
QuEChERS法を用いた 残留動物用医薬品一斉分析法の検討

生活協同組合連合会コープネット事業連合

○小林 陽子、斎藤 依子

株式会社アイスティサイエンス

松尾 俊介

2016年10月27日

■ 検討した動物用医薬品
カルバドックス等136成分

■ 対象食品

牛肉、豚肉、鶏肉、ブリ、エビ、イカ、卵、チーズ、ウナギ、牛乳、ハチミツ

■ 添加濃度

0.01ppm (n=3)

■ 分析機器条件

使用機器	移動相	カラム	注入量	イオン化モード
1	①0.1%ギ酸含有10mM酢酸アンモニウム ②メタノール	Atlantis T3 (2.1×50mm, 3µm:Waters社製)	10µl	ESI (Positive/ Negative)
2	①100mM酢酸アンモニウム ②メタノール	Atlantis T3 (2.1×50mm, 3µm:Waters社製)	5µl	ESI (Positive/ Negative)

従来法

試料10g

水2ml+アセトニトリル10ml

ホモジナイズ1min

塩化ナトリウム1g
クエン酸3ナトリウム2水和物1g
クエン酸水素2ナトリウム1.5水和物0.5g
無水硫酸マグネシウム4g

振とう1min

遠心分離(3,500rpm × 5min)

本検討法

試料5g

水2.5ml

ホモジナイズ1min

0.5%ギ酸含有アセトニトリル15ml
ホモジナイズ1min

塩化ナトリウム1g
クエン酸3ナトリウム2水和物1g
クエン酸水素2ナトリウム1.5水和物0.5g
無水硫酸マグネシウム4g

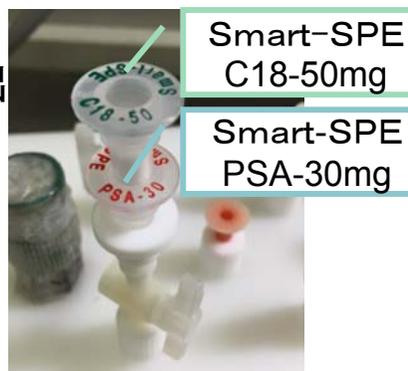
振とう1min

遠心分離(3,500rpm × 5min)

従来法

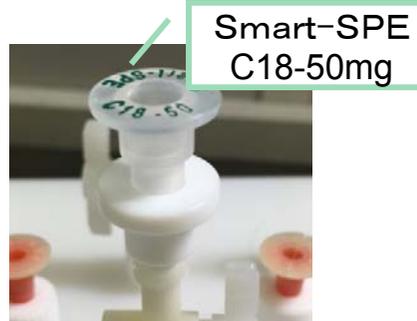
精製①(C18-50mg+PSA-30mg)

アセトン2ml、アセトニトリル2mlで洗浄
試料液1ml通液
メタノール1mlで溶出
水0.5ml加える



精製②(C18-50mg)

アセトン2ml、80%メタノール2mlで洗浄
試料液1ml通液
80%メタノール1mlで溶出
水で4mlに定容



試験液

LC/MS/MS

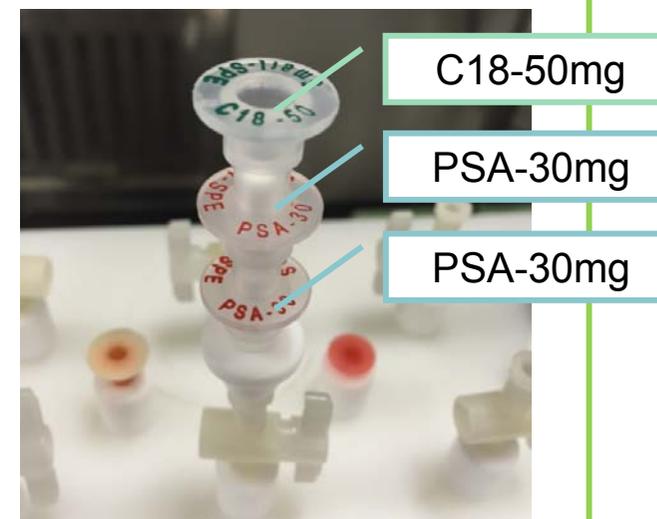
本検討法

精製(C18-50mg+PSA-30mg+PSA-30mg)

アセトン2ml、アセトニトリル2mlで洗浄
試料液1ml通液
0.4%ギ酸含有メタノール1mlで溶出
水で2mlに定容

試験液

LC/MS/MS



136成分の測定条件

P/N	成分名	Trace
P	Carbadox	263.15 > 231
P	CarbadoxMET	175 > 128.7
N	Cloramphenicol	321.1 > 151.75
P	Dimetridazole	141.85 > 95.7
P	Furazolidone	226.1 > 121.9
P	MalachiteGreen1	329.3 > 313.2
P	Metronidazol	171.9 > 81.7
P	Ronidazole	201 > 139.8
N	2Acetylamino5nitrothia	186 > 138.8
P	3amino2oxazolidon	102.6 > 102.6
P	AlbendazoleMET	240.1 > 132.8
P	ThiabendazoleMET	218.05 > 191
P	Emamectin	886.8 > 158
P	Trenbolone	271.3 > 253.25
P	Trenbolone	271.3 > 253.25
P	Azaperone	328.25 > 122.8
P	Albendazole	266.2 > 234.1
P	Allethrin	303.3 > 134.9
P	Ampicillin	350.2 > 105.7
P	Amprolium	243.2 > 149.9

※P/N→P:Positive N:Negative

P/N	成分名	Trace
P	Ethopabate	238.15 > 206
P	EmamectinBenzoate	886.8 > 158
P	ErythromycinDihydrate	734.7 > 157.95
P	IsometamidiumChlorid	460.2 > 313
P	Enrofloxacin	360.35 > 316.15
P	Oxacillin	402.3 > 160
P	Oxyclozanide	401.9 > 224.9
P	Oxibendazole	250.2 > 218.1
P	OxolinicAcid	262.15 > 244
P	Oxfendazole	316.2 > 158.9
P	OxfendazoleSN	332.2 > 300.1
P	Ofloxacin	362 > 318
P	Olaquinox	264.2 > 143
P	Orbifloxacin	396.2 > 352.2
P	Ormethoprim	275.25 > 122.75
P	Oleandomycin	772.7 > 157.95
P	XylazineHydrochloride	221.1 > 89.7
P	Kitasamycin	772.6 > 174.1
P	CrystalVaiiolet	372.5 > 356.3
P	CrystalVaiiolet	372.5 > 356.3

移動相:0.1%ギ酸添加

136成分の測定条件

P/N	成分名	Trace
P	Clenbuterol	277.3 > 202.95
N	Closantel	661 > 661
P	Clopidol	192 > 100.7
N	Clorsulon	378 > 342
P	Sarafloxacin	386 > 368
P	Diaveridine	261.2 > 245.15
N	Diclazuril	405.1 > 334.1
P	Dicyclanil	191 > 191
P	Dibutylsuccinate	231.2 > 100.7
P	DifurazonMET	361.25 > 222
P	Difloxacin Hydroch	400 > 382
P	Spiramycin	422 > 174
P	Sulfaquinoxaline	301.3 > 155.8
P	SulfaguanidineMonorat	215.05 > 155.8
P	Sulfachlorpyridazine	285.15 > 156
P	Sulfadiazine	251.1 > 155.8
P	Sulfadimidine	279.2 > 185.9
P	Sulfadimethoxine	311.2 > 155.8
P	Sulfacetamido	215.05 > 155.8
P	Sulfathiazoleox	256.1 > 155.65

※P/N→P:Positive N:Negative

P/N	成分名	Trace
P	Sulfadoxine	311.2 > 155.6
N	Sulfanitran	334.2 > 334.1
P	Sulfanilamide	172.8 > 91.6
P	Sulfapyridine	250.1 > 156.1
P	Sulfabenzamide	277.15 > 155.9
P	Sulfamethizol	271.25 > 155.8
P	Sulfamethoxazole	254.15 > 91.5
P	Sulfamethoxyipyridazine	281.2 > 155.6
P	Sulfamerazine	265.15 > 156
P	Sulfamonomethoxine	281.2 > 155.6
P	Sulfisoxazole	268.15 > 155.8
P	Sulfisomidine	279.2 > 123.9
N	Zeranol	321.3 > 277.1
P	Tylosin	916.8 > 174
P	Danofloxacin	358 > 340
P	Thiabendazole	202.1 > 174.85
P	TiamulinFumarate	494.6 > 192
N	Thiamphenicol	354.15 > 185.05
P	Tilmicosin	869.8 > 174
P	Dexamethason	393.3 > 355.2

移動相:0.1%ギ酸添加

136成分の測定条件

P/N	成分名	Trace
P	Decoquinate	418.55 > 372.4
P	Temephos	467.2 > 124.75
N	Triclabendazole	359.1 > 359.1
P	Tripelennamine Hydrochlor	256.2 > 211.1
P	Trichlorfon	256.9 > 108.7
P	Trimethoprim	291.25 > 123.1
P	Tolfenamic acid	262.1 > 209.05
N	Nicarbazin	301.2 > 136.8
N	Nafcillin	415.4 > 199
P	Nalidixic acid	233.15 > 215.1
N	Nitroxynil	289 > 289
P	Neospiramycin	350.6 > 173.9
P	Novobiocin	613.3 > 189.1
P	Norfloxacin	320 > 302
N	Bithionol	353.2 > 160.9
P	Hydrocortisone	363.5 > 120.85
P	PyrantelPamoate	207.1 > 149.
P	Pyrimethamine	249.1 > 176.8
P	Piromidic acid	289.2 > 243.1
P	Famphur	326.1 > 92.65
N	Phenoxymethylpenicilin	383.25 > 159.85

P/N	成分名	Trace
P	Fenobucarb	208.1 > 95
P	Fenbendazole	300.2 > 158.8
P	Fluazuron	506.3 > 157.9
P	Flubendazole	314.2 > 282.1
P	Flumequine	262.15 > 201.95
P	Prednisolone	361.3 > 343.25
P	Propetamphos	282.2 > 137.8
N	Florfenicol	356.3 > 184.9
P	Marbofloxacin	363 > 345
P	Metoclopramide	300.2 > 227
P	Mebendazol	296.25 > 104.85
P	Meloxicam	352.1 > 114.7
P	Monensin	693.7 > 675.5
P	Morantel citrate	221.15 > 150
P	Rifaximin	785.9 > 753.8
P	Lincomycin	407.5 > 125.9
P	Levamisole Hydrochloride	205.1 > 177.9
P	LeucomalachiteGreen	331.5 > 239.15
P	Robenidine	334.15 > 154.8
P	MelengestrolAcetate	397.4 > 337.35
P	Ractpamin	302 > 107

※P/N→P:Positive N:Negative

移動相:0.1%ギ酸添加

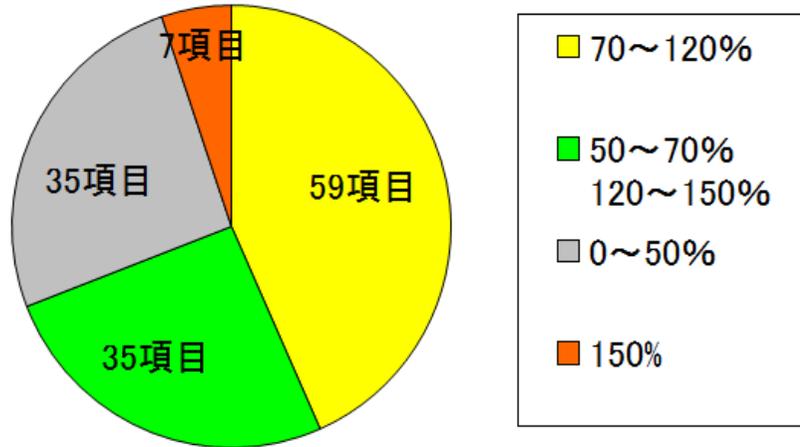
添加回収結果

食品名	検査法	回収率:70%~120%	回収率:50%~150%
牛肉	従来法	59	94
	本検討法	80	109
鶏肉	従来法	65	89
	本検討法	93	109
ブリ	従来法	36	69
	本検討法	87	109
卵	従来法	54	85
	本検討法	93	101
ウナギ	従来法	47	83
	本検討法	88	103
ハチミツ	従来法	59	81
	本検討法	102	112

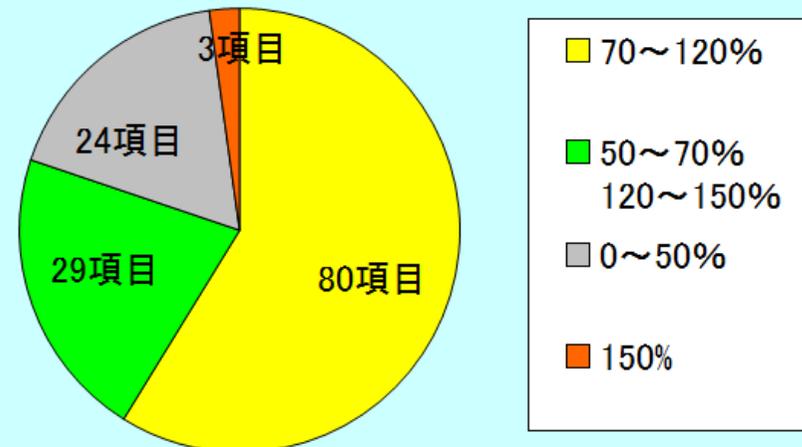
変動係数: 全て20%以内でした

添加回収結果（従来法と本検討法のグラフ比較）

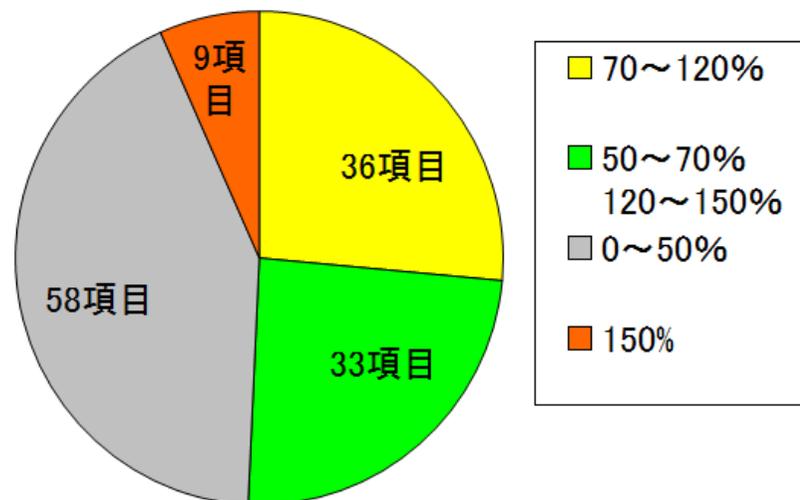
従来法：牛肉の回収率別グラフ(項目数)



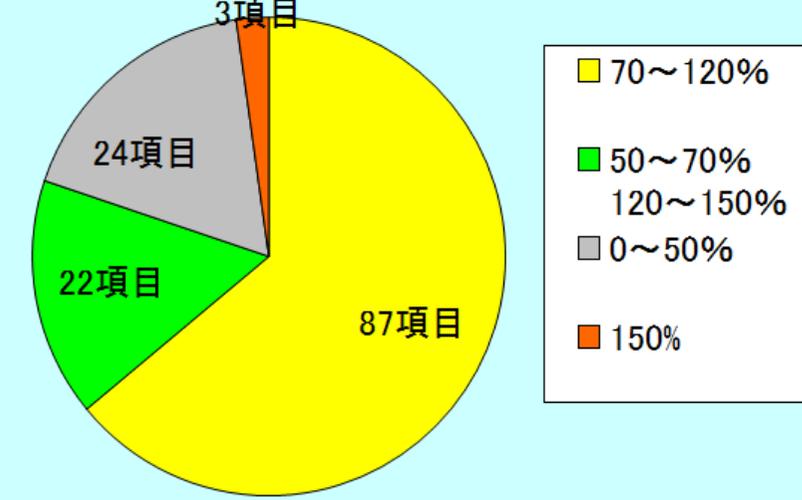
本検討法：牛肉の回収率別グラフ(項目数)



従来法：魚(ブリ)の回収率別グラフ(項目数)



本検討法：魚(ブリ)の回収率別グラフ(項目数)



試料5g

| 水2.5ml

ホモジナイズ1min

| 0.5%ギ酸含有アセトニトリル15ml

ホモジナイズ1min

塩化ナトリウム1g

クエン酸3ナトリウム2水和物1g

クエン酸水素2ナトリウム1.5水和物0.5g

無水硫酸マグネシウム4g

振とう1min

遠心分離(3,500rpm × 5min)

精製(C18-50mg+PSA-30mg+PSA-30mg)

アセトン2ml、アセトニトリル2mlで洗浄

試料液1ml通液

0.4%ギ酸含有メタノール1mlで溶出

水で2mlに定容

試験液

LC/MS/MS



QuEChERS法に固相抽出法を用いたSTQ法について、以下の2点の検討を行った。

- ① 抽出時のホモジナイズの方法
- ② 精製カラムの追加による精製効果

検討の結果、

抽出法を2段階で行うこと、精製カラムにPSA-30mgを追加することで、回収率の向上が見られ、

牛肉、豚肉、鶏肉、ブリ、エビ、イカ、卵、チーズ、ウナギ、牛乳、ハチミツにおいて、動物用医薬品136成分のうち、約105成分について50-150%の回収率が得られた。

これにより、迅速に結果を出すためのスクリーニング検査法としては、本検討法は有効な検査法であると考えられた。

今後は、測定条件を検討し、1種類の移動相により測定できる方法を検討していきたい。