

## 短報

### 高速液体クロマトグラフィー/タンデム 質量分析法を用いた畜産物中の 動物用医薬品の分析

甲斐茂美, 赤星猛, 岸美智子

#### Analysis of Veterinary Drugs in Livestock Foods Using Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry

Shigemi KAI, Takeshi AKABOSHI  
and Michiko KISHI

#### はじめに

食の安全について国民の関心が高まる中、国は平成15年5月に、食品の安全確保について基本となる法律「食品安全基本法」を制定し、食品の監視・検査体制の見直しを行った。その中で大きく変わるのが規格基準の見直しによる農薬、動物用医薬品及び飼料添加物の残留規制の強化であり、ポジティブリスト制(基準が設定されていない農薬及び動物薬等が一定量以上含まれる食品の流通を原則禁止する制度)が、平成18年5月29日から施行された。これに伴い、規制対象となる動物用医薬品等は従来の約30から230前後に増加した。

このため、新たに設定される基準値に対応し、多くの動物用医薬品等を迅速に検査できる一斉分析法の開発が急務となっている。厚生労働省では、現在、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いた動物用医薬品の一斉分析法を一部公表しているが、食品由来の夾雑成分から多数の目的物質を精度よく検出するためには、HPLCに比べ、高感度で選択性のある高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析装置(LC/MS/MS)の活用が有効である。

著者らは、イオントラップ機能を有するLC/MS/MSが、高感度プロダクトイオンスキャン(EPI)やマルチブルリアクションモニタリング(MRM)等の機能により、高感度測定と構造解析能を合わせ持ち、高い選択性を有

することに着目し、検査の確認に活用してきた。この度のポジティブリスト制施行に際しても、検査項目の拡大と、より高感度で精度の高い分析を行なうために、LC/MS/MSによる定量・確認法を確立し、日常検査へ適用することとした。まずは、厚生労働省が示している「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅱ(畜産物)」<sup>1)</sup>の分析対象薬剤について検討したので報告する。

#### 実験方法

##### 1. 試料

試料は神奈川県内で市販されていた牛肉、豚肉、鶏肉を分析対象とした。試料はフードプロセッサーで粉碎混合したものを用いた。

##### 2. 試薬

分析対象薬剤は表1に示した。標準品は和光純薬(株)、関東化学(株)及び林純薬(株)の残留物質試験用を用いた。標準原液はアセトニトリルまたはメタノールを用いて100 $\mu$ g/mlになるように調製した。混合標準溶液は35%メタノール水溶液で段階的に希釈し調製した。

アセトニトリル、メタノール及びn-ヘキサンは和光純薬(株)の残留農薬試験用またはLC-MS用を用いた。その他の試薬は和光純薬(株)の特級を用いた。

0.2mol/lリン酸緩衝液(pH5.0)は、リン酸一カリウム27.2gに水を加えて1000mlとしたものに、リン酸二カリウム3.48gに水を加えて100mlとしたものを加えて混和し、リン酸でpHを5.0に調整した。

0.02mol/lリン酸緩衝液(pH5.0)は0.2mol/lリン酸緩衝液を10倍に希釈して用いた。

Waters社製OasisHLB(60mg)カートリッジは、あらかじめメタノール10ml、水10ml、次いで0.2mol/lリン酸緩衝液(pH5.0)2mlでコンディショニングした後使用した。

フロリジルカラムは内径15mm、長さ300mmのクロマトグラフ管に、和光純薬(株)の残留農薬分析用フロリジルPRを130 $^{\circ}$ Cで12時間活性化したもの8gを、アセトニトリルに懸濁して充填し、アセトニトリル100mlで洗浄し調製した。

##### 3. 装置

HPLCはAgilent社製1100シリーズを、MS/MSはApplied Biosystems社製Qtrap LC/MS/MSを用いた。

##### 4. 測定条件

HPLCのカラムはImtakt社製CadenzaCD-C18 (2.1mmi.d.×150mm, 3 $\mu$ m)を用い、カラム温度45 $^{\circ}$ C、流速0.2ml/min、注入量10 $\mu$ l、移動相はアセトニトリル-0.1%ギ酸を用いた以下のグラジェント条件で分析した。0-25min ; (5:95) から (99:1) までの直線グラジェント、

表1 動物用医薬品のLC/MS/MSにおける測定条件および添加回収試験結果

対象薬剤	RT (min)	MRM Trace (m/z)	DP (V)	CE (V)	回収率%(相対標準偏差%)		
					牛肉	豚肉	鶏肉
ポジティブイオン化							
サルファ剤							
スルファジアジン (SDZ)	8.8	251→156 251→ 92	31	19	74.8(10.5)	83.1( 3.5)	86.0(10.1)
スルファチアゾール (STZ)	9.7	257→156 257→ 92	31	37	76.7(11.1)	83.9( 4.6)	86.8(11.3)
スルファピリジン (SPY)	10.1	250→156 250→ 92	36	21	75.5( 8.5)	85.8( 2.9)	87.5(11.7)
スルファメラジン (SMR)	10.6	265→156 265→ 92	51	21	79.4( 8.7)	85.4( 3.3)	87.8(10.0)
スルファジミジン (SDD)	11.6	279→156 279→ 92	36	23	77.9( 9.3)	85.7( 3.5)	88.5(12.1)
スルファメキシピリダジン (SMPD)	11.7	281→156 281→ 92	41	25	73.8(10.5)	85.0( 3.9)	84.2(12.0)
スルファモノメトキシ (SMMX)	12.4	281→156 281→ 92	36	41	77.8( 7.9)	86.3( 3.6)	85.8(10.4)
スルファクロピリダジン (SCPD)	12.7	285→156 285→ 92	31	19	75.4( 9.7)	87.0( 3.5)	81.5(12.3)
スルファドキシ (SDX)	13.2	311→156 311→ 92	36	29	79.1( 6.7)	88.7( 3.9)	88.5(11.4)
スルファメキサゾール (SMZ)	13.2	254→156 254→ 92	31	47	79.0( 6.8)	88.0( 3.3)	86.8(11.5)
スルファベンズアミド (SBA)	14.3	277→156 277→ 92	21	19	79.6( 7.2)	88.9( 2.1)	86.4(10.5)
スルファジメトキシ (SDMX)	14.5	311→156 311→ 92	36	41	79.4( 7.4)	89.1( 2.6)	86.4(11.6)
スルファキノキサリン (SQ)	14.5	277→ 92 301→156	21	17	75.8( 9.1)	84.2( 3.4)	85.3(11.9)
スルファニトラン (SNT)	15.9	311→156 336→ 92	36	30	75.3( 9.4)	85.0( 4.3)	84.4(13.1)
その他の薬剤				47	78.2( 7.7)	87.4( 4.3)	87.8(10.8)
オラキンドックス (OQ)	6.3	301→ 92 336→ 92	36	19	70.2( 8.8)	83.7( 2.2)	80.6(14.1)
5-ヒドロキシチアベンダゾール (TBZ-M)	9.1	301→ 92	36	36	70.3( 8.3)	83.1( 1.9)	80.1(14.0)
クロピドール (CLP)	9.1	336→ 92	36	17	87.9( 7.1)	91.3( 8.1)	91.7( 7.7)
レバミゾール (LEV)	9.7	264→143 264→ 75	36	43	89.7( 8.4)	85.4( 6.4)	91.3(11.6)
5-プロピルスルホニル-1H-ベンズ イミダゾール-2-アミン (ABZ-M)	9.8	218→191 218→147	31	35	60.2( 4.9)	82.3( 4.4)	67.2( 9.6)
チアベンダゾール (TBZ)	10.0	192→ 87 192→101	51	43	60.1( 5.5)	82.7( 3.4)	68.4(10.1)
トリメトプリム (TMP)	10.6	205→ 91 205→178	46	41	69.5( 5.9)	96.5( 4.0)	93.6( 7.2)
オルメトプリム (OMP)	11.0	240→133 240→198	51	33	69.7( 6.5)	93.0( 3.5)	92.2( 7.2)
オキシベンダゾール (OXBZ)	13.5	202→175 202→131	26	51	37.0(24.3)	47.9(12.8)	50.7( 8.7)
フルベンダゾール (FBZ)	15.7	271→123 271→107	56	27	35.4(23.2)	47.7(13.4)	51.5( 8.3)
β-トレンボロン (β-TB)	16.6	271→107 271→165	56	39	59.9( 6.2)	87.5( 4.7)	87.5( 4.7)
α-トレンボロン (α-TB)	16.9	271→107 271→115	51	21	59.9( 6.3)	87.3( 4.7)	87.3( 4.7)
クロサンテール (CLS)	25.4	660→127 660→344	-96	35	67.9( 405)	81.8( 6.9)	55.0(17.7)
チアンフェニコール (TPC)	3.0	353→184 353→ 79	-36	43	67.3( 5.0)	81.1( 7.6)	54.6(17.6)
エトパベート (ETB)	14.0	236→192 236→132	-41	39	48.2( 9.6)	72.4(6.3)	70.9( 7.2)
ゼラノール (ZER)	17.2	321→277 321→ 63	-61	23	48.9( 9.6)	72.5( 5.7)	71.1( 8.5)
ナイカルバジン (NCZ)	18.8	301→137 301→106	-21	37	41.1(14.1)	60.5( 7.4)	60.7( 9.6)
ジクラズリル (DCZ)	20.0	405→334 405→299	-66	55	41.4(14.8)	60.1( 6.2)	59.9( 8.8)
ノボピオシン (NB)	20.4	611→205 611→150	-51	39	44.5(10.0)	64.8( 9.7)	60.6(14.4)
ネガティブイオン化				21	46.5(14.0)	74.0(12.1)	55.4(11.6)
クロサンテール (CLS)	25.4	660→127 660→344	-96	21	33.4(11.4)	41.3( 7.4)	41.3( 7.4)
チアベンダゾール (ABZ)	15.4	266→191 314→123	106	45	35.2(13.8)	40.2(10.6)	40.2(10.6)
フルベンダゾール (FBZ)	15.7	314→123 314→282	126	49	47.0(10.6)	70.9(11.5)	60.6(12.8)
β-トレンボロン (β-TB)	16.6	271→165 271→107	56	25	48.0( 9.1)	67.7( 9.9)	60.3(14.8)
α-トレンボロン (α-TB)	16.9	271→165 271→115	51	85	59.6( 5.5)	81.7( 2.0)	78.6(10.3)
チアベンダゾール (TBZ)	10.0	202→175 202→131	26	63	59.3( 7.7)	84.5( 3.3)	76.5( 9.8)
トリメトプリム (TMP)	10.6	291→123 291→230	51	69	62.6( 7.4)	91.0( 2.1)	91.0( 2.1)
オルメトプリム (OMP)	11.0	275→123 275→ 81	51	87	63.0( 6.1)	90.0( 2.1)	90.0( 2.8)
オキシベンダゾール (OXBZ)	13.5	250→176 250→218	131	21	46.5(14.0)	74.0(12.1)	55.4(11.6)
アルベンダゾール (ABZ)	15.4	266→191 314→123	106	21	33.4(11.4)	41.3( 7.4)	41.3( 7.4)
フルベンダゾール (FBZ)	15.7	314→123 314→282	126	45	35.2(13.8)	40.2(10.6)	40.2(10.6)
β-トレンボロン (β-TB)	16.6	271→165 271→107	56	49	47.0(10.6)	70.9(11.5)	60.6(12.8)
α-トレンボロン (α-TB)	16.9	271→165 271→115	51	25	48.0( 9.1)	67.7( 9.9)	60.3(14.8)
チアベンダゾール (TBZ)	10.0	202→175 202→131	26	85	59.6( 5.5)	81.7( 2.0)	78.6(10.3)
トリメトプリム (TMP)	10.6	291→123 291→230	51	63	59.3( 7.7)	84.5( 3.3)	76.5( 9.8)
オルメトプリム (OMP)	11.0	275→123 275→ 81	51	69	62.6( 7.4)	91.0( 2.1)	91.0( 2.1)
オキシベンダゾール (OXBZ)	13.5	250→176 250→218	131	87	63.0( 6.1)	90.0( 2.1)	90.0( 2.8)
アルベンダゾール (ABZ)	15.4	266→191 314→123	106	21	33.4(11.4)	41.3( 7.4)	41.3( 7.4)
フルベンダゾール (FBZ)	15.7	314→123 314→282	126	45	35.2(13.8)	40.2(10.6)	40.2(10.6)
β-トレンボロン (β-TB)	16.6	271→165 271→107	56	49	47.0(10.6)	70.9(11.5)	60.6(12.8)
α-トレンボロン (α-TB)	16.9	271→165 271→115	51	25	48.0( 9.1)	67.7( 9.9)	60.3(14.8)
チアベンダゾール (TBZ)	10.0	202→175 202→131	26	85	59.6( 5.5)	81.7( 2.0)	78.6(10.3)
トリメトプリム (TMP)	10.6	291→123 291→230	51	63	59.3( 7.7)	84.5( 3.3)	76.5( 9.8)
オルメトプリム (OMP)	11.0	275→123 275→ 81	51	69	62.6( 7.4)	91.0( 2.1)	91.0( 2.1)
オキシベンダゾール (OXBZ)	13.5	250→176 250→218	131	87	63.0( 6.1)	90.0( 2.1)	90.0( 2.8)
アルベンダゾール (ABZ)	15.4	266→191 314→123	106	21	33.4(11.4)	41.3( 7.4)	41.3( 7.4)
フルベンダゾール (FBZ)	15.7	314→123 314→282	126	45	35.2(13.8)	40.2(10.6)	40.2(10.6)
β-トレンボロン (β-TB)	16.6	271→165 271→107	56	49	47.0(10.6)	70.9(11.5)	60.6(12.8)
α-トレンボロン (α-TB)	16.9	271→165 271→115	51	25	48.0( 9.1)	67.7( 9.9)	60.3(14.8)
チアベンダゾール (TBZ)	10.0	202→175 202→131	26	85	59.6( 5.5)	81.7( 2.0)	78.6(10.3)
トリメトプリム (TMP)	10.6	291→123 291→230	51	63	59.3( 7.7)	84.5( 3.3)	76.5( 9.8)
オルメトプリム (OMP)	11.0	275→123 275→ 81	51	69	62.6( 7.4)	91.0( 2.1)	91.0( 2.1)
オキシベンダゾール (OXBZ)	13.5	250→176 250→218	131	87	63.0( 6.1)	90.0( 2.1)	90.0( 2.8)
アルベンダゾール (ABZ)	15.4	266→191 314→123	106	21	33.4(11.4)	41.3( 7.4)	41.3( 7.4)
フルベンダゾール (FBZ)	15.7	314→123 314→282	126	45	35.2(13.8)	40.2(10.6)	40.2(10.6)
β-トレンボロン (β-TB)	16.6	271→165 271→107	56	49	47.0(10.6)	70.9(11.5)	60.6(12.8)
α-トレンボロン (α-TB)	16.9	271→165 271→115	51	25	48.0( 9.1)	67.7( 9.9)	60.3(14.8)
チアベンダゾール (TBZ)	10.0	202→175 202→131	26	85	59.6( 5.5)	81.7( 2.0)	78.6(10.3)
トリメトプリム (TMP)	10.6	291→123 291→230	51	63	59.3( 7.7)	84.5( 3.3)	76.5( 9.8)
オルメトプリム (OMP)	11.0	275→123 275→ 81	51	69	62.6( 7.4)	91.0( 2.1)	91.0( 2.1)
オキシベンダゾール (OXBZ)	13.5	250→176 250→218	131	87	63.0( 6.1)	90.0( 2.1)	90.0( 2.8)
アルベンダゾール (ABZ)	15.4	266→191 314→123	106	21	33.4(11.4)	41.3( 7.4)	41.3( 7.4)
フルベンダゾール (FBZ)	15.7	314→123 314→282	126	45	35.2(13.8)	40.2(10.6)	40.2(10.6)
β-トレンボロン (β-TB)	16.6	271→165 271→107	56	49	47.0(10.6)	70.9(11.5)	60.6(12.8)
α-トレンボロン (α-TB)	16.9	271→165 271→115	51	25	48.0( 9.1)	67.7( 9.9)	60.3(14.8)
チアベンダゾール (TBZ)	10.0	202→175 202→131	26	85	59.6( 5.5)	81.7( 2.0)	78.6(10.3)
トリメトプリム (TMP)	10.6	291→123 291→230	51	63	59.3( 7.7)	84.5( 3.3)	76.5( 9.8)
オルメトプリム (OMP)	11.0	275→123 275→ 81	51	69	62.6( 7.4)	91.0( 2.1)	91.0( 2.1)
オキシベンダゾール (OXBZ)	13.5	250→176 250→218	131	87	63.0( 6.1)	90.0( 2.1)	90.0( 2.8)
アルベンダゾール (ABZ)	15.4	266→191 314→123	106	21	33.4(11.4)	41.3( 7.4)	41.3( 7.4)
フルベンダゾール (FBZ)	15.7	314→123 314→282	126	45	35.2(13.8)	40.2(10.6)	40.2(10.6)
β-トレンボロン (β-TB)	16.6	271→165 271→107	56	49	47.0(10.6)	70.9(11.5)	60.6(12.8)
α-トレンボロン (α-TB)	16.9	271→165 271→115	51	25	48.0( 9.1)	67.7( 9.9)	60.3(14.8)
チアベンダゾール (TBZ)	10.0	202→175 202→131	26	85	59.6( 5.5)	81.7( 2.0)	78.6(10.3)
トリメトプリム (TMP)	10.6	291→123 291→230	51	63	59.3( 7.7)	84.5( 3.3)	76.5( 9.8)
オルメトプリム (OMP)	11.0	275→123 275→ 81	51	69	62.6( 7.4)	91.0( 2.1)	91.0( 2.1)
オキシベンダゾール (OXBZ)	13.5	250→176 250→218	131	87	63.0( 6.1)	90.0( 2.1)	90.0( 2.8)
アルベンダゾール (ABZ)	15.4	266→191 314→123	106	21	33.4(11.4)	41.3( 7.4)	41.3( 7.4)
フルベンダゾール (FBZ)	15.7	314→123 314→282	126	45	35.2(13.8)	40.2(10.6)	40.2(10.6)
β-トレンボロン (β-TB)	16.6	271→165 271→107	56	49	47.0(10.6)	70.9(11.5)	60.6(12.8)
α-トレンボロン (α-TB)	16.9	271→165 271→115	51	25	48.0( 9.1)	67.7( 9.9)	60.3(14.8)
チアベンダゾール (TBZ)	10.0	202→175 202→131	26	85	59.6( 5.5)	81.7( 2.0)	78.6(10.3)
トリメトプリム (TMP)	10.6	291→123 291→230	51	63	59.3( 7.7)	84.5( 3.3)	76.5( 9.8)
オルメトプリム (OMP)	11.0	275→123 275→ 81	51	69	62.6( 7.4)	91.0( 2.1)	91.0( 2.1)
オキシベンダゾール (OXBZ)	13.5	250→176 250→218	131	87	63.0( 6.1)	90.0( 2.1)	90.0( 2.8)
アルベンダゾール (ABZ)	15.4	266→191 314→123	106	21	33.4(11.4)	41.3( 7.4)	41.3( 7.4)
フルベンダゾール (FBZ)	15.7	314→123 314→282	126	45	35.2(13.8)	40.2(10.6)	40.2(10.6)
β-トレンボロン (β-TB)	16.6	271→165 271→107	56	49	47.0(10.6)	70.9(11.5)	60.6(12.8)
α-トレンボロン (α-TB)	16.9	271→165 271→115	51	25	48.0( 9.1)	67.7( 9.9)	60.3(14.8)
チアベンダゾール (TBZ)	10.0	202→175 202→131	26	85	59.6( 5.5)	81.7( 2.0)	78.6(10.3)
トリメトプリム (TMP)	10.6	291→123 291→230					

25-35min ; (99:1)で保持. MS/MSのイオンソースはESIを使用し, イオン化モードがポジティブの時はイオンスプレー電圧5.5kV, イオン化モードがネガティブの時はイオンスプレー電圧-4.2kV, イオン源温度480℃, ネブライザーガス圧は70psiで測定した. 薬剤ごとのその他の分析条件は表1に示した.

### 5. 試験溶液の調製

試験溶液の調製は通知法<sup>1)</sup>に準じて行った. 粉碎均一化した試料の5.00gを共栓遠沈管に量り採り, 95%アセトニトリル水溶液30mlを加え1分間ホモジナイズした後, 毎分2,500回転で5分間遠心分離し, アセトニトリル層を採った. 残留物に95%アセトニトリル水溶液30mlを加えて激しく振り混ぜた後, 上記と同様に遠心分離し, 得られたアセトニトリル層を合わせた.

フロリジルカラムにこの溶液及びアセトニトリル30mlを順次注入し, 溶出液を採った. これにn-ヘキサン100mlを加え, 振とう機を用いて3分間激しく振り混ぜた後, 静置し, アセトニトリル層を採り, 40℃以下で濃縮し溶媒を除去した. 残留物に0.2mol/lリン酸緩衝液 (pH5.0) 4mlを加えて溶かし, 水6mlを加えた.

この溶液をOasisHLB(60mg)に注入した後, 0.02mol/lリン酸緩衝液(pH5.0)5mlを注入し流出液を捨てた. このカラムに70%アセトニトリル水溶液を注入し, 溶出液を採り, 40℃以下で濃縮し溶媒を除去した. 残留物に35%メタノール水溶液2.0mlを加えて溶かし, 毎分15,000回転で5分間遠心分離した後, 上澄を試験溶液とした.

## 結果及び考察

### 1. LC/MS/MS測定条件の検討

#### 1) HPLC条件の検討

通知法には, 分離用カラムにオクタデシルシリル化シリカゲル(ODS)カラムを用い, 移動相にリン酸緩衝液(pH3.0)とアセトニトリルのグラジエントによるHPLCの分析条件が示されているが, 確認法のLC/MS(/MS)の分析条件は示されていない. そこで, 通常LC/MS/MSには好ましくない不揮発性のリン酸緩衝液の代わりに, 同等のpHを示す0.1%ギ酸を用いグラジエント分析を行なったところ, 対象薬剤を一斉分析することが可能であった. 分離カラムは高純度シリカゲルを基材としたエンドキャッピング済みのODS系カラムを中心に検討したところ, カラムによっては一部の薬剤で強いテーリングを示すものがあつた. 検討した中ではCadenzaCD-C18で各薬剤ともピーク形状が最も良好であつた. 各薬剤の保持時間は表1に示すとおりである.

#### 2) MRM分析条件の検討

対象薬剤のイオン化はイオンソースをESIとし, 各標

準溶液を直接MSに導入するインフュージョンによるイオンソースの最適化を行ない最大感度が得られる条件を求めた. 結果は表1に示した. 各薬剤とも,  $[M+H]^+$ または $[M-H]^-$ をプレカーサーイオンとし, 相対的に最も感度が強く得られたプロダクトイオンを定量イオン, 次に高感度だつたプロダクトイオンを確認イオンとした.

合成抗菌剤のナイカルバジンは2成分の混合物であるが, 4,4'-Dinitrocarbanilideの $[M-H]^-$ である $m/z$ 301の強度がより強く得られたためこれをプレカーサーイオンとした. 各物質とも2種のプロダクトイオンを同時にモニターすることで, より確実に目的物質を捕捉することができ, マトリックスに由来する夾雑物質の影響を軽減することが可能になった. サルファ剤はプロダクトイオンとして共通構造部分であるanilineに由来する $m/z$ 92及びaniline+SO<sub>2</sub>に帰属する $m/z$ 156が各薬剤から感度よく観測されたため, 各薬剤とも同じプロダクトイオンを選択することとなったが, プレカーサーイオンが異なることから, 測定対象薬剤間での干渉は見られず一斉分析が可能であつた. 分析対象とした薬剤のうちサルファ剤のスルファジメトキシシンとスルファドキシシン, スルファメトキシピリダジンとスルファモノメトキシシンは分子量が同じ構造異性体であり, また合成ホルモン剤のトレンボロンには $\alpha$ と $\beta$ の異性体が存在するため, プレカーサーイオン, プロダクトイオンとも $m/z$ が同じになった. しかしこれらの薬剤は検討したHPLCでの分析条件で分離が可能であつたため, 同時分析が可能であつた.

MRMによる分析による検量線は, 対象薬剤を表1に示したサルファ剤, その他のポジティブイオン化薬剤, ネガティブイオン化薬剤の3グループに分け混合標準溶液を調製し, 0.01, 0.05, 0.5, 1.0, 5.0ngを注入しピーク面積による絶対検量線法で作成した. オラキンドックスは確認イオンの感度が不十分で測定が出来なかつた. また, クロサンテール, ナイカルバジンは検量線の直線性が得られなかつた. これらを除く各薬剤では0.01~5ngの範囲で良好な直線性を示し, 定量イオンで作成した検量線の相関係数( $r^2$ )は0.996~1.000であつた. 注入量を0.01ngとしたときの相対標準偏差(n=5)は10~20%となつたが, その他の注入量での相対標準偏差(n=5)はいずれも10%以内であつた.

#### 3) EPI分析条件

検討に用いたQTrapLC/MS/MSはQ3部分にリニアイオントラップの機能を併せ持つ装置であり, EPI分析はQ3でトラップを行なうプロダクトイオンスキャンであるため, 従来のLC/MS/MSによるプロダクトイオンスキャンに比べ高感度にプロダクトイオンを検出することが可能で, 測定物質の構造情報を反映するスキンスベ

クトルを得ることができる。そこで、各標準溶液について  $[M+H]^+$  または  $[M-H]^-$  をプレカーサーイオンとし、プロダクトイオンのスキンスペクトルが得られる条件を求めた。分析例として図1にスルファドキシシ及びスルファジメトキシシの構造式及び1ng注入時のEPI測定によるスペクトルを示した。これらの薬剤は  $-OCH_3$  の結合位置のみが異なる構造異性体であるため、MRM分析ではプレカーサーイオン、プロダクトイオンとも同一のものとなった。しかし、EPI分析によるスペクトルを比較したところ、 $m/z$ 140のフラグメントがSDXにはみられるがSDMXにはみられなかった。各々のスペクトル

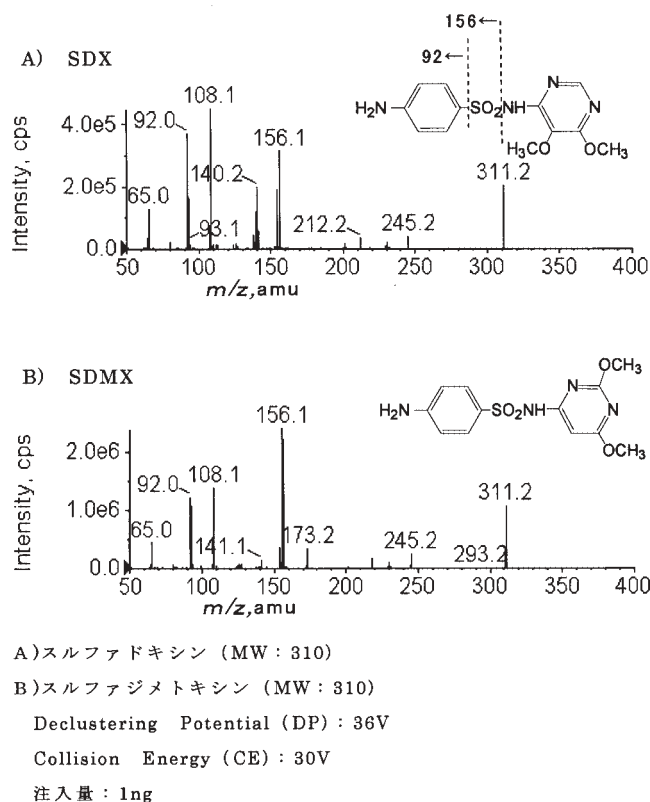


図1 EPI測定によるスペクトル

ルの特徴は、注入量を0.025ngまで減少させても一致していたことから、EPI分析によるスペクトルは2つの薬剤の判別の指標になると考えられた。また、EPI分析により得られたスペクトルを比較することで、食品成分等の夾雑物との判別が可能であり、EPI分析による得られる構造情報が定性分析に有効であると考えられた。

## 2. 試験溶液調製法の検討

抽出操作を効率よく行なうためカートリッジカラムによる精製について検討した。通知法ではHPLCで分析するため、カートリッジカラムからの溶出時に40%メタノール水溶液と70%アセトニトリル水溶液に分画して溶出しているが、LC/MS/MSでの分析ではHPLCでの分離が

不完全でも別々に定量、確認することができる。そこで溶出操作の簡略化を検討し、溶出力の強い70%アセトニトリル水溶液のみで溶出することとした。またカートリッジカラムは適用範囲が広く、乾燥に強いなどの操作性に優れているOasisHLB<sup>®</sup>の適用について検討したところ、多くの薬剤で良好な結果が得られた。

## 3. 添加回収試験

本法を用い牛肉、豚肉、鶏肉に各薬剤を0.1  $\mu$ g/gになるように添加して、添加回収試験を行なった。回収率はマトリックスによるイオン化抑制の影響を避けるため、サンプル抽出液に標準物質を添加して作成したマトリックス検量線を用いて求めた。結果は表1に示した。オラキンドックス、クロサンテールは回収が得られず、ナイカルバジン、ジクラズリルは牛肉及び鶏肉で、ノボピオシンは牛肉で夾雑物の影響を受けた。ベンズイミダゾール系駆虫剤では回収率が50%に満たないものがあり、抽出操作等に検討が必要であると考えられた。他の薬剤では回収率が概ね70~120%、相対標準偏差は15%以内であり、日常検査に適用可能であることが確認された。

## まとめ

畜産物中の動物用医薬品の分析について、イオントラップLC/MS/MSの活用を検討した。サルファ剤等の合成抗菌剤を対象に検討を実施したところ、MRM分析により高感度な分析が可能となり、またEPI分析により同定の指標として有効な化合物の構造情報が得られた。

ポジティブリスト制施行に向けて、多成分一斉分析をより確実に実施するために、高感度で構造情報を得ることができるイオントラップLC/MS/MSのMRM、EPIによる分析は有用な手段であることがわかった。

(平成18年7月20日受理)

## 文 献

- 「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」：厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知，食安発第1129002号，(平成17年11月29日)
- 野口昭一郎，寺田久屋，田村征男：LC/MS/MSを用いた畜水産食品中の動物用医薬品の一斉分析法，第90回日本食品衛生学会学術講演会抄録，101(2005)