

蛍光検出法による 飼料中ポリエーテル系抗生物質の分析

澤田 浩樹、寺田 英敏

ユーザーベネフィット

- ◆ 「飼料分析基準」に準拠し飼料添加物ラサロシドナトリウムを広い濃度範囲にわたって再現性良く分析可能です。
- ◆ 「飼料分析基準」に記載されている微生物学的定量法に比べて、簡単な操作で迅速な分析が可能です。
- ◆ 装置の起動から停止まで自動化することができ、分析の大幅な省力化、効率化が図れます。

■はじめに

ポリエーテル系抗生物質は、農林省告示第750号¹⁾に基づき飼料添加物として指定されています。これら成分の分析法については、農林水産省消費・安全局長通知の「飼料分析基準」²⁾に微生物学的定量法、HPLC法とLC/MS法が記載されています。

微生物学的定量法では、試験菌の継代保存や培地の調製が煩雑であるほか、16~24時間の培養を伴うため結果を得るまでに時間を要します。一方、HPLC法は微生物を用いないことから、試験菌の保存や培養といった操作が不要となり、迅速な分析を行うことができます。

本稿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。また、ポストカラム誘導体化可視検出法が指定されている3成分の分析例については01-00127-JPでご報告いたします。

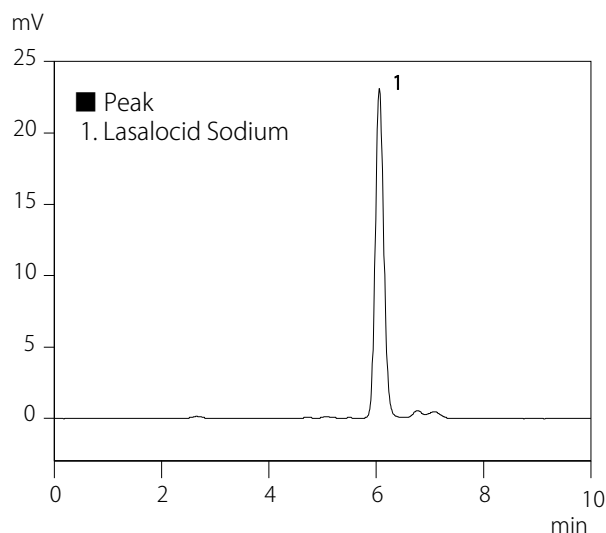


図2 ラサロシドナトリウムのクロマトグラム

■標準試料の分析

ラサロシドナトリウムの構造式を図1に示します。ラサロシドナトリウムは、自然蛍光を有するため、クロマトグラフィーで他の夾雑物質と分離した後、蛍光検出器を使用することで容易に測定できます。また、本システムを用いることで、装置の起動から停止まで自動化することができます。

図2にラサロシドナトリウム標準液0.1 μg(力価)/mLを20 μL注入して得られたクロマトグラムを、表1に分析条件を示します。1分析が10分以内で、迅速な分析が可能です。

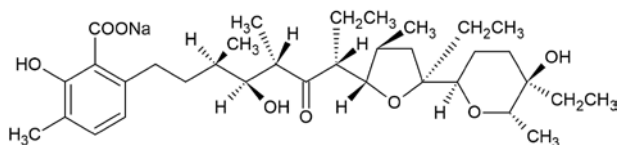


図1 ラサロシドナトリウムの構造式

表1 分析条件

System	: Nexera lite
Column	: Shim-pack Scepter™ C18-120 (250 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm)*1
Mobile Phase	: Phosphate Buffer*2 / Methanol = 1 : 9 (v : v)
Flow Rate	: 1.0 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Vol.	: 20 μL
Vial	: SHIMADZU LabTotal™ Vial for LC 1.5 mL, Glass*3
Detection	: RF-20Axs Ex: 310nm, Em: 420nm

*1 P/N: 227-31020-06

*2 Dissolve 2.72 g of KH₂PO₄ in 1000 mL of water and then adjust its pH within 2.9 to 3.1 by adding H₃PO₄ solution

*3 P/N: 227-34001-01

■直線性

「飼料分析基準」では、1~15 µg(力価)/mLのラサロシドナトリウム標準液を各20 µL注入した際のクロマトグラムから検量線を作成することが規定されています。図3に、この基準に準拠して作成した検量線を示します。寄与率(r^2)は0.999以上と良好な直線性が得られました。

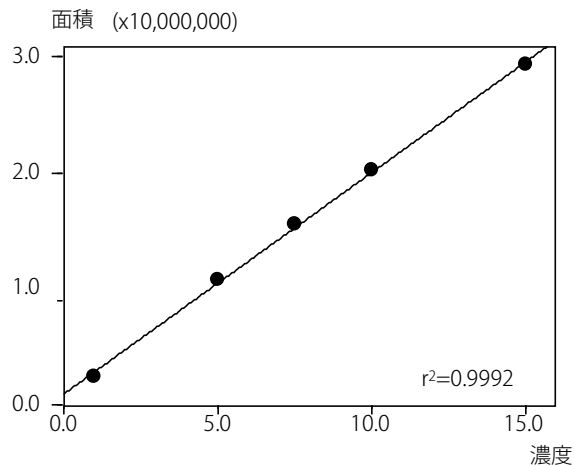


図3 ラサロシドナトリウム標準液の検量線
(濃度：1~15 µg(力価)/mL)

■再現性

「飼料分析基準」記載の飼料を対象とした標準液の最低濃度は、1 µg(力価)/mLと規定されています。規定の最低濃度の10分の1に相当する濃度にあたる0.1 µg(力価)/mLを20 µL注入し6回連続で分析しました。表2に、保持時間、ピーク面積と、それぞれの平均値、再現性(%RSD)を示します。低濃度でも良好な再現性が得られており、幅広い濃度範囲で安定した分析が可能であることが分かります。

表2 0.1 µg(力価)/mL標準液の保持時間とピーク面積の再現性

No.	保持時間	ピーク面積
1 st	6.059	252485
2 nd	6.060	251855
3 rd	6.059	251517
4 th	6.060	252350
5 th	6.059	252333
6 th	6.059	250069
平均値	6.059	251768
RSD(%)	0.009	0.361

<参考文献>

- 1) 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律の規定に基づき飼料添加物を定める件 (昭和51年7月24日 農林省告示第750号)
- 2) 飼料分析基準 (平成20年4月1日・19消安第14729号 農林水産省消費・安全局長通知)
- 3) 飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令 (昭和51年7月24日 農林省令第35号)

Nexera、Shim-pack ScepterおよびSHIMADZU LabTotalは、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

01-00128-JP 初版発行：2021年3月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

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。

■飼料の分析

飼料添加物として含ませることができるラサロシドナトリウムの量は、農林省の定めた「飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令」³⁾により、鶏用(ブロイラーを含む)では75 g(力価)/tと規定されています。そこで鳥用飼料を用いて、この規定濃度のラサロシドナトリウムをHPLC法により分離、定量可能か検討しました。

図4に示す「飼料分析基準」に記載された飼料の抽出手順に基づき、鳥用飼料10.0 gに規定濃度にあたるラサロシドナトリウムを添加して分離度と添加回収率を確認しました。この時、溶液中のラサロシドナトリウム濃度は7.5 µg(力価)/mLとなります。この溶液を20 µL注入し分析した際のクロマトグラムを図5に、添加回収率を表3にそれぞれ示します。夾雑成分の影響を受けることなくラサロシドナトリウムを分離、定量することができました。

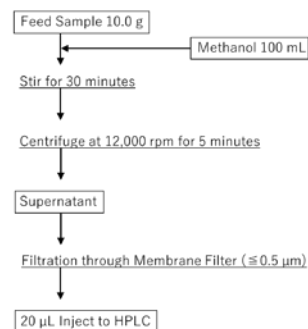


図4 飼料の抽出手順

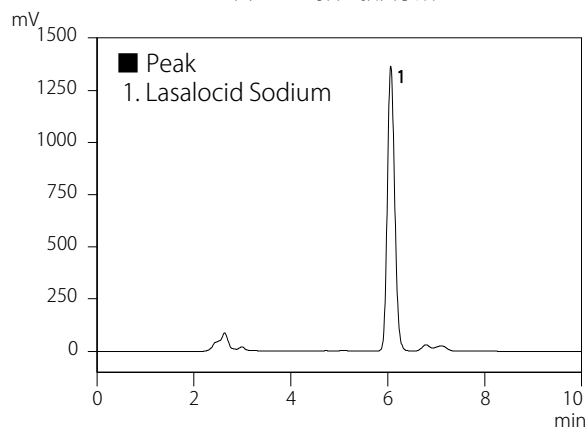


図5 ラサロシドナトリウムを添加した鳥用飼料の抽出液のクロマトグラム

表3 ラサロシドナトリウムの添加回収率

飼料中濃度	添加回収率
75 g(力価)/t	96.9%

■まとめ

本稿では、飼料中のポリエーテル系抗生物質であるラサロシドナトリウムを、蛍光検出器を搭載したNexera liteによって分析した事例をご紹介しました。HPLC法を用いることで、1分析10分以内の迅速な分析が可能である他、広い濃度範囲にわたって再現性の良い分析が可能です。さらに、装置の起動から停止までを自動化することで、業務効率の向上に貢献します。

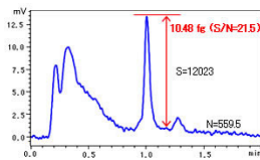
改訂版は会員制サイト Solutions Navigator で閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>
閲覧には、会員制情報サービス Shim-Solutions Club にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

▶ アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



▶ Nexera™シリーズ
超高速液体クロマトグラフ



▶ RF-20A/RF-20Axs
Fluorescence Detector

関連分野

▶ 低分子医薬品

▶ 価格お問い合わせ

▶ 製品お問い合わせ

▶ 技術お問い合わせ

▶ その他お問い合わせ