

A. 研究目的（緒言）

1997年に香港で高病原性鳥インフルエンザ（H5N1型）が流行した際、はじめてヒトへの感染が確認されたが、その後もヒトへの感染のほか、東南アジアや東アジアの養鶏場を中心に散発的な流行が報告されている。鳥インフルエンザはニワトリ、ウズラ、アヒルなどの家禽やカモやガンなどの渡り鳥がもっているA型インフルエンザウイルスによる感染症であり、鳥インフルエンザウイルスの宿主である鳥は繁殖やエサを求めて長距離を移動するため、養鶏場などへの感染が広域化する可能性がある。ヒトへ感染する可能性は極めて低いとされており、ヒトからヒトへの感染例は確認されていない。しかし、感染した場合、豚などの家畜やヒトの体内で突然変異を起こし、鳥インフルエンザが新型ヒトインフルエンザとして流行することが危惧されており、免疫を獲得していないヒトに対しての危険性が指摘されている。

鳥インフルエンザは日本においても、過去、京都府京丹波町、宮崎県新富町や日向市、岡山県高梁市、佐賀県有田町などの養鶏場で発生し、周辺養鶏場への伝播が懸念されたが迅速な殺処分により被害の拡大が防止された。このように鳥インフルエンザが発生した場合、通常は殺処分によって感染を局限し、よって周囲への伝播を阻止するという対応が最も一般的に行われる。また、治療や感染防止対策の1つとしてワクチンを投与して免疫を獲得させ、これによって感染の予防に役立てようという対応策もある。実際に2005～6年に中国で大々的に鶏などにワクチンを投与して大きな効果を上げたといわれている¹⁾。さらに抗ウイルス剤を用いて治療を行う方法も実施されている。事実、中国ではワクチン投与とほぼ同じ頃、H5N1ウイルスに効くとされた抗ウイルス剤のアマンタジンを餌に混ぜ込み広く使用された²⁾。2012年には実際に中国産鶏肉から抗ウイルス剤であるアマンタジンとリバビリンが検出され、わが国でも社会的な問題となった。しかし、これらの薬剤はわが国において動物用医薬品として指定されておらず、その残留の有無は食品衛生上大きな問題である。

抗ウイルス剤はインフルエンザウイルス

の細胞内での複製の過程を阻害することにより効果を発揮する。すなわち、ウイルスが細胞に侵入後、細胞内へのRNAの放出を行う脱殻過程を阻害する、いわゆる、M2プロトンチャンネル阻害剤としてのアマンタジン、複製されたウイルスの細胞外への遊離を促進する酵素であるノイラミニダーゼを阻害するオセルタミビルやラニナミビルなどがある。また、細胞内でのウイルスの核酸複製を妨害するRNAポリメラーゼ阻害剤としてリバビリンがあるが、インフルエンザ薬としては実用化されず、C型肝炎用として実用化された³⁾。中国産鶏肉から2種の抗ウイルス剤が検出された事例は、作用機序の異なる薬剤を組み合わせることで効果の拡大を狙ったものと考えられる。このように複数の抗ウイルス剤が用いられた事例もあり、また、アマンタジンやリバビリン以外の抗ウイルス剤が使用される可能性も否定できない。そのため、これらの抗ウイルス剤を網羅的に分析できる方法の開発が望まれている。

抗ウイルス剤の分析は、これまでは生体内の薬物の挙動に関する研究が中心であり、ヒトや動物の血清^{4),5)}、血漿^{6)~10)}、尿^{6),8),9)}、唾液⁹⁾、肝臓¹²⁾などからの分析がほとんどであり、また、単品もしくは2,3剤の投与による実験が主体である。食品からの分析法としては、Chanら¹⁴⁾によるLC-MS/MSによる分析法やBerendsenら¹⁵⁾によるLC-MS/MSによる複数の抗ウイルス剤を対象にした分析法が報告されているが、いずれも鶏筋肉のみを対象としており、加工品の唐揚げやわが国で好まれる焼き鳥などで使用される鶏の内臓部や鶏卵などは対象にしていない。国内の報告例では、著者ら¹⁶⁾が2013年11月に第106回日本食品衛生学会(沖縄)において鶏肉中のアマンタジンとリバビリンの分析法について報告したのが最初であり、その後、鶴岡ら¹⁷⁾、前田ら¹⁸⁾により、鶏肉中のアマンタジンの分析法が報告されているのみである。

そこで、我々は平成26年度に鶏肉及びその加工品について、抗ウイルス剤として鶏肉からの検出事例のあるアマンタジンおよびリバビリンに加え、人の抗インフルエンザ薬として汎用されるオセルタミビルおよびザ

ナミビル、近年開発されたペラミビルおよびラニナミビル、諸外国で使用実績のあるリマジンおよびアルビドール、さらに、その他の抗ウイルス剤として、アシクロビルおよびイミキモドの10種の抗ウイルス剤を対象にLC-MS/MSを用いた一斉分析法の作成を行った。

平成27年度は作成した分析法の実用性について検証することとした。すなわち、地方衛生研究所や登録検査機関の協力を得て、外部機関評価を行い、分析精度の検証を行った。これに先立ち、本試験法ではマトリックス効果が顕著に現れる場合があり、用いるLC-MS/MSの機器の感度や特性によって妨害や回収率に影響を及ぼす可能性も考えられたため、代表的な機器メーカーに標準溶液と抽出試料を提供し測定をお願いし、機器の違いによる測定値の変動について検証した。

研究方法

1. 機器の機種の違いによる評価

LC-MS/MSを販売している5社に分析を依頼して機種による感度の差や特異性を検証した。

本検討に使用した機種とメーカーは以下のとおりである。

- QTrap® 4500 システム (AB サイエックス社)
- Xevo TQ-S micro (waters 社)
- Agilent 6460 (Agilent 社)
- TSQ Endura (Thermo Fisher Scientific 社)
- LCMS-8050 システム (島津製作所(株))

2. 外部機関評価

地方衛生試験所及び登録検査機関に対して抗ウイルス剤の評価試験を依頼した。試料は、各機関で購入した鶏筋肉を用い、提示した試験方法にのっとり添加回収試験を行う。得られた添加回収試験結果を用い、作成した試験方法の妥当性を確認した。参加機関と各機関が使用した機器は以下のとおりである。

一般財団法人石川県予防医学協会
API-3200(AB SCIEX 社製)

一般財団法人食品分析開発センター

SUNATEC API-4000 QTRP(AB SCIEX 社製)
埼玉県衛生研究所 QTRAP 4500(AB SCIEX 社製)

さいたま市衛生研究所 QTRAP 5500(AB SCIEX 社製)

奈良県衛生研究所 6430 Triple Quad(Agilent 社製)

一般財団法人東京顕微鏡院 QTRAP 5500(AB SCIEX 社製)及び 8060(島津製作所製)

(五十音順)

3. 試験法プロトコル

前年度作製した分析法により試験を実施するよう依頼した。外部機関評価で提示した分析法は以下のとおりである。なお、メーカー評価にあたってはあらかじめ鶏筋肉と鶏卵を用い、鶏筋肉については0.01及び0.1 mg/kg、鶏卵については0.1 mg/kgとなるように混合標準溶液を添加し、本分析法に従って調製した試験溶液を提供し、LC-MS/MSによる測定のみ依頼した。

1) 試料溶液の調製

試料をフードプロセッサーを用いて粉碎して均一化したのち、その5.00 gを100 mLの遠心管に採取し、これに0.1 vol%塩酸・メタノールを50 mL加え、ホモジナイザーで攪拌後、3,000 rpmで5分間遠心分離を行った。得られた上清を100 mLメスフラスコに採取したのち、さらに残渣に0.1 vol%塩酸・メタノールを25 mL加えてホモジナイザーで攪拌後、同様に遠心分離を行った。得られた上清をメスフラスコに合わせ、0.1 vol%塩酸・メタノールを用いて正確に100 mLに定容したものを試料溶液とした。

2) 試験溶液の調製

試料溶液の10 mLをあらかじめメタノール-水(9:1)10 mLでコンディショニングしたODSミニカラムに負荷し、その溶出液を50 mLナスフラスコに集めた。さらにメタノール-水(9:1)混液10 mL、メタノール10 mLを流し、溶出液を先の50 mLナスフラスコに集め、減圧濃縮した。得られた残留物を0.5 vol%ギ酸・メタノール5 mLで溶解し、予め0.5 vol%ギ酸・メタノール10 mLでコンディショニングしたMCXミニカラムに全量

負荷した。0.5vol%ギ酸・メタノール 10 mL で洗浄後、25%アンモニア水-メタノール (1:19) 混液 20 mL で溶出したものを溶出液 A とした。また、先の 0.5vol%ギ酸・メタノールでの負荷液と洗浄液を集め、これに 25%アンモニア水 500 μ L を加えよく混和したのち、予め 25%アンモニア水-メタノール (1:19) 混液 10 mL でコンディショニングした PBA ミニカラムに負荷した。25%アンモニア水-メタノール(1:19)混液 10 mL で洗浄後、0.5vol%ギ酸・メタノール 10 mL で溶出したものを溶出液 B とした。溶出液 A と B を合わせ、減圧で溶媒を留去したのち、残渣をアセトニトリル-メタノール-ギ酸(8:1:1)混液 1 mL で溶解したものを LC-MS/MS 用の試験溶液とした。

3) 標準溶液

標準品等は第一部に示したものを使用し、標準溶液についても第一部に従って調製したものを各機関に提供した。メーカー評価にあたっては、10 μ g/mL の混合標準溶液を提供し、これを用いて添加用の標準溶液とすると共に適宜希釈して検量線用標準溶液とした。外部機関評価にあたっては、2.5 ng/mL ~ 100 ng/mL の混合標準溶液 7 点を検量線用標準溶液として提供した。また、マトリックス検量線は各機関で調製を行った。

4. 測定条件

LC-MS/MS の測定条件は本分析法の条件を参考に提示したが、条件は各メーカー及び各試験検査機関所有の機器で最適化して測定してもらうこととした。LCMS-8050 システム (島津製作所株) でのクロマトグラムを図 1 に示す。

測定条件 (参考)

<LC 部>

カラム : Triart Diol-HILIC plus (内径 2.1 mm ,長さ 150 mm ,粒子径 3 μ m ,YMC 社製),
カラム温度 : 40 , 注入量 : 10 μ L , 移動相 A : 0.1vol%ギ酸含有アセトニトリル, 移動相 B : 0.1vol%ギ酸溶液, グラジエント条件 : 0~5 分(A : B = 90 : 10) 5~25 分(A : B = 10 : 90) 25~30 分(A : B = 10 : 90) , 流速 : 0.2 mL/min.

<MS 部>

イオン化法 : ESI-positive , イオン化温度 : 350 , 測定モード : SRM , 各抗ウイルス剤の SRM の条件は 部のとおり。

5. 妥当性を評価するための試験プラン

外部機関評価については鶏筋肉を用いて分析法の妥当性を評価することとした。評価するための各抗ウイルス剤の添加濃度は、0.01 mg/kg (定量限界濃度) および 0.1 mg/kg (定量限界濃度の 10 倍) とした。定量限界濃度は各抗ウイルス剤とも一律基準である 0.01 mg/kg とした。試験は 3 箇所の地方衛生研究所、2 箇所の登録検査機関及び当院の 2 名の試験者(別々の実験室において異なるロットの試料を用いる)によって当院が示した試験法に従って操作を行うこととした。すなわち、各試験所及び試験者が 1 日に試料 1 種類につき 2 濃度の添加量の添加試料を 2 併行, 合計 4 回の分析を実施した。なお、各試験所及び試験者が分析を実施する際に、無添加の該当試料を 1 回分析した。精製に用いたミニカラム及び測定に用いた LC カラムは、試験法に提示したものを各機関に提供した。

6. 分析法の妥当性評価

本法の妥当性を評価するための試験プランに従って添加回収試験が各機関で実施され、その結果が当院に送付された。各機関からの測定値を解析し、推定された真度(回収率), 併行精度, 室間精度を算出し、目標値を満たすか評価した。定量に用いた検量線は、絶対検量線法、内部標準法、マトリックス検量線法の 3 種類の検量線で定量を行うこととした。

妥当性評価については、厚生労働省通知¹⁹⁾を参考にした。真度は、定量限界濃度で添加回収試験を行い、回収率が 70~120% であること。併行精度は、室内精度として 20% 未満あること。室間精度について明記されていないので、AOAC のガイドラインに記載されている²⁰⁾⁻²³⁾、Thompson の式(修正 Horwitz の式)より、定量限界 0.01 mg/kg の場合である標準偏差 22% 未満とした。

7. 加工品への適用

1) 試料

東京都内及び神奈川県内のスーパーで購入した鶏卵、唐揚げ、焼き鳥(タレ付き胸肉、レバー及びハツ)を試料とした。

2) 試験溶液の調製

3. 試験法プロトコルに準拠して行った。

結果および考察

1 .各メーカーに分析を依頼した測定値の評価

各メーカーにおける分析結果を表 1 に示した。安定同位体があるアマンタジン、リマンタジン、オセルタミビル、ザナミビル、アシクロビル及びリバビリンの回収率は一部で不十分なメーカーがあったがほとんどは70~120%と良好な結果を得ることができた。安定同位体がなく絶対検量線で定量を行なったペラミビル及びラニナミビルでは、特にラニナミビルの回収率が4%前後と極めて低い結果がある一方、140%を示すような機種もあり、満足な結果を得ることが出来なかった。この部分に限ってみると比較的良かったメーカーが1社あったが、おしなべてよくない結果であった。いずれにしても同一の試料から得られた試験溶液による分析を依頼しており、マトリックスは共通のため、機器の特性によるものかもしれない。アルビドール及びイミキモドは一部のメーカーで回収率が悪かったが、その他のメーカーでは良好な回収率を得ることができた。絶対検量線での定量分析については各メーカーで試験溶液を希釈したり、注入量を減らすなどマトリックスの影響を少なくすることで十分な回収を得ることができたと考えられた。

2 .試験検査機関に分析を依頼した測定値の評価

外部機関5機関及び当院で実施した2試行を加えた7試行について室間再現性を確認した。AOAC INTERNATIONAL においては、有効試験所数は10ヶ所以上、試料は1マトリックスあたり2濃度、1濃度あたり6試料など細かい規定がある。本検討では参加機関の所有する機器の感度の差や外部機関評価を実施する機関への負担を軽減することを考

慮して試料を鶏筋肉の1試料として0.01 mg/kg及び0.1 mg/kgの2濃度について添加回収試験を行い、室間精度等の妥当性を確認することとした。

実施された添加回収実験の中で無添加試料でリバビリンの保持時間付近に大きな妨害ピークが出現し、リバビリンの測定が出来ない機関があった。リバビリンについては、無添加試料でリバビリンの保持時間付近に妨害ピークが認められるケースがしばしばある。機器によって分離できないことも考えられたが、当院で使用したLCMS-8050システムでは分離することができた。そのクロマトグラムを図2に示す。選択性については、ブランク試料に妨害ピークを認める場合、定量限界濃度に相当する披検査物質のピークの面積(又は高さ)の1/3未満であることとされている。今回のリバビリンの測定において定量限界濃度相当の1/3以上の高さの妨害ピークが無添加試料に観察された機関があった。提示した分析法はリバビリンと妨害ピークの分離も考慮して作成したつもりであったが、たまたま購入した鶏肉の特性なのか、LC条件の僅かな違いによって分離できなかったのか確認が必要と思われた。実施機関によってはその妨害ピークとリバビリンとの分離が不十分で測定不能と判断せざるを得ない場合があった。これらのものは評価の対象から除いた。

各抗ウイルス剤の定量は、絶対検量線法、内部標準添加法、マトリックス検量線法を併用あるいは選択して行うこととしたが、絶対検量線法では、マトリックスの影響が大きく定量することが困難であった。マトリックスの影響は、ウイルス剤の種類や測定を行った試験室に依存するものではなく、試料に由来するものであった。内部標準添加法では、安定同位体を用いた内部標準による補正であり、正確な定量値を得ることができ、安定同位体はすべての薬剤について入手できず、これを用いて定量が行える薬剤が限られていた。マトリックス検量線は、決定係数が0.90~1.00と対象とした薬剤において良好な直線性を得ることができた。そこで、今回の妥当性評価には、マトリックス検量線を用いて測定した結果を用いた。

1) 真度(回収率)

表2に示す通り、定量限界付近での添加回収率は、8.3~175%であった。また、定量限界の10倍量添加(高濃度)した添加回収率は、表3に示す通り、0.9~127.8%であった。どちらの回収試験においてもザナミビル、アルビドール及びリバビリンは、良好な結果を得ることのできた機関と得ることのできなかつた機関に分かれた。これは、夾雑物の影響を受けたことにより定量値が低くなることによると考えられた。特に、リバビリンはリバビリンの保持時間に近接したところに大きな夾雑ピークが検出され、このピークとリバビリンを分離できた機関では回収率が良好であったと考えられる。しかし、すべての機関において全く回収できなかつた抗ウイルス剤はなく、最低でも2試験室において70%以上の回収率を得ることができた。

2) 室間精度

回収率50%以上得ることができた測定結果を用いて、併行精度及び室間精度について評価を行った。表4に示す通り、定量限界付近では、アマンタジンにおいて併行精度が21.3%とバラツキの大きな結果となったが、他の抗ウイルス剤については10%以下とそれぞれの試験室におけるデータのバラツキは小さく良好な結果を得ることができた。室間再現性については、リマンタジンで36.4%と30%を超える結果となった。高濃度における併行精度は表5に示す通り、ザナミビルを除く、すべての抗ウイルス剤において10%以下と良好な結果を得ることができた。また、室間再現性においてはラニナミビルが41.9%、リバビリンが33.6%とばらつきのある大きな結果となった。コーデックス委員会における再現性は、30%以内とされており他の抗ウイルス剤については良好な結果であった。また、コーデックスが提示する化学物質の分析法の性能指標の一つである HorRat 値は、定量限界付近で0.5~1.7、高濃度で0.6~1.9とCODEXの評価基準である0.5~2.0に適合した。今回の妥当性評価は、回収率が50%以上得られた結果を使用し、回収が得られなかつたデータについては棄却を行ったためガイドラインの求める数字に適合したと考えられた。しかし、本法はスクリーニン

グ手法として一定の評価が可能であると考えられた。

3) 室内精度

厚生労働省の示すガイドラインに従い、本試験法の妥当性確認を行った。ブランク試料について操作を行ったところ、リバビリンの保持時間の付近に夾雑ピークが認められた。共同試験においてもこのピークが定量を困難にさせる場合があった。当院においては島津社製のLC-MS/MSを用いて測定したところ分離することができ定量に問題は生じなかつた。表6に示す通り、真度(回収率)は、81.30~107.34%で良好な結果を得ることができた。併行精度は、0.7~3.5%、室内精度が2.8~8.2%であり、ガイドラインの示す目標値に適合する結果となった。

3. 加工品への適用

本試験法を鶏卵、唐揚げ、チキンナゲット及び焼き鳥への適用を行った。表7に示す通り、鶏卵、唐揚げ、チキンナゲット及び焼き鳥(胸肉)は概ね良好な回収率を得ることができた。焼き鳥(レバー)及び焼き鳥(ハツ)は、アルビドール、リバビリン、イミキモド及びアシクロビルでの回収率が良好であったが、他の抗ウイルス剤での回収率が低かつた。たれ付きの焼き鳥であったため、夾雑物が多く測定の妨害になったと考えられた。しかし、安定同位体を内部標準として定量を行うことでリマンタジン、オセルタミビル、ザナミビル及びアマンタジンは良好な回収率を得ることができた。

また、本検討に用いた加工品からは、10種の抗ウイルス剤は検出しなかつた。

結論

1. 外部機関を含む7試験所による妥当性評価において、10種の抗ウイルス剤のうちザナミビル、アルビドールおよびリバビリンの回収率についてはマトリックスの影響が大きく、機関によってバラツキが生じた。

2. 室間精度については回収率が50%以上のデータを用いて算出したところ、アマンタジンの併行精度が21.3%とバラツキのある

結果となったが、他の抗ウイルス剤については10%以下と良好な結果がえられた。

3) 室間再現性についてはラニナミビルおよびリバビリンにおいてCODEX委員会が提示する30%を上回る結果となったが、他の抗ウイルス剤については良好な結果を示し、スクリーニング手法としては一定の評価が得られたものとする。

4) 厚生労働省の妥当性ガイドラインに従った妥当性評価では真度、精度共にガイドラインの評価基準に適合した。

5) 今回、化学的性質の大きく異なる物質を組み合わせため、マトリックスの影響を除くことができず、定量性には難があることが分かった。今後、抗ウイルス剤の種類を整理し、化学的性質の近い物質を組み合わせた同時分析法について検討する所存である。

謝辞

1. 本研究に際し、外部機関評価試験に協力していただいた埼玉県衛生研究所、さいたま市衛生研究所、奈良県衛生研究所、一般財団法人石川県予防医学協会及び一般財団法人食品分析開発センターSUNATECの試験担当各位に深謝いたします。

2. 本研究に際し、依頼分析を実施していただいたABサイエックス社、waters社、Agilent technologies社、Thermo Fisher Scientific社および島津製作所(株)の担当各位、HILICカラムの作成に協力していただきましたGLサイエンス社の担当各位に深謝いたします。

文献

1) 食品安全情報 国立医薬品食品衛生研究所 No. 24 / 2005 (2005. 11.22)

2) 中国、鳥インフルエンザ抑制のために抗ウイルス剤を大量利用、人間治療用薬剤が無効に(農業情報研究所, 05.6.21)

<http://www.juno.dti.ne.jp/tkitaba/earth/epidemic/05062101.htm>

3) Ribavirin History, <http://www.news-medical.net/health/Ribavirin-History.aspx>

4) Alken, G.D., Brookes, S.T., Barrow, A.,

Dunn, J.A., Grosse, C.M.

Liquid chromatographic-tandem mass spectrometric method for the determination of the neuraminidase inhibitor zanamivir (GG167) in human serum. J chromatogr B, **732**, 383-393(1999).

5) Bahrami, G., Mohammadi, B., Kiani, A. Determination of oseltamivir carboxylic acid in human serum by solid phase extraction and high performance liquid chromatography with UV detection. J chromatogr B, **864**, 38-42(2008).

6) Lindegardh, N., Hanpithakpoong, W., Wattangoon, Y., Singhasivanon, P., White, J.N., Day N.P.J. Development and validation of a liquid chromatographic-tandem mass spectrometric method for determination of Oseltamivir and its metabolite oseltamivir carboxylate in plasma, saliva and urine. J chromatogr B, **859**, 74-83(2007).

7) Liu, Y., Xu, C., Yan, R., Lim, C., Yeh, L.T., Lin, C.C. Sensitive and specific LC-MS/MS method for the simultaneous measurements of varamidine and ribavirin in human plasma. J chromatogr B, **832**, 17-23(2006)

8) Heining, K. Bucheli, F. Sensitive determination of oseltamivir and oseltamivir carbokylate in plasma, urine, cerebrospinal fluid and brain by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J chromatogr B, **876**, 129-136(2008).

9) Sioufi, A., Pommier, F. Gas chromatographic determination of amantadine hydrochloride in human plasma and urine. J chromatogr B, **183**, 33-39 (1980).

10) Baughman, T.M., Wright, A.L., Hutton, K.A. Determination of zanamivir in rat and monkey plasma by positive ion Hydrophilic interaction chromatography(HILIC) / tandem mass spectrometry. J chromatogr B, **852**, 505-511(2007).

11) David, J.S., Geoffrey, L., Alison, M.B., Willard, L., Ke-Yu, W., Kenneth, C.C.

Metabolism of the Influenza Neuraminidase Inhibitor Prodrug Oseltamivir in the Rat. DRUG METABOLISM & DISPOSITION, **28**, 737-741(2000).

12) Ohura, K., Tasaka, K., Hashimoto, M., Imai, T. Distinct Patterns of Aging Effects on the Expression and Activity of Carboxylesterases in Rat Liver and Intestine. Drug Metab Dispos, **42**, 264-273(2014).

13) Liu, Z., Yang, F., Yu, K., Lin, Y., Liu, S., Zhang, Q., Su, Z. Multi-residue determination of five antiviral drugs in chicken tissues by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. Chinese J Chromatogr, **30**, 1253-1259(2012).

14) Chan, D., Tarbin, J., Sharman, M., Carson, M., Smith, M., Smith, S. Screening method for the analysis of antiviral drugs in poultry tissues using zwitterionic hydrophilic liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Anal Chim Acta, **700**, 194-200 (2011).

15) Berendsen, B. J. A., Wegh, R. S., Essers, M. L., Stolker, A. A. M., Weigel, S. Quantitative trace analysis of a broad range antiviral drugs in poultry muscle using column-switch liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. Anal Bioanal chem, **402**, 1611-1623(2012).

16) 萩原 路, 朝倉敬行, 寶龍久枝, 村上麻里子, 中里光男, 安田和男. LC-MS/MS を用いた抗ウイルス剤の分析法, 第106回日本食品衛生学会学術講演会, 講演要旨集, p121 (平成25年11月21~22日、沖縄)

17) 鶴岡由美, 中島崇行, 橋本常生, 神田真軌, 林 洋, 松島陽子, 吉川聡一, 永野智恵子, 高野伊知郎. LC-MS/MS による鶏組織および鶏卵中アマンタジンの分析法の開発, 第107回日本食品衛生学会学術講演会, 講演要旨集, p47 (平成27年5月4~5日、東京)

18) 前田尚之, 田中絵美, 榎 加奈恵, 吉田由香, 佐々木道夫, 吉田 博. LC-MS/MS による鶏肉およびその加工品中のアマンタジン 分析法の開発, 食品衛生研究, **64**,

35-45(2014) .

19)厚生労働省医薬食品局食品安全部部長通知.平成22年12月24日食安発1224第1号

「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」

20) 安井明美. 食品分析における信頼性確保. The Chemical Times, 191, 13-18(2004)

21) INTERLABORATORY COLLABORATIVE STUDY AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS (2002) Appendix D, p. 1-12

22) Codex Alimentarius Commission, Procedural Manual, 21th Edition, Food and Agriculture

Organization of the United Nations, World Health Organization, 2013.

23) MICHAEL, T.,STEPHEN, L. R. E., ROGER W., Harmonised guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis, International Union of Pure and Applied Chemistry, Pure Appl. Chem., **74**(5):835-855 (2002) .

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

無し

H. 知的財産権

無し