

Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS を 用いた食肉中の多成分残留動物用医薬品の 定量スクリーニング分析

著者

Siji Joseph, Aimei Zou, Chee Sian Gan, Limian Zhao, and Patrick Batoon
Agilent Technologies, Inc.

概要

ラボのルーチン試験の迅速化と簡素化のため、食用処理した動物筋肉中の動物用医薬品 210 種のターゲットスクリーニングまたは定量分析向けに包括的な LC/MS/MS ワークフローを開発しました。このワークフローは、サンプル前処理からクロマトグラフィーによる分離、MS 検出、データの処理および解析、報告書作成までを網羅しています。ワークフロー性能の評価は、鶏、豚、牛の 3 種の筋肉マトリックスを用いて、2 種類の型式の Agilent トリプル四重極 LC/MS システム (Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS と Agilent 6495C トリプル四重極 LC/MS) で行いました。Agilent Captiva EMR-Lipid カートリッジを用いるシンプルなサンプル前処理プロトコルで、抽出とマトリックススクリーンアップを効率的に実行できました。Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 カラムを用いる単一のクロマトグラフィーメソッドを 13 分メソッドで実施したところ、信頼性の高いトリプル四重極検出および解析にふさわしい分離とリテンションタイム分布が溶出ウィンドウ全域で得られました。

ワークフロー性能は、0.1 ~ 100 µg/L の範囲のマトリックス適合スパイクサンプルの検出限界 (LOD)、定量限界 (LOQ)、検量線の直線性、真度、精度および回収率に基づいて評価しました。LOQ から 100 µg/L に検量線をプロットした結果、すべての分析対象物で $R^2 > 0.99$ の直線性が示されました。機器メソッドの真度値は、73 ~ 113 % の範囲内でした。ターゲット化合物のレスポンス値とリテンションタイム %RSD 値は、それぞれ、 $\leq 19\%$ 、 $\leq 0.28\%$ となりました。添加した品質管理 (QC) サンプルの 3 つのレベル (1、10、25 µg/kg) の分析対象物の回収率と再現性から、動物用医薬品の信頼性の高いルーチンスクリーニングとして適用可能であることが裏付けられました。回収率の併行精度 (バッチ内での技術的再現性) と回収率の再現性 (バッチ間での技術的再現性) は QC サンプルを用いて算出し、結果は、それぞれ、許容限界内に収まる 20 % と 32 % でした¹。ワークフローメソッドの性能は、鶏、牛、豚の筋肉マトリックスすべてで優れたオーバーラップ率を示し、さまざまな動物由来のマトリックスに含まれる複数の残留物のルーチンスクリーニングにこのメソッドが適応可能であることが確認されました。

はじめに

動物用医薬品は、家畜の成長促進と健康転帰の向上のために一般的に用いられています。畜産において動物用医薬品が不適切に使用された場合、これらの医薬品が動物由来の食品に蓄積され、消費者に悪影響が及ぶ可能性があります。国際的な規制では、公衆衛生の保護のため、動物由来の食品に含まれる動物用医薬品に限界値を設けています。トリプル四重極 LC/MS (LC/MS/MS) は、化学定量の標準的分析法として広く受け入れられています。しかし、ラボでは古くから、化合物ごとに抽出を行い、その後で化合物クラスに基づいて個別に LC/MS 分析を行っています。この方法は生産性の高いラボ運用には不向きで、スループットを低下させ、運用コストが増加することになります。日々の分析を簡素化するため、動物由来のさまざまな食品マトリックスに含まれるクラスの異なる 200 種超の動物用医薬品を、正確かつ確実に分析する LC/MS/MS による包括的なワークフローを開発しました。このエンドツーエンドワークフローには、サンプル抽出およびマトリックスクリーンアップをはじめ、クロマトグラフィーによる分離、MS 検出、ターゲット定量、報告書テンプレートが含まれます。表 1 は、このワークフローで分析対象となる動物用医薬品クラスの一覧です。

実験方法

標準と試薬

動物用医薬品標準は、Sigma-Aldrich (セントルイス、ミズーリ州、米国)、Toronto Research Chemicals (オンタリオ州、カナダ) および Alta Scientific (天津、中国) から購入しました。また、本分析には、Agilent LC/MS グレードのアセトニトリル (ACN)、メタノール (MeOH) および水を用いました。その他の溶媒はすべて、Sigma-Aldrich 製の HPLC グレードのもので、移動相用 LC/MS 添加剤も Sigma-Aldrich から購入しました。適切な溶媒 (メタノール、ジメチルスルホキシド、アセトニトリルや水を単独または組み合わせて使用) を用いて、粉末または液状の個々

表 1. 機能的用途/化学物質クラスと各クラスにおけるターゲット化合物の数に基づく 210 種の動物用医薬品の分類

| No. | 機能的用途/化学物質クラス | ターゲット化合物の数 |
|-----|----------------------|------------|
| 1 | 麻酔薬 | 1 |
| 2 | 駆虫薬 | 16 |
| 3 | 駆虫薬/アベルメクチン系 | 3 |
| 4 | 駆虫薬/ベンズイミダゾール系 | 14 |
| 5 | 駆虫薬/ニトロイミダゾール系 | 5 |
| 6 | 抗草食動物物質 | 1 |
| 7 | 抗炎症薬 | 2 |
| 8 | 抗生物質 | 7 |
| 9 | 抗生物質/アミノグリコシド系 | 5 |
| 10 | 抗生物質/アンフェニコール系 | 3 |
| 11 | 抗生物質/ β -ラクタム系 | 16 |
| 12 | 抗生物質/マクロライド系 | 10 |
| 13 | 抗生物質/キノロン系 | 10 |
| 14 | 抗生物質/スルホンアミド系 | 27 |
| 15 | 抗生物質/テトラサイクリン系 | 6 |
| 16 | 制吐薬 | 1 |
| 17 | 抗菌薬 | 6 |
| 18 | 抗菌薬/フラン系 | 1 |
| 19 | 抗コクシジウム剤 | 14 |
| 20 | ドーパミン受容体拮抗薬 | 1 |
| 21 | 殺菌剤および染料 | 3 |
| 22 | 成長促進剤/アナボリックステロイド類 | 3 |
| 23 | 成長促進剤/ β 作動薬 | 4 |
| 24 | 成長促進剤/コルチコステロイド類 | 4 |
| 25 | ホルモン剤 | 9 |
| 26 | 殺虫剤 | 15 |
| 27 | NSAID | 14 |
| 28 | キノキサリン | 1 |
| 29 | トランキライザー | 8 |

の動物用医薬品から、それぞれ 1,000 または 2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の標準原液を作製しました。原液標準の中には、前述のサプライヤから、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度の既製の原液を購入したものもありました。

すべての原液の混合液 (同量のアセトニトリルと水に 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の各ターゲット化合物を溶解したもの) を、個々の原液から作製し、本分析に用いました。

サンプル前処理

メソッド性能の評価に、鶏、牛、豚の筋肉マトリックスを用いました。新鮮な鶏 (抗生物質不使用)、牛、豚は、地元の食料品店で購入しました。サンプルは、家庭用ミキサーで均質化しました。混ぜ合わせた肉を、ポリプロピレン製 50 mL 円すい管に入れ、 $2 \pm 0.1 \text{ g}$ になるよう計量しました。均質化した肉サンプルは、すぐに分析しない場合は、 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ で保管しました。

サンプル前処理は溶媒抽出に基づいて行い、溶媒抽出後に Agilent Captiva EMR-Lipid (部品番号 5190-1003) SPE クリーンアップを行いました。サンプルの溶出を、Agilent 加圧式マニホールドシステム (PPM-48、部品番号 5191-4101) によって促進しました。

抽出前 (マトリックスをスパイクした) QC サンプルは、適切な動物用医薬品原液を、次の3つのレベルの均質化した筋肉マトリックスにスパイクして添加しました (低 QC (LQC) 用 1 µg/kg、中 QC (MQC) 用 10 µg/kg、高 QC (HQC) 用 25 µg/kg)。抽出前の LQC サンプルと MQC サンプルを、メソッドの回収率と

再現性の評価に用いました。マトリックスに標準をスパイクした後、サンプルを 30 秒間ボルテックスし、さらに平衡化を 15 ~ 20 分間行いました。この方法で、サンプル抽出前に、スパイクした標準をサンプルマトリックスに浸潤させ、平衡化させることができました。

図 1 は、サンプル前処理の手順をまとめたものです。詳細な手順は、「包括的な動物用医薬品 dMRM ソリューション (G5368AA)」に付属のワークフローガイドに示しています。

抽出後キャリブレーション標準液

マトリックスブランクは、無添加食肉サンプルを用いて調製しました。マトリックス適合キャリブレーション標準は、適切な標準をマトリックスブランクにスパイクして作製しました。筋肉マトリックスのターゲット濃度キャリブレーションレベルは、0.1、0.25、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、25.0、50.0、100.0 µg/kg でした。サンプル前処理における希釈係数 1:10 を考慮すると、実際のマトリックス適合キャリブレーション標準のレベルは、マトリックスブランク抽出物で 0.01、0.025、0.05、0.10、0.25、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0 µg/L でした。

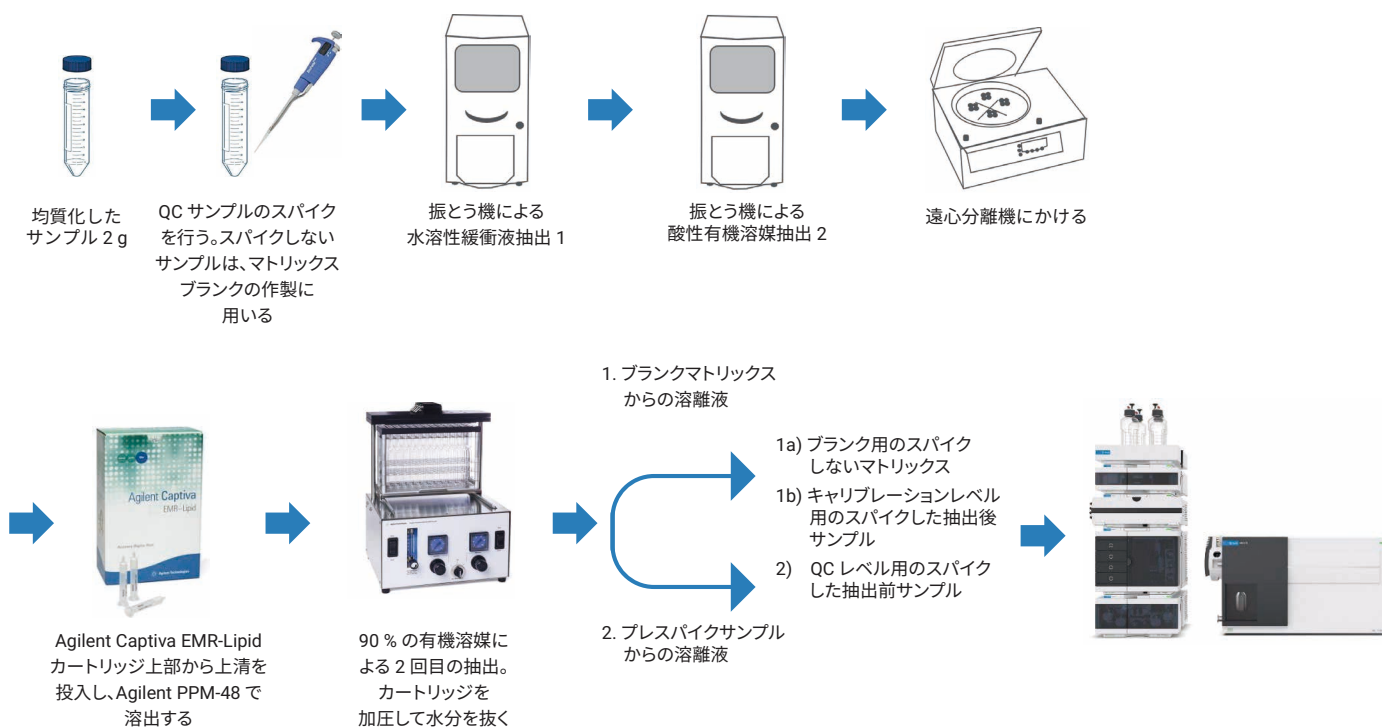


図 1. サンプル抽出と Agilent Captiva EMR-Lipid クリーンアッププロトコルのフローチャート (画像は正確な縮尺ではありません)

マトリックス効果は、同量のアセトニトリルと水で希釈した、0.1、1.0 および 2.5 µg/L の原液の希釈溶液を用いて、対応するマトリックス適合キャリブレーション標準のレスポンスを比較して評価しました。

装置構成

クロマトグラフィーによる分離は、Agilent 1290 Infinity II LC に取り付けた Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 カラム (部品番号 695575-302) で行いました。1290 Infinity II LC の個々のモジュールは次のとおりです。

- Agilent 1290 Infinity II ハイスピードポンプ (G4220A)
- Agilent 1290 Infinity オートサンブラ (G4226A)
- Agilent 1290 Infinity サーモスタット付きカラムコンパートメント (G1316C)

LC システムは 20 µL 注入ループを備え、マルチウォッシュ機能も搭載していました。移動相 A は、水にギ酸アンモニウム (4.5 mM)、フッ化アンモニウム (0.5 mM) とギ酸 (0.1 %) を溶解した溶液で、移動相 B は、同量のアセトニトリルとメタノールにギ酸アンモニウム (4.5 mM)、フッ化アンモニウム (0.5 mM) とギ酸 (0.1 %) を溶解した溶液でした。

Agilent Jet Stream (AJS) イオン源を備えた 6470 LC/TQ をダイナミック MRM (dMRM) モードで動作させました。LC/TQ オートチューンは、100 未満の質量電荷比 (m/z) レポートが有効なユニットモードで動作させました。データ取り込みと処理には、Agilent MassHunter ソフトウェア (バージョン 10.0) を活用しました。本分析に用いた他社製のラボ機器および消耗品の詳細は、「包括的な動物用医薬品 dMRM ソリューション」に付属のワークフローガイドをご覧ください。6470 LC/TQ および 6495C LC/TQ 向けメソッドは、「包括的な動物用医薬品 dMRM ソリューション」に盛り込まれており、ユーザーは、この取り込みメソッドをそのままコピーして使用できます。

動物用医薬品スクリーニング向けワークフローの適用

動物由来の食品マトリックスに含まれる動物用医薬品残留物を規制するため、さまざまな規制機関が残留限界情報を発表しています。動物用医薬品の許容残留限界は、規制機関やサンプルマトリックスによって異なります。210 種のターゲット動物用医薬品は、米国食品医薬品局向け連邦規則集²、米国農務省食品安全検査局³、EU⁴ および AOAC⁵ が指定する動物用医薬品のそれぞれのモニタリングリストの組み合わせ解析に基づいて選定しました。図 2 は、上記全組織全体のターゲット分布をベン図で示したものです。ターゲット化合物 210 種中 168 種には、AOAC、EU および米国の規制/ガイドラインによる、3 つの筋肉マトリックスで規制される最大残留限界 (MRL) が設けられています。MRL が設けられていない残りの 42 種のターゲットは、これらの規制/ガイドラインの要件ごとの筋肉マトリックスのモニタリングカテゴリーで特定しました。特定の規制/ガイドラインベースのルーチンスクリーニングにこのワークフローが適用可能であることを、適切な添加 QC サンプルの分析特性を評価することで裏付けました。

結果と考察

複数のクラスの動物用医薬品をスクリーニングするためのシンプルなワークフローメソッド

動物用医薬品分析向けの高感度かつ堅牢なワークフローは、さまざまな規制ガイドラインに準じたルーチンスクリーニングを実施するユーザーにとって有用です。新たに開発したワークフローがガイドラインベースのルーチン分析に適用可能であることは、鶏筋肉マトリックスのスクリーニングを AOAC 指定のターゲットリストに照らして実施することで裏付けました。ターゲット 168 種中 86 種は、特に鶏でのスクリーニングを必要とします。結果については、表 2 にまとめています。ワークフローメソッドの感度は、スパイクした抽出後キャリブレーションレベルによって立証しました。一方、ルーチンスクリーニングに適用可能であることは、次の 3 つの抽出前 QC レベルで回収率分析を行って立証しました (1 µg/kg (LQC)、10 µg/kg (MQC)、25 µg/kg (HQC))。スクリーニングのさまざまな側面については、ターゲットの MRL 値を基に QC レベルのいずれかを選択して立証しました。鶏マトリックスを対象とした AOAC ガイドライン記載のターゲットの大半 (86 種中 85 種)

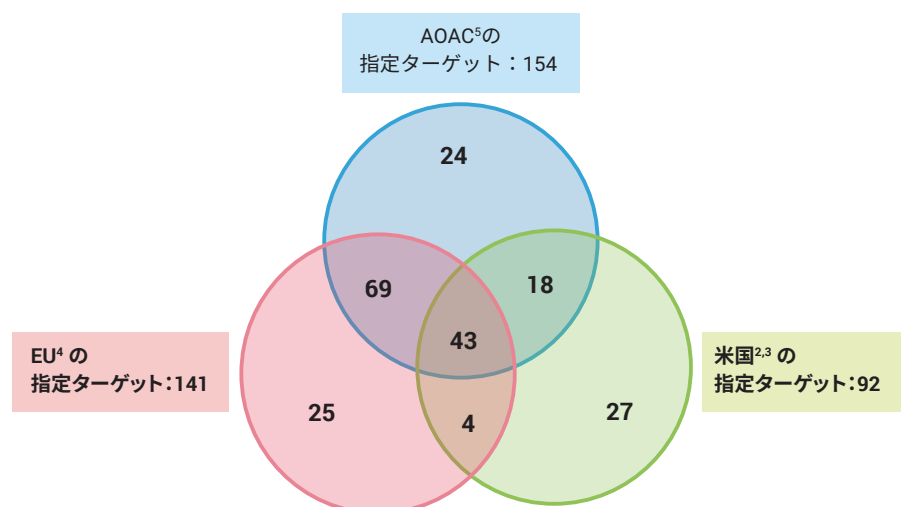


図 2. さまざまな規制における 210 種のターゲットの分布を示すベン図

は MRL が $\geq 10 \mu\text{g}/\text{kg}$ であることから、これらすべてのターゲットのスクリーニングにふさわしいのは、MQC ($10 \mu\text{g}/\text{kg}$) を用いた回収率分析です。プレドニゾンがターゲットの場合、鶏マトリックスの MRL はおよそ $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ であることから、このターゲットでは LQC ($1 \mu\text{g}/\text{kg}$) を用いて、回収率、併行精度、再現性といったターゲットの性能マトリックスを見積もりました。同様に、セファレキシンの MRL は $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ であることから、HQC を用いてターゲット性能を評価しました。つまり、本ワークフローメソッドは、AOAC ガイドラインに示されている鶏マトリックスの 86 ターゲットすべてのスクリーニングに問題なく利用できます。回収率値の日内併行精度および日間再現性については、信頼性の高い日々のスクリーニング分析にふさわしい一貫した再現性のある結果が得られました。

LC/TQ メソッド開発と性能評価

プリカーサイオン、最も大量に存在するプロダクトイオン、コリジョンエネルギーといった化合物固有のパラメータは、MassHunter

MRM Optimizer で最適化しました。LC/MS/MS で同定と確認を行う場合の規制項目に適合するよう、各化合物に対し、ターゲット固有の MRM トランジションを 2~3 選択しました。「包括的な動物用医薬品 dMRM ソリューション」に含まれているこのメソッドは、各化合物の MRM トランジションおよび関連するすべての MS パラメータで構成されています。

InfinityLab Poroshell EC-C18 カラムを用いたクロマトグラフィーによる分離は、13 分間のグラジエントを行うことで、動物用医薬品 210 種において良好な分離とリテンションタイム分布の結果を得られました。0.5 mL/分の流量によって、AJS イオン源のターゲットイオンの容易な脱溶媒を実現しました。移動相にフッ化アンモニウムを添加することで、ネガティブイオン化の感度の向上と添加物生成の低減を達成しました。ダイナミック MRM メソッドを、サイクルタイム 750 ms、ドウェルタイム 7~370 ms の設定で用いました。典型的な分離ピークの幅は 8~12 秒でした。図 3 に、鶏マトリックスで $2.5 \mu\text{g}/\text{L}$ 濃

度にポストスパイクした動物用医薬品ターゲットすべての典型的な MRM クロマトグラムを示します。

ピペラジン、アンプロリウムやニコチンなど、早い段階で溶出する極性化合物は許容可能なピーク形状を呈しています。ただし、エマメクチンやモキシデクチンといったメクチン製剤のいくつかは、クロマトグラフィー分析の終盤に溶出しました。2,4,6-トリアミノピリミジン-5-カルボニトリル、アモキシシリン、バキロプリム、セファピリン、コチニン、脱アセチルセファピリン、ジクロキサシリン、ジシクラニル、ジミナゼン、ラクトパミン、サルブタモール（アルブテロール）、スルファグアニジン、チルミコンおよびジルパテロールといったターゲットはピーク割れを示しました。この問題は、注入できる状態の最終サンプルで水系溶媒の割合を多くすることで解決できる可能性があります。

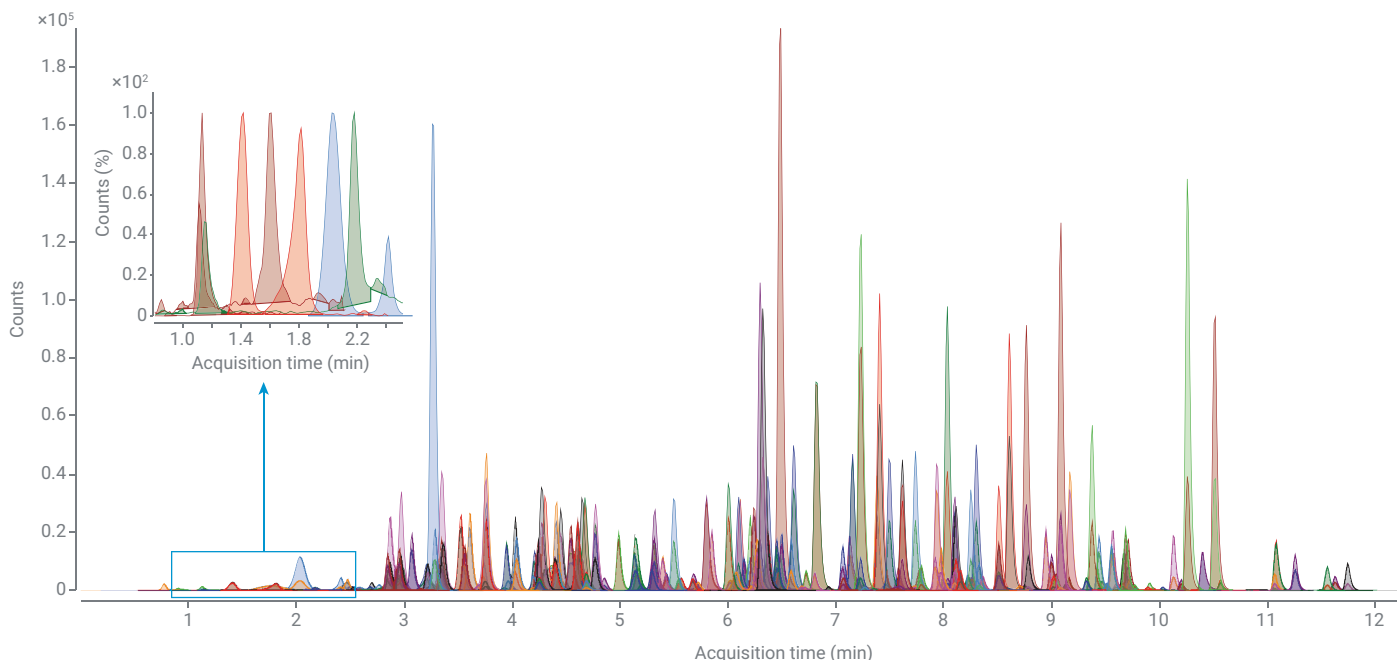


図 3. ブランク鶏マトリックスで $2.5 \mu\text{g}/\text{L}$ にポストスパイクした動物用医薬品ターゲット 210 種の MRM クロマトグラム。希釈係数が 1:10 であることを考慮すると、この $2.5 \mu\text{g}/\text{L}$ のポストスパイクは、鶏マトリックスでの $25 \mu\text{g}/\text{kg}$ スパイクに相当します。リテンションタイムウィンドウの対称性のあるシャープなピークは、ターゲットのクロマトグラフィーによる分離が効率的に行われたことを示しています。差し込み図は、早い段階で溶出する 6 種のターゲットに対応する正規化ピークの拡大図です。

ワークフロー性能は、メソッドの感度、直線性、真度、精度、分析対象物の回収率、併行精度および再現性に基づいて評価しました。ワークフロー性能は、3つの異なる筋肉マトリックスの5つのバッチ（それぞれ、鶏マトリックス3バッチ、牛マトリックス1バッチ、豚マトリックス1バッチ）で評価しました。6470 LC/TQと6495C LC/TQの2種類の型式のシステムで、ワークフローメソッドの性能の立証を行いました。結果については、各型式のもう1台のシステムによる相互検証を行いました。溶媒ブランク、マトリックスブランク、マトリックス適合キャリブレーション標準、抽出前QCサンプルを含む各サンプルマトリックスでバッチ分析を実施しました。マトリックス適合キャリブレーション標準は分析を3回繰り返して行い、マトリックスをスパイクしたQCサンプルは分析を2回繰り返して行いました。非希釈QCサンプルも、マトリックス効果の評価のため、分析しました。

検出下限 (LOD)、定量下限 (LOQ) および検量線の直線性

LOD および LOQ については、抽出後キャリブレーションレベルのさまざまな低濃度域で検証しました。Agilent MassHunter Quantitative Analysis ソフトウェアに組み込まれたピーク高と自動 RMS のアルゴリズムによって各化合物に対して定義された LOD の最小 S/N 比は >3、LOQ の S/N 比は >10 でした。LOQ の正当性を主張するには、サンプルマトリックスのターゲット選択性や化合物レスポンスの再現性といった追加手段も考慮する必要があります。マトリックス中にターゲットが内在するためにマトリックス寄与がある場合に、S/N にのみ基づいて LOD

および LOQ を算出すると、影響を受ける可能性があります。マトリックスからターゲット化合物への寄与がある場合、LOD をマトリックス寄与の3倍のピーク面積として定義し、LOQ をマトリックス寄与の5倍の面積として定義しました。LOQ 算出に際しては、3回の繰り返し注入に基づいて算出した、化合物レスポンスの再現性も重視しました。また、%RSD は典型的な判定基準である 25% を下回りました。大半の動物用医薬品に対して規制当局が定めている MRL 規制要件を考慮すれば、マトリックス抽出物の最低ポストスパイクレベルは 0.01 µg/L で、食肉中の 0.1 µg/kg に相当します。しかし、ターゲットの MRM のシグナル強度は、LOD および LOQ の下限値に達する可能性を示しました。

各ターゲットの検量線は、抽出後サンプルを用いて、定義した LOQ からスパイクした最も高いレベルまでの範囲で作成しました。例えば、LOD が 0.1 µg/kg のターゲットの場合、検量線は 0.25 ~ 100 µg/kg の範囲のグラフとなり、LOD が 1 µg/kg のターゲットの場合、検量線は 2.5 ~ 100 µg/kg の範囲、LOD が 10 µg/kg のターゲットの場合、検量線は 25 ~ 100 µg/kg の範囲となりました。最善の線形応答関数決定のため、さまざまな回帰モデルを評価した結果、最善のキャリブレーションモデルは次によるものでした。タイプ：線形、原点：無視、重み付け：1 倍。すべてのターゲットで、検量線の直線性要件である $R^2 > 0.99$ を満たしていました。表 2 には、鶏マトリックスのすべてのターゲットの LOD、LOQ および検量線データを示しています。

機器メソッドの真度と精度

各抽出後（マトリックス適合）キャリブレーションレベルの平均真度値は、3回の注入に基づいて算出しました。キャリブレーション範囲全体のすべてのターゲットの真度観測値は、70~120%の範囲内に十分収まっています。

精度については、抽出後キャリブレーションレベルの3回の注入を基に、ターゲットレスポンスの相対標準偏差の割合 (%RSD) とリテンションタイム (RT) によって判断しました。すべてのマトリックスのすべてのターゲットで、良好な RT 値と精度値が観察されました。鶏マトリックスのすべてのターゲットのレスポンス %RSD は 0.5% 未満に収まりました。この精度結果によって、溶出プロファイルと MS 検出の再現性が裏付けられました。25 µg/kg の LOQ 濃度のターゲットの場合、RT %RSD と面積 %RSD は 25 µg/L で算出しました。

ターゲットの回収率/抽出の効率

本分析では、サンプル前処理がターゲット回収率に及ぼす影響を、3つのレベルの抽出前QCサンプル(LQC、MQCおよびHQC)で評価しました。回収率は、抽出前QCの「ターゲットレスポンス」とスパイクした抽出後検量線方程式から導き出した「測定レスポンス」によって算出しました。図4には、トリメトプリム、オキシベンダゾール、フェバンテルの3つのターゲット物質について、鶏マトリックスの1 µg/L濃度の抽出後サンプル(黒線)および抽出前サンプル(青線)のMRMクロマトグラムを重ね表示しています。抽出後キャリアプレーションレベルと抽出前QCサンプルとのレスポンスカウントの比較から、これらのターゲットについて良好な回収率(106 ± 1%)が得られたことがわかります。LQCおよびMQCの平均回収率は、3つの調製サンプルの各2回の注入に基づいて算出しました。一方、HQCの平均回収率は、1つの調製サンプルの2回の注入に基づいて算出しました。これらのターゲットで得られた97%を超える回収率値は、60 ~ 120%の許容範囲を満たしています。アンプロリウム、セファピリン、エリスロマイシン、マラカイトグリーン、ナラシンおよびニコチンといったターゲットの回収率値は、30 ~ 60%の範囲内でした。一方、これらの結果は、対象の3バッチで室間再現性がありました。全ターゲットの回収率の結果を表2に示します。

ワークフローのバッチ内併行精度

本分析では、バッチ内におけるQCレベルの調製サンプル間で、ターゲットの回収率結果にどれくらいばらつきが出るかを推定しました。回収率の併行精度は、鶏マトリックスを用いてQCレベルの日内調製サンプルによって算出した回収率値の%RSDとして測定しました。サンプル前処理は、可能な限り一定の条件を保って行いました。LQC(1 µg/kg)とMQC(10 µg/kg)の各レベルそれぞれの調製サンプルで、Captiva EMR-Lipid抽出を3回行いました。各調製サンプルを、質量分析器に2回注入しました。QCレベルそれぞれの%RSDを算出し、併行精度としました。一般的に、回収率の併行精度の許容限界は、10 ppbで21%、1 ppbで30%です¹。すべてのターゲットの回収率併行精度%RSD値が許容限界内に収まり、これらの結果を表2に示しています。いくつかのターゲットでは、回収率値が60%を下回りましたが、これらのターゲットの回収率併行精度は10%RSD内に収まり、各調製サンプルで一貫した挙動を示しています。これらの結果から、Captiva EMR-Lipidで前処理を行ったサンプルの化合物回収率の併行精度が裏付けられました。

ワークフローのバッチ間再現性

本分析では、異なるラボ条件で3つの異なる鶏マトリックスバッチによって得られた回収率結果の精度を評価しました。同じサンプル前処理と分析を行う場合、サンプルマトリックスの異なるロット、異なる分析担当者、異なる機器、異なる日数や異なるラボ環境といった潜在変数は可能な限り違いを維持しました。ターゲット回収率の再現性は、次の3つのスパイクした抽出前レベルすべてで測定しました。LQC(1 µg/kg)、MQC(10 µg/kg)およびHQC(25 µg/kg)。それぞれ、調製サンプルを2回注入し、異なるラボ条件で得られた算出濃度の%RSDを再現性としてしました。

観測された結果を表2にまとめています。210種すべてのターゲットで、回収率再現性の限界(< 32%RSD)¹を満たし、そのうち、ターゲットの91%以上で、結果が15%RSD未満に収まりました。この回収率再現性の結果によって、異なるラボ環境でのCaptiva EMR-Lipidによるサンプル前処理の精度が裏付けられました。

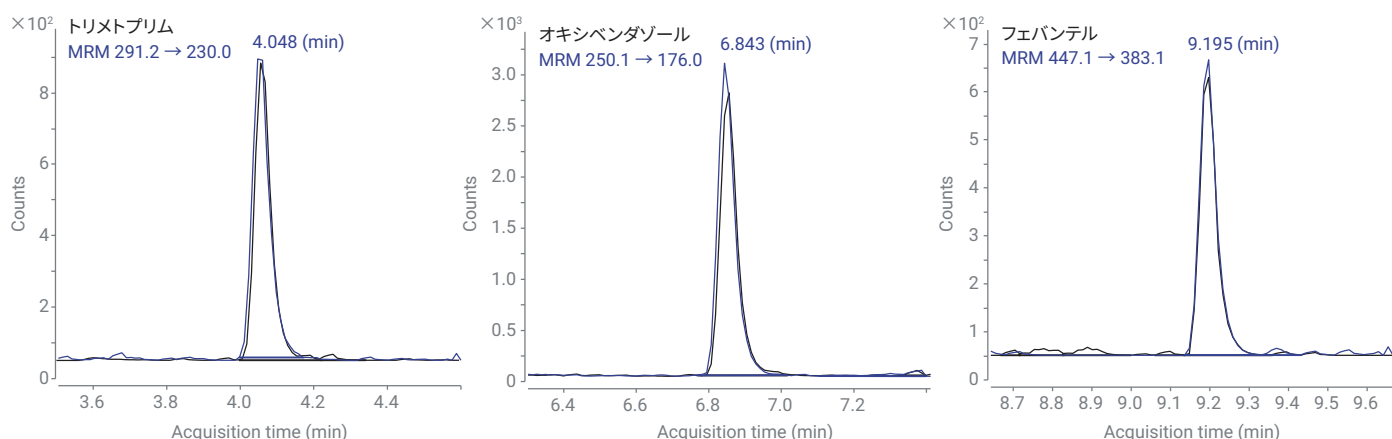


図4. 鶏マトリックス中の1 µg/kgに相当する、選択した3種の動物用医薬品ターゲットの、メソッドのリテンションウィンドウにおけるMRMクロマトグラムの重ね表示。黒線は1 µg/LポストスパイクキャリアプレーションレベルのMRM、青線は1 µg/kgプレスパイクキャリアプレーションレベルのMRMです。

マトリックス効果の評価

マトリックス効果 (ME) は、ポストスパイクした各サンプル中のターゲットレスポンスを、対応する原液標準中のターゲットレスポンスに対する割合として算出して評価しました。マトリックス効果はマトリックス適合検量線による修正が可能のため、ME 判定基準に厳しい要件を設けないのが一般的です。とはいえ、マトリックス効果はメソッドの感度と信頼性を評価するための重要な指標です。本分析では、2.5 µg/L レベルにポストスパイクした各キャリブレーションレベルを、対応する原液標準と比較して ME を評価しました。全 210 種中 93 % を超えるターゲットで有意なマトリックス抑制は見られず、これらのターゲットの ME は 75 % を超えました。約 3 % のターゲットで、ME が低イオン抑制を示す 50 ~ 70 % の範囲内でした。1 % のターゲットでは、ME が比較的中程度のイオン抑制を示す 25 % 以上 50 % 未満でした。そして、3 % のターゲットで ME が 25 % 未満となって有意なイオン抑制を示

しました。シロマジン、ジシクラニル、スルファセタミド、スルファグアニジン、スルフィソミチン、トルフェナム酸といったターゲットは、低イオン抑制の影響を受けました。エリスロマイシンやフルララネルといったターゲットは、比較的中程度のイオン抑制の影響を受け、2,4,6-トリアミノピリミジン-5-カルボニトリル、アンパロリウム、コチニン、脱アセチルセファピリン、メトロニダゾール、メトロニゾール-OH およびニコチンは有意なイオン抑制を示しました。

3 種の筋肉マトリックスでのメソッド性能比較

鶏、牛、豚の筋肉での性能評価の結果では、良好な一致が得られました。例として、鶏、牛、豚の 10 µg/kg の筋肉マトリックス中のターゲットの回収率結果を表 5 に示しています。回収率は、鶏マトリックス中の 97 % を超えるターゲットで 60 ~ 120 % の許容範囲内に収まり、牛と豚のマトリックス中の 94 % を超えるターゲットでこの基準を満たしました。この

結果により、このワークフローがさまざまな肉のマトリックスに適用可能であることが裏付けられました。ジピロン-水和物とセフロキシムは、牛と豚のマトリックスでマトリックス干渉を示し、定量結果に悪影響が出ました。アセプロマジン、クロルプロマジンおよびプロピオニルプロマジンは、牛と豚のマトリックスで回収率が低かったものの、依然、許容可能な 7 %RSD 再現性内でした。

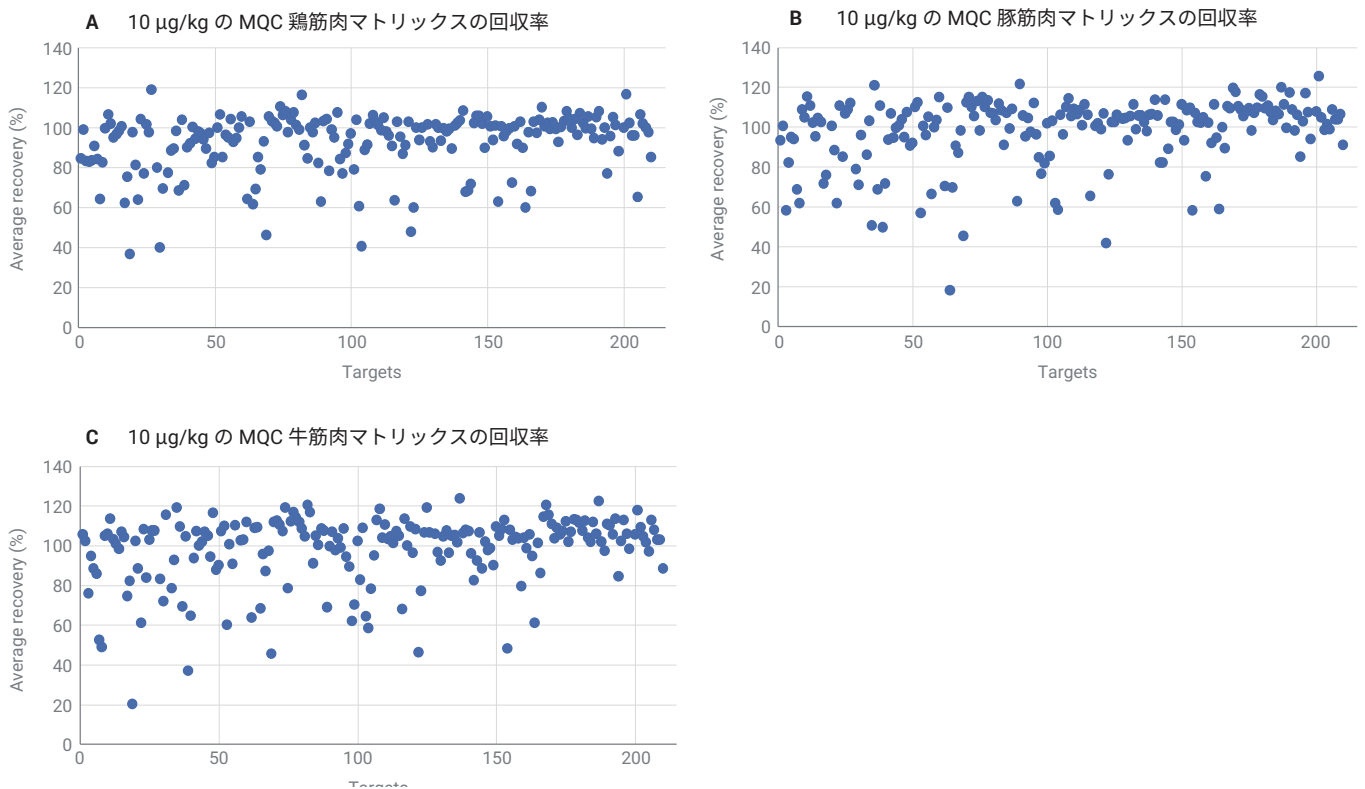


図 5. 10 µg/kg プレスパイク MQC サンプルによる、鶏 (A)、豚 (B)、牛 (C) の筋肉マトリックスから得られたターゲット回収率

結論

本研究では、食肉に含まれるクラスの異なる動物用医薬品 210 種を、6470 LC/TQ システムを用いて高速かつ確実にスクリーニングおよび定量するための高感度で再現性に優れたワークフローについて解説しました。このワークフローでは、Captiva EMR-Lipid サンプルクリーンアップによる固液抽出を行い、続いて、1290 Infinity II LC と 6470 LC/TQ とを組み合わせた分析を行います。このワークフローが動物用医薬品のルーチンスクリーニング分析に適用可能であることは、AOAC に記載されたターゲットを鶏マトリックスでスクリーニングして裏付けました。

溶媒抽出と Captiva EMR-Lipid クリーンアップに基づくシンプルなサンプル前処理プロトコルにより、ターゲット化合物の回収率に影響を及ぼすことなく、効率、選択性、再現性に優れたマトリックス/脂質除去が可能です。InfinityLab Poroshell EC-C18 カラムを用いる 13 分 LC メソッドで、良好なクロマトグラフィーによる分離が得られ、すべてのターゲットの RT 分布も良好でした。LC/TQ データの取り込みを高速の極性切り替えが可能なダイナミック MRM モードで行った結果、機器のサイクルタイムを非常に有効に活用できました。メソッドの優れた感度によって、大半の化合物で 5 ng/mL 未満の LOD を達成できました。

このワークフローの性能は、2 種類の型式のトリプル四重極システム (6470 LC/TQ と 6495C LC/TQ) で検証しました。2 種類のシステムで得られた検量線の直線性、真度、精度および回収率それぞれの結果に基づくメソッド性能の評価は、高い感度が得られるという 6495B LC/TQ システムの付加的な利点とも一致していました。メソッドは、各型式のもう 1 台のシステムによる相互検証を行いました。他の食肉マトリックスへのワークフローの適用可能性については、牛と豚のマトリックスで裏付けました。

表 2. 鶏マトリックスの AOAC ガイドラインに基づいたターゲットスクリーニングの結果

| No. | 化合物名 | RT (分) | 機能的用途/ 化学物質クラス | CAS 番号 | AOAC MRL (µg/kg) | LOD (µg/L) | R ² > 0.99 (µg/L) を満たす検量線の 直線範囲 | MQC 回収率 (%) (*LQC, #HQC) | MQC 回収率 併行精度 (%) (*LQC) | MQC 回収率 再現性 (%) (*LQC, #HQC) |
|-----|----------------------------|--------|--------------------|-------------|---------------------|---------------|--|--------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|
| 1 | 2,4,6-トリアミノピリミジン-5-カルボニトリル | 1.58 | 殺虫剤 | 465531-97-9 | — | 5 | 10~100 | 85 | 8 % | 5 % |
| 2 | 2,4-DMA [アミトラス代謝産物] | 4.34 | 殺虫剤 | 33089-74-6 | — | 0.1 | 0.25~100 | 99 | 1 % | 1 % |
| 3 | 2-キノキサリンカルボン酸 [QCA] | 4.13 | キノキサリン | 879-65-2 | — | 5 | 10~100 | 83 | 6 % | 13 % |
| 4 | 4-エピオキシテトラサイクリン | 4.26 | 抗生物質/ テトラサイクリン系 | 14206-58-7 | 200 | 0.5 | 1~100 | 83 | 5 % | 14 % |
| 5 | 4-エピテトラサイクリン | 4.17 | 抗生物質/ テトラサイクリン系 | 79-85-6 | 200 | 0.25 | 0.5~100 | 83 | 1 % | 15 % |
| 6 | 5-ヒドロキシチアベンダゾール | 3.52 | 駆虫薬/ベンズイミ ダゾール系 | 948-71-0 | — | 0.25 | 0.5~100 | 91 | 1 % | 3 % |
| 7 | 5-ヒドロキシフルニキシン | 8.29 | NSAID | 75369-61-8 | — | 0.1 | 0.25~100 | 84 | 2 % | 10 % |
| 8 | アセプロマジン | 7.34 | トランキライザー | 61-00-7 | — | 0.1 | 0.25~100 | 64 | 7 % | 11 % |
| 9 | アセチルイソバレルリルタイロシン [タイロシン] | 8.71 | 抗生物質/ マクロライド系 | 63409-12-1 | 40 | 1 | 2.5~100 | 82 | 1 % | 10 % |
| 10 | アルベンダゾール | 8.01 | 駆虫薬/ベンズイミ ダゾール系 | 54965-21-8 | — | 0.1 | 0.25~100 | 100 | 1 % | 2 % |
| 11 | アルベンダゾールスルホン | 6.14 | 駆虫薬/ベンズイミ ダゾール系 | 75184-71-3 | — | 0.25 | 0.5~100 | 107 | 2 % | 6 % |
| 12 | アルベンダゾールスルホキシド | 5.54 | 駆虫薬/ベンズイミ ダゾール系 | 54029-12-8 | — | 1 | 2.5~100 | 102 | 2 % | 3 % |
| 13 | アルベンダゾール-2-アミノスルホン | 3.71 | 駆虫薬/ベンズイミ ダゾール系 | 80983-34-2 | — | 0.5 | 1~100 | 95 | 2 % | 4 % |
| 14 | α-ゼアラレノール | 8.25 | ホルモン剤 | 26538-44-3 | — | 2.5 | 5~100 | 97 | 12 % | 6 % |
| 15 | アルトレノジスト | 8.96 | ホルモン剤 | 850-52-2 | — | 0.25 | 0.5~100 | 98 | 2 % | 2 % |
| 16 | アミノフルベンダゾール | 6.08 | 駆虫薬/ベンズイミ ダゾール系 | 82050-13-3 | 50 | 0.1 | 0.25~100 | 101 | 0 % | 1 % |
| 17 | アモキシシリン | 2.78 | 抗生物質/ β-ラクタム系 | 26787-78-0 | 10 | 2.5 | 5~100 | 62 | 9 % | 23 % |
| 18 | アンピシリン | 3.94 | 抗生物質/ β-ラクタム系 | 69-53-4 | 10 | 2.5 | 5~100 | 75 | 2 % | 16 % |
| 19 | アンプロリウム | 1.19 | 抗菌薬 | 13082-85-4 | 500 | 1 | 2.5~100 | 36 | 7 % | 14 % |

| No. | 化合物名 | RT (分) | 機能的用途/ 化学物質クラス | CAS 番号 | AOAC MRL (µg/kg) | LOD (µg/L) | R ² > 0.99 (µg/L) を満たす検量線の 直線範囲 | MQC 回収率 (%) (*LQC、#HQC) | MQC 回収率 併行精度 (%) (*LQC) | MQC 回収率 再現性 (%) (*LQC、#HQC) |
|-----|-------------|--------|----------------------|-------------|---------------------|---------------|--|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| 20 | アザペロン | 5.76 | トランキライザー | 1649-18-9 | — | 0.1 | 0.25~100 | 98 | 2 % | 1 % |
| 21 | アジスロマイシン | 6.16 | 抗生物質/ マクロライド系 | 83905-01-5 | — | 0.25 | 0.5~100 | 81 | 2 % | 3 % |
| 22 | バキロプリム | 2.63 | 抗菌薬 | 102280-35-3 | — | 0.5 | 1~100 | 64 | 2 % | 5 % |
| 23 | ベタメタゾン | 7.77 | 成長促進剤/コルチ コステロイド類 | 378-44-9 | — | 0.5 | 1~100 | 104 | 3 % | 3 % |
| 24 | カベルゴリン | 4.58 | ドーパミン受容体 拮抗薬 | 81409-90-7 | — | 0.25 | 0.5~100 | 77 | 3 % | 4 % |
| 25 | カラゾロール | 6.06 | トランキライザー | 57775-29-8 | — | 0.1 | 0.25~100 | 102 | 1 % | 1 % |
| 26 | カルバドックス | 4.41 | 抗菌薬 | 6804/07/05 | — | 0.5 | 1~100 | 98 | 3 % | 4 % |
| 27 | カルプロフェン | 9.00 | NSAID | 53716-49-7 | — | 10 | 25~100 | 119 | 0 % | 4 % |
| 28 | セファレキシシ | 3.91 | 抗生物質/ β-ラクタム系 | 15686-71-2 | 200 | 10 | 25~100 | 74 (#) | — | 29% (#) |
| 29 | セファロニウム | 3.91 | 抗生物質/ β-ラクタム系 | 5575-21-3 | — | 5 | 10~100 | 80 | 20 % | 15 % |
| 30 | セファピリン | 3.19 | 抗生物質/ β-ラクタム系 | 21593-23-7 | — | 0.5 | 1~100 | 40 | 6 % | 32 % |
| 31 | セファゾリン | 4.31 | 抗生物質/ β-ラクタム系 | 25953-19-9 | — | 5 | 10~100 | 70 | 16 % | 6 % |
| 32 | セフォペラゾン | 5.14 | 抗生物質/ β-ラクタム系 | 62893-19-0 | — | 10 | 25~100 | 88 (#) | — | 10% (#) |
| 33 | セフキノム | 3.69 | 抗生物質/ β-ラクタム系 | 84957-30-2 | — | 1 | 2.5~100 | 77 | 9 % | 6 % |
| 34 | セフチオフル | 6.27 | 抗生物質/ β-ラクタム系 | 80370-57-6 | — | 1 | 2.5~100 | 89 | 5 % | 11 % |
| 35 | セフロキシム | 4.40 | 抗生物質/ β-ラクタム系 | 55268-75-2 | — | 5 | 10~100 | 89 | 17 % | 11 % |
| 36 | クロラムフェニコール | 6.24 | 抗生物質/ アンフェニコール系 | 56-75-7 | — | 2.5 | 5~100 | 98 | 4 % | 5 % |
| 37 | クロルヘキシジン | 7.08 | 抗菌薬 | 55-56-1 | — | 0.25 | 0.5~100 | 69 | 4 % | 1 % |
| 38 | クロルマジノン | 9.45 | ホルモン剤 | 1961-77-9 | — | 1 | 2.5~100 | 104 | 2 % | 1 % |
| 39 | クロルプロマジン | 8.06 | トランキライザー | 50-53-3 | — | 0.1 | 0.25~100 | 71 | 12 % | 13 % |
| 40 | クロルテトラサイクリン | 5.94 | 抗生物質/ テトラサイクリン系 | 57-62-5 | 200 | 1 | 2.5~100 | 90 | 2 % | 9 % |
| 41 | シプロフロキサシン | 4.43 | 抗生物質/ キノロン系 | 85721-33-1 | — | 0.25 | 0.5~100 | 92 | 2 % | 2 % |
| 42 | クレンブテロール | 5.28 | 成長促進剤/ β作動薬 | 37148-27-9 | — | 0.1 | 0.25~100 | 100 | 2 % | 4 % |
| 43 | クリンダマイシン | 6.45 | 抗生物質/ マクロライド系 | 18323-44-9 | — | 5 | 10~100 | 94 | 1 % | 3 % |
| 44 | クロピドール | 3.56 | 抗コクシジウム剤 | 2971-90-6 | 5,000 | 0.5 | 1~100 | 98 | 3 % | 1 % |
| 45 | クロサンテル | 10.54 | 駆虫薬 | 57808-65-8 | — | 1 | 2.5~100 | 97 | 3 % | 2 % |
| 46 | コルヒチン | 6.72 | NSAID | 64-86-8 | — | 0.5 | 1~100 | 94 | 3 % | 3 % |
| 47 | コチニン | 2.35 | 殺虫剤 | 486-56-6 | — | 0.5 | 1~100 | 89 | 2 % | 2 % |
| 48 | クマホス | 9.58 | 駆虫薬 | 56-72-4 | — | 1 | 2.5~100 | 97 | 3 % | 10 % |
| 49 | シロマジン | 2.47 | 駆虫薬 | 66215-27-8 | 100 | 1 | 2.5~100 | 82 | 3 % | 3 % |
| 50 | ダノフロキサシン | 4.63 | 抗生物質/ キノロン系 | 112398-08-0 | 200 | 0.1 | 0.25~100 | 85 | 1 % | 2 % |
| 51 | ダブソン | 4.67 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 80-08-0 | — | 0.1 | 0.25~100 | 100 | 3 % | 3 % |
| 52 | N-アセチルダブソン | 5.40 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 565-20-8 | — | 0.5 | 1~100 | 107 | 2 % | 1 % |
| 53 | 脱アセチルセファピリン | 2.30 | 抗生物 質/β-ラクタム系 | 104557-24-6 | — | 5 | 10~100 | 85 | 8 % | 2 % |

| No. | 化合物名 | RT (分) | 機能的用途/ 化学物質クラス | CAS 番号 | AOAC MRL ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | LOD ($\mu\text{g}/\text{L}$) | $R^2 > 0.99$ ($\mu\text{g}/\text{L}$) を満たす検量線の 直線範囲 | MQC 回収率 (%) (*LQC、#HQC) | MQC 回収率 併行精度 (%) (*LQC) | MQC 回収率 再現性 (%) (*LQC、#HQC) |
|-----|-----------------------------------|--------|--------------------------|-------------|---|-----------------------------------|---|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| 54 | ジアベリジン | 3.73 | 抗菌薬 | 5355-16-8 | 50 | 0.1 | 0.25~100 | 97 | 2 % | 1 % |
| 55 | ダイアジノン | 9.64 | 殺虫剤 | 333-41-5 | — | 0.25 | 0.5~100 | 95 | 2 % | 8 % |
| 56 | ジクロフェナク | 9.14 | NSAID | 15307-86-5 | — | 0.5 | 1~100 | 104 | 5 % | 7 % |
| 57 | ジクロキサシン | 8.11 | 抗生物 質/ β -ラクタム系 | 3116-76-5 | 300 | 5 | 10~100 | 93 | 2 % | 23 % |
| 58 | ジシクラニル | 2.93 | 殺虫剤 | 112636-83-6 | — | 0.5 | 1~100 | 95 | 2 % | 2 % |
| 59 | ジフロキサシン | 5.29 | 抗生物質/ キノロン系 | 98106-17-3 | 300 | 0.25 | 0.5~100 | 100 | 1 % | 1 % |
| 60 | ジフロベンズロン | 9.11 | 殺虫剤 | 35367-38-5 | — | 2.5 | 5~100 | 105 | 7 % | 3 % |
| 61 | ジメトリダゾール | 3.66 | 抗コクシジウム剤 | 551-92-8 | — | 10 | 25~100 | 87 (#) | — | 7 % (#) |
| 62 | ジミナゼン | 2.96 | 抗コクシジウム剤 | 536-71-0 | — | 2.5 | 5~100 | 64 | 9 % | 8 % |
| 63 | ジニトルミド [ゾアレ] | 5.56 | 抗コクシジウム剤 | 148-01-6 | 3,000 | 2.5 | 5~100 | 103 | 1 % | 5 % |
| 64 | ジピロン-水和物、代謝物 [4-メチルアミノ アンチピリン] | 3.34 | NSAID | 519-98-2 | — | 0.1 | 0.25~100 | 62 | 2 % | 3 % |
| 65 | ドキシサイクリン | 6.26 | 抗生物質/ テトラサイクリン系 | 564-25-0 | 100 | 0.5 | 1~100 | 69 | 3 % | 17 % |
| 66 | エマメクチン B1a 安息香酸 | 10.09 | 駆虫薬/ アベルメクチン系 | 121124-29-6 | — | 0.25 | 0.5~100 | 79 | 2 % | 4 % |
| 67 | エマメクチン B1b 安息香酸 | 9.90 | 駆虫薬/ アベルメクチン系 | 121424-52-0 | — | 2.5 | 5~100 | 85 | 7 % | 5 % |
| 68 | エンロフロキサシン | 4.74 | 抗生物質/ キノロン系 | 93106-60-6 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 93 | 2 % | 2 % |
| 69 | エリスロマイシン | 7.40 | 抗生物質/ マクロライド系 | 114-07-8 | 100 | 0.5 | 1~100 | 46 | 7 % | 3 % |
| 70 | エトパベイト | 6.60 | 抗コクシジウム剤 | 59-06-3 | 500 | 0.1 | 0.25~100 | 106 | 2 % | 3 % |
| 71 | ファムファー | 8.18 | 殺虫剤 | 52-85-7 | — | 1 | 2.5~100 | 103 | 4 % | 6 % |
| 72 | フェバンテル | 9.15 | 駆虫薬/ベンズイミ ダゾール系 | 58306-30-2 | — | 0.25 | 0.5~100 | 102 | 6 % | 2 % |
| 73 | フェンベンダゾール | 8.59 | 駆虫薬/ベンズイミ ダゾール系 | 43210-67-9 | — | 0.1 | 0.25~100 | 100 | 1 % | 3 % |
| 74 | フェンベンダゾールスルホキシド [オクスフェ ンダゾール] | 6.44 | 駆虫薬/ベンズイミ ダゾール系 | 53716-50-0 | — | 0.25 | 0.5~100 | 110 | 1 % | 1 % |
| 75 | フィロコキシブ | 7.96 | NSAID | 189954-96-9 | — | 2.5 | 5~100 | 106 | 5 % | 6 % |
| 76 | フロルフェニコール | 5.55 | 抗生物質/ アンフェニコール系 | 73231-34-2 | 100 | 0.5 | 1~100 | 108 | 5 % | 4 % |
| 77 | フルアズロン | 10.17 | 殺虫剤 | 86811-58-7 | — | 0.5 | 1~100 | 98 | 2 % | 4 % |
| 78 | フルベンダゾール | 7.72 | 駆虫薬/ベンズイミ ダゾール系 | 31430-15-6 | 50 | 0.1 | 0.25~100 | 104 | 1 % | 5 % |
| 79 | フルロゲストン酢酸エステル | 8.35 | ホルモン剤 | 2529-45-5 | — | 1 | 2.5~100 | 108 | 3 % | 2 % |
| 80 | フルメキン | 7.39 | 抗生物質/ キノロン系 | 42835-25-6 | 400 | 0.1 | 0.25~100 | 101 | 2 % | 1 % |
| 81 | フルニキシム | 8.75 | NSAID | 38677-85-9 | — | 0.1 | 0.25~100 | 99 | 2 % | 1 % |
| 82 | フルララネル | 9.89 | 殺虫剤 | 864731-61-3 | — | 2.5 | 5~100 | 116 | 4 % | 9 % |
| 83 | フラソリドン | 4.68 | 抗菌薬/フラン系 | 67-45-8 | — | 2.5 | 5~100 | 91 | 4 % | 16 % |
| 84 | ガミスロマイシン | 6.44 | 抗生物質/ アミノグリコシド系 | 145435-72-9 | — | 0.25 | 0.5~100 | 85 | 11 % | 1 % |
| 85 | ゴナドトロピン | 7.57 | ホルモン剤 | 33515-09-2 | — | 0.5 | 1~100 | 100 | 4 % | 4 % |
| 86 | ハロフジノン | 6.44 | 抗コクシジウム剤 | 55837-20-2 | 10 | 0.5 | 1~100 | 98 | 1 % | 3 % |
| 87 | ハロペリドール | 7.11 | トランキライザー | 52-86-8 | — | 0.1 | 0.25~100 | 102 | 1 % | 1 % |
| 88 | ハロクソン | 8.58 | 駆虫薬 | 321-55-1 | — | 2.5 | 5~100 | 82 | 8 % | 10 % |
| 89 | イミドカルブ | 3.20 | 抗コクシジウム剤 | 27885-92-3 | — | 0.5 | 1~100 | 63 | 3 % | 7 % |

| No. | 化合物名 | RT (分) | 機能的用途/ 化学物質クラス | CAS 番号 | AOAC MRL (µg/kg) | LOD (µg/L) | R ² > 0.99 (µg/L) を満たす検量線の 直線範囲 | MQC 回収率 (%) (*LQC、#HQC) | MQC 回収率 併行精度 (%) (*LQC) | MQC 回収率 再現性 (%) (*LQC、#HQC) |
|-----|-------------------------|--------|----------------------|-------------|---------------------|---------------|--|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| 90 | イプロニダゾール | 6.04 | 駆虫薬/ニトロイミ ダゾール系 | 14885-29-1 | — | 5 | 10~100 | 103 | 13 % | 11 % |
| 91 | イプロニダゾール-OH | 4.85 | 駆虫薬/ニトロイミ ダゾール系 | 35175-14-5 | — | 1 | 2.5~100 | 104 | 3 % | 1 % |
| 92 | イソメタミジウム | 5.98 | 駆虫薬 | 20438-03-3 | — | 2.5 | 5~100 | 78 | 3 % | 10 % |
| 93 | ジョサマイシン | 8.22 | 抗生物質/ マクロライド系 | 16846-24-5 | 40 | 0.5 | 1~100 | 99 | 3 % | 2 % |
| 94 | ケタミン | 4.74 | 麻酔薬 | 6740-88-1 | — | 0.1 | 0.25~100 | 95 | 2 % | 1 % |
| 95 | ケトプロフェン | 8.20 | NSAID | 22071-15-4 | — | 0.5 | 1~100 | 107 | 1 % | 4 % |
| 96 | キササマイシン A5 [ロイコマイシン A5] | 7.70 | 抗生物質/ アミノグリコシド系 | 18361-45-0 | 200 | 1 | 2.5~100 | 84 | 1 % | 4 % |
| 97 | ラサロンド A | 10.99 | 抗コクシジウム剤 | 25999-31-9 | 20 | 0.25 | 0.5~100 | 77 | 2 % | 4 % |
| 98 | ロイコクリスタルバイオレット | 10.36 | 殺菌剤および染料 | 603-48-5 | — | 0.5 | 1~100 | 87 | 3 % | 1 % |
| 99 | ロイコマラカイトグリーン | 10.48 | 殺菌剤および染料 | 129-73-7 | — | 0.1 | 0.25~100 | 92 | 0 % | 4 % |
| 100 | レバミゾール | 3.58 | 駆虫薬 | 14769-73-4 | 10 | 0.25 | 0.5~100 | 97 | 2 % | 2 % |
| 101 | リンコマイシン | 3.74 | 抗生物質/ アミノグリコシド系 | 154-21-2 | 100 | 0.1 | 0.25~100 | 79 | 1 % | 2 % |
| 102 | ルフエヌロン | 10.11 | 殺菌剤 | 103055-07-8 | — | 10 | 25~100 | 104 | 5 % | 0 % |
| 103 | マデュラマイシアンモニウム | 11.59 | 抗コクシジウム剤 | 79356-08-4 | 100 | 1 | 2.5~100 | 61 | 1 % | 4 % |
| 104 | マラカイトグリーン | 8.21 | 殺菌剤および染料 | 10309-95-2 | — | 0.1 | 0.25~100 | 40 | 2 % | 10 % |
| 105 | マラチオン | 8.92 | 殺菌剤 | 121-75-5 | — | 0.25 | 0.5~100 | 89 | 2 % | 4 % |
| 106 | マルボフロキサシン | 4.00 | 抗生物質/ キノロン系 | 115550-35-1 | — | 0.25 | 0.5~100 | 91 | 4 % | 2 % |
| 107 | メベンダゾール | 7.49 | 駆虫薬/ベンズイミ ダゾール系 | 31431-39-7 | — | 0.1 | 0.25~100 | 102 | 1 % | 6 % |
| 108 | メフェナム酸 | 9.68 | 抗炎症薬 | 61-68-7 | — | 0.25 | 0.5~100 | 106 | 1 % | 6 % |
| 109 | 酢酸メゲストロール | 9.43 | ホルモン剤 | 595-33-5 | — | 0.25 | 0.5~100 | 103 | 5 % | 1 % |
| 110 | 酢酸メレンゲストロール | 9.55 | ホルモン剤 | 2919-66-6 | — | 0.25 | 0.5~100 | 101 | 4 % | 3 % |
| 111 | メロキシカム | 8.10 | NSAID | 71125-38-7 | — | 0.1 | 0.25~100 | 99 | 1 % | 5 % |
| 112 | メチルプレドニゾン | 7.78 | 成長促進剤/コルチ コステロイド類 | 83-43-2 | — | 0.5 | 1~100 | 105 | 3 % | 3 % |
| 113 | メトセルベート | 6.55 | トランキライザー | 1178-28-5 | 20 | 0.25 | 0.5~100 | 98 | 3 % | 3 % |
| 114 | メトロニダゾール | 3.22 | 駆虫薬/ニトロイミ ダゾール系 | 443-48-1 | — | 0.5 | 1~100 | 96 | 5 % | 4 % |
| 115 | メトロニダゾール-OH | 2.77 | 駆虫薬/ニトロイミ ダゾール系 | 4812-40-2 | — | 2.5 | 5~100 | 91 | 8 % | 5 % |
| 116 | モネンシン | 11.22 | 抗コクシジウム剤 | 17090-79-8 | 10 | 0.5 | 1~100 | 63 | 1 % | 2 % |
| 117 | モネ/パンテル | 9.45 | 駆虫薬 | 851976-50-6 | — | 1 | 2.5~100 | 103 | 1 % | 23 % |
| 118 | モランテル酒石酸塩 | 5.27 | 駆虫薬 | 20574-50-9 | — | 0.5 | 1~100 | 95 | 2 % | 2 % |
| 119 | モキシデクチン | 11.04 | 駆虫薬/ アベルメクチン系 | 113507-06-5 | — | 5 | 10~100 | 87 | 14 % | 23 % |
| 120 | ナフシリン | 8.02 | 抗生物質/ β-ラクタム系 | 147-52-4 | — | 0.5 | 1~100 | 91 | 2 % | 5 % |
| 121 | ナリジクス酸 | 7.21 | 抗生物質 | 389-08-2 | — | 0.1 | 0.25~100 | 103 | 3 % | 1 % |
| 122 | ナラシン | 11.71 | 抗コクシジウム剤 | 55134-13-9 | 15 | 0.5 | 1~100 | 48 | 2 % | 7 % |
| 123 | ネオスピラマイシン | 5.71 | 抗生物質/ マクロライド系 | 70253-62-2 | 200 | 0.5 | 1~100 | 60 | 5 % | 4 % |
| 124 | ネクイネート | 9.35 | 駆虫薬 | 13997-19-8 | 100 | 0.1 | 0.25~100 | 100 | 4 % | 1 % |
| 125 | ネトピミン | 7.06 | 駆虫薬 | 88255-01-0 | 100 | 2.5 | 5~100 | 94 | 8 % | 16 % |
| 126 | ナイカルバジン | 8.76 | 抗コクシジウム剤 | 587-90-6 | 200 | 0.5 | 1~100 | 100 | 2 % | 2 % |

| No. | 化合物名 | RT (分) | 機能的用途/ 化学物質クラス | CAS 番号 | AOAC MRL ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | LOD ($\mu\text{g}/\text{L}$) | $R^2 > 0.99$ ($\mu\text{g}/\text{L}$) を満たす検量線の 直線範囲 | MQC 回収率 (%) (*LQC、#HQC) | MQC 回収率 併行精度 (%) (*LQC) | MQC 回収率 再現性 (%) (*LQC、#HQC) |
|-----|-------------------------|--------|-------------------------|-------------|---|-----------------------------------|---|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| 127 | ニコチン | 1.44 | 抗草食動物物質 | 54-11-5 | — | 10 | 25~100 | 54 (#) | — | 20 % (#) |
| 128 | ニフルム酸 | 9.07 | 抗炎症薬 | 4394-00-7 | — | 0.25 | 0.5~100 | 102 | 3 % | 1 % |
| 129 | ニトロキシニル | 6.67 | 駆虫薬 | 1689-89-0 | — | 2.5 | 5~100 | 93 | 5 % | 3 % |
| 130 | ノルフロキサシン | 4.28 | 抗生物質/ キノロン系 | 70458-96-7 | — | 0.25 | 0.5~100 | 90 | 3 % | 1 % |
| 131 | ノルジェストメット | 9.31 | ホルモン剤 | 472-54-8 | — | 1 | 2.5~100 | 102 | 3 % | 3 % |
| 132 | ノボピオシン | 9.75 | 抗生物質 | 303-81-1 | 1,000 | 1 | 2.5~100 | 100 | 2 % | 5 % |
| 133 | オラキンドックス | 3.00 | 成長促進剤/アナボ リックステロイド類 | 23696-28-8 | — | 0.5 | 1~100 | 93 | 2 % | 2 % |
| 134 | オレアンドマイシン | 7.03 | 抗生物質/ アミノグリコンド系 | 3922-90-5 | 150 | 0.25 | 0.5~100 | 100 | 1 % | 2 % |
| 135 | オルピフロキサシン | 4.97 | 抗生物質/ キノロン系 | 113617-63-3 | 20 | 0.25 | 0.5~100 | 98 | 2 % | 1 % |
| 136 | オルメトプリム | 4.39 | 抗生物質 | 6981-18-6 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 99 | 5 % | 1 % |
| 137 | オキサリリン | 7.51 | 抗生物質/ β -ラクタム系 | 66-79-5 | 300 | 5 | 10~100 | 89 | 11 % | 11 % |
| 138 | オキシベンダゾール | 6.79 | 駆虫薬/ベンズイミ ダゾール系 | 20559-55-1 | — | 0.1 | 0.25~100 | 101 | 1 % | 1 % |
| 139 | オキシロン酸 | 6.29 | 抗生物質/ キノロン系 | 14698-29-4 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 102 | 2 % | 1 % |
| 140 | オキシクロザニド | 9.49 | 駆虫薬 | 2277-92-1 | — | 2.5 | 5~100 | 103 | 4 % | 2 % |
| 141 | オキシフェンブタゾン | 8.09 | NSAID | 129-20-4 | — | 0.5 | 1~100 | 108 | 2 % | 2 % |
| 142 | オキシテトラサイクリン | 4.46 | 抗生物質/ テトラサイクリン系 | 79-57-2 | 200 | 1 | 2.5~100 | 68 | 3 % | 19 % |
| 143 | ペニシリン G | 6.92 | 抗生物質/ β -ラクタム系 | 61-33-6 | — | 1 | 2.5~100 | 68 | 2 % | 20 % |
| 144 | ペニシリン V [フェノキシメチルペニシリン] | 7.33 | 抗生物質/ β -ラクタム系 | 87-08-1 | 25 | 2.5 | 5~100 | 72 | 2 % | 25 % |
| 145 | フェニルブタゾン | 9.01 | NSAID | 50-33-9 | — | 1 | 2.5~100 | 102 | 3 % | 1 % |
| 146 | ホサロン | 9.69 | 殺虫剤 | 2310-17-0 | — | 1 | 2.5~100 | 106 | 5 % | 3 % |
| 147 | ホキシム | 9.63 | 殺虫剤 | 14816-18-3 | 25 | 2.5 | 5~100 | 106 | 8 % | 2 % |
| 148 | ピペロニルブトキシドアンモニア | 10.24 | 殺虫剤 | 51-03-6 | 500 | 0.1 | 0.25~100 | 102 | 3 % | 7 % |
| 149 | ピリルマイシン | 5.70 | 抗生物質/ アミノグリコンド系 | 79548-73-5 | — | 2.5 | 5~100 | 90 | 5 % | 10 % |
| 150 | ブラジカンテル | 8.49 | 駆虫薬 | 55268-74-1 | — | 0.1 | 0.25~100 | 106 | 3 % | 2 % |
| 151 | ブレドニゾロン | 7.22 | 成長促進剤/コルチ コステロイド類 | 50-24-8 | — | 0.5 | 1~100 | 101 | 0 % | 6 % |
| 152 | ブレドニゾン | 7.06 | 成長促進剤/コルチ コステロイド類 | 53-03-2 | 0.7 | 0.5 | 1~100 | 102 (*) | 24 % (*) | 24 % (*) |
| 153 | プロゲステロン | 9.53 | ホルモン剤 | 57-83-0 | — | 0.5 | 1~100 | 101 | 3 % | 1 % |
| 154 | プロピオニルプロマジン | 7.90 | 制吐薬 | 3568-24-9 | — | 0.1 | 0.25~100 | 63 | 5 % | 11 % |
| 155 | プロピフェナゾン | 7.61 | NSAID | 479-92-5 | — | 0.1 | 0.25~100 | 101 | 0 % | 2 % |
| 156 | ピランテル | 4.15 | 駆虫薬 | 15686-83-6 | — | 0.5 | 1~100 | 96 | 2 % | 2 % |
| 157 | ピリメタミン | 6.20 | 抗菌薬 | 58-14-0 | 50 | 0.1 | 0.25~100 | 98 | 3 % | 1 % |
| 158 | ラクトバミン | 4.55 | 成長促進剤/ β 作動薬 | 97825-25-7 | — | 0.25 | 0.5~100 | 100 | 2 % | 2 % |
| 159 | ラフォキサニド | 11.03 | 駆虫薬 | 22662-39-1 | — | 0.5 | 1~100 | 72 | 5 % | 4 % |
| 160 | リファキシミン | 9.00 | 抗生物質 | 80621-81-4 | — | 1 | 2.5~100 | 101 | 4 % | 4 % |
| 161 | ロベニジン | 8.48 | 抗コクシジウム剤 | 25875-51-8 | 100 | 0.5 | 1~100 | 92 | 2 % | 2 % |
| 162 | ロニダゾール | 3.34 | 駆虫薬/ニトロイミ ダゾール系 | 7681-76-7 | 500 | 0.25 | 0.5~100 | 103 | 2 % | 2 % |

| No. | 化合物名 | RT (分) | 機能的用途/ 化学物質クラス | CAS 番号 | AOAC MRL (µg/kg) | LOD (µg/L) | R ² > 0.99 (µg/L) を満たす検量線の 直線範囲 | MQC 回収率 (%) (*LQC、#HQC) | MQC 回収率 併行精度 (%) (*LQC) | MQC 回収率 再現性 (%) (*LQC、#HQC) |
|-----|------------------------|--------|-------------------|------------|---------------------|---------------|--|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|
| 163 | サルブタモール [アルブテロール] | 2.93 | 成長促進剤/β作 動薬 | 18559-94-9 | — | 0.1 | 0.25~100 | 90 | 2 % | 2 % |
| 164 | サリノマイシン | 11.52 | 抗コクシジウム剤 | 53003-10-4 | 100 | 0.5 | 1~100 | 60 | 1 % | 2 % |
| 165 | サラフロキサシン | 5.29 | 抗生物質/ キノロン系 | 98105-99-8 | 10 | 0.25 | 0.5~100 | 98 | 2 % | 2 % |
| 166 | スピラマイシン I | 6.03 | 抗生物質/ マクロライド系 | 24916-50-5 | 200 | 0.5 | 1~100 | 68 | 5 % | 4 % |
| 167 | スルファベンズアミド | 5.99 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 127-71-9 | 100 | 0.1 | 0.25~100 | 103 | 3 % | 4 % |
| 168 | スルファセタミド | 3.06 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 144-80-9 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 97 | 3 % | 2 % |
| 169 | スルファクロルピリダジン | 5.16 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 80-32-0 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 104 | 2 % | 9 % |
| 170 | スルファクロジン | 6.21 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 102-65-8 | 100 | 0.5 | 1~100 | 110 | 3 % | 6 % |
| 171 | スルファジアジン [シルバデン] | 3.36 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 68-35-9 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 101 | 1 % | 4 % |
| 172 | スルファジメトキシ | 6.39 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 122-11-2 | 100 | 0.1 | 0.25~100 | 102 | 1 % | 3 % |
| 173 | スルファジミジン [スルファメタジン] | 4.54 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 57-68-1 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 99 | 1 % | 4 % |
| 174 | スルファドキシ | 5.49 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 2447-57-6 | 100 | 0.1 | 0.25~100 | 102 | 2 % | 1 % |
| 175 | スルファエトキシピリダジン | 5.84 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 963-14-4 | 100 | 0.1 | 0.25~100 | 99 | 3 % | 6 % |
| 176 | スルファグアニジン | 1.82 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 57-67-0 | 100 | 0.5 | 1~100 | 93 | 1 % | 2 % |
| 177 | スルファメラジン | 3.94 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 127-79-7 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 100 | 2 % | 3 % |
| 178 | スルファメータ [スルファメトキシジアジン] | 4.40 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 651-06-9 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 103 | 1 % | 4 % |
| 179 | スルファメチゾール | 4.43 | 抗生物質/スルホン アミド系 | 144-82-1 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 108 | 3 % | 5 % |
| 180 | スルファメトキサゾール | 5.39 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 723-46-6 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 105 | 3 % | 5 % |
| 181 | スルファメトキシピリダジン | 4.60 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 80-35-3 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 100 | 3 % | 4 % |
| 182 | スルファモノメトキシ | 5.14 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 1220-83-3 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 104 | 3 % | 7 % |
| 183 | スルファモキゾール | 4.24 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 729-99-7 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 96 | 2 % | 6 % |
| 184 | スルファニトラン | 7.25 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 122-16-7 | 100 | 5 | 10~100 | 107 | 6 % | 7 % |
| 185 | スルファフェナゾール | 6.26 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 526-08-9 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 102 | 3 % | 3 % |
| 186 | スルファピリジン | 3.75 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 144-83-2 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 100 | 3 % | 3 % |
| 187 | スルファキノキサリン | 6.44 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 59-40-5 | 100 | 0.1 | 0.25~100 | 105 | 3 % | 7 % |
| 188 | スルファチアゾール | 3.55 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 72-14-0 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 99 | 2 % | 4 % |
| 189 | スルフィソミジン | 3.27 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 515-64-0 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 95 | 2 % | 2 % |
| 190 | スルフィソキサゾール | 5.67 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 127-69-5 | 100 | 0.5 | 1~100 | 105 | 2 % | 5 % |

| No. | 化合物名 | RT (分) | 機能的用途/ 化学物質クラス | CAS 番号 | AOAC MRL ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | LOD ($\mu\text{g}/\text{L}$) | $R^2 > 0.99$ ($\mu\text{g}/\text{L}$) を満たす検量線の 直線範囲 | MQC 回収率 (%) (*LQC、#HQC) | MQC 併行精度 (%) (*LQC) | MQC 回収率 再現性 (%) (*LQC、#HQC) |
|-----|---------------|--------|------------------------|-------------|---|-----------------------------------|---|-------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|
| 191 | スリンダク | 7.97 | 抗生物質/ スルホンアミド系 | 38194-50-2 | 100 | 0.25 | 0.5~100 | 108 | 1 % | 2 % |
| 192 | テフロベンズロン | 10.01 | 殺虫剤 | 83121-18-0 | — | 5 | 10~100 | 94 | 4 % | 5 % |
| 193 | テストステロン | 8.49 | 成長促進剤/アナボ リックステロイド類 | 58-22-0 | — | 0.25 | 0.5~100 | 100 | 3 % | 2 % |
| 194 | テトラサイクリン | 4.67 | 抗生物質/ テトラサイクリン系 | 60-54-8 | 200 | 0.5 | 1~100 | 77 | 1 % | 15 % |
| 195 | チアベンダゾール | 4.26 | 駆虫薬/ベンズイミ ダゾール系 | 148-79-8 | — | 0.1 | 0.25~100 | 96 | 4 % | 3 % |
| 196 | チアンフェニコール | 4.25 | 抗生物質/ アンフェニコール系 | 15318-45-3 | 50 | 0.5 | 1~100 | 105 | 2 % | 6 % |
| 197 | チアムリン | 7.56 | 抗生物質 | 55297-95-5 | 100 | 0.1 | 0.25~100 | 101 | 1 % | 2 % |
| 198 | チルミコシン | 6.76 | 抗生物質/ マクロライド系 | 108050-54-0 | 75 | 1 | 2.5~100 | 88 | 3 % | 6 % |
| 199 | トルフェナム酸 | 9.86 | NSAID | 13710-19-5 | — | 10 | 25~100 | 120 (#) | — | 7 % (#) |
| 200 | トレンボロン | 7.91 | 成長促進剤/アナボ リックステロイド類 | 10161-33-8 | — | 0.5 | 1~100 | 100 | 4 % | 4 % |
| 201 | トリクロルホン [DEP] | 5.20 | トランキライザー | 52-68-6 | — | 1 | 2.5~100 | 117 | 0 % | 16 % |
| 202 | トリクラベンダゾール | 9.67 | 駆虫薬/ベンズイミ ダゾール系 | 68786-66-3 | — | 0.25 | 0.5~100 | 102 | 2 % | 1 % |
| 203 | トリメトプリム | 4.02 | 抗生物質 | 738-70-5 | 50 | 0.25 | 0.5~100 | 96 | 2 % | 1 % |
| 204 | トリベレナミン | 6.28 | 駆虫薬 | 91-81-6 | — | 0.1 | 0.25~100 | 96 | 3 % | 1 % |
| 205 | タイロシン | 7.56 | 抗生物質/ マクロライド系 | 1401-69-0 | 100 | 1 | 2.5~100 | 65 | 5 % | 10 % |
| 206 | バルネムリン | 8.30 | 抗生物質 | 101312-92-9 | — | 0.5 | 1~100 | 106 | 5 % | 3 % |
| 207 | ベダプロフェン | 9.00 | NSAID | 71109-09-6 | — | 0.5 | 1~100 | 102 | 2 % | 1 % |
| 208 | バージニアマイシン M1 | 8.15 | 抗生物質/ マクロライド系 | 21411-53-0 | 100 | 0.5 | 1~100 | 100 | 2 % | 2 % |
| 209 | キシラジン | 5.11 | トランキライザー | 7361-61-7 | — | 0.25 | 0.5~100 | 98 | 3 % | 2 % |
| 210 | ジルパテロール | 2.93 | 成長促進剤/ β 作動薬 | 119520-05-7 | — | 0.25 | 0.5~100 | 85 | 2 % | 4 % |

参考文献

1. Guidelines for Standard Method Performance Requirements, AOAC Official Methods of Analysis (2016) Appendix F.
2. The United States, Code of Federal Regulations (CFR) - Title 21, Tolerance of Residues in New Animal Drugs in Food, *Part 556, volume 6*, April 1, 2019.
3. The United States, Chemical contaminants of public health concern used by the Food Safety and Inspection Service (FSIS), 2017.
4. Official Journal of the European Union, Pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits (MRL), Commission Regulation (EU) No 37/2010.
5. AOAC guidelines on “Screening and identification method for regulated veterinary drug residues in food”, Version 7, June 20, 2018.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2020
Printed in Japan, October 22, 2020
5994-1932JAJP
DE.8459606481