

Application News

No. C202

LC/MS

トリプル四重極型LC/MS/MSを用いた牛乳および鶏卵抽出液中のクロルプロマジン分析

クロルプロマジン塩酸塩は、精神安定剤（医薬品）として利用されています。一方でクロルプロマジンを有効成分とする動物用医薬品としては、「食用に供するために出荷する対象動物及び食用に供するために出荷する乳、鶏卵等を生産する対象動物への使用」が禁止されています。（平成 25 年農林水産省令第 44 号）

また、ポジティブリスト制度においても、クロルプロマジンが食品中に含有されるものであってはならないと位置付けられており、その試験法として食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）において LC/MS 法が示されてきました。

しかしながら、畜水産物全般において、この試験法が適用できるものではなく、食品によっては良好な分析結果が得られない場合もあったことから試験法の見直しが進められています。

平成 31 年 3 月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会にて、メソッド開発が完了した新たなクロルプロマジン試験法の諮問書（厚生労働省発生食 0220 第 4 号）が答申されたところです。

今回は、諮問書に示された試験法に準拠し、牛乳および鶏卵中のクロルプロマジン进行分析した例を紹介します。

H.Horiike

■ 試料の前処理

試験法答申案に従って、牛乳および鶏卵を 10g を量り採り、アセトンによる抽出を 2 回繰り返した後、100 mL に定容しました。

10 mL を採取し、超純水およびギ酸を加え、スルホン酸塩修飾メタクリレート共重合体ミニカラムを用いて固相抽出を行いました。

溶出液を 40℃ で約 1 mL まで濃縮した後、0.1%ギ酸水溶液および 0.1%ギ酸アセトニトリルの混液（3：2）にて、正確に 5 mL に定容し、これを測定用試料としました。

サンプルの適用範囲が増えたものの、従来の試験法より処理過程が少ないため、容易に前処理を行うことが可能です。

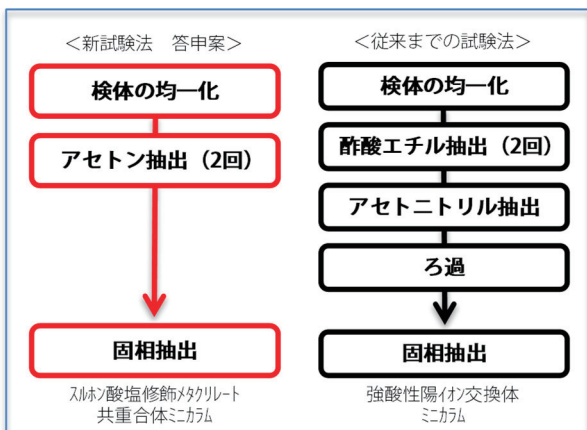


図1 前処理操作

■ クロルプロマジン標準液のMRM クロマトグラムおよび検量線の直線性

クロルプロマジン標準液（10 ng/L）を測定し、得られたMRM クロマトグラムを図2に示しました。答申されている試験法では検出下限値として注入量 5 μL において、20 ng/L とされていますが、LCMS™-8050 を用いれば注入量を 2 μL に低減しても定量下限濃度として 10 ng/L から測定が可能で

す。図3に 10~1,000 ng/L における検量線を示し、寄与率 $R^2 > 0.9998$ と良好な直線性が得られました。また、表1にこれら分析条件を示しました。

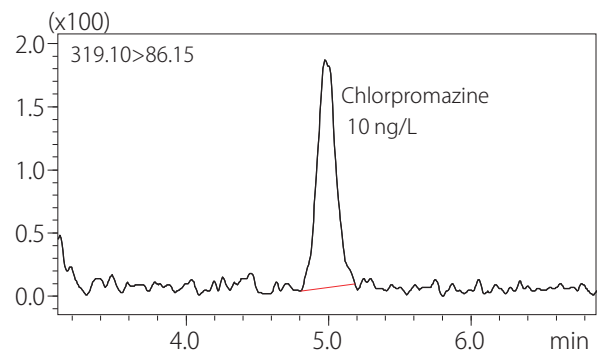


図2 クロルプロマジン標準液のMRM クロマトグラム

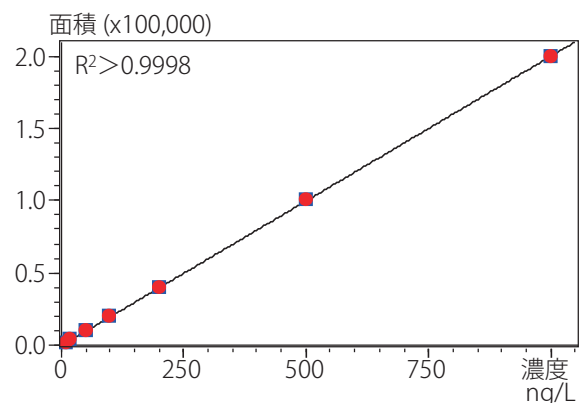


図3 検量線

表1 測定条件

Column	: Shim-pack™ HR-ODS (150 mmL×2.1 mm.i.d., 3 μm, Shimadzu Corp.)
Mobile phases	: 0.1% formic acid water / 0.1% formic acid acetonitrile = 72 / 28 (v/v)
Flow rate	: 0.20 mL/min
Column temperature	: 40 °C
Injection volume	: 2 μL
Probe voltage	: +1.0 kV (ESI-positive)
DL temperature	: 250 °C
Block heater temperature	: 350 °C
Interface temperature	: 300 °C
Nebulizing gas flow	: 2 L/min
Drying gas flow	: 5 L/min
Heating gas flow	: 15 L/min
MRM transition	: Chlorpromazine <i>m/z</i> 319.10>86.15 (定量) 321.10>58.10 (確認)

■牛乳および鶏卵の分析

前処理を含めた操作ブランクを測定し、分析種が不検出であることを確認しました。(図4を参照)

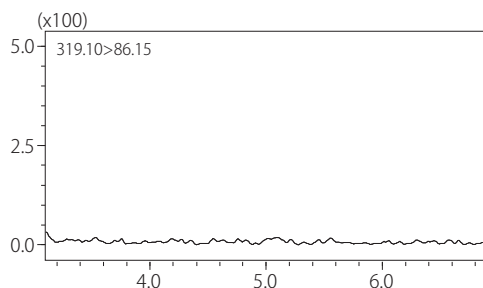


図4 操作ブランクのMRMクロマトグラム

市販の日本国内産の牛乳および鶏卵を前処理し、抽出液の測定により得られた各MRMクロマトグラムを図5の上図および図6の上図に示しました。牛乳においては、微小ピークが検出されましたが、概ね定量下限濃度の1/5以下と換算され、また鶏卵においては、不検出となりました。

また、添加回収試験を実施するため牛乳および鶏卵に0.0001 mg/kg相当になるようにクロルプロマジン標準液を添加し、その後図1の手順に従い前処理した試験溶液を調製しました。

測定より得られたMRMクロマトグラムを図5の下図および図6の下図にそれぞれ示しました。試料中0.0001 mg/kgに相当する試験溶液の濃度は、20 ng/Lとなります。表2および表3に示す通り、回収率(真度)は、牛乳の抽出液で103%、鶏卵の抽出液で102%と非常に良好な結果が得られました。このようにLCMS-8050を用いることで、クロルプロマジンを精度良く測定することが可能です。

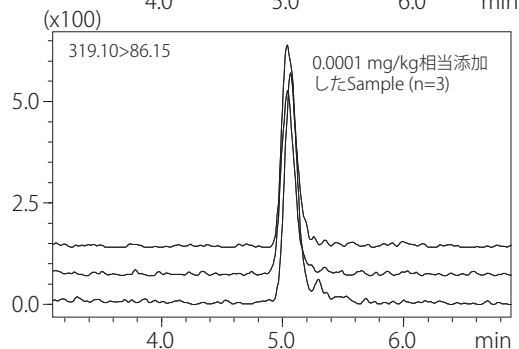
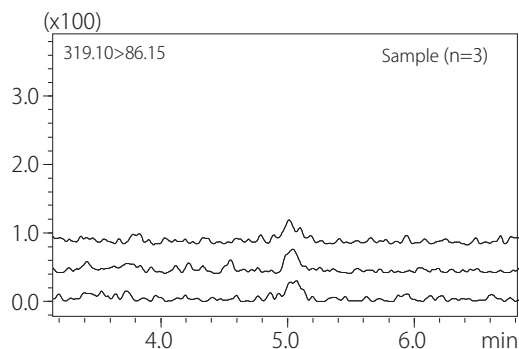


図5 MRMクロマトグラム (n=3、牛乳)

表2 添加回収試験結果 (n=3、牛乳)

	Average concentration	Average recovery	Area %RSD
Spiked sample	20.69 ng/L	103%	5.71

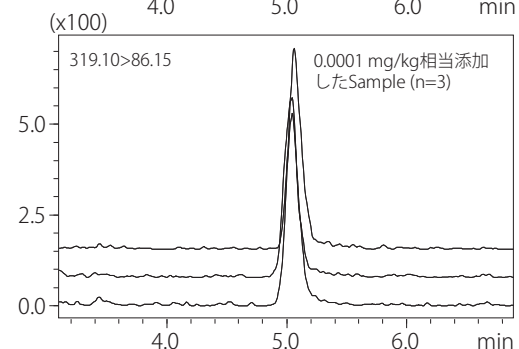
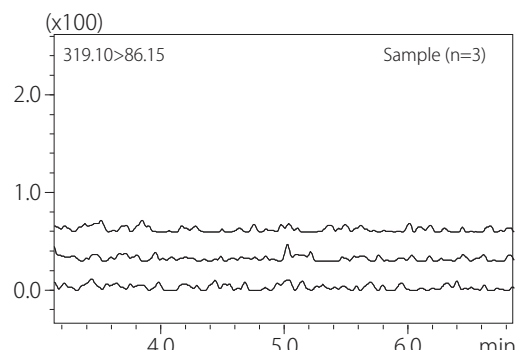


図6 MRMクロマトグラム (n=3、鶏卵)

表3 添加回収試験結果 (n=3、鶏卵)

	Average concentration	Average recovery	Area %RSD
Spiked sample	20.50 ng/L	102%	2.45

Shim-pack および LCMS 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

初版発行：2019年9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。