

飼料中ポリエーテル系抗生物質の分析（その2） 蛍光検出法による分析

Determination of Polyether Antibiotics in Animal Feeds (Part 2) Using Fluorometric Detection Method

サリノマイシンナトリウムなど5種類のポリエーテル系抗生物質は、農林水産省告示第750号に基づき飼料添加物として指定されており、飼料が含有している栄養成分の有効な利用による家畜・家禽の成長を促進するために飼料中に添加されています。飼料中のこれら成分の分析法については、「飼料分析基準」に微生物学的定量法およびHPLC法が記載されています。

HPLC法は、微生物学的定量法に比べて迅速分析が可能であり、4成分についてポストカラム誘導体化可視検出法が1成分について蛍光検出法が指定されています。

ここでは蛍光検出法が指定されているラサロシドナトリウムの分析例をご紹介します。

H.Terada

標準試料の分析

Analysis of Standard Solution

ラサロシドナトリウム (Fig.1) は、他の4成分とは異なりバニリンとの反応 (アプリケーションニュースNo.L338参照) が陰性であり、ポストカラム誘導体化法での検出ができませんが、自然蛍光を有するため、蛍光検出器による分析が可能です。

Fig.1は、ラサロシドナトリウム標準液 (1 µg(力価) mL) を20 µL注入した結果で、Table 1にその分析条件を示します。

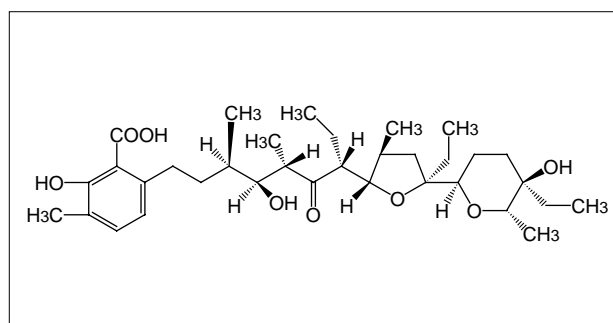


Fig.1 ラサロシドの構造式
Structure of Lasalocid

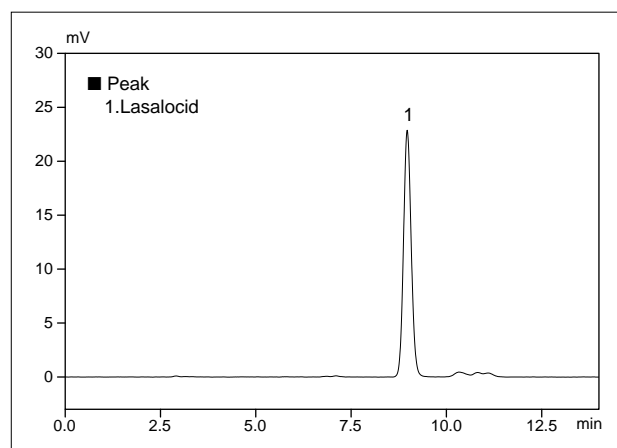


Fig.2 ラサロシドのクロマトグラム (1 µg/mL, 20 µL注入)
Chromatogram of Lasalocid (1 µg/mL, 20 µL Inj.)

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack VP-ODS (250 mm.L × 4.6 mmI.D.)
Mobile Phase	: Phosphate Buffer * / Methanol =1/9 (v/v)
Flow Rate	: 1.0 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Detection	: RF-10Axl Ex at 310 nm, Em at 420 nm

* KH₂PO₄: 2.72 g + water
→ Total 1000 mL
→ pH=2.9-3.0 by aq. H₃PO₄ (1+10)

直線性

Linearity

Fig.3に、「飼料分析基準」記載の濃度範囲で作成したラサロシドの検量線(横軸: μg (力価)/mL)を示します。良好な直線性が得られているのがわかります。

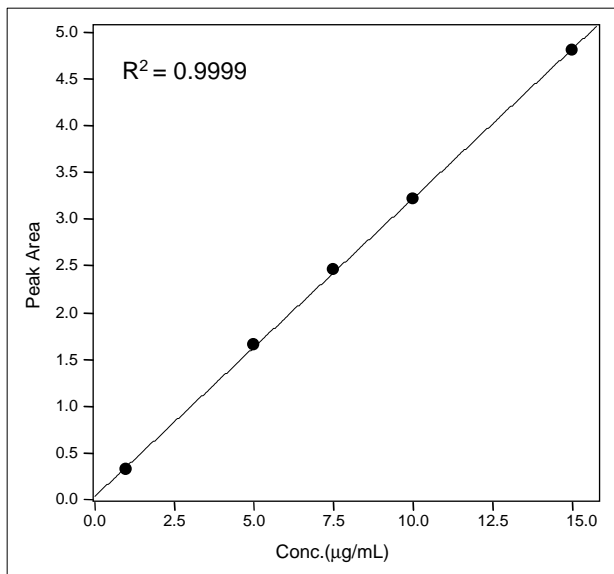


Fig.3 直線性
Linearity

再現性

Repeatability

Table 2に、ラサロシド標準液(1.0 μg (力価)/mL)によるピーク面積値繰り返し再現性(n=6)を示します。低濃度においても良好な再現性が得られています。

Table 2 ピーク面積値の再現性
Repeatability of Peak Area

No.	Peak Area
1 st	318914
2 nd	317927
3 rd	317927
4 th	317795
5 th	318848
6 th	318892
Average	318384
RSD(%)	0.173

飼料の分析

Analysis of Feed

Fig.4に「飼料分析基準」に従った前処理方法を示します。Fig.5は、ブランク飼料10 gに対し、Fig.4中「メタノール 100 mL」の代わりにラサロシドナトリウム標準液(7.5 μg (力価)/mL, メタノール溶液)を100 mL加えて前処理操作を行ったサンプル(飼料中濃度として75 $\mu\text{g}/\text{g}$)を20 μL 注入した結果です。夾雑成分の妨害を受けることなくラサロシドナトリウムの定量ができることがわかります。

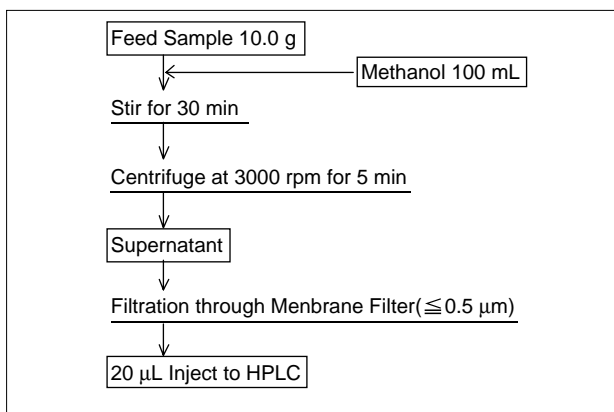


Fig.4 前処理手順
Sample Preparation

て前処理操作を行ったサンプル(飼料中濃度として75 $\mu\text{g}/\text{g}$)を20 μL 注入した結果です。夾雑成分の妨害を受けることなくラサロシドナトリウムの定量ができることがわかります。

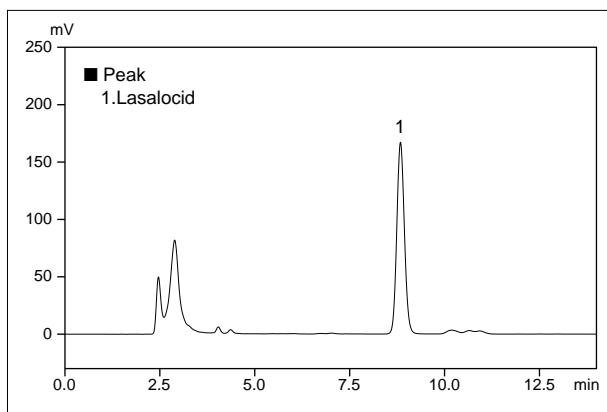


Fig.5 飼料のクロマトグラム(ラサロシドを飼料に75 $\mu\text{g}/\text{g}$ 添加, 20 μL 注入)
Chromatogram of Feed
(75 $\mu\text{g}/\text{g}$ Lasalocid spiked to Feed, 20 μL Inj.)

【参考文献】飼料分析法・解説(2004), 社団法人日本科学飼料協会

初版発行: 2006年7月
A改訂版発行: 2006年8月

島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

☎ 0120-131691(携帯電話不可)
● 携帯電話専用番号(075)813-1691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制Web Solutions Navigatorで閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。