

## 資料

## LC/MS/MSによるハチミツ中の残留動物用医薬品等の一斉分析

西村 修一                      小原 健二                      下堂 菌栄子  
 大小田 修司                    愛甲 武仁                    宮田 義彦

## 1 はじめに

ミツバチは、わが国において法的には家畜として取り扱われ、腐蛆病をはじめとする微生物の感染による種々の病気があり、その対策として抗生物質、合成抗菌剤等による化学療法が一般に行われている。最近、輸入ハチミツから抗生物質や合成抗菌剤などが検出され、動物用医薬品（以下薬剤という）が食品に移行残留することが問題視されている。

2006年5月29日に食品中の農薬等のポジティブリスト制度が施行され、これに伴い多成分試験法である「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験Ⅰ（畜水産物）」（以下「一斉法Ⅰ」という）が、厚生労働省から通知された<sup>1)</sup>。そこでハチミツについても一斉法Ⅰを適用して分析を試みたが、ハチミツにアセトニトリルを添加してホモジナイズすると、ハチミツがゲル状になり、薬剤を効率よく抽出できなかつた。

ハチミツは主成分が水分約20%、糖分約80%であり、糖の過飽和溶液である。糖（とりわけ単糖）は、疎水性の炭化水素基の割合に対し親水性のヒドロキシル基の割合が多いため、有機化合物でありながら水に溶けやすいが、有機溶媒には溶けにくいという性質を持っている。

そこで今回、緩衝液でハチミツを希釈した後、固相カラムを用いた簡便で迅速な分析方法を検討し、良好な結果を得たので報告する。

## 2 調査方法

## 2.1 試料

市販しているハチミツ（鹿児島県内産のレンゲハチミツ）を用いた。

## 2.2 対象薬剤

当センターのLC/MS/MSで一斉測定可能な49種とした。内訳については表1に示す。

## 2.3 試薬及び試液

## 2.3.1 試薬

混合液：和光純薬工業㈱製の動物医薬品混合液PL-1-1及びPL-2-1（各20 $\mu$ g/mL、メタノール溶液）を用いた。

標準品：クロピドール、エンロフロキサシン、フルベンダゾール、ナリジクス酸、オフロキサシン、ピロミド酸及びオキシリニック酸（以上関東化学㈱）、ジクラズリル（畜水産品残留安全協議会）、塩酸サラフロキサシン、チアベンダゾール代謝物（林純薬工業㈱）及びナイカルバジン（和光純薬工業㈱）を用いた。

有機溶媒：酢酸エチル（残留農薬・PCB試験用）、溶出用のアセトニトリル及びメタノール（以上液体クロマトグラフィー用）には和光純薬工業㈱製のものを、LC/MS/MSの移動相用のアセトニトリルには関東化学㈱製のLC/MS用を使用した。

その他の試薬：ギ酸は関東化学㈱製のLC/MS用を、その他の試薬については関東化学㈱製の特級を使用した。

## 2.3.2 標準原液及び混合標準液の調製

各標準品10mgを量り採り、ナイカルバジン及びジクラズリルはジメチルホルムアミドに、フルベンダゾールはテトラヒドロフランに、ピロミド酸は少量のテトラヒドロフランで溶解後メタノールに、その他の薬剤はメタノールに溶かし、メスフラスコで100mLとしたものを標準原液とした。市販の混合液及び各標準原液をアセトニトリル：水（4：6）混液により適宜希釈して混合標準溶液とした。

## 2.3.3 試液

0.05%ギ酸はギ酸0.5mLを超純水で1Lにメスアップしたものをを用いた。MacIlvain緩衝液（pH7.0）は0.1mol/Lクエン酸溶液（クエン酸1水和物：21.01g/L）と0.2mol/Lリン酸ナトリウム溶液（リン酸水素2ナトリウム：28.40g/L）を17.65と82.35の割合で混合したものをを用いた。

0.1%リン酸はリン酸1.0mLを超純水で1Lにメスアップしたものを用いた。アセトニトリルと水の混液及び溶出溶媒として用いた各混液はそれぞれv/vで混合した。

## 2. 3. 4 固相カラム

Waters社製のOasis HLB (60mg) カートリッジおよびSep-Pak plus C18 (360mg) カートリッジを使用した。それぞれ試験に供する前に溶出溶媒10mL, 精製水10mLの順でコンディショニング済みのものを使用した。ただし, 溶出溶媒に酢酸エチルを用いる場合には酢酸エチル10mL, メタノール10mL, 精製水10mLの順にコンディショニングしたものを使用した。

## 2. 4 装置

高速液体クロマトグラフはAgilent Technologies製1100シリーズを使用した。送液ポンプはG1311A, オートサンプラーはG1329A, カラムオープンはG1316A及びダイオードアレイ検出器 (DAD) はG1315Bを用いた。

質量分析装置はApplied Biosystems製API2000を使用し, イオンソースはTurb Ion Sprayを使用した。

## 2. 5 測定条件

### 2. 5. 1 高速液体クロマトグラフ条件 (LC/MS/MS)

分析カラムにはジューエルサイエンス製Inertsil ODS-SP (内径2.0mm, 長さ100mm, 粒径3 $\mu$ m) を用いた。移動相にはアセトニトリル及び0.05%ギ酸を用いてグラジエントをかけた。グラジエント条件はポジティブイオン化では0 min (アセトニトリル : 0.05%ギ酸 = 5 : 95)  $\rightarrow$  3 min (5 : 95)  $\rightarrow$  15min (95 : 5)  $\rightarrow$  20min (95 : 5) とし, ネガティブイオン化では0 min (アセトニトリル : 0.05%ギ酸 = 5 : 95)  $\rightarrow$  3 min (5 : 95)  $\rightarrow$  15min (95 : 5)  $\rightarrow$  30min (95 : 5) とした。流速は0.2mL/min, カラム温度は40 $^{\circ}$ C, 注入量は10 $\mu$ Lとした。

### 2. 5. 2 質量分析装置条件

イオン化法としてESI法 (エレクトロスプレーイオン化法) のポジティブモード及びネガティブモードを用い, 測定モードは高感度測定に適したMRM (Multiple Reaction Monitoring) モードとした。薬剤ごとのプリカーサーイオン (Q1), プロダクトイオン (Q3) 及びMRMの各モードにおけるDP (Declustering Poetensial) 及びCE (Collision Energy) を表1に示した。ポジティブイオン化において, イオン化はESIのポジティブモード, イオンスプレー電圧は5.5kV, イオンソース温度は400 $^{\circ}$ Cとした。また, ネガティブイオン化において, イオン化はESI

表1 薬剤ごとのリテンションタイム及びMS/MSのパラメータ

薬剤名	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)	R. T. <sup>*)</sup> (min)	DP (V)	CE (V)
ポジティブモード					
レバミゾール	205.2	178.3	8.6	61	33
リンコマイシン	407.1	126.3	8.8	46	45
チアベンダゾール代謝物	218.1	190.9	8.8	61	39
スルファチアゾール	256.0	156.1	8.8	21	23
ABZ-Met <sup>2)</sup>	240.0	133.3	8.9	56	43
スルファピリジン	250.1	92.2	8.9	46	39
チアベンダゾール	202.0	175.1	9.3	51	37
スルファメラジン	265.2	156.1	9.4	21	25
トリメトプリム	291.2	230.1	9.5	36	33
オルメトプリム	275.1	123.3	9.8	61	35
トリクロルホン	259.1	122.9	9.8	111	39
オフロキサシン	362.2	318.1	9.8	56	25
スルファジミジン	279.3	186.1	10.0	51	25
ダノフロキサシン	358.2	340.2	10.1	56	31
エンロフロキサシン	360.3	316.1	10.2	51	27
スルファメトキシピリダジン	281.0	92.1	10.2	31	43
キシラジン	221.1	90.1	10.4	51	33
クレンブテロール	277.0	203.2	10.5	21	23
サラフロキサシン	386.1	298.9	10.6	56	43
スルファモノメトキシ	281.0	92.3	10.6	11	43
スルファクロピリダジン	285.0	156.1	10.8	16	23
モランテル	221.1	123.3	10.8	56	49
スルファメトキサゾール	254.0	92.1	11.1	26	37
ナリジクス酸	233.1	198.1	11.1	116	35
スルファジアジン	251.1	179.2	11.1	61	43
ピリメタミン	249.0	233.2	11.1	71	41
スルファドキシ	311.0	156.2	11.2	36	31
チルミコシン	435.4	174.2	11.4	16	61
オキソリニック酸	262.2	244.1	11.8	56	25
スルファジメトキシ	311.0	156.2	12.0	41	31
エトパベート	238.1	206.2	12.0	11	15
スルファキノキサリン	301.0	156.2	12.1	41	23
スルファセタミド	215.1	187.0	12.8	56	27
チアムリル	494.3	192.3	12.8	41	31
クロピドール	192.0	100.8	12.8	96	25
フルベンダゾール	314.2	282.0	12.9	46	31
$\beta$ -ートレンボロン	271.1	199.3	13.3	86	33
$\alpha$ -ートレンボロン	271.1	253.1	13.4	86	31
ピロミド酸	289.1	243.1	13.6	51	41
フェノブカルブ	208.1	95.2	14.4	26	19
ファミフル	325.9	93.3	14.5	21	47
リファキシミン	786.1	95.3	14.7	56	73
エマメクチンB1a	886.3	158.3	15.1	76	59
アレスリン	303.1	135.3	17.0	11	17
デメホス	466.9	125.2	17.1	41	43
ネガティブモード					
ANZ <sup>3)</sup>	186.0	138.8	11.1	-11	-18
スルファニトラン	333.9	135.9	12.9	-56	-48
ナイカルバジン	301.0	136.9	14.6	-6	-20
ジクラズリル	404.9	334.0	15.0	-46	-26

R. T.<sup>\*)</sup>: 保持時間

ABZ-Met<sup>2)</sup>: 5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン

ANZ<sup>3)</sup>: 2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール

のネガティブモード、イオンスプレー電圧は-4.5kV、イオンソース温度は400℃とした。

### 2.5.3 高速液体クロマトグラフ条件 (HPLC-DAD)

分析カラムにはジーエルサイエンス(株)製 Inertsil ODS-SP (内径4.6mm, 長さ150mm, 粒径5 $\mu$ m) を用いた。移動相には0.1%リン酸入りアセトニトリル及び0.1%リン酸を用いてグラジエントをかけた。グラジエント条件は0 min (0.1%リン酸入りアセトニトリル:0.1%リン酸=6:94) →20min (50:50) →30min (50:50) とした。流速は1.0mL/min, カラム温度は40℃, 注入量は20 $\mu$ L及びUV (DAD) は270.0nmとした。

### 2.6 試験溶液の調製

試料5.0gを量り採り, MacIvain緩衝液 (pH7.0) 30mLを加え, 試料を十分に溶解後, 毎分3000回転で5分間遠心分離し, 水層を分取した。コンディショニング済みの固相カラムに分取した水層を負荷し, 精製水10mLで洗浄後, 溶出溶媒10mLを用いて2 mL/min以下で溶出した。溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り, 40℃以下で乾固直前まで濃縮し, 窒素ガス (純度:99.999%) で還流させ, 溶媒を除去した。残留物にアセトニトリル:水 (4:6) 混液1.0mLを加え, 超音波処理により溶解し試験溶液とした。なお, 試験フローを図1に示した。

また, 添加回収試験を行う試料には, 試料5.0gに混合標準液0.05 $\mu$ g/mL及び0.10 $\mu$ g/mLを1.0mL添加 (各薬剤の濃度が試料中換算で0.01または0.02 $\mu$ g/g) して, 30分間冷蔵庫にて放置後, 試験に供した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 前処理の検討

ハチミツの主成分である糖類 (主にブドウ糖及び果糖) などの極性の大きい物質は水のような高極性溶媒にしか溶けないという性質を持つ。一斉法Iに示してある試験溶液の調製方法のように無水硫酸ナトリウムによる試料の脱水と同時に均質化を行うと全体が固化したり, アセトニトリルのみを添加した場合でもハチミツがゲル状になったり, ハチミツ中の薬剤等を効率よく抽出することは困難であった。0.1N水酸化ナトリウム等に溶解後, ジクロロメタンや酢酸エチル等で抽出する方法<sup>2)</sup>が報告されている。しかし, この溶解液では回収率に問題があったり, pH調製等の必要があったり, 操作が煩雑である。

一方, ハチミツの成分は水分と糖分が主であり, 測定時にマトリクス (共存成分や溶媒などの種類) となるよ

試料 5.0g

- 混合標準液添加 (30分放置)
- MacIvain緩衝液 (pH7.0) 30mL
- 遠心分離 毎分3000回転 5分間

水層

- 2 mL/min以下で負荷

固相カラム (コンディショニング済み)

- 精製水10mLで洗浄
- 溶出溶媒10mLで溶出 (2 mL/min以下)

溶出液

- 40℃ 以下で減圧濃縮

残留物

- アセトニトリル:水 (4:6) 1.0mL

試験溶液

LC/MS/MS 10 $\mu$ L注入

図1 試験フロー

うな成分が少ないことから, 煩雑な操作を省いて, ハチミツを緩衝液等に溶解させた後, 固相カラム等により抽出できないか検討した。同じ様な方法でケイソウ土カラムを用いた分析方法の報告<sup>3)</sup>もあるが, この方法は多量の酢酸エチルを使用するため環境や人体への影響が危惧された。また, ハチミツを溶解させる液には, 溶解後の固相カラムへの影響を考慮して, 緩衝液のみとした。緩衝液にはMacIvain緩衝液を用い, pHは一斉に多成分を分析するために7.0とした。ハチミツ5.0gはMacIvain緩衝液 (pH7.0) 30mLで十分溶解可能であった。

### 3.2 固相カラムおよび溶出溶媒の検討

検討にあたり, ハチミツ5.0gに混合標準液1.0 $\mu$ g/mLを1.0mL添加し, 30分間ほど冷蔵保管したものを検体として試験に供した。2.6 試験溶液の調製に準じて試験溶液を調製した。その試験溶液をLC/MS/MSにて測定し, 各薬剤で得られたピーク面積と混合標準液1.0 $\mu$ g/mLのピーク面積と比較した。

多成分を一斉に分析できる固相カラムと溶出溶媒の組み合わせを検討をした。溶出溶媒の検討にはアセトニトリル, メタノール及び酢酸エチルを用いた。固相カラムの検討にはオクタデシル基を化学結合したシリカゲルカ

ラムのSep-Pak Plus C18及び残存シラノール基や金属不純物などの影響が少ないと考えられるポリマー系充填剤のOasis HLBを用いた。検討結果は表2のとおりであった。固相カラムにOasis HLBを溶出溶媒にメタノールを

用いた組み合わせで、回収率70%以上あった薬剤は46種あり、最も多くの薬剤を回収できた。ただし、薬剤によってはOasis HLBとメタノールの組み合わせよりも回収率が高くなる組み合わせもあった。

表2 固相カラム及び抽出溶媒の検討

(単位: %)

溶出溶媒 固相カラム	アセトニトリル		メタノール		酢酸エチル	
	Oasis HLB	Sep-Pack Plus C18	Oasis HLB	Sep-Pack Plus C18	Oasis HLB	Sep-Pack Plus C18
ANZ <sup>1)</sup>	102.4	102.8	76.3	96.6	98.5	98.2
アレスリン	66.2	63.9	65.1	54.0	74.0	67.6
エトパベート	96.7	99.5	90.8	103.3	102.7	102.2
エマメクチンB1a	95.0	2.2	56.5	70.4	92.7	51.7
エンロフロキサシン	90.0	1.8	109.9	83.7	80.0	3.4
オキシリニック酸	101.6	0.0	106.0	70.2	100.3	4.6
オフロキサシン	91.5	1.0	100.4	100.3	79.1	9.9
オルメトプリム	99.0	28.2	106.5	100.3	102.2	97.1
キシラジン	93.9	3.2	82.1	96.5	85.2	59.1
クレンプテロール	95.8	2.6	92.5	79.8	102.7	9.5
クロピドール	78.7	0.8	99.4	86.9	71.1	65.3
サラフロキサシン	104.5	2.6	108.6	99.7	83.8	10.9
ジクラズリル	80.2	81.7	88.9	72.9	72.4	80.9
スルファキノキサリン	97.1	107.9	113.0	98.8	96.3	103.7
スルファクロルピリダジン	107.4	17.0	92.2	56.7	109.3	60.6
スルファジアジン	96.1	32.6	105.6	93.5	96.1	87.3
スルファジミジン	106.1	108.0	97.9	105.8	104.0	94.4
スルファジメトキシ	96.6	111.0	98.5	98.1	95.8	95.8
スルファセタミド	105.6	0.0	95.4	53.5	104.6	0.0
スルファチアゾール	103.8	67.4	85.1	66.5	103.6	63.9
スルファドキシ	97.5	70.8	97.2	88.5	91.9	77.4
スルファニトラン	96.6	101.7	103.2	92.3	94.9	94.9
スルファピリジン	112.7	89.8	104.8	87.9	114.6	95.7
スルファメトキサゾール	100.7	0.0	83.4	12.4	101.8	16.8
スルファメトキシピリダジン	114.0	120.8	96.3	107.0	100.8	106.7
スルファメラジン	96.4	34.5	99.4	51.7	106.5	49.0
スルファモノメトキシ	101.2	46.2	104.2	70.0	96.6	65.9
ダノフロキサシン	54.5	5.3	101.9	72.6	45.1	1.6
チアベンダゾール	101.6	27.6	76.9	106.0	107.2	97.8
チアベンダゾール代謝物	100.2	71.4	96.7	111.6	98.7	114.4
チアムリル	97.7	3.2	99.0	89.6	66.0	66.9
チルミコシン	32.6	0.0	104.3	9.3	59.9	0.0
テメホス	45.5	38.6	16.3	39.2	52.3	44.9
トリクロルホン	95.5	30.1	97.1	97.4	93.1	95.5
トリメトプリム	97.3	75.1	98.3	102.6	104.1	104.4
α-トレンボロン	103.8	104.4	103.3	108.3	102.7	102.9
β-トレンボロン	123.1	122.7	103.9	109.4	116.8	101.9
ナイカルバジン	25.0	87.6	91.4	92.4	21.6	93.0
ナリジクス酸	98.2	33.9	104.0	107.8	104.1	89.9
ピリメタミン	91.4	31.0	97.7	101.1	97.5	90.4
ピロミド酸	85.5	0.0	99.0	67.9	99.1	0.0
ファミフル	105.7	91.5	99.3	105.7	102.8	126.1
フェノプカルブ	92.8	55.0	70.5	59.8	87.3	60.2
フルベンダゾール	106.0	104.2	97.4	103.3	102.4	104.5
ABZ-Met <sup>2)</sup>	102.7	107.2	98.3	110.8	97.3	109.9
モランテル	84.9	0.0	91.8	0.0	5.0	0.0
リファキシミン	100.9	11.7	107.6	78.4	138.3	78.4
リンコマイシン	96.9	7.9	105.0	98.0	34.0	74.6
レバミゾール	107.2	3.7	87.0	104.0	112.8	78.8

ANZ<sup>1)</sup>: 2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール, ABZ-Met<sup>2)</sup>: 5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン

さらに溶出溶媒としてメタノールとアセトニトリルの混合溶媒 (4 : 6), メタノールと酢酸エチルの混合溶媒 (4 : 1), メタノール, アセトニトリル及び酢酸エチルの混合溶媒 (2 : 6 : 2) を用いて, 固相カラムOasis HLBとの相性を検討してみた。Oasis HLBの相性としてはメタノールと酢酸エチルの混合溶媒 (4 : 6) でメタノールのみと似たような回収率を得た。ただ, 人体への影響から使用の好ましくない有機溶媒を極力使用しないためにも, 溶出溶媒にはメタノールのみを使用することとした。ただし, 今回の混合溶媒は, それぞれ一通りの割合でしか検討しておらず, さらに幾種類かの割合で検討を加える必要性があると考え。

また, メタノールの負荷量について検討するためにメタノール 0 mL~10 mL, 10 mL~20 mLの2分画を採取し, LC/MS/MSにて測定した。結果, 10 mL~20 mLの分画からは薬剤は検出されず, 固相カラムへのメタノールの負荷量としては10 mLで十分であると判断した。

### 3. 3 添加回収試験

添加回収試験についてそれぞれの添加濃度 (各薬剤の濃度が試料中換算で0.01または0.02 µg/g) について5回繰り返し試験を実施し, 回収率及び相対標準偏差を求めた (表3)。テメホスについてはほとんど回収されなかった。2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール (ANZ), アレスリン及びエマメクチンB1aについては回収率が53.9~68.4%であったが, 相対標準偏差が11.3%以内とスクリーニングとしては有用であり, マトリクス検量線等による補正を行えば, 定量にも十分対応できるのではないかと思われる。その他の45種の薬剤に関しては, 回収率平均70.1~107.3%, 相対標準偏差14.7%以内であり, 精度よく回収できていた。

また, 添加回収試験を行った2つの濃度は, ともに良好な回収率であった。

### 3. 4 市販品の検査

流通しているハチミツ12検体 (県内産: 7検体, 輸入品5検体) について, 検査を実施した。検査の結果, 中国産輸入ハチミツ1検体からトリメトプリムが疑われる物質0.01 µg/gを検出した。しかし, トリメトプリムは飼料添加剤や飲水添加剤として豚や鶏 (産卵鶏を除く) にしか用いられず, 使用規制もあることから, ハチミツに残存していることは非常に考えにくい状況であった。そこで, 確認のためにプレカーサーイオンにm/z=291.2を固定して, プロダクトイオンのスキャンを試みた。その際, CEを20, 37, 60及び100Vと4段階にふって, できる

表3 添加回収試験

薬 剤 名	回収率平均, % (相対標準偏差, %) n=5	
	添加量0.05µg	添加量0.10µg
	ANZ* <sup>1</sup>	60.9 (2.9)
アレスリン	53.9 (9.4)	59.2 (11.3)
エトパベート	82.4 (4.4)	85.9 (5.3)
エマメクチンB1a	55.8 (7.3)	57.3 (8.9)
エンロフロキサシン	93.5 (6.0)	93.1 (7.0)
オキシロニック酸	97.2 (6.2)	100.4 (5.3)
オフロキサシン	98.3 (3.6)	96.1 (9.4)
オルメトプリム	97.0 (3.1)	105.0 (1.2)
キシラジン	70.4 (7.4)	72.7 (7.1)
クレンプテロール	99.3 (2.0)	103.6 (3.8)
クロピドール	94.4 (4.9)	95.2 (4.5)
サラフロキサシン	100.1 (5.9)	89.4 (5.1)
ジクラズリル	71.9 (8.8)	70.1 (14.7)
スルファキノキサリン	99.4 (0.6)	99.0 (3.4)
スルファクロルピリダジン	92.6 (5.1)	87.4 (3.9)
スルファジアジン	98.8 (5.1)	98.3 (5.3)
スルファジミジン	97.7 (1.1)	100.1 (1.9)
スルファジメトキシシ	98.9 (2.6)	103.0 (4.7)
スルファセタミド	98.8 (6.2)	98.4 (5.0)
スルファチアゾール	88.5 (4.9)	87.7 (7.6)
スルファドキシシ	96.5 (5.7)	98.9 (3.8)
スルファニトラン	98.5 (2.9)	105.4 (3.0)
スルファピリジン	97.5 (4.6)	93.7 (3.2)
スルファメトキサゾール	74.4 (6.7)	78.7 (5.5)
スルファメトキシピリダジン	89.7 (3.0)	95.5 (4.1)
スルファメラジン	98.1 (4.6)	94.2 (4.5)
スルファモノメトキシシ	97.0 (5.4)	99.3 (5.7)
ダノフロキサシン	101.2 (3.7)	97.6 (5.8)
チアベンダゾール	89.8 (8.3)	90.3 (3.8)
チアベンダゾール代謝物	77.8 (4.9)	82.9 (4.6)
チアムリル	94.9 (3.8)	97.6 (3.3)
チルミコシン	100.7 (3.4)	103.5 (9.5)
テメホス	-	3.6 (100.7)
トリクロルホン	91.3 (9.2)	105.2 (5.5)
トリメトプリム	97.4 (3.8)	99.0 (0.0)
ートレンボロン	107.3 (6.1)	103.0 (8.7)
ートレンボロン	94.6 (7.0)	100.3 (4.2)
ナイカルバジン	74.6 (3.7)	86.3 (3.2)
ナリジクス酸	89.0 (7.7)	95.1 (3.5)
ピリメタミン	90.5 (5.1)	95.2 (7.2)
ピロミド酸	97.9 (5.6)	100.2 (6.1)
ファミール	76.6 (6.8)	78.7 (8.6)
フェノプカルブ	73.2 (11.1)	70.5 (10.3)
フルベンダゾール	93.0 (2.0)	93.3 (2.4)
ABZ-Met* <sup>2</sup>	95.6 (4.6)	97.9 (4.3)
モランテル	96.4 (3.8)	99.5 (3.3)
リファキシミン	103.4 (4.7)	102.5 (2.8)
リンコマイシシ	98.5 (6.4)	98.4 (4.3)
レバミゾール	84.2 (4.8)	84.8 (2.7)

ANZ\*<sup>1</sup>: 2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール

ABZ-Met\*<sup>2</sup>: 5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン

-: ピークの消失等により定性・定量できなかったもの

プロダクトイオンの強度変化をトリメトプリムが疑われる物質と標準品で比較してみた。しかし、含有濃度の絶対量が定量限界程度しかなく、CEの違いによる固有のプロダクトイオン強度の変化がわかりにくく、特定とまでは至らなかった。

さらに、HPLC-DADを用いて当該物質の測定を行ったが、LC/MS/MSと比べると感度が悪く、また目的とする物質のピーク近傍に夾雑ピークが多く、適切なピークおよび安定したスペクトルを得ることができず、ここでも特定とまでは至らなかった。

今後、低濃度の陽性が出た場合の定性法についてさらなる検討の必要性を感じた。

#### 4 まとめ

LC/MS/MSを用いたハチミツ中の動物用医薬品の多成分一斉分析法を検討した。

- 1) ハチミツ中の残留動物用医薬品の一斉分析において、希釈液にMacIlvain緩衝液を、固相カラムにOasis HLBを、溶出溶媒にメタノールを用いた本法により薬剤を精度よく回収できた。
- 2) 本法を適用した添加回収試験では、テメホスについてはほとんど回収されなかった。2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール (ANZ)、アレスリン及びエマメクチンB1aについては回収率が53.9~68.4%であったが、相対標準偏差が11.3%以内とスクリーニングとしては有用であると考えた。その他45種の薬剤に関しては、

回収率70.1~107.3%、相対標準偏差 14.7%以内であった。

- 3) 本法を適用してハチミツ12検体 (県内産: 7検体, 輸入品 5検体) について、検査を実施した。中国産ハチミツ 1検体からトリメトプリムが疑われる物質0.01 µg/gを検出したが、特定にはいたらなかった。
- 4) 低濃度の擬陽性物質が検出された場合の定性法についてさらなる検討の必要性を感じた。
- 5) 今後、測定可能な薬剤を増やすとともに、さらに緩衝液のpH等の条件や固相カラム及び溶出溶媒等の条件検討を加えていきたい。

#### 参考文献

- 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1129002号), 平成17年11月29日
- 2) 竹葉和枝, 神崎政子, 他; 東京衛研年報, 蜂蜜中の残留サルファ剤検出法について, 34, 150~154 (1983)
- 3) 後藤裕之介; 農林水産消費技術センター, HPLCによるハチミツ中の合成抗菌剤迅速分析法の検討, 23, 87~92 (1999)