

3) LC/MS/MSを用いた畜水産食品中の残留動物用医薬品迅速分析法の

検討（第3報）－牛肉（筋肉）試料を用いた妥当性評価－

濱田 寛尚* 吉元 秀和 村川 弘

はじめに

畜水産食品中に残留する動物用医薬品等の検査については、厚生労働省が示している「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」¹⁾（以下「ガイドライン」という。）により、当該検査に使用する試験法の妥当性を確認することが求められている。前報²⁾では、当所で開発したLC/MS/MSによる残留動物用医薬品の一斉分析法（以下「LC/MS/MS法」という。）について、豚肉（筋肉）及びブリを試料に用い、ガイドラインに基づき、枝分かれ実験による妥当性評価試験を行ったところ、動物用医薬品179成分中目標値を満たしたものは、豚筋肉試料では標準品添加濃度10 ng/gで144成分、50 ng/gで151成分、ブリ試料では10 ng/gで137成分、50 ng/gで147成分であり、当該試験法が畜水産食品中の残留動物用医薬品多成分一斉迅速分析法として有用であることを報告した。

今回、ガイドラインで示されている「妥当性評価試験に用いる代表的な畜水産食品」である、牛肉（筋肉）試料を用い、同様の妥当性評価試験を実施したので、その結果を報告する。

実 験

1 試薬

混合標準液：表1の＊を付した各標準を秤量、メタノール又はアセトニトリル等に溶解し、100 mg/ℓの混合標準原液を調製した。各混合標準原液と市販の動物用医薬品混合液PL-1-3, PL-2-1（和光純薬工業(株)製）を混合し、メタノールで200 µg/ℓに調整した。検量線は、既報^{3),4)}のとおりマトリックス一致検量線を用いた。

2 装置及び分析条件

前報²⁾のとおり。

3 試験方法

1) 試料

牛肉（筋肉）試料をフードプロセッサで細切して、

* 現熊本県健康福祉部健康福祉政策課

試料とした。

2) 添加回収試験

試料10.0 gに混合標準液（表1に示す動物用医薬品187成分）を40及び10 ng/gになるように添加し、LC/MS/MS法により、分析者3名でそれぞれ添加試料を1日2回、2日間分析した。

結果及び考察

今回実施した妥当性評価試験の結果を表1に示す。動物用医薬品187成分中、ガイドラインに示されている目標値のうち、真度が適合した動物用医薬品成分数は添加濃度40 ng/gでは160成分、10 ng/gでは148成分であった。そのうち、精度も適合であった動物用医薬品成分は、添加濃度40 ng/gでは156成分、10 ng/gでは145成分であった。目標値に適合した動物用医薬品成分の真度の平均値は、両添加濃度とも約92%程度であり、真度に大きな差がある適合成分はほとんどなかった。しかしながら、不適合の動物用医薬品成分のうち、真度不適合の動物用医薬品成分数は、添加濃度40 ng/gで27成分、10 ng/gで37成分であり、真度適合で精度不適合の動物用医薬品成分数は、添加濃度40 ng/gで4成分、10 ng/gで2成分認められた。精度が不適合となった理由の一つとして、試料マトリックスのイオン化阻害による定量値のばらつき等が推測され、さらに、高濃度の添加量の場合はガイドラインで要求される精度の目標値が低いため、両濃度における精度が同程度であっても高濃度の添加量の場合に不適合が多くなったと考えられた。

また、今回の妥当性評価試験では、前報²⁾の豚肉（筋肉）及びブリ試料を用いた場合と比較し、適合した動物用医薬品成分数は同等以上であった。これにより、本分析法の牛肉（筋肉）試料に対する残留動物用医薬品迅速分析法としての妥当性が確認できた。

参考資料

- 1) 厚生労働省：厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知，食安発1224第1号，平成22年12月24日。
- 2) 村川 弘，福島孝兵，飛野敏明：熊本県保健環境科学研究所報，39，21-25 (2009)

表1 妥当性評価試験結果(試料:牛肉)

試料: 牛肉	Name	添加濃度: 試料中 40 ng/g				添加濃度: 試料中 10 ng/g				両濃度 とも適合
		回収率 平均値 (%)	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	判定	回収率 平均値 (%)	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	判定	
1	[Monobis(Trimethylammoniummethylen e Chloride)]-Alkyltoluene*	83.7	6.1	9.0	○	91.9	11.9	16.5	○	◎
2	2-Acethylamino-5-Nitrothiazol	95.8	3.8	6.2	○	93.1	1.6	4.6	○	◎
3	Albendazole*	91.8	3.8	3.8	○	89.2	2.4	3.2	○	◎
4	Albendazole Metabolite*	89.1	10.9	14.5	○	79.4	7.6	10.0	○	◎
5	Azaperone*	95.1	4.3	5.3	○	95.9	6.2	8.7	○	◎
6	Avilamycin*	80.8	7.7	7.7	○	82.6	23.3	23.3	○	◎
7	Altrenogest*	90.3	5.7	5.7	○	86.6	8.3	11.6	○	◎
8	Ampicillin*									
9	Amprolium*	132.4	10.2	10.2		219.3	8.3	15.6		
10	Isoeugenol*	102.7	7.8	7.8	○	117.4	14.7	14.7	○	◎
11	Dipropylisocinchomeronate*	84.2	3.2	4.6	○	82.8	5.6	5.6	○	◎
12	Isoprothiolane*	89.1	2.8	3.5	○	86.8	2.8	2.8	○	◎
13	Isometamidium*	73.9	16.8	57.2						
14	Ivermectin*	88.9	4.6	7.3	○	80.8	8.3	14.7	○	◎
15	Ethopabate	101.9	3.0	3.0	○	99.1	2.6	3.5	○	◎
16	Eprinomectin B1a*	100.2	3.2	5.4	○	100.2	13.8	13.8	○	◎
17	Efrotomycin*	97.0	3.9	10.2	○	101.6	20.5	31.5		
18	Epoxiconazol*	94.6	2.6	3.1	○	97.1	3.4	3.7	○	◎
19	Emamectin B1a	94.4	2.4	3.6	○	94.6	3.3	3.5	○	◎
20	Emamectin B1a (8, 9-Z)*	92.3	3.6	3.6	○	90.5	1.7	2.6	○	◎
21	Erythromycin*	99.2	3.0	4.0	○	95.9	3.1	3.1	○	◎
22	Didecylidimethylammonium*	79.2	5.0	6.8	○	79.8	4.6	4.6	○	◎
23	Enrofloxacin*	129.4	7.3	7.3		178.4	3.9	4.4		
24	Ciprofloxacin*	155.8	4.0	5.0		319.0	5.7	10.7		
25	Oxacillin*	85.0	11.3	11.3	○	89.0	5.3	10.8	○	◎
26	Oxabetrinil*	88.6	2.6	3.4	○	89.6	3.1	3.1	○	◎
27	Oxyclozanide*	78.5	5.3	10.1	○	79.6	6.7	11.6	○	◎
28	Oxytetracycline*	93.9	3.1	11.0	○	126.6	3.3	3.3		
29	Chlorotetracycline*	98.1	3.5	16.9	○	139.0	7.3	7.3		
30	Tetracycline*	111.3	3.1	14.6	○	143.8	4.1	4.1		
31	Oxibendazole*	99.3	3.4	3.9	○	94.9	4.1	4.4	○	◎
32	Oxolinic Acid*	97.7	3.5	3.9	○	99.5	5.2	5.2	○	◎
33	Ofloxacin*	142.4	8.0	8.2		241.4	3.5	4.7		
34	Olaquinox*	82.5	10.1	11.3	○	108.9	16.7	29.4	○	◎
35	Orbifloxacin*	104.9	5.5	6.6	○	124.6	5.9	8.8		
36	Ormetoprim*	98.5	3.6	3.6	○	96.9	4.7	7.9	○	◎
37	Oleandomycin*	99.5	4.7	4.7	○	101.0	4.6	4.6	○	◎
38	Carazolol*	92.8	3.1	4.3	○	94.7	6.8	8.5	○	◎
39	Carprofen*	85.6	2.5	3.6	○	82.4	5.0	8.1	○	◎
40	Xylazine	91.6	2.6	2.8	○	91.7	6.2	7.4	○	◎
41	Kitasamycin*	86.5	8.7	8.7	○	91.5	10.5	10.5	○	◎
42	Clenbuterol	97.4	9.3	11.9	○	90.7	8.3	16.9	○	◎
43	Cloxacillin*	100.0	4.1	7.3	○	97.8	20.0	20.0	○	◎
44	Cloquintet Mexyl*	78.7	3.1	3.3	○	75.9	2.8	3.6	○	◎
45	Closantel*	83.1	5.2	6.2	○	88.1	11.2	11.2	○	◎
46	Clostebol*	93.4	3.9	4.3	○	87.7	3.5	4.6	○	◎
47	Clopidol*	98.6	3.6	5.9	○	91.3	7.6	7.9	○	◎
48	Clorslon	73.1	8.3	8.3	○	90.1	11.0	11.0	○	◎
49	Chlorhexidine*	86.0	3.8	4.1	○					
50	Chlormadinone*	93.0	3.7	3.7	○	93.9	5.5	6.5	○	◎
51	Ketoprofen*	91.3	3.9	3.9	○	94.0	4.6	5.6	○	◎
52	Trenbolone	95.7	3.4	3.4	○	96.7	4.7	6.2	○	◎
53	Melengestrol Acetate	89.8	2.3	5.4	○	92.7	6.0	8.7	○	◎
54	Sarafloxacin*	128.1	4.8	6.1		220.0	5.5	5.5		
55	Salinomycin*	70.9	3.1	4.4	○	68.4	3.2	4.9		
56	Diaveridine*	92.6	9.0	12.3	○	91.4	17.2	17.5	○	◎
57	Diclazuril*	89.7	3.3	6.6	○	86.6	7.8	10.0	○	◎
58	Dichlorvos*	96.1	3.2	3.3	○	94.1	4.4	4.4	○	◎
59	Dicyclanil*	108.9	6.7	14.7	○	74.8	14.5	14.5	○	◎
60	Dinitlmide*	92.0	4.8	4.8	○	89.8	9.1	10.3	○	◎
61	Dibutylsuccinate*	58.9	1.6	6.1		56.4	4.5	6.6		
62	Difloxacin*	114.3	5.4	7.5	○	153.6	7.5	7.5		
63	Josamycin*	91.1	2.3	2.7	○	90.6	3.3	3.4	○	◎
64	Cyromazin*	88.3	4.4	4.9	○	97.1	6.1	8.0	○	◎
65	Spiramycin*	110.4	5.7	7.5	○	194.0	7.1	9.0		
66	Neospiramycin*	147.4	6.7	6.9		298.2	4.4	5.3		

表1 妥当性評価試験結果(試料:牛肉)

試料: 牛肉	Name	添加濃度: 試料中 40 ng/g				添加濃度: 試料中 10 ng/g				両濃度 とも適合
		回収率 平均値 (%)	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	判定	回収率 平均値 (%)	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	判定	
67	Spectinomycin*									
68	Sulfaethoxypyridazine*	96.8	5.3	5.3	○	92.7	3.9	4.0	○	◎
69	Sulfaquinoxaline	97.4	4.6	6.0	○	91.7	5.0	6.4	○	◎
70	Sulfachlorpyridazine	92.8	9.6	10.4	○	94.4	7.6	7.9	○	◎
71	Sulfadiazine*	90.6	3.6	4.4	○	94.3	5.3	6.9	○	◎
72	Sulfadimidine	97.0	9.2	9.2	○	93.2	8.0	9.3	○	◎
73	Sulfadimethoxine	98.3	3.2	3.5	○	95.6	3.2	4.0	○	◎
74	Sulfacetamide	92.4	4.6	8.2	○	93.6	4.4	6.4	○	◎
75	Sulfathiazole	96.5	8.5	8.5	○	93.7	6.2	6.2	○	◎
76	Sulfadoxine	102.4	4.6	5.4	○	96.8	4.4	4.4	○	◎
77	Sulfatroxazole*	99.1	4.8	4.8	○	98.5	3.4	4.6	○	◎
78	Sulfantran	94.0	11.6	11.6	○	96.2	14.8	14.8	○	◎
79	Sulfapyridine	96.0	4.5	5.0	○	95.3	6.0	6.9	○	◎
80	Sulfabromorethazine*	95.6	4.5	5.4	○	84.1	7.6	8.0	○	◎
81	Sulfabenzamide*	94.7	3.6	4.3	○	94.8	1.7	1.9	○	◎
82	Sulfamethoxazole	100.7	5.3	6.1	○	97.1	7.4	8.3	○	◎
83	Sulfamethoxypyridazine	103.3	5.7	6.2	○	101.5	7.3	7.3	○	◎
84	Sulfamerazine	95.5	5.4	5.4	○	94.2	8.4	9.0	○	◎
85	Sulfamoidapstone*	103.2	4.5	6.1	○	99.2	9.5	9.9	○	◎
86	Sulfamonomethoxine	83.8	20.1	24.7		89.7	12.2	12.2	○	
87	Sulfisozole*	104.2	4.3	4.4	○	104.0	7.4	9.1	○	◎
88	Zeranol	95.5	8.9	11.5	○	99.3	11.8	22.4	○	◎
89	Semduramicin*	97.4	2.2	3.1	○	94.7	3.4	3.9	○	◎
90	Tylosin*	94.7	5.6	5.6	○	102.5	8.1	14.7	○	◎
91	Danofloxacin	184.5	3.5	7.7		363.9	2.7	4.1		
92	Thiabendazole	97.5	5.1	5.5	○	98.3	3.2	3.2	○	◎
93	5-Hydroxythiabendazole*	89.4	6.4	7.5	○	87.9	9.7	9.7	○	◎
94	Tiamulin	95.2	3.9	4.3	○	96.2	2.2	3.1	○	◎
95	Thiamphenicol	101.5	6.3	8.1	○	88.4	16.5	27.6	○	◎
96	Tilmicosin	126.5	19.4	19.4						
97	Dexamethasone	91.4	2.9	3.1	○	91.0	6.4	6.4	○	◎
98	Decoquinat*	78.3	3.8	4.5	○	75.8	2.7	2.7	○	◎
99	Temephos	81.2	5.0	5.0	○	84.3	5.6	5.6	○	◎
100	Doramectin*	91.7	4.2	4.2	○	93.6	8.4	11.2	○	◎
101	Triclabendazole*	90.0	4.4	5.0	○	87.9	5.2	5.2	○	◎
102	Triclabendazole Sulphone*	83.8	5.4	5.4	○	85.5	15.3	30.0		
103	Trichlorhon	97.6	18.8	21.4						
104	Tribromsalan*	75.9	9.7	10.8	○	70.4	13.6	13.6	○	◎
105	Tripelennamine*	99.3	4.2	4.4	○	100.4	3.9	4.2	○	◎
106	Trimethoprim	87.0	14.9	19.8	○	67.4	17.7	38.4		
107	Toltrazuril*	92.4	3.8	6.5	○	86.4	12.4	16.6	○	◎
108	Tolfenamicacid*	85.1	4.8	7.0	○	84.0	11.1	14.9	○	◎
109	Nicarbazin*	84.4	6.3	6.3	○	85.2	5.4	5.4	○	◎
110	Nafcillin*	90.1	2.9	7.3	○	92.0	2.7	10.3	○	◎
111	Narasin*	67.2	3.6	6.6		65.2	6.9	7.2		
112	Nalidixic Acid*	95.9	7.7	7.7	○	89.2	3.3	4.1	○	◎
113	Nitarson*	86.7	1.9	3.9	○	83.8	1.4	2.4	○	◎
114	Nitroxynil*	88.1	2.9	5.3	○	80.7	7.9	7.9	○	◎
115	Novobiocin*	85.8	5.0	5.0	○	98.7	5.4	8.8	○	◎
116	Norfloxacin*	176.0	6.2	11.3		363.2	4.7	9.5		
117	Virginiamycin*	93.1	2.6	4.6	○	92.5	3.3	4.8	○	◎
118	Parbendazole*	88.7	5.4	6.0	○	87.9	3.1	3.1	○	◎
119	Halofuginone Lactate*	88.8	5.4	7.5	○	99.7	4.3	4.4	○	◎
120	Bithionol*	71.8	5.7	8.2	○	68.5	4.7	7.1		
121	Hydrocortisone	99.9	7.9	7.9	○	112.5	8.2	10.9	○	◎
122	Pyrantel*	82.6	8.0	14.7	○	93.2	15.5	30.2		
123	Pyrimethamine	87.2	6.0	6.0	○	80.1	5.4	10.0	○	◎
124	Famphur	97.2	2.9	2.9	○	97.8	4.7	4.7	○	◎
125	Fenitrothion*	89.6	9.1	12.3	○	84.7	14.6	16.9	○	◎
126	Phenoxymethylpenicillin*									
127	Fenobucarb	125.1	5.5	14.9		120.6	7.1	10.7		
128	Praziquantel*	97.4	1.9	3.2	○	94.2	2.1	2.7	○	◎
129	Flamprop Methyl*	94.0	2.6	3.0	○	92.1	2.0	3.0	○	◎
130	Prifinium*	98.5	3.6	3.9	○	102.3	4.7	7.9	○	◎
131	Flunixin*	92.3	3.1	3.3	○	88.1	4.5	4.7	○	◎
132	Flubendazol*	97.7	8.3	8.3	○	94.0	3.0	4.2	○	◎
133	Flumequine*	95.5	3.3	3.3	○	90.3	3.7	3.7	○	◎
134	Prednisolone	96.2	4.6	4.6	○	86.2	10.6	16.3	○	◎

表1 妥当性評価試験結果(試料:牛肉)

試料: 牛肉	Name	添加濃度: 試料中 40 ng/g				添加濃度: 試料中 10 ng/g				両濃度 とも適合
		回収率 平均値 (%)	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	判定	回収率 平均値 (%)	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	判定	
135	Brotizolam*	94.7	3.5	4.4	○	96.8	4.0	5.3	○	◎
136	Propaquizafop*	85.1	3.5	3.5	○	82.3	2.8	3.1	○	◎
137	Propetamphos*	86.5	2.8	4.9	○	86.5	4.7	4.7	○	◎
138	Propxur*	99.8	1.9	3.3	○	97.3	3.5	3.6	○	◎
139	Florfenicol	100.3	5.8	6.7	○	96.8	6.1	8.8	○	◎
140	Vedaprofen*	86.9	7.0	7.0	○	99.8	8.6	9.9	○	◎
141	Betamethasone*	95.0	3.4	4.5	○	98.5	5.8	6.4	○	◎
142	Permethrin*	7.1	7.3	16.7		11.3	17.3	17.3		
143	Benzylpenicillin*									
144	Benzocaine*	101.0	2.9	2.9	○	99.0	1.8	3.3	○	◎
145	Boscalid*	94.2	1.7	3.8	○	92.6	5.3	5.5	○	◎
146	Maduramicin*	83.2	2.8	5.3	○	80.1	2.2	4.1	○	◎
147	Mafoxprazine*	96.3	4.1	4.1	○	93.8	7.8	7.8	○	◎
148	Marbofloxacin*	154.3	7.7	7.8		264.9	4.2	6.4		
149	Miloxacin*	81.7	4.7	5.8	○	88.0	5.0	10.7	○	◎
150	Mirosamycin*	94.1	2.7	3.7	○	95.6	3.1	3.7	○	◎
151	Methylprednisolone*	92.9	3.0	4.6	○	96.5	8.3	8.3	○	◎
152	Metoclopramide*	98.8	5.7	7.4	○	93.4	4.8	5.1	○	◎
153	Mefenpyr Diethyl*	87.2	2.3	3.3	○	84.0	3.8	3.8	○	◎
154	Mebendazol*	96.8	5.5	5.6	○	94.0	4.7	4.7	○	◎
155	Meloxicam*	86.2	3.0	5.1	○	83.3	6.1	6.6	○	◎
156	Menbutone*	92.8	2.1	4.8	○	92.6	6.7	7.5	○	◎
157	Moxidectin*	76.1	6.5	6.5	○	81.5	8.1	12.8	○	◎
158	Monensin	87.1	2.0	4.1	○	84.1	5.5	5.6	○	◎
159	Morantel*	94.5	4.9	6.0	○	96.9	7.6	13.2	○	◎
160	Lasalocid*	75.6	2.9	4.8	○	72.6	4.4	5.9	○	◎
161	Rifaximin*	101.0	3.2	3.6	○	110.7	3.1	5.5	○	◎
162	Lincomycin	93.4	7.3	8.3	○	109.3	6.3	17.0	○	◎
163	Revamisole*	98.3	3.8	3.8	○	99.1	3.1	3.7	○	◎
164	Robenidine*	70.4	3.8	4.7	○	70.8	7.5	10.9	○	◎
165	Warfarin*	94.0	2.3	3.7	○	92.5	3.8	4.1	○	◎
166	Glycyrrhizic Acid*	21.1	12.5	26.5						
167	Chloramphenicol*	98.0	2.9	4.8	○	103.8	8.9	10.7	○	◎
168	Chlorpromazine*	69.8	4.0	6.9		69.7	2.7	4.3		
169	Dimetrilazole*	101.6	3.3	3.9	○	106.0	4.0	4.5	○	◎
170	Nitrofurazone*	111.4	18.2	27.8						
171	Furazolidone*									
172	Nitrofurantoin*									
173	Furaltadone*									
174	Metronidazole*	98.3	3.7	3.7	○	96.3	7.4	7.4	○	◎
175	Malachitegreen*	34.0	3.9	6.3		34.3	6.1	8.8		
176	Malachitegreen*	31.3	4.7	7.1		28.9	3.9	8.6		
177	Oxfendazole Sulfone*	95.5	3.9	4.1	○	94.0	5.6	5.6	○	◎
178	Oxfendazole*	97.9	1.3	2.6	○	93.9	4.0	4.0	○	◎
179	Febantel*	95.0	2.1	3.3	○	92.8	3.0	3.0	○	◎
180	Fenbendazole*	90.6	2.1	4.3	○	89.4	5.2	7.3	○	◎
181	Canthaxanthin*	2.3	16.1	38.0						
182	Pirlimycin*	84.2	5.0	5.3	○	79.9	4.1	5.1	○	◎
183	Ractopamine*	98.3	7.9	7.9	○	94.0	17.1	17.1	○	◎
184	Sulfisoxazole*	102.3	4.2	4.8	○	97.2	4.8	4.8	○	◎
185	Sulfisomidine*	95.5	10.2	12.0	○	90.8	11.6	15.0	○	◎
186	Difurazone*	64.3	9.6	9.6		71.3	15.6	15.6	○	
187	Piromidic acid*	98.1	1.8	3.0	○	94.7	4.7	6.8	○	◎
合計					156				145	143