

食品中の残留農薬及び残留動物用医薬品の一斉分析法に関する研究（平成 24～26 年度）

## 畜水産物中の動物用医薬品一斉分析法の検討及び妥当性評価について

松淵亜希子 今野祿朗 珍田尚俊\*<sup>1</sup>

動物用医薬品 115 成分を対象に、より効率的な一斉分析法を構築するため、抽出操作や固相カラムによる精製等の検討を行った。抽出操作については簡略化のため、ガラスビーズと抽出溶媒を加えた使い捨て遠心管内での振とう抽出法を採用した。また、検討の結果、精製に用いる固相カラムは、オクタデシルシリル化シリカゲルが最適であり、溶出液には、酸性と塩基性の 2 種類の溶媒を使用する必要があった。

検討した分析法について、厚生労働省のガイドラインに基づき、7 食品（鶏肉、豚肉、牛肉、さけ、鶏卵、牛乳、はちみつ）の妥当性評価試験を実施した（添加濃度 0.01 及び 0.04 µg/g、分析者 2 または 3 名が 2 濃度添加試料を 1 日 2 試行、3 または 2 日間分析）。

ガイドラインの目標値を満たした成分の割合は、鶏肉、豚肉、牛肉、さけ、鶏卵で約 8 割、牛乳及びはちみつで約 9 割となり、概ね良好な結果が得られた。本法は高精度な迅速一斉分析法として有用と考えられた。

### 1. はじめに

抗生物質や駆虫薬等の動物用医薬品は、畜水産物の病気の治療や予防のために使用され、生産性の向上に寄与している。一方、適切に投与されずに畜水産食品へ残留した場合、ヒトへの健康被害や耐性菌の発現を引き起こす可能性がある。

動物用医薬品の規制は、平成 18 年からポジティブリスト制となり、規制対象品目が大幅に増加した。このため、多数の動物用医薬品を迅速かつ精度よく検出する一斉分析法が求められている。さらに食品衛生法の規格基準への適否の判断に用いる分析法については、厚生労働省のガイドライン<sup>1,2)</sup>に準じ、妥当性評価試験を行うことが必須となった。

当センターの動物用医薬品の検査は、通知法<sup>3)</sup>を改良した独自法<sup>4,5)</sup>で対応してきたが、一部操作が煩雑なことや精製が不十分なこと等の問題があった。そこで、一斉分析法の導入にあたり操作を効率化し、なおかつ精製効果を高めるため、抽出方法や固相カラムによる精製等について検討した。検討の結果、より迅速で高精度な新規一斉分析法を構築することができた。併せて妥当性評価試験を実施し、妥当性を確認したので報告する。

### 2. 方法

#### 2.1 試料

ガイドラインの例示を参考に、鶏肉、豚肉、牛肉、さけ、鶏卵、牛乳、はちみつの 7 種類を試料とした。

鶏肉、豚肉、牛肉は試料量に対して半量の水を加え、フードプロセッサーでペースト状になるまで磨砕均一化した。さけ、鶏卵は水を加えず、そのまま磨砕均一化した。牛乳、はちみつは最初から均質な状態であるため、そのまま用いた。

磨砕均一化した後、50 mL ポリプロピレン製遠心管に 5.0 g 相当量（はちみつ 2.0 g）になるように量り、-30℃で凍結保存した。使用する日の前日または当日に解凍した。

#### 2.2 対象成分

表 3 に示した、動物用医薬品 115 成分を対象とした。

#### 2.3 標準液及び試薬等

標準液は、市販の混合標準液と個別標準品を組み合わせで調製した。

混合標準液は林純薬株式会社（以下、林純薬）製の PL 動物薬 LC/MS Mix1（サルファ剤、葉酸

\*1 秋田県農林水産部水産振興センター資源部

合成拮抗剤), PL 動物薬 LC/MS Mix2 (キノロン剤) 各 20 µg/mL, 和光純薬株式会社 (以下, 和光純薬) 製の動物用医薬品混合標準液 (マクロライド), 動物用医薬品混合標準液 (ホルモン剤) 各 20 µg/mL を使用した。

個別標準品は, 和光純薬製のベンジルペニシリン, アンピシリン, オキサシリン, ジクロキサシリン, セファピリン, セファゾリン, セフォペラゾン, ミロサマイシン, ジョサマイシン, フェベンダゾール, フェバンテル, オクスフェンダゾール, オクスフェンダゾールスルホン, プラジクアンテル, モランテル, フルベンダゾール, オキシベンダゾール, トリクラベンダゾール, トリクラベンダゾールオキソン, チアベンダゾール, 5-ヒドロキシチアベンダゾール, メベンダゾール, レバミゾール, クロピドール, ベンゾカイン, アザペロン, プロチゾラム, キシラジン, トルフェナム酸, メロキシカム, ケトプロフェン, カルプロフェン, フルニキシン, ヒドロコルチゾン, ベタメタゾン, クロルマジノン, 酢酸メレンゲステロール, ノボビオシン, リンコマイシン, リファキシミン, メンブトン, トリペレナミン, ファムフル, エトバペート, ロキササルゾン, セファロニウム, セフキノム, フェノキシメチルペニシリン, クロキサシリン, セフキノム, クロラムフェニコール, フロルフェニコール, チアムフェニコール, オキシクロザニド, クロルスロン, ジニトルミド, ジクラズリル, 林純薬製のマホプラジン, 関東化学株式会社製のメシリナム, ナフシリン, オレアンドマイシン, ナイカルバジン, 畜水産品残留安全協議会製のアルトレノゲスト, バージニアマイシン, プリフィニウムを使用した。これらの個別標準品はアセトニトリル, N,N-ジメチルホルムアミド等を用いて 200~500 µg/mL に調製した。

全ての混合標準液と個別標準液と合わせ, 1 µg/mL となるようにアセトニトリルで希釈し, 混合標準液とした。

溶媒は, 和光純薬製のアセトニトリル (残留農薬分析用及び LC/MS 用, 以下 MeCN), メタノール (残留農薬分析用, 以下 MeOH), 水 (LC/MS 用), N,N-ジメチルホルムアミド (Infinity Pure) を用いた。試薬は和光純薬製の酢酸アンモニウム (特級), ぎ酸 (LC/MS 用),

25%アンモニア水 (特級) を用いた。

精製用カラムは, GL サイエンス株式会社製のオクタデシルシリル化シリカゲルカラム (InertSep C18; 500 mg/6mL, 1000 mg/6mL, 以下 C18 カラム), アミノプロピルシリル化シリカゲルカラム (InertSep NH2; 500 mg/6 mL, 以下 NH2 カラム), エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルカラム (InertSep PSA; 500 mg/6mL, 以下 PSA カラム) を用いた。除粒子用メンブランフィルターは ADVANTEC 社製 DISMIC (孔径 0.2 µm, 親水性 PTFE) を用いた。ガラスビーズはアズワン社製の直径 2.5~3.5 mm のものを用いた。

## 2.4 器具及び装置

フードプロセッサーは日立製作所製日立ッキングカッターFV-F3, 高速ホモジナイザーは DREMEL 社製 MH-1000 を用いた。遠心分離機は日立工機製 himacCR20GIII, Sigma 社製 Sigma 1-15K を用いた。アルミブロック恒温槽は, EYELA 製 MG-2100 を用いた。

LC-MS/MSは Agilent Technologies 社製 Agilent 1100 (高速液体クロマトグラフ) 及び Sciex 社製 API4000 (質量分析装置) を用いた。

## 2.5 測定条件

分析カラムは, 化学物質評価研究機構製の L-column 2 (2.1 mm i.d×150 mm, 粒子径 3 µm) を使用した。

移動相は, A 液に 0.1%ぎ酸水溶液, B 液に MeCN を使用した。カラム温度は 40°C, 流速は 0.2 mL/min, 注入量は 10 µL とした。

イオン化法は ESI によるポジティブ (Positive) 及びネガティブモード (Negative) で行い, 分析モードは Scheduled Multiple Reaction Monitoring (Scheduled MRM) とした。

イオンスプレー電圧は 5 kV (Positive), -4 kV (Negative) とし, イオン源温度は 500°C (Positive), 400°C (Negative) とした。

HPLC のグラジエント条件は, Positive : 0 min (B 液 5%) →1 min (25%) →3 min (25%) →12 min (65%) →14 min (65%) →18 min (95%) →21 min (95%) →21.5 min (5%) →30 min (5%), Negative : 0 min (B 液 5%) →0.5 min (5%) →1 min (40%) →3 min (40%) →10 min (95%)

→15 min (95%) →15.1 min (5%) →25 min (5%)  
とした。

MRM 条件は 50~100 ng/mL の範囲で調製した各対象成分の標準溶液をシリンジポンプを用いて直接 MS/MS に注入し、自動最適化により決定した。自動最適化の結果、感度が最も良好であったイオンを選択し、定量用イオンに設定した(表3)。

## 2.6 試験溶液の調製

試験溶液の調製法を図 1-1, 1-2 に示す。

### 2.6.1 鶏肉, 豚肉, 牛肉, さけ, 鶏卵, 牛乳の調製

試料にガラスビーズ約 3 g, MeCN/0.1% ぎ酸水溶液 (9:1) 混液 20 mL (鶏卵は MeCN/0.1% ぎ酸水溶液 (7:3) 混液 15 mL, 牛乳は MeCN 15 mL) を加え、手で 1 分間激しく振とうした。振とう後、遠心分離 (1300×g, 5 分間, 10°C) を行い、上清を 50 mL 容メスフラスコ (鶏卵, 牛乳は 25 mL 容) に移した。残留物に上記の混液 15 mL (鶏卵, 牛乳は各液 7 mL) を加え、振とう及び遠心分離を行い、上清を合わせた。これに pH 調整のための 1M 酢酸アンモニウム水溶液 200 μL を加え、MeCN で 50 mL (鶏卵, 牛乳 : 25 mL) に定容した。

鶏肉, 豚肉, 牛肉, さけについては定容した抽出液は濁りがみられたため、約 6 mL を別に採り、遠心分離 (1300×g, 5 分間, 10°C) を行い、透澄な液を得た。次に透澄な液 5 mL を 1 mL メス付きガラス試験管に移し、窒素気流下で濃縮し、MeCN で 1 mL に定容した。

鶏卵, 牛乳は、約 4 mL を別に採り、遠心分離を行い透澄な液を得た。

C18 カラム (1000 mg) に、MeCN 5 mL, MeCN/水 (4:1) 混液 5 mL を順に注入し、コンデショニングを行った。これに定容した上清のうち、試料 0.4 g 相当の 0.8 mL (鶏卵, 牛乳 : 2 mL) を負荷した。0.2% ぎ酸含有 MeCN/水 (4:1) 混液 7 mL, 0.5% アンモニア含有 MeCN/水 (4:1) 混液 3 mL を順に注入し、全てのろ液を 2 mL メス付きガラス試験管に回収した。回収したろ液に 1 M 酢酸アンモニウム水溶液 100 μL を加え、窒素気流下、1 mL 以下まで濃縮した。

濃縮したろ液に、MeCN 600 μL を加え、さら

に水で 2 mL に定容した。これをフィルターに通し、試験溶液とした。定容後、試験溶液が白く濁る場合は、遠心分離 (10,000×g, 10 分間, 0°C) を行い、得られた透澄な液をフィルターに通し、試験溶液とした。

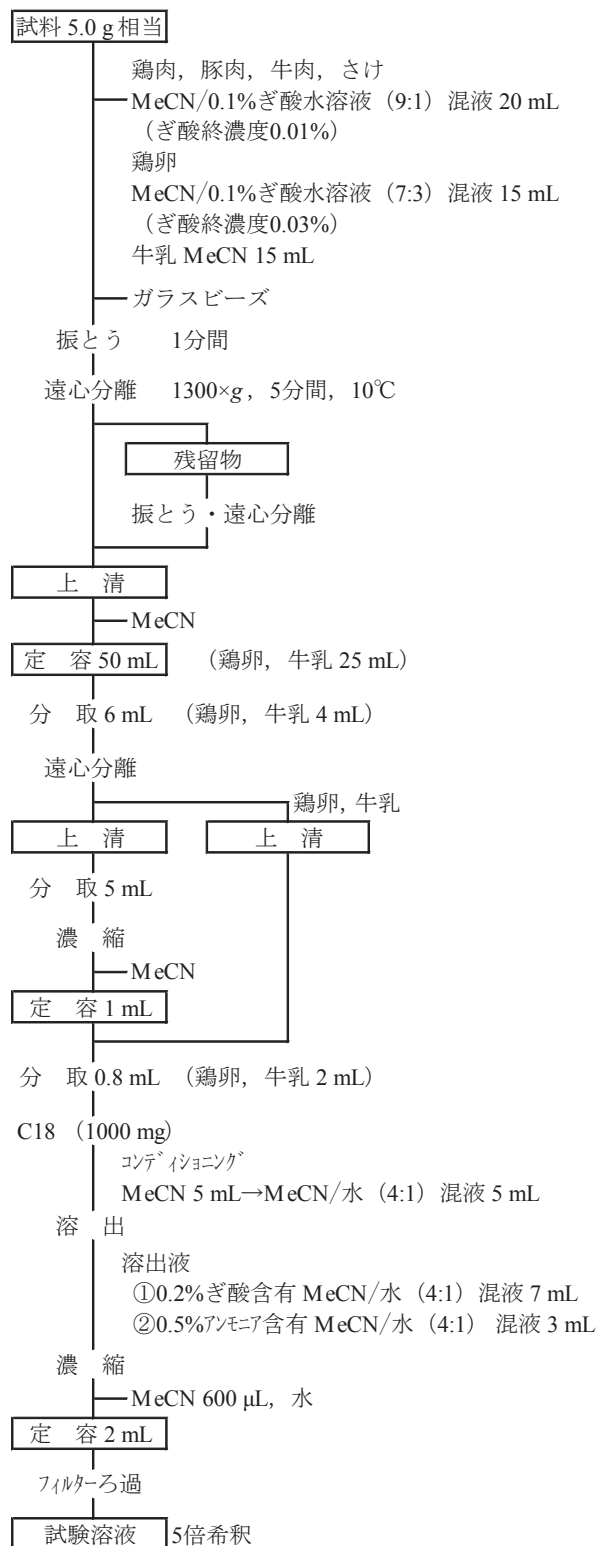


図 1-1 試料溶液の調製フロー

## 2.6.2 はちみつの調製

試料に 30 mM 酢酸アンモニウム水溶液 8 mL を加え、完全に溶解するまで手で激しく振とうし、上記の水溶液で 10 mL に定容した。これを全量別に採り、遠心分離（1300×g, 5 分間, 10 °C）を行い、透澄な液を得た。

C18 カラム（500 mg）に、MeCN 3 mL, 水 6 mL を順に注入し、コンディショニングを行った。これに上記の液 2.0 mL（試料 0.4 g 相当）を負荷し、溶出液を捨てた。さらに水 3 mL を注入し溶出液を捨てた。

0.2% ぎ酸含有 MeCN/水（4:1）混液 5 mL, 0.5% アンモニア含有 MeCN/水（4:1）混液 2 mL を順に注入し、全てのろ液を 2 mL メス付きガラス試験管に回収した。回収したろ液に 1 M 酢酸アンモニウム水溶液 100 μL を加え、窒素気流下、1 mL 以下まで濃縮した。濃縮したろ液に、MeCN 600 μL を加え、さらに水で 2 mL に定容した。これをフィルターを通し、試験溶液とした。

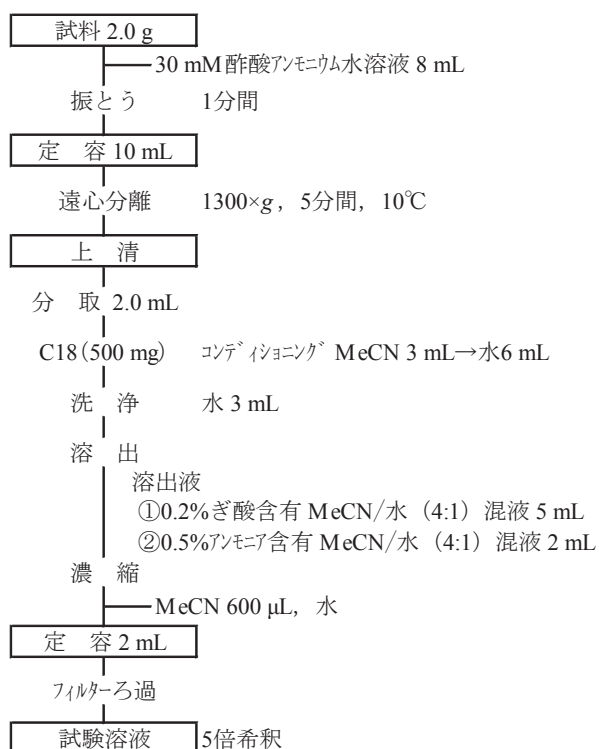


図 1-2 試料溶液の調製フロー（はちみつ）

## 2.7 定量法

検量線はマトリックス添加検量線とし、濃度範囲は 0, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20 ng/mL とした。混合標準溶液 20 μL を 1 mL メスフラスコに採り、対象成分を添加していない各食品の試験溶

液（以下マトリックス溶液）を用いて定容し 20 ng/mL 液とした。この 20 ng/mL 液をマトリックス溶液で 10, 5, 1 ng/mL となるように希釈した。さらに 1 ng/mL 液を 0.5, 0.1 ng/mL となるように希釈した。0 ng/mL はマトリックス溶液を用いた。全ての成分で良好な直線性 ( $r = 0.99$  以上) が得られた。

異性体混合物のチルミコシンとモランテル、各異性体が単独の  $\alpha$ -トレンボロンと  $\beta$ -トレンボロンについては、今回のグラジエント条件では、各ピークが近接しているため、まとめて 1 ピークとして定量した。

## 2.8 妥当性評価試験

妥当性評価試験は、ガイドライン及び当センターの業務管理規定に準拠した。

添加濃度は 2 濃度とし、混合標準液を試料中濃度が 0.01 及び 0.04 μg/g となるように各試料に添加し、30 分以上経過してから試料の前処理を行った。

妥当性評価試験は、分析者 3 名が 2 試行 2 日間（鶏肉、豚肉、鶏卵、牛乳、はちみつ）及び分析者 2 名が 2 試行 3 日間（牛肉、さけ）分析する計画により実施した。得られた結果は、Microsoft Excel を用いて一元配置の分散分析による解析を行い、真度、併行精度、室内精度を求めた。

選択性については、食品毎のブランク試料のピーク面積が、添加濃度 0.01 μg/g に対応する濃度の標準液（2 ng/mL）から得られるピーク面積の 1/3 未満であることを条件とした。

定量限界は  $S/N \geq 10$  となる検量線（食品毎のマトリックス添加検量線）の最小濃度とし、添加濃度 0.01 μg/g 以下であることを条件とした。

## 3. 結果及び考察

### 3.1 抽出溶媒の検討

動物用医薬品の抽出溶媒には、MeCN や MeOH, 水との混液で使用されることが多い<sup>3,6~9)</sup>。今回の対象成分のうち  $\beta$ -ラクタム及びセフェム系抗生物質において、MeOH 中で分解がみられたため、MeCN を用いることにした。ただし、MeCN のみではタンパク質が凝固し、抽出操作に支障が生じたため、水を混ぜることにした。

また、除タンパク効果を上げるため、不揮発性のメタリン酸の代わりにぎ酸を用いた<sup>10)</sup>。酸の濃度は0.1~1%前後で調製される例が多いが<sup>11,12)</sup>、酸性下で不安定な成分があるため<sup>13,14)</sup>低濃度の方の0.1%とした。

次に、組成の異なる MeCN と 0.1%ぎ酸水溶液の混液をいくつか調製し、それらを鶏肉と鶏卵に加え、高速ホモジナイザーによる攪拌を試みた。その結果、鶏肉 9:1、鶏卵 7:3 のとき、十分な攪拌ができた。牛乳は水分が多く、MeCN のみで十分な攪拌ができた。

はちみつについては、MeCN-水混液を加えると、主成分の糖類が固化するため<sup>15)</sup>、30 mM 酢酸アンモニウム水溶液 (pH6) を用いることにした。

各溶媒での抽出効率を確認するため、鶏肉、鶏卵、牛乳の各 5 g に混合標準液を 0.2 µg/g とするよう添加し、回収試験を実施した (各 n=1)。

攪拌抽出を 2 回行い (鶏肉 : 20 mL×2, 鶏卵, 牛乳 : 15, 7 mL), 水で 40 倍に希釈した試験溶液を測定した。結果を図 2 に示す。3 試料とも 8 割以上の成分で回収率 70~120%内であった。

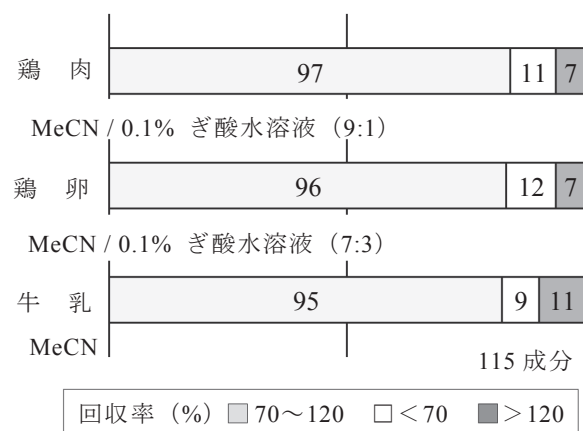


図 2 各抽出溶媒による回収試験結果 (n=1)

### 3.2 精製の検討

畜水産物に多く含まれる脂質を効率よく除去するため、固相カラムでの精製方法を検討した。固相カラムには C18, PSA, NH2 カラム (各 500 mg) を選択し<sup>3,16)</sup>、目的成分を効率よく回収するため、組成の異なる 8 種の溶出液を調製し、溶出試験を行った (各 n=1)。

20 ng/mL に希釈した混合標準液 1 mL を各カラムに負荷し、各溶出液 5 mL を注入した。次に、溶出したろ液を濃縮し、水で 2 mL に定容したものを測定した。結果を図 3 に示す。

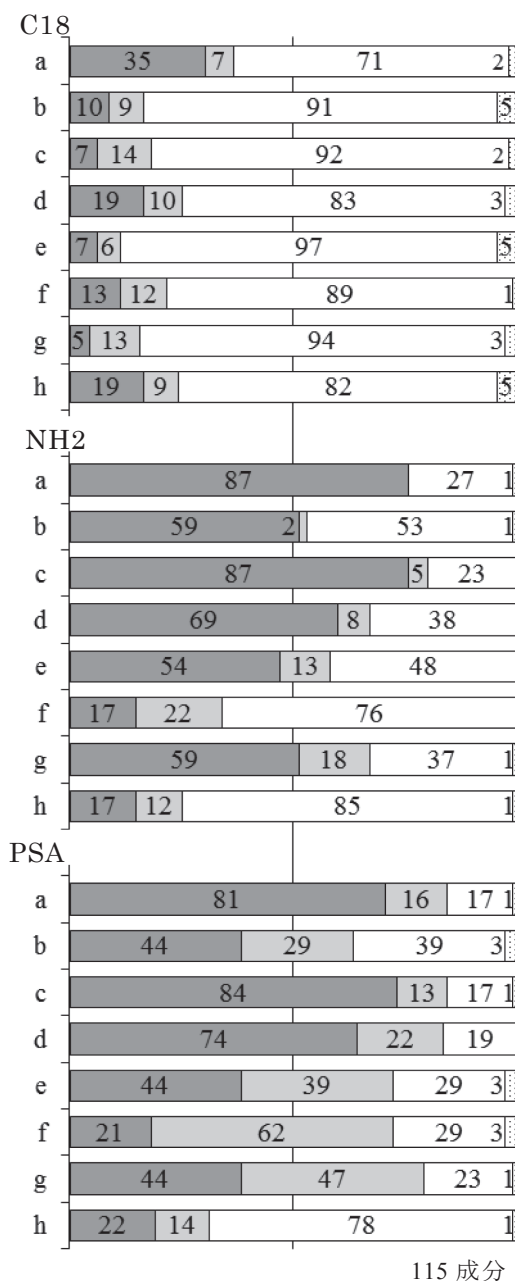


図 3 各固相カラムの溶出試験結果 (n=1)

- a MeCN
- b MeCN / 水 (4:1) 混液
- c 0.2% ぎ酸含有 MeCN
- d 0.5% アンモニア含有 MeCN
- e 0.2% ぎ酸含有 MeCN / 水 (4:1) 混液
- f 0.5% アンモニア含有 MeCN / 水 (4:1) 混液
- g 0.02% ぎ酸含有 MeCN / 水 (4:1) 混液
- h 2% アンモニア含有 MeCN / 水 (4:1) 混液

3 種のカラムのうち、C18 カラムで溶出液 MeCN-水混液の場合に、最も多くの目的成分を溶出できた。弱陰イオン交換相の NH2 及び PSA カラムでは吸着が起き、溶出されない成分が多くあった。

C18 カラムにおいては、0.2% ぎ酸含有アセトニトリル/水 (4:1) 混液 (e 液) による溶出が最も良好であった。一方、エリスロマイシン等の数個の成分では、塩基性のアンモニア含有 MeCN/水 (4:1) 混液 (f, h 液) による溶出の方が良好であった。

したがって、固相は C18 カラムを用い、e 及び f 液の 2 液で溶出することにした。また精製効果を上げるため、充填量 1000 mg を用いることにした。

はちみつの場合には、脂質を含まず糖分が多いため<sup>17)</sup>、C18 (500 mg) に一旦目的成分を保持させ、水 3 mL で糖分を洗浄してから、e 及び f 液で溶出することにした。洗浄水 3 mL では、溶出する目的成分が無いことを確認した。

### 3.3 抽出方法の省力化の検討

高速ホモジナイザーによる攪拌抽出 (以下、攪拌抽出) では、試料毎の刃の洗浄に労力を要する。また洗浄が不十分であるとコンタミネーションや測定値のばらつきのある恐れがある。そこで、抽出工程の省力化のため、使い捨ての遠心管に試料を採り、溶媒とガラスビーズを加え、手で激しく振とうする方法 (以下、振とう抽出) を検討し、各方法の抽出効率を比較した。

牛肉、さけに混合標準液を 0.01  $\mu\text{g/g}$  となるように添加し、MeCN/0.1% ぎ酸水溶液 (9:1) 混液を加え、各抽出方法を 2 回繰り返した。次に各抽出液を実験方法 2.6.1 に従って調製し、回収試験を行った (各試料及び方法 n=3)。結果を図 4 に示す。

牛肉、さけともに振とう抽出の方が、平均回収率 70~120%、相対標準偏差 (RSD%) 25% 未満を満たした成分が多かった。回収率 50~70% の成分を合わせると 9 割以上で RSD25% 未満であった。したがって、より操作が簡便な振とう抽出を行うことにした。

### 3.4 検量線の検討

調製した試験溶液に残留する夾雑成分の影響を確認するため、絶対検量線とマトリックス添加検量線による定量結果を比較した。

牛乳 5 g に、混合標準液を 0.01 及び 0.04  $\mu\text{g/g}$  となるように添加し、実験方法 2.6.1 に従って調製した試験溶液を測定した (各濃度 n=3)。

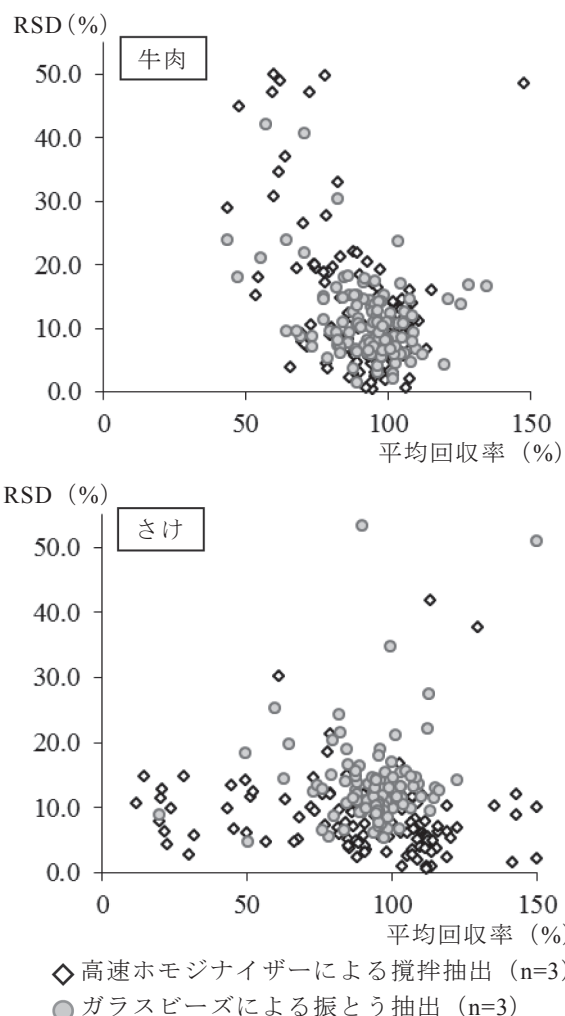


図 4 攪拌及び振とう抽出による各成分の分布

2 濃度で回収率 70~120%、RSD% < 25 (0.01  $\mu\text{g/g}$ ) 及び < 15 (0.04  $\mu\text{g/g}$ ) であったのは、マトリックス添加検量線が 104 成分、絶対検量線が 93 成分であった。このことから、夾雑成分の影響を補正する必要があると考えられたため、マトリックス添加検量線を用いることにした。

### 3.5 妥当性評価試験

7 食品を対象に、検討した分析法の妥当性評価試験を実施した。結果を表 1 のとおり A~E に分類した。食品別の結果を表 2 に、成分別の結果を表 3 に示す。

分類は、A (2 濃度で真度、精度の目標値を満たし適合する場合)、B (高濃度添加で真度、精度の目標値を満たす)、B' (低濃度添加で真度、精度の目標値を満たす)、C (2 濃度で真度 50% 以上 70% 未満、精度が目標値を満たす)、D (A, B, B', C 以外)、E (測定不能) とした。

評価 A の割合は、鶏肉、豚肉、牛肉、さけ、

表 1 評価分類

評価	条 件
A	2 濃度で目標値を満たし適合する場合
	真度 (%) : $70 \leq \sim \leq 120$
	精度 (%) : $< 25, < 30$ (0.01 $\mu\text{g/g}$ )
	併行, 室内 $< 15, < 20$ (0.04 $\mu\text{g/g}$ )
B	0.04 $\mu\text{g/g}$ のみ目標値を満たす
	真度 (%) : $70 \leq \sim \leq 120$
	精度 (%) : $< 15, < 20$
	併行, 室内
B'	0.01 $\mu\text{g/g}$ のみ目標値を満たす
	真度 (%) : $70 \leq \sim \leq 120$
	精度 (%) : $< 25, < 30$
	併行, 室内
C	2 濃度ともに以下の条件を満たす
	真度 (%) : $50 \leq \sim < 70$
	精度 (%) : $< 25, < 30$ (0.01 $\mu\text{g/g}$ )
	併行, 室内 $< 15, < 20$ (0.04 $\mu\text{g/g}$ )
D	A, B, B', C 以外
	2 濃度またはどちらかの濃度で, 次のいずれかに 1 つでも該当
	真度 (%) : $< 50, 120 <$
	精度 (%) : $25 \leq, 30 \leq$ (0.01 $\mu\text{g/g}$ ) 併行, 室内 $15 \leq, 20 \leq$ (0.04 $\mu\text{g/g}$ )
E	測定不能
	・検量線の直線性が無い
	・ブランクピークが大きく選択性が低い
	・定量限界が許容範囲外

※ A~D は選択性, 定量限界の条件を満たす

鶏卵で約 8 割, 牛乳及びはちみつで約 9 割となり, 概ね良好な結果が得られた。7 食品にわたり評価 A となったのは, 115 成分中 66 成分であった。

全体的に評価 A の次に評価 D の割合が高く, 評価 B, C は低い傾向であった。E に該当したのは, 豚肉のセファピリンのみであり, ブランクピークが大きく選択性や定量下限に問題があった。

はちみつは, 評価 D, E の成分がなく, 特に良好な結果であった。これは LC-MS/MS 測定の妨害となる脂肪を含んでいないためと考えられた。

鶏卵では, 評価 B' の割合が評価 A に次いで高かった。該当する成分をくわしくみると, すべて高濃度添加の室内精度が外れていた。他のほとんどの成分は, 併行・室内精度を満たしており, 今回の室内精度の逸脱は偶然に起きたと考えられる。

評価 C, D に該当する成分は, 複数の食品にわたっている場合が多く, 特にミロキサシン,

表 2 妥当性評価試験結果 (食品別)

	A	B	B'	C	D	E	Total
鶏 肉	98* (85)**	0	1 (1)	0	16 (14)	0	115
豚 肉	92 (80)	1 (1)	1 (1)	7 (6)	13 (11)	1 (1)	115
牛 肉	97 (84)	1 (1)	5 (4)	3 (3)	9 (8)	0	115
さ け	98 (85)	2 (2)	5 (4)	0	10 (9)	0	115
鶏 卵	90 (78)	2 (2)	12 (10)	1 (1)	10 (9)	0	115
牛 乳	108 (94)	0	1 (1)	1 (1)	5 (4)	0	115
はちみつ	110 (96)	1 (1)	2 (2)	2 (1)	0	0	115

\* : 各評価に該当する成分数

\*\* : 全対象成分に対する割合 (%)

トリクラベンダゾール, ロキサソロン, オキシクロザニドが顕著であった。これらの成分については, 適用可能な濃度範囲や追加精製等の検討が必要と考えられた。

#### 4. まとめ

畜水産物を対象に, 動物用医薬品 115 成分の一斉分析法を検討した。抽出溶媒, 固相カラムによる精製等の検討を行い, より迅速で高精度な一斉分析法を構築した。

構築した分析法について, 7 食品 (鶏肉, 豚肉, 牛肉, さけ, 鶏卵, 牛乳, はちみつ) を対象に, 妥当性評価試験を実施した。適合した成分の割合は, 鶏肉, 豚肉, 牛肉, さけ, 鶏卵で約 8 割, 牛乳及びはちみつで約 9 割となり, 概ね良好な結果が得られた。本法は高精度な迅速一斉分析法として有用であると考えられた。

今後は, 不適合となった成分の再検討や, 今回測定対象としなかった成分について本法の適用を拡大する予定である。

#### 参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 : 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, 食安発第 115001 号。
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 : 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の一部改正について,

- 平成 22 年 12 月 24 日, 食安発第 1124 第 1 号.
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知: 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について, 「HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 I ~ III (畜水産物)」, 平成 17 年 1 月 24 日, 食安発第 0124001 号.
  - 4) 松渕亜希子他: LC-MS/MS を用いた畜水産物中の動物用医薬品一斉分析における固相抽出及びリン脂質クリーンアップ法の検討, 秋田県健康環境センター年報, **7**, 2011, 70-82.
  - 5) 松渕亜希子他: LC-MS/MS を用いたハチミツ中の動物用医薬品一斉分析法の検討, 秋田県健康環境センター年報, **7**, 2011, 83-90.
  - 6) 和久田俊裕他: 液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計 (LC/MS/MS) を用いた畜水産食品中の動物用医薬品迅速分析法の検討 (第 1 報), 熊本県保健環境科学研究所報, 第 39 号, 2009, 39-44.
  - 7) 堀江正一他: 微生物学的試験法による畜水産物中に残留する抗菌性物質の高感度測定法, 分析化学, **56**, 12, 2007, 1097-1103.
  - 8) 長南隆夫他: HPLC による畜水産食品中のキノロン剤の一斉分析法, 食品衛生学雑誌, **49**, 3, 2008, 244-248
  - 9) 山口貴弘他: 分散固相および固相カートリッジカラムを用いた LC-MS/MS による食肉中の動物用医薬品一斉分析法, 食品衛生学雑誌, **54**, 4, 2013, 290-297.
  - 10) 吉田絵美子他: 加工食品中の動物用医薬品迅速一斉試験法の検討, 食品衛生学雑誌, **52**, 1, 2011, 59-65.
  - 11) 堀江正一他: LC-MS/MS による畜水産食品中のニトロフラゾンの定量, 食品衛生学雑誌, **49**, 3, 2008, 204-210.
  - 12) 林洋他: HPLC による畜産食品中のシロマジン分析法, 東京都健康安全研究センター年報, **57**, 2006, 187-191.
  - 13) 畑野和弘: LC/MS/MS による乳及び乳製品中のペニシリン系抗生物質の迅速同時定量, 福岡市保健環境研究所報, **28**, 2002, 79-83.
  - 14) 竹上晴美他: 高速液体クロマトグラフィー/質量分析法による乳中のマクロライド系抗生物質の定量, 分析化学, **55**, 9, 2006, 651-659.
  - 15) 西村修一他: LC-MS/MS によるハチミツ中の残留動物用医薬品等の一斉分析, 鹿児島県環境保健センター所報, **8**, 2007, 125-130.
  - 16) 近藤貴英他: 分散固相抽出および多機能カラムを用いた GC-MS/MS による畜産物中の残留農薬一斉分析法, 食品衛生学雑誌, **53**, 2, 2012, 75-84.
  - 17) 五訂増補日本食品標準成分表



表3 妥当性評価試験結果（成分別）

No.	対象成分名	RT <sup>1)</sup> (min)	モニターイオン (m/z)	鶏肉	豚肉	牛肉	さけ	鶏卵	牛乳	はちみつ	各評価の分布 <sup>2)</sup>							
											A	B	B'	C	D	E		
Positive																		
1	Cephapirin	5.8	424.2	> 292.2	D	E	D	D	A	A	A	3	0	0	0	3	1	
2	5-Hydroxythiabendazole	5.8	218.0	> 191.0	A	A	D	B'	C	A	A	4	0	1	1	1	0	
3	Sulfisomidine	5.9	279.1	> 124.0	A	A	B'	B'	A	A	A	5	0	2	0	0	0	
4	Lincomycin	5.9	407.2	> 126.0	A	A	D	D	A	D	A	4	0	0	0	3	0	
5	Lebamisole	6.0	205.1	> 178.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
6	Cefquinome	6.0	529.2	> 134.0	A	A	D	D	D	D	A	3	0	0	0	4	0	
7	Ampicillin	6.1	350.1	> 106.3	A	A	D	D	A	A	A	5	0	0	0	2	0	
8	Diaveridine	6.1	261.1	> 245.1	A	A	B'	A	A	A	A	6	0	1	0	0	0	
9	Thiabendazole	6.1	202.1	> 175.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
10	Norfloracin	6.2	320.1	> 276.1	A	A	B'	B'	A	A	A	5	0	2	0	0	0	
11	Ofloxacin	6.2	362.1	> 318.3	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
12	Ciprofloxacin	6.2	332.1	> 288.2	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
13	Marbofloxacin	6.2	363.1	> 72.1	A	A	B'	B'	A	A	A	5	0	2	0	0	0	
14	Trimethoprim	6.2	291.1	> 230.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
15	Clopidol	6.2	192.0	> 101.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
16	Danofloxacin	6.3	358.2	> 340.2	A	A	A	A	B'	A	A	6	0	1	0	0	0	
17	Ormetoprim	6.4	275.1	> 259.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
18	Neospiramycin I	6.5	350.3	> 174.3	A	C	C	A	A	A	A	5	0	0	2	0	0	
19	Enrofloxacin	6.5	360.2	> 316.3	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
20	Sulfadiazine	6.5	251.1	> 155.9	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
21	Cephalonium	6.5	459.1	> 337.1	A	A	A	D	D	D	A	4	0	0	0	3	0	
22	Sulfathiazole	6.6	256.1	> 155.9	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
23	Mecillinam	6.7	326.2	> 167.2	A	A	A	D	A	A	A	6	0	0	0	1	0	
24	Orbifloxacin	6.7	396.1	> 352.2	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
25	Azaperone	6.7	328.1	> 165.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
26	Sulfapyridine	6.8	250.1	> 156.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
27	Spiramycin I	6.9	422.4	> 174.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
28	Sarafloxacin	7.0	386.1	> 342.2	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
29	Xylazine	7.0	221.1	> 90.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
30	Difloxacin	7.1	400.1	> 356.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
31	Sulfamerazine	7.1	265.1	> 155.9	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
32	Morantel	7.3	221.1	> 123.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
33	Cefazolin	7.5	455.1	> 323.2	A	A	D	D	B'	A	A	4	0	1	0	2	0	
34	Tripelennamine	7.7	256.2	> 211.2	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
35	Sulfadimidine	7.8	279.1	> 186.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
36	Sulfamonomethoxine	7.9	281.2	> 156.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
37	Sulfisozole	8.3	240.0	> 156.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
38	Pyrimethamine	8.5	249.1	> 233.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
39	Mafofrazine	8.6	402.2	> 193.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
40	Tilmicosin (cis,trans)	8.7	869.7	> 174.0	A	A	A	A	B'	A	A	6	0	1	0	0	0	
41	Sulfamethoxypyridazine	8.7	281.2	> 155.9	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
42	Cefoperazone	8.9	646.1	> 530.3	A	B'	A	A	D	A	A	5	0	1	0	1	0	
43	Oxibendazole	8.9	250.1	> 218.1	A	C	A	A	A	A	A	6	0	0	1	0	0	
44	Sulfachloropyridazine	9.2	285.1	> 155.9	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
45	Oxfendazole	9.3	316.1	> 159.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
46	Mirosamicin	9.6	728.4	> 158.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
47	Oleandomycin	9.7	688.4	> 158.2	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
48	Sulfadoxine	9.7	311.2	> 155.9	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
49	Sulfamethoxazole	9.8	254.1	> 156.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
50	Sulfaethoxyypyridazine	9.8	295.0	> 156.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	

表3 続き

No.	対象成分名	RT <sup>1)</sup> (min)	モニターイオン (m/z)	鶏肉	豚肉	牛肉	さけ	鶏卵	牛乳	はちみつ	各評価の分布 <sup>2)</sup>					
											A	B	B'	C	D	E
51	Sulfatroxazole	9.9	268.1 > 156.0	B'	B	A	A	A	A	A	5	1	1	0	0	0
52	Erythromycin	10.1	734.5 > 158.2	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
53	Sulfisoxazole	10.2	268.1 > 156.0	A	A	A	A	B	A	A	6	1	0	0	0	0
54	Roxarson	10.2	263.9 > 245.8	D	D	D	A	D	D	B'	1	0	1	0	5	0
55	Miloxacin	10.3	263.9 > 215.2	D	D	D	A	D	D	B'	1	0	1	0	5	0
56	Oxolinic acid	10.4	262.2 > 216.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
57	Tylosin	10.5	916.6 > 174.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
58	Sulfabenzamide	10.9	277.1 > 156.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
59	Prednisolone	10.9	361.3 > 147.1	A	A	A	A	B'	A	A	6	0	1	0	0	0
60	Ethopabate	10.9	238.1 > 206.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
61	Kitasamycin	11.0	772.4 > 109.3	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
62	Tiamulin Fumarate	11.0	494.4 > 192.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
63	Sulfadimethoxine	11.1	311.2 > 156.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
64	Sulfaquinoxaline	11.1	301.2 > 156.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
65	Hydrocortisone	11.1	363.3 > 327.3	A	A	B	B'	A	A	A	5	1	1	0	0	0
66	Prifinium	11.1	306.3 > 86.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
67	Oxfendazole sulfone	11.4	332.1 > 300.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
68	Mebendazole	11.6	296.1 > 264.1	A	C	A	A	A	A	A	6	0	0	1	0	0
69	Josamycin	11.9	828.6 > 174.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
70	Benzocaine	11.9	166.0 > 138.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
71	Benzylpenicillin	12.0	335.1 > 160.1	A	A	A	A	B'	A	A	6	0	1	0	0	0
72	Methylprednisolone	12.0	375.1 > 356.9	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
73	Flubendazole	12.2	314.1 > 282.1	D	C	A	A	A	A	A	5	0	0	1	1	0
74	Betamethasone	12.2	393.2 > 373.1	A	A	A	A	B'	A	B	5	1	1	0	0	0
75	Nalidixic acid	12.4	233.2 > 215.2	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
76	Flumequine	12.7	262.2 > 202.2	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
77	Sulfabromomethazine	12.9	357.0 > 92.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
78	Trenbolone (α,β)	13.0	271.2 > 253.2	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
79	Oxacillin	13.4	402.2 > 160.1	A	A	A	A	B'	A	A	6	0	1	0	0	0
80	Fenbendazole	13.4	300.1 > 268.1	D	D	A	D	A	A	A	4	0	0	0	3	0
81	Virginiamycin	13.4	526.3 > 337.1	A	A	A	A	B'	A	A	6	0	1	0	0	0
82	Brotizolam	13.6	392.9 > 314.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
83	Piromidic acid	13.8	289.2 > 243.2	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
84	Menbutone	14.0	259.3 > 159.1	A	A	A	A	B'	A	A	6	0	1	0	0	0
85	Nafcillin	14.4	415.3 > 199.2	A	A	A	A	B'	A	A	6	0	1	0	0	0
86	Ketoprofen	14.4	255.2 > 209.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
87	Praziquantel	14.5	313.2 > 203.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
88	Meloxicam	14.8	352.0 > 115.0	A	A	C	A	B	A	A	5	1	0	1	0	0
89	Dicloxacillin	15.1	470.1 > 160.1	A	A	A	A	B'	A	A	6	0	1	0	0	0
90	Flunixin	15.3	297.1 > 279.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
91	Triclabendazole Oxon	15.5	329.0 > 167.9	D	D	A	A	B'	A	A	4	0	1	0	2	0
92	Famphur	15.6	326.0 > 93.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
93	Rifaximin	15.7	786.4 > 754.4	A	C	B'	A	D	A	A	4	0	1	1	1	0
94	Altrenogest	15.8	311.4 > 227.1	D	D	C	A	A	B'	A	3	0	1	1	2	0
95	Carprofen	16.0	274.1 > 228.0	D	D	A	A	D	A	A	4	0	0	0	3	0
96	Clostebol	16.2	323.0 > 143.0	A	C	A	A	A	A	A	6	0	0	1	0	0
97	Febantel	17.1	447.1 > 415.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0
98	Novobiocin	17.8	613.3 > 189.0	D	D	A	D	D	A	A	3	0	0	0	4	0
99	Triclabendazole	18.4	358.9 > 344.0	D	D	A	D	D	A	C	2	0	0	1	4	0
100	Chlormadinone	18.4	405.2 > 345.1	D	D	A	A	A	A	A	5	0	0	0	2	0
101	Melengestrol acetate	18.4	397.2 > 337.3	D	C	A	A	A	A	A	5	0	0	1	1	0
102	Tolfenamic Acid	19.2	262.1 > 209.1	D	D	A	A	A	A	A	5	0	0	0	2	0

表3 続き

No.	対象成分名	RT <sup>1)</sup> (min)	モニターイオン ( <i>m/z</i> )								各評価の分布 <sup>2)</sup>						
				鶏肉	豚肉	牛肉	さけ	鶏卵	牛乳	はちみつ	A	B	B'	C	D	E	
Negative																	
103	Thiamphenicol	6.2	353.9 > 185.1	A	A	D	B	A	A	A	5	1	0	0	1	0	
104	Cefuroxime	6.7	423.0 > 206.9	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
105	Florfenicol	7.4	355.8 > 184.9	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
106	Dinitolmide	7.4	224.0 > 180.9	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
107	Chloramphenicol	7.6	321.0 > 152.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
108	Clorsulon	7.8	379.8 > 343.9	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
109	Sulfanitran	8.9	334.1 > 136.1	A	A	A	B	A	A	A	6	1	0	0	0	0	
110	Penoxymethylpenicillin	9.0	348.9 > 208.0	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
111	Zeranol	9.7	321.1 > 277.1	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
112	Cloxacillin	9.8	433.9 > 292.8	A	A	A	A	A	A	A	7	0	0	0	0	0	
113	Nicarbazin	10.8	301.0 > 136.9	D	D	A	A	A	A	A	5	0	0	0	2	0	
114	Diclazuril	11.5	404.9 > 333.8	D	D	A	A	A	A	A	5	0	0	0	2	0	
115	Oxyclozanide	12.2	397.8 > 175.9	D	D	A	A	D	C	C	2	0	0	2	3	0	

1) RT : Retention time : 保持時間

2) 成分ごとの7食品の各評価 (A~E) の数

