

動物用医薬品一斉分析

(サルファ剤・キノロン剤・抗菌性物質・寄生虫駆除剤・ホルモン剤等86成分)
(全自動固相抽出装置ST-L400)

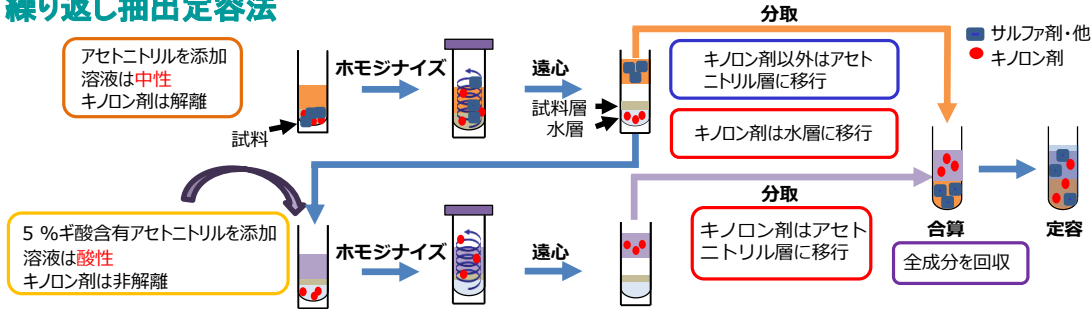


全自動固相抽出装置
ST-L400
 For STQ Method

はじめに

アプリケーションノートAS190602に引き続き動物用医薬品の一斉分析の項目を拡大しました。物性の異なる成分を分析するため下記の「繰り返し抽出定容法」がポイントとなります。本アプリケーションでは従来のサルファ剤、キノロン剤に加え、それ以外の抗菌性物質、寄生虫駆除剤など計86成分について鶏ささみ、豚ヒレ肉、牛ヒレ肉、牛乳を用いた添加回収試験の結果を示します。

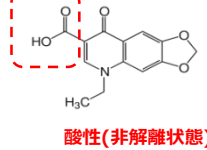
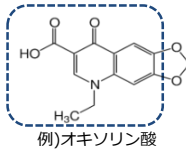
繰り返し抽出定容法



※キノロン剤について

4-キノロンを基本骨格にもつ化合物で、その骨格の中に-COOH基をもつため中性では解離し、酸性では非解離となります。

キノロン剤基本骨格



前処理フロー

予冷式ドライアイス凍結粉碎(牛乳を除く)

試料 5g 採取

- 2ppm混合標準溶液 25 μ L
- 水 (鶏: 1.25mL, 豚: 1.25mL, 牛: 1.75mL)
- アセトニトリル 10mL

ホモジナイズ(13,000rpm 1分間)

- 塩化ナトリウム 0.5g
- 無水硫酸マグネシウム 2g

攪拌 (手で振とう 1分間)

遠心分離 (3,500rpm 5分間)

アセトニトリル層① 残さ (試料層・水層) 5%ギ酸含有アセトニトリル 10mL

ホモジナイズ(13,000rpm 1分間)

遠心分離 (3,500rpm 5分間)

アセトニトリル層② 残さ (試料層・水層)

①②合算

定容 20mL (アセトニトリルで調整)

【抽出ポイント】

アセトニトリル(中性)でキノロン剤以外の成分を、5%ギ酸含有アセトニトリル(酸性)でキノロン剤を溶媒層に移行します。これらの2種類の抽出液を合算し定容することで(繰り返し抽出定容法)定量的にも精度を確保することができました。

ST-L400

約10分/検体

負荷 [通液] 抽出液 1mL

Smart-SPE C18-50mg / PSA-30mg : 精製

通液 2%ギ酸含有アセトニトリル-水 (8/2) 0.5mL

添加 水 0.5mL

Smart-SPE C18-30mg : 精製

流出液

定容 2mL (水で調整)

LC-MS/MS(注入量5 μ L 試料0.625mg相当)



全自動固相抽出装置 ST-L400
 (アイステイサイエンス)

Sample



Information

第115回日本食品衛生学会学術講演会 講演要旨集p.110

「STQ法とLC/MS/MSを組み合わせた動物用医薬品高速一斉分析(第2報)」

島三記絵1, 井本英志2, 佐々野僚一1, 斎藤勲1
 (1株式会社アイステイサイエンス, 2株式会社島津製作所)

Key word

動物用医薬品
 STQ法
 自動前処理
 固相抽出

AiSTI SCIENCE

Product

ST-L400
 Smart-SPE C18-50
 Smart-SPE C18-30
 Smart-SPE PSA-30

予冷式ドライアイス凍結粉碎キット

株式会社アイステイサイエンス

www.aisti.co.jp

お問い合わせ先

TEL. 073-475-0033

E-Mail: as@aisti.co.jp

実験方法

- 粉砕方法 予冷式ドライアイス凍結粉砕法 (牛乳を除く)
- 添加濃度 (試料中) : 0.01 ppm
- 最終バイアル中濃度 : 1.25 ppb
- 検量線 : 1点 : 1.25ppb (絶対検量線)

測定条件

【測定装置】 Nexera X2及びLCMS-8045 (島津製作所製)
 【LC条件】 分析カラム : YMC-Triart C18(150 × 2.1 mmI.D. ,S-3 μm,12 nm)
 移動相 A液 : 0.1 %酢酸水
 B液 : 0.1 %酢酸アセトニトリル
 流速 : 0.2 mL/min
 グラジエント : B.Conc1 %(0 min)→15 %(1 min)→40 %(6 min)→100 %(10-15 min)→1 %(15.01 min)
 注入量 : 5 μL(+10 μL水)
 カラム温度 : 40 °C
 【MS条件】 イオン化モード : ESI positive and negative
 測定モード : MRM



Nexera X2及びLCMS-8045 (島津製作所)

結果と考察

一部の成分でイオン化阻害等で回収率の低下がみられましたが、ほとんどの成分で回収率、RSDともに良好な結果が得られました。

添加濃度 : 試料中0.01ppm(n=5)

No.	化合物名	イオン化モード ¹⁾	保持時間 ²⁾ (分)	鶏ささみ		豚ヒレ肉		牛ヒレ肉		牛乳	
				回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)
1	1,3-Bis(4-nitrophenyl)urea	N	10.917	89	4.9	83	2.6	93	5.6	102	3.6
2	2-Acetylamino-5-nitrothiazole	N	8.629	92	7.7	77	4.0	88	5.3	95	4.7
3	5-Propylsulfonyl-1H-benzimidazole-2-amine	P	5.476	83	5.6	86	3.4	77	6.6	94	4.7
4	alpha-Trenbolone	P	10.171	108	6.5	72	9.7	70	14.9	103	13.8
5	Azaperone	P	6.682	88	6.5	86	5.5	95	4.9	104	2.8
6	beta-Trenbolone	P	10.174	86	5.1	85	3.9	72	12.9	102	12.2
7	Bromacil	P	9.501	87	3.5	86	9.4	82	9.8	100	7.7
8	Brotizolam	P	10.218	92	10.9	82	4.5	92	8.6	124	6.1
9	Carazolol	P	7.912	83	4.7	79	2.0	86	5.3	89	3.0
10	Carprofen	N	10.941	84	7.8	77	12.4	92	8.1	85	18.8
11	Chlorhexidine	P	8.084	75	9.3	65	2.4	74	4.5	88	2.6
12	Ciprofloxacin	P	5.962	89	4.0	84	7.8	59	8.1	106	7.4
13	Clostebol	P	11.403	79	10.0	73	4.7	77	7.0	93	8.4
14	Diaveridine	P	5.546	70	5.2	73	3.0	51	3.0	74	4.1
15	Diclazuril	N	11.274	99	6.8	96	2.7	110	4.2	89	6.3
16	Dinitolmide	N	8.449	96	5.7	96	16.9	77	5.1	91	17.6
17	Emamectin B1a	P	10.541	82	3.6	73	5.7	77	4.4	86	4.1
18	Enrofloxacin	P	6.362	74	5.9	77	6.1	78	5.9	95	7.2
19	Eprinomectin B1a	P	13.001	70	4.1	59	9.6	86	7.7	100	13.1
20	Ethopabate	P	9.128	91	4.5	85	3.0	89	6.1	107	4.8
21	Famphur	P	10.859	88	8.6	76	5.1	88	4.4	94	10.7
22	Fenobucarb	P	11.020	87	4.5	77	4.4	85	3.6	84	4.8
23	Flubendazole	P	9.626	92	4.5	85	4.2	82	7.7	94	6.2
24	Flumequine	P	9.915	89	4.3	82	2.6	93	4.1	101	4.2
25	Flunixin	P	10.939	83	3.8	77	3.7	82	3.3	91	3.8
26	Halofuginone	P	7.628	81	5.5	87	4.4	80	5.9	102	9.6
27	Josamycin	P	9.560	78	7.2	76	4.0	85	4.9	92	3.8
28	Levamisole	P	5.653	82	4.2	74	2.0	77	3.9	88	4.9
29	Lincomycin	P	5.210	95	5.2	99	1.6	83	5.6	86	5.7
30	Mafoprazine	P	7.899	91	4.7	85	3.2	88	5.3	93	2.1
31	Mebendazole	P	9.398	91	5.0	85	2.6	86	1.8	90	6.2
32	Meloxicam	P	10.711	84	3.2	78	3.4	75	5.4	85	6.7
33	Menbutone	P	10.256	90	2.0	80	2.5	88	4.7	108	7.8
34	Methylprednisolone	P	9.474	116	9.5	72	7.7	84	10.3	105	18.4
35	Miloxacin	P	8.870	101	1.9	83	4.9	80	5.2	118	5.3
36	Morantel	P	7.315	119	6.7	81	5.4	83	8.0	110	8.5
37	Nafcillin	P	10.286	74	6.5	71	2.5	75	4.3	87	15.7
38	Nalidixic Acid	P	9.847	87	4.0	77	2.2	85	2.9	104	4.4
39	Nifurstyrenate	N	10.355	78	6.5	81	16.2	78	14.5	70	16.8
40	Nitroxylin	N	10.315	86	7.9	78	7.6	84	7.1	102	5.4
41	Norfloxacin	P	8.820	80	7.4	74	6.8	52	5.5	100	10.0
42	Ofloxacin	P	5.874	77	7.4	78	7.3	78	10.2	82	4.5
43	Oleandomycin	P	8.411	86	4.4	89	2.6	93	7.3	95	3.7
44	Orbifloxacin	P	6.578	73	4.3	76	3.0	70	5.6	91	4.7
45	Ormetoprim	P	6.121	84	4.4	85	4.0	80	3.5	89	5.2
46	Oxibendazole	P	8.040	91	2.5	84	3.9	81	2.6	105	4.8
47	Oxolinic Acid	P	8.901	85	7.7	79	6.7	88	2.5	109	7.3
48	Piromidic acid	P	10.455	78	5.1	74	4.4	78	5.5	94	4.4
49	Praziquantel	P	10.580	86	3.2	85	3.2	84	4.4	86	4.2
50	Prednisolone	P	8.974	87	4.2	92	12.2	79	13.8	107	8.1
51	Prifinium	P	9.395	86	4.2	83	2.8	83	2.1	88	2.2
52	PyrantelPamoate	P	6.352	103	5.2	82	4.1	87	3.4	95	3.3
53	Pyrimethamine	P	7.759	79	3.0	77	4.3	85	3.1	90	4.5
54	Robenidine	P	9.743	83	3.8	74	1.8	59	0.6	100	8.5
55	Sulfabenzamide	P	9.138	88	3.6	81	2.6	81	4.9	100	6.0
56	Sulfabromomethazine Na	P	9.916	85	5.7	89	10.2	75	4.0	121	12.4
57	Sulfacetamide	P	5.753	77	4.5	94	8.1	78	7.2	96	9.0
58	Sulfachlorpyridazine	P	8.125	89	2.4	85	5.4	83	4.2	103	3.6
59	Sulfadiazine	P	6.064	82	4.7	79	5.3	81	5.0	82	5.8
60	Sulfadimethoxine	P	9.194	84	7.1	85	3.7	87	8.8	105	8.2
61	Sulfadimidine	P	7.239	84	8.7	86	4.6	91	6.6	96	4.7
62	Sulfadoxine	P	8.436	89	4.0	86	4.7	91	2.6	104	6.3
63	Sulfaethoxypyridazine	P	8.408	89	4.3	87	2.2	95	3.1	105	4.8
64	Sulfamerazine	P	6.730	88	7.2	83	2.4	80	3.1	130	8.5
65	Sulfamethoxazole	P	8.480	86	9.4	80	5.0	94	2.5	86	6.8
66	Sulfamethoxypyridazine	P	7.174	94	5.4	85	5.4	87	3.4	104	4.9
67	Sulfamonomethoxine	P	7.733	82	6.9	90	2.3	82	2.2	88	7.1
68	Sulfanitran	N	9.765	87	5.8	97	4.2	118	3.8	102	4.7
69	Sulfapyridine	P	6.339	87	5.8	83	4.3	83	1.5	80	8.9
70	Sulfaguinoxaline	P	9.177	88	7.5	79	3.7	80	3.4	94	5.1
71	Sulfathiazole	P	6.067	76	3.6	78	3.7	73	4.7	92	5.9
72	Sulfatroxazole	P	8.599	93	9.2	80	7.0	93	1.9	120	8.3
73	Sulfisomidine	P	5.293	72	4.0	87	3.5	64	4.1	91	5.1
74	Sulfisoxazole	P	8.732	82	7.9	90	4.8	94	6.6	92	3.8
75	Sulfisozole	P	7.590	87	4.2	90	2.5	81	5.7	105	5.0
76	Thiabendazole	P	5.795	78	2.9	78	4.5	70	6.2	86	2.4
77	Thiampenicol	P	6.678	83	6.1	84	6.4	82	5.7	114	4.6
78	Tiamulin	P	9.259	88	3.9	84	5.6	87	3.8	90	4.4
79	Tilmicosin (isomers)	P	7.706	90	9.7	85	6.4	88	4.9	88	8.2
80	Trichlorfon	P	7.320	97	3.7	85	10.2	87	10.1	100	4.5
81	Trimethoprim	P	5.794	80	3.3	85	2.9	69	2.0	95	4.1
82	Tripelennamine	P	7.616	92	2.5	86	3.4	91	3.8	103	4.3
83	Valnemulin	P	9.368	92	3.6	88	4.8	91	1.1	94	7.0
84	Warfarin	P	10.868	86	3.5	79	2.4	79	2.9	104	5.5
85	Xylazine	P	6.979	87	4.1	84	4.3	78	5.6	116	3.8
86	Zeranol	P	10.373	70	8.4	70	6.1	104	10.8	101	13.0

1)イオン化モード P:Positive N:Negative

2)弊社での実測値