

LC-MS/MS による食品中合成抗菌剤・駆虫剤一斉分析法の妥当性評価

内田耕太郎* 起橋雅浩* 柿本健作* 山口貴弘* 永吉晴奈* 小西良昌* 梶村計志*

牛肉、鮭、鶏卵、牛乳を対象に合成抗菌剤、駆虫剤の同時分析法を構築した。2%ギ酸アセトニトリルで抽出し、ヘキサン分配で精製し、高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計で測定した。本法について国の示すガイドラインに基づく妥当性評価を行なったところ、合成抗菌剤 35 種類、駆虫剤 6 種類において、選択性、真度、精度、定量限界ともにガイドラインの目標値を満たす良好な結果が得られ、この分析法を基準値の適合判定に使用できることがわかった。

キーワード: 合成抗菌剤、駆虫剤、高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計、妥当性評価

Key words: Antibiotics, Anthelmintics, LC-MS/MS, Validation

食品中の動物用医薬品の残留検査に使用する分析法は、「食品、添加物等の規格基準」¹⁾及び「食品に残留する農薬、試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」²⁾に定められている。当所では、これまで、独自の多成分分析法をスクリーニング試験に用い、基準値以上検出した場合に上記通知で定められた個別試験法（以下、通知試験法）で確認検査を行ってきた。

「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」³⁾には、規格基準への適合を判断する分析法が満たすべき性能の目標値が定められている。平成 22 年にこのガイドラインが改正され⁴⁾、独自の分析法に加え、通知試験法についても、ガイドラインに定められた妥当性の確認が必要になった（平成 25 年 12 月より実施）。

通知試験法を用いて確認検査を行なう場合、従来当所で行なってきたキノロン剤、サルファ剤、代謝拮抗剤、駆虫剤を分析するには、一斉試験法 I + II または、

一斉試験法 I + III の 2 種類が必要である。一方で、昨年度報告した牛乳中合成抗菌剤一斉分析法⁵⁾を駆虫剤にも応用したところ、この分析法だけで効率的に検査を行なえることが予想できた。そこで、当所においては、合成抗菌剤、駆虫剤の検査において、独自の分析法を基準値の適合判定に使用することにした。この分析法について妥当性評価を行なった結果について報告する。

方法

1. 試料

大阪府内で販売されていた、牛肉、鮭、鶏卵、牛乳を用いた。対象の合成抗菌剤、駆虫剤が含まれていないことを事前に確認した試料を用いた。

2. 試薬、器具

2-1. 標準品: 市販の混合標準溶液（林純薬工業（株）製 PL 動物薬 LC/MS Mix1（27 種類混合）および PL 動物薬 LC/MS Mix2（14 種類混合）、各 20 µg/mL）を用いた。混合標準溶液に含まれる合成抗菌剤のうち、キノロン剤 14 種類、サルファ剤 19 種類、代謝拮抗剤 4 種類を検討対象とした（表 1）。駆虫剤は、上記混合標準溶液に含まれていないため、代表的なもの 6 種類を選定し検討した。レバミゾール、フルベンダゾールは関東化学（株）、ブラジクアンテルは和光純薬工業（株）、オキシベンダゾールは Sigma-Aldrich 社、メトロニダゾ

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 食品化学課
Validation of Multi-residue Method for the
Determination of Antibiotics and Anthelmintics in
Food by LC-MS/MS

by Kotaro UCHIDA, Masahiro OKIHASHI,
Kensaku KAKIMOTO, Takahiro YAMAGUCHI,
Haruna NAGAYOSHI, Yoshimasa KONISHI
and Keiji KAJIMURA

ールは Dr Ehrenstorfer 社、パルベンダゾールは U.S. Pharmacopeial Convention 製の残留動物薬分析用またはその同等品を用いた。

2-2. 標準溶液：駆虫剤については、標準品をメタノールまたは、メタノール/ジメチルスルホキシド (1:1)

に溶解し、標準溶液 (250 ～1000 µg/mL) を調製した。MS/MS 測定条件の検討にはこの標準溶液を希釈したものを用いた。標準溶液を混合希釈し 20 µg/mL の混合溶液を作成した。この混合溶液と、PL 動物薬 LC/MS Mix1 および PL 動物薬 LC/MS Mix2 を混合希釈し、添

表 1. 対象化合物および MS/MS 測定条件

Compound	Transition	Cone (V)	Colligion (eV)	Compound	Transition	Cone (V)	Colligion (eV)
<i>Quinolones</i>				Sulfamerazine	265 → 108	4	16
Ciprofloxacin	332 → 231	6	20		265 → 92	4	26
	332 → 288	6	16	Sulfamethoxazole	254 → 156	24	14
Danofloxacin	358 → 340	6	20		254 → 92	24	26
	358 → 82	6	40	Sulfamethoxypyridazine	281 → 92	4	26
Difloxacin	400 → 299	6	26		281 → 126	4	14
	400 → 356	6	18	Sulfamonomethoxine	281 → 92	4	28
Enrofloxacin	360 → 316	4	18		281 → 126	4	16
	360 → 245	4	24	Sulfapyridine	250 → 156	40	14
Flumequine	262 → 244	34	16		250 → 92	40	24
	262 → 202	34	30	Sulfaquinoxaline	301 → 156	6	14
Marbofloxacin	363 → 72	14	16		301 → 92	6	28
	363 → 320	14	14	Sulfathiazole	256 → 156	32	14
Miloxacin	264 → 215	24	24		256 → 92	32	24
	264 → 246	24	12	Sulfatroxazole	268 → 92	12	24
Nalidixic acid	233 → 187	22	24		268 → 113	20	15
	233 → 215	22	12	Sulfisomidine	279 → 124	4	30
Norfloxacin	320 → 276	4	14		279 → 186	4	14
	320 → 233	4	18	Sulfisoxazole	268 → 113	18	14
Ofloxacin	362 → 318	4	16		268 → 156	18	12
	362 → 261	4	24	Sulfisozole	240 → 156	16	12
Orbifloxacin	396 → 295	2	22		240 → 92	16	22
	396 → 352	2	16	<i>Antimetabolites</i>			
Oxolinic acid	262 → 244	36	16	Diaveridine	261 → 245	26	26
	262 → 216	36	26		261 → 123	26	20
Piromidic acid	289 → 271	30	16	Ormetoprim	275 → 259	26	26
	289 → 243	30	28		275 → 123	26	22
Sarafloxacin	386 → 342	6	16	Pyrimethamine	249 → 177	62	26
	386 → 299	6	26		249 → 233	62	26
<i>Sulfonamides</i>				Trimethoprim	291 → 123	42	22
Sulfabenzamide	277 → 92	10	24		291 → 261	42	22
	277 → 156	10	10	<i>Anthelmintics</i>			
Sulfabromomethazine	357 → 92	4	30	Flubendazole	314 → 282	30	20
	357 → 108	4	18		314 → 123	30	34
Sulfachlorpyridazine	285 → 156	6	12	Levamisole	205 → 178	26	20
	285 → 92	6	26		205 → 91	26	32
Sulfadiazine	251 → 92	28	24	Mebendazole	296 → 264	30	20
	251 → 156	28	12		296 → 104	30	30
Sulfadimethoxine	311 → 156	38	18	Oxibendazole	250 → 218	30	30
	311 → 92	38	28		250 → 176	30	20
Sulfadimidine	279 → 186	44	16	Parbendazole	248 → 216	64	20
	279 → 92	44	28		248 → 173	64	30
Sulfadoxine	311 → 156	40	16	Praziquantel	313 → 203	30	20
	311 → 92	40	28		313 → 83	30	30
Sulfaethoxypyridazine	295 → 156	29	16				
	295 → 92	30	35				

上段：定量用イオン、下段：確認用イオン

加用混合溶液 (0.2、2 µg/mL、アセトニトリル溶液)、
検量線用混合溶液 (0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 µg/mL、
10%メタノール溶液) を調製した。

2-3. その他の試薬、器具：アセトニトリル、メタノール、ヘキサンは和光純薬工業 (株) 製の残留農薬 PCB 試験用を用いた。ギ酸は、和光純薬工業 (株) 製の試験特級、または高速液体クロマトグラフ用を使用した。ジメチルスルホキシドは和光純薬工業 (株) 製ダイオキシン類分析用を使用した。水は Merck Millipore 社製 Milli-Q 純水製造装置 (Elix Advantage、Milli-Q Advantage A10) で精製した水 (比抵抗値 18.2 MΩ・cm) を用いた。ポリプロピレン (PP) 製 50 mL 遠沈管は AGC テクノグラス (株) 製を用いた。PP 製 1.5 mL 遠沈管は Eppendorf AG 社製を用いた。メンブレンフィルターは東洋濾紙 (株) 製 13HP020AN を用いた。

3. 装置

ホモジナイザー：Kinematica 社製 Polytron PT-MR3100、遠心機：日立工業 (株) 製 Centrifuge CF7D2、振盪機：東京理科機械 (株) 製 EYELA CUTE MIXER CM-1000、遠心エバポレーター：東京理化学器械 (株) 製 CYE-3100 型、LC：Waters 社製 ACQUITY UPLC I-Class System、MS/MS：Waters 社製 Xevo TQ-S Mass Spectrometer、分析カラム：Waters 社製 CORTECS UPLC C18 (1.6 µm、2.1×100 mm)

4. 測定条件

4-1. 移動相：A 液：0.1%ギ酸水溶液、B 液：0.1%ギ酸メタノール、グラジエント条件：(%B) Initial (10) → 5 min (10) → 20 min (90)、流速：0.2 mL/min、カラム温度：50℃、注入量：5 µL

4-2. MS/MS 測定条件：対象とした 43 化合物の定量用および確認用 MRM を同時に測定するメソッドを作成した。ピロミド酸を除く合成抗菌剤については、昨年度報告した牛乳中合成抗菌剤の同時分析法と同じ条件を用いた。測定条件は下記のように設定した。化合物ごとのパラメーターを表 1 に示した。

Ion mode：positive、Capillary：3.00 kV、Source temperature：150℃、Desolvation temperature：400℃、Cone gas flow：150 L/h、Desolvation gas flow：1000 L/h、Collision gas flow：1.15 mL/min

表 2. 真度および精度の目標値

Concentration (µg/kg)	Recovery (%)	Repeatability (RSD%)	
		Intra day	Inter day
≤ 1	70 ~ 120	30 >	35 >
1 < ~ ≤ 10	70 ~ 120	25 >	30 >
10 < ~ ≤ 100	70 ~ 120	15 >	20 >
100 <	70 ~ 120	10 >	15 >

5. 抽出、精製

試料 2 g を PP 製 50 mL 遠沈管に採取し、ヘキサン飽和アセトニトリル 8 mL を加え、ホモジナイザーで 30 秒間、粉碎、攪拌した。3000 rpm で 5 分間遠心分離し、上清を別の 50 mL 遠沈管に分取した。残渣に 2%ギ酸ヘキサン飽和アセトニトリル 8 mL を加え、激しく振り混ぜた。3000 rpm で 5 分間遠心分離し、上清を先程の 50 mL 遠沈管に合わせた。その後、ヘキサン飽和アセトニトリルを加え、遠沈管の目盛りで 20 mL とした。アセトニトリル飽和ヘキサン 10 mL を加え 10 分間振盪機で攪拌した。3000 rpm で 5 分間遠心分離後、アセトニトリル層 0.5 mL を 1.5 mL 遠沈管に分取した。これにジメチルスルホキシド 25 µL を加え、遠心エバポレーターで 1 時間濃縮した。残渣に 10%メタノールを加え、0.5 mL とした。メンブレンフィルターを通過させた溶液を試験液とした。

6. マトリックス標準溶液

試料 2 g を 50 mL 遠沈管に採取し、添加試料と同様の抽出、精製操作を行った。遠心エバポレーターで濃縮後、残渣に検量線用混合溶液 (0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 µg/mL) 50 µL と 10%メタノールを加え、0.5 mL とし、マトリックス標準溶液とした。

7. 妥当性評価

試料中の濃度が 10 および 100 µg/kg になるように標準溶液を添加し、30 分間放置後、抽出、精製し、分析を行なった。実施者 3 名がそれぞれ 2 併行の添加回収試験を 2 日間行い、真度、併行精度、室内精度を求め目標値 (表 2) と比較した。

表 3. 妥当性評価結果 (牛肉 真度、精度)

Compound	Spiked level: 10 µg/kg			Spiked level: 100 µg/kg		
	Recovery (%)	Repeatability (RSD%)		Recovery (%)	Repeatability (RSD%)	
		Intra day	Inter day		Intra day	Inter day
<i>Quinolones</i>						
Ciprofloxacin	62.6	4.9	8.6	63.0	7.3	8.9
Danofloxacin	82.3	4.5	3.8	82.8	2.3	4.3
Difloxacin	100.7	2.0	2.3	101.3	1.1	2.6
Enrofloxacin	93.6	3.4	2.8	96.4	2.2	3.0
Flumequine	103.7	1.2	1.3	104.6	0.7	2.2
Marbofloxacin	86.8	2.4	3.7	82.9	2.5	3.8
Miloxacin	80.5	6.2	8.4	86.2	2.2	8.5
Nalidixic acid	100.8	2.3	1.9	99.4	2.0	2.9
Norfloxacin	63.8	3.9	4.0	65.1	5.9	5.7
Ofloxacin	85.2	2.7	2.7	86.4	1.6	3.7
Orbifloxacin	90.7	1.7	2.3	93.6	1.4	3.2
Oxolinic acid	102.9	1.6	1.4	103.6	0.8	2.9
Piromidic acid	104.5	1.9	1.6	103.9	2.5	3.0
Sarafloxacin	76.8	4.5	4.0	79.8	2.4	3.4
<i>Sulfonamides</i>						
Sulfabenzamide	93.7	3.2	2.7	94.0	1.0	3.4
Sulfabromomethazine	100.8	4.0	4.3	100.4	1.0	2.2
Sulfachlorpyridazine	93.9	4.1	4.1	94.5	1.0	2.5
Sulfadiazine	96.9	2.3	2.4	98.5	0.8	2.6
Sulfadimethoxine	99.4	2.6	2.5	99.0	0.9	2.6
Sulfadimidine	95.6	2.4	2.9	95.1	1.1	3.1
Sulfadoxine	100.0	2.3	2.1	99.3	1.0	2.8
Sulfaethoxypyridazine	96.6	2.8	2.7	96.0	0.9	2.1
Sulfamerazine	97.5	2.0	2.5	100.0	1.4	3.4
Sulfamethoxazole	97.4	3.0	5.3	96.2	1.7	2.7
Sulfamethoxypyridazine	95.6	2.8	3.1	96.3	0.9	2.6
Sulfamonomethoxine	96.7	3.7	3.3	98.9	1.6	3.0
Sulfapyridine	98.6	1.4	2.1	99.2	1.2	2.8
Sulfaquinoxaline	96.8	2.1	2.4	96.1	1.4	2.6
Sulfathiazole	93.1	2.5	2.9	92.9	1.3	2.8
Sulfatroxazole	94.6	2.7	3.2	95.5	2.4	3.4
Sulfisomidine	95.6	2.4	2.9	95.1	1.1	3.1
Sulfisoxazole	93.0	6.7	5.3	87.3	3.7	4.2
Sulfisozole	98.1	2.7	4.1	100.5	0.9	2.4
<i>Antimetabolites</i>						
Diaveridine	89.2	2.5	2.4	91.6	1.7	2.9
Ormetoprim	90.6	2.1	2.5	91.5	1.9	2.9
Pyrimethamine	91.3	2.3	3.2	89.9	1.2	2.3
Trimethoprim	94.7	2.8	2.3	93.7	1.5	2.7
<i>Anthelmintics</i>						
Flubendazole	102.9	2.1	1.8	105.1	0.6	1.5
Levamisole	99.9	1.4	1.6	99.7	1.0	1.4
Mebendazole	103.3	1.9	1.6	105.4	0.7	1.9
Oxibendazole	99.7	2.4	2.3	100.6	0.7	2.1
Parbendazole	102.0	2.0	1.6	105.3	1.0	1.9
Praziquantel	106.7	2.7	2.9	106.7	3.0	3.3

表 4. 妥当性評価結果 (鮭 真度、精度)

Compound	Spiked level: 10 µg/kg			Spiked level: 100 µg/kg		
	Recovery (%)	Repeatability (RSD%)		Recovery (%)	Repeatability (RSD%)	
		Intra day	Inter day		Intra day	Inter day
<i>Quinolones</i>						
Ciprofloxacin	70.4	4.6	4.6	84.8	3.8	5.9
Danofloxacin	84.5	2.9	4.5	84.1	3.6	2.9
Difloxacin	94.8	1.6	3.4	87.9	1.7	1.9
Enrofloxacin	92.7	3.3	2.7	85.7	1.9	1.5
Flumequine	99.8	1.3	1.6	99.4	1.5	1.5
Marbofloxacin	81.1	2.1	4.1	75.1	3.3	3.0
Miloxacin	77.6	6.4	5.9	83.8	3.0	4.1
Nalidixic acid	94.0	1.4	2.2	91.1	1.8	2.3
Norfloxacin	70.5	4.7	6.1	68.2	3.6	3.9
Ofloxacin	85.6	1.9	3.1	78.9	3.0	2.3
Orbifloxacin	87.9	2.4	3.2	85.5	2.1	1.9
Oxolinic acid	99.0	2.6	2.4	95.5	2.0	1.8
Piromidic acid	99.5	1.9	2.5	97.8	1.6	1.5
Sarafloxacin	85.1	3.9	5.0	79.9	3.2	2.6
<i>Sulfonamides</i>						
Sulfabenzamide	93.7	3.0	3.3	89.6	1.6	1.6
Sulfabromomethazine	91.8	4.5	3.9	91.8	2.0	1.9
Sulfachlorpyridazine	96.2	2.5	3.0	85.9	0.8	1.6
Sulfadiazine	97.7	1.6	1.9	94.3	1.6	1.4
Sulfadimethoxine	96.7	2.7	2.6	90.9	1.2	1.8
Sulfadimidine	92.4	2.8	2.3	88.3	1.1	1.4
Sulfadoxine	95.5	2.5	2.7	93.1	1.5	1.8
Sulfaethoxypyridazine	94.6	3.1	3.1	88.1	1.2	1.9
Sulfamerazine	88.0	2.5	2.2	87.8	3.2	3.7
Sulfamethoxazole	95.0	2.7	3.6	77.1	2.6	3.1
Sulfamethoxypyridazine	94.4	3.0	2.5	86.2	1.4	1.9
Sulfamonomethoxine	95.8	3.7	3.4	83.8	2.1	2.6
Sulfapyridine	95.5	1.6	2.0	90.3	1.0	1.9
Sulfaquinoxaline	95.8	2.7	2.4	88.3	1.2	1.9
Sulfathiazole	93.2	2.4	2.1	89.1	1.4	1.7
Sulfatroxazole	97.1	3.5	2.9	85.2	2.0	1.9
Sulfisomidine	92.4	2.8	2.3	88.3	1.1	1.4
Sulfisoxazole	99.6	3.9	4.4	85.6	1.1	2.3
Sulfisozole	96.2	1.6	2.2	97.4	1.5	1.6
<i>Antimetabolites</i>						
Diaveridine	89.3	2.3	3.0	89.3	2.3	1.8
Ormetoprim	90.0	2.0	2.4	85.0	2.8	2.1
Pyrimethamine	93.1	2.5	2.7	81.7	2.6	2.3
Trimethoprim	88.0	2.2	2.6	85.9	2.5	1.9
<i>Anthelmintics</i>						
Flubendazole	102.3	1.5	2.5	97.3	2.3	1.9
Levamisole	97.1	1.6	2.1	97.6	1.1	1.7
Mebendazole	101.4	1.9	2.3	95.7	1.8	1.5
Oxibendazole	98.6	1.0	2.8	94.3	1.4	1.9
Parbendazole	95.7	2.0	6.8	96.2	4.0	3.3
Praziquantel	111.1	1.5	4.7	113.1	1.4	4.3

表 5. 妥当性評価結果 (鶏卵 真度、精度)

Compound	Spiked level: 10 µg/kg			Spiked level: 100 µg/kg		
	Recovery (%)	Repeatability (RSD%)		Recovery (%)	Repeatability (RSD%)	
		Intra day	Inter day		Intra day	Inter day
<i>Quinolones</i>						
Ciprofloxacin	70.8	8.5	9.2	70.0	3.5	5.7
Danofloxacin	80.6	4.8	5.3	83.5	2.7	4.5
Difloxacin	97.5	3.2	4.9	98.2	1.8	2.6
Enrofloxacin	91.7	5.3	5.0	95.0	1.7	2.6
Flumequine	97.2	3.3	3.6	100.1	1.6	2.4
Marbofloxacin	80.3	4.8	5.8	82.9	3.1	5.4
Miloxacin	74.5	7.0	12.1	81.0	2.4	2.8
Nalidixic acid	93.8	4.0	4.1	97.9	2.4	2.4
Norfloxacin	66.3	7.8	8.7	69.3	5.0	7.0
Ofloxacin	84.7	4.6	5.5	86.7	2.5	4.0
Orbifloxacin	90.2	3.3	4.2	91.3	1.8	3.6
Oxolinic acid	99.7	3.6	4.6	100.1	2.4	3.1
Piromidic acid	94.8	4.6	4.6	99.0	1.9	2.4
Sarafloxacin	80.2	4.1	5.2	82.5	1.7	4.2
<i>Sulfonamides</i>						
Sulfabenzamide	94.4	2.9	2.6	94.9	1.5	2.7
Sulfabromomethazine	95.0	3.7	3.6	99.5	1.1	2.5
Sulfachlorpyridazine	92.1	4.3	5.2	94.4	1.2	3.4
Sulfadiazine	92.8	3.0	3.2	95.4	1.6	3.1
Sulfadimethoxine	94.5	2.3	3.0	98.7	1.6	2.9
Sulfadimidine	89.3	3.5	3.3	92.8	1.5	3.3
Sulfadoxine	90.7	2.5	4.2	97.1	2.0	3.3
Sulfaethoxypyridazine	94.3	1.9	2.8	96.5	1.7	3.0
Sulfamerazine	94.5	2.8	3.0	96.7	2.0	3.4
Sulfamethoxazole	97.1	4.0	4.5	97.7	2.8	4.1
Sulfamethoxypyridazine	91.8	3.1	5.2	95.6	1.7	3.3
Sulfamonomethoxine	95.1	2.7	3.2	96.5	1.6	3.6
Sulfapyridine	91.5	2.1	2.9	96.8	1.9	3.3
Sulfaquinoxaline	91.8	2.8	3.2	96.2	1.6	2.9
Sulfathiazole	90.4	3.0	3.3	93.6	1.4	2.6
Sulfatroxazole	91.2	2.3	5.2	95.7	2.6	3.5
Sulfisomidine	89.3	3.5	3.3	92.8	1.5	3.3
Sulfisoxazole	95.2	3.6	3.7	96.1	1.1	3.7
Sulfisozole	95.1	2.6	4.7	96.7	1.5	3.4
<i>Antimetabolites</i>						
Diaveridine	102.1	1.7	2.5	102.6	1.5	2.2
Ormetoprim	99.4	2.3	2.7	103.1	1.9	2.9
Pyrimethamine	100.6	1.9	2.4	101.3	1.8	2.8
Trimethoprim	101.8	2.7	3.6	102.1	1.8	2.4
<i>Anthelmintics</i>						
Flubendazole	102.5	1.2	2.6	106.1	1.2	2.4
Levamisole	98.9	1.6	2.4	102.3	1.6	2.5
Mebendazole	101.8	1.3	2.7	104.8	1.2	2.5
Oxibendazole	101.2	2.0	3.2	103.7	1.7	2.7
Parbendazole	101.1	1.9	2.7	105.2	1.5	2.9
Praziquantel	109.8	1.8	5.1	112.6	2.3	3.6

表 6. 妥当性評価結果（牛乳 真度、精度）

Compound	Spiked level: 10 µg/kg			Spiked level: 100 µg/kg		
	Recovery (%)	Repeatability (RSD%)		Recovery (%)	Repeatability (RSD%)	
		Intra day	Inter day		Intra day	Inter day
<i>Quinolones</i>						
Ciprofloxacin	87.4	4.5	5.2	83.9	1.6	4.8
Danofloxacin	87.7	2.6	4.7	90.5	1.4	3.4
Difloxacin	95.7	2.7	3.7	100.3	0.7	2.0
Enrofloxacin	96.6	2.6	3.3	99.7	1.2	2.2
Flumequine	104.3	2.5	2.6	104.0	1.1	2.4
Marbofloxacin	91.6	3.0	4.6	88.9	1.4	2.2
Miloxacin	72.1	7.7	10.4	82.9	4.0	6.3
Nalidixic acid	104.0	3.5	3.2	93.9	2.4	2.8
Norfloxacin	84.7	5.8	6.0	83.1	2.1	4.7
Ofloxacin	89.9	3.7	3.5	94.1	1.5	2.4
Orbifloxacin	96.6	3.9	3.4	100.2	0.9	2.0
Oxolinic acid	100.3	3.1	2.7	98.1	1.6	2.7
Piromidic acid	103.7	2.7	3.4	105.0	0.8	2.7
Sarafloxacin	87.2	4.7	5.3	91.6	1.9	3.2
<i>Sulfonamides</i>						
Sulfabenzamide	92.5	3.0	3.3	94.0	1.6	2.3
Sulfabromomethazine	96.0	4.3	4.4	105.7	1.3	2.1
Sulfachlorpyridazine	90.0	2.4	2.6	93.0	1.7	2.6
Sulfadiazine	94.0	2.4	2.4	96.5	1.0	2.1
Sulfadimethoxine	94.1	2.5	2.6	99.7	0.9	1.9
Sulfadimidine	92.7	3.5	3.4	93.3	1.0	2.1
Sulfadoxine	91.1	4.5	3.5	98.4	1.4	2.3
Sulfaethoxypyridazine	91.9	3.0	2.9	95.1	1.1	2.3
Sulfamerazine	93.2	4.0	3.1	94.7	0.8	2.4
Sulfamethoxazole	90.9	7.2	5.9	91.7	1.1	2.9
Sulfamethoxypyridazine	90.4	5.5	4.1	93.4	1.2	2.2
Sulfamonomethoxine	95.2	4.5	3.9	96.1	1.2	2.3
Sulfapyridine	90.8	2.6	3.1	93.8	1.1	2.0
Sulfaquinoxaline	93.9	4.1	3.7	98.5	1.2	2.3
Sulfathiazole	94.0	2.2	2.3	94.4	1.0	2.0
Sulfatroxazole	91.4	3.6	4.1	92.1	1.5	2.7
Sulfisomidine	92.7	3.5	3.4	93.3	1.0	2.1
Sulfisoxazole	95.3	3.5	4.0	94.2	1.6	2.2
Sulfisozole	95.7	6.0	4.8	97.7	0.9	2.0
<i>Antimetabolites</i>						
Diaveridine	100.3	2.2	2.8	100.4	1.0	2.5
Ormetoprim	99.2	3.9	3.8	99.6	1.1	1.8
Pyrimethamine	100.4	2.9	4.2	99.7	2.0	2.5
Trimethoprim	98.7	3.6	3.7	100.7	1.0	2.2
<i>Anthelmintics</i>						
Flubendazole	103.3	2.1	2.4	107.1	1.4	2.3
Levamisole	102.6	1.8	3.1	101.9	1.2	2.7
Mebendazole	102.2	2.1	2.4	105.3	1.4	2.2
Oxibendazole	101.3	2.5	3.6	103.3	1.3	3.1
Parbendazole	103.1	2.2	2.4	106.2	1.3	2.5
Praziquantel	117.3	2.7	6.9	117.0	1.3	6.8

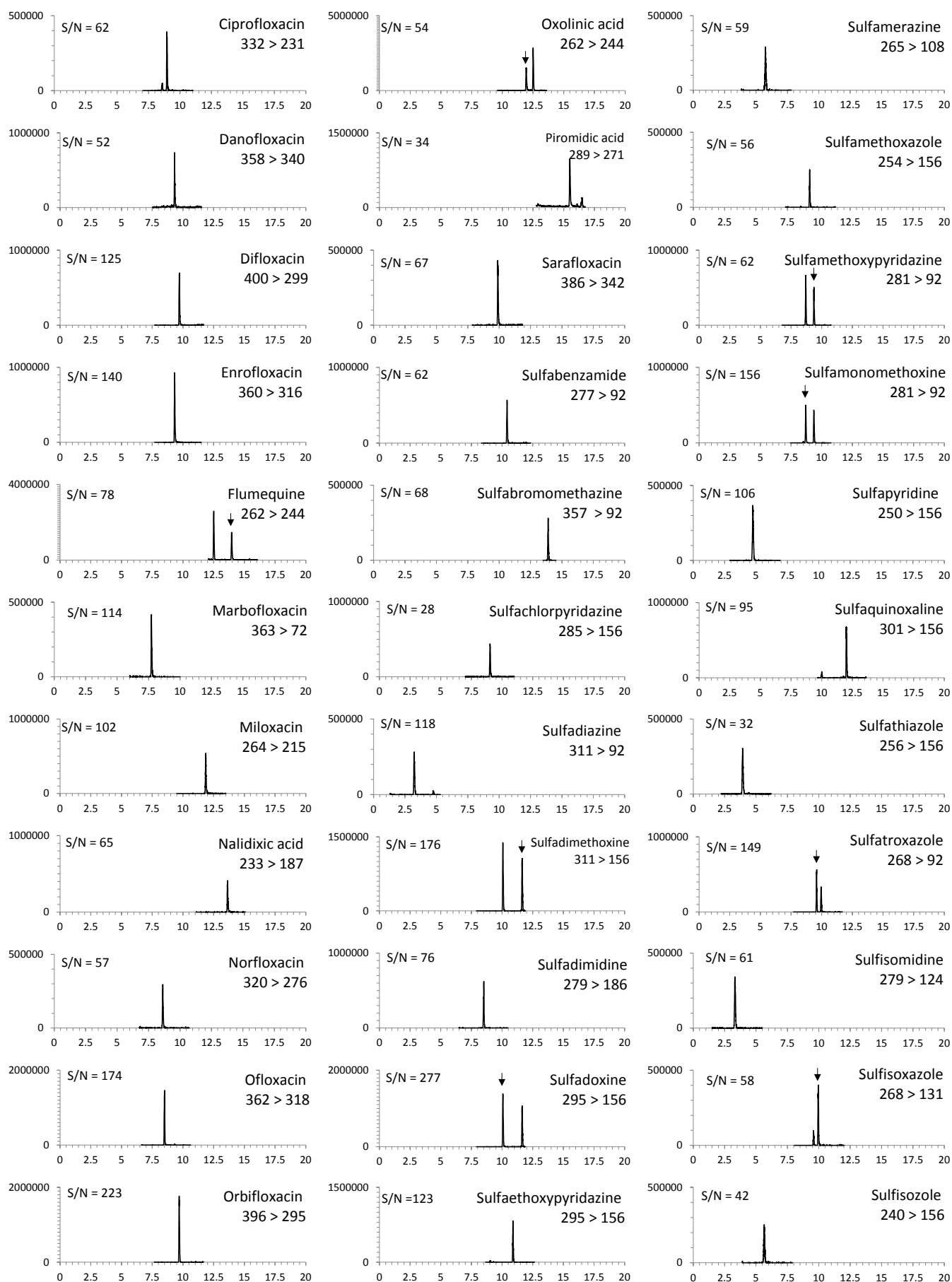


図 1. クロマトグラム (牛肉 10 µg/kg 添加回収試験)

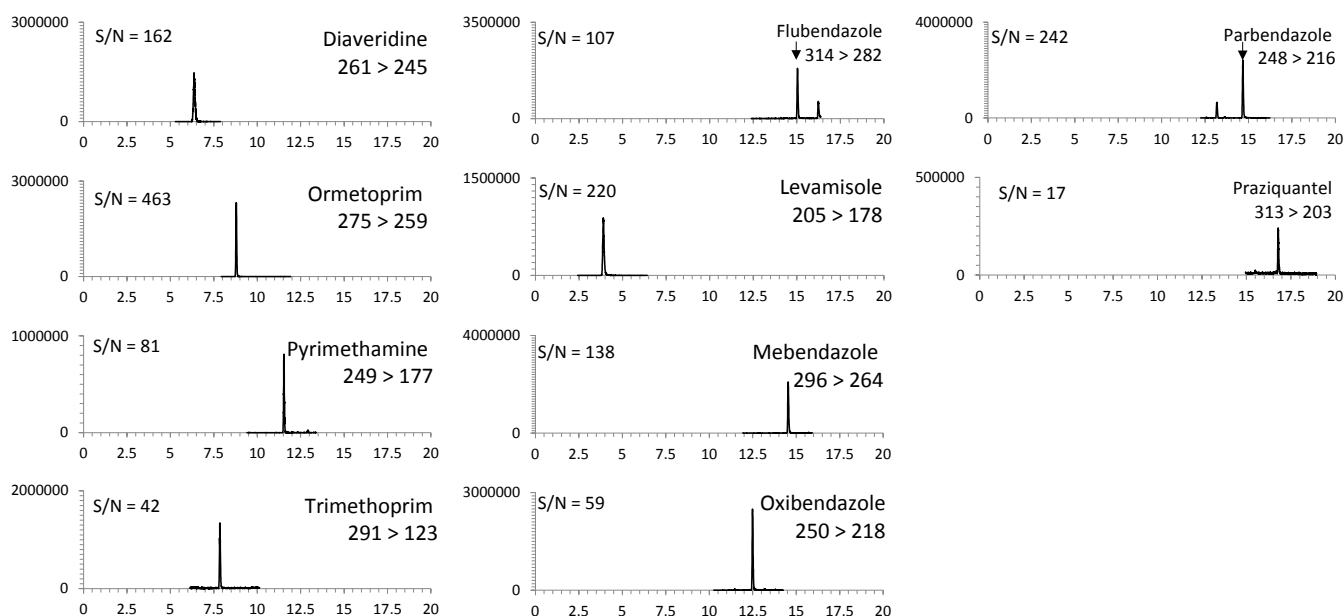


図 1. クロマトグラム (続き)

結果および考察

1. 選択性

対象とした合成抗菌剤、駆虫剤の残留が認められない試料から調製したブランク試料と、標準溶液を添加した試料から調製した添加試料のクロマトグラフを比較したところ、定量を妨害する夾雑ピークは、牛肉、鮭、鶏卵、牛乳いずれの試料においても観察されなかった。

2. 真度、精度

表 3～6 に示すように真度は 62.6～117.3%であった。試料が牛肉の場合に、シプロフロキサシンが、試料が牛肉、鮭、鶏卵の場合に、ノルフロキサシンがガイドラインの目標値を下回った。これらの化合物が他に比べて不安定というわけではなく⁶⁾、本法と類似の抽出法を用いた既報^{7,8)}でも回収率が低いことから、十分に抽出できていないためと考えられた。

試料中の濃度が 10 µg/kg の場合、併行精度は 1.2～8.5%、室内精度は 1.3～12.1%であった。一方、100 µg/kg の場合、併行精度は 0.6～7.3%、室内精度は 1.4～8.9%であった。精度については、全ての化合物で、ガイドラインの目標値を満たす結果が得られた。

3. 定量限界

10 µg/kg 添加試料の S/N 比を計算した。Waters 社の MS 用定量解析ソフトウェア MassLynx を用い、ピークの前または後、約 2 分間をノイズ範囲とし、ピークおよびノイズの振れ幅の最大値の比を算出した。10 µg/kg 添加試料において、いずれの化合物も S/N 比は 10 以上であり、この濃度での定量性を確認した (図 1)。

結論

食品中の合成抗菌剤 37 種類、駆虫剤 6 種類の同時分析法の妥当性評価を行った。試料中の濃度が 10 および 100 µg/kg になるよう標準溶液を添加し、選択性、真度、精度、定量限界を評価した。シプロフロキサシンとノルフロキサシンを除く 41 化合物でガイドラインの目標値を満たす結果が得られた。

文献

- 1) 「食品、添加物等の規格基準」昭和 34 年 12 月 28 日 厚生労働省告示第 370 号 (1962)
- 2) 「食品に残留する農薬、試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」平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号 (2005)

- 3) 「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 日付け食安発第 1115001 号 (2007)
- 4) 「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 日付け食安発 1224 第 1 号 (2010)
- 5) 内田耕太郎, 柿本健作, 山口貴弘, 永吉晴奈, 起橋雅浩, 小西良昌, 梶村計志 : 牛乳中合成抗菌剤の同時分析法の開発と妥当性評価, 大阪府立公衆衛生研究所報, **52**, 15-20 (2014)
- 6) 内田耕太郎, 柿本健作, 山口貴弘, 永吉晴奈, 起橋雅浩, 小西良昌, 梶村計志 : 溶液中における合成抗菌剤の安定性, 大阪府立公衆衛生研究所報, **52**, 21-26 (2014)
- 7) Takayuki Nakajima, Chieko Nagano, Takeo Sasamoto, Hiroshi Hayashi, Maki Kanda, Setsuko Kanai, Kazue Takeba, Yoko Matsushima, Ichiro Takano : Development and validation of rapid analysis method for multi-class veterinary drugs in livestock products by LC-MS/MS, Food Hyg. Saf. Sci., **53**, 243-253 (2012)
- 8) 西村一彦, 山口博美, 橋本諭, 平間祐志 : LC/MS/MS による動物用医薬品の迅速一斉分析法の改良と妥当性評価, 北海道立衛生研究所報, **63**, 57-63 (2013)