

ベトナム産エビからの スルファメトキサゾール検出事例報告

河野嘉了・藤井優寿・宮本道彦・重岡昌代・田中志歩・藤岡栄子

福岡市保健環境研究所保健科学課

Detection of Sulfamethoxazole in Vietnamese Shrimp

Yoshinori KAWANO, Masatoshi FUJII, Michihiko MIYAMOTO,
Masayo SHIGEOKA, Shiho TANAKA and Eiko FUJIOKA

Health Science Section, Fukuoka City Institute of Health and Environment

要約

福岡市保健環境研究所では、魚介類について LC-MS/MS での一斉試験法による動物用医薬品検査を実施している。平成 31 年 1 月の収去検査で、ベトナム産バナメイむきえびから、成分規格として含有してはならないスルファメトキサゾールが検出された。そこで対象試料の 5 回の繰り返し試験、試験法の妥当性評価の実施、複数のプロダクトイオンの確認及び LC-Q/TOFMS による確認試験を行った結果、検出した化合物はスルファメトキサゾールであると判断した。

Key Words : スルファメトキサゾール Sulfamethoxazole, 動物用医薬品 veterinary medicinal products, 高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計 LC-MS/MS, 液体クロマトグラフ-飛行時間型質量分析計 LC-Q/TOFMS

1 はじめに

動物用医薬品や飼料添加物（以下、「動医薬等」とする。）は、家畜や養殖魚の病気の予防や治療等の目的で使用され、安定した食料の供給に寄与している。

食品中に残留する動医薬等の試験法については、平成 19 年 11 月に厚生労働省から通知された「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」（以下、「ガイドライン」とする。）により妥当性評価を実施するよう求められている^{1, 2)}。

食品衛生法に基づく収去検査において、平成 31 年 1 月、ベトナム産のバナメイむきえびから、合成抗菌薬のサルファ剤であるスルファメトキサゾールが検出された。スルファメトキサゾールは食品衛生法の食品、添加物等の成分規格として含有してはならないとされており、成分規格違反が疑われた。そこで、対象試料を用いた繰り返し試験、スルファメトキサゾールの試験法の妥当性評価及び液体クロマトグラフ-飛行時間型質量分析計（以下、「LC-Q/TOFMS」とする。）での確認試験を実施したので報告する。

2 実験方法

2.1 試料

対象試料：スルファメトキサゾール検出のベトナム産バナメイむきえび（平成 31 年 1 月収去品）

妥当性評価用試料：スルファメトキサゾール不検出のタイ産むきえび

2.2 試薬等

スルファメトキサゾール標準品：富士フィルム和光純薬工業社製スルファメトキサゾール標準品（高速液体クロマトグラフ用）

0.2 μm フィルター：アドバンテック東洋社製 DISMIC-25HP

ろ紙：アドバンテック東洋社製ろ紙 5A

バイアル：GL サイエンス社製 1.5 mL スクリューバイアル PP 褐色

アセトニトリル：HPLC 用

メタノール：残留農薬試験用

2.3 装置及び測定条件

2.3.1 装置

LC-MS/MS : LC部 Agilent社製 1260シリーズ, MS部 : AB SCIEX社製 TQ5500

LC-Q/TOFMS : LC部 AB SCIEX社製 Exion LC AC, MS部 : AB SCIEX社製 X500R Q TOF システム

2.3.2 測定条件

LC-MS/MS条件及びLC-Q/TOFMS条件は表1に示す.

2.4 試験溶液の調製

試験溶液の調製は既報³⁾に示した方法に準じて行った. フローチャートを図1に示す.

2.5 LC-MS/MSによる対象試料の検査

対象試料に対し5回繰り返し試験及び0.01 ppmでの添加回収試験(n=3)を実施し, 絶対検量線により定量した.

さらに, 定量イオンとしたプロダクトイオンの他, 確認イオンとした3種類のプロダクトイオンについて測定し, ピークの確認及び標準品との強度比の比較を行った.

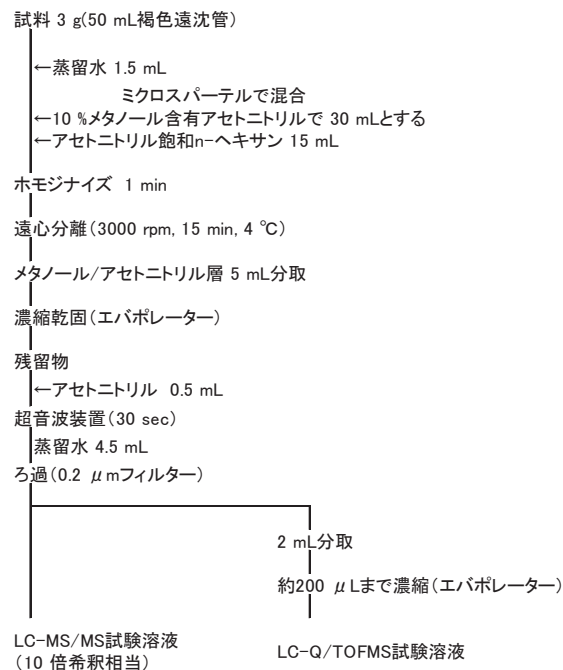


図1 試験溶液調製のフローチャート

表1 測定条件

パラメーター	条件	パラメーター	条件
LC条件		MS 条件 (LC-MS/MS)	
分析カラム	Xterra MS C18 (2.1 mm i.d. × 150 mm, 3 µm)	イオン化モード	ESI(positive mode)
移動相	A = 0.1% ギ酸 B = アセトニトリル	カーテングス流量	20 psi
グラジエント条件		ヒーター温度	600°C
	Time (min) A (%) B (%) Flow rate (mL/min)	ネブライザガス流量	70 psi
	0.0 95 5 0.2	ターボガス流量	60 psi
	3.0 95 5 0.2	スプレー電圧	5500 V
	15.0 5 95 0.2	化合物条件	モーターイオン **DP **CE (m/z) (V) (V)
	20.0 5 95 0.2	定量	253.8 > 156.2 66 23
	20.1 95 5 0.5		253.8 > 92.1 66 39
	27.0 95 5 0.5	定性	253.8 > 107.8 46 27
	27.1 95 5 0.2		253.8 > 64.8 46 57
	30.0 95 5 0.2		**DP : Declustering Potential
注入量	5 µL		**CE : Collision Energy
カラム温度	40°C	MS 条件 (LC-Q/TOFMS)	
		測定モード	IDA
		イオン化モード	ESI(positive mode)
		カーテングス流量	30 psi
		ヒーター温度	350°C
		ネブライザガス流量	60 psi
		ターボガス流量	60 psi
		スプレー電圧	5500 V
		TOFMS スキャン範囲	m/z 100-500
		TOFMS/MS スキャン範囲	m/z 50-500

2.6 LC-MS/MSによる妥当性評価

妥当性評価用試料について、0.01 ppmでの添加回収試験を実施者5名で2併行1日間行い、ガイドラインに従って選択性・真度・精度（併行精度・室内精度）を評価した。

2.7 LC-Q/TOFMSによる確認

LC-MS/MS測定により対象試料から検出された化合物がスルファメトキサゾールであることを確認するため、LC-Q/TOFMSにより精密質量の確認を行った。測定モードは、一定の信号強度以上に検出されたイオンについてプロダクトイオンスペクトルを取得する、IDAモードとし、LC条件はLC-MS/MSと同一とした。

3 結果及び考察

3.1 LC-MS/MSによる対象試料の検査結果

対象試料の5回繰返し試験の濃度平均値は0.016 ppm(RSD%=1.9)であった。またピーク形状も良好であった(図2)。さらに、0.01 ppmでの対象試料への添加回収試験(n=3)を実施した結果、回収率は87.4%(RSD%=2.1)と良好であった。

確認イオンについてもピークが確認され、定量イオンとのピーク強度比は標準品と類似していた(表2)。

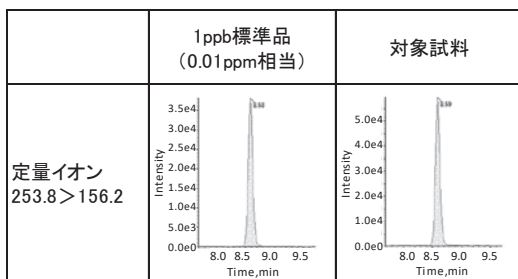


図2 定量イオンのクロマトグラム

表2 LC-MS/MSによる各イオンのピーク強度比

モニターイオン	(m/z)	定量		定性	
		253.8>156.2	253.8>92.1	253.8>107.8	253.8>64.8
ピーク強度比	1ppb標準品	100%	124%	77%	50%
	対象試料	100%	114%	69%	46%

3.2 LC-MS/MSによる妥当性評価結果

えびについてのスルファメトキサゾールの妥当性評価結果を表3に示す。すべての性能パラメータは目標値に適合した。

表3 妥当性評価試験結果

評価パラメータ	検査結果	目標値等
(1) 選択性	妨害ピークなし	妨害ピークがないこと
(2) 真度(%)	98.2	70~120
(3) 併行精度(RSD%)	0.9	<25
(4) 室内精度(RSD%)	2.8	<30

3.3 LC-Q/TOFMSによる確認試験

対象試料の測定により得られたトータルイオンクロマトグラムから、AB SCIEX社製の解析ソフトSCIEX OS Softwareを用いてスルファメトキサゾール(分子式: C₁₀H₁₁N₃O₃S, モノアイソトピック質量: 253.052)のプロトン付加体(m/z 254.059)について抽出を行ったところ、保持時間約8分にピークが確認できた(図3)。

取得された対象試料のプロダクトイオンスペクトル(図4)を機器に収載されたNISTライブラリ中のスルファメトキサゾール測定データと比較したところ、ソフトの自動計算によるスペクトル一致率は93.8%であった。さらに、プロダクトイオンスペクトルについて解析を行ったところ、図5のとおり、スルホン基のα位で開裂が起こったFragment 1及び2の化合物と推察されるイオンが検出された(表4)。以上の結果から検出された化合物はスルファメトキサゾールと判断した。

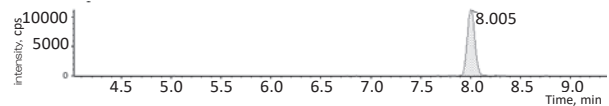


図3 対象試料のスルファメトキサゾール分子式での抽出イオンクロマトグラム

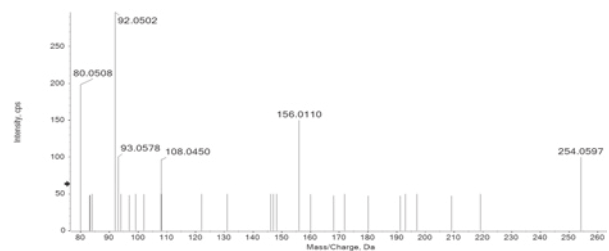


図4 対象試料のプロダクトイオンスペクトル

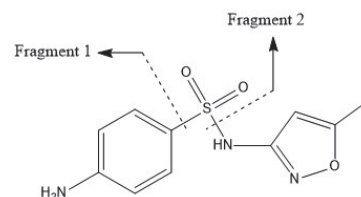


図5 対象試料のフラグメントイオン解析

表 4 対象試料の精密質量

	組成式	精密質量	
		理論値	対象試料 測定値
M+H	[C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S]+H	254.0594	254.0597
Fragment1	C ₆ H ₆ N	92.0495	92.0502
Fragment2	C ₆ H ₆ NO ₂ S	156.0114	156.0110

4 まとめ

平成 31 年 1 月, えびの収去検査において, ベトナム産のバナメイむきえび 1 検体から, スルファメトキサゾールが検出されたため, LC-MS/MS による対象試料を用いた繰返し試験を行った結果, 濃度平均値は 0.016 ppm で添加回収試験の結果も良好であった. えびでの試験法の妥当性評価を行った結果, 性能パラメータは目標値に

適合した. また LC-Q/TOFMS でのライブラリとの照合とプロダクトイオンの確認により, 対象試料から検出された化合物はスルファメトキサゾールと判断した.

文献

- 1) 厚生労働省通知食安発第 1115001 号: 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて, 平成 19 年 11 月 15 日
- 2) 厚生労働省通知食安発第 1224 第 1 号: 食品中に残留する農薬等に関する妥当性評価ガイドラインの一部改正について, 平成 22 年 12 月 24 日
- 3) 内山賢二, 他: LC-MS/MS による畜水産物中の動物用医薬品等の一斉試験法 (V), 福岡市保健環境研究所報, 37, 95-100, 2011