

# 畜水産食品の残留有害物質等モニタリング検査における対象物質の選定と LC/MS/MS による一斉分析法の検討

長崎県諫早食肉衛生検査所 ○三上朋美、大坂展弘\*

\*現 長崎県壱岐保健所

## はじめに

食肉衛生検査所は、国内での食肉の安全性を維持、向上させることを目的として、厚生労働省（以下、厚労省）の通知に従い、毎年「畜水産食品の残留有害物質等モニタリング検査（以下、モニタリング検査）」を行っている。令和元年の通知では、「モニタリング検査計画の策定の考え方」に関する項目が新たに追加され、「畜水産食品の残留有害物質等モニタリングにおける検査計画策定およびサンプリングに関するガイドライン」が示された。本ガイドラインの中には、対象食品、対象物質の選定やモニタリング検査の実施件数の策定方法が記載されており、対象物質の選定の項では「家畜や家禽類の飼育や食品の生産・加工等の過程において使用される可能性、過去の検出の頻度と量、健康リスクの程度等を踏まえ、対象とする残留有害物質等を選定する」ことが示されている。そこで、本調査では10年以上変更されていない従来の対象物質の見直しを行った。

また、当所の理化学検査体制では高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（以下、LC/MS/MS）による試験を担当する分析技術に熟練した担当者を常に配置することが困難であることから、より簡単かつ精度の保たれる一斉分析法を検討したので報告する。

## 材料および方法

### 1. 標準品および標準溶液

各標準品（HPLC用および同等品）をメタノールに溶解し、100 μg/mLの標準原液とした。更にこれらを混合し、メタノールで希釈して混合標準溶液とした。

2. 試薬 蒸留水：LC/MS用、アセトニトリル、ギ酸およびメタノール：HPLC用、その他試薬：特級

3. 試料 検査対象物質が含まれていない牛の筋肉および腎臓

### 4. 装置および分析条件

装置および分析条件は表1に示した。

### 5. 試験溶液の調製

厚労省通知「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅲ（畜水産物）」を若干変更し

表1 装置および分析条件

LC	Waters社製ACQUITY UPLC		
MS/MS	Waters社製ACQUITY TQD		
カラム	ACQUITY UPLC BEH C18 1.7 μm		
カラム温度	40°C		
注入量	5 μL		
流速	0.3 mL/min		
移動相	A液：0.05%ギ酸水溶液、B液：アセトニトリル		
グラジエント条件	Time(min)	A液(%)	B液(%)
	1	92	8
	3.5	80	20
	8	30	70
	10	1	99
	13.6	92	8 (1run 16min)
分析条件	イオン化モード	ESI +/-	
	取得モード	MRM	
	検量線	マトリクス検量線	

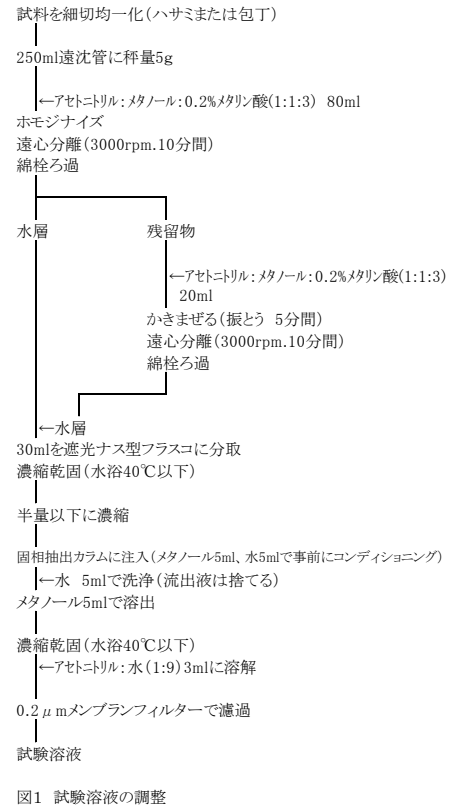
「一斉試験法Ⅲ（図1）」により実施した。

### 6. 固相抽出カラムの検討

筋肉に基準値濃度の混合標準溶液を添加し、試験溶液の調製時に Oasis HLB 60mg/3cc (waters 社) および InertSep PLS-2 270mg/6ml (GLサイエンス社) をそれぞれ使い、回収率を比較した (n=6)。

### 7. 妥当性評価

試料に基準値濃度の混合標準溶液を添加し、1回2併行、5回の枝分かれ実験により平均回収率、併行精度および室内精度を確認した。



## 成績

### 1. 対象物質の見直し

管轄家畜保健衛生所から提供された「動物用医薬品指示書集計による抗生物質使用状況」、動物医薬品検査所が動物用医薬品等取扱規則に基づき集計した「各種抗生物質・合成抗菌剤・駆虫剤・抗原虫剤の販売高と販売量[1]」、当所の過去の残留事例および当所で測定が困難であった物質を参考に新たに12項目を追加し、5項目を削除した。対象物質は従来の20項目から27項目となった (表2)。

### 2. 固相抽出カラムの検討

InertSep PLS-2 270mg/6ml が目標値を満たした項目が多かった (表3)。

### 3. 妥当性評価

対象物質 27 項目中、筋肉 23 項目、腎臓 23 項目で平均回収率、併行精度および室内精度の目標値を満たした (表3)。

### 考察およびまとめ

本調査において、23 項目の対象物質を本法で実施できることが確認された。新たに追加した物質には、当所で残留事例のあるドキシサイクリン、アンピシリンやマルボフロキサシンが

表2 対象物質の見直し

	対象物質(変更前)	対象物質(本調査)	家畜での使用状況	残留事例(件数)	測定困難
テトラサイクリン系	オキシテトラサイクリン	オキシテトラサイクリン	○		
	クロルテトラサイクリン	クロルテトラサイクリン	○		
	テトラサイクリン	テトラサイクリン ドキシサイクリン	○	○(6)	
抗生物質	マクロライド系	タイロシン	○		
	スピラマイシン・ネオスピラマイシン				○
ベンシリン系	ベンジルベンシリン	ベンジルベンシリン	○	○(6)	
		アンピシリン	○	○(1)	
		クロキサシリン	○		
リンコマイシン系		リンコマイシン	○		
その他		チアムリン	○		
サルファ剤	スルファメラジン		○(觀賞魚のみ)		
	スルファモノメキシ	スルファモノメキシ	○		
	スルファジメトキシ	スルファジメトキシ	○		
	スルファキノキサリン	スルファキノキサリン	○		
	スルファジミジン	スルファジミジン	○		
		スルファメトキサゾール	○		
合成抗菌剤	オキシリン酸	オキシリン酸	○		
	キノロン系	マルボフロキサシン	○	○(3)	
		エンロフロキサシン	○	○(1)	
		シプロフロキサシン	○	○(1)	
	オルビフロキサシン	○			
チアンフェニコール系	チアンフェニコール	チアンフェニコール	○		○
		フロルフエニコール	○		
その他	オルメトプリム	オルメトプリム	○		
	トリメトプリム	トリメトプリム	○		
		ピリメタミン	○		
抗原虫薬	その他	ナイカルバジン	○		○
		ナイカルバジン	○		○
内部寄生薬	アベルメクチン系	イベルメクチン	○		○
	チアベンダゾール系	チアベンダゾール・代謝物			○
		トリクラベンダゾール・代謝物			○(1)
	フルベンダゾール	フルベンダゾール	○		
合計	20項目	27項目			

含まれ、有用であると思われる。これまではモニタリング検査の際に、1検体につき一斉試験法ⅠおよびⅢの2つの試験法を行っていたが、本法により1本化し、当所標準作業書を改訂した。これにより当初の目的であった「より簡単かつ精度の保たれる試験法」へ変更することができた。

固相抽出カラムについては、従来使用していたOasis HLBでは試料によって目詰まりすることがあった。PLS-2はOasis HLBと同様に疎水性有機化合物の分離によく利用される逆相ポリマーベースであるが、充填量が多いため目詰まりすることなく、安定した回収率が得られ、検査時間の短縮にもつながった。

食肉衛生検査所のモニタリング検査体制では、予算、人員ともに限りがあり、全ての動物用医薬品を対象とすることは現実的ではない。そのため、使用状況や残留事例といった現状を考慮し、優先度の高い動物用医薬品を適切な精度で検査することが必要である。

1) “各種抗生物質・合成抗菌剤・駆虫剤・抗原虫剤の販売高と販売量”. 動物用医薬品、医薬部外品および医療機器製造販売高年報，平成30年，動物医薬品検査所。  
[https://www.maff.go.jp/nval/iyakutou/hanbaidaka/pdf/h30\\_hanbaidaka.pdf](https://www.maff.go.jp/nval/iyakutou/hanbaidaka/pdf/h30_hanbaidaka.pdf)（参照2019-12-24）

表3 固相抽出カラムの検討、妥当性評価

検査対象物質	固相抽出カラム別の回収率(%)		妥当性評価(固相抽出カラム:InertSep PLS-2 270mg/6ml)						MS/MS条件	
	Oasis HLB 60mg/3cc	InertSep PLS-2 270mg/6ml	試料:筋肉			試料:腎臓			評価	ESI +/- ブライカーイオン(m/z)/ プロダクトイオン(m/z)
			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%)		
オキシテトラサイクリン	90.7	92.3	94.0	3.8	6.8	92.2	7.5	7.9	○	+ 461.31/426.14
クロルテトラサイクリン	86.9	87.4	85.5	9.5	8.0	86.5	5.7	6.1	○	+ 479.1/444.08
テトラサイクリン	88.3	94.6	92.2	8.7	8.9	89.5	5.2	7.1	○	+ 445.13/410.13
ドキシサイクリン	88.0	101.0	96.3	11.1	9.7	92.6	6.3	5.8	○	+ 445/427.9
タイロシン	111.7	101.1	102.5	8.0	10.8	92.5	6.3	7.3	○	+ 917/174
ベンジルペニシリン	82.5	85.9	86.4	7.2	9.5	83.0	12.9	18.8	○	+ 335.2/176.21
アンピシリン	73.8	87.9	85.9	6.2	7.4	84.2	8.0	8.2	○	+ 350/106
クロキサシリン	92.7	87.7	86.5	11.6	14.0	96.6	6.7	12.6	○	+ 437/160
リンコマイシン	98.6	96.0	91.1	13.0*	12.7	85.2	11.1*	10.5	×	+ 407/126
チアムリン	92.9	83.6	78.3	14.9	16.0	94.3	6.3	6.5	○	+ 494/192
スルファモノトキシシン	62.1*	81.4	81.5	12.6	16.2	84.8	4.4	6.0	○	+ 281/156
スルファジメトキシシン	60.3*	85.8	86.2	7.1	8.5	90.0	4.9	5.7	○	+ 311.1/156
スルファキノキサリン	50.6*	83.2	85.0	5.6	8.9	89.2	3.7	5.1	○	+ 301.1/156.1
スルファジミジン	68.5*	81.7	81.5	9.5	11.0	79.4	7.3	8.1	○	+ 279.15/92
スルファメトキサゾール	60.1*	80.6	83.4	9.3	11.4	85.0	11.0	11.6	○	+ 254/156
オキシリン酸	91.0	95.7	93.0	10.2	11.0	93.6	6.4	7.2	○	+ 262/244
マルボフロキサシン	89.3	79.3	78.4	9.1	9.3	74.9	9.0	8.0	○	+ 363/72
エンロフロキサシン	94.6	78.4	76.5	12.3	12.6	76.3	8.1	7.0	○	+ 360/316
シプロフロキサシン	87.7	73.0	70.2	12.9	11.0	70.6	7.8	10.3	○	+ 331.9/244.9
オルビフロキサシン	98.3	92.6	90.2	9.5	8.2	80.0	5.9	8.7	○	+ 396/295
チアンフェニコール	104.9	104.3	100.9	30.5*	26.0*	75.2	25.5*	47.3*	×	- 354.07/185.06
フロルフェニコール	84.3	86.8	81.2	34.1*	38.3*	70.2	43.3*	51.3*	×	- 356/336
オルメプリム	94.6	87.4	83.1	12.4	11.6	83.9	6.6	8.5	○	+ 275.14/123.04
トリメプリム	92.1	88.1	82.3	13.4	12.2	79.4	12.3	11.2	○	+ 291/230
ピリメタミン	91.3	83.2	81.6	10.0	9.4	81.1	5.6	5.9	○	+ 249.07/177
ナイカルバジン	13.7*	0.0*	0.0*	0.0*	0.0*	65.1*	3.4	9.5	×	- 300.99/137.02
フルベンダゾール	81.6	85.9	85.5	5.4	6.5	87.5	6.4	8.3	○	+ 314/282

\* 妥当性評価の目標値に満たなかったもの  
 目標値 回収率:70~120、併行精度:15>、室内精度:20>  
 (OTC, CTC, TC, LCMのみ 回収率:70~120、併行精度:10>、室内精度:15>)