

短報

LC-MS/MSを用いた畜水産物中の動物用医薬品一斉分析法の妥当性評価

甲斐茂美, 小菅教仁, 脇ますみ, 岸 弘子

Validation study of a LC-MS/MS method for simultaneous determination of veterinary drugs in livestock products and seafoods

Shigemi KAI, Norihito KOSUGE,
Masumi WAKI and Hiroko KISHI

緒 言

食品中に残留する農薬, 飼料添加物及び動物用医薬品(以下, 農薬等)に関する試験法は厚生省告示の「食品・添加物等の規格基準」(以下, 告示)¹⁾ 及び厚生労働省通知の「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」(以下, 通知)²⁾ で定められている。これに関連して, 平成22年12月に「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」が改正され(以下, ガイドライン)³⁾, 食品の規格基準への適否判定のために使用される試験法については, 独自に開発した試験法のみならず告示・通知による試験法についても, ガイドラインに基づく妥当性評価の実施が求められることとなった。

そこで当所では, 近年の検査状況等を考慮した上で, 試験法の妥当性評価方法に関連する食品衛生試験検査業務管理規定等の所内文書を整備するとともに, 農薬等試験法の妥当性評価を実施した。今回, LC-MS/MSを用いた畜水産物中の動物用医薬品一斉分析法の妥当性評価結果について報告する。

方 法

1. 試料

妥当性評価に用いる食品の品目は, 成分の特徴, 抽出法の違い及び収去の頻度等を考慮し代表的な食品を選択し, 神奈川県内で市販されていた畜水産物10品目(牛筋肉, 豚筋肉, 鶏筋肉, 鶏卵, 乳, エビ, サケ, ウナギ

(白焼き), イカ, はちみつ)を用いた。

2. 試薬

分析対象薬剤は, 表1に示した合成抗菌剤, 抗生物質, 寄生虫駆虫剤等68薬剤とした。これら薬剤の標準物質は和光純薬株, 関東化学株及び林純薬株の残留農薬分析用標準品またはその同等品を用いた。標準物質をそれぞれアセトニトリルまたはメタノールに溶解して100 µg/mLの標準原液を調製した。各標準原液を混合しメタノールを用いて1 µg/mLとし混合標準原液を調製した。混合標準原液を40%アセトニトリル水溶液で適宜希釈し混合標準溶液を調製した。

アセトニトリルは和光純薬株の残留農薬試験用またはLC-MS用, n-ヘキサン, 無水硫酸ナトリウムは和光純薬株の残留農薬試験用, ぎ酸は和光純薬株のLC-MS用, 1-プロパノールは和光純薬株の特級を用いた。

3. 装置及び分析条件

HPLC条件:

装置: Prominenceシリーズ(島津製作所製)

カラム: Mightysil RP-18GP (2.0mm i.d.×150mm, 3 µm, 関東化学株式会社製)

カラム温度: 40℃

流速: 0.2mL/分

移動相: A; 0.1%ぎ酸 B; アセトニトリル

グラジェント条件; 直線グラジェント

A (95%) → 20分 → A (1%) (5分保持)

注入量: 10 µL

MS/MS条件:

装置: 3200Qtrap (エービー・サイエックス社製)

イオン化法: エレクトロスプレー(ESI)

イオンスプレー電圧: 5000V, -4000V

イオンソース温度: 600℃

ネブライザーガス圧: 70psi

イオンスプレーガス圧: 80psi

薬剤ごとのMRM測定における選択イオンは表1に示した。

4. 試験溶液の調製

試験溶液の調製は, 厚生労働省の示した通知試験法「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法 I (畜水産物)」²⁾ に準じた。細切し均一に混和した試料5.00gを量り採り, アセトニトリル30mL, アセトニトリル飽和n-ヘキサン20mL及び無水硫酸ナトリウム10 gを加え, ホモジナイズした後毎分3,000回転で5分間遠心分離しアセトニトリル層を分取した。はちみつの場合は5.00gを量り採り, 水3mLを加え軽く混和した後同様に操作した。残ったn-ヘキサン層及び残留物にアセトニトリル20 mLを加えてホモジナイズした後, 毎分3,000回転で

表1 MRM測定の実験イオン、保持時間及び妥当性評価結果

分析対象薬剤	MRM Trace (m/z)	極性	保持 時間	牛筋肉				豚筋肉				鶏筋肉				鶏卵				乳			
				真度 (%)		S/N比	判定	真度 (%)		S/N比	判定	真度 (%)		S/N比	判定	真度 (%)		S/N比	判定	真度 (%)		S/N比	判定
				0.01ppm	0.1ppm			0.01ppm	0.1ppm			0.01ppm	0.1ppm			0.01ppm	0.1ppm			0.01ppm	0.1ppm		
アンブロリウム	243→150	+	1.76	109.0	110.4	231	×	72.5	77.4	237	○	76.1	45.7	248	×	68.6	90.2	913	×	58.8	93.8	393	×
スルファグアニジン	215→156	+	2.17	87.3	69.3	25	×	61.4	56.1	18	×	60.6	52.5	13	×	109.8	90.3	36	×	40.6	48.2	48	×
オラキンドックス	264→143	+	5.39	119.6	91.8	15	×	19.9	10.2	31	×	55.3	35.1	44	×	166.3	37.0	28	×	48.9	28.5	56	×
5-ヒドロキシチアベンダゾール	218→191	+	5.70	76.7	83.3	833	○	77.4	89.0	1543	○	82.4	71.0	1113	○	99.0	102.2	1017	○	100.2	95.4	1270	×
スルファセタミド	215→156	+	5.93	101.8	94.4	41	×	89.0	94.6	51	○	82.4	79.1	39	○	78.1	73.3	58	○	72.0	80.6	60	○
レバミゾール	205→178	+	5.96	104.2	74.1	1783	○	85.4	88.4	3193	○	94.3	89.5	1620	○	75.3	87.1	1923	○	95.7	92.1	3400	×
5-プロピルスルホニル-1H- ベンズイミダゾール-2-アミン	240→133	+	6.16	86.4	90.7	284	×	96.7	86.4	1243	×	86.7	81.3	1017	×	69.4	92.7	1023	×	94.3	89.5	1083	×
リンコマイシン	407→126	+	6.16	45.1	73.68	98	×	77.9	76.9	1320	×	64.8	56.8	1933	×	97.9	76.8	5200	×	48.2	78.4	5333	×
ジアベリジン	261→123	+	6.27	83.8	85.0	420	○	77.2	83.1	587	○	82.0	84.2	460	×	77.4	110.7	1130	×	91.3	107.6	700	×
チアベンダゾール	202→175	+	6.36	77.5	70.2	1957	○	104.2	91.4	3173	○	86.3	89.1	2207	○	89.2	89.3	2510	×	95.7	93.4	2433	○
クロビドール	192→101	+	6.43	86.6	82.2	116	○	86.8	80.5	264	○	95.3	80.7	328	○	91.1	92.4	423	×	74.7	90.6	257	×
スルファジアジン	251→156	+	6.51	97.1	91.0	213	○	82.3	94.4	390	○	108.3	89.8	297	○	82.7	89.1	357	○	92.9	81.4	427	×
トリメトプリム	291→123	+	6.64	104.5	78.7	403	○	92.8	75.2	633	○	80.6	93.6	710	○	112.5	92.1	727	×	89.1	84.8	467	×
マルボフロキサシン	363→72	+	6.65	113.7	82.2	55	○	117.2	86.6	155	×	98.0	62.3	33	×	37.7	64.6	143	×	42.1	121.4	186	×
ノルフロキサシン	320→276	+	6.84	70.3	55.3	65	×	61.7	73.4	130	×	27.2	64.2	152	×	55.1	47.5	107	×	90.0	78.2	67	○
ピランテル	207→150	+	6.85	84.6	100.3	580	○	113.8	99.6	803	○	72.3	91.3	773	×	93.0	83.9	447	×	61.8	82.4	533	×
オフロキサシン	362→318	+	6.87	107.5	92.8	130	○	103.8	95.4	172	×	100.1	72.9	87	×	104.8	77.8	269	×	117.1	89.9	154	×
スルファチアゾール	257→156	+	6.94	98.8	97.0	154	○	81.5	76.4	186	○	106.6	91.9	249	×	74.8	82.6	200	○	91.9	83.2	393	×
シプロフロキサシン	332→288	+	6.98	61.0	53.5	49	×	60.7	74.2	88	×	43.4	56.2	101	×	71.7	48.6	140	×	65.2	93.5	81	×
オルメトプリム	275→123	+	6.99	91.9	74.0	593	○	81.6	69.4	723	×	95.4	65.6	923	×	99.9	80.2	927	○	106.4	98.1	1707	×
ダノフロキサシン	358→82	+	7.17	142.6	91.1	77	×	92.0	88.0	81	○	99.8	97.0	118	○	218.5	152.6	88	×	140.4	89.0	88	×
スルファピリジン	250→156	+	7.19	90.5	81.3	166	○	87.3	107.8	189	○	108.6	98.0	293	○	78.2	90.0	667	○	90.6	76.0	457	×
エンロフロキサシン	360→316	+	7.36	91.9	72.0	149	○	119.6	97.4	224	○	80.0	102.6	301	○	99.0	82.6	271	×	112.6	96.4	740	○
アザペロン	328→123	+	7.43	94.4	91.2	947	○	96.7	86.8	1133	○	94.1	82.5	1257	○	83.8	80.1	2410	○	100.6	85.6	1143	○
オルビフロキサシン	396→352	+	7.51	74.4	77.8	297	○	87.4	84.9	287	×	84.6	81.0	301	×	79.5	86.3	970	×	117.1	100.5	980	○
メシナラム	326→167	+	7.55	1970.6	23.7	49	×	27.0	46.3	91	×	4954.3	335.6	112	×	3.0	0.0	73	×	2042.4	0.0	133	×
スルファメラジン	265→92	+	7.58	89.4	94.6	127	○	94.1	83.0	214	○	107.0	85.6	118	×	74.3	85.1	306	○	92.4	83.4	170	○
サラフロキサシン	366→299	+	7.85	87.8	75.6	168	○	76.9	82.5	288	○	65.0	70.5	251	×	89.0	65.6	168	×	96.3	89.2	257	○
ジフロキサシン	400→356	+	7.93	98.4	84.2	56	○	109.4	100.5	81	○	92.6	91.8	173	○	104.6	85.5	140	×	93.1	95.4	125	○
モランテル	221→123	+	7.94	94.2	93.5	320	×	93.0	92.4	430	○	89.4	95.9	278	×	88.3	84.3	280	○	88.6	92.4	460	○
チアンフェニコール	353→185	-	8.08	115.5	99.1	51	○	99.1	102.5	102	○	103.0	103.2	65	○	108.9	98.6	82	○	94.3	80.1	90	○
スルファジミジン	279→ 92	+	8.36	92.6	82.2	280	○	95.2	103.1	413	○	82.5	86.7	547	○	77.2	85.2	747	○	73.8	88.9	790	×
スルファメトキシピリダジン	281→156	+	8.45	102.2	82.6	513	×	71.4	99.0	737	○	101.6	78.7	1143	○	72.2	83.7	537	○	52.5	93.8	793	×
ピリメタミン	249→177	+	8.77	85.7	80.3	367	○	82.4	79.3	480	○	83.8	75.8	440	×	95.6	107.3	630	○	114.4	104.2	783	×
チルミコシン	435→174	+	8.89	95.2	75.3	123	×	57.4	90.7	118	×	7.8	69.9	331	×	125.7	84.5	583	×	45.5	98.4	106	×
アクロド	201→138	+	8.95	83.7	103.8	45	×	99.0	90.5	100	○	97.1	98.6	101	○	88.2	102.4	130	×	82.2	91.9	67	○
スルファモノメトキシ	281→156	+	9.12	102.6	87.0	221	○	96.7	101.1	253	○	86.2	112.1	410	○	93.4	82.3	620	○	72.2	79.8	271	○
オキシベンダゾール	250→176	+	9.20	40.0	34.1	1073	×	99.3	67.6	1110	×	67.6	75.4	2580	×	130.6	84.6	1130	×	65.0	89.4	1160	×
クロルヘキシジン	505→170	+	9.41	20.4	3.0	48	×	75.0	10.2	41	×	87.1	12.3	25	×	50.0	7.7	25	×	9.8	26.9	49	×
スルファクロルピリダジン	285→156	+	9.46	90.8	87.2	308	○	87.5	83.9	290	○	87.8	98.1	314	○	79.6	76.1	259	○	40.9	91.6	460	×
スルファドキシ	311→156	+	9.89	94.3	86.2	780	○	82.6	90.0	773	○	91.0	103.1	753	○	74.6	81.5	1353	○	59.5	94.1	1007	×
スルファメトキサゾール	254→156	+	9.94	98.5	92.3	197	○	89.6	90.7	228	○	92.3	103.2	363	○	77.2	87.7	293	○	85.4	84.2	262	○
エリスロマイシン	734→158	+	10.00	83.7	73.2	597	○	86.2	74.2	1060	○	73.3	78.0	1493	○	73.3	74.4	1283	×	70.2	82.9	1330	○
2-アセチルアミノ-5- ニトロチアゾール	186→139	-	10.10	93.4	88.2	1157	○	95.2	82.3	1007	○	97.4	94.8	857	○	97.8	105.0	487	○	84.2	74.1	533	○
フロルフェニコール	356→185	-	10.10	107.6	99.2	417	○	105.9	92.2	677	○	109.5	102.1	493	○	105.9	110.8	510	○	111.4	97.4	547	○
タイロシン	917→174	+	10.40	54.4	82.1	88	×	39.5	73.0	82	×	75.1	60.9	223	×	82.9	72.6	137	○	2.1	55.6	75	×
オキサリニック酸	262→160	+	10.50	86.3	79.0	47	○	106.7	100.0	29	○	105.0	98.0	39	○	176.6	134.7	24	×	107.4	101.6	25	○
ミロキサシン	264→215	+	10.50	16.6	9.2	214	×	11.9	6.0	292	×	18.6	11.6	236	×	5.5	19.4	282	×	3090.4	232.8	261	×
チアムリン	494→192	+	10.80	94.6	94.6	2687	○	91.9	80.6	3257	○	103.1	86.5	1827	×	85.5	75.6	1813	○	109.8	100.5	2893	○
エトバベート	236→192	-	11.00	88.5	89.4	30	○	99.8	93.2	41	○	107.1	103.1	13	○	108.0	113.6	313	○	78.2	90.6	62	○
スルファベンズアミド	277→156	+	11.00	89.4	82.6	139	×	84.3	88.7	219	○												

表1 続き

分析対象薬剤	MRM (m/z)	極性	保持 時間	エビ				サケ				ウナギ(白焼き)				イカ				はちみつ			
				真度(%)		S/N比	判定	真度(%)		S/N比	判定	真度(%)		S/N比	判定	真度(%)		S/N比	判定	真度(%)		S/N比	判定
				0.01ppm	0.1ppm			0.01ppm	0.1ppm			0.01ppm	0.1ppm			0.01ppm	0.1ppm			0.01ppm	0.1ppm		
アンブロリウム	243→150	+	1.76	111.7	96.5	41	×	109.0	110.4	86	×	68.8	64.9	324	×	55.1	77.8	99	×	0.0	0.0	397	×
スルファグアニジン	215→156	+	2.17	104.2	64.9	51	×	94.3	69.3	43	×	72.6	59.0	24	×	59.5	52.7	63	×	35.7	34.1	164	×
オラキンドックス	264→143	+	5.39	98.7	35.5	12	×	119.6	91.8	9	×	68.0	35.7	89	×	10.4	5.7	38	×	17.1	11.1	98	×
5-ヒドロキシチアベンダゾール	218→191	+	5.70	73.4	89.2	1357	○	76.7	83.3	600	○	67.6	94.2	1063	×	89.9	87.3	407	○	73.7	59.4	727	×
スルファセタミド	215→156	+	5.93	89.8	83.8	21	○	91.8	89.3	26	○	91.2	79.5	48	○	94.8	80.9	51	○	48.7	52.9	47	×
レバミゾール	205→178	+	5.96	87.8	91.3	2463	○	104.2	74.1	1707	○	84.3	94.6	2837	○	76.2	77.8	533	○	88.9	90.3	1233	○
5-プロピルスルホニル-1H- ベンズイミダゾール-2-アミン	240→133	+	6.16	90.2	108.5	870	○	86.4	90.7	700	○	88.2	91.8	1183	○	87.8	84.8	740	○	52.1	35.7	613	×
リンコマイシン	407→126	+	6.16	75.4	78.9	1713	○	74.3	85.0	1457	○	76.1	94.5	3467	×	79.5	74.4	188	○	2.7	3.4	6000	×
ジアベリジン	261→123	+	6.27	90.6	95.3	407	○	89.8	91.4	357	○	71.5	84.0	553	○	89.2	81.0	274	○	34.8	17.9	307	○
チアベンダゾール	202→175	+	6.36	80.2	117.3	1690	○	77.5	70.2	1210	○	96.2	92.4	1413	○	87.2	93.1	667	○	102.9	111.7	1590	×
クロビドール	192→101	+	6.43	86.7	78.1	129	○	86.6	82.2	98	○	85.2	96.4	273	○	101.1	88.1	142	○	92.1	111.6	283	×
スルファジアジン	251→156	+	6.51	86.2	90.0	244	○	97.1	91.0	113	○	75.7	98.2	65	○	87.9	84.0	260	○	47.2	49.0	407	×
トリメトプリム	291→123	+	6.64	81.7	89.4	393	○	104.5	78.7	243	○	72.2	91.8	367	○	94.4	91.0	333	○	38.7	42.2	152	×
マルボフロキサシン	363→72	+	6.65	81.0	76.3	83	○	97.6	89.8	111	○	125.2	87.8	51	×	72.1	89.3	36	○	44.0	53.9	199	×
ノルフロキサシン	320→276	+	6.84	118.1	55.7	70	×	70.3	55.3	45	×	91.8	71.3	69	○	60.8	69.6	50	×	11.5	19.6	72	×
ピランテル	207→150	+	6.85	90.4	85.8	553	○	84.6	100.3	430	○	108.5	102.1	873	×	87.8	74.8	417	×	88.0	80.9	483	○
オフロキサシン	362→318	+	6.87	129.3	89.0	142	×	107.5	92.8	76	○	95.4	95.8	214	○	100.5	89.6	255	○	58.6	54.8	131	×
スルファチアゾール	257→156	+	6.94	72.9	71.4	161	○	98.8	97.0	99	○	103.1	96.3	193	○	93.4	88.9	164	○	41.8	47.2	163	×
シブフロキサシン	332→288	+	6.98	79.4	52.6	50	×	61.0	53.5	71	×	83.7	65.9	92	×	60.4	70.0	53	×	0.0	27.0	59	×
オルメトプリム	275→123	+	6.99	91.0	82.4	730	○	91.9	74.0	347	○	62.1	88.2	673	×	87.6	94.1	357	×	59.3	48.9	410	×
ダノフロキサシン	358→82	+	7.17	90.7	102.2	46	○	110.2	91.1	33	○	117.4	87.2	38	×	79.1	87.0	26	○	56.1	51.4	52	×
スルファピリジン	250→156	+	7.19	75.7	100.1	210	○	90.5	81.3	192	○	75.9	91.4	347	○	85.2	89.3	145	○	21.4	45.0	207	×
エンロフロキサシン	360→316	+	7.36	117.9	115.6	259	○	91.9	72.0	212	○	106.6	100.0	207	○	96.4	92.5	126	○	71.1	76.3	161	×
アザペロン	328→123	+	7.43	89.1	95.8	1287	○	94.2	95.2	617	○	93.9	96.3	840	○	80.7	83.2	397	○	13.7	52.4	700	×
オルビフロキサシン	396→352	+	7.51	77.9	79.8	370	○	74.4	77.8	233	○	79.0	90.1	360	○	79.5	94.0	173	○	87.7	90.5	270	○
メシリナム	326→167	+	7.55	0.0	0.0	1100	×	288.0	0.0	303	×	231.2	9.1	347	×	32.8	38.5	287	×	20.4	8.6	373	×
スルファメラジン	265→92	+	7.58	70.6	86.3	88	○	89.4	94.6	109	○	82.2	107.4	109	○	91.8	78.5	59	○	47.4	49.5	156	×
サラフロキサシン	386→299	+	7.85	91.4	77.9	205	○	87.8	72.4	198	○	79.5	73.9	144	○	80.7	85.1	117	○	67.3	72.9	201	×
ジフロキサシン	400→356	+	7.93	90.2	116.7	123	○	98.4	84.2	64	○	96.3	107.0	94	○	98.0	88.8	173	○	93.8	90.6	104	×
モランテル	221→123	+	7.94	90.7	88.1	427	○	94.2	93.5	327	○	94.9	95.8	503	×	84.4	92.1	148	○	90.0	117.4	467	○
チアンフェニコール	353→185	-	8.08	105.4	108.2	53	○	115.3	97.4	62	○	96.2	103.0	117	○	90.2	90.3	88	○	97.1	99.4	84	○
スルファジミジン	279→92	+	8.36	77.2	85.3	937	○	92.6	82.2	241	○	86.2	93.4	266	○	94.1	86.9	161	○	42.6	20.8	407	×
スルファメトキシピリダジン	281→156	+	8.45	73.8	91.9	463	○	102.2	82.6	256	○	56.0	94.9	400	×	95.6	83.3	240	○	35.7	47.4	740	×
ピリメタミン	249→177	+	8.77	82.6	84.1	543	○	59.1	54.8	271	×	59.4	82.2	30	×	60.0	73.9	231	×	72.0	75.5	299	×
チルミコシン	435→174	+	8.89	93.9	89.9	175	○	99.0	94.7	108	○	86.5	97.8	117	×	93.9	93.8	91	×	80.1	74.7	159	×
アクロミド	201→138	+	8.95	89.0	100.0	68	○	92.3	102.7	47	○	91.9	100.4	72	○	88.0	75.8	21	×	103.6	87.5	41	○
スルファモノメトキシ	281→156	+	9.12	86.2	87.5	497	○	102.6	87.0	147	○	73.8	98.2	182	○	87.5	89.4	159	○	45.0	58.0	285	×
オキシベンダゾール	250→176	+	9.20	78.3	83.0	1217	○	40.0	34.1	1230	×	99.3	86.2	142	○	82.2	82.2	730	○	93.2	101.1	433	○
クロルヘキシジン	505→170	+	9.41	26.6	3.4	24	×	0.0	0.2	5	×	92.5	9.7	13	×	1.1	7.5	30	×	44.9	17.4	19	×
スルファクロルピリダジン	285→156	+	9.46	72.0	81.4	94	○	90.8	87.2	133	○	83.6	79.2	193	×	83.0	85.9	210	○	41.4	53.5	284	×
スルファドキシ	311→156	+	9.89	72.6	89.4	563	○	94.3	86.2	580	○	82.6	89.2	643	○	94.1	94.8	370	×	35.4	40.7	943	×
スルファメトキサゾール	254→156	+	9.94	79.3	85.8	161	○	98.5	92.3	117	○	83.4	96.2	126	○	87.1	87.8	238	○	44.9	52.2	380	×
エリスロマイシン	734→158	+	10.00	82.7	82.1	797	○	85.5	87.5	580	○	103.7	86.7	1177	○	87.5	80.5	383	○	20.3	16.3	587	×
2-アセチルアミノ-5- ニトロチアゾール	186→139	-	10.10	104.6	81.1	520	○	92.3	74.9	427	○	81.4	91.3	957	○	78.7	94.0	980	×	97.5	98.0	1173	○
フロロフェニコール	356→185	-	10.10	106.2	109.3	301	○	98.9	99.0	210	○	98.1	99.0	291	○	99.2	96.8	347	○	105.6	110.8	330	○
タイロシン	917→174	+	10.40	42.8	68.8	71	×	78.2	75.6	61	○	53.3	88.2	96	×	54.4	62.5	58	×	74.3	83.5	51	○
オキシリニック酸	262→160	+	10.50	88.7	87.6	35	○	86.3	79.0	13	○	71.6	94.6	25	○	94.4	89.0	39	○	106.5	99.3	22	×
ミロキサシン	264→215	+	10.50	36.3	47.2	182	×	48.4	47.4	163	×	20.8	6.7	216	×	69.1	60.8	118	×	51.0	68.2	263	×
チアムリン	494→192	+	10.80	89.4	111.0	3533	○	100.1	93.6	1167	○	73.9	102.2	2797	○	93.6	80.7	2120	○	79.1	93.0	3063	○
エトバベート	236→192	-	11.00	94.3	95.5	16	○	105.6	91.4	7	×	91.5	99.3	249	○	72.6	97.8	199	×	96.0	96.3	151	○
スルファベンズアミド	277→156	+	11.00	75.0	85.4	547	○	89.4	8														

5分間遠心分離した。アセトニトリル層を合わせ、n-プロパノール10 mLを加えて、40℃以下で濃縮し溶媒を除去した。得られた残留物に40%アセトニトリル水溶液2.0mLを加えて溶かした。1mLを分取しアセトニトリル飽和n-ヘキサン0.5mLを積層して毎分13,000回転で5分間遠心分離し、アセトニトリル層を分取し試験溶液とした。

5. 検量線の作成

定量に用いる検量線はマトリックス添加標準溶液を用いて作成した。畜水産物毎に、あらかじめ評価対象の薬剤を含まないことを確認した試料（以下、ブランク試料）を用いて「4.試験溶液の調製」に従い抽出操作を行い、溶媒除去後の残留物に40%アセトニトリル水溶液1.0mLを加えて溶かした。これにアセトニトリル飽和n-ヘキサ

ン0.5mLを積層して毎分13,000回転で5分間遠心分離し、分取したアセトニトリル層をマトリックス溶液とした。これに混合標準溶液を（1：1）になるように加えマトリックス添加標準溶液とした。検量線は、添加濃度を100%としたときの50, 75, 100, 125, 150%の5濃度で作成した、相関係数0.99以上の直線検量線とした。

6. 妥当性評価

畜水産物毎に、ブランク試料に評価する薬剤を添加し試験法に従って分析し、その結果から評価する性能パラメータを求め、それぞれの目標値に適合しているかどうか評価した。試料への薬剤の添加濃度は検体中濃度で0.1及び0.01ppmの2点とした。ガイドラインで示された性能パラメーター及びその目標値を表2に示した。

表2 妥当性評価の性能パラメーターおよび目標値

性能パラメーター		目標値			
1. 真度(試行回数 5回)	70～120%				
2. 精度(自由度 4以上)	添加濃度 0.01ppmのとき	併行精度	25%未満	室内精度	30%未満
	添加濃度 0.1ppmのとき	併行精度	15%未満	室内精度	20%未満
3. 定量限界	定量限界濃度に相当するマトリックス標準溶液から得られるピークはS/N比≧10であること				
4. 選択性	① 定量限界≦基準値の1/3のとき	妨害ピークの許容範囲<基準値濃度に相当するピークの1/10			
	② 定量限界>基準値の1/3のとき	妨害ピークの許容範囲<定量限界濃度に相当するピークの1/3			
	③ 基準値が「不検出」のとき	妨害ピークの許容範囲<定量限界濃度に相当するピークの1/3			

結果および考察

1. マトリックスの影響の評価

食品におけるLC-MS/MSの分析では、試料中のマトリックスが目的成分のイオン化に影響を与えることが懸念される。そこで試料中に含まれるマトリックスが測定に与える影響について評価した。

試料中濃度0.1及び0.01ppmに相当するマトリックス添加標準溶液及び混合標準溶液を用いて、マトリックス添加標準溶液の混合標準溶液に対するピーク面積の比（以下、マトリックスファクター；MF）を求め、結果を表3に示した。マトリックスの影響についての評価は、MF < 0.8 の場合はイオン化抑制あり、MF > 1.2 の場合はイオン化促進ありとした⁴⁾。保持時間の短いアンプロリウム、スルファグアニジンでは、強いイオン化抑制がみられた。一方、マルボフロキサシン、ノルフロキサシン、シプロフロキサシン、ダノフロキサシン等キノロン系薬剤で強いイオン化促進がみられた。いずれの品目でもマトリックスの影響を受ける薬剤があることから、定量値に影響を与えることが推測されたため、定量にはマトリッ

クス添加標準溶液による検量線を用いることとした。

2. 妥当性評価

評価した性能パラメーターのうち、真度試験結果及び定量限界濃度に相当するマトリックス添加標準溶液のピークのS/N比を表1に示した。また、併行精度または室内精度が目標値を満たさなかったものは、表1の該当する欄を塗りつぶして表示した。選択性については、目標値を満たさなかった場合は該当する欄に下線を付した。定量限界と基準値の関係から、表2に示した選択性の目標値（①～③）のうち、5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン（牛筋肉）は①、メチルプレドニゾロン（サケ）は②、リファキシミン（豚筋肉、鶏卵、乳、エビ、サケ、ウナギ白焼き、イカ、はちみつ）は③に該当し、それぞれの食品由来の妨害ピークが許容範囲を超えていた。真度、精度、選択性、定量限界の各性能パラメーターが全て目標値を満たした場合は、表1の判定欄に○を、目標を満たさなかった場合は×を記した。評価した動物用医薬品68項目中、各品目毎の適合項目数はエビが最多で53項目、はちみつが最少で24項目で

表3 マトリックスの影響の評価

分析対象薬剤	保持時間	マトリックス ファクター																			
		牛筋肉		豚筋肉		鶏筋肉		鶏卵		乳		エビ		サケ		ウナギ(白焼き)		イカ		はちみつ	
		0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1	0.01	0.1
アンブロリウム	1.76	0.04	0.08	0.04	0.07	0.06	0.08	0.27	0.36	0.05	0.10	0.02	0.02	0.03	0.03	0.04	0.10	0.00	0.01	0.21	0.40
スルファグアニジン	2.17	0.13	0.28	0.17	0.29	0.15	0.31	0.22	0.26	0.20	0.36	0.18	0.27	0.23	0.34	0.13	0.19	0.17	0.22	0.46	0.61
オラキンドックス	5.39	0.27	0.55	0.50	0.47	0.38	0.68	0.52	0.65	0.55	0.72	0.88	0.88	0.68	0.82	0.35	0.46	0.30	0.41	0.37	0.51
5-ヒドロキシチアベンダゾール	5.70	0.85	0.59	0.93	0.85	1.08	0.93	1.81	1.18	1.73	1.04	1.02	0.75	0.91	0.58	0.88	0.79	1.11	1.01	0.62	0.89
スルファセタミド	5.93	0.72	0.56	0.88	0.88	0.88	0.71	0.94	0.94	1.07	1.09	0.55	0.60	0.56	0.65	0.65	0.68	0.59	0.68	0.69	0.82
レバミゾール	5.96	0.73	0.67	0.90	0.87	0.81	0.96	0.87	0.90	1.01	0.98	0.84	0.83	0.70	0.72	0.71	0.74	0.38	0.47	0.82	1.02
5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	6.16	2.28	0.89	0.96	0.81	1.44	0.93	1.06	1.04	0.86	1.06	0.92	0.90	0.84	0.87	0.96	0.94	0.82	0.80	1.06	1.08
リンコマイシン	6.16	1.95	1.03	1.21	1.12	1.27	1.01	1.02	1.24	1.17	1.58	0.99	0.98	0.95	0.91	1.16	0.94	1.43	0.98	2.01	1.49
ジアペリジン	6.27	0.45	0.75	0.75	1.30	0.65	0.77	0.95	0.86	0.71	0.80	0.66	0.68	0.54	0.63	0.52	0.78	0.38	0.63	1.15	1.08
チアベンダゾール	6.36	0.91	0.63	0.83	1.00	1.02	0.96	1.47	0.97	0.76	1.02	0.88	0.95	0.63	0.78	0.65	0.82	0.57	0.78	1.10	1.04
クロピドール	6.43	0.51	0.66	0.97	1.08	0.82	0.98	1.69	0.93	0.83	0.98	0.92	0.86	0.66	0.71	0.69	0.77	0.36	0.61	0.91	0.96
スルファジアジン	6.51	0.53	0.77	0.88	0.88	0.73	0.98	0.74	1.07	0.92	0.99	0.88	0.96	0.69	0.89	0.55	0.80	0.42	0.87	0.85	1.17
トリメトプリム	6.64	0.71	0.78	1.14	0.98	1.24	0.84	0.89	1.10	0.78	0.93	0.92	0.82	0.69	0.70	0.86	0.89	0.48	0.63	0.93	1.10
マルボフロキサシン	6.65	1.29	0.90	1.47	1.12	1.89	1.38	1.19	1.24	1.12	1.51	1.56	1.02	1.20	0.96	0.74	1.09	1.21	0.96	1.28	1.15
ノルフロキサシン	6.84	4.68	1.95	2.19	1.97	4.11	2.30	1.79	2.07	1.53	1.99	2.38	1.57	1.98	1.57	1.41	1.59	1.48	1.44	3.93	1.54
ピランテル	6.85	0.85	0.89	1.06	0.87	0.79	0.92	1.22	1.12	1.03	0.93	0.99	0.93	0.88	0.78	0.97	0.91	0.59	0.72	1.06	1.11
オフロキサシン	6.87	1.59	1.01	1.20	1.06	2.90	1.59	1.52	1.31	1.47	1.45	1.28	1.03	0.96	0.89	0.98	0.95	0.96	0.97	0.78	1.00
スルファチアゾール	6.94	0.80	0.95	1.07	0.99	1.10	0.97	1.07	1.01	1.12	1.11	1.03	1.03	0.86	1.08	0.67	0.79	0.54	0.79	0.75	1.06
シフロフロキサシン	6.98	3.80	1.73	2.15	1.70	5.59	1.67	1.61	1.87	1.37	1.12	1.89	1.51	1.62	1.63	1.41	1.57	0.98	1.26	2.81	2.00
オルメトプリム	6.99	1.64	0.96	1.14	0.98	1.51	1.13	1.05	1.47	0.88	1.13	0.84	0.95	0.67	0.85	0.80	1.01	0.43	0.69	1.02	1.50
ダノフロキサシン	7.17	3.69	2.16	2.00	2.11	7.55	3.12	1.53	1.92	2.11	2.06	7.95	2.04	4.61	2.02	1.78	1.23	0.99	1.00	3.01	1.22
スルファピリジン	7.19	0.99	1.03	0.93	1.11	1.26	1.18	1.14	1.12	0.84	1.02	1.20	1.12	1.05	1.11	0.55	0.77	0.67	0.87	0.82	1.08
エノフロキサシン	7.36	1.37	1.19	1.16	1.14	1.81	1.35	1.09	1.35	1.47	1.37	1.39	1.11	1.24	1.06	1.15	0.98	0.99	1.10	1.51	1.16
アザペロン	7.43	0.72	0.94	1.02	1.26	0.75	0.95	1.06	1.01	0.85	1.11	0.81	0.92	0.68	0.82	0.67	1.06	0.28	0.59	0.76	1.33
オルビフロキサシン	7.51	1.36	0.80	1.34	1.14	1.25	0.99	1.43	1.38	1.09	1.18	0.85	0.98	0.81	0.82	1.02	0.83	0.88	0.85	1.05	1.01
メシリナム	7.55	0.78	1.16	1.23	1.35	1.02	1.12	0.85	0.89	1.43	1.20	1.01	1.11	0.89	0.89	1.21	1.01	0.81	1.05	0.98	1.06
スルファメラジン	7.58	0.66	0.95	0.86	0.94	0.97	1.09	1.01	0.92	0.86	1.14	1.29	1.07	0.92	0.99	0.59	0.77	0.61	0.76	0.58	0.80
サラフロキサシン	7.85	1.74	0.97	1.38	1.08	2.32	2.17	1.03	1.20	2.09	0.95	1.14	1.04	1.07	0.97	0.97	1.04	1.10	1.06	1.28	1.44
ジフロキサシン	7.93	1.32	1.02	0.96	1.21	1.59	1.08	1.54	1.15	0.87	1.30	1.08	0.90	0.90	0.93	0.88	0.93	0.93	0.96	1.72	1.12
モランテル	7.94	0.96	0.96	1.68	1.04	1.12	1.18	1.09	1.15	0.98	0.94	1.15	1.04	1.15	1.04	1.34	1.04	0.61	0.76	1.67	1.25
チアンフェニコール	8.08	1.15	0.93	0.89	0.97	0.99	1.01	0.86	0.84	0.72	0.71	0.91	0.86	0.97	0.85	0.76	0.78	0.88	0.95	0.78	0.74
スルファジミジン	8.36	0.71	0.93	0.92	1.06	1.09	1.18	1.01	1.43	1.27	1.03	1.48	1.18	1.11	1.01	0.62	0.84	0.59	0.76	0.72	1.10
スルファメトキシピリダジン	8.45	0.91	0.94	1.23	1.08	1.13	1.38	0.94	1.11	1.17	1.08	1.22	1.16	0.94	1.06	0.60	0.84	0.52	0.86	0.92	1.15
ピリメタミン	8.77	1.50	0.88	1.11	0.96	1.70	1.00	1.29	1.15	1.25	1.05	0.82	0.90	0.75	0.81	0.74	0.78	0.60	0.80	1.01	1.12
チルミコン	8.89	0.96	1.38	1.29	1.21	1.56	0.96	1.10	1.09	1.31	1.38	3.78	1.10	2.99	0.99	2.36	1.20	1.06	1.19	3.58	1.52
アクロミド	8.95	0.69	0.76	0.92	0.74	0.77	0.93	0.93	0.90	0.73	0.81	0.93	0.88	0.58	0.60	0.69	0.64	0.80	0.85	0.58	0.56
スルファモノメトキシ	9.12	1.07	1.13	1.01	1.10	1.05	1.05	1.11	1.09	1.00	0.92	0.95	0.92	0.79	0.89	0.73	0.81	0.79	0.93	0.71	1.13
オキシベンダゾール	9.20	0.97	0.96	0.91	1.11	1.16	1.05	0.97	0.96	0.99	1.08	0.94	0.91	0.72	0.81	0.83	0.91	0.68	0.84	1.41	1.19
クロルヘキシジン	9.41	6.21	1.47	5.73	1.63	6.46	1.28	2.29	1.35	7.01	1.30	20.36	1.66	12.17	1.20	2.92	1.04	0.71	0.70	5.96	0.96
スルファクロルピリダジン	9.46	0.91	0.94	1.14	1.08	0.89	1.82	0.73	0.96	1.08	1.19	0.99	0.96	0.70	0.76	0.58	0.66	0.74	0.86	0.91	1.09
スルファドキシ	9.89	0.81	1.06	0.94	1.27	0.99	1.21	1.08	0.92	1.01	1.04	1.03	1.02	0.74	0.89	0.61	0.84	0.71	0.89	0.86	1.29
スルファメトキサゾール	9.94	0.90	0.83	0.83	0.90	1.14	1.04	1.02	1.05	0.99	0.97	0.83	0.86	0.68	0.76	0.73	0.72	0.72	0.94	0.91	0.95
エリスロマイシン	10.00	0.71	0.78	1.13	1.08	1.16	0.89	1.00	0.93	1.24	1.05	1.14	0.95	1.11	0.94	1.17	1.06	0.59	0.68	0.74	0.82
2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール	10.10	1.08	1.04	1.24	1.04	1.00	1.06	0.85	0.86	0.98	0.98	1.00	0.97	0.88	0.85	1.01	0.96	1.11	1.03	0.88	0.89
フロロフェニコール	10.10	1.42	1.16	1.53	1.13	1.08	1.10	1.07	0.99	1.11	1.00	1.12	1.04	1.27	1.00	1.24	1.02	1.11	0.96	1.03	1.00
タイロシン	10.40	0.88	1.22	1.58	1.25	1.39	1.10	1.25	1.00	1.40	1.24	1.37	1.18	1.65	1.26	1.32	1.24	0.63	0.60	1.00	1.02
オキシリニック酸	10.50	0.97	0.88	1.01	1.16	1.24	1.18	0.93	1.12	0.95	1.05	0.91	1.00	0.62	0.67	1.01	0.80	0.74	0.83	0.84	0.93
ミロキサシン	10.50	1.33	1.11	1.19	1.13	1.10	1.16	0.82	1.18	1.10	1.08	1.02	1.04	0.95	1.02	1.03	0.94	0.78	0.90	1.14	1.19
チアムリン	10.80	1.25	0.88	1.09	1.04	1.79	1.21	1.03	0.97	0.69	0.83	1.07	1.00	0.69	0.76	0.93	0.86	0.75	0.75	0.76	1.19
エトバベート	11.00	0.77	0.79	0.89	0.77	0.95	0.97	0.95	0.91	0.99	0.96	0.97	0.91	0.48	0.46	0.81</					

あった。はちみつ、乳、鶏卵等で適合項目数が少なかったことの要因としては、本試験法では食品由来の妨害物質のうち、糖分、タンパク質等の除去が不十分であること等が考えられた。今後食品のマトリックスに応じた精製方法の検討が必要であると思われる。

(平成26年8月1日受理)

参考文献

- 1) 厚生省告示第370号：食品，添加物等の規格基準（昭和34年12月28日）
- 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，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（食安発第0124001号，平成17年1月24日）
- 3) 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（食安発1224第1号，平成22年12月24日）
- 4) Economou A., Botitsi H., Antoniou S. and Tsipi D.: Determination of multi-class pesticides in wines by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry, J. Chromatogr. A., **1216**, 5856-5867 (2009)