

STQ法とLC/MS/MSを組み合わせさせた食肉中の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⁾、齋藤勲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

緒言

動物用医薬品は畜水産物の安定供給には欠かせないものであるが、食の安全性を確保する上ではこれらの食品中への残留が懸念される。そのため食品中の残留動物用医薬品の分析は重要であるがこれらは物性の異なる多くの種類があるため一斉分析は難しい。

筆者らは第1報として全自動固相装置を使用したSTQ法(Solid phase extraction Technique with QuEChERS method)により迅速・簡便な前処理法としてサルファ剤とキノロン剤の一斉分析を報告した¹⁾。今回は新たに化合物を追加し、本分析法における項目の拡大を試みた。本分析法の評価は鶏ささみ、豚ヒレ肉、牛ヒレ肉、牛乳を用いた添加回収試験にて行った。

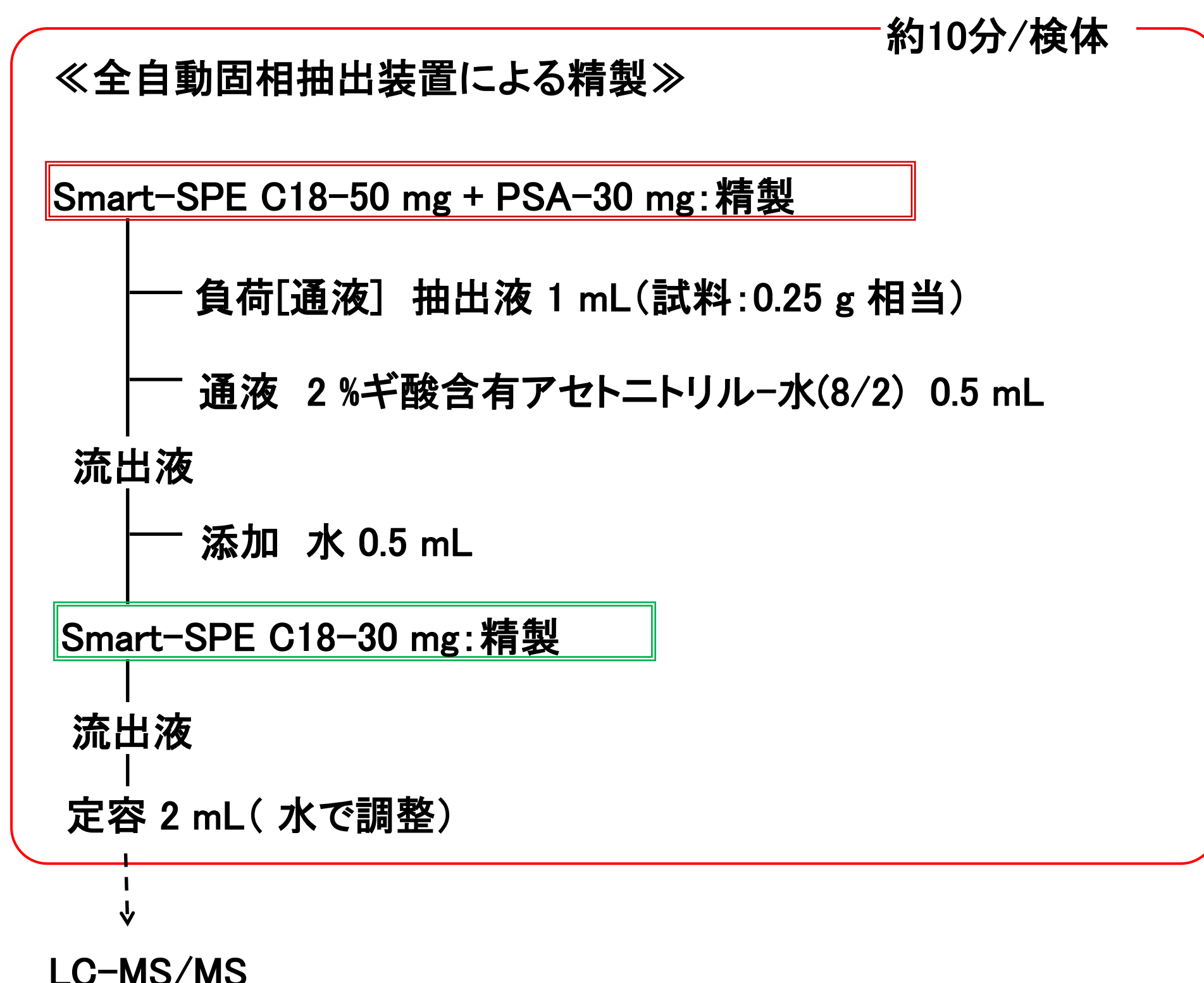
実験方法

1. 前処理フロー

分析試料: 鶏ささみ、豚ヒレ肉、牛ヒレ肉、牛乳



図1 凍結粉砕試料(牛ヒレ肉)



全自動固相抽出装置 ST-L400

2. 測定条件

【測定装置】

UHPLC(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 mm I.D., S-3 μm, 12 nm)

移動相 A液: 0.1%ギ酸水

B液: 0.1%ギ酸アセトニトリル

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)

分析時間: 18分

注入量: 5 μL(+10 μL水)

カラム温度: 40 °C



Nexera X2及びLCMS-8045

【MS条件】

イオン化モード: ESI positive and negative

ネプライザーガス流量: 2 L/min

ドライビングガス流量: 10 L/min

ヒーティングガス流量: 10 L/min

インターフェース温度: 300 °C

DL温度: 250 °C

ヒートブロック温度: 400 °C

測定モード: MRM

結果

サルファ剤、キノロン剤を含む86成分について添加回収試験を行った。試料により回収率が異なる成分もあるが概ね80成分以上で回収率70-120%、RSD20%未満の良好な結果が得られた。

豚ヒレ肉、牛ヒレ肉で低回収率となった成分では抽出時での損失または測定時のイオン化阻害が考えられた。牛乳で高回収率の傾向がみられた成分では測定時のマトリクスによる影響が推測された。

表1 評価成分の種類

| 成分 | 評価成分数 |
|--------------|-------|
| 抗菌性物質(サルファ剤) | 25 |
| 抗菌性物質(キノロン剤) | 10 |
| 抗菌性物質(その他) | 9 |
| 寄生虫駆除剤 | 15 |
| ホルモン剤 | 5 |
| その他 | 22 |

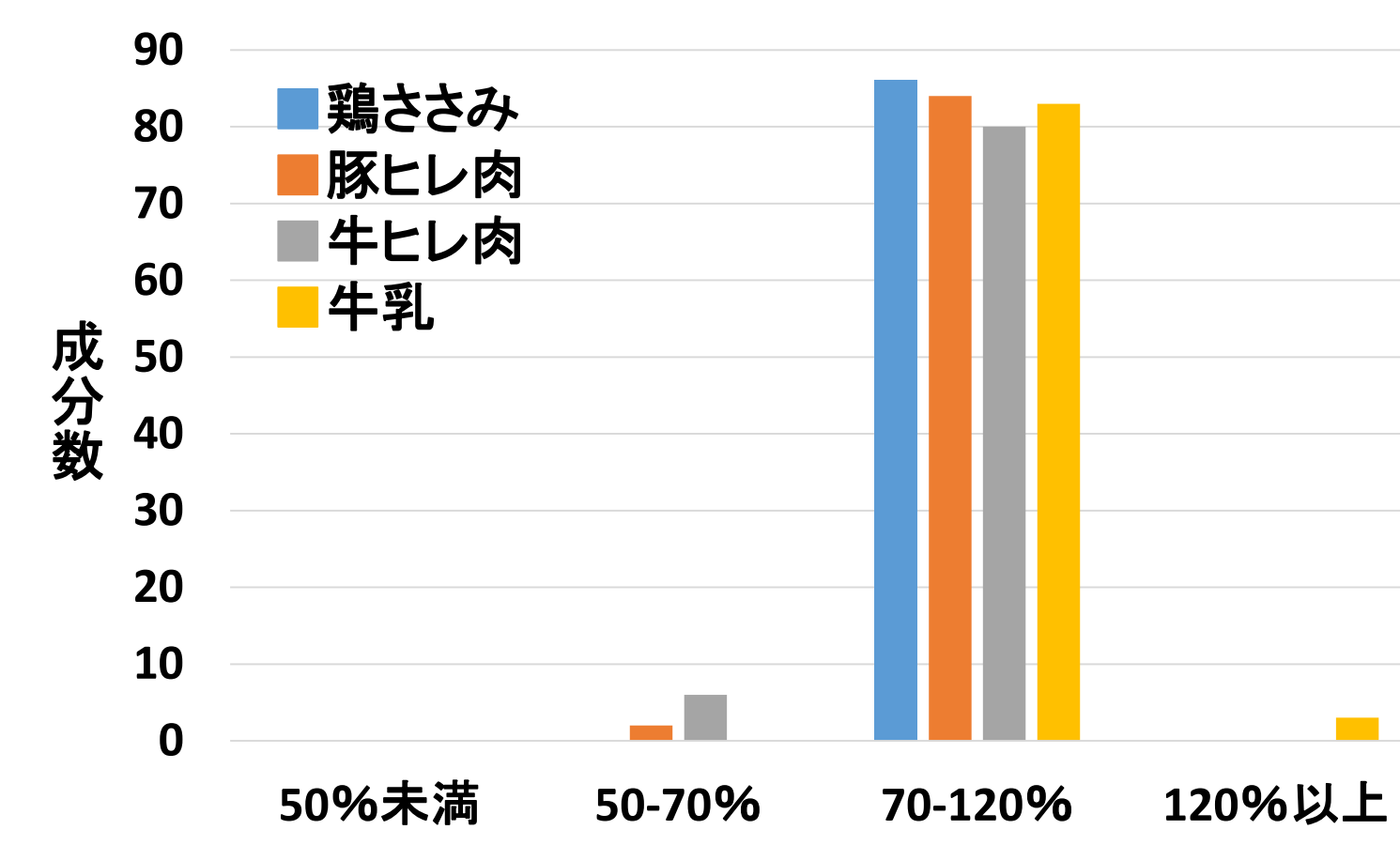


表2 添加回収試験結果

| No. | 化合物名 | 保持時間* (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 | 10.917 | 89 | 4.9 | 83 | 2.6 | 93 | 5.6 | 102 | 3.6 |
| 2 | 2-Acetylaminol-5-nitrothiazole | 8.629 | 92 | 7.7 | 77 | 4.0 | 88 | 5.3 | 95 | 4.7 |
| 3 | 5-Propylsulfonil-1H-benzimidazole-2-amine | 5.476 | 83 | 5.6 | 86 | 3.4 | 77 | 6.6 | 94 | 4.7 |
| 4 | alpha-Trenbolone | 10.171 | 108 | 6.5 | 72 | 9.7 | 70 | 14.9 | 103 | 13.8 |
| 5 | Azaperone | 6.682 | 88 | 6.5 | 86 | 3.5 | 95 | 4.9 | 104 | 2.8 |
| 6 | beta-Trenbolone | 10.174 | 86 | 5.1 | 85 | 3.9 | 72 | 12.9 | 102 | 12.2 |
| 7 | Bromacil | 9.501 | 87 | 3.5 | 86 | 9.4 | 82 | 9.8 | 100 | 7.7 |
| 8 | Brotizolam | 10.218 | 92 | 10.9 | 82 | 4.5 | 92 | 8.6 | 124 | 6.1 |
| 9 | Carazolol | 7.912 | 83 | 4.7 | 79 | 2.0 | 86 | 5.3 | 89 | 3.0 |
| 10 | Carprofen | 10.941 | 84 | 7.8 | 77 | 12.4 | 92 | 8.1 | 85 | 18.8 |
| 11 | Chlorhexidine | 8.084 | 75 | 9.3 | 65 | 2.4 | 74 | 4.5 | 88 | 2.6 |
| 12 | Ciprofloxacin | 5.962 | 89 | 4.0 | 84 | 7.8 | 59 | 8.1 | 106 | 7.4 |
| 13 | Clostebol | 11.403 | 79 | 10.0 | 73 | 4.7 | 77 | 7.0 | 93 | 8.4 |
| 14 | Diaveridine | 5.546 | 70 | 5.2 | 73 | 3.0 | 51 | 3.0 | 74 | 4.1 |
| 15 | Diclazuril | 11.274 | 99 | 6.8 | 96 | 2.7 | 110 | 4.2 | 89 | 6.3 |
| 16 | Dinitolmide | 8.449 | 96 | 5.7 | 96 | 16.9 | 77 | 5.1 | 91 | 17.6 |
| 17 | Emamectin B1a | 10.541 | 82 | 3.6 | 73 | 5.7 | 77 | 4.4 | 86 | 4.1 |
| 18 | Erofloxacin | 6.362 | 74 | 5.9 | 77 | 6.7 | 79 | 5.9 | 95 | 7.2 |
| 19 | Eprinomectin B1a | 13.001 | 70 | 4.1 | 59 | 9.6 | 86 | 7.7 | 107 | 13.1 |
| 20 | Ethopabate | 9.128 | 91 | 4.5 | 85 | 3.0 | 89 | 6.1 | 100 | 4.8 |
| 21 | Famphur | 10.859 | 88 | 6.6 | 76 | 5.1 | 88 | 4.4 | 94 | 10.7 |
| 22 | Fenobucarb | 11.02 | 87 | 4.5 | 77 | 4.4 | 85 | 3.6 | 84 | 4.8 |
| 23 | Flubendazole | 9.626 | 92 | 4.5 | 85 | 4.2 | 82 | 7.7 | 94 | 6.2 |
| 24 | Flumequine | 9.915 | 89 | 4.3 | 82 | 2.6 | 93 | 4.1 | 101 | 4.2 |
| 25 | Flunixin | 10.939 | 83 | 3.8 | 77 | 3.7 | 82 | 3.3 | 91 | 3.8 |
| 26 | Halofuginone | 7.628 | 81 | 5.5 | 87 | 4.4 | 80 | 5.9 | 102 | 9.6 |
| 27 | Josamycin | 9.96 | 78 | 7.2 | 76 | 4.0 | 85 | 4.9 | 92 | 3.8 |
| 28 | Levamisole | 5.653 | 82 | 4.2 | 74 | 2.6 | 77 | 3.9 | 88 | 4.9 |
| 29 | Lincocmycin | 5.21 | 95 | 5.2 | 99 | 1.6 | 83 | 5.6 | 86 | 5.7 |
| 30 | Mafoprozine | 7.899 | 91 | 4.7 | 85 | 3.2 | 88 | 5.3 | 93 | 2.1 |
| 31 | Mebendazole | 9.398 | 91 | 5.0 | 85 | 2.6 | 86 | 1.8 | 90 | 6.2 |
| 32 | Meloxicam | 10.711 | 84 | 3.2 | 78 | 3.4 | 75 | 5.4 | 85 | 6.7 |
| 33 | Menbutone | 10.256 | 90 | 2.0 | 80 | 2.5 | 88 | 4.7 | 108 | 7.8 |
| 34 | Methylprednisolone | 9.474 | 116 | 9.5 | 72 | 7.7 | 84 | 10.3 | 105 | 18.4 |
| 35 | Miloxacin | 8.87 | 101 | 1.9 | 83 | 4.9 | 80 | 5.2 | 118 | 5.3 |
| 36 | Morantel | 7.315 | 119 | 6.7 | 81 | 5.4 | 83 | 8.0 | 110 | 8.5 |
| 37 | Naficillin | 10.286 | 74 | 6.5 | 71 | 2.5 | 75 | 4.3 | 87 | 15.7 |
| 38 | Nalidixic Acid | 9.847 | 87 | 4.0 | 77 | 2.2 | 85 | 2.9 | 104 | 4.4 |
| 39 | Nifurstyreneate | 10.355 | 78 | 6.5 | 81 | 16.2 | 78 | 14.5 | 70 | 16.8 |
| 40 | Nitroxyril | 10.315 | 86 | 7.9 | 78 | 7.6 | 84 | 7.1 | 102 | 5.4 |
| 41 | Norfloxacin | 5.82 | 80 | 7.4 | 74 | 6.8 | 52 | 5.5 | 100 | 10.0 |
| 42 | Ofloxacin | 5.874 | 77 | 7.4 | 78 | 7.3 | 78 | 10.2 | 82 | 4.5 |
| 43 | Oleandomycin | 8.411 | 86 | 4.4 | 89 | 2.6 | 93 | 7.3 | 95 | 3.7 |
| 44 | Orbifloxacin | 6.578 | 73 | 4.3 | 76 | 3.0 | 70 | 5.6 | 91 | 4.7 |
| 45 | Ormetoprim | 6.121 | 84 | 4.4 | 85 | 4.0 | 80 | 3.5 | 89 | 5.2 |
| 46 | Oxibendazole | 8.04 | 91 | 2.5 | 84 | 3.9 | 81 | 2.6 | 105 | 4.8 |
| 47 | Oxolinic Acid | 8.901 | 85 | 7.7 | 79 | 6.7 | 88 | 2.5 | 109 | 7.3 |
| 48 | Piromidic acid | 10.455 | 78 | 5.1 | 74 | 4.4 | 78 | 5.5 | 94 | 4.4 |
| 49 | Praziquantel | 10.58 | 86 | 3.2 | 85 | 3.2 | 84 | 4.4 | 86 | 4.2 |
| 50 | Prednisolone | 8.974 | 87 | 4.2 | 92 | 12.2 | 79 | 13.8 | 107 | 8.1 |
| 51 | Pyrimin | 9.395 | 86 | 4.2 | 83 | 2.8 | 83 | 2.1 | 88 | 2.9 |
| 52 | Pyrimetilpamoate | 6.352 | 103 | 5.2 | 82 | 4.1 | 87 | 3.4 | 95 | 3.3 |
| 53 | Pyrimethamine | 7.759 | 79 | 3.0 | 77 | 4.3 | 85 | 3.1 | 90 | 4.5 |
| 54 | Robenidine | 9.743 | 83 | 3.8 | 74 | 1.8 | 59 | 0.6 | 100 | 8.5 |
| 55 | Sulfabenzamide | 9.138 | 88 | 3.6 | 81 | 2.6 | 81 | 4.9 | 100 | 6.0 |
| 56 | Sulfabromomethazine Na | 9.916 | 85 | 5.7 | 89 | 10.2 | 75 | 4.0 | 121 | 12.4 |
| 57 | Sulfacetamide | 5.753 | 77 | 4.5 | 94 | 8.1 | 78 | 7.2 | 96 | 9.0 |
| 58 | Sulfachlorpyridazine | 8.125 | 89 | 2.4 | 85 | 5.4 | 83 | 4.2 | 103 | 3.6 |
| 59 | Sulfadiazine | 6.064 | 82 | 4.7 | 79 | 5.3 | 81 | 5.0 | 82 | 5.8 |
| 60 | Sulfadimethoxine | 9.194 | 84 | 7.1 | 85 | 3.7 | 87 | 8.8 | 105 | 8.2 |
| 61 | Sulfadimidine | 7.239 | 84 | 8.7 | 86 | 4.6 | 91 | 6.6 | 96 | 4.7 |
| 62 | Sulfadoxine | 8.436 | 89 | 4.0 | 86 | 4.7 | 91 | 2.6 | 104 | 6.3 |
| 63 | Sulfathoxypridazine | 8.408 | 89 | 4.3 | 87 | 2.2 | 95 | 3.1 | 105 | 4.8 |
| 64 | Sulfamerazine | 6.73 | 88 | 7.2 | 83 | 2.4 | 80 | 3.1 | 130 | 8.5 |
| 65 | Sulfamethoxazole | 8.48 | 86 | 9.4 | 80 | 5.0 | 94 | 2.5 | 86 | 6.8 |
| 66 | Sulfamethoxypyridazine | 7.174 | 94 | 5.4 | 85 | 5.4 | 87 | 3.4 | 104 | 4.9 |
| 67 | Sulfamonomethoxine | 7.733 | 82 | 6.9 | 90 | 2.3 | 82 | 2.2 | 88 | 7.1 |
| 68 | Sulfantran | 9.765 | 87 | 5.8 | 97 | 4.2 | 118 | 3.8 | 102 | 4.7 |
| 69 | Sulfapyridine | 6.339 | 87 | 5.8 | 83 | 4.3 | 83 | 1.5 | 80 | 8.9 |
| 70 | Sulfaquinoxaline | 9.177 | 88 | 7.5 | 79 | 3.7 | 80 | 3.4 | 94 | 5.1 |
| 71 | Sulfathiazole | 6.067 | 76 | 3.6 | 78 | 3.7 | 73 | 4.7 | 92 | 5.9 |
| 72 | Sulfatrazole | 8.599 | 93 | 8.2 | 80 | 7.0 | 93 | 1.9 | 120 | 8.3 |
| 73 | Sulfisomidine | 5.293 | 72 | 4.0 | 87 | 3.5 | 64 | 4.1 | 91 | 5.1 |
| 74 | Sulfisoxazole | 8.732 | 82 | 7.9 | 90 | 4.8 | 94 | 6.6 | 92 | 3.8 |
| 75 | Sulfisozole | 7.59 | 87 | 4.2 | 90 | 2.5 | 81 | 5.7 | 105 | 5.0 |
| 76 | Thiabendazole | 5.795 | 78 | 2.9 | 78 | 4.5 | 70 | 6.2 | 86 | 2.4 |
| 77 | Thiamphenicol | 6.678 | 83 | 6.1 | 84 | 6.4 | 82 | 5.7 | 114 | 4.6 |
| 78 | Tiamulin | 9.259 | 88 | 3.9 | 84 | 5.6 | 87 | 3.8 | 90 | 4.4 |
| 79 | Tilmicosin (isomers) | 7.706 | 90 | 9.7 | 85 | 6.4 | 88 | 4.9 | 88 | 8.2 |
| 80 | Trichlorfon | 7.32 | 97 | 3.7 | 85 | 10.2 | 87 | 10.1 | 100 | 4.5 |
| 81 | Trimethoprim | 5.794 | 80 | 3.3 | 85 | 2.9 | 69 | 2.0 | 95 | 4.1 |
| 82 | Tripelennamine | 7.616 | 92 | 2.5 | 86 | 3.4 | 91 | 3.8 | 103 | 4.3 |
| 83 | Valnemulin | 9.368 | 92 | 3.6 | 88 | 4.8 | 91 | 1.1 | 94 | 7.0 |
| 84 | Warfarin | 10.868 | 86 | 3.5 | 79 | 2.4 | 79 | 2.9 | 104 | 5.5 |
| 85 | Xylazine | 6.979 | 87 | 4.1 | 84 | 4.3 | 78 | 5.6 | 116 | 3.8 |
| 86 | Zeranol | 10.373 | 70 | 8.4 | 70 | 6.1 | 104 | 10.8 | 101 | 19.0 |

* 保持時間は実測値

まとめ

本分析法を用いた添加回収試験では約80成分で回収率、RSDともに良好な結果を得ることができた。第1報のサルファ剤、キノロン剤に加え、寄生虫駆除剤や一部の抗菌性物質にも項目拡大を図ることが可能であった。また食肉のみでなく、牛乳にも適用できることが示された。全自動固相抽出装置を用いたSTQ法と分析時間が18分の短い高速LC/MS/MSメソッドを用いることで動物用医薬品分析の「迅速・簡便・高精度化」を図ることができた。

参考文献

1) 島ら、第114回日本食品衛生学会学術講演会要旨集、p.124