

Application News

No.L509A

高速液体クロマトグラフィー
High Performance Liquid Chromatography

合成抗菌剤スクリーニングシステムによる 食肉中の残留合成抗菌剤分析 (その1)

Analysis of Residual Antimicrobials in Meat by Antimicrobial Screening System (Part 1)

平成 18 年 5 月、食品中に残留する農薬、飼料添加物および動物用医薬品（農薬等）について、一定の量を超えて農薬等が残留する食品の販売等を原則禁止するポジティブリスト制度が施行されました。¹⁾

中でも、合成抗菌剤は動物用医薬品および飼料添加物の一種で、畜水産物に対して、疾病の治療や予防のために用いられています。また、代表的な合成抗菌剤として、キノロン剤とサルファ剤が挙げられます。

迅速に簡易に実施可能な合成抗菌剤スクリーニングシステムを使用することにより、合成抗菌剤 24 成分のスクリーニング分析が可能となります。ここでは、合成抗菌剤のうち、汎用されているキノロン剤（オールドキノロン剤、ニューキノロン剤）12 成分を分析対象としたスクリーニング分析例をご紹介します。サルファ剤を含む合成抗菌剤（葉酸拮抗剤などを含む）12 成分を対象としたスクリーニング分析例はアプリケーションニュース No. L510 をご参照ください。

N. Iwata

■合成抗菌剤スクリーニングシステム

Antimicrobial Screening System

合成抗菌剤スクリーニングシステムは、各国で規制対象成分とされている合成抗菌剤の最大残留基準（MRL：Maximum Residue Limit）を超えているか否かを判定可能です。Table 1 にキノロン剤対象成分の MRL を示します。

このシステムは一体型 HPLC “i-Series” および高感度蛍光検出器 “RF-20Axs” を用い、前処理法、分析カラム、分析メソッドファイル、UV スペクトルライブラリをセットとしているため、据付後すぐに実施可能です。また、一斉分析が実施できる分析メソッドにより、多成分を同時にスクリーニング可能です。分析終了後は MRL におけるスクリーニング判定結果を即座に確認できます。さらに、i-Series 内蔵のフォトダイオードアレイ（PDA）検出器で検出する成分については、保持時間に加え、UV スペクトルによる化合物同定で、精度の高いスクリーニングを行えます。

Table 1 スクリーニング対象成分の MRL と試料溶液濃度
Maximum Residue Limits and Sample Solution
Concentration of Screening Target Compounds

成分名	MRL (mg/kg)	試料溶液濃度 (mg/L)
1 Marbofloxacin	0.01	0.025
2 Ofloxacin	0.01	0.025
3 Ciprofloxacin	0.01	0.025
4 Danofloxacin	0.01	0.025
5 Enrofloxacin	0.01	0.025
6 Orbifloxacin	0.01	0.025
7 Sarafloxacin	0.01	0.025
8 Difloxacin	0.01	0.025
9 Oxolinic acid	0.01	0.025
10 Nalidixic acid	0.01	0.025
11 Flumequine	0.01	0.025
12 Piromidic acid	0.01	0.025

■前処理プロトコル

Procedure of Sample Preparation

前処理法は、HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 I（畜水産物）を参考にしました。^{2), 3)} アセトニトリル抽出およびアセトニトリル/ヘキサン分配による脱脂の後、濃縮乾固、再溶解することにより、試料溶液を調製しました。Fig. 1 に前処理プロトコルを、Table 1 に前処理後の試料溶液濃度を示します。前処理法の詳細は取扱説明書をご参照ください。

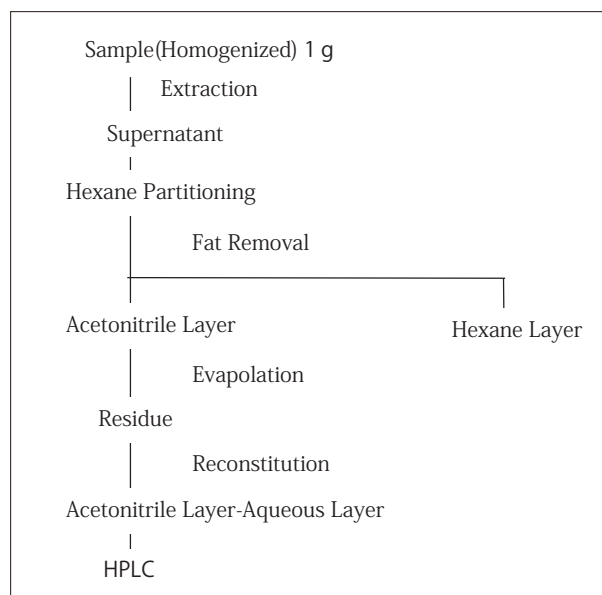


Fig. 1 前処理プロトコル
Procedure of Sample Preparation

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

System	: LC-2040C 3D, RF-20Axs
Column	: Shim-pack FC-ODS (150 mm L. × 4.6 mm I.D., 3 μm)
Mobile Phase	: A) 20 mM (Sodium) Phosphate Buffer containing 0.1 M Sodium Perchlorate B) Acetonitrile/Methanol=90/10
Time Program	: Gradient Elution
Flow Rate	: 1.0 mL/min
Column Temp.	: 40°C
Injection Volume	: 5 μL
Detection	: <LC-2040C 3D> 280 nm <RF-20Axs> Ex at 290 nm, Em at 495 nm Ex at 325 nm, Em at 365 nm
Cell Temp.	: 40 °C (PDA), 30 °C (RF)

■ 食肉中キノロン剤の分析

Analysis of Quinolones in Meat

食肉サンプルは鶏肉と豚肉を用いました。前処理後のマトリクス溶液（青線）、マトリクス溶液に標準溶液を添加したマトリクス標準溶液（赤線）、および標準溶液（黒線）のクロマトグラムを Fig. 2 に示します。マトリクス標準溶液は、キノロン剤が各 0.01 mg/kg になるよう、標準溶液を添加しました。Table 2 に分析条件を示します。蛍光検出器は 2 波長モードで分析しました。ニューキノロン剤（Table 1 の 1～8）は励起波長 290 nm、蛍光波長 495 nm で検出し、オールドキノロン剤（Table 1 の 9～11）は励起波長 325 nm、蛍光波長 365 nm で検出しました。ピロミド酸（Table 1 の 12）は他のキノロン剤と異なり、蛍光特性を有しないため、PDA 検出器で検出しました。この分析条件では、約 22 分で 12 成分全てを分離、溶出しました。

■ スペクトルライブラリによる類似度計算

Similarity Calculation by UV Spectral Library

PDA 検出成分（ピロミド酸）については、保持時間だけでなく UV スペクトルを用いて定性が可能です。ライブラリのスペクトルとの類似度も確認することができます。Fig. 3 は基準値濃度の標準溶液を豚肉マトリクスに添加した溶液におけるピロミド酸のスペクトルです。ライブラリのスペクトルとの類似度は 0.998 でした。

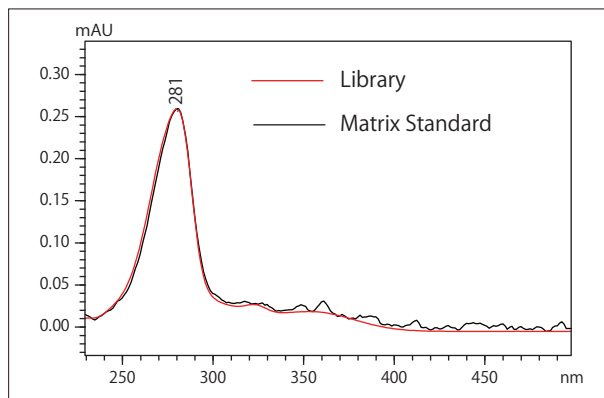


Fig. 3 ピロミド酸のスペクトル
Spectra of Piromidic Acid

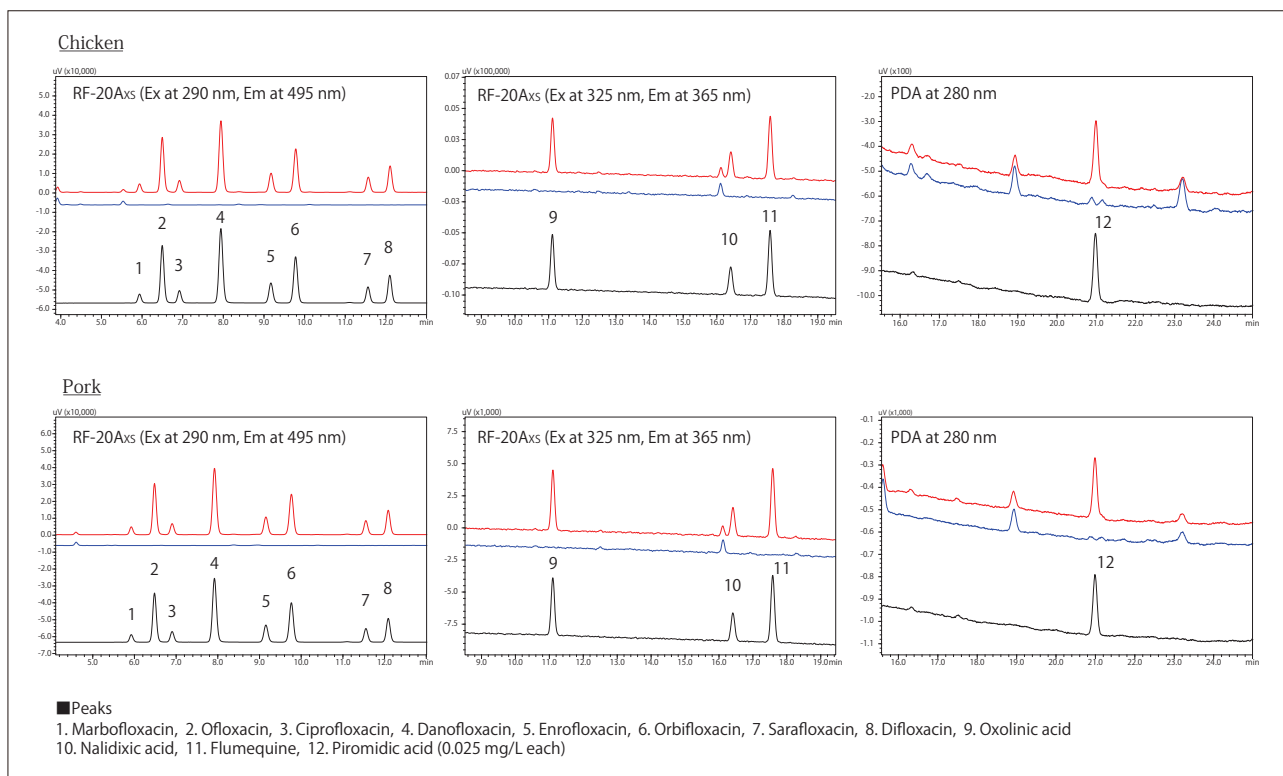


Fig. 2 鶏肉、豚肉のクロマトグラム（赤線）マトリクス標準溶液、（青線）マトリクス溶液、（黒線）標準溶液
Chromatograms of Chicken and Pork (Red Line) Matrix Standard, (Blue Line) Matrix, (Black Line) Neat Standard

[参考文献]

- 1) 食品に残留する農薬等に関する新しい制度（ポジティブリスト制度）について、厚生労働省
- 2) HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 I（畜水産物）、食安発第 0124001 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知（平成 17 年 1 月 24 日）
- 3) 厚生労働省監修「食品衛生検査指針（動物用医薬品・飼料添加物編）」p. 26～43、（社）日本食品衛生協会（2003）

[注意事項]

本スクリーニングシステムは Nexera-i(LC-2040C 3D) および RF-20Axs 専用です。

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

A改訂版発行：2017年3月
初版発行：2016年8月

島津コールセンター ☎ 0120-131691
(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。