

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 (第3報)

浦山豊弘, 肥塚加奈江, 赤木正章, 北村雅美 (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 (第3報)

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

浦山豊弘, 肥塚加奈江, 赤木正章, 北村雅美 (衛生化学科)

Toyohiro Urayama, Kanae Koeduka, Masaaki Akaki, Masami Kitamura
(Department of Food and Drug Chemical Research)

要 旨

既報においてサルファ剤を主とする動物用医薬品25種についてLC/MS/MSを用いた一斉分析法を検討し、その妥当性について厚生労働省ガイドラインに基づき評価を実施した。今回、既報と同じ分析法を用い、対象物質追加の検討を行ったので、その概要を報告する。

[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、ペットや家畜等を病気や寄生虫から守るために用いられる医薬品である。

食品への残留は、食品衛生法に基づく規格基準が定められており、平成18年5月29日のポジティブリスト制度施行により、個別の基準があるものを除き0.01ppmの一律基準を超えて残留してはならないとされた。

このような経緯や食の安全・安心に対する県民意識の高まりを踏まえ、残留動物用医薬品の検査を平成22年度から実施している。

動物用医薬品の分析法としては、厚生労働省からLC/MS/MSを用いる一斉分析法¹⁾が示されているが、同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など煩雑で時間がかかる難点があった。

そのため、第1報²⁾において、文献を参考に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一斉分析法を開発するとともに、厚生労働省通知のガイドライン³⁾ (以下「妥当性ガイドライン」という。)に基づき妥当性評価を実施し、更に第2報⁴⁾において、同じ分析法で分析可能な項目の追加を行った。

今回、28物質を候補として、既報と同じ分析法により分析可能な項目の追加を検討したので報告する。

2 実験方法

2.1 検討対象物質

林純薬工業製PL動物薬LC/MS Mix1に含まれている(和光純薬製動物用医薬品混合標準液PL-2-1又はPL-1-3に含まれている物質を除く)10物質及び同Mix2に含まれている(同)13物質、23年度に国が実施した輸入食品監視指導結果で違反のあった項目の1つであるテトラサイクリン系抗生物質3項目、過去(2001~2004年頃)に国が実施した輸入食品監視指導結果で違反があり備前保健所検査課が継続して検査している2項目の計28項目について検討を行った。(表1)

2.2 試料

妥当性ガイドラインによる妥当性評価には、肉類として市販の鶏肉(もも)、魚類としてさけ(銀鮭)、その他の魚介類としてえび(むきえび)を用いた。

また、添加回収試験は、今回の妥当性評価未実施のものを中心に、市販のいか(花咲いか)、たこ(ゆでだこ)、かに(ボイルずわいがに)及びえび(ブラックライガー)に対して行った。

2.3 試薬

- 1) PL動物薬LC/MS Mix1 (各20 µg/mLアセトニトリル溶液) : 林純薬工業社製
- 2) PL動物薬LC/MS Mix2 (各20 µg/mLアセトニトリル溶液) : 林純薬工業社製
- 3) 動物用医薬品混合標準液PL-2-1 (各20 µg/mLメタノール溶液) : 和光純薬工業社製
- 4) 動物用医薬品混合標準液PL-1-3 (各20 µg/mLメタノール溶液) : 和光純薬工業社製

表1 検討対象物質

追加 検討 物質 (妥当性 試験も 実施)	林純薬工業製 PL 動物薬 LC/MS Mix1 (*)	ジアベリジン、スルファエトキシピリダジン、スルファグアニジン、スルファトロキサゾール、スルファニルアミド、スルファプロモメタジン、スルファベンズアミド、スルフィソキサゾール、スルフィソゾール、スルフィソミジン
	保健所検査課項目	クロピドール、ナイカルバジン
追加 検討 物質 (予備 検討 のみ)	林純薬工業製 PL 動物薬 LC/MS Mix2 (*)	エンロフロキサシン、オキシリニック酸、オフロキサシン、オルビフロキサシン、サラフロキサシン、ジフロキサシン、シプロフロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、ピロミド酸、フルメキン、マルボフロキサシン、ミロキサシン
	テトラサイクリン 系抗生物質	オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、テトラサイクリン
既報 の 検討 物質	妥当性評価ガイド ラインの目標値を 満たしていた物質	2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール、エトパペート、酢酸メレンゲステロール、スルファキノキサリン、スルファクロルピリダジン、スルファジミジン、スルファジメトキシ、スルファセタミド、スルファチアゾール、スルファドキシ、スルファニトラン、スルファピリジン、スルファメトキサゾール、スルファメトキシピリダジン、スルファメラジン、スルファモノメトキシ、ゼラノール、チアベンダゾール、チアムリン、チアンフェニコール、ヒドロコルチゾン、ファミフル、フェノブカルブ、フロルフェニコール、リンコマイシン
	満たさない試料・ 濃度があった物質	オルメトプリム、スルファジアジン、トリメトプリム、クロルスロン

*：和光純薬製動物用医薬品混合標準液PL-2-1又はPL-1-3に含まれているものを除く。

5) クロピドール標準液：クロピドール標準品（和光純薬工業社製，HPLC用）10mgを秤量し，メタノールで溶解し100mLにメスアップして100 μg/mLの標準液を作成した。

6) ナイカルバジン標準液：ナイカルバジン標準品（和光純薬工業社製，HPLC用）10mgを秤量し，少量のジメチルホルムアミドに溶解後，アセトニトリルを加え100mLにメスアップして100 μg/mLの標準液を作成した。

7) 超純水：ELGA社製超純水製造装置PURELAB flexで精製

8) ギ酸，アセトニトリル，メタノール：LC/MS用

2.4 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 μm

(2.1 mmI.D.x15cm)

カラム温度：40℃

移動相：A液（0.1%ギ酸水溶液），

B液（0.1%ギ酸アセトニトリル）

グラジエント条件：

条件1（林純薬用，Positive）：

A/B=97/3（0-3min）→57/43（19min）

→2/98（24-33min）→97/3（38-48min）

条件2（和光純薬用，Positive）：

A/B=97/3（0-3min）→75/25（16min）

→1/99（21-30min）→97/3（35-45min）

条件3（Negative）：

A/B=97/3（0-3min）→28/72（15min）

→2/98（20-30min）→97/3（35-45min）

移動相流量：0.2mL/min

試料注入量：5 μL

保持時間：表2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, 2 (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℃

イオン化電圧：5500V

測定イオン (precursor ion/product ion)：

表2に示した

条件3 (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2に示した

2.5 前処理操作

第1報の操作を基本として、第2報で最終液量を2mLに変更した。更に、今回は、遠心分離後の試料残渣中に対象物質が残留することが確認されたため、ホモジナイズに用いるアセトニトリル量を6mLとし、ポリトロンをアセトニトリル4mLで洗浄し、この洗浄液を用いて遠心分離後の残渣の再抽出するよう変更した。

また、今回からサロゲート (安定同位体標識標準品) として、スルファジアジン-d₄、スルファジミジン-¹³C₆、スルファジメトキシシン-d₆、スルファチアゾール-d₄、スルファドキシシン-d₃、スルファメトキサゾール-d₄の混合品を各0.2μg/gとなるよう試料に添加したのち前処理操作を行った。

2.6 検量線

第2報においては、和光純薬製の2つの混合標準液を混合したものを用いたが、今回は、林純薬製混合標準液と和光純薬製混合標準液で重複する物質があるため、全ての混合標準液を混合することはできず、2種類の検量線溶液を

作成することとした。

また、ネガティブイオン化で測定する物質は、和光純薬製PL-2-1又はPL-1-3に含まれているものと別途追加するナイカルバジンであり、林純薬製mix1のみに含まれている物質はなかったため、和光用検量線溶液をネガティブイオン化測定でも使用することとした。

林用検量線溶液 (2.3の1) 及び5) を等濃度となるよう混合した後、10%アセトニトリル水溶液を用いて順次希釈し、0.001, 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2μg/mLの検量線溶液を調製した。

和光用検量線溶液 (ネガティブ測定でも使用)：2.3の3), 4) 及び6) を同じ濃度になるよう混合した後、同様に希釈し、同濃度の検量線溶液を調製した。

3 結果及び考察

3.1 前処理法の見直し

既報の前処理法の中で、回収ロスが考えられる2箇所について条件を再検討した。

3.1.1 クリーンアップ条件の見直し

既報においては、連結カラムから85%アセトニトリル溶液8mLを用いて溶出 (負荷液も採取) しているが、8mLでは溶出し切れていない可能性が考えられた。

そこで、さけを検体として標準品を添加後、既報どおりの方法で抽出し、連結カラムに負荷及び溶出した後、更に8mL加えて溶出し、追加溶出液を測定した。

結果を表3中央に示す。スルファメラジン、スルファセタミド、リンコマイシン、チアムリン及びスルファジアジンの5物質を除き1%未満の残留であり、溶出液量を増やすことで妨害物質が増えることが懸念されるため、クリーンアップ条件は変更しないこととした。

表2 保持時間及び測定イオン (追加検討物質)

化合物名	イオン化モード	保持時間 (min)	測定イオン		dwell time (ms)
			定量(amu)	定性(amu)	
ジアベリジン	Pos	11.1	261.2 / 245.3	261.2 / 123.2	20
スルファエトキンピリダジン	Pos	16.2	295.1 / 156.1	295.1 / 92.1	20
スルファグアニジン	Pos	2.96	215.1 / 92.0	215.1 / 156.3	20
スルファトロキサゾール	Pos	15.8	268.2 / 92.1	268.2 / 156.1	20
スルファニルアミド	Pos	3.53	173.1 / 156.3	173.1 / 92.0	20
スルファプロモメタジン	Pos	21.0	357.2 / 92.2	357.2 / 108.1	20
スルファベンズアミド	Pos	17.4	277.1 / 156.2	277.1 / 92.3	20
スルフィソキサゾール	Pos	16.4	268.2 / 156.2	268.2 / 92.0	20
スルフィソゾール	Pos	12.9	240.1 / 156.3	240.1 / 92.1	20
スルフィソミジン	Pos	9.53	279.3 / 124.1	279.3 / 92.2	20
クロピドール	Pos	10.4	192.2 / 101.1	192.2 / 87.0	20
ナイカルバジン	Neg	15.6	301.0 / 136.9	301.0 / 107.0	20

保持時間は、Posイオン化では条件1, Negイオン化では条件3での値。

表3 前処理条件の検討結果

(単位：%)

		既報ど おりの 前処理	連結カラム から追加 で溶出	残渣を 再抽出		
追加検討物質	林純薬 mix1	ジアベリジン	84	0.6	8.0	
		スルファエトキシピリダジン	94	<0.5	5.3	
		スルファグアニジン	58	<0.5	6.3	
		スルファトロキサゾール	93	<0.5	5.9	
		スルファニルアミド	101	<0.5	10.3	
		スルファプロモメタジン	85	<0.5	5.0	
		スルファベンズアミド	85	<0.5	5.7	
		スルフィソキサゾール	86	<0.5	4.5	
		スルフィソゾール	92	<0.5	5.6	
		スルフィソミジン	87	<0.5	6.5	
	林純薬 mix2	エンロフロキサシン	<0.5	<0.5	<0.5	
		シプロフロキサシン	<0.5	<0.5	<0.5	
		オキシリニック酸	<0.5	<0.5	<0.5	
		オフロキサシン	<0.5	<0.5	<0.5	
		オルビフロキサシン	<0.5	<0.5	<0.5	
		サラフロキサシン	<0.5	<0.5	<0.5	
		ジフロキサシン	<0.5	<0.5	<0.5	
		ナリジクス酸	<0.5	<0.5	<0.5	
		ノルフロキサシン	<0.5	<0.5	<0.5	
		フルメキン	<0.5	<0.5	<0.5	
		マルボフロキサシン	<0.5	<0.5	<0.5	
		ピロミド酸	<0.5	<0.5	<0.5	
		ミロキサシン	<0.5	<0.5	<0.5	
	テトラ サイク リン系	オキシテトラサイクリン	<0.5	<0.5	<0.5	
		テトラサイクリン	<0.5	<0.5	<0.5	
		クロルテトラサイクリン	<0.5	<0.5	<0.5	
	その他	クロビドール	84	<0.5	8.2	
	既報の 検討物質	妥当性 評価ガ イドラ インの 目標値 を満た していた 物質	スルファチアゾール	90	<0.5	5.6
			スルファベリジン	85	<0.5	5.7
スルファメラジン			95	1.4	5.8	
スルファドキシシ			90	<0.5	6.3	
スルファメトキサゾール			91	<0.5	5.5	
スルファジメトキシシ			92	<0.5	5.2	
スルファキノキサリン			84	<0.5	5.4	
スルファニトラン			81	<0.5	4.8	
チアベンダゾール			86	<0.5	6.5	
スルファジミジン			97	<0.5	6.6	
スルファメトキシピリダジン			103	<0.5	7.7	
スルファモノメトキシシ			90	<0.5	5.2	
スルファクロルピリダジン			93	<0.5	4.9	
エトバベート			88	<0.5	5.2	
酢酸メレンゲステロール			27	<0.5	4.5	
スルファセタミド			86	1.9	4.4	
リンコマイシシ			73	1.9	5.2	
チアムリン			80	2.1	3.8	
ヒドロコルチゾン			78	<0.5	5.5	
フェノブカルブ			60	<0.5	4.8	
ファミフル			56	<0.5	5.3	
チアンフェニコール			151	<0.5	5.4	
満たさ なかつ た物質			オルメトプリム	81	0.7	8.4
	スルファジアジン	79	7.7	7.4		
	トリメトプリム	82	0.5	8.4		

3.1.2 抽出条件の見直し

既報においては、検体にアセトニトリル10mLを加えホモジナイズ後遠心分離し、上澄みに精製水1.8mLを加えたものをクリーンアップ用試料としているが、遠心分離後の残渣に対象物質が残留している可能性が考えられた。

そこで、さけを検体として、3.1.1で標準品添加、抽出及び遠心分離後の残渣を用い、アセトニトリル10mLを加え手で振とうして抽出し、同様に遠心分離し、上澄みに精製水1.8mLを加えてクリーンアップ操作をして測定した。

結果を表3右側に示す。多くの物質で遠心分離後の残渣に5~10%程度残留していることが判明したため残渣を再抽出するよう操作手順を変更した。但し、連結カラムへの負荷液は溶出液でもあり、溶出液量を増やすと妨害物質が増える懸念があり、ホモジナイズに用いるアセトニトリル量を10mLから6mLに変更し、遠心分離後の残渣をアセトニトリル4mLで再抽出することで、合計10mLになるようにした。

なお、表3のとおりキノロン系（林純薬製Mix2に含まれる物質）とテトラサイクリン系抗生物質は、既報の前処理では全く回収されないことが判明したため、これらの項目を検討対象から外すこととした。

3.2 測定グループ分けの検討

第2報では、感度の悪い物質のdwell timeを長くする必要があったため、ポジティブイオン化で測定する物質は2回に分けて測定することとし、測定グループ分けは和光PL-2-1測定と和光PL-1-3測定としていた。

今回は、林純薬製混合標準液と和光純薬製混合標準液で重複する物質があるため、林用と和光用の2種類の検量線溶液を作成することとなり、ポジティブイオン化の測定グループ分けは林用検量線溶液測定（条件1）と和光用検量線溶液測定（条件2）とした。

ここで、林用検量線溶液と和光用検量線溶液のいずれにも含まれている物質はいずれの検量線溶液を測定しても良いが、3.1の検討により林純薬製Mix2に含まれている物質を検討しないこと、また、和光PL-1-3に感度が悪くdwell timeを長くしている物質が多く、林純薬Mix1に含まれている物質（和光PL-2-1と重複するものを含む）は感度が悪くなくdwell timeが短くても支障のない物質のみであることから、重複する物質は林用検量線溶液測定（条件1）で測定することとした。

3.3 液体クロマトグラフのグラジエント条件の見直し

第2報において、一部の物質で前処理から測定までの日数により分解している可能性が示唆されたため、今回、分析時間短縮のため液体クロマトグラフのグラジエント条件の見直しを行い、分析時間を第1報及び第2報の60分から45~48分に短縮した。

なお、第1報及び第2報においては分析カラムへの保持を促すため初期条件をA/B=99/1としていたが、保持時間が最も短いスルファグアニジンにおいて、A/B=97/3とした方がピーク形状がシャープになり、他の物質においても保持時間が分散する傾向にあったので、初期条件をA/B=97/3に変更した。

3.4 妥当性評価試験

3.1の検討によりキノロン剤とテトラサイクリン系抗生物質が全く回収されないことが判明したため、今回は平成24年度の測定項目選定に目的を絞り、次のとおり行うこととした。

添加量は、一般に試料1gに対し定量限界（一律基準濃度）である0.01μg添加の低濃度と、高濃度として0.1μg添加の2種類で実施するが、定量作業の省力化のため、2倍量の0.02μg添加と0.2μg添加で行った。なお、えび（むきえび）のみ0.01μg添加と0.2μg添加で行った。

試験回数は、2併行5回が原則であり、妥当性評価された試験法を類似の食品に適用する場合に限り5併行が良いが、今回は、さけのみで2併行5回での試験を行い、鶏肉

及びえびでは5併行で行った。

追加候補の28物質からキノロン剤とテトラサイクリン系抗生物質を除いた12物質に対する妥当性評価試験の結果は表4のとおりで、その概要は次のとおりであった。

- 1) クロピドール、スルファエトキシピリダジン、スルファトロキサゾール、スルファプロモメタジン、スルファベンズアミド、スルフィソゾール、スルフィソミジン及びナイカルバジンの8物質は、さけへの添加の2併行5回試験で、真度（回収率）、平行精度、室内精度のいずれも妥当性ガイドラインの目標値を満たしていた。
- 2) 鶏肉への添加で、スルフィソゾール及びナイカルバジンの0.02μg添加の併行精度が目標値を満たしてなかったが、5併行で実施したうちの1つの検体が全物質で濃度が低い傾向にあり、サロゲートの回収率（6物質平均）も、他の4検体は87.8～89.9%に対しその検体は73.4%と1検体のみ異なっていたことから、その検体で物理的なロスがあったものであり、物質特有の問題ではないと考えられた。

表4 妥当性評価試験結果

	さけ(2併行×5回)				鶏肉(もも)(5併行)			えび(むきえび)(5併行)		
	添加量 (μg/g)	回収率 (真度) (%)	併行 精度 (RSD%)	室内 精度 (RSD%)	添加量 (μg/g)	回収率 (真度) (%)	併行 精度 (RSD%)	添加量 (μg/g)	回収率 (真度) (%)	併行 精度 (RSD%)
目標値	0.2	70-120	10 >	15 >	0.2	70-120	10 >	0.2	70-120	10 >
	0.02	70-120	15 >	20 >	0.02	70-120	15 >	0.01	70-120	25 >
ジアペリジン	0.2	83.6	3.2	5.3	0.2	83.8	1.8	0.2	89.4	2.8
	0.02	66.4	4.4	7.8	0.02	81.2	8.3	0.01	89.5	2.5
スルファエトキシピリダジン	0.2	100.7	4.5	3.8	0.2	100.9	2.2	0.2	90.1	4.6
	0.02	93.5	4.3	5.2	0.02	94.1	14.0	0.01	98.3	8.0
スルファグアニジン	0.2	46.9	4.6	5.0	0.2	37.0	4.0	0.2	81.2	4.7
	0.02	29.5	7.0	1.4	0.02	36.9	12.3	0.01	79.6	5.7
スルファトロキサゾール	0.2	91.8	5.1	3.6	0.2	97.0	2.0	0.2	89.9	3.8
	0.02	94.1	3.4	9.4	0.02	94.6	7.9	0.01	87.3	7.2
スルファニルアミド	0.2	56.1	8.3	14.4	0.2	67.1	9.2	0.2	102.7	11.2
	0.02	87.7	7.4	27.0	0.02	96.7	40.1	0.01	131.7	39.7
スルファプロモメタジン	0.2	83.7	5.3	2.8	0.2	96.9	3.5	0.2	83.4	5.8
	0.02	88.2	6.3	6.2	0.02	89.0	11.4	0.01	87.4	9.2
スルファベンズアミド	0.2	75.9	4.8	5.5	0.2	89.2	6.3	0.2	82.1	2.7
	0.02	76.6	2.8	4.7	0.02	86.6	9.0	0.01	90.1	5.8
スルフィソキサゾール	0.2	146.9	6.5	36.0	0.2	154.8	5.5	0.2	116.5	3.7
	0.02	108.0	2.6	10.5	0.02	96.1	8.3	0.01	103.1	6.3
スルフィソゾール	0.2	94.3	4.4	3.6	0.2	95.7	1.5	0.2	82.4	3.3
	0.02	92.8	2.8	6.7	0.02	94.6	16.4	0.01	87.9	17.6
スルフィソミジン	0.2	91.4	2.7	4.2	0.2	89.6	1.7	0.2	81.2	2.5
	0.02	72.0	2.0	7.5	0.02	82.7	10.4	0.01	84.4	4.2
クロピドール	0.2	91.6	3.8	2.9	0.2	91.7	5.3	0.2	91.3	2.6
	0.02	89.5	3.7	7.5	0.02	88.9	13.8	0.01	96.7	15.7
ナイカルバジン	0.2	110.6	4.8	5.0	0.2	84.8	8.5	0.2	81.3	8.5
	0.02	98.5	2.0	4.8	0.02	83.7	17.5	0.01	71.1	5.5

3) ジアベリジン, スルファグアニジン, スルファニルアミド及びスルフィソキサゾールの4物質は, さけへの添加の2併行5回試験で真度(回収率)が70~120%の目標値を満たしておらず, スルファニルアミド及びスルフィソキサゾールでは室内精度(相対標準偏差)も目標値を満たしてなかった。

3.5 添加回収試験

添加回収試験(n=1)の結果を表5に示した。いか, たこ, かに及びえび(ブラックタイガー)を用い, 試料1gに対し0.2μg添加と0.02μg添加の2濃度で実施した。

結果を表6に示す。3.4で妥当性ガイドラインの目標値を満たしていた8物質は, いずれも回収率(真度)が70~120%の目標値を満たしていた。

3.6 既報の対象物質の確認

既報において妥当性評価済である25物質及び一部の試料又は濃度において満たしてなかった4物質について, 今回の追加対象項目と併せて妥当性評価を実施した。

結果を表6に示す。第2報において一部の試料又は濃度

においてガイドラインの目標値を満たしてなかったオルメトプリム, スルファジアジン, トリメトプリム, クロルスロンの4物質は, 今回はガイドラインの目標値を満たしていた。

逆に, 第2報においてはガイドラインの目標値を満たしていた25物質のうち, 酢酸メレンゲステロール, ゼラノール, リンコマイシン, チアムリン, ファムフルの5項目が, 今回はガイドラインの目標値を満たさなかった。

フェノブカルブは, さけへの添加で真度(回収率)の目標値を満たさなかったが, 目標の70%~120%に対し65%以上であり, 室内精度及び併行精度も3%程度と良好な結果であったため, 項目から除外しなかった。

また, 鶏肉への添加において, スルファセタミド, ヒドロコルチゾン及びフロルフェニコールの0.02μg添加の併行精度が目標を満たしていなかったが, 5併行で実施したうちの3.4 2)と同じ1検体で濃度が低い傾向にあり, その検体で物理的なロスがあったものであり, 物質特有の問題ではないと考えられた。

表5 添加回収試験結果(回収率%) (n=1)

	添加量 (ug/g)	いか	たこ	かに	えび (ブラックタイガー)	平均
ジアベリジン	0.2	84.0	88.4	84.8	96.4	88.4
	0.02	87.2	61.5	72.5	11.6	58.2
スルファエトキシピリダジン	0.2	93.5	95.4	94.4	103.8	96.8
	0.02	102.6	89.2	94.8	91.0	94.4
スルファグアニジン	0.2	55.0	45.2	51.4	39.0	47.7
	0.02	40.9	19.1	34.9	19.2	28.5
スルファトロキサゾール	0.2	91.6	94.1	86.1	82.9	88.7
	0.02	88.9	87.9	88.9	86.0	87.9
スルファニルアミド	0.2	85.6	72.3	76.8	130.1	91.2
	0.02	149.0	179.7	145.4	172.6	161.7
スルファプロモメタジン	0.2	89.8	91.1	87.6	98.1	91.7
	0.02	103.9	102.2	92.1	94.7	98.2
スルファベンズアミド	0.2	97.1	79.7	88.2	85.5	87.6
	0.02	88.0	83.7	82.6	84.0	84.6
スルフィソキサゾール	0.2	92.0	93.8	93.4	100.2	94.8
	0.02	85.8	104.5	85.6	71.4	86.8
スルフィソゾール	0.2	91.3	93.6	88.7	92.3	91.5
	0.02	99.1	71.4	97.2	87.6	88.8
スルフィソミジン	0.2	86.7	85.2	80.2	92.5	86.1
	0.02	82.8	71.5	71.8	74.4	75.1
クロピドール	0.2	86.7	89.1	90.7	96.6	90.8
	0.02	85.9	79.3	76.3	79.3	80.2
ナイカルバジン	0.2	80.1	98.2	89.8	88.6	89.2
	0.02	84.9	83.9	92.0	82.3	85.8

表6 既報の物質の妥当性評価試験結果

	さけ(2併行×5回)				鶏肉(もも)×5併行)			えび(むきえび)×5併行)		
	添加量 ($\mu\text{g/g}$)	回収率 (真度) (%)	併行 精度 (RSD%)	室内 精度 (RSD%)	添加量 ($\mu\text{g/g}$)	回収率 (真度) (%)	併行 精度 (RSD%)	添加量 ($\mu\text{g/g}$)	回収率 (真度) (%)	併行 精度 (RSD%)
目標値	0.2	70-120	10 >	15 >	0.2	70-120	10 >	0.2	70-120	10 >
	0.02	70-120	15 >	20 >	0.02	70-120	15 >	0.01	70-120	25 >
スルファチアゾール	0.2	100.0	3.9	2.8	0.2	101.7	2.3	0.2	97.6	6.4
	0.02	101.1	1.3	5.6	0.02	99.9	4.6	0.01	98.2	5.6
スルファピリジン	0.2	97.6	2.1	3.4	0.2	94.5	2.8	0.2	91.6	3.3
	0.02	84.9	8.2	8.5	0.02	91.2	6.4	0.01	104.4	6.4
スルファメラジン	0.2	101.9	1.9	4.2	0.2	94.0	2.6	0.2	85.9	6.4
	0.02	90.4	2.9	8.5	0.02	82.3	9.9	0.01	88.1	11.0
スルファドキシシ	0.2	101.8	1.5	1.8	0.2	107.9	2.7	0.2	102.8	4.2
	0.02	104.8	4.6	8.0	0.02	101.9	7.1	0.01	94.7	8.5
スルファメキサゾール	0.2	99.8	1.8	3.1	0.2	102.1	3.3	0.2	101.0	3.7
	0.02	101.6	4.8	8.6	0.02	97.5	5.9	0.01	99.5	12.8
スルファジメトキシシ	0.2	107.4	4.6	3.3	0.2	105.9	4.9	0.2	105.1	7.9
	0.02	99.1	5.0	5.0	0.02	106.5	8.6	0.01	105.2	8.4
スルファキノキサリン	0.2	92.2	2.1	5.1	0.2	97.6	4.1	0.2	86.8	2.6
	0.02	76.1	3.5	5.2	0.02	83.7	8.0	0.01	93.4	3.1
スルファジミジン	0.2	102.4	1.0	2.3	0.2	98.7	2.7	0.2	101.8	3.2
	0.02	102.9	2.7	1.7	0.02	95.5	6.0	0.01	94.5	8.7
スルファメキシピリダジン	0.2	111.3	1.9	3.5	0.2	100.3	2.0	0.2	88.4	3.8
	0.02	105.7	4.2	4.0	0.02	90.0	10.7	0.01	93.8	5.6
スルファモノメトキシシ	0.2	97.2	2.0	4.2	0.2	99.0	1.5	0.2	89.4	2.4
	0.02	95.5	3.0	4.3	0.02	95.3	9.7	0.01	97.9	5.4
スルファクロルピリダジン	0.2	106.9	3.5	10.0	0.2	104.9	2.4	0.2	89.6	2.6
	0.02	87.9	3.7	3.8	0.02	90.8	9.0	0.01	88.1	6.1
チアベンダゾール	0.2	89.0	1.7	2.8	0.2	93.7	2.9	0.2	86.0	4.8
	0.02	75.1	5.2	3.5	0.02	81.0	8.1	0.01	83.7	8.7
エトパベート	0.2	85.1	2.0	4.5	0.2	92.6	2.6	0.2	93.7	2.7
	0.02	82.5	6.7	2.6	0.02	87.4	10.0	0.01	98.8	6.6
酢酸メレンゲステロール	0.2	51.2	27.6	19.0	0.2	104.7	54.9	0.2	49.1	18.8
	0.02	55.0	16.3	20.9	0.02	79.5	16.7	0.01	94.9	17.5
スルファセタミド	0.2	90.6	6.3	5.5	0.2	93.7	3.1	0.2	80.3	4.8
	0.02	85.8	14.1	7.7	0.02	95.4	17.4	0.01	84.5	18.6
リンコマイシン	0.2	77.9	9.3	17.0	0.2	81.8	2.4	0.2	90.2	5.5
	0.02	40.2	3.5	7.1	0.02	56.4	14.1	0.01	74.2	9.6
チアムリン	0.2	84.1	8.5	13.7	0.2	87.9	7.1	0.2	74.5	5.5
	0.02	65.4	9.8	8.8	0.02	68.5	22.0	0.01	57.1	34.2
ヒドロコルチゾン	0.2	84.1	3.7	8.9	0.2	91.1	7.8	0.2	85.3	4.2
	0.02	112.6	8.5	8.6	0.02	90.5	19.1	0.01	87.1	9.7
フェノブカルブ	0.2	66.1	3.8	2.7	0.2	88.4	13.2	0.2	83.2	4.2
	0.02	69.4	3.5	3.2	0.02	90.8	14.6	0.01	81.4	8.2
ファミフル	0.2	55.5	4.3	2.2	0.2	85.3	7.2	0.2	86.5	7.1
	0.02	66.1	4.4	7.6	0.02	77.6	10.6	0.01	81.8	18.2
スルファニトラン	0.2	89.2	3.7	4.4	0.2	100.3	5.5	0.2	91.5	3.4
	0.02	72.2	2.1	5.8	0.02	92.5	6.6	0.01	78.8	2.5
ゼラノール	0.2	35.6	5.1	4.3	0.2	86.5	5.5	0.2	85.5	3.5
	0.02	38.6	4.2	8.1	0.02	77.3	6.9	0.01	79.5	6.6
チアンフェニコール	0.2	109.1	2.8	3.1	0.2	100.5	3.3	0.2	103.1	3.9
	0.02	106.3	1.4	6.0	0.02	83.5	9.9	0.01	118.4	12.1
2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール	0.2	85.1	1.7	5.2	0.2	89.0	11.4	0.2	83.6	5.2
	0.02	91.5	4.5	6.6	0.02	101.0	10.9	0.01	85.1	8.2
フロルフエニコール	0.2	109.7	2.8	5.1	0.2	106.4	5.6	0.2	94.1	7.4
	0.02	102.8	5.3	6.6	0.02	91.7	15.3	0.01	114.3	11.6
(トリメブプリム)	0.2	87.0	4.4	3.8	0.2	91.8	4.2	0.2	94.2	4.0
	0.02	78.9	4.7	12.3	0.02	85.7	10.2	0.01	101.1	8.1
(スルファジアジン)	0.2	104.2	5.3	1.3	0.2	110.5	3.6	0.2	103.6	2.4
	0.02	100.1	3.7	4.5	0.02	110.6	7.0	0.01	94.5	5.9
(オルメブプリム)	0.2	86.8	3.5	4.8	0.2	84.7	3.2	0.2	93.3	4.6
	0.02	72.9	5.4	5.4	0.02	83.1	8.4	0.01	95.8	5.6
(クロルスロン)	0.2	88.0	3.9	1.5	0.2	83.7	8.1	0.2	97.1	6.6
	0.02	86.2	12.7	6.0	0.02	75.0	6.9	0.01	104.7	12.0

4 まとめ

既報のLC/MS/MSを用いた一斉分析法を用い、同じ分析法で分析可能な動物用医薬品の追加を検討した。28物質を追加候補として厚生労働省ガイドラインに準じた試験を行い妥当性を確認したところ、8項目が追加可能と判断されたが、既報の項目のうち5項目を対象から外し4項目を対象に追加したため、既報の25項目から7項目増加の32項目の一斉分析法となった。

今後も、一斉分析できる動物用医薬品の検査項目を増加させるため、クリーンアップ法等の前処理法を見直し、新たな物質の同時分析を検討する予定である。

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) 大月史彦，肥塚加奈江，前田大輔，山本 淳：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，岡山県環境保健センター年報，35, 109-113, 2011
- 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について，食安発第1115001号，平成19年11月15日，2007
- 4) 浦山豊弘，肥塚加奈江，赤木正章，山本 淳：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（第2報），岡山県環境保健センター年報，36, 109-114, 2012