

LC/MS/MS によるニトロフラン代謝物の分析

Analysis of Nitrofuran metabolites by LC/MS/MS

ニトロフラン類は、動物用医薬品として細菌性感染症の治療に使用されてきましたが、発がん作用があることが確認されたため、国内及び諸外国の多くで使用が禁止されています。国内のポジティブリスト制においては、“食品において不検出とされる農薬等の成分である物質”として、ニトロフラゾン、ニトロフラントイン、フラゾリゾン及びフラルタドンが規制対象とされており、図1に示すこれらの代謝物を分析種とした試験法が制定されました（食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法）。このうち、ニトロフラゾンの代謝物であるセミカルバジド (SEM) については、ビンの蓋に使用されている発泡剤か

らも生成することが確認されたため、現在では、分析対象から除外されています。ニトロフラゾンに関しては、代謝物ではなく化合物そのものを分析する方法が別途制定されました。

本報では、図1に示すAHD、AOZ及びAMOZの3種を分析種とし、試験法に準拠した前処理法及び分析法を用いて、食品(添加試料)中の各代謝物の分析を行った例を紹介します。検出には、LC/MS/MSが採用されており、逆相分配カラムへの保持と質量分析計での高感度検出を目的として、ニトロフェニル誘導体化法が前処理として用いられています。

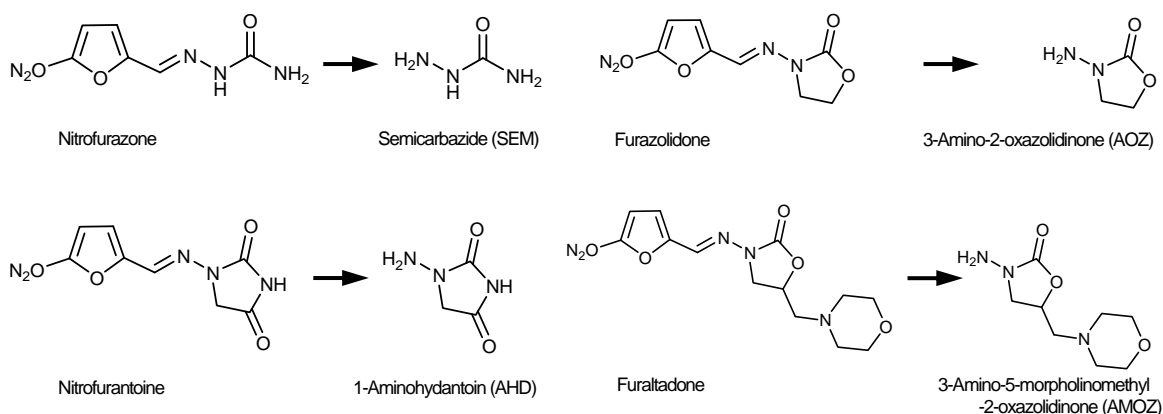


図1 ニトロフラン類及びその代謝物

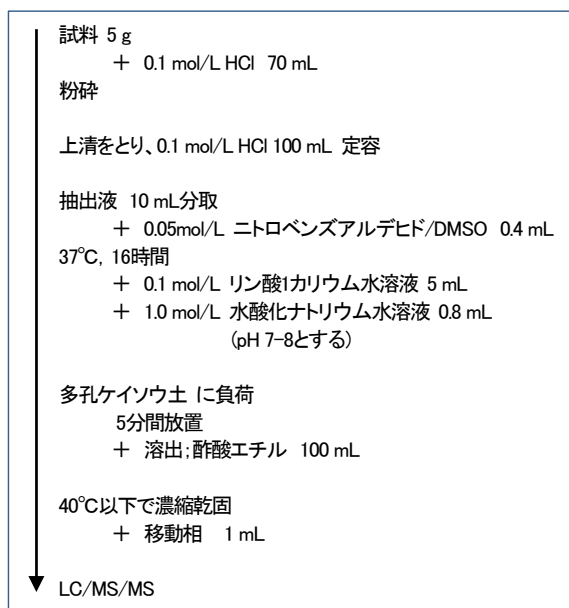
表1 分析条件

Column :	TSKgel ODS-100V 3µm (2.0 mmI.D. x 150 mm, 3 µm)	
Eluent :	A; 0.1 % CH ₃ COOH	B; CH ₃ CN
Gradient :	B conc (0 min) 20 % → (10-15 min) 100 % → (13.1 min) 20 %	
Flow rate :	0.2 mL/min	
Column temp. :	40 °C	
Injection volume :	2 µL	
MS :	QTRAP (SCIEX)	
Ion source :	ESI(+)	
Mode :	SRM	
Precursor/Product ions :	NP-AHD	249/134
	NP-AOZ	236/134
	NP-AMOZ	335/291

標準物質を用いて検量線を作成した結果、いずれの分析種も 0.05~10 µg/L の濃度範囲において、 $r^2=0.998$ 以上の相関係数を有する直線性が得られました。

また、0.5 µg/L の標準試料の測定による再現性 (n=6) は、1.2~1.9% と良好でした。各分析種の定量下限値 (LOQ) は、AHD: 0.15 µg/L、AOZ: 0.07 µg/L、AMOZ: 0.05 µg/L となり、通知法に指定された前処理 (図 2) を用いた場合、それぞれ、0.3 µg/kg、0.15 µg/kg、0.11 µg/kg に相当します。

鰻蒲焼に、AHD、AOZ 及び AMOZ の標準物質を各 2 µg/kg の濃度になるように添加後、通知法に準拠した前処理を行って測定したクロマトグラムを図 3 に示します。妨害ピーク等は認められず、各分析種の添加回収率は、AHD: 87.5%、AOZ: 109.2%、AMOZ: 105.1% と良好な結果が得られました。



食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生省告示第370号)に規定する試験法(告示試験法)に準拠

図 2 鰻蒲焼試料の前処理法

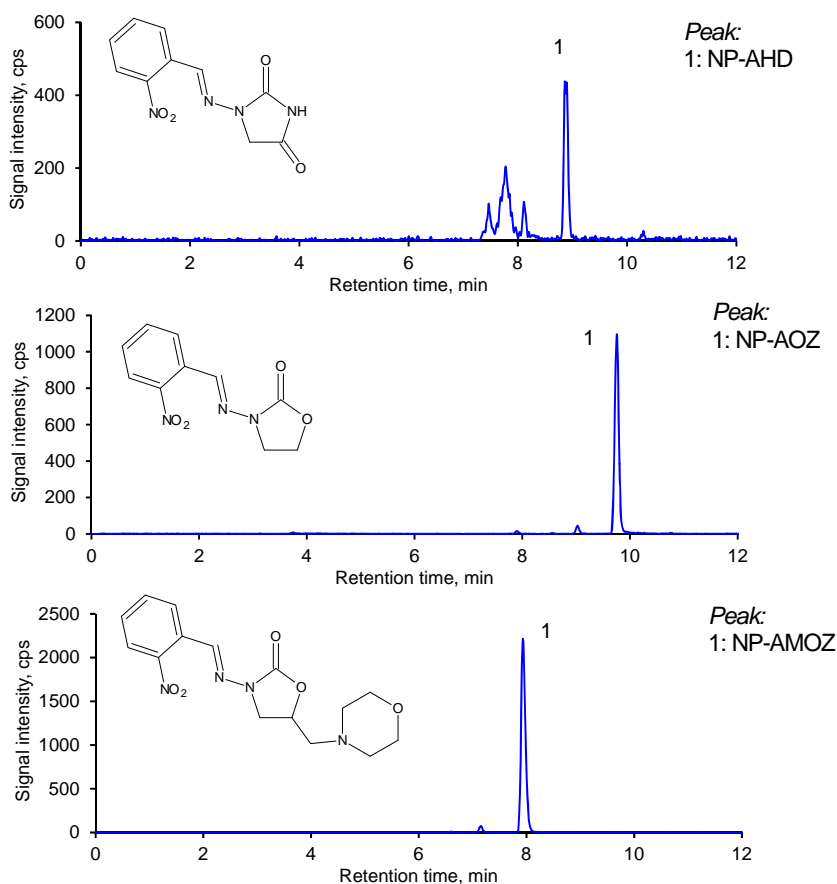


図 3 鰻蒲焼(2 µg/kg 添加試料)の抽出試料のクロマトグラム