

高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計による 畜水産物中の動物用医薬品一斉試験法の妥当性評価

細木伸泰 滝川香織 小金澤望 牧里江*¹ 宮本啓二 宮田 淳

要 旨

厚生労働省通知平成 22 年 12 月 24 日付け食安発 1224 第 1 号により「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」が改正されたことを受け、より多種の動物用医薬品と食品を検査対象とした一斉試験法の確立を目指し、厚生労働省通知による「HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 I」に基づく試験法を検討した。

妥当性評価ガイドラインに従って新規一斉試験法の妥当性評価を行ったところ、食肉、魚介類及び鶏卵について、30～37 項目の動物用医薬品で良好な結果が得られたので報告する。

1. 緒 言

本市における残留動物用医薬品の検査については、平成 22 年に、厚生労働省通知による「HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法Ⅲ」に基づく検査を導入し、体制の強化を図ってきたところである。同年 12 月 24 日付けで「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」(以下「ガイドライン」という。)が改正¹⁾され、妥当性評価の期限日とされる平成 25 年 12 月 13 日以降は、国の示した試験法に従う場合であっても、ガイドラインに基づく試験法の妥当性評価が必須とされた。しかし、妥当性評価には非常に多くの時間、労力及び費用を要するため、検査体制の見直しや検査法の集約、省力化を図っていく必要がある。一斉試験法については、より多種の動物用医薬品を分析対象とし、より多種の食品に適用できることが望ましいと考えられたため、新たに、厚生労働省通知による「HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 I」²⁾(以下「通知 I 法」という。)に基づく試験法を検討し、ガイドラインに従って試験法の妥当性評価を行った。

2. 方 法

2-1 試 料

本市で残留動物用医薬品の取去検査の対象としている牛の筋肉、豚の筋肉、羊の筋肉、鶏の筋肉、すずき目魚類(鯛)、甲殻類(えび、非加熱品)及び鶏卵を用いた。畜産物の筋肉については可能な限り脂肪層を除き、他の食品については非可食部を取り除いた上で包丁、ブレンダー等により均一化し試料とした。均一化した試料は 35g 程度の小分けにして密封し、冷凍保管した。試料は検査時に解凍して使用し、再凍結した試料は用いないこととした。

2-2 試薬及び標準液

(1) 試 薬

抽出用アセトニトリル、ヘキサン及び無水硫酸ナトリウムは関東化学(株)製残留農薬試験用グレードを、HPLC 移動相用アセトニトリル、ギ酸及びメタノールは和光純薬(株)製 LC/MS 用グレードを、1-プロパノールは和光純薬(株)製特級試薬を用いた。

*1 現保健福祉局保健所食の安全推進課

(2) 標準液

オキシリニック酸はアセトニトリルに、その他の標準品はメタノールに溶解し、合計 42 成分の測定対象物質について 100 μ g/mL の標準液とした。標準品が難溶である場合は超音波処理を行い溶解した。

2-3 装置及び分析条件

(1) HPLC 条件

装置：Waters 社製 Acquity UPLC

カラム：Acquity UPLC BEH C18 2.1 \times 100mm, 1.7 μ m

移動相：A \cdots 0.1vol%ギ酸

B \cdots 0.1vol%ギ酸含有アセトニトリル

流速：0.3mL/分

グラジエント条件：(A:B) = (95 : 5) \rightarrow 7 分 \rightarrow

(80 : 20) \rightarrow 5 分 \rightarrow (10 : 90) \rightarrow 3 分 \rightarrow (10 : 90)

\rightarrow 0.1 分 \rightarrow (95 : 5) ポストラン 5 分

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

注入量：10 μ L

(2) MS/MS 条件

装置：Waters 社製 Quattro Premier XE

イオン化法：ESI(+), (-)

キャピラリー電圧：3.5kV(+), 3.0kV(-)

ソース温度：120 $^{\circ}$ C

脱溶媒温度：400 $^{\circ}$ C

脱溶媒ガス流量：800L/時

コーンガス流量：50L/時

分析モード：MRM

MRM 条件：フローインジェクション分析により決定した(表 1)

2-4 試験溶液の調製

通知 I 法に従い試験溶液の調製を行った(図 1)。

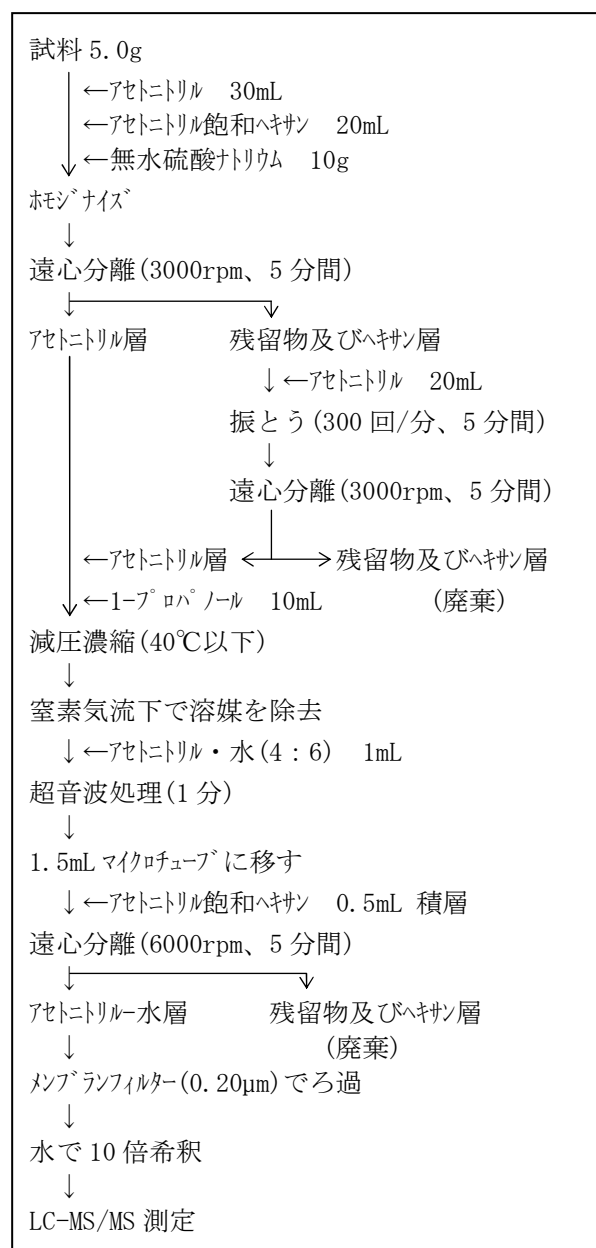


図 1：試験溶液調製フロー図

表1：MRM条件

分類	測定対象物質	ESI モード	プロリカーサーイオン (<i>m/z</i>)	コン電圧 (V)	プロダクトイオン (<i>m/z</i>)	コリジョン電圧 (V)
抗 生 物 質	エリスロマイシン A	+	734.5	35	158.0	35
	タイロシン A	+	916.6	65	174.1	41
	バネシニアマイシン	+	526.3	29	508.2	11
	ハルネムリン	+	565.4	29	263.1	20
	ミロサマイシン	+	728.4	44	158.0	29
	メシリナム	+	326.1	35	167.0	23
合 成 抗 菌 剤	スルファキノキサリン	+	301.1	32	155.9	14
	スルファクロピリタジン	+	285.0	26	155.8	14
	スルファシメジン	+	251.0	26	155.9	17
	スルファシメジン	+	279.1	29	185.9	17
	スルファシメトキシ	+	311.1	35	155.9	20
	スルファチアゾール	+	256.0	26	155.9	14
	スルファトキシ	+	311.0	35	155.9	17
	スルファエトラン	+	336.4	29	155.8	14
	スルファピリジン	+	250.0	29	155.9	14
	スルファヘンズアミド	+	277.1	23	155.9	17
	スルファメトキサゾール	+	254.0	29	155.9	17
	スルファメキシピリタジン	+	281.1	32	155.9	17
	スルファメラジン	+	265.1	29	155.8	14
	スルファモノメトキシ	+	281.1	32	155.9	17
スルフイソゾール	+	240.0	26	155.9	14	
そ の 他	N,N'-ビス(4-ニトロフェニル)ウレア ^{※1}	-	301.0	23	136.8	11
	エトパネート	+	238.0	20	206.0	11
	オキシリニック酸	+	262.0	23	244.0	17
	オラキントックス	+	264.1	32	142.9	32
	オルメトロリム	+	275.1	44	122.9	23
	クロピトール	+	191.8	50	100.9	26
	サラフロキサシン	+	386.1	38	299.1	26
	チアンフェニコール	+	356.1	20	308.1	14
	トリメトロリム	+	291.1	41	230.1	23
	ナリシクス酸	+	233.1	32	214.8	14
	ピリメタミン	+	249.0	50	176.9	29
	寄 生 虫 駆 除 剤	アルベンダゾール代謝物 ^{※2}	+	240.2	44	132.8
オキシベンダゾール		+	250.0	32	175.9	26
チアベンダゾール		+	202.2	43	174.9	24
チアベンダゾール代謝物 ^{※3}		+	218.2	49	190.9	26
ピラントール		+	207.1	47	149.9	29
フルベンダゾール		+	313.9	32	281.8	24
モランテル		+	221.0	44	164.0	26
レバミゾール	+	205.1	42	177.8	20	
そ の 他	エチプロストン	+	433.3	11	371.2	5
	エチプロストン	-	431.2	38	92.9	47
	ラクタミン	+	302.2	23	164.0	14

※1 ナイカルバジンの測定対象物質

※2 5-プロピルスルホニル-1H-ベンゾイミダゾール-2-アミン

※3 5-ヒドロキシチアベンダゾール

2-5 妥当性評価の方法

妥当性評価はガイドラインに基づく以下の方法で、表 2~4 に示す妥当性評価の目標値と比較して評価を行った。

表 2：真度及び精度の目標値

添加濃度 (ppm)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
0.01	70~120	25 >	30 >
0.10	70~120	15 >	20 >

表 3：選択性の目標値

基準値	妨害ピーク/基準値濃度相当ピーク
0.03 ≤	1/10 未満
< 0.03	1/3 未満

表 4：定量限界の目標値

項目	目標値
真度及び精度	添加濃度 0.01ppm で表 2 を満足
S/N 比	定量限界濃度に相当するピークで 10 以上

(1) 真度及び精度

各試料について、試験実施者 1 名が 1 日 1 回 (2 併行)、5 日間実施する枝分かれ実験計画に従い、0.01ppm 及び 0.10ppm の 2 濃度で添加回収試験を行った。得られたデータから平均真度、併行精度及び室内精度を算出して評価した。

(2) 選択性

添加回収試験の実施ごとに、標準品を添加しない試料 (試料ブランク) について試験を行い、試料ブランクから得られた試験溶液と標準液で検出されたピーク面積を比較して評価した。

(3) 定量限界

残留基準値 0.01ppm である物質及び残留基準値が設定されていない物質について、試料ブランクから得られた試験溶液を用いて 0.01ppm に相当するマトリックス添加標準液を調製して分析し、クロマトグ

ラムから S/N 比を計算した。S/N 比の計算結果と (1) の添加濃度 0.01ppm における真度及び精度の結果を合わせて評価した。

3. 結果

3-1 試験法の検討

(1) グラジエント条件について

移動相組成は、各物質が類似の保持時間に集中しすぎず、かつ 1 回の分析時間が平衡化時間を含めて 25 分程度となるようなグラジエント条件を検討した。移動相の初期条件 (A:B=95:5) で 30 分程度平衡化した状態から、検討したグラジエント条件により標準液を数回連続で測定したところ、各物質について保持時間の変動はなかった。また、共通または類似の MRM 条件となっている、スルファジメトキシシン及びスルファドキシシン、スルファメトキシピリダジン及びスルファモノメトキシシンが充分に分離されていたため、本グラジエント条件を採用した。

(2) 試験溶液の希釈倍率及び希釈溶媒について

標準品の感度の確認を行ったところ、感度良くピークを検出できる濃度は数 ng/mL 程度であったため、抽出・精製で得られた試験液を 10 倍希釈し LC-MS/MS 測定に供することとした (5ng/mL 標準液が定量限界 0.01ppm に相当)。

アセトニトリル・水 (4:6) 混液を用いて 10 倍希釈した場合、オラキンドックス等の保持時間の短い物質のピーク形状が悪化した。そこで、水を用いて希釈したところピーク形状が改善したため、希釈溶媒には水を用いることとした。

(3) 標準液の調製について

試験溶液中の夾雑物の影響によりピークの増減が見られたため、標準液はマトリックスを添加して調製することとした。標準液に添加するマトリックス量は、試験溶液中のマトリックス量と同量とした。

3-2 妥当性評価結果

(1) 真度及び精度

真度及び精度の測定結果は表 5~11 のとおり。

表5：真度及び精度（牛の筋肉）

物質名	0.01ppm			0.10ppm		
	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
エリスロマイシン A	30.4	13.6	100.0	66.6	3.7	13.3
タイロシン A	73.5	6.4	24.9	78.5	3.6	18.6
バニルニアマイシン	78.4	20.0	34.1	101.1	6.2	16.3
バルネムリン	97.8	4.6	31.0	98.5	2.0	15.6
ミロサマイシン	97.3	8.3	19.1	109.0	2.1	10.1
メシリナム	34.9	23.5	64.8	43.3	11.4	60.4
スルファキノキサリン	90.4	9.3	18.4	96.5	4.8	8.6
スルファクロルピリダジーン	98.3	8.0	11.4	100.5	5.5	14.1
スルファジニアジーン	95.8	9.3	18.9	99.4	2.6	14.2
スルファジミジーン	94.3	5.1	8.9	103.3	1.4	9.6
スルファジメトキシ	98.3	4.6	13.7	98.7	3.4	9.8
スルファチアゾール	91.5	9.9	15.5	95.8	2.7	9.8
スルファトキシ	94.7	6.0	6.9	102.6	2.2	4.1
スルファニトラン	84.0	21.1	26.4	90.8	6.4	6.4
スルファピリジーン	89.6	7.7	11.5	96.6	3.5	11.9
スルファベンズアミド	83.6	6.3	11.6	93.2	3.3	8.3
スルファメトキサゾール	95.7	6.0	16.9	99.6	5.2	9.0
スルファメトキシピリダジーン	90.6	5.9	11.6	97.1	5.3	6.6
スルファメテジーン	97.7	8.9	8.9	100.0	4.0	11.3
スルファモノメトキシ	87.2	10.2	17.8	99.3	2.7	8.0
スルフイソゾール	88.0	11.6	16.0	98.9	2.5	6.7
N,N'-ビス(4-ニトロフェニル)ウレア	59.5	35.8	47.5	54.0	7.8	18.7
エトパベート	101.7	7.5	13.5	112.6	2.8	13.6
オキソリニック酸	77.9	21.2	26.5	77.6	11.7	17.7
オラキントックス	68.0	11.9	32.6	70.6	13.2	31.2
オルメトプリム	88.3	6.1	20.0	99.5	2.0	13.0
クロピトール	95.5	10.3	19.7	96.8	4.4	9.8
サラフロキサシン	81.7	37.3	50.9	73.1	15.5	24.5
チアンフェニコール	107.1	20.5	35.9	109.7	8.2	9.1
トリメトプリム	90.8	8.4	15.7	100.6	2.2	12.3
ナリジクス酸	91.9	19.6	30.5	104.6	4.9	30.4
ピリメタミン	93.8	4.0	22.8	97.8	1.4	14.7
アルベンタゾール代謝物	91.5	6.5	17.8	99.0	2.3	14.5
オキシベンタゾール	90.9	3.3	22.5	98.0	2.1	20.8
チアベンタゾール	94.6	4.0	12.8	101.5	1.2	8.3
チアベンタゾール代謝物	90.2	6.9	16.9	94.6	1.7	8.9
ピランテル	104.3	7.7	14.6	98.7	1.8	12.1
フルベンタゾール	124.4	13.7	80.5	143.2	6.3	73.1
モランテル	106.3	10.1	18.1	97.8	2.7	19.3
レバミゾール	112.1	9.8	23.3	112.7	1.4	23.9
エチプロストン(+)	92.8	27.8	34.6	94.5	11.3	12.1
エチプロストン(-)	85.1	17.6	17.6	85.6	3.6	4.9
ラクトアミン	76.1	4.1	20.4	84.7	1.3	7.0

注) 網掛け部分はガイドラインの目標値を満足しなかった項目を表す

表 6：真度及び精度（豚の筋肉）

物質名	0.01ppm			0.10ppm		
	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
エリスロマイシン A	58.0	24.7	62.3	70.5	4.9	15.6
タイロシン A	82.5	7.1	29.6	77.3	5.0	19.6
バネジニアマイシン	87.0	10.3	32.1	96.9	4.2	13.1
バルネムリン	97.6	3.0	12.5	92.2	3.3	17.0
ミロサマイシン	88.6	2.8	10.2	97.8	2.7	10.9
メシリナム	31.3	23.9	70.6	41.4	5.7	58.3
スルファキノキサリン	94.4	6.1	7.6	93.0	2.5	3.0
スルファクロルピリダジーン	94.9	7.8	10.0	96.1	2.7	9.0
スルファジニアジーン	88.7	7.5	7.6	98.6	3.3	7.8
スルファジニミジーン	93.4	6.4	6.9	95.3	3.1	4.2
スルファジメトキシ	90.0	5.6	5.8	97.2	2.5	4.5
スルファチアゾール	85.0	8.0	11.0	91.2	5.1	6.9
スルファトキシ	95.5	3.5	8.1	98.8	1.6	4.8
スルファニトラン	95.4	16.7	21.1	90.9	5.9	14.3
スルファピリジーン	88.9	8.1	8.1	90.9	2.9	4.3
スルファベンズアミド	86.6	6.9	9.0	91.2	3.7	4.6
スルファメトキサゾール	88.3	5.5	5.8	96.1	2.7	5.0
スルファメキシピリダジーン	96.4	5.8	7.1	94.9	4.6	4.6
スルファメテジーン	92.1	7.6	8.9	94.4	1.5	5.4
スルファモノメトキシ	87.8	4.3	8.4	96.3	4.4	6.6
スルファイソゾール	91.8	6.7	7.4	94.0	3.6	3.6
N, N'-ピペリス(4-ニトロフェニル)ウレア	103.2	74.7	91.8	114.0	7.2	119.5
エトパヘート	93.5	6.8	10.3	99.4	3.0	6.3
オキソリニック酸	78.2	9.2	10.1	84.6	5.2	11.0
オラキントックス	85.3	8.6	12.8	82.1	15.3	15.3
オルメトプリム	85.7	5.2	7.0	86.3	2.5	9.5
クロピトール	87.3	9.0	10.7	94.1	4.1	5.8
サラフロキサシン	89.4	13.9	17.5	89.6	4.5	14.6
チアンフェニコール	87.1	12.8	17.4	101.8	6.4	12.9
トリメトプリム	85.8	2.0	11.0	92.2	4.1	8.1
ナリジクス酸	87.3	12.1	14.1	81.8	10.2	15.2
ピリメタミン	83.1	7.0	14.0	81.9	3.6	11.0
アルベンタゾール代謝物	87.6	8.0	13.3	90.1	3.9	7.9
オキシベンタゾール	76.1	4.4	16.4	72.9	1.9	17.2
チアベンタゾール	89.1	5.6	9.9	92.7	3.6	10.3
チアベンタゾール代謝物	85.1	6.7	9.1	90.0	1.9	10.2
ピランテル	111.9	8.1	17.9	99.8	8.8	11.0
フルベンタゾール	90.0	11.4	29.2	73.2	5.3	30.2
モランテル	117.1	4.0	19.3	102.2	12.8	14.1
レバミゾール	97.7	7.7	15.7	96.9	3.6	8.5
エチプロストン(+)	121.5	21.1	31.4	89.3	11.5	11.5
エチプロストン(-)	94.2	3.5	13.9	96.5	4.5	12.2
ラクトアミン	71.6	7.3	15.7	81.0	3.5	8.5

注) 網掛け部分はガイドラインの目標値を満足しなかった項目を表す

表7：真度及び精度（羊の筋肉）

物質名	0.01ppm			0.10ppm		
	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
エリスロマイシン A	36.9	41.3	71.2	62.4	3.0	46.7
タイロシン A	35.1	31.3	72.3	62.9	20.4	21.8
バニジン	99.5	3.1	13.7	99.3	7.7	11.8
バルネムリン	93.3	5.9	22.1	91.2	3.7	10.5
ミロサマイシン	97.5	7.1	10.6	100.2	3.2	8.8
メシリナム	34.2	25.6	99.1	22.2	16.6	137.8
スルファキノキサリン	99.0	6.4	20.3	99.8	3.2	7.7
スルファクロルピリダジン	102.4	8.3	12.2	105.2	3.0	12.7
スルファジニジン	93.6	9.1	9.4	103.9	4.0	7.9
スルファジニジン	100.7	8.4	17.8	110.1	2.4	9.2
スルファジニジン	97.7	6.2	14.0	102.4	4.8	9.7
スルファチアゾール	95.2	6.0	13.8	100.3	2.8	7.9
スルファトキシジン	108.8	4.8	9.0	110.0	4.8	9.4
スルファニトラン	93.2	17.0	41.8	86.7	7.4	11.3
スルファピリジン	92.2	7.6	17.7	98.9	3.5	8.4
スルファベンズアミド	88.6	7.5	15.1	97.7	5.2	9.1
スルファメトキサゾール	101.8	13.5	19.6	105.1	4.9	9.2
スルファメトキシピリダジニジン	100.9	6.8	12.2	106.1	5.3	10.9
スルファメテジン	110.2	6.3	18.6	109.2	3.3	12.7
スルファモノメトキシジン	91.0	10.1	19.0	103.4	4.6	5.7
スルファイソゾール	85.3	14.3	18.9	101.2	1.4	3.3
N, N'-ビス(4-ニトロフェニル)ウレア	55.7	47.5	69.8	48.7	18.5	45.7
エトパハート	108.3	8.5	17.2	105.3	3.7	11.9
オキソリニック酸	95.9	10.1	10.9	93.2	8.2	9.7
オラキントックス	103.3	11.1	21.5	104.7	5.9	25.3
オルメトプリム	92.8	13.4	20.3	94.4	3.0	7.8
クロピトール	97.3	12.0	14.0	104.1	3.6	7.7
サラフロキサジン	112.0	7.0	7.0	85.8	4.3	9.5
チアンフェニコール	99.6	20.2	20.4	101.5	4.8	10.0
トリメトプリム	85.4	6.5	24.1	98.3	4.1	5.1
ナリジクス酸	132.1	14.4	42.5	100.0	7.9	22.6
ピリメタミン	88.5	10.2	18.3	89.1	4.3	10.4
アルベンタゾール代謝物	91.4	13.4	18.8	94.0	4.6	9.3
オキシベンタゾール	82.5	10.2	18.4	82.4	2.4	12.8
チアベンタゾール	93.5	10.0	21.0	98.6	3.8	4.5
チアベンタゾール代謝物	75.4	14.9	51.1	93.8	3.2	5.1
ピラントール	110.5	7.1	20.3	114.1	4.5	19.3
フルベンタゾール	162.3	18.4	86.2	86.9	10.8	38.1
モランテル	121.4	11.3	30.4	118.5	7.1	27.0
レバミゾール	120.4	13.3	26.3	105.2	3.7	15.6
エチプロストン(+)	95.3	32.8	32.9	88.2	13.2	13.7
エチプロストン(-)	92.6	11.6	11.6	89.9	3.5	6.3
ラクトアミン	75.4	8.0	17.3	84.9	3.5	7.7

注) 網掛け部分はガイドラインの目標値を満足しなかった項目を表す

表 8：真度及び精度（鶏の筋肉）

物質名	0.01ppm			0.10ppm		
	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
エリスロマイシン A	88.3	10.0	22.1	82.2	5.5	8.1
タイロシン A	98.9	12.0	19.9	88.8	4.6	17.4
バニジンアマイシン	97.0	9.7	14.2	90.2	4.7	13.6
バルネムリン	121.3	5.5	8.0	97.8	5.1	15.8
ミロサマイシン	109.8	8.5	11.5	101.3	3.6	7.8
メシリナム	20.1	12.6	141.1	21.5	9.8	137.3
スルファキノキサリン	97.1	10.4	10.4	92.4	5.7	7.5
スルファクロルピリダジーン	103.7	11.6	13.0	98.9	2.3	4.6
スルファジニジン	103.4	6.9	13.6	100.4	3.5	6.3
スルファジニジン	101.4	6.8	6.8	100.5	2.4	5.0
スルファジメトキシ	99.4	7.2	7.2	95.5	2.9	6.1
スルファチアゾール	96.1	11.9	11.9	97.0	4.8	5.4
スルファトキシ	99.8	8.4	8.4	100.1	2.1	4.4
スルファニトラン	92.9	14.0	15.3	91.0	9.9	10.9
スルファピリジン	96.1	10.8	13.0	93.1	3.9	6.6
スルファベンズアミド	89.9	12.4	12.4	92.0	2.4	5.4
スルファメトキサゾール	103.2	8.3	8.3	99.0	4.8	4.8
スルファメトキシピリダジーン	98.1	6.9	8.0	97.6	2.7	3.8
スルファメジン	105.3	7.7	8.7	97.6	3.9	4.6
スルファモノメトキシ	98.3	7.9	9.2	96.9	3.6	6.3
スルフイソゾール	96.5	13.4	13.4	98.7	5.5	5.5
N, N'-ピペリス(4-ニトロフェニル)ウレア	229.9	28.6	84.7	76.4	28.7	76.3
エトパベート	103.0	11.8	12.6	98.5	5.8	5.8
オキソリニック酸	90.1	7.5	7.5	84.4	6.1	8.4
オラキントックス	100.7	17.8	19.9	95.8	3.9	15.1
オルメトプリム	92.7	8.0	13.0	93.9	4.0	4.1
クロピトール	98.0	10.6	11.8	97.7	3.7	3.8
サラフロキサシン	106.2	14.8	16.9	87.8	3.6	8.6
チアンフェニコール	110.5	18.1	18.1	101.5	6.1	9.2
トリメトプリム	95.3	9.2	11.8	95.6	3.2	4.3
ナリジククス酸	91.8	12.9	22.2	88.9	38.4	38.4
ピリメタミン	84.2	11.0	11.6	83.8	6.9	6.9
アルベンタゾール代謝物	88.3	6.4	19.3	93.1	5.9	5.9
オキシベンタゾール	59.3	11.6	12.9	60.0	7.0	8.9
チアベンタゾール	91.2	6.7	9.2	91.5	3.0	3.7
チアベンタゾール代謝物	95.0	8.3	9.6	89.0	1.9	3.7
ピランテル	107.4	9.5	9.5	98.3	6.3	12.2
フルベンタゾール	85.3	7.9	28.1	72.8	23.1	23.1
モランテル	112.2	6.0	9.3	101.8	6.9	20.6
レバミゾール	103.5	5.8	17.7	101.5	7.2	9.9
エチプロストン(+)	79.2	31.1	31.1	98.5	7.0	11.7
エチプロストン(-)	99.4	13.4	21.7	96.9	3.6	7.4
ラクトアミン	77.8	10.4	11.5	80.8	2.3	6.6

注) 網掛け部分はガイドラインの目標値を満足しなかった項目を表す

表9：真度及び精度（すずき目魚類（鯛））

物質名	0.01ppm			0.10ppm		
	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
エリスロマイシン A	88.3	7.2	17.9	88.6	4.3	12.7
タイロシン A	89.1	9.2	13.9	89.5	6.3	9.5
バネジニアマイシン	99.8	13.4	13.4	94.4	7.8	13.3
バルネムリン	104.7	4.5	10.4	92.7	3.4	8.3
ミロサマイシン	99.6	5.9	9.0	104.4	3.1	6.5
メシリナム	47.3	18.4	31.8	61.8	5.7	11.2
スルファキノキサリン	91.4	12.2	16.4	91.2	4.0	5.7
スルファクロルピリダジーン	96.5	6.8	13.5	97.4	2.4	4.6
スルファジニアジーン	97.4	7.1	7.7	101.5	3.0	6.7
スルファジニミジーン	99.4	6.0	6.0	101.8	3.6	5.9
スルファジメトキシシ	95.8	8.3	8.3	98.8	2.8	5.5
スルファチアゾール	95.5	3.4	6.3	95.7	3.8	6.8
スルファトキシシ	97.8	3.6	7.4	101.3	2.3	3.9
スルファニトラン	101.1	20.4	21.8	95.3	2.0	6.1
スルファピリジーン	96.4	8.3	10.0	97.3	3.1	4.0
スルファベンズアミド	90.0	9.5	10.6	90.6	1.5	6.4
スルファメトキサゾール	95.4	7.1	7.8	100.3	3.0	4.7
スルファメトキシピリダジーン	96.0	10.5	10.5	97.0	3.2	5.9
スルファメテジーン	91.4	11.9	11.9	96.6	3.1	6.7
スルファモノメトキシシ	99.1	8.0	9.5	99.0	2.5	5.5
スルファイソゾール	93.3	13.5	13.9	96.7	4.2	6.1
N, N'-ピペリス(4-ニトロフェニル)ウレア	65.1	12.5	20.1	51.8	9.3	20.5
エトパヘート	102.8	8.4	9.3	101.3	4.6	5.8
オキソリニック酸	94.2	8.3	15.0	95.5	12.3	14.6
オラキントックス	81.2	6.4	18.4	89.9	5.7	10.3
オルメトプリム	85.8	7.4	11.1	93.2	3.6	6.1
クロピトール	96.6	7.2	8.8	99.2	3.8	5.1
サラフロキサシ	96.4	9.7	17.6	82.6	14.5	18.5
チアンフェニコール	90.9	41.4	41.4	101.6	6.2	8.8
トリメトプリム	90.6	6.5	10.1	98.1	3.4	5.5
ナリジクス酸	88.2	4.7	10.7	93.1	9.7	9.9
ピリメタミン	84.0	9.1	9.6	84.5	5.0	6.7
アルベンタゾール代謝物	89.7	4.0	5.0	90.8	3.8	6.3
オキシベンタゾール	78.4	7.6	9.0	76.0	4.7	10.1
チアベンタゾール	92.8	4.1	11.9	92.9	2.9	3.7
チアベンタゾール代謝物	87.7	7.7	9.8	95.6	4.5	5.3
ピラントール	103.6	2.7	9.1	98.5	3.0	6.6
フルベンタゾール	89.8	8.6	21.6	81.7	9.4	15.0
モランテル	109.1	9.7	9.7	102.7	3.7	6.9
レバミゾール	98.0	6.0	9.5	97.9	5.5	6.3
エチプロストン(+)	82.4	30.6	34.3	100.7	8.7	21.1
エチプロストン(-)	83.3	15.8	17.9	91.5	4.1	5.4
ラクトアミン	72.4	3.0	5.0	81.4	2.6	5.3

注) 網掛け部分はガイドラインの目標値を満足しなかった項目を表す

表 10：真度及び精度（甲殻類（えび））

物質名	0.01ppm			0.10ppm		
	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
エリスロマイシン A	91.2	12.1	17.0	97.8	3.8	12.0
タイロシン A	76.8	22.2	38.0	85.0	10.5	12.6
バニジンアマイシン	90.0	16.6	23.5	96.3	7.8	8.3
バルネムリン	109.0	9.2	61.2	110.3	4.8	20.5
ミロサマイシン	100.1	6.9	22.7	101.4	4.7	10.8
メシリナム	39.4	8.3	59.2	41.6	2.8	92.4
スルファキノキサリン	85.7	13.2	17.5	105.9	5.2	9.8
スルファクロルピリタジン	79.3	8.9	13.8	106.2	4.6	8.5
スルファジニジン	88.9	7.7	18.9	102.8	5.8	6.4
スルファジニジン	83.2	9.4	14.2	106.5	3.1	11.2
スルファジニジン	90.2	8.8	16.3	107.8	4.8	9.0
スルファチアゾール	86.4	9.0	15.8	102.9	4.2	9.6
スルファトキシシン	88.9	11.4	15.6	109.1	3.5	12.6
スルファニトラン	100.3	14.0	24.4	99.6	6.5	13.8
スルファピリジン	85.1	10.4	20.7	103.5	3.7	6.4
スルファベンズアミド	83.0	9.1	15.3	102.0	4.2	10.1
スルファメトキサゾール	89.2	10.2	12.5	105.5	5.6	10.5
スルファメトキシピリタジニジン	89.3	4.8	9.5	109.0	4.1	8.1
スルファメジン	86.7	12.5	22.4	104.5	3.4	8.5
スルファモノメトキシシン	86.3	10.1	21.7	104.3	2.9	10.5
スルファイソゾール	84.1	12.2	15.4	99.2	1.6	7.4
N,N'-ビス(4-ニトロフェニル)ウレア	173.7	38.2	78.9	76.4	2.6	50.2
エトパヘート	90.6	11.3	17.8	107.0	1.8	11.2
オキソリニック酸	81.4	4.0	12.6	96.9	4.9	7.9
オラキントックス	67.6	25.7	28.7	93.6	5.6	11.7
オルメトプリム	84.3	5.9	19.9	99.7	4.3	7.5
クロピトール	85.8	9.8	15.8	102.7	4.5	6.1
サラフロキサシン	105.1	15.0	23.3	102.2	4.5	14.3
チアンフェニコール	79.0	23.7	26.1	104.4	6.7	10.3
トリメトプリム	81.2	8.7	14.6	102.1	2.7	7.1
ナリジククス酸	94.7	12.3	33.9	95.0	7.7	17.7
ピリメタミン	78.4	7.2	23.2	93.0	5.6	7.9
アルベンタゾール代謝物	81.9	9.0	19.2	97.4	5.0	10.6
オキシベンタゾール	79.5	6.4	17.9	88.4	2.9	3.7
チアベンタゾール	79.6	11.6	16.1	99.6	4.3	6.9
チアベンタゾール代謝物	84.0	10.9	21.9	99.0	3.4	7.9
ピランテル	92.7	8.5	17.1	107.0	5.4	16.3
フルベンタゾール	93.4	8.7	30.7	92.2	7.3	21.0
モランテル	99.7	13.2	31.1	113.2	7.0	23.6
レバミゾール	85.9	12.8	19.3	104.8	7.0	12.6
エチプロストン(+)	73.0	18.8	26.1	102.8	8.6	14.9
エチプロストン(-)	98.3	17.7	18.1	94.6	4.5	8.9
ラクトアミン	66.7	10.8	20.1	87.3	2.9	9.4

注) 網掛け部分はガイドラインの目標値を満足しなかった項目を表す

表 11：真度及び精度（鶏卵）

物質名	0.01ppm			0.10ppm		
	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
エリスロマイシン A	103.7	9.9	10.6	94.2	4.8	11.3
タイロシン A	87.1	12.6	12.6	91.6	10.9	13.4
バニジンアマイシン	77.2	22.5	23.9	88.0	10.7	12.6
バルネムリン	189.3	11.6	19.6	116.3	8.0	15.6
ミロサマイシン	94.6	8.5	8.5	91.9	7.9	10.4
メシリナム	48.1	9.8	40.7	44.6	10.2	20.1
スルファキノキサリン	75.2	17.4	24.6	85.1	7.0	11.6
スルファクロルピリダジーン	72.6	14.1	18.2	78.1	12.1	14.4
スルファジニアジーン	73.8	17.0	17.1	84.2	6.7	11.3
スルファジミジーン	89.2	10.6	22.3	92.6	6.9	10.9
スルファジメトキシ	80.3	14.9	14.9	89.6	8.7	12.8
スルファチアゾール	75.6	16.7	24.7	80.8	8.6	12.0
スルファトキシ	83.5	12.6	17.8	89.1	7.0	11.8
スルファニトラン	75.6	19.3	39.2	91.7	9.7	13.4
スルファピリジーン	87.8	11.9	11.9	89.4	6.4	9.7
スルファベンズアミド	75.1	15.0	21.6	79.2	9.7	15.0
スルファメトキサゾール	85.5	15.4	20.1	86.0	7.0	10.4
スルファメキシピリダジーン	88.3	13.7	19.6	89.6	6.1	13.4
スルファメテジーン	83.0	14.5	23.5	89.1	8.7	14.5
スルファモノメトキシ	78.2	11.2	13.9	81.5	8.7	13.6
スルフイソゾール	74.3	20.5	20.5	82.9	8.4	12.6
N, N'-ピペリス(4-ニトロフェニル)ウレア	33.0	27.1	47.5	26.6	39.2	50.2
エトパベート	90.9	8.8	17.8	95.7	3.5	8.7
オキソリニック酸	76.3	11.9	14.8	78.4	5.1	11.4
オラキントックス	98.5	28.7	28.7	85.7	9.1	12.9
オルメトプリム	117.5	13.6	16.2	103.6	5.7	7.6
クロピトール	85.4	13.6	16.9	91.8	6.2	11.7
サラフロキサシン	97.6	17.3	25.4	82.4	6.5	11.5
チアンフェニコール	92.0	24.3	31.5	91.6	14.0	16.9
トリメトプリム	107.5	16.0	16.0	103.0	5.7	7.4
ナリジククス酸	44.3	11.4	38.4	58.1	8.6	11.4
ピリメタミン	138.6	11.9	23.6	104.8	8.4	11.8
アルベンタゾール代謝物	79.9	16.0	28.3	85.6	9.8	12.0
オキシベンタゾール	81.6	7.5	14.5	88.7	4.5	7.2
チアベンタゾール	91.1	8.8	14.7	92.1	3.2	9.0
チアベンタゾール代謝物	85.0	10.1	17.3	86.0	4.5	11.0
ピラントール	92.7	11.5	13.9	79.7	11.9	14.7
フルベンタゾール	72.0	7.9	53.9	78.0	10.9	14.3
モランテル	110.0	8.4	15.9	73.7	8.3	20.5
レバミゾール	103.9	4.2	14.3	95.6	4.6	7.3
エチプロストン(+)	69.3	14.9	50.8	64.2	12.7	20.2
エチプロストン(-)	71.9	18.1	20.9	68.0	9.2	19.9
ラクトアミン	63.7	9.4	39.1	63.4	11.1	21.9

注) 網掛け部分はガイドラインの目標値を満足しなかった項目を表す

(2) 選択性

試料ブランクの測定で検出された妨害ピークは、ほとんどの対象物質において、定量限界相当である 5ng/mL 標準液から得られるピークの 1/10 未満であり、ほぼ全ての対象物質で選択性の目標値を満足した。しかし、ESI ネガティブモードで測定を行うエチプロストン(鶏卵)及びナイカルバジン(豚の筋肉、鶏の筋肉及びえび)、標準品の感度が測定回によって安定しなかったメシリナム(豚の筋肉、羊の筋肉、鶏の筋肉及びえび)においては、目標値を満足しなかった。

(3) 定量限界

定量限界の目標値を満足しなかったものは、ほとんどが添加濃度 0.01ppm での真度及び精度の目標値を満たさないためであり、S/N 比についてはほぼ全ての標準品について 10 以上であった。S/N 比が 10 未満となった物質は、ナリジクス酸(牛の筋肉)、メシリナム(羊の筋肉)及びバージニアマイシン(鯛)であった。

表 2：真度及び精度の目標値

添加濃度 (ppm)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
0.01	70~120	25 >	30 >
0.10	70~120	15 >	20 >

表 3：選択性の目標値

基準値	妨害ピーク/基準値濃度相当ピーク
0.03 ≤	1/10 未満
< 0.03	1/3 未満

表 4：定量限界の目標値

項目	目標値
真度及び精度	添加濃度 0.01ppm で表 2 を満足
S/N 比	定量限界濃度に相当するピークで 10 以上

(4) 妥当性が確認された項目数

チアベンダゾール及びチアベンダゾール代謝物をあわせて 1 項目となるため、測定対象項目は 41 項目である。2 濃度で妥当性が確保された項目、基準値相当濃度が 0.01ppm または 0.10ppm であって当該濃度で妥当性評価の目標値を満たした項目を、妥当性が確認された項目とした。全 41 項目のうち、妥当性が確認された項目 30~37 項目となった(表 12)。従前の一斉試験による検査対象項目は、畜産物の食肉を中心に 25 項目程度であったが食肉については 7~13 項目の増加となった。また、新たに魚介類及び鶏卵について、30 以上の項目を検査対象とした一斉分析が可能となった。

表 12：妥当性が確認された項目数

試料	項目数
牛の筋肉	32
豚の筋肉	37
羊の筋肉	32
鶏の筋肉	35
鯛	37
えび	33
鶏卵	30

4. 考察

4-1 妥当性評価の目標値を満足しなかった物質について

1 種類以上の試料で、添加濃度 0.01ppm 及び 0.10ppm での真度・精度の目標値を満足しなかった物質は、表 13 のとおりであった。

(1) メシリナムについて

メシリナムは全ての試料について真度・精度の目標値を満たさず、特に真度が 30~65% と非常に低く、抽出過程による損失などが疑われた。

加えて、測定日によってはピークが検出されないなど、標準品感度が不安定であった。メシリナムを含むペニシリン系抗生物質については、西村らによりメタノール等の一級アルコールが不可逆

的に付加することが報告されている³⁾。標準液の保存は通知 I 法に従い、原則メタノールを用いることとしていること、濃縮時に 1 級アルコールである 1-プロパノールを用いることなどから、メシリナムのアルコール付加体が生成したこと等が原因であると思われる。

(2) ナイカルバジンについて

ナイカルバジンについても、全ての試料で真度・精度の目標値を満たさなかった。LC-MS/MS による測定では、ナイカルバジンの感度は S/N 比の条件を満たすものの低く、感度のバラツキの影響が大きくなると考えられる。また、厚生労働省から本法と類似の抽出による個別試験法が通知されており、当所でもこれに準じて、カラムによる精製を省いた個別試験法で検討を行ったが、真度が 50～65%程度と低い結果が得られている。以上から、抽出・精製法の再検討が必要であると考えられる。

(3) その他の物質について

真度及び精度が不良であった 12 物質(表 13)のうち、9 物質は保持時間が 7 分以上の成分である。これらの成分は、比較的疎水性が高い物質であると考えられるため、アセトニトリル-ヘキサン分配によるヘキサン層への移行や、抽出後の疎水性夾雑物への吸着等が主な真度・精度不良の原因として考えられる。

4-2 試料による影響

抽出液を濃縮した際に残る夾雑成分は、試料によって差があった。夾雑物の量は豚の筋肉、鶏の筋肉及び鯛では少なく、牛の筋肉及び羊の筋肉ではやや多く、えび及び鶏卵では非常に多かった。えびや鶏卵は他の試料と比較して水分含量が多く、脱水がやや不十分であるため夾雑物が多くなったと考えられる⁴⁾。

夾雑物が多い試料は、精度の値が若干大きくなる傾向があった。これは、抽出液を乾固させた後、アセトニトリル-水(4:6)混液 1mL で残渣を溶解す

る際に生じるバラツキが一因として考えられ、この操作で充分に溶解を行う必要があると思われる。

表 13：真度及び精度が不良であった物質

測定対象物質	不良であった試料数	保持時間(分)
オラキントックス	1	2.16
ラクトパミン	1	5.82 5.91
メシリナム	7	6.23
サラフロキサシ	1	7.35
モランテル	2	7.40
エリスロマイシン A	2	9.60
ナリジクス酸	3	9.64
タイロシン A	1	9.76
フルベンダゾール	3	9.74
エチプロストン(+)	1	10.12
バルネムリン	1	10.30
N,N'-ビス(4-ニトロフェニル)ウレア (ナイカルバジン)	7	10.69

5. 結 語

畜水産物中の動物用医薬品 41 項目(42 成分)について、通知 I 法に準じた一斉試験法を新たに検討した。ガイドラインに従って牛、豚、羊及び鶏の筋肉、鯛、えび及び鶏卵の 7 試料について、添加濃度 0.01ppm 及び 0.10ppm の 2 濃度で妥当性評価を実施したところ、30～37 項目について妥当性が確認された。これまでに動物用医薬品の一斉分析の対象としていなかった鯛、えび及び鶏卵を対象に加えた、より多種の食品に適用可能な一斉分析による検査体制が確立できた。

本試験法は、本市保健所が実施する、食品衛生法に基づく収去検査に用いる分析法として、平成 26 年度から適用を開始する予定となっている。本試験法により効率的に残留動物用医薬品の検査を実施することで、市民に対して、より一層の食の安全・安心の確保に努めていきたい。

6. 文 献

- 1) 厚生労働省：平成 22 年 12 月 24 日付け食安発 1224 第 1 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の一部改正について（別添）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
- 2) 厚生労働省：平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号 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 別添 第 2 章 一斉試験法 HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 I（畜水産物）
- 3) 西村一彦，山口博美，橋本諭 他：HPLC/MS/MS を用いた豚筋肉中の 9 種ペニシリン系抗生物質一斉分析法の検討—メタノール付加体の精製挙動と影響—，日本食品化学会 第 18 回総会・学術大会 講演要旨集，81，2012
- 4) 厚生労働省監修：食品衛生検査指針 動物用医薬品・飼料添加物編 2003，26-41，日本食品衛生協会，2003