



STQ法による動物用医薬品 一斉分析のご提案

株式会社アイスティサイエンス

H26.12.3~6 (金沢市)
第108回日本食品衛生学会



ご提案内容

STQ法による動物用医薬品迅速一斉分析のご提案

- ① LC-MS/MS測定条件
- ② QuEChERS抽出と注意点
- ③ 固相ミニカラムによる精製と注意点

① LC-MS/MS測定条件

LC	: Prominence (島津製作所)
MS/MS	: API3200 (エービー・サイエックス)
カラム	: YMC-Triart C18 (ワイエムシィ)
移動相	: A…0.05%ギ酸 B…アセトニトリル
流速	: 0.2mL/min
注入量	: 5uL
イオン化モード	: ESI Positive
測定モード	: MRM (Multiple Reaction Monitoring)

東京都安研 神田氏の資料^{*}を参考に測定条件を検討した。

^{*}神田真軌,第104回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集,2012年,P.102

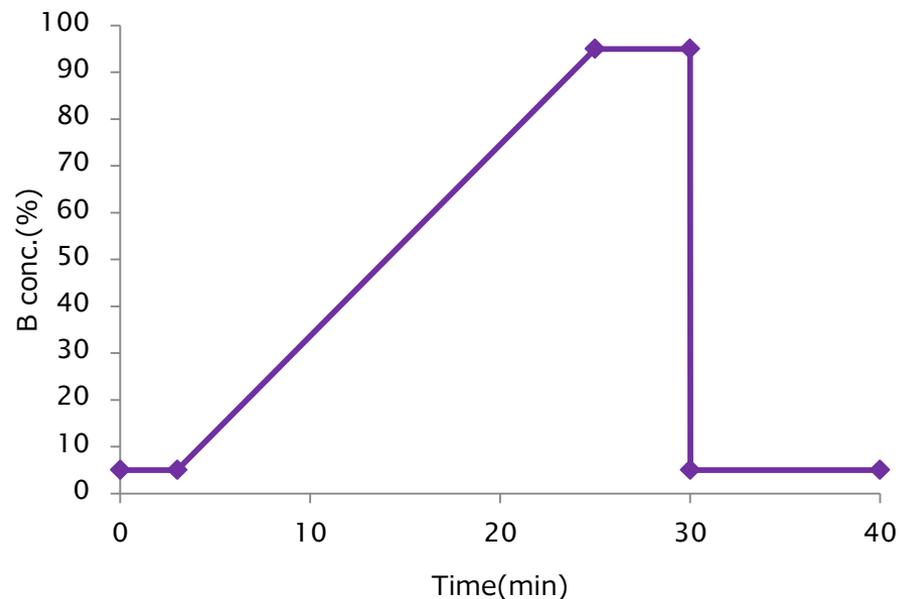
① LC-MS/MS測定条件

測定条件

Name	RT	定量		定性	
		Q1	Q3	Q1	Q3
Sulfaguanidine	3.65	215	156	215	92
Sulfacetamide	9.08	215.1	156.1	215.1	92.1
Sulfisomidine	9.69	279.1	124.1	279.1	186.1
Diaveridine	10.6	261.2	245.1	261.2	123.2
Sulfathiazole	10.7	256	156	256	92.2
Trimethoprim	11	291.1	230.3	291.1	261.3
Sulfapyridine	11	250	156.2	250	92.2
Sulfadiazine	11.1	251.1	156.2	251.1	92.2
Ormetoprim	11.5	275.2	123.1	275.2	81.1
Sulfamerazine	11.5	265.1	108	265.1	92.2
Sulfadimidine	12.5	279.1	92.1	279.1	65.1
Sulfamonomethoxine	12.5	281.1	92.1	281.1	156.1
Sulfisozole	12.6	240.1	156.2	240.1	92.1
Sulfachlorpyridazine	13.6	285.1	156	285.1	92.2
Pyrimethamine	13.8	249.1	177.2	249.1	198.2
Sulfamethoxypyridazine	14.1	281.1	156.1	281.1	92.1
Sulfamethoxazole	14.1	254	156	254	92.1
Sulfadoxine	14.2	311.1	156.1	311.1	92.1
Sulfaethoxypyridazine	14.3	295.1	156.2	295.1	92.2
Sulfatroxazole	14.3	268.1	156.2	268.1	92.1
Sulfisoxazole	14.6	268.1	156.2	268.1	92.1
Sulfabenzamide	15.4	277	156	277	92
Sulfadimethoxine	15.6	311.1	156.2	311.1	92.1
Sulfaquinoxaline	15.6	301	156.2	301	92.3
Sulfantran	17.3	336.1	134.1	336.1	65
Sulfabromomethazine	17.49	357	156.2	357	92
Sulfanilamide	-	173.1	156	173.1	92

Code No.56110 劇
PL動物薬LC/MS Mix 1 (27種混合)

time(min)	0	3	25	30	30.01	40
A conc.(%)	95	95	5	5	95	95
B conc.(%)	5	5	95	95	5	5



② QuEChERS抽出と注意点

溶媒抽出操作（抽出）

試料 10g **Point1**

水 (10 - X) mL
アセトニトリル 10mL **Point2**

ホモジナイズ (13000 rpm)

30分/4検体

NaCl 1g
クエン酸3Na 1g
クエン酸水素2Na 0.5g
硫酸Mg(無水) 4g **Point3**

撈拌（手で振とう 1min）

遠心分離(3500rpm 5min)

アセトニトリル層

Point1

凍結粉碎でパウダー状に粉碎



Point2

試料中水分量(Y%)に応じて水を添加
 $X = 10 \text{ (g)} \times Y \text{ (%)}$

Point3

4種類の塩による相互作用

NaCl、MgSO₄ ……塩析、液液分配
クエン酸塩類 ……緩衝作用

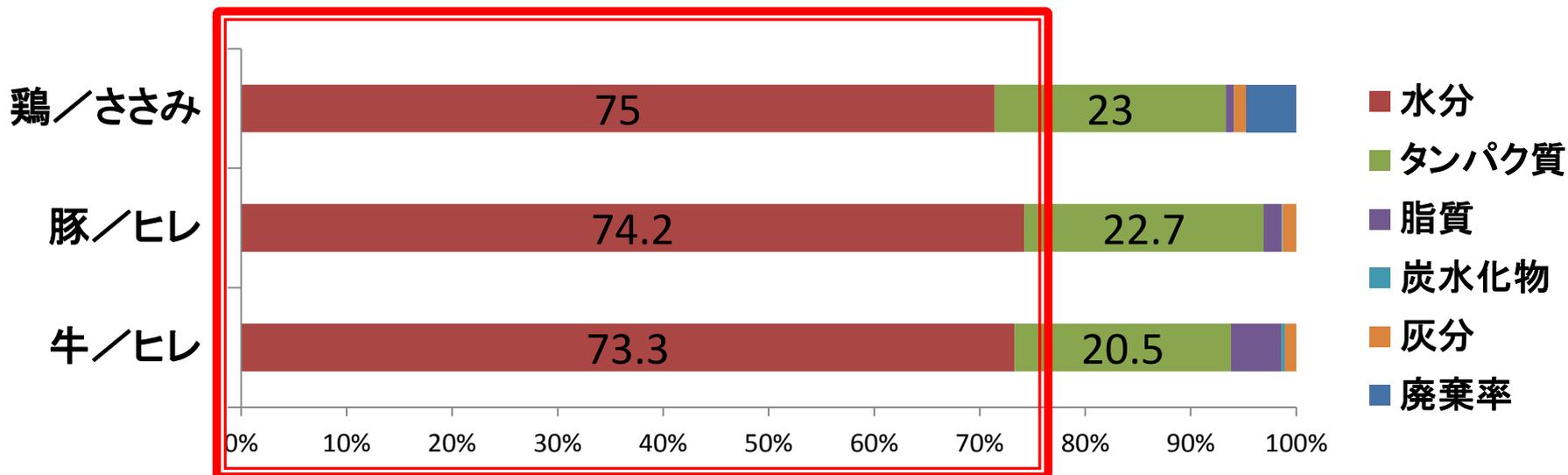
凍結粉碎のメリット

- ◆ **均一性** ➤ 粉末状に粉碎することで、試料全体が均一化。
- ◆ **粉碎力** ➤ すじや繊維質が多い切断し難い試料でも細かく粉碎
(うなぎの皮やイカやタコなど)
- ◆ **操作性** ➤ サラサラのパウダーになるため試料採取が容易
- ◆ **保管性** ➤ 冷凍状態のまま保管することが可能で再分析も容易。
- ◆ **分解抑制** ➤ 極低温で粉碎することで熱による分解や酵素活性を
抑えたまま、試料を均一化することが可能。

試料中水分量に応じて水を添加

Sample with a **water content between 25 und 80 %** (e.g. bananas) require the addition of water to **achieve a total of 10 g water** (when 10 g sample is employed).

<http://quechers.cvua-stuttgart.de/>



食品成分データベース(<http://fooddb.mext.go.jp/index.pl>)

4種類の塩による相互作用

After the initial single-phase extraction with MeCN, salts (MgSO₄ and NaCl) were added to **induce phase separation**.

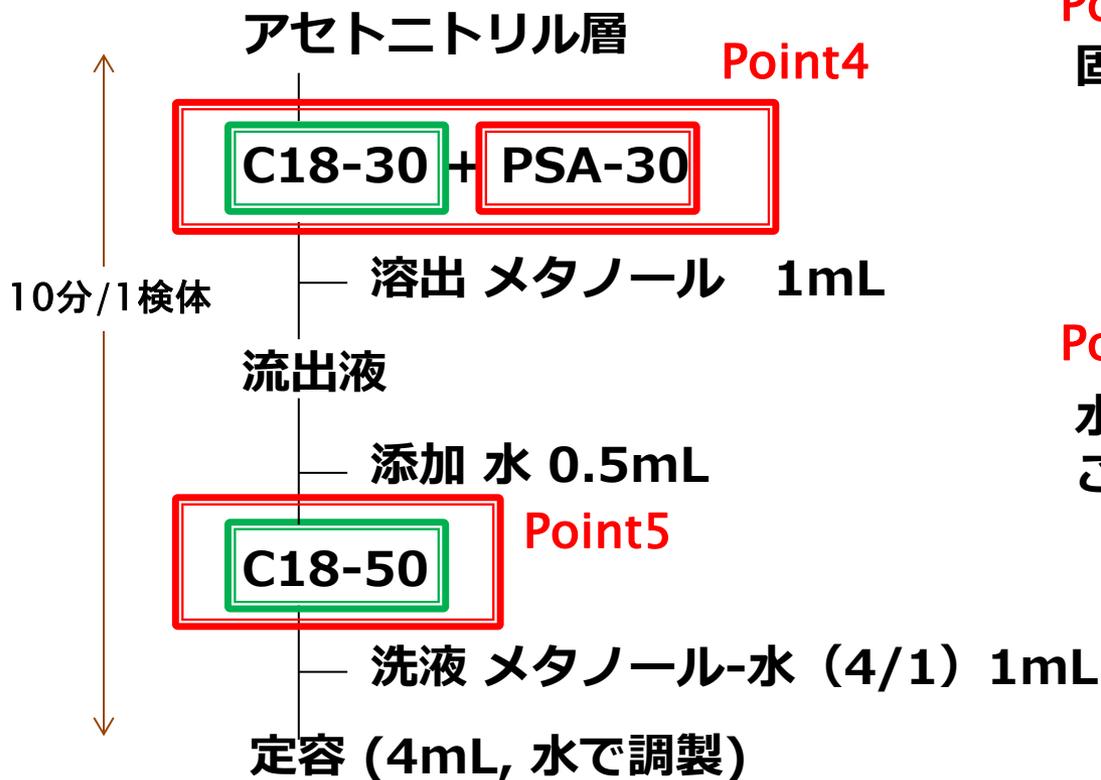
Anastassiades et al; Journal of AOAC International Vol.86, No.2, 2003

By adding the citrate buffering salts most samples obtain pH-values between 5 and 5.5. This pH range is a **compromise**, at which both, **the quantitative extraction of sour herbicides** and **the protection of alkali labile and acid labile compounds** is sufficiently achieved.

<http://quechers.cvua-stuttgart.de/>

③ 固相ミニカラムによる精製と注意点

固相抽出操作（精製）



Point4

固相ミニカラムで夾雑成分を除去

C18・・・脂質、低極性成分

PSA・・・脂肪酸

Point5

水を添加して溶媒の極性を調製することでLCのカラムの負担を軽減



※自動前処理装置により固相抽出操作の自動化が可能。

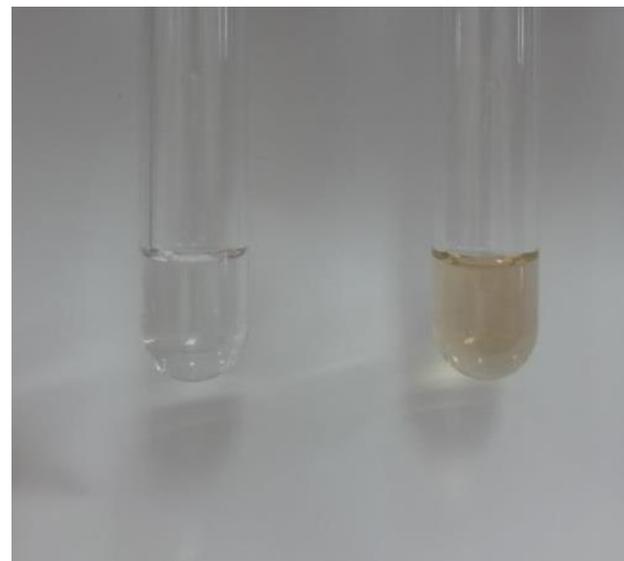
固相ミニカラムで夾雑成分を除去

PSAミニカラムによる精製効果

弱陰イオン交換相互作用



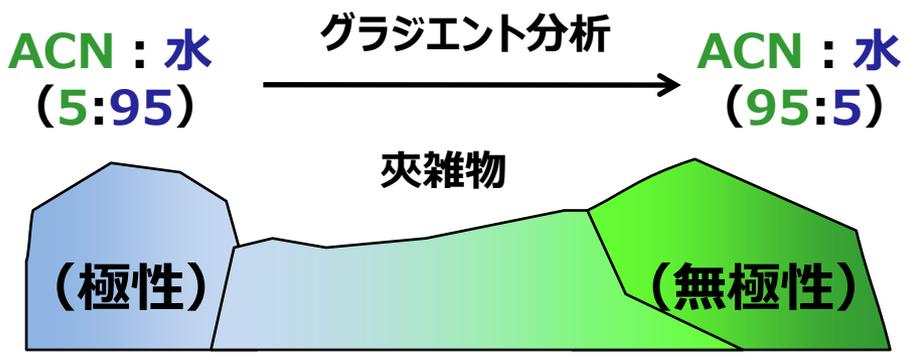
抽出液通液後の固相ミニカラム



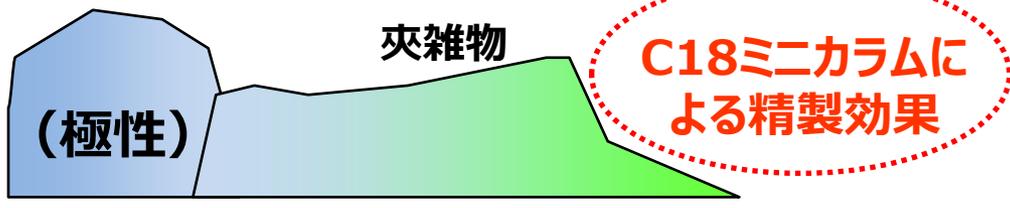
固相ミニカラム通液後の試料

固相C18の精製によるLCカラムへの効果

□ 固相C18を用いない場合



□ 固相C18による精製の場合



ACN : 水 (4:1)



無極性 夾雑物

LCで使用されている分離カラムは「ODS」で、固相C18と同じ充填剤。

予め固相C18で精製することでLCカラムの負荷を防ぐ。

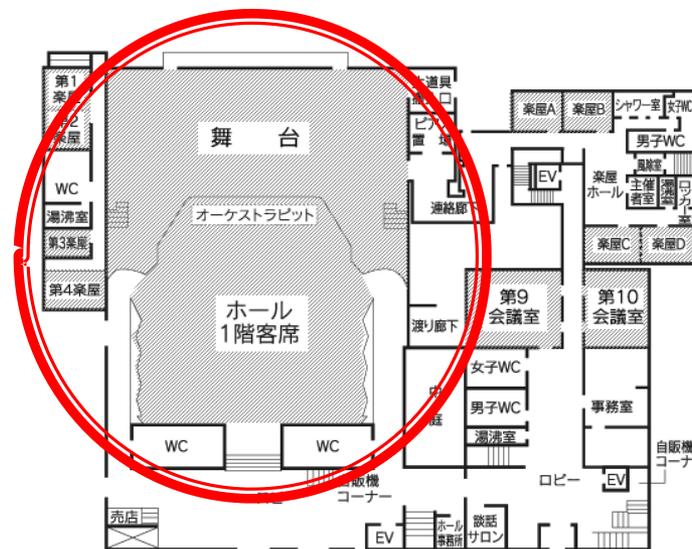
メリット

- HPLCカラムの劣化を防ぐ
- ピーク形状の維持
- 分析時間の短縮

一般講演のご案内 (口頭発表)

A-11 13:45~

**STQ法を用いた動物用医薬品
一斉分析への応用の検討**



1階 A会場 (ホール)