (n=6)を図2、表5に示します。定量下限濃度において、全ての化合物を良好なピーク形状かつ、SN比 63以上で検出可能でした。再現性に関しては、全ての化合物でRTのRSD 0.061%以下、面積のRSD 1.375%以下と、良好な結果が得られました。

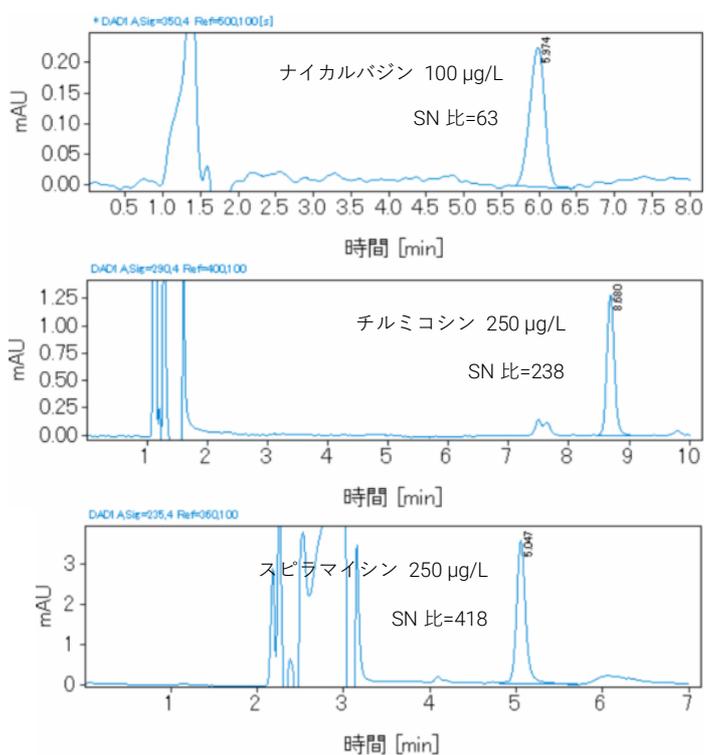


図2 定量下限濃度の標準液のクロマトグラム

表5 各化合物の定量下限濃度におけるS/N比と再現性 (n=6)

	RSD (%)	
	RT	面積
ナイカルバジン 100 µg/L	0.061	1.375
チルミコシン 250 µg/L	0.012	0.506
スピラマイシン 250 µg/L	0.057	0.059

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2021

Printed in Japan, January 25, 2021

DE44217.7277662037

LC-202101NW-002

まとめ

動物用抗菌剤をDADで分析し、検量線の直線性、定量下限濃度でのSN比と再現性を解析しました。全ての化合物の検量線は、定量下限濃度×(1/10)から定量下限濃度×5の範囲で、決定係数が0.999以上と良好な直線性を示しました。また、定量下限濃度においてSN比 63、RTのRSD 0.061%以下、面積のRSD 1.375%以下と良好なSN比、再現性が得られました。