

LC-MS/MSを用いた牛筋肉及び牛腎臓中 残留動物用医薬品スクリーニング分析法の検討

吉野共広、山路章、八木正博、向井健悟
神戸市健康科学研究所 生活科学部

1 はじめに

当研究所の畜水産物の収去検査において、残留合成抗菌剤45項目の検査は、「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験I(畜水産物)」¹⁾に則り、LC-MS/MSを用いた一斉分析法を、残留抗生物質の検査は「畜水産食品中の残留抗生物質簡易検査法(改定)」及び「畜水産食品中の残留抗生物質の分別推定法(改定)」²⁾に則り、簡易検査法(ペーパーディスク法)を、ペーパーディスク法が陽性であった場合は分別推定法を実施している。分別推定法が陽性となった場合、違反に該当するかの判断をするには、該当抗生物質が基準値を超える残留値かどうかを定量する必要があるが、当所においては未だ定量まで至った事例はない。分別推定法が陽性になった場合に備え、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性確認ガイドラインについて」³⁾(以下、ガイドラインという。)に基づき分析法の妥当性評価を実施し、LC-MS/MSを用いた抗生物質を含む動物用医薬品等の検査体制を構築する必要がある。

畜水産物中に残留する抗生物質のLC-MS/MSによる分析法については、ペニシリン系やテトラサイクリン系といった系統別の試験法⁴⁻⁸⁾や、複数系統の抗生物質を同時に分析する方法⁹⁻¹⁸⁾も開発されている。

本研究では、非常に高い極性を有するアミノグリコシド系を除く抗生物質を網羅的に分析することを目的とし、動物用医薬品スクリーニング分析法の検討を行った。それらの結果について報告する。

2 実験方法

2.1 試料

試料は、分析対象の抗生物質等が残留していないことを確認した牛筋肉及び牛腎臓を用いた。

2.2 試薬等

対象とした38種の動物用医薬品を表1に示す。38種の内訳は、テトラサイクリン系抗生物質4種、ペニシリン系抗生物質9種、セファロsporin系抗生物質6種、マクロ

ライド系抗生物質9種、合成抗菌剤6種、その他4種である。これらの動物用医薬品の標準品は、富士フィルム和光純薬工業製、Merck(Sigma-Aldrich)製、Merck(Supelco)製を用いた。

アセトニトリル(残留農薬・PCB試験用又はLC/MS用)、ギ酸(LC/MS用)、りん酸水素二ナトリウム(無水)(特級)、クエン酸(無水)(特級)、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム(試薬研究用、以下「EDTA・2Na」という。)を用いた。水はMerck(Millipore)製の超純水製造装置Milli-Q IQ7000で精製したMilli-Q水を使用した。

EDTA含有クエン酸緩衝液(pH 4.0)は、クエン酸21.0gを水に溶かして1,000 mLとし(第1液)、りん酸水素二ナトリウム(無水)28.4gを水に溶かし1,000 mLとした(第2液)後、第1液307 mLと第2液193 mLを混和し、EDTA・2Na 1.86gを溶解し、調製した。

2.3 器具及び機器

50 mL ポリプロピレン(PP)製遠心管: CORNING 社製 FALCON 遠心分離用コニカルチューブ

1.5 mL PP製バイアル: GL Sciences 製スクリューバイアル PP透明

フードプロセッサー: CONAIR 社製 Cuisinart DLC-10PRO

ホモジナイザー: IKA 社製 ULTRA-TURRAX T25-Basic
冷却遠心分離機: 久保田商事製 ユニバーサル冷却遠心機 5911

振とう器: 東京理化機器製 分液ロート振とう機 MMV-1000W

高速遠心分離機: トミー工業製 微量高速遠心機 MX-300

シリンジフィルター: Merck(Millipore)製 Millex-LG 孔径 0.20 µm、直径 4 mm、親水性 PTFE

LC: 島津製作所製 SHIMADZU LC-20A Series

MS: AB Sciex 製 QTRAP4500

2.4 分析条件

カラム: GL Sciences 製 InertSustain AQ-C18 PEEK
 (2.1×150 mm, 3 μm)
 移動相: A 液 0.1%ギ酸水溶液、B 液アセトニトリル
 グラジエント(B 液): 5%(0→2 分)→95%(10→15 分)
 →5%(15→25 分)
 流速: 0.2 mL/min
 カラム温度: 40°C
 注入量: 5 μL
 イオンソース温度: 500°C
 イオン化法: ESI(+), ESI(-)
 イオンスプレー電圧: 5500 V(+), -4500 V(-)
 測定モード: SRM(表 1)

2.5 試験溶液の調製

松本らの希釈法¹⁴⁾を参考にした分析フローを図 1 に示す。器具については、ガラス製器具への吸着を防ぐために PP 製器具を使用し^{12,14)}、ペニシリン系抗生物質はメタノール付加体を形成し定量値の低下やばらつきの恐れがあったため^{19,20)}メタノールは使用しないこととした。

均一化した試料 5.0 g を 50 mL 容の PP 製遠心管(A) に量り採り、0.2%ギ酸含有アセトニトリル 15 mL を加え、1 分間ホモジナイズした後、3,000 rpm で 5 分間遠心分離し、上澄みを PP 製遠心管(B)に分取する。残渣に 0.2%ギ酸含有アセトニトリル 15 mL を加えて、5 分間振とう後、3,000 rpm で 5 分間遠心分離し、得られた上澄みを先の PP 製遠心管(B)に合わせる。さらに残渣に EDTA 含有クエン酸緩衝液 15 mL を加えて、5 分間振とう後、3,000 rpm で 5 分間遠心分離し、上澄みを先の PP 製遠心管(B)に合わせ、水で 50 mL に定容する。その溶液を混和後、3,000 rpm で 5 分間遠心分離する。得られた上澄みを 1.5 mL 容の PP 製チューブに分取したものを 12,000 rpm で 3 分間遠心分離後、0.2 μm フィルターでろ過し、PP 製バイアルに分取したものを試験溶液とする。

2.6 標準原液・混合標準溶液

各標準品を秤量し、物質の溶解性に応じてアセトニトリル、アセトニトリル/水(2:3)に溶解し、各標準原液 1000 μg/mL を調製した。標準溶液の調製についても、ペニシリン系抗生物質がメタノール付加体を形成しないようにメタノールは使用しないこととした^{19,20)}。

アセトニトリル溶液に溶解した標準はジョサマイシン、ミロサマイシン、スルファモノトキシム、エンロフロキサシン、オルメトプリム、メクロプラミド、デキサメタゾンの 7 種であ

った。ただし、オルメトプリムを除く 6 種はアセトニトリルで 1,000 μg/mL に、アセトニトリルにやや溶けにくいオルメトプリムは 200 μg/mL に調製した。アセトニトリルで調製した 7 種及び富士フィルム和光純薬製の動物用医薬品混合標準液(マクロライド系抗生物質 7 種、各 20 μg/mL アセトニトリル溶液)を除いた 24 種については、アセトニトリル/水(2:3) に溶解して 1,000 μg/mL に調製した。

各標準原液及び富士フィルム和光純薬製の動物用医薬品混合標準液(マクロライド系抗生物質 7 種)を混合し、10 μg/mL の混合標準溶液を調製した。

2.7 マトリックス検量線

検量線作成用の標準液は、10 μg/mL 混合標準溶液をアセトニトリル/水(3:2)で希釈した 1 μg/mL 100 μL に、フィルターろ過したマトリックス試料粗抽出液 900 μL を加え、マトリックス添加標準溶液 100 ng/mL を調製した。このマトリックス添加標準液をマトリックス試料粗抽出液で段階希釈した 0.2、0.5、1、2、5、10 ng/mL の 6 点のうち、物質の感度に合わせて 0.2~5 若しくは 0.5~10 ng/mL のマトリックス検量線を用いて定量値を算出した。

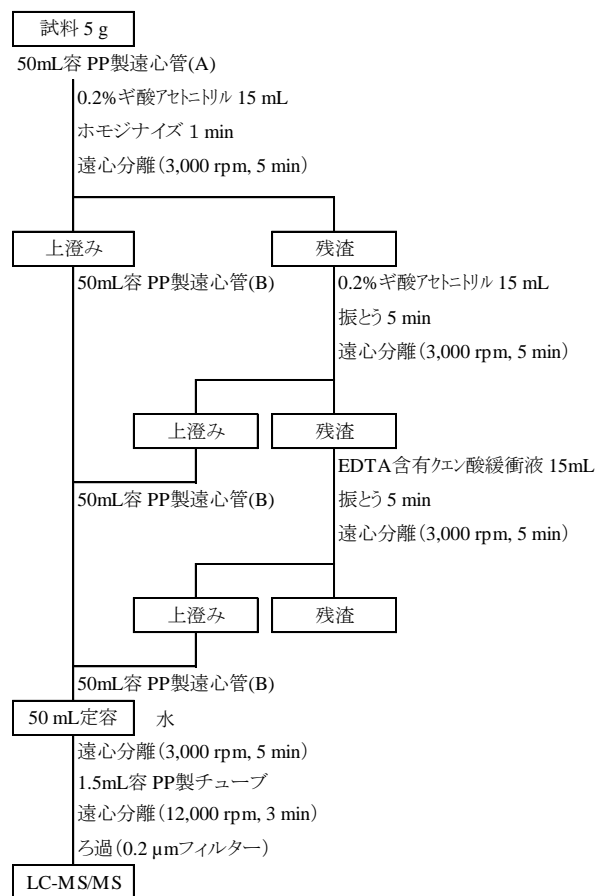


図 1 分析フロー

表 1 検討した化合物およびイオン化最適条件

No.	動物用医薬品名	保持時間 (分)	分子量	イオン化 モード	プレカーサー イオン (<i>m/z</i>)	プロダクト イオン (<i>m/z</i>)	Declustering potential (V)	Collision energy (V)	Collision cell exit potential (V)	
1	テトラサイクリン系 抗生物質	Oxytetracycline	7.9	460.4	posi	461.1	426.0	81	27	14
							443.1	81	17	14
						478.9	444.0	96	29	18
							462.1	96	23	16
3	Doxycycline	8.8	444.4	posi	445.0	428.0	55	25	12	
						154.2	55	40	12	
4	Tetracyclin	8.1	444.4	posi	445.1	410.0	81	27	16	
						427.2	81	17	14	
5	Ampicillin	7.6	349.4	posi	350.1	105.9	61	21	8	
						160.0	61	17	14	
6	Amoxicillin	6.7	365.4	posi	365.9	349.0	51	11	14	
						113.8	51	25	8	
7	Cloxacillin	10.7	435.9	nega	434.1	292.7	-60	-16	-19	
						389.9	-60	-10	-11	
8	Dicloxacillin	11.1	470.3	nega	468.0	326.7	-65	-14	-21	
						423.8	-65	-10	-25	
9	ペニシリン系 抗生物質	Nafcillin	10.8	414.5	posi	415.0	199.0	76	17	8
							171.1	76	21	12
10	Oxacillin	10.4	401.4	posi	401.9	243.0	61	17	10	
						160.0	61	17	8	
11	Mecillinam	8.1	325.1	posi	326.0	167.1	111	29	10	
						139.0	111	37	10	
12	Penicillin G	9.8	334.4	posi	335.0	160.0	61	13	8	
						176.0	61	15	8	
13	Penicillin V	10.1	350.4	posi	350.9	160.0	56	17	10	
						114.0	56	43	6	
14	Cefazolin	8.2	454.5	posi	455.0	323.0	50	15	12	
						156.0	50	23	12	
15	Cefoperazone	8.6	645.7	posi	646.0	530.1	51	15	22	
						143.1	51	33	10	
16	セファロスポリン系 抗生物質	Cefalonium	7.7	458.5	posi	458.8	337.0	31	13	12
							158.0	31	25	20
17	Cefapirin	7.2	423.5	posi	423.8	292.0	61	19	12	
						152.0	61	29	10	
18	Ceftiofur	9.2	523.6	posi	523.8	241.0	81	23	10	
						124.9	81	81	8	
19	Cefalexin	7.6	347.4	posi	348.0	157.9	61	11	8	
							174.1	61	19	8
20	Josamycin	10.3	828.0	posi	828.5	109.3	71	45	10	
						174.3	71	45	10	
21	Mirosamicin	9.1	727.9	posi	728.5	158.3	101	37	14	
						116.1	101	29	16	
22	Neospiramycin I	8.0	698.9	posi	350.3	160.0	71	17	12	
						174.1	71	21	10	
23	Spiramycin I	8.2	843.1	posi	422.3	174.2	51	27	6	
						101.0	51	19	10	
24	マクロライド系 抗生物質	Tilmicosin	8.7	869.1	posi	870.7	88.2	60	111	13
							174.0	60	61	13
25	Erythromycin A	9.3	733.9	posi	734.1	158.0	26	33	8	
						576.0	26	27	22	
26	Tylosin	9.5	916.1	posi	916.5	772.3	11	41	28	
						83.1	11	127	12	
27	Tiamulin	9.9	493.7	posi	494.3	192.0	51	27	14	
						118.9	51	59	10	
28	Leucomycin A5	9.9	771.9	posi	772.4	174.0	16	37	6	
						109.1	16	87	10	
29	サルファ剤	Sulfamonomethoxine	8.9	280.1	posi	281.0	155.9	60	24	13
							92.0	60	41	13
30	フェニコール系	Florfenicol	9.2	358.2	nega	355.9	184.8	-75	-24	-7
						118.8	-75	-42	-9	
31	フルオロキノロン系	Marbofloxacin	7.8	362.4	posi	363.1	72.1	60	53	13
							320.0	60	22	13
32	Enrofloxacin	8.1	359.4	posi	360.1	316.2	60	25	13	
						245.0	60	37	13	
33	Orbifloxacin	8.2	395.4	posi	396.0	352.0	60	25	13	
							295.0	60	34	13
34	薬酸拮抗剤	Ormetoprim	8.0	274.3	posi	275.1	123.0	60	32	13
							231.0	60	36	13
35	Metoclopramide	8.2	299.8	posi	300.0	227.1	86	25	10	
						184.0	86	11	10	
36	Chlorpheniramine	8.8	274.8	posi	275.0	230.1	51	21	10	
						167.0	51	49	12	
37	Diphenhydramine	9.4	255.4	posi	256.5	167.0	41	15	12	
						151.9	45	5	12	
38	Dexamethasone	10.1	392.5	posi	393.0	373.1	71	11	14	
							355.1	71	15	14

2.8 添加回収試験

均一化した牛筋肉及び牛腎臓試料に動物用医薬品の一律基準である 0.01ppm になるように、1 µg/mL 混合標準溶液 50 µL を添加し、30 分間静置したものを添加回収試験用試料とした。牛腎臓試料で回収率が低下する化合物が存在したため、比較のために、標準溶液添加と同時に静置せずに抽出を開始した試料についても併せて試験を実施した。

3 結果及び考察

3.1 LC カラムの検討

GL Sciences 製 InertSustainC18 カラム(2.1×100 mm、3 µm)及び GL Sciences 製 InertSustain AQ-C18 PEEK カラム(2.1×100 mm、3 µm)について、10 ng/mL の混合標準溶液を用いて比較検討した。

結果、C18 カラムを使用した場合と比較して、AQ-C18 PEEK カラムを使用した際の化合物のピーク面積及び高さは、全ての化合物で同等以上(アモキシシリンを除き 1.0 ~ 1.9 倍程度)であった。特に、アモキシシリンの増加率は高く、ピーク面積は 2.4 倍、高さは 4.8 倍であった。AQ-C18 PEEK カラムを使用した際の化合物の保持時間は、C18 カラムと比較して保持が良好であり、アモキシシリン以外の化合物では 0.2~0.6 分、アモキシシリンでは 2.1 分保持時間が長かった。保持時間が後ろへずれ、測定対象物質の溶出時の有機溶媒濃度が高くなることで、イオン化効率が上昇したことが原因と考えられた。

3.2 バイアルの検討

既報¹²⁾において、ガラス製バイアルよりも PP 製バイアルの方が 50 時間後においても安定したピーク面積で測定可能であるが、PP 製バイアルの場合であっても 10%アセトニトリル(アセトニトリル/水(1:9))溶液中のナフシリンのピーク面積が 45%まで減少する結果が確認された。本研究では希釈溶液が異なるため、同様の検証を実施した。

混合標準 10 ng/mL(アセトニトリル/水(3:2)溶液)を、Waters 製不活性処理済み透明ガラスバイアル及び GL Sciences 製 PP 製透明バイアル(各 n=3)に調製し、調製直後、10 及び 50 時間後(4°C冷蔵保存)に測定し、PP 製の調製直後のピーク面積を 100 として、比較した。

結果、ガラス製バイアルでは調製直後でもピーク面積が減少している化合物が 3 項目(ネオスピラマイシン I、スピラマイシン I、チルミコシン)存在した。一方、PP 製バイアルでは調製後 50 時間後でも、ナフシリンを含む全化合

物のピーク面積でほぼ減少はみられなかった(表 2)。よって、バイアルは PP 製を使用することとした。また、試験溶液の調製においても、ガラス器具ではなく PP 製器具を使用することとした。

表 2 化合物のバイアルごとの経時変化(n=3)
(希釈溶液:アセトニトリル/水(3:2)、調製直後(0H)、
10 時間後(10H)、50 時間後(50H)の比較)

No.	動物用医薬品名	調製直後のPP製バイアルの ピーク面積を100とした値				
		PP製 バイアル		不活性処理済み ガラスバイアル		
		10H	50H	0H	10H	50H
1	Oxytetracycline	98	105	102	101	99
2	Chlortetracycline	90	103	101	96	101
3	Doxycycline	102	96	106	96	97
4	Tetracyclin	93	99	100	95	92
5	Ampicillin	99	101	103	102	104
6	Amoxicillin	100	118	104	108	118
7	Cloxacillin	95	117	104	103	129
8	Dicloxacillin	99	107	100	94	86
9	Nafcillin	87	89	102	87	92
10	Oxacillin	94	91	99	97	92
11	Mecillinam	91	98	100	95	100
12	Penicillin G	93	93	101	94	94
13	Penicillin V	96	95	106	95	93
14	Cefazolin	100	100	102	100	97
15	Cefoperazone	95	107	109	102	109
16	Cefalonium	88	99	104	99	97
17	Cefapirin	100	103	103	104	104
18	Ceftiofur	93	96	101	96	97
19	Cefalexin	92	96	98	93	94
20	Josamycin	89	93	97	90	93
21	Mirosamycin	88	97	97	89	98
22	Neospiramycin I	88	101	23	13	19
23	Spiramycin I	90	103	26	13	18
24	Tilmicosin	103	110	0	0	0
25	Erythromycin A	84	101	102	89	100
26	Tylosin	85	89	100	83	91
27	Tiamulin	90	100	99	93	98
28	Leucomycin A5	87	92	96	89	93
29	Sulfamonomethoxine	91	96	102	94	99
30	Florfenicol	93	91	98	102	82
31	Marbofloxacin	96	104	90	81	84
32	Enrofloxacin	95	105	93	86	85
33	Orbifloxacin	91	96	96	91	94
34	Ormetoprim	89	93	100	91	94
35	Metoclopramide	85	92	100	89	93
36	Chlorpheniramine	86	91	95	84	86
37	Diphenhydramine	89	95	98	88	95
38	Dexamethasone	90	88	101	89	105

3.3 標準品の保存性

調製から半年後(褐色ガラス製保存容器、4°C冷蔵保

存)の混合標準溶液(各 10 µg/mL)と単品の標準原液を、それぞれ 10 ng/mL に希釈し、ピーク面積を比較し、保存性を確認した。

混合標準中では、セファロスポリン系抗生物質が劣化する傾向にあった。単品の標準原液については、ペニシリン系抗生物質のナフシリン、ペニシリン G(ベンジルペニシリン)、ペニシリン V(フェノキシメチルペニシリン)、セファロスポリン系抗生物質のセファピリン、セフロキシムの各 1,000 µg/mL アセトニトリル/水(2:3)溶液が大幅な減衰傾向にあった。これら 5 種の標準原液を用時調製し、測定直前に混合標準液を調製することとした。今後、標準原液や混合標準溶液の保存瓶についても、ガラス製と PP 製を比較検討する必要がある。

3.4 添加回収試験

動物用医薬品 38 項目に対して、牛筋肉及び牛腎臓を用いた添加回収試験の結果(n=5)を表 3 に示す。牛腎臓の 2 項目を除き、ガイドラインの示す目標値である真度(回収率)70~120%、併行精度 25%未満の範囲に入り、概ね良好な結果であった。牛筋肉の回収率は70~98%、併行精度は 0.8~9.7%、牛腎臓では回収率が低い 2 項目を除き 72~96%及び 1.4~9.9%であり、本法は、スクリーニング検査として十分使用できる試験法であった。

添加回収率が低い物質は、牛腎臓でのセファピリン、セフチオフルの 2 項目であった。回収率低下の原因を探るため、標準添加と同時に抽出操作を開始する添加回収試験を実施したところ、セファピリンは回収率 97%、併行精度 6.1%、セフチオフルは回収率 97%、併行精度 6.1%と、良好な結果であった。つまり、既報^{10,21-23)}どおり、セファピリンは酵素反応の影響で脱アセチル化セファピリンに、セフチオフルは、デスフロイルセフチオフルに代謝され、回収率が低下したと考えられる。今後、代謝物を含めた定量や、酵素反応が進まない条件(温度・pH)等を検討する必要がある。

4 まとめ

牛筋肉及び牛腎臓中の動物用医薬品 38 項目について、LC-MS/MS によるスクリーニング分析法を検討した。LC カラムに AQ-C18 PEEK カラムを使用することで、特にアモキシシリンについて感度良く測定することができた。また、混合標準溶液をアセトニトリル/水(3:2)で希釈した場合でも PP 製バイアルが有用であり、50 時間後でも安定した測定が可能であった。添加回収試験を行った結果、牛

腎臓の 2 項目(セファピリン、セフチオフル)を除き、ガイドラインの真度及び併行精度の目標値を満たした。

5 今後の展望

今後、標準原液や混合標準溶液の保存瓶の検討、代謝物を含めた定量、酵素反応が進まない条件の探索、今回対象から除いたアミノグリコシド系抗生物質の一斉分析を検討する予定である。

表 3 添加回収試験結果(n=5)

No	動物用医薬品名	牛筋肉	牛腎臓
1	Oxytetracycline	74(7.7)	84(9.7)
2	Chlortetracycline	73(2.9)	77(6.8)
3	Doxycycline	73(4.1)	76(5.0)
4	Tetracyclin	73(8.6)	72(2.6)
5	Ampicillin	73(4.8)	86(4.4)
6	Amoxicillin	82(7.1)	93(5.7)
7	Cloxacillin	78(8.6)	94(7.7)
8	Dicloxacillin	71(5.6)	85(9.9)
9	Nafcillin	81(0.8)	87(1.4)
10	Oxacillin	91(1.9)	89(2.7)
11	Mecillinam	82(6.8)	92(6.4)
12	Penicillin G	87(5.7)	92(2.5)
13	Penicillin V	83(4.8)	85(2.2)
14	Cefazolin	83(9.0)	78(9.8)
15	Cefoperazone	85(9.7)	81(8.4)
16	Cefalonium	82(4.6)	94(8.8)
17	Cefapirin	75(8.4)	55(46)
18	Ceftiofur	70(4.6)	58(27)
19	Cefalexin	74(8.7)	91(6.1)
20	Josamycin	90(6.9)	90(6.4)
21	Mirosamicin	94(5.4)	85(4.7)
22	Neospiramycin I	83(5.3)	80(7.8)
23	Spiramycin I	84(5.1)	81(6.5)
24	Tilmicosin	96(5.5)	94(9.1)
25	Erythromycin A	93(5.5)	81(1.5)
26	Tylosin	87(4.7)	85(3.1)
27	Tiamulin	93(3.0)	94(4.5)
28	Leucomycin A5	92(4.6)	85(4.5)
29	Sulfamonomethoxine	91(8.5)	95(7.3)
30	Florfenicol	88(7.4)	93(6.7)
31	Marbofloxacin	84(6.4)	95(3.0)
32	Enrofloxacin	90(7.5)	89(3.4)
33	Orbifloxacin	85(5.9)	96(8.3)
34	Ormetoprim	90(2.2)	90(4.9)
35	Metoclopramide	94(3.2)	91(3.4)
36	Chlorpheniramine	96(5.0)	81(3.4)
37	Diphenhydramine	98(2.3)	91(4.0)
38	Dexamethasone	93(4.3)	89(8.1)

()内の数字は併行精度(%)

参考文献

- 1) 平成 17 年 1 月 24 日付け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 0124001 号(2005).
- 2) 平成 6 年 7 月 1 日付け厚生省生活衛生局乳肉衛生課長通知「平成 6 年度畜水産食品の残留有害物質のモニタリング検査の実施について」衛乳第 107 号(1994).
- 3) 平成 22 年 12 月 24 日付け厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知「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」食安発第 1224 第 1 号(2010).
- 4) 畑野和広:LC/MS/MS による動物組織中のペニシリン系抗生物質の同時定量,食品衛生学雑誌,44,1-6(2003).
- 5) 服部涼子他:鶏肉及び牛肉中のβラクタム系抗生物質の簡便な一斉分析法の検討,兵庫県立健康生活科学研究所健康科学研究センター研究報告,7, 10-16(2016).
- 6) Asakawa D *et al.* Sensitivity enhancement of aminoglycosides in hydrophilic interaction liquid chromatography with tandem mass spectrometry by post-column addition of trace sodium acetate in methanol, Food Additives & Contaminants: Part A, 35, 1116-1126(2018).
- 7) 灘波順子他:LC-MS/MS を用いた牛の筋肉及び腎臓中のアミノグリコシド系抗生物質に関する一斉分析法の検討,岡山県環境保健センター年報,44, 71-77(2020).
- 8) 前原香純他:エピマーを含むテトラサイクリン系抗生物質の分析法の検討,鹿児島県環境保健センター所報,21, 84-89(2020).
- 9) Goto T *et al.* High-throughput analysis of tetracycline and penicillin antibiotics in animal tissues using electrospray tandem mass spectrometry with selected reaction monitoring transition,Journal of Chromatography A, 1100, 193-199 (2005).
- 10) 河原さおり他:LC/MS/MS を用いた豚のβ-ラクタム及びテトラサイクリン系抗生物質の同時分析,平成 20 年度熊本市環境総合研究所報,16, 43-48(2009).
- 11) 村川弘他:LC/MS/MS を用いた畜水産食品中の動物用医薬品迅速分析法の検討(第 2 報),平成 21 年度熊本県保健環境科学研究所報,39, 21-25 (2009).
- 12) 久保記久子他:LC-MS/MS による畜水産物中の動物用医薬品等の一斉分析(III),平成 21 年度福岡市保健環境研究所報,35, 110-115(2009).
- 13) 上村聖子他:LC/MS/MS による魚介類・食肉・鶏卵中残留動物用医薬品スクリーニング分析法の検討,平成 22 年度 大阪市立環境科学研究所報告 調査・研究年報,73, 39-44(2011).
- 14) 松本理世他:LC/MS/MS を用いた畜水産物中動物用医薬品等の迅速一斉分析法の検討(第 3 報),熊本県保健環境科学研究所報,44, 28-37(2014).
- 15) Kanda M *et al.* Multi-residue determination of polar veterinary drugs in livestock and fishery products by liquid chromatography/tandem mass spectrometry, Journal of AOAC international, 98, 230-247(2015).
- 16) 藤井良昭他:高速液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析法による畜肉中のテトラサイクリン系及びβ-ラクタム系抗生物質の一斉分析,分析化学,66, 369-374(2017).
- 17) 関村光太郎他:豚筋肉中残留動物用抗菌剤の微生物学的スクリーニングおよびLC-MS/MS 同時測定法の開発,食品衛生学雑誌,61, 109-118(2020).
- 18) 山本直美他:LC-MS/MS による動物用医薬品等一斉試験法—その 1—精製方法の比較検討について—,令和元年度 堺市衛生研究所年報,37, 67-71(2021).
- 19) Svetlana G *et al.* Study on the formation of an amoxicillin adduct with methanol using electrospray ion trap tandem mass spectrometry, Rapid Commun. Mass Spectrom., 22, 67-74 (2008).
- 20) 西村一彦他:ペニシリン系抗生物質のメタノール付加体形成に関する研究,北海道衛生研究所所報,64, 17-21 (2014).
- 21) Fagerquist K C *et al.* Confirmatory analysis of β-lactam antibiotics in kidney tissue by liquid chromatography/electrospray ionization selective reaction monitoring ion trap tandem mass spectrometry, Rapid Commun. Mass Spectrom., 17, 660-671(2003).
- 22) Fagerquist K C *et al.* Confirmatory and quantitative analysis of beta-lactam antibiotics in bovine kidney tissue by dispersive solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry, Anal. Chem., 77, 1473-1482(2005).
- 23) Feng S *et al.* Determination of Cefotiofur Metabolite Desfuroylcefotiofur Cysteine Disulfide in Bovine Tissues Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry as a Surrogate Marker Residue for Cefotiofur, J. Agric. Food Chem., 62, 5011-5019 (2014).

