

厚生労働省ガイドラインによる残留動物用医薬品一斉試験法の妥当性評価

大月史彦, 肥塚加奈江, 前田大輔, 山本 淳 (衛生化学科)

【資 料】

厚生労働省ガイドラインによる残留動物用医薬品一斉試験法の妥当性評価

Validity Evaluation of Simultaneous Method of Residual Veterinary Drugs by
Guideline of The Ministry of Health, Labor and Welfare

大月史彦, 肥塚加奈江, 前田大輔, 山本 淳 (衛生化学科)
Fumihiko Otsuki, Kanae Koeduka, Daisuke Maeda, Jun Yamamoto

要 旨

サルファ剤を主とする動物用医薬品 23 種について, LC/MS/MSを用いて一斉分析する方法について検討を行い, その妥当性について厚生労働省ガイドラインにより評価を実施した。その結果, 本分析法は妥当であると判断できた。なお, 食品の種類によっては回収率が低く, 同位体標準物質による回収率補正が必要となるため, 前処理法の更なる改善が望まれる。しかし, 分析法は妥当であると評価できたので, SOPを作成し, 動物用医薬品検査を実施した。

[キーワード: 動物用医薬品, 妥当性評価, LC/MS/MS法]

[Key words: Veterinary Drugs, Validity Evaluation, LC/MS/MS]

1 はじめに

動物用医薬品は, 家禽等を病気や寄生虫から守るために用いられているが, その食品への残留については, 食品衛生法で基準が設定されており, 平成 18 年 5 月 29 日のポジティブリスト施行以降は, 残留基準が設定されていないものについては, 0.01ppm の一律基準を超えて残留してはならないとされている。

このような経緯と, 県民の食への安全・安心の関心の高まりを踏まえ, 残留動物用医薬品のモニタリング検査を実施することを決定した。

動物用医薬品の分析法としては, 厚生労働省から「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法III(畜水産物)」として, LC/MS/MSを用いる一斉分析法が示され¹⁾ ている。LC/MS/MS法は, 農薬の一斉分析等でも用いられている高い選択性・再現性を持つ有効な手段である。

しかしながら, 示されている分析法は, 水系溶媒であるメタリン酸を多く用いて抽出を行った後, これを濃縮する作業がある等, 作業が煩雑で時間がかかる難点がある。動物用医薬品の一斉分析法の, 特に前処理に関する文献等^{2~4)}では, 有機溶媒と二種類の固相カラムを用いることにより, 簡単かつ確実にクリーンアップを行える方法があったため, これを参考とした。

今回著者らは, 同法を参考として動物用医薬品の一斉

分析法の検討を行い, その妥当性について, 厚生労働省ガイドライン⁵⁾により妥当性評価を実施したので結果を報告する。

2 実験方法

2.1 試料

市販のエビ, サケ, ホタテ, タコ, イカ, 鶏肉, 豚肉, 牛肉, カニを試料として用いた。

2.2 試薬

1) 動物用医薬品標準原液: β -トレンボロン(和光純薬工業株式会社製) 10.00 mg, エトパバート(和光純薬工業株式会社製) 10.00 mg, オルメトプリム(和光純薬工業株式会社製) 10.00 mg, 酢酸メレンゲステロール(和光純薬工業株式会社製) 10.00 mg, スルファキノキサリン(Riedel-deHaën製) 10.00 mg, スルファクロルピリダジンナトリウム(和光純薬工業株式会社製) 10.81 mg, スルファジアジン(Riedel-deHaën製) 10.00 mg, スルファジミジン(和光純薬工業株式会社製) 10.00 mg, スルファジメトキシシン(Riedel-deHaën製) 10.00 mg, スルファチアゾール(Alfa Aesar製) 10.00 mg, スルファドキシシン(Riedel-deHaën製) 10.00 mg, スルファニトラン(Riedel-deHaën製) 10.00 mg, スルファピリジン(Riedel-

deHaën製) 10.00 mg, スルファメトキサゾール (Riedel-deHaën製) 10.00 mg, スルファメトキシピリダジン (和光純薬工業株式会社製) 10.00 mg, スルファメラジン (Riedel-deHaën製) 10.00 mg, スルファモノメトキシシン-水和物 (和光純薬工業株式会社製) 10.64 mg, ゼラノール (純度 89.6%) (林純薬工業株式会社製) 11.16 mg, チアンフェニコール (和光純薬工業株式会社製) 10.00 mg, トリメトプリム (Riedel-deHaën製) 10.00 mg, レバミゾール塩酸塩 (和光純薬工業株式会社製) 11.78 mg, チアベンダゾール (和光純薬工業株式会社製) 10.00 mg, スルファジアジン-d₄ (林純薬工業株式会社製) 10.00 mg, スルファジメトキシシン-d₆ (和光純薬工業株式会社製) 10.00 mg, スルファチアゾール-d₄ (Toronto Research Chemicals製) 10.00 mg, スルファメトキサゾール-d₄ (林純薬工業株式会社製) 10.00 mgをそれぞれ正確に量り取り, スルファクロルピリダジナトリウムは90%アセトニトリル水溶液で, その他はアセトニトリルで10mLに定容し, 各々1,000 μ g/mLの標準原液とした。このうち, スルファキノキサリン, ゼラノール, チアベンダゾールは冷蔵すると再結晶するので, 使用時に再溶解する等注意が必要であった。

- 2) 動物用医薬品標準液1:1)で調整した標準原液を各々0.1mL取り, アセトニトリルで10mLに定容し, 10 μ g/mLの標準液とした。
- 3) 動物用医薬品標準液2:2)で調整した動物用医薬品標準液1を各々0.1mL取り, アセトニトリルで10mLに定容し, 0.1 μ g/mLの標準液とした。
- 4) 動物用医薬品混合標準液: 動物用医薬品混合標準液PL-2-1 (和光純薬工業株式会社製) 20.0 μ g/mLを0.1ml, 2)で調整した動物用医薬品標準液1のうち, スルファジアジン-d₄, スルファジメトキシシン-d₆, スルファチアゾール-d₄, スルファメトキサゾール-d₄を各々0.2mL取り, 10%アセトニトリル溶液で10mLに定容し, 0.2 μ g/mLの混合標準液とした。
- 5) 動物用医薬品混合添加標準液 (高濃度): 動物用医薬品混合標準液PL-2-1 (和光純薬工業株式会社製) 20.0 μ g/mLを0.25ml, 2)で調整した動物用医薬品標準液1のうち, スルファジアジン-d₄, スルファジメトキシシン-d₆, スルファチアゾール-d₄, スルファメトキサゾール-d₄を各々0.5mL取り, アセトニ

リルで50mLに定容し, 0.1 μ g/mLの混合添加標準液 (高濃度) とした。

- 6) 動物用医薬品混合添加標準液 (低濃度): 動物用医薬品混合標準液PL-2-1 (和光純薬工業株式会社製) 20.0 μ g/mLを0.025ml, 2)で調整した動物用医薬品標準液1のうち, スルファジアジン-d₄, スルファジメトキシシン-d₆, スルファチアゾール-d₄, スルファメトキサゾール-d₄を各々0.5mL取り, アセトニトリルで50mLに定容し, 0.01 μ g/mLの混合添加標準液 (低濃度) とした。
- 7) C18カートリッジカラム: Varian社製のHF MEGA Bond Elut C18 (1g,6mL)を85%アセトニトリル溶液10mLでコンディショニングして用いた。
- 8) アルミナカートリッジカラム: Waters社製のSep-Pak Plus Alumina B (1g,6mL)を85%アセトニトリル溶液10mLでコンディショニングして用いた。
- 9) その他の試薬は特級品及びLC/MS用を使用した。

2.3 装置及び測定条件

1) LC

HPLC: 島津製 LC-20A 高圧グラジエントシステム
カラム: Waters社製 XTerra MS C18 3.5 μ m (2.1 mm I.D. x 15 cm)

カラム温度: 40 $^{\circ}$ C

移動相: A液 (0.1%ギ酸水溶液) と B液 (0.1%ギ酸アセトニトリル)

グラジエント条件: A/B=99/1 (0min) \rightarrow 20/80 (35min) \rightarrow 2/98 (40-45min) \rightarrow 99/1 (50-60min)

移動相流量: 0.2mL/min

試料注入量: 5 μ L

保持時間: 表1に示した

2) MS/MS

MS: Applied Biosystems製 API3200 QTrap

インターフェース: Turbo V source

測定法: MS/MSモード

条件1 (ポジティブイオン化) —

イオン化モード: ESI positive mode

イオン源温度: 600 $^{\circ}$ C

イオン化電圧: 5500V

測定イオン (precursor ion/product ion): 表1に示した

条件2 (ネガティブイオン化) —

イオン化モード：ESI negative mode

イオン源温度：500℃

イオン化電圧：-4500V

測定イオン (precursor ion/product ion)：表1に示した

表1 保持時間及び測定イオン (precursor ion/product ion)

| No | 化合物名 | 保持時間 /分 | 測定イオン(定量) /amu | 測定イオン(定性) /amu |
|----|---------------------------|------------|-------------------|-------------------|
| 1 | レバミゾール | 8.4 | 205.1/178.2 | 205.1/91.1 |
| 2 | チアベンダゾール | 9.4 | 202.1/175.1 | 202.1/131.0 |
| 3 | トリメトプリム | 9.8 | 291.1/230.3 | 291.1/123.0 |
| 4 | スルファジアジン | 9.3 | 251.0/156.1 | 251.0/91.9 |
| 5 | オルメトプリム | 10.4 | 275.1/123.1 | 275.1/259.3 |
| 6 | スルファチアゾール | 10.0 | 256.0/155.9 | 256.0/92.2 |
| 7 | スルファピリジン | 10.3 | 250.0/92.1 | 250.0/156.0 |
| 8 | スルファメラジン | 10.8 | 265.1/92.0 | 265.1/156.0 |
| 9 | チアンフェニコール | 11.8 | 355.9/308.0 | 357.1/73.1 |
| | チアンフェニコール(neg)* | | 353.9/185.2 | 353.9/79.0 |
| 10 | スルファジミジン | 12.1 | 279.1/186.3 | 279.1/92.1 |
| 11 | スルファメキシピリダジン | 12.5 | 281.1/156.2 | 281.1/91.9 |
| 12 | スルファモメトキシ | 13.6 | 281.0/156.1 | 281.0/91.9 |
| 13 | スルファクロピリダジン | 14.0 | 285.0/156.2 | 285.0/92.1 |
| 14 | スルファドキシ | 14.9 | 311.0/156.2 | 311.0/92.0 |
| 15 | スルファメキサゾール | 14.8 | 254.0/156.0 | 254.0/92.0 |
| 16 | エトパベート | 17.2 | 238.0/206.1 | 238.0/136.0 |
| 17 | スルファジメトキシ | 17.4 | 311.1/156.0 | 311.1/92.0 |
| 18 | スルファキノキサリン | 17.6 | 301.0/155.9 | 301.0/92.1 |
| 19 | スルファニトラン | 20.7 | 336.1/134.1 | 336.1/65.0 |
| | スルファニトラン(neg) | | 334.0/135.9 | 334.1/137.1 |
| 20 | β-トレンボロン | 21.7 | 271.2/115.0 | 271.2/128.3 |
| 21 | α-トレンボロン | 22.1 | 271.2/115.0 | 271.2/128.3 |
| 22 | 酢酸メレンゲステロール | 30.3 | 397.3/337.2 | 397.3/279.3 |
| 23 | ゼラノール(neg) | 23.2 | 321.1/277.2 | 321.1/62.8 |
| | スルファジアジン-d ₄ | 9.5 | 255.1/160.1 | 255.1/95.9 |
| | スルファチアゾール-d ₄ | 10.2 | 260.0/159.9 | 260.0/96.2 |
| | スルファメキサゾール-d ₄ | 14.9 | 258.0/160.0 | 258.0/96.0 |
| | スルファジメトキシ-d ₆ | 17.4 | 317.1/156.0 | 317.1/92.0 |

* (neg) はネガティブイオン化

2.4 前処理操作

1) 抽出

粉碎した試料約1gを50mLポリプロピレン遠沈管に取り、添加試料には、動物用医薬品混合添加標準液(高濃度)又は(低濃度)1mLを添加混合し、30min静置した。これにアセトニトリル10mL、添加試料については同9mLを加え、2minホモジナイズした。これを3000rpmで5min遠心分離後、上清を20mLビーカーに移した。これに、水1.8mLを加え混合し、クリーンアップ用試料とした。

2) クリーンアップ

コンディショニング済みの固相カラムを上側にC18

カートリッジカラム、下側にアルミナカートリッジカラムとして連結した。1)のクリーンアップ用試料全量を連結カラムに負荷し、負荷液を採取した。次いで85%アセトニトリル溶液8mLを用いて溶出し、先の負荷液と合わせた。これに、1-プロパノール3mLを加え、40℃減圧下で乾固直前まで濃縮し、10%アセトニトリル溶液で1mLに定容後、0.45μmフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

2.5 検量線

検量線は、2.2.4)の動物用医薬品混合標準液0.2μg/mLを10%アセトニトリル溶液を用いて希釈し、0.001, 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2μg/mLの混合標準液を調整し、その5μLをLC/MS/MSに注入し、ピーク面積法により検量線を作成した。

3 結果および考察

3.1 LCカラムの選択

HPLCカラムは、化合物等の構造からODSカラムが適していると思料された。

用いた動物用医薬品混合標準液PL-2-1(和光純薬工業株式会社製)の付属データで、Wkosil-II 3C18 HG(和光純薬工業株式会社製)が使用されていたため、これを用いて確認したところ、スルフィド結合を有する物質でテーリングが見られた。そこで、当科において残留農薬検査等に幅広く用いているXTerra MS C18 3.5μm(Waters社製)を用いたところ、良好なピーク形状が得られ、また分離もよくなったため、これを使用することとした。

3.2 移動相条件の選択

移動相は、ピークの分離や圧力等を勘案し、0.1%ギ酸アセトニトリル-0.1%ギ酸水溶液を用いた。

移動相は、2.3.2)のとおり、グラジエントとした。圧力低下を狙い、スタート時のアセトニトリルの割合を1%から5%まで変化させたところ、保持時間の短い高極性物質が保持されなくなったため、アセトニトリル1%でスタートすることとした。

また、試験溶液のアセトニトリルが増加すると、試料の溶解性はよくなるものの、20%以上でピークの分離等が見られたため、最終の定容溶媒は、試料の溶解性とピーク形状の両立ができる10%アセトニトリル溶液とした。

3.3 MS/MS条件の選択

MS/MS条件の最適化はインフュージョンによる測定イオンの選択と、ESIのイオン化条件の選択で行った。

インフュージョンによる測定イオンの選択は、2.2.3)の0.1μg/mL動物用医薬品標準液2を各々用いて行い、表1の結果を得た。

またESIのイオン化条件は、イオン化温度と試験溶液のギ酸の有無を検討したところ、ピーク強度はイオン化温度により異なり、350 << 400 < 500 ≒ 600℃であり、そのばらつきも500～600℃が小さかった。また、ギ酸を含有していると、低濃度域においてイオン化が弱くなる傾向が見られたので、ギ酸は入れないこととした。

3.4 抽出操作とクリーンアップ

抽出操作は文献²⁾を参考に実施した。なお、固相カラムについて、類似の特性を持つ他社製品としてSupelco Discovery DSC-18, Supelco Supelclean LC-Alumina-B(共にSIGMA-ALDRICH社製)も検討したが、本実験においては通液性、操作性、回収率等の点からHF

MEGA Bond Elut C18(Varian社製), Sep-Pak Plus Alumina B(Waters社製)の組み合わせが最適であった。

3.5 妥当性評価試験

妥当性評価試験の結果を表2-1, 2-2に示した。妥当性評価は平成19年11月の厚生労働省が示した妥当性評価に関するガイドライン通知⁵⁾に従い実施した。

妥当性評価は、エビ、サケ、豚肉をそれぞれ甲殻類、魚類、肉類の代表として用いて、1名が1日1回(2併行)を5日間実施する枝分かれ実験計画で行った。また、添加濃度は定量限界(一律基準濃度)である0.01ppmの低濃度と、高濃度として0.1ppmの2種類で実施した。

妥当性評価の結果、エビ、豚肉については、一部で回収率が目標にわずかに達しないものの、回収率、精度ともにおおむね良好な結果であった。

妥当性評価に先立ち、エビ、サケ、ホタテ、タコ、イカ、鶏肉、豚肉、牛肉、カニ、それぞれについて、前処理操作及び測定を行い、今回の動物用医薬品が検出されないブランク試料であることを確認した。このとき、サ

表2-1 妥当性評価試験結果(添加濃度0.01ppm, 低濃度)

| No | 化合物名 | エビ | | | サケ | | | 豚肉 | | |
|----|---------------------------|---------|---------------|---------------|---------|---------------|---------------|---------|---------------|---------------|
| | | 回収率 (%) | 併行精 度 RSD (%) | 室内精 度 RSD (%) | 回収率 (%) | 併行精 度 RSD (%) | 室内精 度 RSD (%) | 回収率 (%) | 併行精 度 RSD (%) | 室内精 度 RSD (%) |
| 1 | レバミゾール | 77.5 | 6.1 | 8.8 | 48.4 | 9.1 | 16.4 | 75.2 | 10.2 | 10.3 |
| 2 | チアベンダゾール | 84.5 | 2.3 | 5.1 | 82.0 | 3.2 | 5.3 | 92.8 | 4.0 | 4.0 |
| 3 | トリメトプリム | 79.6 | 10.8 | 10.8 | 74.0 | 5.6 | 8.8 | 78.6 | 7.2 | 7.2 |
| 4 | スルファジアジン | 61.3 | 4.8 | 11.6 | 49.9 | 11.3 | 11.3 | 77.8 | 7.6 | 9.7 |
| 5 | オルメトプリム | 77.4 | 5.1 | 7.0 | 75.1 | 7.1 | 7.6 | 60.0 | 8.7 | 9.8 |
| 6 | スルファチアゾール | 71.1 | 7.9 | 12.6 | 56.9 | 4.2 | 4.3 | 86.1 | 6.6 | 6.6 |
| 7 | スルファピリジジ | 82.0 | 5.3 | 8.1 | 73.4 | 10.0 | 10.0 | 101.2 | 10.2 | 10.2 |
| 8 | スルファメラジン | 72.1 | 8.6 | 8.6 | 80.7 | 5.7 | 5.8 | 85.3 | 3.0 | 5.9 |
| 9 | チアンフェニコール | 84.5 | 18.0 | 18.0 | 99.1 | 14.3 | 16.7 | 79.5 | 20.6 | 20.6 |
| | チアンフェニコール(neg) | 74.7 | 4.1 | 5.2 | 100.6 | 10.2 | 10.2 | 100.6 | 10.2 | 10.2 |
| 10 | スルファジミジン | 92.1 | 5.4 | 8.0 | 81.7 | 6.5 | 6.5 | 87.4 | 6.5 | 8.0 |
| 11 | スルファメキシピリダジン | 86.6 | 4.0 | 4.0 | 73.8 | 4.7 | 6.9 | 91.1 | 8.8 | 9.2 |
| 12 | スルファモノメトキシ | 104.6 | 2.9 | 7.0 | 75.0 | 4.0 | 6.1 | 106.7 | 4.9 | 4.9 |
| 13 | スルファクロピリダジン | 82.3 | 6.4 | 7.3 | 71.3 | 4.3 | 10.3 | 102.3 | 7.2 | 7.2 |
| 14 | スルファドキシ | 81.9 | 3.6 | 6.4 | 77.9 | 5.8 | 5.8 | 87.7 | 6.0 | 7.1 |
| 15 | スルファメキサゾール | 78.3 | 4.2 | 5.5 | 60.5 | 4.5 | 8.9 | 98.4 | 5.7 | 5.9 |
| 16 | エトバベート | 77.8 | 3.4 | 4.2 | 90.5 | 1.6 | 2.4 | 93.7 | 4.1 | 4.2 |
| 17 | スルファジメトキシ | 83.2 | 5.9 | 6.6 | 79.9 | 4.4 | 5.2 | 91.1 | 7.4 | 7.4 |
| 18 | スルファキノキサリン | 88.7 | 3.0 | 5.8 | 88.4 | 6.8 | 6.8 | 90.2 | 6.4 | 6.4 |
| 19 | スルファニトラン | 95.1 | 8.7 | 9.0 | 122.6 | 11.6 | 12.8 | 102.8 | 11.9 | 12.0 |
| | スルファニトラン(neg) | 89.1 | 4.7 | 9.3 | 103.5 | 4.2 | 4.7 | 103.5 | 4.2 | 4.7 |
| 20 | β-トレネボロン | 79.7 | 10.9 | 13.8 | 99.7 | 12.8 | 12.8 | 91.0 | 7.4 | 7.4 |
| 21 | α-トレネボロン | 77.5 | 7.0 | 8.3 | 97.2 | 15.2 | 15.2 | 85.9 | 7.9 | 8.3 |
| 22 | 酢酸メレンゲステロール | 93.4 | 9.1 | 9.1 | 69.6 | 7.7 | 7.7 | 105.9 | 9.9 | 9.9 |
| 23 | ゼラノール(neg) | 83.3 | 3.5 | 10.1 | 84.3 | 3.8 | 4.2 | 84.3 | 3.8 | 4.2 |
| | スルファジアジン-d ₄ | 92.6 | 3.9 | 7.3 | 103.1 | 2.6 | 3.6 | 89.4 | 5.1 | 5.1 |
| | スルファチアゾール-d ₄ | 96.0 | 4.8 | 7.3 | 93.2 | 3.1 | 4.3 | 89.2 | 5.0 | 5.0 |
| | スルファメキサゾール-d ₄ | 93.9 | 2.0 | 3.5 | 93.0 | 2.7 | 3.1 | 94.8 | 3.5 | 3.5 |
| | スルファジメトキシ-d ₄ | 100.4 | 1.8 | 3.6 | 99.9 | 3.1 | 4.3 | 91.7 | 3.2 | 3.7 |

はガイドラインの目標値を満足していない。

表2-2 妥当性評価試験結果(添加濃度0.1ppm, 高濃度)

| No | 化合物名 | エビ | | | サケ | | | 豚肉 | | |
|----|---------------------------|---------|---------------|---------------|---------|---------------|---------------|---------|---------------|---------------|
| | | 回収率 (%) | 併行精 度 RSD (%) | 室内精 度 RSD (%) | 回収率 (%) | 併行精 度 RSD (%) | 室内精 度 RSD (%) | 回収率 (%) | 併行精 度 RSD (%) | 室内精 度 RSD (%) |
| 1 | レバミゾール | 77.9 | 2.4 | 4.9 | 53.0 | 23.0 | 23.0 | 79.5 | 12.4 | 12.4 |
| 2 | チアベンダゾール | 91.9 | 2.6 | 2.6 | 87.1 | 6.6 | 6.6 | 92.3 | 11.5 | 12.5 |
| 3 | トリメトプリム | 91.3 | 5.1 | 5.1 | 86.4 | 4.3 | 7.5 | 81.3 | 12.1 | 13.5 |
| 4 | スルファジアジン | 82.0 | 2.4 | 4.1 | 73.3 | 4.8 | 5.7 | 89.7 | 11.5 | 11.7 |
| 5 | オルメトプリム | 89.4 | 1.6 | 4.3 | 86.4 | 6.0 | 8.8 | 69.1 | 11.7 | 14.9 |
| 6 | スルファチアゾール | 90.6 | 6.7 | 7.5 | 82.0 | 5.7 | 6.4 | 83.8 | 10.3 | 12.0 |
| 7 | スルファピリジジ | 90.7 | 2.7 | 4.1 | 90.0 | 5.6 | 6.8 | 89.3 | 10.0 | 11.2 |
| 8 | スルファメラジン | 87.0 | 3.8 | 4.7 | 82.8 | 6.2 | 6.2 | 95.0 | 12.7 | 12.7 |
| 9 | チアンフェニコール | 105.5 | 4.6 | 5.7 | 103.0 | 10.9 | 10.9 | 89.0 | 12.6 | 12.8 |
| | チアンフェニコール(neg) | 87.1 | 2.7 | 2.7 | 86.5 | 10.7 | 11.8 | 96.1 | 10.0 | 12.2 |
| 10 | スルファジミジン | 98.9 | 2.7 | 4.0 | 87.1 | 5.1 | 6.4 | 89.3 | 12.5 | 12.5 |
| 11 | スルファメキシピリダジン | 93.8 | 2.3 | 3.9 | 85.0 | 4.1 | 6.9 | 87.2 | 12.4 | 12.4 |
| 12 | スルファモノメトキシ | 97.4 | 1.3 | 3.1 | 87.4 | 7.1 | 7.5 | 90.3 | 11.9 | 12.1 |
| 13 | スルファクロピリダジン | 92.0 | 1.4 | 3.8 | 78.9 | 6.1 | 6.8 | 90.6 | 10.2 | 11.6 |
| 14 | スルファドキシ | 95.0 | 1.7 | 3.7 | 87.2 | 4.7 | 6.0 | 90.0 | 12.3 | 12.6 |
| 15 | スルファメキサゾール | 93.9 | 2.5 | 2.6 | 86.6 | 6.7 | 7.0 | 93.9 | 12.6 | 12.6 |
| 16 | エトバベート | 92.2 | 0.9 | 1.5 | 89.5 | 8.8 | 8.8 | 93.0 | 13.2 | 13.2 |
| 17 | スルファジメトキシ | 100.2 | 1.5 | 2.0 | 98.5 | 6.6 | 7.3 | 90.8 | 12.6 | 12.6 |
| 18 | スルファキノキサリン | 94.3 | 2.8 | 2.8 | 90.3 | 4.3 | 8.9 | 88.8 | 12.4 | 12.4 |
| 19 | スルファニトラン | 111.7 | 2.3 | 2.3 | 107.4 | 8.4 | 9.6 | 102.2 | 10.5 | 10.9 |
| | スルファニトラン(neg) | 87.0 | 3.1 | 3.1 | 102.7 | 12.8 | 13.2 | 92.0 | 9.1 | 9.9 |
| 20 | β-トレネボロン | 95.0 | 3.6 | 3.6 | 91.2 | 5.3 | 8.2 | 87.3 | 11.9 | 13.6 |
| 21 | α-トレネボロン | 90.0 | 4.3 | 4.3 | 86.1 | 6.9 | 7.0 | 95.2 | 15.4 | 15.4 |
| 22 | 酢酸メレンゲステロール | 89.0 | 2.5 | 2.7 | 76.8 | 8.0 | 8.0 | 88.2 | 17.6 | 17.6 |
| 23 | ゼラノール(neg) | 83.9 | 2.4 | 3.7 | 82.8 | 9.6 | 10.8 | 86.6 | 14.3 | 14.3 |
| | スルファジアジン-d ₄ | 87.5 | 4.2 | 4.2 | 77.6 | 5.2 | 5.3 | 81.5 | 12.4 | 12.4 |
| | スルファチアゾール-d ₄ | 88.3 | 3.2 | 5.4 | 81.9 | 5.0 | 6.8 | 84.5 | 11.7 | 11.7 |
| | スルファメキサゾール-d ₄ | 88.0 | 2.6 | 2.6 | 84.8 | 7.5 | 7.5 | 88.9 | 11.1 | 12.4 |
| | スルファジメトキシ-d ₄ | 93.8 | 1.2 | 1.8 | 91.8 | 5.6 | 7.7 | 86.9 | 11.7 | 12.5 |

はガイドラインの目標値を満足していない。

ケは特に夾雑物が多く残り、前処理も難しかったことから、最も厳しい条件の検査対象であると思われた。

実際の結果でも、サケは回収率が低いものが多く、上記のブランク試料の確認時の予想と一致する結果となった。ただし、サケは回収率が低いものの、精度は良好であり、サロゲートを使用した場合の目標回収率40%は満足しているため、サロゲート使用により妥当な分析法であると考えられた。

なお、豚肉の高濃度では、1実験でサンプルの突沸が起こったため、特異的に回収率が悪くなり、回収率の低下と精度の悪化につながったものと考えられた。

3.6 添加回収試験

添加回収試験(n=1)の結果を表3に示した。添加回収試験は今回妥当性評価未実施の、ホタテ、タコ、イカ、鶏肉、牛肉、カニに、高濃度の0.1ppmを添加して行った。

表3 添加回収試験結果(回収率%) (n=1, 添加濃度0.1ppm)

| No | 化合物名 | ホタテ | タコ | イカ | 鶏肉 | 牛肉 | カニ |
|----|----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | レバミゾール | 82.0 | 75.8 | 83.0 | 72.9 | 54.5 | 93.9 |
| 2 | チアベンダゾール | 85.7 | 77.0 | 76.1 | 82.3 | 75.8 | 80.5 |
| 3 | トリメトプリム | 99.6 | 85.1 | 79.0 | 85.8 | 89.2 | 98.4 |
| 4 | スルファジアジン | 79.2 | 75.7 | 74.9 | 82.0 | 60.3 | 73.1 |
| 5 | オルメトプリム | 95.3 | 80.1 | 82.0 | 82.8 | 72.7 | 93.2 |
| 6 | スルファチアゾール | 81.4 | 70.3 | 73.9 | 84.9 | 82.2 | 81.0 |
| 7 | スルファピリジン | 86.3 | 71.3 | 77.7 | 89.5 | 86.7 | 91.7 |
| 8 | スルファメラジン | 83.6 | 71.2 | 76.7 | 83.7 | 88.0 | 81.9 |
| 9 | チアンフェニコール | 102.0 | 109.0 | 98.5 | 104.0 | 90.9 | 109.0 |
| | チアンフェニコール(neg) | 90.8 | 88.3 | 91.4 | 88.1 | 95.3 | 93.9 |
| 10 | スルファジミジン | 93.4 | 81.1 | 80.6 | 95.0 | 91.2 | 93.8 |
| 11 | スルファメトキシピリダジン | 88.9 | 74.6 | 80.8 | 90.9 | 90.1 | 84.2 |
| 12 | スルファモノメトキシ | 90.2 | 87.1 | 90.9 | 91.8 | 94.9 | 88.5 |
| 13 | スルファクロルピリダジン | 97.8 | 84.8 | 86.0 | 95.9 | 90.8 | 77.3 |
| 14 | スルファドキシ | 95.1 | 87.1 | 89.2 | 95.4 | 98.0 | 93.0 |
| 15 | スルファメトキサゾール | 94.1 | 87.6 | 85.6 | 98.1 | 93.9 | 90.6 |
| 16 | エトバベート | 88.7 | 86.8 | 88.7 | 88.9 | 89.6 | 90.1 |
| 17 | スルファジメトキシ | 104.0 | 98.4 | 100.0 | 105.1 | 106.1 | 99.9 |
| 18 | スルファキノキサリン | 92.4 | 88.0 | 82.4 | 87.9 | 87.8 | 90.1 |
| 19 | スルファニトラン | 109.7 | 107.8 | 104.9 | 104.9 | 110.7 | 114.6 |
| | スルファニトラン(neg) | 96.8 | 95.0 | 94.1 | 96.0 | 99.0 | 96.7 |
| 20 | β-トレンボロン | 94.5 | 92.6 | 98.0 | 92.3 | 93.8 | 93.2 |
| 21 | α-トレンボロン | 91.0 | 89.1 | 89.7 | 89.7 | 101.0 | 93.8 |
| 22 | 酢酸メレンゲステロール | 89.8 | 73.1 | 82.5 | 84.6 | 80.8 | 80.9 |
| 23 | ゼラノール(neg) | 90.1 | 84.5 | 87.8 | 87.4 | 84.5 | 87.6 |
| | スルファジアジン-d ₄ | 75.3 | 66.3 | 70.2 | 78.2 | 61.2 | 68.0 |
| | スルファチアゾール-d ₄ | 83.6 | 67.8 | 73.6 | 84.2 | 80.9 | 77.4 |
| | スルファメトキサゾール-d ₄ | 90.7 | 80.0 | 86.7 | 93.4 | 88.0 | 83.3 |
| | スルファジメトキシ-d ₆ | 92.2 | 93.4 | 91.9 | 100.0 | 103.9 | 96.7 |

はガイドラインの目標値を満足していない。

牛肉で回収率が低い項目があるものの、その他では良好な回収率となっていることから、今後追加で妥当性評価試験を実施し、対象の食品を拡大することが可能であると思われた。

4 まとめ

著者らは、今回LC/MS/MSを用いて、サルファ剤を主とする動物用医薬品23種を一斉分析する方法について検討を行った。また、当該分析法について厚生労働省ガイドラインに基づき妥当性評価を実施し、分析法の妥当性を確認した。食品の種類によっては目標値が満足できないため、クリーンアップ法の更なる改善や同位体標準物質(サロゲート)の使用が必要であると考えられた。

本結果に基づき、SOPを作成し、実際に行政検査としての動物用医薬品検査を実施した。

〈文献〉

- 1) 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、食安発第0124001号、平成17年1月24日、2005
- 2) 藤田瑞香, 田口修三, 尾花裕孝：ガラスビーズ粉碎法を用いたLC/MS/MSによる畜水産食品中のサルファ剤の分析, 食品衛生学雑誌, 49, 411-415, 2008
- 3) 藤田光穂, 田村航, 戸澤孝大, 米谷俊：動物用医薬品等通知一斉試験法の加工食品への適用, 食品衛生学雑誌, 49, 416-421, 2008
- 4) 甲斐茂美, 赤星猛, 岸美智子：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, 神奈川県衛生研究所研究報告, 36, 19-22, 2006
- 5) 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、食安発第1115001号、平成19年11月15日、2007