

LC/MS/MSによる畜産物中の動物用医薬品検査の試験法検討

【化学衛生室】

田中 恵里¹⁾、福田 武史

1 はじめに

当所では、畜産物中の残留動物用医薬品検査について、厚生労働省通知「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」⁽¹⁾（以下「通知法」という）に基づき実施してきた。主に県内で飼育及びと畜された畜産物について試験を実施するため、県内で使用履歴のある薬剤を中心に検査を行っている。そのため、複数の系統の薬剤について検査が必要であり、1検体あたり一斉試験法及び個別試験法の組合せにより3~4の試験法で検査を実施している。

この度、複数試験法で分析していた成分を同時に分析できる条件を検討し、ガイドライン⁽²⁾により妥当性評価を実施したところ、15成分中13成分について良好な結果が得られたので報告する。

2 方法

2.1 試料

試料は、対象成分が残留していないことを確認した牛の筋肉及び腎臓を用いた。試料中濃度が各基準値となるよう混合標準溶液を添加し、30分放置した後抽出操作を開始した。ただし、セファピリンについては酵素の影響⁽³⁾で、タイロシンについては当所での予備検討の結果、標準液を添加後30分放置すると回収率が大きく減少したため、添加直後に抽出操作を開始した。

2.2 試薬等

標準品は、和光純薬工業製又は関東化学製を用いた。

メタリン酸は特級、2NA(EDTA・2Na)は試験研究用、その他の試薬についてはLC/MS用を用いた。

固相カラムは、Oasis HLB(60mg, 3cc)ウォーターズ製を用いた。

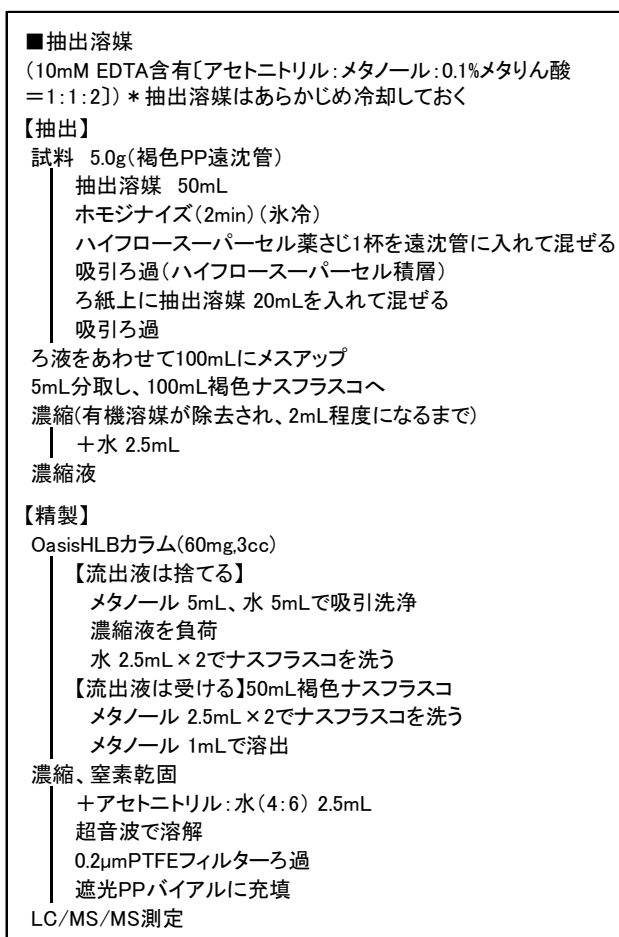
2.3 装置

- ホモジナイザー：
KINEMATICA ポリトロン PT10-35
- 高速液体クロマトグラフ：
島津製作所 Nexera シリーズ
- 質量分析装置：AB SCIEX QTRAP5500

2.4 試験溶液の調製(図1参照)及び評価方法

試験は、光分解を起こしやすい物質があるため、遮光して行った。

図1 試液調製フロー



抽出溶媒について通知法一斉Ⅲ法では、0.2%メタリン酸を用いるが、タイロシンは酸性溶液中で不安定なため⁽⁴⁾堀江らの報告⁽⁵⁾を参考に0.1%とし、さらに通知法のオキシテトラサイクリン類試験法を参考に10mM EDTAを含有させた。

1) 退職

また、抽出溶媒の量は、国立医薬品食品衛生研究所の研修会資料⁽⁶⁾を参考にして決定した。

1 回目の濃縮後に水を加えることで酸性条件が緩和され、また、微量に残留する有機溶媒濃度も低くなるためか、回収率等の安定につながった。

評価は、実施者 1 名が 1 日 1 回（2 併行）5 日間実施する枝分かれ試験とした。

2.5 LC/MS/MS 測定条件

表 1 LC/MS/MS 測定条件

分析カラム	化学物質評価研究機構 L-column2 ODS(2.1*150mm 3μm)
ガードカラム	化学物質評価研究機構 L-column2 ODS (2.1*10mm 5μm)
移動相	A液 0.1mMギ酸アンモニウム含有 0.1%ギ酸水溶液
	B液 0.1mMギ酸アンモニウム含有 0.1%ギ酸アセトニトリル溶液
流速	0.2mL/min
グラジエント条件	B: 0min(5%)→1min(5%)→10min(40%) →13min(40%)→18min(98%)→30min(98%)
カラム温度	40℃
注入量	3μL

各化合物の測定条件は、表 2 のとおりで、イベルメクチンについては、 $[M+NH_4]^+$ を Q1 とし

た。

3 結果

3.1 選択性

筋肉及び腎臓のブランク試料を測定したところ、すべての物質において、定量を妨害するピークは確認されず、選択性の目標値に適合していた。

3.2 真度及び精度

結果を表 3 に示した。真度の目標値 70%~120% に適合したものは、15 成分中筋肉で 14 成分、腎臓で 13 成分となった。

測定時における試料由来のマトリックス効果を測定するために、筋肉及び腎臓試料の抽出液を乾固させ各基準値の混合標準溶液で再溶解して測定した。イベルメクチンは、筋肉で 129%、腎臓で 170%、セフロキシムは腎臓で 84%となった。それ以外の成分は、90%~110%の範囲内であった。

両試料ともに全ての成分において、併行精度及び室内精度はガイドラインの目標値に適合していた。

表 2 化合物の測定条件

【イオン化条件：CUR(30), CAD(8), IS(+5500V, -4500), TEM(500℃), GAS1(70), GAS2(80)】

化合物名	ESI	Q1(m/z)	Q3(m/z)	DP(V)	EP(V)	CE(V)	CXP(V)
アンピシリン	-	348	207	-66	-10	-18	-9
イベルメクチン	+	892.5	569	51	10	21	34
オキシテトラサイクリン	+	461	426	31	10	29	22
クロルテトラサイクリン	+	479	444	46	10	33	24
テトラサイクリン	+	445	410	31	10	27	22
セファゾリン	+	455	323	54	10	15	14
セファピリン	+	424	292	31	10	21	16
セフロキシム	-	423	318	-45	-10	-12	-9
タイロシン	+	916.5	174	26	10	57	14
チアンフェニコール	-	354	185	-72	-10	-26	-11
デキサメタゾン	+	393	373	61	10	11	22
フルベンダゾール	+	314	282	52	10	28	4
ベンジルペニシリン	-	333	192	-61	-10	-14	-15
マルボフロキサシン	+	363	72	56	10	47	20
メクロプラミド	+	300	227	36	10	25	20

4 まとめ

牛筋肉及び腎臓中の残留動物用医薬品について、通知法一斉Ⅲを改良して、15成分についてガイドラインに基づき、妥当性評価を行った。筋肉では14成分、腎臓では13成分においてガイドラインのすべての目標値に適合していた。

また、ガイドラインを満たさない成分についても、真度は60%以上あり、スクリーニング検査には十分使用できる試験法となった。

5 参考文献

(1) 厚生労働省通知：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、平成17年1月24日、食安発第

0124001号(2005)

(2) 厚生労働省通知：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、平成22年12月24日、食安発1224第1号(2010)

(3) 河原さおり, 内尾雅子, 田島幸治：熊本市環境総合研究所報16号, 43-48(2009)

(4) 中澤裕之, 堀江正一：動物用医薬品データベース2006, 252(2006)

(5) 堀江正一, 石井里枝, 吉田栄充, 星野庸二, 中澤裕之：食衛誌, Vol. 40, 309-313(1999)

(6) 国立医薬品食品衛生研究所 食品部 根本了：残留農薬等告示試験法の見方・考え方(残留農薬研修会(2013.10.10))

表3 妥当性評価の結果(真度、精度及びマトリックス効果)

成分名	基準値 筋肉(腎臓) ppm	筋肉				腎臓			
		真度 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)	マトリッ クス効果 (%)	真度 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)	マトリッ クス効果 (%)
アンピシリン	0.03	71	6.6	10.5	99	73	7.6	10.2	91
イベルメクチン	0.01	120	6.2	15.3	129	142	3.9	11.6	170
オキシテトラサイクリン	0.2(1)	82	3.1	7.6	102	83	3.1	6.4	101
クロルテトラサイクリン		80	5.9	11.4	101	80	3.8	7.2	98
テトラサイクリン		89	1.9	6.6	105	90	3.2	8.8	107
セファゾリン	0.05	89	3.7	6.3	106	86	3.7	5.5	101
セファピリン	0.03	84	3.1	6.0	101	84	2.7	6.4	100
セフロキシム	0.02	85	4.9	5.2	95	76	4.7	7.0	84
タイロシン	0.1	88	2.2	6.3	100	73	3.5	8.2	98
チアンフェニコール	0.02	95	4.8	4.6	103	92	3.7	3.9	98
デキサメタゾン	0.04	94	5.4	6.1	100	91	1.7	3.7	99
フルベンダゾール	0.010(0.3)	92	3.2	7.1	99	88	1.5	9.8	100
ベンジルペニシリン	0.05	78	2.3	9.6	99	62	2.5	13.4	95
マルボフロキサシン	0.1(0.15)	88	2.1	10.1	102	88	2.7	8.9	99
メクロプラミド	0.03	95	1.8	5.4	103	88	2.0	4.5	98