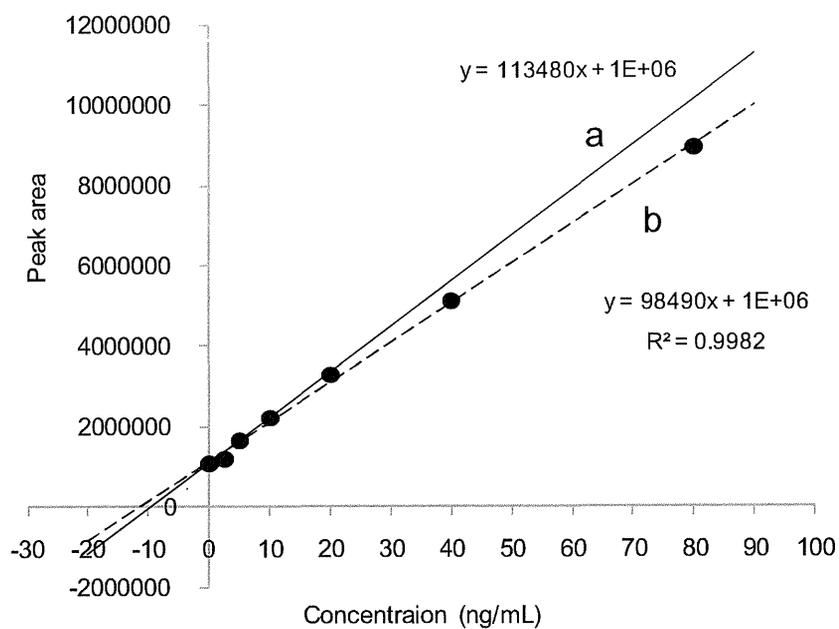


i) Fenitrothion



j) Isoxathion

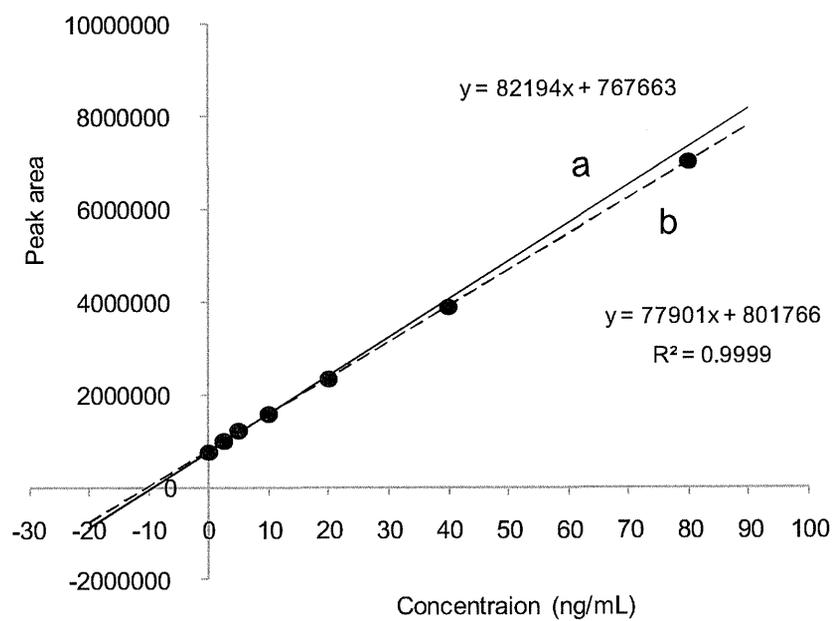
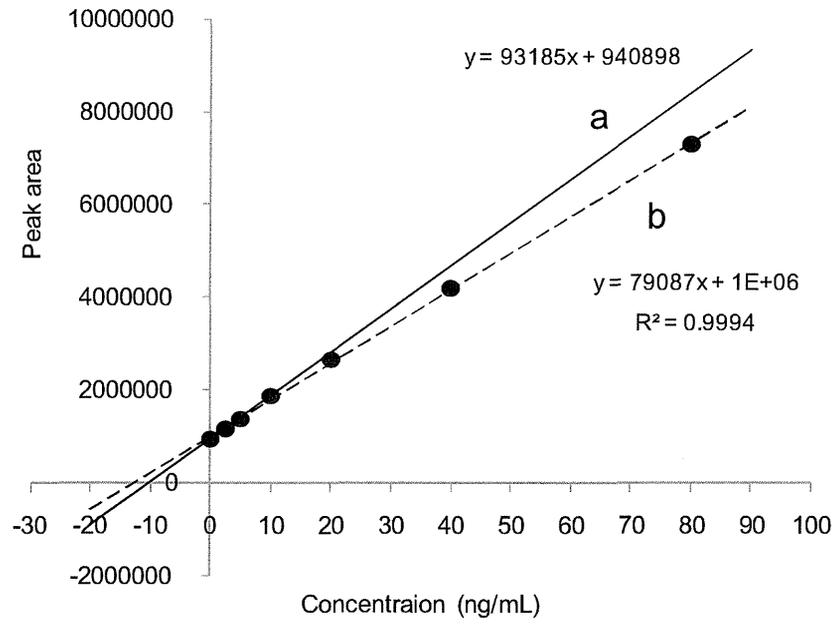


図 3 (つづき)

k) Permethrin



l) Phosmet

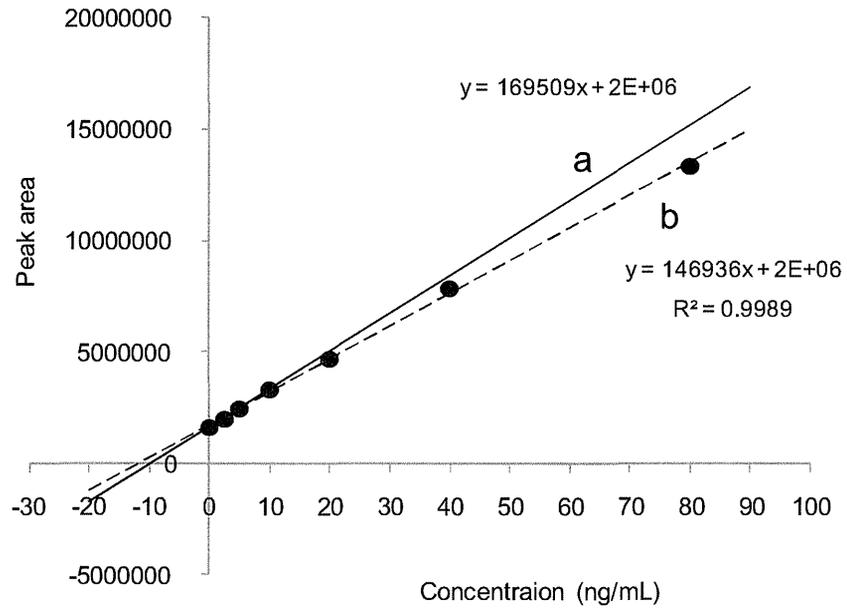
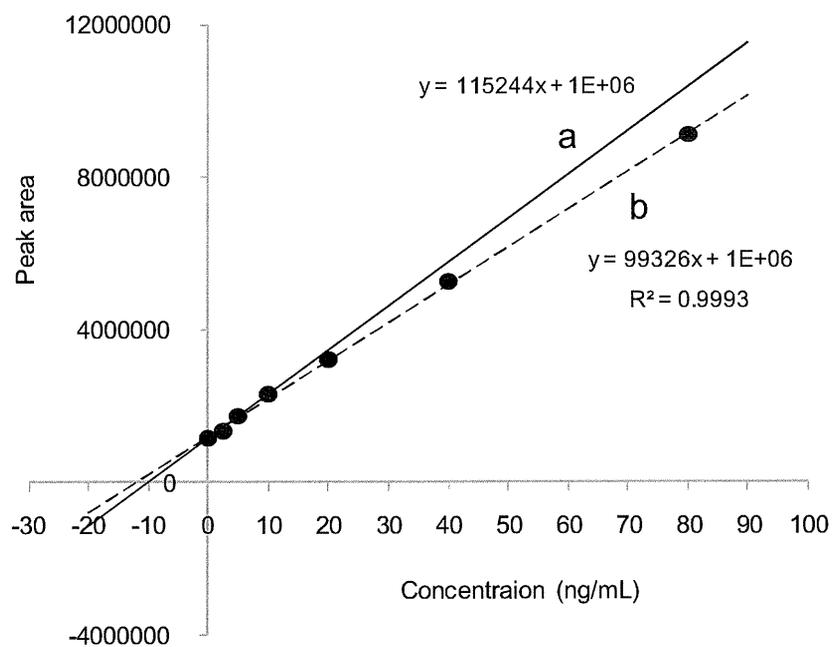


図 3 (つづき)

m) Pyributicarb



n) Tetraconazole

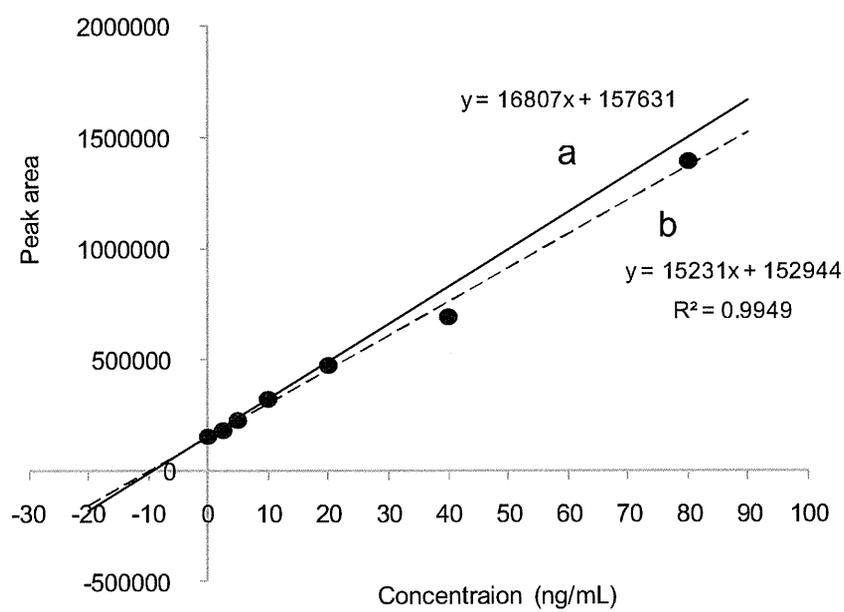


図3 (つづき)

o) Thiobencarb

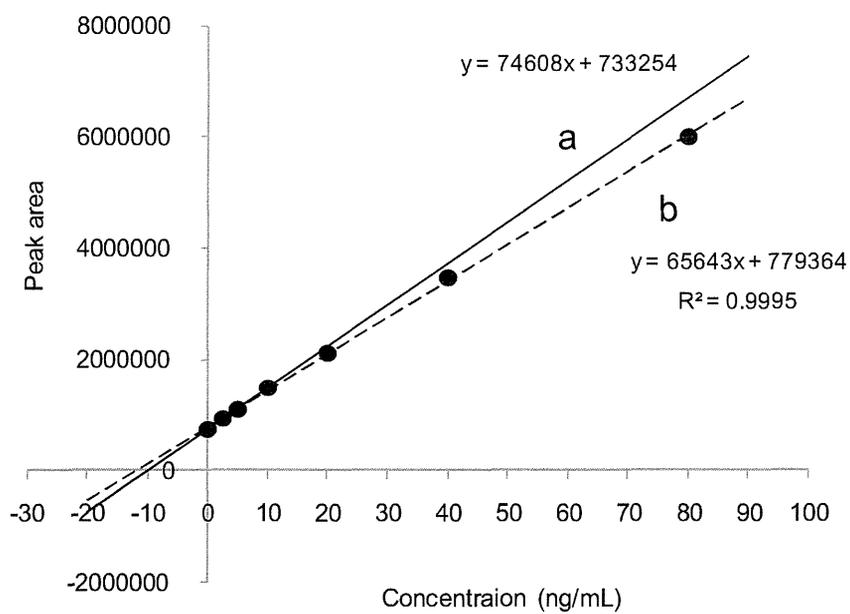


図3 (つづき)

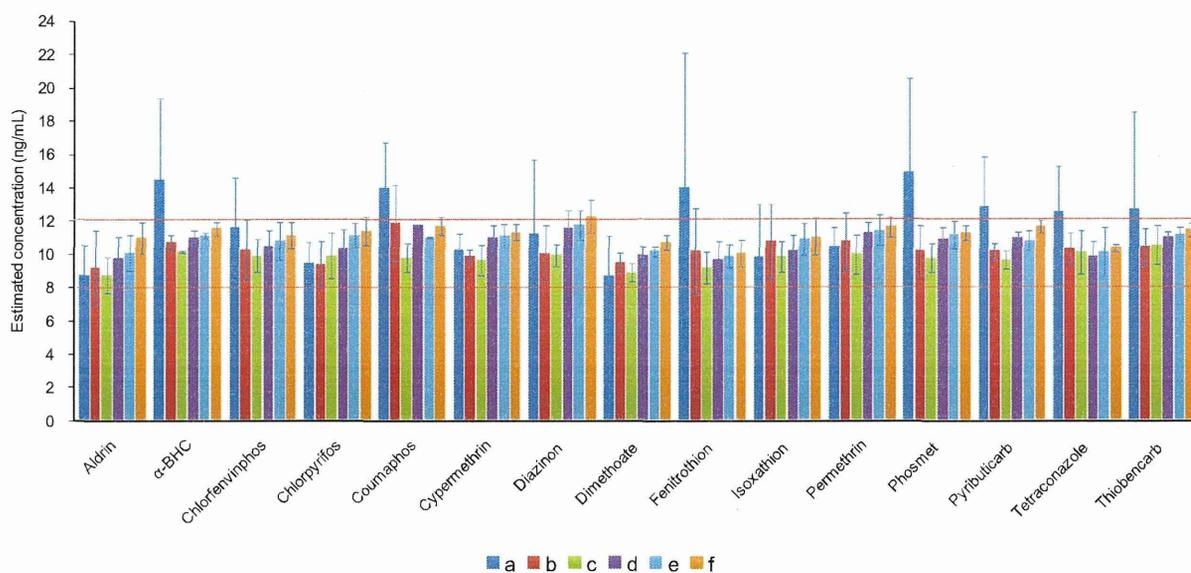


図4 1点標準添加法(茶マトリックス添加標準溶液、初期濃度 10 ng/mL)による推定濃度
 添加濃度: a) 初期濃度の 1/4 倍 (2.5 ng/mL)、b) 初期濃度の 1/2 倍 (5 ng/mL)、c) 初期濃度の 1 倍 (10 ng/mL)、d) 初期濃度の 2 倍 (20 ng/mL)、e) 初期濃度の 4 倍 (40 ng/mL)、f) 初期濃度の 8 倍 (80 ng/mL)

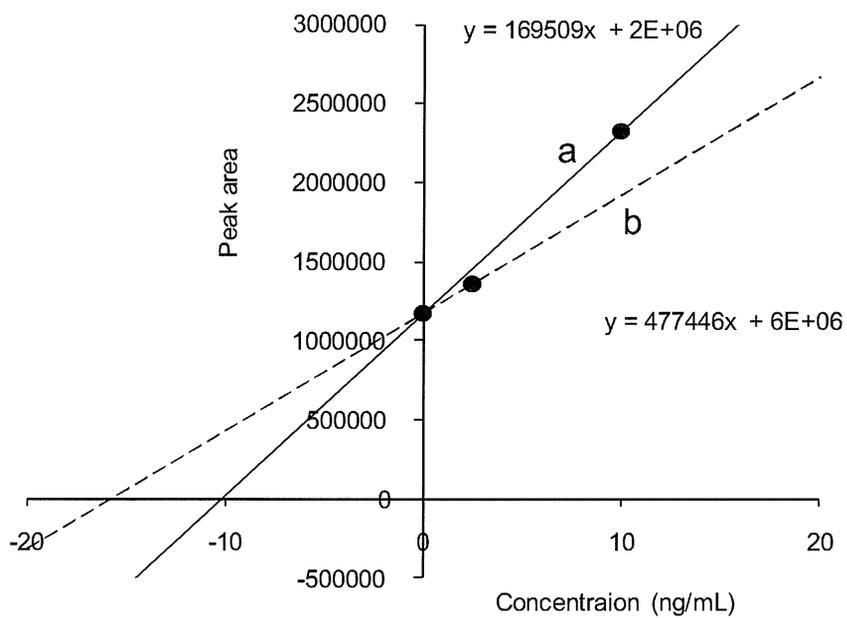


図5 1点標準添加法での pyributicarb の関係線(茶、初期濃度 10 ng/mL)
 添加濃度 a) 10 ng/mL、b) 2.5 ng/mL

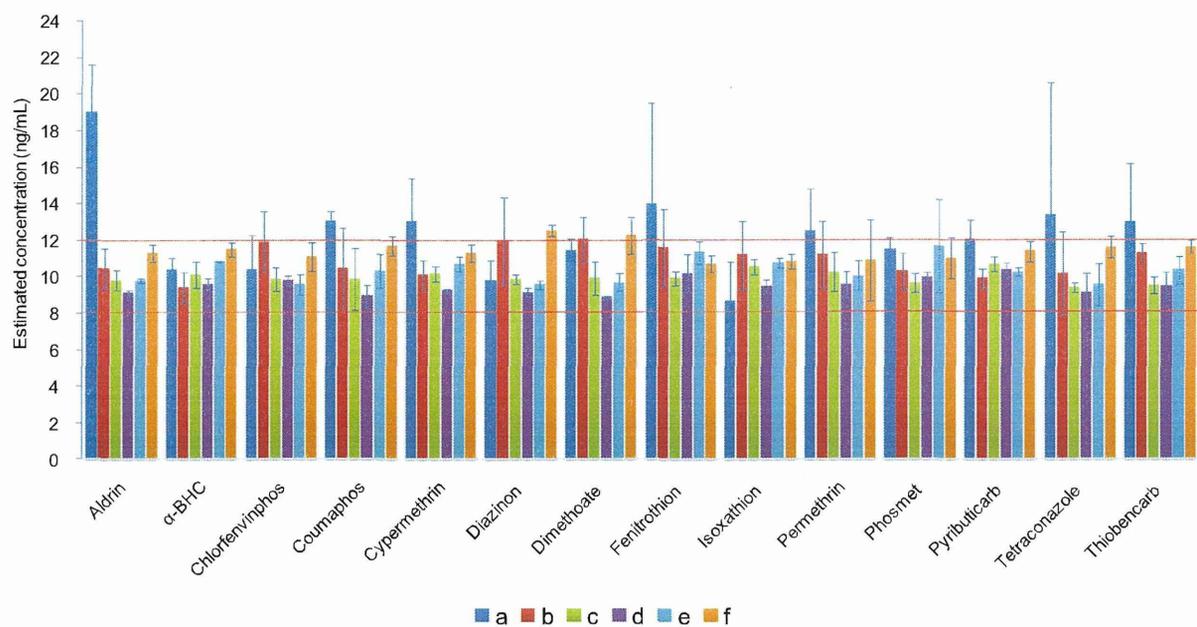


図 6 1 点標準添加法(オレンジマトリックス添加標準溶液、初期濃度 10 ng/mL)による推定濃度
 添加濃度: a) 初期濃度の 1/4 倍(2.5 ng/mL)、b) 初期濃度の 1/2 倍(5 ng/mL)、c) 初期濃度の 1 倍(10 ng/mL)、d) 初期濃度の 2 倍(20 ng/mL)、e) 初期濃度の 4 倍(40 ng/mL)、f) 初期濃度の 8 倍(80 ng/mL)

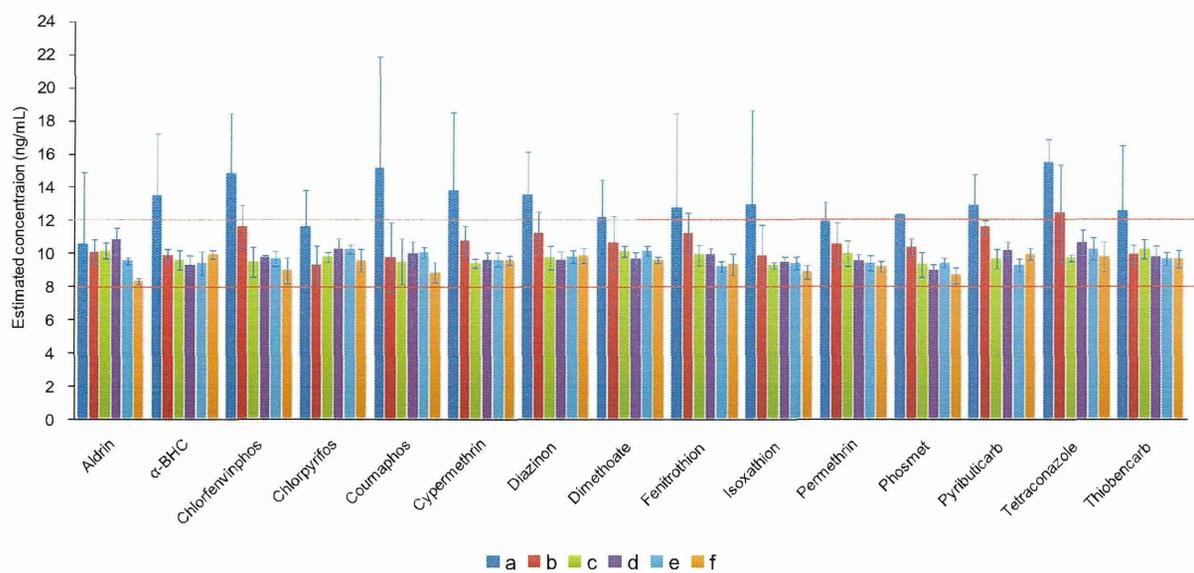


図7 1点標準添加法(玄米マトリックス添加標準溶液、初期濃度 10 ng/mL)による推定濃度
 添加濃度: a) 初期濃度の 1/4 倍 (2.5 ng/mL)、b) 初期濃度の 1/2 倍 (5 ng/mL)、c) 初期濃度の 1 倍 (10 ng/mL)、d) 初期濃度の 2 倍 (20 ng/mL)、e) 初期濃度の 4 倍 (40 ng/mL)、f) 初期濃度の 8 倍 (80 ng/mL)

Ⅱ. 分担研究報告

2. 効率的・網羅的な分析法の開発

研究分担者 志田(齊籐)静夏

食品中残留農薬等の安全性確保に関する研究

2. 効率的・網羅的な分析法の開発

研究分担者 志田(齊藤)静夏 国立医薬品食品衛生研究所 食品部主任研究官

研究要旨

LC-TOF-MS 及び GC-TOF-MS を用いた残留農薬等一斉分析について検討を行った。LC-TOF-MS を用いた残留動物用医薬品一斉分析の検討では、82 化合物について、牛肉及び牛乳を対象に添加濃度 0.1 及び 0.01 ppm で 1 日 2 併行、5 日間の妥当性評価試験を行った。溶媒標準溶液を用いた絶対検量線法で定量した結果、添加濃度 0.1 ppm では牛肉 71 化合物(検討化合物の 87%)、牛乳 72 化合物(検討化合物の 88%)で妥当性評価ガイドラインの真度及び精度の目標値を満たした。添加濃度 0.01 ppm では、測定感度が得られなかった 4 化合物及び牛肉試料中に含有が認められた 2 化合物を除いた牛肉 76 化合物、牛乳 78 化合物を評価対象化合物とした。このうち、牛肉 54 化合物(検討化合物の 71%)、牛乳 65 化合物(検討化合物の 83%)で真度・精度の目標値を満たした。マトリックス添加標準溶液を用いた絶対検量線法で定量した場合は、添加濃度 0.1 及び 0.01 ppm ともに検討化合物の 9 割以上で真度・精度の目標値を満たした。検討した全ての化合物において選択性に問題はなかった。これらの結果から、一部の化合物においてイオン化阻害が見られたものの、検討化合物の大部分で LC-TOF-MS 法を残留動物用医薬品一斉分析へ適用可能であることが示された。GC-TOF-MS を用いた残留農薬分析の検討では、オレンジのマトリックス標準溶液を用いて、184 農薬について選択性、ピーク面積の再現性、検出限界等について評価した。抽出質量幅を 50 mDa に設定した場合、試料中濃度 0.005 ppm 相当(一律基準の 1/2 濃度、試験溶液の濃縮倍率 試料 2 g 相当/mL)において、2 農薬(bifenox 及び cyfluthrin)で測定感度が不足したものの、その他の 182 農薬(検討農薬の約 99%)では良好な結果が得られた。また、定量を妨害するピークは観測されず、選択性に問題はなかった。今後、性能評価試験を行い、妥当性が示されれば、GC-TOF-MS 法を定量分析に十分用いることが可能であると考えられた。

A. 研究目的

食品に残留する農薬等(農薬、動物用医薬品及び飼料添加物)に関するポジティブリスト制度の導入に伴い、現在約 800 品目の農薬等に基準値が設定されている。食品の安全性確保のためには、膨大な数の残留農薬等を分析・監視する必要があり、効率的且つ精確に定量可能な分析法の確立が望まれている。

残留農薬等の分析では、高感度且つ高選択的な測定が可能な LC-MS/MS 等の四重極型質量分析計が汎用されているが、化合物毎に測定イオン

や MS パラメーターを設定する必要があり、データポイント数の制約により同時に測定可能な化合物数に制限がある等の問題点がある。これに対して、飛行時間型質量分析計(TOF-MS)は、化合物毎の条件設定は不要で、同時測定可能な化合物数に制限はなく、網羅的な測定が可能である。したがって、TOF-MS を用いた残留農薬等一斉分析法を確立すれば、検査をより効率的かつ網羅的に行うことが可能となり、検査対象農薬等の拡大や検査に要する時間の短縮が期待されるが、残留農薬等検査への適用例は非常に少ない。

そこで、LC-TOF-MS 及び GC-TOF-MS を用いた残留農薬等一斉分析について検討を行った。LC-TOF-MS 法の残留動物用医薬品一斉分析への適用性検討では、平成 26 年度は残留動物用医薬品一斉分析に適した TOF-MS 測定条件や解析条件を詳細に検討した。平成 27 年度は、確立した測定条件及び解析条件を用いて、牛肉及び牛乳を対象に添加濃度 0.1 及び 0.01 ppm で 1 日 2 併行、5 日間の添加回収試験を行い、試験法の妥当性を評価したので報告する。また、GC-TOF-MS を用いた残留農薬分析の検討では、平成 25 年度は色素の多いほうれんそう及び脂肪の多い玄米を用いて GC-TOF-MS 法の残留農薬一斉分析への適用性を評価した。本年度は酸性夾雑成分の多いオレンジのマトリックス標準溶液を用いて、選択性、ピーク面積の再現性、検出限界等について評価したので報告する。

B. 研究方法

I. LC-TOF-MS 法の検討

1. 試薬及び試液

(1) 有機溶媒及び試薬

アセトニトリル、アセトン、エタノール、メタノール及びヘキサンは関東化学(株)製の残留農薬試験用、0.1 vol%ギ酸及びアセトニトリル(測定用)は LC-MS 用を用いた。無水硫酸ナトリウムは和光純薬工業(株)製の残留農薬試験用、*N, N*-ジメチルホルムアミドは和光純薬工業(株)製の残留溶媒試験用を用いた。

リファレンス(ロックマス)用試薬は、ロイシン-エンケファリン酢酸塩水和物(Sigma-Aldrich 社製)を水及びメタノール(1:1)混液に溶解したものをを用いた。

(2) 標準品及び標準溶液

検討には、表 1 に示した 82 化合物を用いた。各標準品は林純薬工業(株)、関東化学(株)、和光純薬工業(株)、Sigma-Aldrich 社、Dr. Ehrenstorfers 社及び Toronto research chemicals 社製の標準品を用いた(別添)。標準原液(1000 mg/L)は、各化合物 10 mg を精秤し、アセトニトリル

(アセトニトリルへの溶解性が低い場合はメタノールまたは *N, N*-ジメチルホルムアミド) 10 mL に溶解して調製した。混合標準溶液は、各化合物の標準原液を混合し、アセトニトリルで適宜希釈して 10 mg/L の濃度の溶液を調製した。添加用標準溶液は、10 mg/L の濃度の混合標準溶液をアセトンで希釈し、0.1 及び 1 mg/L の濃度の混合標準溶液を調製した。

(3) 精製ミニカラム

オクタデシルシリル化シリカゲル(ODS)ミニカラムは、ジーエルサイエンス社製 InertSep C18 FF (充てん量 1000 mg)を用いた。

(4) 試料

牛肉及び牛乳は、東京都内の小売店で購入した。牛肉は可能な限り脂肪層を除き、細切り均一化したものをを用いた。牛乳は全体をよく混合して均一化したものをを用いた。

2. 装置

フードプロセッサーは BRAUN 社製の multiquick professional MR 5550 M CA を用いた。ホモジナイザーは Kinematica 社製の Polytron PT 10-35 GT を使用した。ロータリーエバポレーターは東京理化工械(株)製の N-1000/NVC-2100/DPE-1300/CCA-1111/SB-1000 を用いた。遠心分離機は、久保田商事(株)製のテーブルトップ多本架遠心機 8100 を用いた。LC-TOF-MS は、ACQUITY UPLC I-Class 及び Xevo G2-S QTOF (Waters 社製)を使用した。

3. 測定条件

(1) MS 条件

イオン化法 ESI(+); キャピラリー電圧 1000 V; コーン電圧 20 V; ソース温度 120°C; 脱溶媒ガス温度 450°C; 脱溶媒ガス 800 L/h (N₂); コーンガス 50 L/h (N₂); コリジョンガス Ar; コリジョンエネルギー 4 eV(低エネルギー)及び 10-40 eV(高エネルギー); スキャン範囲 *m/z* 50~1000; リファレンス(ロックマス)ロイシン-エンケファリン; 分解能 >30,000 FWHM (*m/z* 556.2766); 定量イオン 表 1 に示した。

(2) LC 条件

カラム Inertsil ODS-4(内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 2 μm、ジーエルサイエンス社製)；カラム温度 40℃；注入量 2 μL；移動相 0.1 vol%ギ酸及びアセトニトリル(99:1)で 2 分間保持した後、(99:1)から(0:100)までの濃度勾配を 12 分間で行い、(0:100)で 6 分間保持した；流速 0.30 mL/min；保持時間 表 1 に示した。

5. 試験溶液の調製

(1)抽出

試料 10.0 g を量り採った。これに *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 50 mL、ヘキサン 50 mL 及び酢酸 1 mL を加えて 1 分間ホモジナイズした後、無水硫酸ナトリウム 20 g を加えて 1 分間ホモジナイズした。毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離した後、ヘキサン層を捨て、アセトニトリル層を採った。残留物にアセトニトリル 50 mL を加えて 1 分間ホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離を行った。アセトニトリル層を採り、先のアセトニトリル層と合わせ、アセトニトリルで正確に 100 mL とした(抽出液)。抽出液 10 mL(試料 1 g 相当)を採り、40℃以下で約 0.5 mL まで濃縮し、窒素気流により溶媒を除去した。残留物に 0.1 vol%ギ酸/メタノール(1:4) 1 mL を加えて溶解した。

(2)精製

ODS ミニカラム(1,000 mg)にメタノール 5 mL、0.1 vol%ギ酸/メタノール(1:4) 5 mL を順次注入し、流出液は捨てた。このカラムに、(1)で得られた溶液を負荷した後、0.1 vol%ギ酸/メタノール(1:4) 15 mL で溶出した。負荷液を含む全溶出液を採り、40℃以下で約 5 mL まで濃縮した。これにエタノール 5 mL を加え、40℃以下で約 0.5 mL まで濃縮し、窒素気流により溶媒を除去した。残留物をアセトニトリル/0.1 vol%ギ酸(1:3) 1 mL に溶解して試験溶液(1 g 試料/mL)とした。

5. 妥当性評価試験

牛肉及び牛乳を対象に添加濃度 0.1 及び 0.01 ppm で 1 日 2 併行、5 日間の添加回収試験を行った。添加試料では、添加回収試験用混合標準溶液(添加濃度 0.1 ppm では 1 mg/L、添加濃度 0.01 ppm では 0.1 mg/L) 1 mL を試料 10.0 g に添加し

てよく混合し、30 分間放置した後、『4. 試験溶液の調製』に従って調製した。

6. 定量

(1) 溶媒標準溶液を用いた絶対検量線法(溶媒検量線法)

検量線作成用混合標準溶液は、10 mg/L の濃度混合標準溶液をアセトニトリル/0.1 vol%ギ酸(1:3)で適宜希釈して、添加濃度 0.1 ppm の場合は 0.025、0.05、0.075、0.1、0.125 及び 0.15 mg/L、添加濃度 0.01 ppm の場合は 0.0025、0.005、0.0075、0.01、0.0125 及び 0.015 mg/L の濃度の混合標準溶液を用事調製した。

それぞれ 3 μL を LC-TOF-MS に注入して、ピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 3 μL を LC-TOF-MS に注入し、検量線から絶対検量線法により各分析対象化合物の濃度を求めた。

(2) マトリックス添加標準溶液を用いた絶対検量線法(マトリックス検量線法)

ブランク試験溶液 100 μL をバイアルに採り、窒素気流により溶媒を除去した後、残留物を添加濃度 0.1 ppm の場合は 0.025、0.05、0.075、0.1、0.125 及び 0.15 mg/L、添加濃度 0.01 ppm の場合は 0.0025、0.005、0.0075、0.01、0.0125 及び 0.015 mg/L の濃度の混合標準溶液に溶解してマトリックス添加標準溶液とした。

それぞれ 3 μL を LC-TOF-MS に注入して、ピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 3 μL を LC-TOF-MS に注入し、検量線から絶対検量線法により各分析対象化合物の濃度を求めた。

II. GC-TOF-MS 法の検討

1. 試料

東京都内の小売店で購入したオレンジをフードカッターで細切均一化して用いた。

2. 試薬及び試液

(1) 有機溶媒及び試薬

試験溶液の調製に用いたアセトニトリル、アセトン、トルエン及びヘキサンは関東化学(株)製の残留農薬試験用試薬、水は超高純度蒸留水精製装置で蒸留したものを用いた。塩化ナトリウムは、和光純薬工業(株)製の残留農薬試験用試薬を用い

た。リン酸水素二カリウム及びリン酸二水素カリウムは、和光純薬工業(株)製の特級を用いた。ろ紙は桐山製作所製 No.5B、ケイソウ土は和光純薬工業(株)製のセライト 545 を用いた。

(2) 農薬標準品及び標準溶液

検討には表 1 に示した 184 化合物を用いた。各農薬標準品は、林純薬工業(株)、関東化学(株)、和光純薬工業(株)、Sigma-Aldrich 社、Dr. Ehrenstorfers 社及び Riedel-de Haën 社及び AccuStandard 社の残留農薬試験用試薬を用いた。標準原液(1000 mg/L)は、各農薬 10 mg を精秤し、ヘキサン(ヘキサンへの溶解性が低い場合はアセトン/ヘキサンの混合溶媒)10 mL に溶解して調製した。混合標準溶液は、各農薬の標準原液を混合し、アセトン/ヘキサン(1:1)で適宜希釈して調製した。

(3) 精製ミニカラム

オクタデシルシリル化シリカゲル(ODS)ミニカラムは、Agilent 社製 Mega Bond Elut C18(担体量 1000 mg)を用いた。グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル(NH₂)積層ミニカラムは、ジューエルサイエンス社製の InertSep GC/NH₂(充填量 500mg/500 mg)を用いた。

(4) 0.5 mol/L リン酸緩衝液(pH7.0)の調製

リン酸水素二カリウム(K₂HPO₄)52.7 g 及びリン酸二水素カリウム(KH₂PO₄)30.2 g を量り採り、水約 500 mL に溶解し、1 mol/L 水酸化ナトリウムまたは 1 mol/L 塩酸を用いて pH を 7.0 に調整した後、水を加えて 1 L とした。

3. 装置

ホモジナイザーは Kinematica 社製 Polytron PT 10-35 GT を用いた。GC-TOF-MS は、JMS-T100GCV(日本電子(株)製)を使用した。蒸留水精製装置は、藤原製作所(株)製の超高純度蒸留水精製装置 NZJ-2DSYW を用いた。濃縮装置は東京理化学器械(株)製のロータリーエバポレーター N-1000/NVC-2100/DPE-1300/CCA-1111/SB-1000 を使用した。

4. 測定条件

カラム DB-5ms(内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm、Agilent 社製); ガードカラム 不活性キャピラリー(内径 0.25 mm、長さ 2 m、Agilent 社製); ライナー 不活性化処理済みのシングルテーパ付ライナーに石英ウールを充填したもの; カラム温度 50°C(1 min)−25°C/min−125°C(0 min)−10°C/min−300°C(8.5 min); 注入口温度 250°C; トランスファーライン温度 300°C; イオン源温度 230°C; キャリヤーガス ヘリウム; キャリヤーガス流量 1 mL/min; 注入量 2 μL; イオン化法 EI(+); スキャン範囲 *m/z* 50-550; 定量イオン及び保持時間 表 1 に示した。

5. ブランク試験溶液の調製

通知「GC/MS による農薬等の一斉試験法(農産物)」において、①及び②を変更した以外は試験法に従って試験溶液を調製した。

①塩析後、遠心分離(毎分 3000 回転、5 分間)を行った。

②ODS ミニカラム精製を追加した。溶出溶媒量は 5 mL とした。

(1) 抽出

試料 20.0 g を量り採った。これにアセトニトリル 50 mL を加え、約 1 分間ホモジナイズした後、ケイソウ土を約 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過した。残留物を採り、アセトニトリル 20 mL を加え、上記と同様にホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とした。

抽出液 20 mL を採り、塩化ナトリウム 10 g 及び 0.5 mol/L リン酸緩衝液(pH 7.0)20 mL を加えて 10 分間振とう後、遠心分離(毎分 3000 回転、5 分間)を行った。

ODS ミニカラムにアセトニトリル 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに上記のアセトニトリル層を注入し、さらにアセトニトリル 5 mL を注入した。全溶出液を採り、40°C 以下で約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流により溶媒を除去し、残留物をアセトニトリル/トルエン(3:1)2 mL に溶解した。

(2) 精製

グラファイトカーボン/NH₂積層ミニカラムにアセト

ニトリル/トルエン(3:1)を 10 mL 注入し、流出液は捨てた。このカラムに(1)で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル/トルエン(3:1) 20 mL (うち 2 mL で 3 回容器を洗浄した)を注入した。全溶出液を採り、40°C以下で約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流により溶媒を除去し、残留物をアセトン/ヘキサン(1:1) 2 mL に溶解して試験溶液とした。

6.マトリックス標準溶液の調製

ブランク試験溶液 100 μ L をバイアルに採り、窒素を吹き付けて乾固した後、残留物を 0.01 (試料中濃度 0.005 ppm 相当)または 0.1 μ g/mL (試料中濃度 0.05 ppm 相当)の混合標準溶液 100 μ L に溶解した。

C. 研究結果及び考察

1. LC-TOF-MS 測定条件の最適化

移動相にはアセトニトリル及び 0.1 vol%ギ酸を用いた。最終試験溶液の溶媒をアセトニトリルとし、LC-TOF-MS に試験溶液を 3 μ L 注入したところ、ピークが割れる、ブロードになる等ピーク形状が悪い化合物が多かった。そこで、検討した 82 化合物のうち、ピーク形状が試験溶液の溶媒の種類や注入量の影響を最も受けやすかった dicyclanil を用いて最適な溶媒及び注入量を検討した。図 1 に注入量を 2 μ L とした場合の dicyclanil の抽出イオンクロマトグラムを示した。その結果、アセトニトリル/0.1 vol%ギ酸(100:0)、(50:50)、(40:60)、(30:70)ではピーク形状が良くなかった。これに対し、アセトニトリル/0.1 vol%ギ酸(25:75)及び(20:80)では良好なピーク形状が得られるとともに、ピーク幅が狭くなったことにより、S/N 比が向上した。注入溶媒量 3 μ L ではアセトニトリル/0.1 vol%ギ酸(20:80)でのみ良好なピーク形状が得られた。しかしながら、食品マトリックスを用いて検討を行ったところ、アセトニトリル/0.1 vol%ギ酸(20:80)では低極性の夾雑成分の溶解性が低く、析出してしまふことがあった。注入量 1 μ L ではアセトニトリル/0.1 vol%ギ酸(40:60)、(30:70)、(25:75)及び(20:80)で良好なピーク形状が得られたが、注入量が少ないため、注入量 2 μ L と比較して検出限界が高くなった。こ

れらの結果から、アセトニトリル/0.1 vol%ギ酸(25:75)を最終試験溶液の溶媒とし、注入量を 2 μ L とすることとした。なお、最終試験溶液の溶媒にアセトニトリル/0.1 vol%ギ酸(25:75)を用いた場合には、残留物の溶解には問題はなかった。

検量線については、検討した全ての化合物において 0.005~0.2 mg/L の範囲で、決定係数(r^2)が 0.990 以上となり、良好な直線性が得られた。

2. 妥当性評価試験結果

LC-TOF-MS 法の残留動物用医薬品一斉分析への適用性について検討するため、82 化合物について、牛肉及び牛乳を対象に添加濃度 0.1 及び 0.01 ppm で 1 日 2 併行、5 日間の妥当性評価試験を行った。試料調製方法は、通知試験法「HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 I (畜水産物)」を改良した方法で行った。定量は、溶媒検量線法及びマトリックス検量線法で行った。真度・精度の結果を表 2 及び 3、妥当性評価試験結果の概要を図 1、検量線を図 2、代表的なクロマトグラムを図 3 に示した。

(1) 評価対象化合物

添加濃度 0.1 ppm では、検討した 82 化合物全てで定量可能であった。一方、添加濃度 0.01 ppm では、4 化合物(cefoperazone、diflubenzuron、phenoxymethylpenicillin 及び sulfacetamide)で S/N < 10 となり、十分な測定感度が得られなかった。flunixin ($[M+H]^+$, m/z 297.0845)は、バックグラウンドが高かったが、定量には問題なかった。バックグラウンドが高い原因としては、精密質量に近いポリシロキサン ($[C_8H_{25}Si_4O_4]^+$, m/z 297.0824)の影響によるものと考えられた。また、牛肉のブランク試料において hydrocortisone 及び sulfathiazole が含有(残留)されていたため(それぞれ約 0.005 及び約 0.002 ppm)、添加濃度 0.01 ppm の検討では評価対象外とした。このため、添加濃度 0.01 ppm では牛肉 76 化合物、牛乳 78 化合物を評価対象化合物とした。

(2) 真度及び精度

溶媒検量線法で定量した結果(表 2)、添加濃度 0.1 ppm では、牛肉 71 化合物(検討化合物の

87%)、牛乳 72 化合物(検討化合物の 88%)で妥当性評価ガイドラインの真度及び精度の目標値(真度 70~120%、併行精度 RSD 15%未満、室内精度 RSD 20%未満)を満たした。添加濃度 0.01 ppm では、牛肉 54 化合物(検討化合物の 71%)、牛乳 65 化合物(検討化合物の 83%)で目標値(真度 70~120%、併行精度 RSD 25%未満、室内精度 RSD 30%未満)を満たした。

一方、マトリックス検量線法で定量した場合は、添加濃度 0.1 ppm では、牛肉 80 化合物(検討化合物の 98%)、牛乳 79 化合物(検討化合物の 96%)、添加濃度 0.01 ppm では、牛肉 70 化合物(検討化合物の 92%)、牛乳 70 化合物(検討化合物の 90%)で目標値を満たした。これらの結果から、溶媒検量線法で定量した場合において、添加濃度 0.01 ppm で真度の目標値を満たさない化合物が多かった主な原因はイオン化阻害であると考えられた。

マトリックス検量線法で定量した結果、真度が低かった化合物(benzocaine、danofloxacin、enrofloxacin、fenobucarb、marbofloxacin、ofloxacin、olaquinox及びtemephos)について牛乳マトリックス存在下での ODS ミニカラムからの回収率を求めた(表 4)。その結果、いずれも回収率が 70%未満となり、ODS ミニカラムからの回収率が低いことが真度が低い原因と考えられた。

(3) 選択性

検討した全ての化合物で定量を妨害するピークは認められなかったか、認められても添加濃度 0.01 ppm 相当の添加試料から得られたピーク面積の 1/10 未満であり、選択性に問題はなかった。

II. GC-TOF-MS 法の検討

GC-TOF-MS 法の残留農薬一斉分析への適用性を検討するため、184 農薬について選択性、ピーク面積の再現性、検出限界及び定量限界を評価した。

1. ピーク面積の再現性及び選択性

TOFMS においては、抽出質量幅を狭くすると選択性が向上するが、過剰に狭くすると測定精密質量のわずかなずれにより定量性が低下する可能性

があり、低感度の化合物では検出できなくなるおそれもある。そこで、最適な抽出質量幅を検討するため、試料中濃度 0.005 ppm 相当のマトリックス標準溶液を 3 回測定し、抽出質量幅を 10、20、50 及び 100 mDa に設定して、選択性及びピーク面積の再現性を比較した。なお、bifenox 及び cyfluthrin は、検討した抽出質量幅(10~100 mDa)ではいずれの場合も測定感度が不足したため、試料中濃度 0.05 ppm 相当のマトリックス標準溶液を用いて検討した。

(1) 選択性

抽出質量幅 10~50 mDa では、定量を妨害するピークは観測されず、選択性に問題はなかった。抽出質量幅 100 mDa に設定した場合は 4 農薬(mecarbam、mepronil、metalaxyl、quinalphos)で定量を妨害するピークが認められた(図 1)。

(2) ピーク面積の再現性

ピーク面積の再現性の結果を表 2、結果の概要を図 2 に示した。抽出質量幅を 50 mDa に設定した場合、bifenox 及び cyfluthrin の 2 農薬を除いた 182 農薬(検討農薬の約 99%)で RSD 10%未満の良好な再現性が得られた。

抽出質量幅 10 及び 20 mDa では、それぞれ農薬 173 農薬及び 181 農薬で RSD 10%未満となった。いずれの場合も bifenox 及び cyfluthrin の他に chlorthal dimethyl が検出されず、10 mDa では 8 農薬で RSD 10%以上となった。これは、測定精密質量と計算精密質量とのずれが、検討した質量幅よりも大きかったことが原因と考えられた。

100 mDa に設定した場合は、妨害ピークが認められた 4 農薬(mecarbam、mepronil、metalaxyl、quinalphos)及び測定感度が得られなかった 2 農薬(bifenox 及び cyfluthrin)を除いた 178 農薬のうち 176 農薬で RSD 10%未満の良好な結果が得られたが、isoxathion 及び oxadixyl で 10~20%となった。抽出質量幅 100 mDa では、10~50 mDa の場合と比較して選択性が低く、バックグラウンドが高いことが再現性の低下につながったものと考えられた。

以上の結果から、定量する際は、抽出質量幅を

選択性及びピーク面積の再現性が良い 20～50 mDa に設定するのが良いと考えられた。これは、平成 25 年度に行ったほうれんそう及び玄米を用いた検討結果と同じであった。

2. 検出限界及び定量限界

試料中濃度 0.005 ppm (bifenoX 及び cyfluthrin は 0.05 ppm) のオレンジのマトリックス標準溶液を 3 回測定し、抽出質量幅を 50 mDa に設定してピーク面積を求め、 3σ 値から検出限界 (LOD)、 10σ 値から定量限界 (LOQ) を算出した (表 2)。その結果、bifenoX 及び cyfluthrin を除き、検出限界は 2 ppb 未満、定量限界は 10ppb 未満であった。bifenoX 及び cyfluthrin の検出限界はそれぞれ 19 及び 17 ppb、定量限界は 63 及び 56 ppb であった。

D. 結論

I. LC-TOF-MS 法の検討

LC-TOF-MS 法の残留動物用医薬品一斉分析への適用性について検討するため、82 化合物について、牛肉及び牛乳を対象に添加濃度 0.1 及び 0.01 ppm で 1 日 2 併行、5 日間の妥当性評価試験を行った。その結果、一部の化合物でイオン化阻害を受けていたものの、マトリックス検量線法で定量した場合、添加濃度 0.1 及び 0.01 ppm ともに検討化合物の 9 割以上で真度・精度の目標値を満たし、選択性に問題はなかった。これらの結果から検討化合物の大部分で LC-TOF-MS 法を残留動物用医薬品一斉分析へ適用可能であることが示された。今後、基準値濃度において妥当性が示されれば、LC-TOF-MS 法を基準値判定にも用いることが可能であると考えられた。

II. GC-TOF-MS 法の検討

オレンジのマトリックス標準溶液を用いて、選択性、ピーク面積の再現性、検出限界等について検討した。その結果、抽出質量幅 50 mDa に設定し

た場合、試料中濃度 0.005 ppm 相当において、検討農薬の約 99% で良好な結果が得られた。今後、性能評価試験を行い、妥当性が示されれば、GC-TOF-MS 法を定量分析に十分用いることが可能であると考えられた。

E. 研究発表

1. 論文発表

Saito-Shida, S., Nemoto, S., and Teshima, R.,
Multiresidue determination of pesticides in tea by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, **50**, 760-776 (2015).

Shida, S., Nemoto, S., and Matsuda, R.,
Simultaneous determination of acidic pesticides in vegetables and fruits by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, **50**, 151-162 (2015).

2. 学会発表

志田(齊藤)静夏、根本 了、手島玲子: 野菜・果実中の酸性農薬一斉分析法の検討、日本食品化学学会第 21 回総会・学術大会(2015.5)

志田(齊藤)静夏、根本 了、手島玲子、穂山浩: 加工食品中の殺鼠剤テトラメチレンジスルホテトラミンの迅速分析法、第 52 回全国衛生化学技術協議会年会(2015.12)

志田(齊藤)静夏、根本 了、手島玲子、穂山浩: GC-TOF-MS を用いた残留農薬一斉分析の検討、第 52 回全国衛生化学技術協議会年会(2015.12)

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 検討化合物の保持時間及び定量イオン

| | 化合物 | 組成式 | 定量イオン | | 保持時間 (min) |
|----|-------------------------------|---|--|--------------------------|---------------|
| | | | イオン | 計算精密質量 (<i>m/z</i>) | |
| 1 | 2-Acetylamino-5-nitrothiazole | C ₅ H ₅ N ₃ O ₃ S | [M+H] ⁺ | 188.0124 | 7.07 |
| 2 | Albendazole | C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₂ S | [M+H] ⁺ | 266.0958 | 8.06 |
| 3 | Altrenogest | C ₂₁ H ₂₆ O ₂ | [M+H] ⁺ | 311.2006 | 10.33 |
| 4 | Azaperone | C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O | [M+H] ⁺ | 328.1820 | 6.13 |
| 5 | Benzocaine | C ₉ H ₁₁ NO ₂ | [M+H] ⁺ | 166.0863 | 8.08 |
| 6 | Bromacil | C ₉ H ₁₃ BrN ₂ O ₂ | [M+H] ⁺ | 261.0233 | 7.97 |
| 7 | Brotizolam | C ₁₅ H ₁₀ BrClN ₄ S | [M+H] ⁺ | 392.9571 | 9.07 |
| 8 | Cefoperazone | C ₂₅ H ₂₇ N ₉ O ₈ S ₂ | [M+H] ⁺ | 646.1497 | 6.65 |
| 9 | Chlormadinone | C ₂₃ H ₂₉ ClO ₄ | [M+H] ⁺ | 405.1827 | 11.37 |
| 10 | Clostebol | C ₁₉ H ₂₇ ClO ₂ | [M+H] ⁺ | 323.1772 | 10.43 |
| 11 | Danofloxacin | C ₁₉ H ₂₀ FN ₃ O ₃ | [M+H] ⁺ | 358.1561 | 5.87 |
| 12 | Dexamethasone | C ₂₂ H ₂₉ FO ₅ | [M+H] ⁺ | 393.2072 | 8.32 |
| 13 | Diaveridine | C ₁₃ H ₁₆ N ₄ O ₂ | [M+H] ⁺ | 261.1346 | 5.38 |
| 14 | Dicyclanil | C ₈ H ₁₀ N ₆ | [M+H] ⁺ | 191.1040 | 4.39 |
| 15 | Difloxacin | C ₂₁ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃ | [M+H] ⁺ | 400.1467 | 6.40 |
| 16 | Diflubenzuron | C ₁₄ H ₉ ClF ₂ N ₂ O ₂ | [M+H] ⁺ | 311.0393 | 10.75 |
| 17 | Emamectin B1a | C ₄₉ H ₇₅ NO ₁₃ | [M+H] ⁺ | 886.5311 | 10.38 |
| 18 | Enrofloxacin | C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₃ | [M+H] ⁺ | 360.1718 | 6.00 |
| 19 | Ethopabate | C ₁₂ H ₁₅ NO ₄ | [M+H] ⁺ | 238.1074 | 7.65 |
| 20 | Famphur | C ₁₀ H ₁₆ NO ₅ PS ₂ | [M+H] ⁺ | 326.0280 | 10.05 |
| 21 | Fenobucarb | C ₁₂ H ₁₇ NO ₂ | [M+H] ⁺ | 208.1332 | 10.01 |
| 22 | Flubendazole | C ₁₆ H ₁₂ FN ₃ O ₃ | [M+H] ⁺ | 314.0935 | 8.38 |
| 23 | Flumequine | C ₁₄ H ₁₂ FNO ₃ | [M+H] ⁺ | 262.0874 | 8.54 |
| 24 | Flunixin | C ₁₄ H ₁₁ F ₃ N ₂ O ₂ | [M+H] ⁺ | 297.0845 | 9.65 |
| 25 | Halofuginone | C ₁₆ H ₁₇ BrClN ₃ O ₃ | [M+H] ⁺ | 414.0215 | 6.81 |
| 26 | Hydrocortisone | C ₂₁ H ₃₀ O ₅ | [M+H] ⁺ | 363.2166 | 7.72 |
| 27 | 5-Hydroxythiabendazole | C ₁₀ H ₇ N ₃ OS | [M+H] ⁺ | 218.0383 | 5.06 |
| 28 | Ketoprofen | C ₁₆ H ₁₄ O ₃ | [M+H] ⁺ | 255.1016 | 9.36 |
| 29 | Levamisole | C ₁₁ H ₁₂ N ₂ S | [M+H] ⁺ | 205.0794 | 5.29 |
| 30 | Lincomycin | C ₁₈ H ₃₄ N ₂ O ₆ S | [M+H] ⁺ | 407.2210 | 5.18 |
| 31 | Mafoprozine | C ₂₂ H ₂₈ FN ₃ O ₃ | [M+H] ⁺ | 402.2187 | 6.98 |
| 32 | Marbofloxacin | C ₁₇ H ₁₉ FN ₄ O ₄ | [M+H] ⁺ | 363.1463 | 5.57 |
| 33 | Mebendazole | C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₃ | [M+H] ⁺ | 296.1030 | 8.10 |
| 34 | Meloxicam | C ₁₄ H ₁₃ N ₃ O ₄ S ₂ | [M+H] ⁺ | 352.0420 | 9.63 |
| 35 | Menbutone | C ₁₅ H ₁₄ O ₄ | [M+H] ⁺ | 259.0965 | 9.14 |
| 36 | Methylprednisolone | C ₂₂ H ₃₀ O ₅ | [M+H] ⁺ | 375.2166 | 8.20 |
| 37 | Miloxacin | C ₁₂ H ₉ NO ₆ | [M+H] ⁺ | 264.0503 | 7.42 |
| 38 | Morantel | C ₁₂ H ₁₆ N ₂ S | [M+H] ⁺ | 221.1107 | 6.50 |
| 39 | Nalidixic acid | C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₃ | [M+H] ⁺ | 233.0921 | 8.39 |
| 40 | Ofloxacin | C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄ | [M+H] ⁺ | 362.1511 | 5.69 |
| 41 | Olaquinox | C ₁₂ H ₁₃ N ₃ O ₄ | [M+H] ⁺ | 264.0979 | 4.62 |
| 42 | Orbifloxacin | C ₁₉ H ₂₀ F ₃ N ₃ O ₃ | [M+H] ⁺ | 396.1530 | 6.12 |
| 43 | Ormetoprim | C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₂ | [M+H] ⁺ | 275.1503 | 5.80 |
| 44 | Oxibendazole | C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₃ | [M+H] ⁺ | 250.1186 | 7.00 |
| 45 | Oxolinic acid | C ₁₃ H ₁₁ NO ₅ | [M+H] ⁺ | 262.0710 | 7.46 |
| 46 | Phenoxymethylpenicillin | C ₁₆ H ₁₈ N ₂ O ₅ S | [M+H] ⁺ | 351.1009 | 8.38 |
| 47 | Praziquantel | C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O ₂ | [M+H] ⁺ | 313.1911 | 9.48 |
| 48 | Prednisolone | C ₂₁ H ₂₈ O ₅ | [M+H] ⁺ | 361.2010 | 7.65 |
| 49 | Prifinium bromide | C ₂₂ H ₂₈ BrN | [C ₂₂ H ₂₈ N] ⁺ | 306.2216 | 8.35 |
| 50 | Pyrantel | C ₁₁ H ₁₄ N ₂ S | [M+H] ⁺ | 207.0950 | 5.85 |

表1 (つづき)

| | 化合物 | 組成式 | 定量イオン | | 保持時間 (min) |
|----|------------------------|--|--------------------|--------------------------|---------------|
| | | | イオン | 計算精密質量 (<i>m/z</i>) | |
| 51 | Pyrimethamine | C ₁₂ H ₁₃ ClN ₄ | [M+H] ⁺ | 249.0902 | 6.84 |
| 52 | Robenidine | C ₁₅ H ₁₃ Cl ₂ N ₅ | [M+H] ⁺ | 334.0621 | 9.01 |
| 53 | Sarafloxacin | C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₃ | [M+H] ⁺ | 386.1311 | 6.33 |
| 54 | Sulfabenzamide | C ₁₃ H ₁₂ N ₂ O ₃ S | [M+H] ⁺ | 277.0641 | 7.63 |
| 55 | Sulfabromomethazine | C ₁₂ H ₁₃ BrN ₄ O ₂ S | [M+H] ⁺ | 357.0015 | 8.63 |
| 56 | Sulfacetamide | C ₈ H ₁₀ N ₂ O ₃ S | [M+H] ⁺ | 215.0485 | 4.92 |
| 57 | Sulfachlorpyridazine | C ₁₀ H ₉ ClN ₄ O ₂ S | [M+H] ⁺ | 285.0208 | 6.80 |
| 58 | Sulfadiazine | C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S | [M+H] ⁺ | 251.0597 | 5.34 |
| 59 | Sulfadimethoxine | C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S | [M+H] ⁺ | 311.0809 | 7.75 |
| 60 | Sulfadimidine | C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S | [M+H] ⁺ | 279.0910 | 6.23 |
| 61 | Sulfadoxine | C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S | [M+H] ⁺ | 311.0809 | 7.05 |
| 62 | Sulfaethoxypyridazine | C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₃ S | [M+H] ⁺ | 295.0859 | 7.07 |
| 63 | Sulfamerazine | C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₂ S | [M+H] ⁺ | 265.0754 | 5.85 |
| 64 | Sulfamethoxazole | C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S | [M+H] ⁺ | 254.0594 | 7.04 |
| 65 | Sulfamethoxypyridazine | C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S | [M+H] ⁺ | 281.0703 | 6.25 |
| 66 | Sulfamonomethoxine | C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S | [M+H] ⁺ | 281.0703 | 6.61 |
| 67 | Sulfapyridine | C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂ S | [M+H] ⁺ | 250.0645 | 5.61 |
| 68 | Sulfaquinoxaline | C ₁₄ H ₁₂ N ₄ O ₂ S | [M+H] ⁺ | 301.0754 | 7.76 |
| 69 | Sulfathiazole | C ₉ H ₉ N ₃ O ₂ S ₂ | [M+H] ⁺ | 256.0209 | 5.50 |
| 70 | Sulfatroxazole | C ₁₁ H ₁₃ N ₃ O ₃ S | [M+H] ⁺ | 268.0750 | 7.13 |
| 71 | Temephos | C ₁₆ H ₂₀ O ₆ P ₂ S ₃ | [M+H] ⁺ | 466.9970 | 12.76 |
| 72 | Thiabendazole | C ₁₀ H ₇ N ₃ S | [M+H] ⁺ | 202.0433 | 5.49 |
| 73 | Tiamulin | C ₂₈ H ₄₇ NO ₄ S | [M+H] ⁺ | 494.3299 | 8.21 |
| 74 | Tolfenamic acid | C ₁₄ H ₁₂ ClNO ₂ | [M+H] ⁺ | 262.0629 | 11.47 |
| 75 | β-Trenbolone | C ₁₈ H ₂₂ O ₂ | [M+H] ⁺ | 271.1693 | 8.87 |
| 76 | Trichlorfon | C ₄ H ₆ Cl ₃ O ₄ P | [M+H] ⁺ | 256.9299 | 6.32 |
| 77 | Trimethoprim | C ₁₄ H ₁₆ N ₄ O ₃ | [M+H] ⁺ | 291.1452 | 5.58 |
| 78 | Tripelennamine | C ₁₆ H ₂₁ N ₃ | [M+H] ⁺ | 256.1808 | 6.66 |
| 79 | Tylosin | C ₄₆ H ₇₇ NO ₁₇ | [M+H] ⁺ | 916.5264 | 7.85 |
| 80 | Valnemulin | C ₃₁ H ₅₂ N ₂ O ₅ S | [M+H] ⁺ | 565.3670 | 8.49 |
| 81 | Warfarin | C ₁₉ H ₁₆ O ₄ | [M+H] ⁺ | 309.1121 | 9.95 |
| 82 | Xylazine | C ₁₂ H ₁₆ N ₂ S | [M+H] ⁺ | 221.1107 | 6.27 |

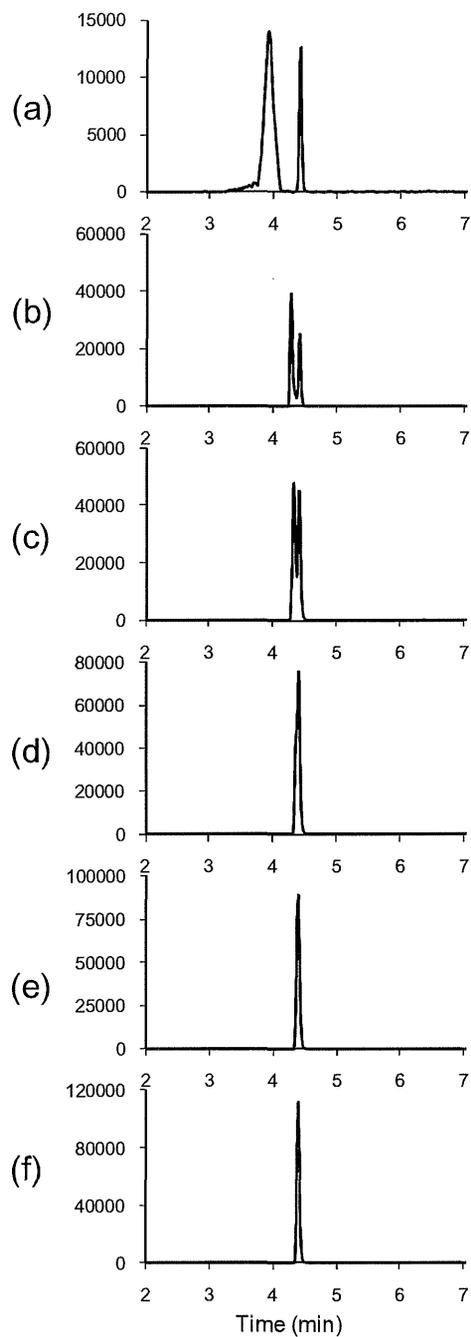


図 1 dicyclanil の抽出イオンクロマトグラム

注入量 2 μL 、注入溶媒 (a)アセトニトリル/0.1 vol%ギ酸 (100:0)、(b)アセトニトリル/0.1 vol%ギ酸 (50:50)、(c)アセトニトリル/0.1 vol%ギ酸 (40:60)、(d)アセトニトリル/0.1 vol%ギ酸 (30:70)、(e)アセトニトリル/0.1 vol%ギ酸 (25:75)、(f)アセトニトリル/0.1 vol%ギ酸 (20:80)

表 2 真度・精度 (溶媒検量線法)

| No. | 分析対象化合物 | 0.1 ppm | | | | | | 0.01 ppm | | | | | |
|-----|-------------------------------|---------|-------------|-------------|--------|-------------|-------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | 牛肉 | | | 牛乳 | | | 牛肉 | | | 牛乳 | | |
| | | 真度 (%) | 併行精度 (RSD%) | 室内精度 (RSD%) | 真度 (%) | 併行精度 (RSD%) | 室内精度 (RSD%) | 真度 (%) | 併行精度 (RSD%) | 室内精度 (RSD%) | 真度 (%) | 併行精度 (RSD%) | 室内精度 (RSD%) |
| 1 | 2-Acetylamino-5-nitrothiazole | 93 | 4 | 11 | 96 | 4 | 5 | 86 | 16 | 16 | 95 | 10 | 10 |
| 2 | Albendazole | 94 | 1 | 8 | 102 | 0.5 | 3 | 90 | 3 | 4 | 102 | 1 | 4 |
| 3 | Altrenogest | 75 | 3 | 4 | 84 | 2 | 3 | 58 | 4 | 12 | 84 | 3 | 8 |
| 4 | Azaperone | 99 | 2 | 14 | 97 | 1 | 6 | 107 | 4 | 5 | 109 | 4 | 5 |
| 5 | Benzocaine | 70 | 2 | 6 | 71 | 8 | 9 | 64 | 7 | 8 | 61 | 5 | 6 |
| 6 | Bromacil | 98 | 4 | 11 | 104 | 3 | 3 | 88 | 3 | 8 | 106 | 5 | 11 |
| 7 | Brotizolam | 102 | 2 | 7 | 106 | 2 | 5 | 118 | 4 | 10 | 106 | 1 | 3 |
| 8 | Cefoperazone | 76 | 2 | 7 | 95 | 3 | 3 | .. ^a |
| 9 | Chlormadinone | 74 | 3 | 15 | 98 | 2 | 5 | 62 | 7 | 7 | 100 | 3 | 6 |
| 10 | Clostebol | 92 | 2 | 7 | 104 | 1 | 4 | 91 | 6 | 6 | 105 | 3 | 5 |
| 11 | Danofloxacin | 81 | 5 | 24 | 53 | 8 | 13 | 53 | 14 | 32 | 40 | 13 | 28 |
| 12 | Dexamethasone | 103 | 9 | 14 | 101 | 3 | 3 | 89 | 13 | 14 | 100 | 7 | 7 |
| 13 | Diaveridine | 75 | 2 | 11 | 81 | 2 | 11 | 66 | 4 | 5 | 74 | 3 | 23 |
| 14 | Dicyclanil | 75 | 2 | 8 | 94 | 1 | 4 | 73 | 4 | 8 | 91 | 2 | 8 |
| 15 | Difloxacin | 83 | 5 | 15 | 86 | 3 | 10 | 77 | 5 | 9 | 67 | 13 | 13 |
| 16 | Diflubenzuron | 65 | 2 | 33 | 103 | 1 | 5 | .. ^a |
| 17 | Emamectin B1a | 97 | 1 | 10 | 97 | 4 | 5 | 86 | 9 | 10 | 97 | 5 | 5 |
| 18 | Enrofloxacin | 93 | 7 | 19 | 67 | 4 | 10 | 69 | 3 | 13 | 53 | 16 | 17 |
| 19 | Ethopabate | 91 | 2 | 8 | 108 | 1 | 2 | 101 | 5 | 8 | 109 | 3 | 6 |
| 20 | Famphur | 93 | 1 | 6 | 107 | 1 | 4 | 98 | 2 | 5 | 107 | 2 | 6 |
| 21 | Fenobucarb | 65 | 5 | 8 | 64 | 5 | 9 | 72 | 8 | 10 | 65 | 11 | 11 |
| 22 | Flubendazole | 98 | 1 | 7 | 111 | 2 | 5 | 109 | 4 | 10 | 108 | 1 | 3 |
| 23 | Flumequine | 94 | 4 | 18 | 96 | 2 | 5 | 98 | 6 | 12 | 86 | 9 | 9 |
| 24 | Flunixin | 87 | 2 | 6 | 104 | 1 | 3 | 97 | 3 | 8 | 102 | 2 | 3 |
| 25 | Halofuginone | 70 | 3 | 6 | 85 | 2 | 6 | 60 | 8 | 8 | 66 | 8 | 16 |
| 26 | Hydrocortisone | 97 | 2 | 7 | 106 | 1 | 3 | 91 | 4 | 11 | 106 | 2 | 4 |
| 27 | 5-Hydroxythiabendazole | 68 | 6 | 9 | 102 | 2 | 7 | 57 | 14 | 37 | 100 | 3 | 4 |
| 28 | Ketoprofen | 91 | 1 | 6 | 106 | 2 | 3 | 100 | 4 | 5 | 106 | 2 | 6 |
| 29 | Levamisole | 92 | 2 | 8 | 100 | 1 | 7 | 90 | 3 | 5 | 94 | 2 | 6 |
| 30 | Lincomycin | 76 | 4 | 9 | 99 | 1 | 4 | 71 | 7 | 7 | 93 | 4 | 5 |
| 31 | Mafofprazine | 101 | 1 | 7 | 108 | 1 | 6 | 105 | 3 | 5 | 105 | 1 | 3 |
| 32 | Marbofloxacin | 67 | 6 | 27 | 52 | 5 | 13 | 47 | 25 | 28 | 33 | 13 | 33 |
| 33 | Mebendazole | 100 | 1 | 7 | 105 | 1 | 3 | 108 | 5 | 8 | 108 | 1 | 3 |
| 34 | Meloxicam | 83 | 3 | 6 | 88 | 3 | 3 | 88 | 6 | 6 | 88 | 3 | 4 |
| 35 | Menbutone | 94 | 4 | 7 | 107 | 2 | 4 | 90 | 5 | 5 | 107 | 2 | 4 |
| 36 | Methylprednisolone | 99 | 3 | 10 | 103 | 2 | 3 | 99 | 11 | 12 | 107 | 5 | 5 |
| 37 | Miloxacin | 80 | 10 | 12 | 74 | 6 | 14 | 81 | 11 | 19 | 61 | 10 | 27 |
| 38 | Morantel | 71 | 3 | 7 | 76 | 3 | 7 | 79 | 4 | 8 | 73 | 3 | 5 |
| 39 | Nalidixic acid | 100 | 3 | 12 | 97 | 3 | 6 | 103 | 5 | 14 | 86 | 10 | 10 |
| 40 | Ofloxacin | 79 | 2 | 26 | 59 | 7 | 8 | 53 | 9 | 10 | 41 | 21 | 29 |
| 41 | Olaquinox | 12 | 8 | 44 | 33 | 14 | 27 | 9 | 6 | 75 | 39 | 10 | 21 |
| 42 | Orbifloxacin | 89 | 2 | 10 | 99 | 4 | 5 | 72 | 5 | 8 | 74 | 8 | 8 |
| 43 | Ormetoprim | 91 | 1 | 7 | 107 | 1 | 6 | 92 | 2 | 4 | 96 | 4 | 4 |
| 44 | Oxibendazole | 97 | 1 | 7 | 106 | 1 | 3 | 99 | 3 | 4 | 105 | 1 | 2 |
| 45 | Oxolinic acid | 87 | 12 | 20 | 66 | 4 | 21 | 76 | 9 | 15 | 63 | 14 | 28 |
| 46 | Phenoxymethylpenicillin | 97 | 3 | 9 | 78 | 12 | 12 | .. ^a |
| 47 | Praziquantel | 100 | 1 | 6 | 108 | 1 | 3 | 111 | 4 | 6 | 110 | 1 | 3 |
| 48 | Prednisolone | 89 | 3 | 6 | 107 | 1 | 2 | 92 | 7 | 10 | 108 | 3 | 6 |
| 49 | Prifinium bromide | 93 | 2 | 8 | 94 | 1 | 2 | 91 | 2 | 4 | 91 | 1 | 3 |
| 50 | Pyrantel | 84 | 2 | 7 | 88 | 1 | 3 | 87 | 4 | 5 | 86 | 2 | 3 |