ニトロフラン類代謝物誘導体のLC/MS/MS分析

概要

ニトロフラン系の合成抗菌剤であるフラゾリドン及びニトロフラゾンは発癌性が疑われており、 EU･欧米では食用畜水産物への使用が禁止されています。さらにEUでは、ニトロフラン代謝物（AOZ、セミカルバジド等）について、不使用確認の検出限界（MRPL)を1ppbとすることが示され、モニタリング調査が行われるようになりました。

国内では、動物用医薬品として承認されているニトロフラゾンについても食用の畜水産物への使用は認められていません。

今回測定対象としましたのは、フラゾリドンの代謝物であるAOZ（3-アミノ-2-オキサゾリドン）及びニトロフラゾンの代謝物であるSC（セミカルバジド）をNBA誘導化したものです。AOZ及びSCは低分子量で極性が高いために、そのままでは分析カラムへの保持が悪く、高感度に検出することが難しい化合物です。

ここでは、弊社LC/MS/MSシステムを使用した測定例をご紹介します。

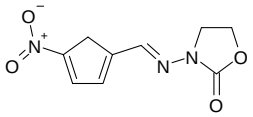
分析条件

装置：Alliance 2695
セパレーションモジュール
カラム：Waters Atlantis® dC18
2.1×150 mm、5 μm
カラム温度：40℃
移動相：
0.05%蟻酸/5mM AcONH4aq. in
A:H2O B:MeOH
ステップグラジエント：
10%B（0.5 min hold）
90%B（7.5 min hold）
流速：0.2 ml/min
注入量：10 μl

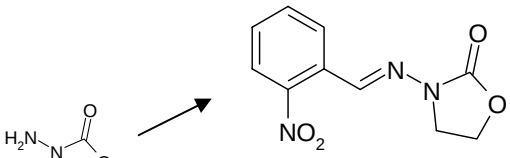
Mass Spectrometer
装置：Micromass® Quattro *micro* API
タンデムマス検出器
イオン化：ESIポジティブ
キャピラリ電圧：1.0 kV
脱溶媒ガス：600 L/hr
脱溶媒ガス温度：350℃
イオン源温度：120℃

構造式

Fulazolidone



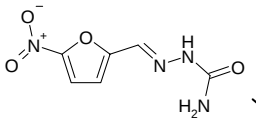
AOZ（Fulazolidone代謝物）



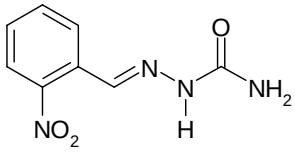
2-NBA-AOZ（AOZ誘導体）

平均分子量：235.20
モノアイソトピック分子量：235.0593

Nitrofurazone



SC（Nitrofurazone代謝物）



2-NBA-SC（SC誘導体）

平均分子量：208.18
モノアイソトピック分子量：208.0596

※測定に使用しました誘導体化物は、（財）食品環境検査協会のご好意によりご提供いただきました。

誘導体化の参考文献： Journal of Chromatography A,939(2001)49-58
Determination of the metabolites of nitrofuran antibiotics in animal tissue by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

キーワード:

AOZ、SC
ニトロフラン系合成抗菌剤
LC/MS/MS
Quattro *micro* API
ESI

MS1で選択した擬分子イオンをコリジョンセルでフラグメンテーションさせたプロダクトイオンスペクトルです。それぞれm/z 236→m/z 134、m/z 209→m/z 166のトランジッションをモニターするMRMで高感度・高選択が可能になります。

プロダクトイオンスペクトル

図1
2-NBA-AOZ （1 ppm溶液）
cone voltage = 30 V
collision energy = 10 eV

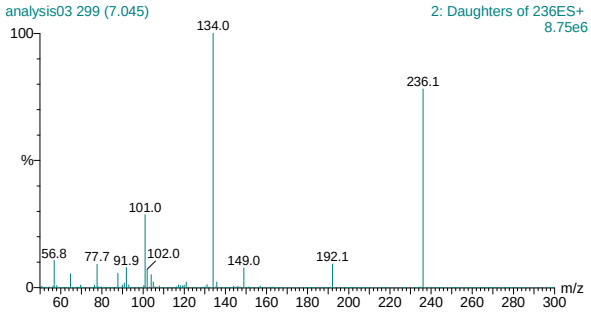
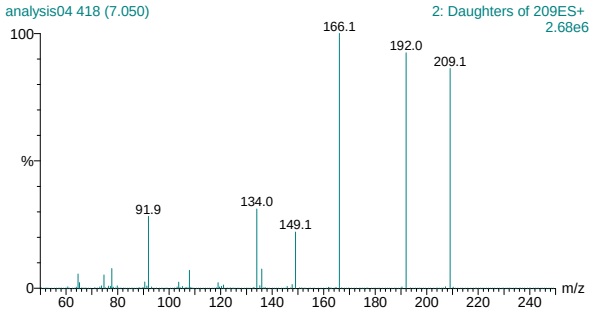


図2
2-NBA-SC （1 ppm溶液）
cone voltage = 25 V
collision energy = 10 eV



MRMクロマトグラム

MRMクロマトグラム
図3 2-NBA-AOZ
図4 2-NBA-SC

標準溶液は全てACN:水(1:1)で調製しました。検出下限値（S/N≧3）は、2-NBA-AOZが0.005 ppb、2-NBA-SCが0.03 ppbでした。

図3

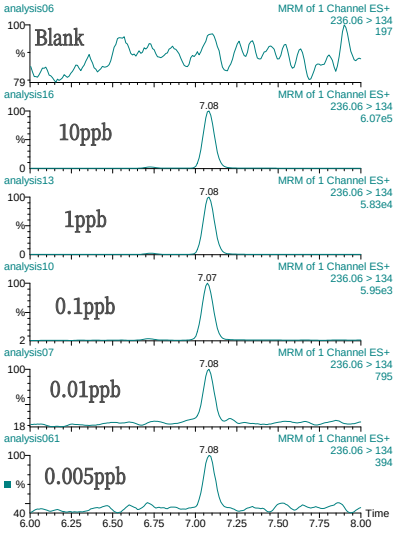
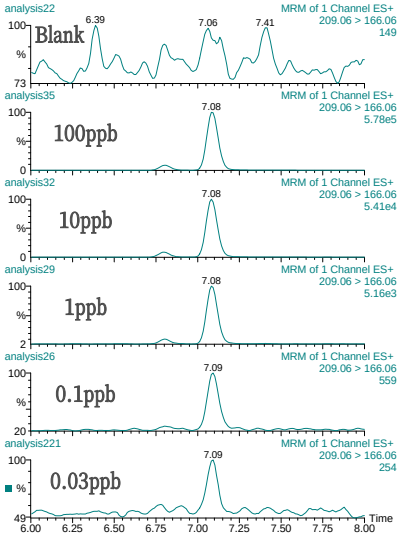


図4



直線性の確認

2-NBA-AOZは0.005-10ppb、2-NBA-SCは0.03-100ppbの標準溶液を各n＝3で測定したところ、r＝0.99以上の直線性が得られました。

図5
2-NBA-AOZ（0.005-10 ppb）

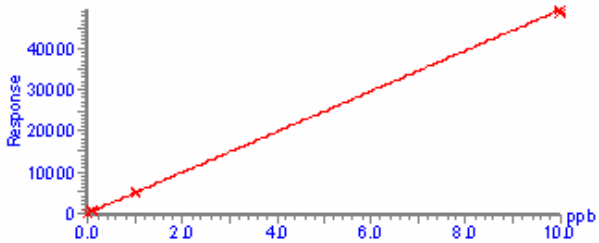
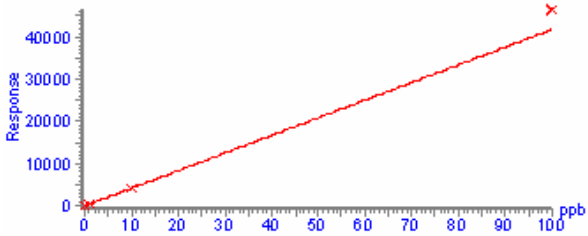


図6
2-NBA-SC（0.03-100 ppb）



日本ウォーターズ株式会社
本社：東京都品川区北品川1-3-12 第5小池ビル
TEL:03-3471-7191 FAX:03-3471-7118