

演題番号 : 5

演題名 : UPLC-MS/MS を用いた一斉分析法の妥当性評価結果報告

発表者氏名 : ○児玉光司

発表者所属 : 秋田県食肉衛検

1. はじめに : 当所では、「HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 I (畜水産物)」および簡便化した試験法 (QuEChERS 法) の併用で前処理を行ってきた。このたび、超高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計 (UPLC-MS/MS) の導入に伴い、厚生労働省通知のガイドラインを参考に妥当性評価を実施したので報告する。

2. 材料および方法 : UPLC-MS/MS は島津製作所製 Nexera シリーズおよび LCMS-8050、分離カラムは Shim-pack Scepter C18-120[Metal free column] (内径 2.1mm × 長さ 150mm、粒子径 3 μ m) を用いた。移動相には A 液 ; 0.1%Formic acid - Water、B 液 ; 0.1%Formic acid - Acetonitrile を使用した。試料は豚、鶏の筋肉および腎臓を用い、標準品および標準原液は、動物医薬品混合標準液 PL-1-3、サルファ剤+葉酸代謝拮抗剤、キノロン剤各 500 μ L をメタノールで 10mL に定容 (1 μ g/mL) し作成した。添加回収試験の添加濃度は 0.01 μ g/g (機器測定時濃度 0.001 μ g/mL) とし、実施者 1 名が 2 併行 5 日間行い、真度・精度を評価した。検量線は 0.001、0.005、0.01、0.015、0.025 μ g/mL の 5 点の検量線を作成し、絶対検量線法により定量した。前処理方法は、1 検体 2.5g を採り、ギ酸 30 μ L とアセトニトリル 10mL を加えホモジナイズし、無水硫酸ナトリ

ウム 2 g を加え、ボルテックスで攪拌、遠心分離 (3,500 rpm (1,643 \times g) , -5 $^{\circ}$ C, 20 min) 後、上清を別の容器に移し替え、蒸留水で 25 mL に定容し、アセトニトリル飽和 n-ヘキサン 5 mL (豚筋肉のみ 10 mL) を加えボルテックスで攪拌した。その後、再度遠心分離 (3,500 rpm (1,643 \times g) , -5 $^{\circ}$ C, 10 min) を行い、アセトニトリル層から 1mL ろ過し、試験溶液とした。

3. 成績 : 妥当性評価を行った 52 種の化合物のうち、豚筋肉 24 種、豚腎臓 30 種、鶏筋肉 28 種、鶏腎臓 34 種の各化合物は妥当性評価ガイドラインの真度・精度を満たした。

4. 考察 : 従来 of 検量線濃度では真度が一定でなかったため、0.001 μ g/mL を加え、目的定量値に近い範囲にした結果、真度が安定した。なお、豚筋肉はアセトニトリル飽和 n-ヘキサン量が 5mL では十分な真度を得られなかった。これは、豚筋肉に含まれる脂肪が多く、n-ヘキサンの量が足りないためだと考え 10mL に変更したところ、真度・精度が改善された。本法により、分析化合物数は増え、分析時間は短縮され、濃縮乾固が無く有機溶媒の廃液も少量のため環境負荷を軽減した分析が可能となった。