

## Ⅱ．分担研究報告

### 2. 課題2:食品中アミノグリコシド系抗生物質分析法の 開発

研究分担者 坂井隆敏



厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)  
平成 28 年度 分担研究報告書

食品中残留農薬等の分析法に関する研究  
課題2. 食品中アミノグリコシド系抗生物質分析法の開発

研究分担者 坂井隆敏 国立医薬品食品衛生研究所 食品部主任研究官

**研究要旨**

食品中アミノグリコシド系抗生物質の簡易・迅速な分析法の開発を目的として、先ず、アミノグリコシド系抗生物質の高感度且つ高精度な測定法の確立について検討した。

両性イオン型官能基を修飾した親水性相互作用クロマトグラフィー用分析カラムを使用し、適切な移動相条件を検討した結果、選択した全ての検討対象化合物(11 化合物)において比較的良好なピーク形状が得られた。

**A. 研究目的**

アミノグリコシド系抗生物質は、人や動物用の医薬品として広く使用されている。

農薬・動物用医薬品等の成分である物質については、使用された動物由来の食品の摂食により人の健康に害を及ぼすことのないよう、食品中の残留基準が設定されており、アミノグリコシド系抗生物質についても、動物用医薬品として使用される物質については食品中の残留基準が設定されている。したがって、各食品中のアミノグリコシド系抗生物質を検査する必要があるが、効率的な検査を実施するためには、食品中アミノグリコシド系抗生物質の簡易・迅速・高精度な分析法が必要不可欠である。

畜水産食品中のアミノグリコシド系抗生物質の試験法としては、「ゲンタマイシン試験法(畜水産物)」及び「ジヒドロストレプトマイシン、ストレプトマイシン、スペクチノマイシン及びネオマイシン試験法(畜水産物)」が通知されているが、食品によっては効率的に精確な分析値が得られない場合があることが報告されている。また、当該試験法は、LC-MS(/MS)測定においてイオンペア

試薬(ヘプタフルオロ-*n*-酪酸)を含む移動相が使用されているが、LC-MS 用のイオンペア試薬の多くは腐食性が高く、分析機器への負担が大きい。

以上のような理由から、本研究においては、食品中のアミノグリコシド系抗生物質の簡易・迅速・高精度な分析法の開発を検討した。

研究初年度である平成 28 年度は、非常に極性が高い物質であるアミノグリコシド系抗生物質について、イオンペア試薬を使用することなく、また、誘導体化などの煩雑な操作を行うことなく、LC-MS/MS で高感度且つ高精度に測定可能な測定条件の確立について検討した。

**B. 研究方法**

①検討対象化合物

検討対象化合物は、アミノグリコシド系抗生物質の中から構造や分子量、物性等を考慮し、アプラマイシン、アミカシン、カスガマイシン、カナマイシン、ゲンタマイシン C1(ゲンタマイシンの主要構成成分)、ジヒドロストレプトマイシン、ストレプトマイシン、スペクチノマイシン、ネオマイシン

、ネチルマイシン及びハイグロマイシン B(ハイグロマイシンの主要構成成分)の合計 11 化合物を選択した。

#### ②標準原液及び標準溶液の調製

選択した検討対象化合物について、それぞれ 1 mg/mL の標準原液を調製した。次いで、調製した標準原液を 0.1 vol%ギ酸及び 0.1 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液(1:1)混液で希釈・混合し、必要な濃度の標準溶液もしくは混合標準溶液を調製した。

#### ③タンデム型質量分析条件の設定

調製した標準溶液を用いて、タンデム型質量分析計(MS/MS)における測定条件の最適化を行った。すなわち、各検討対象化合物の 10 µg/mL 標準溶液をそれぞれフローインジェクションでMS/MSに注入し、プリカーサーイオン、プロダクトイオン、コーン電圧及びコリジョンエネルギー等の測定パラメータを最適化した。

#### ④液体クロマトグラフィー条件の検討

液体クロマトグラフ(LC)における測定条件の検討は、種々の分析カラムと移動相を用いて測定を行い、各検討対象化合物について得られたピーク形状や測定感度等を比較・考察し、最適測定条件の設定を試みた。なお、本検討には各検討対象化合物 100 ng/mL の混合標準溶液を用いた。

#### ⑤装置及び測定条件等

以下に、本研究で使用した装置及び測定条件等を示した。

LC: Acquity UPLC (Waters 製)

分析カラム: ZIC-cHILIC PEEK HPLC Column(内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 µm、MERCK MILLIPORE 社製)

カラム温度: 40°C

流速: 0.4 mL/分

注入量: 5 µL

移動相:

A 液 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)、など

B 液 0.1 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液

グラジエント条件:

t<sub>0</sub>, B=50%; t<sub>5</sub>, B=50%; t<sub>15</sub>, B=5%; t<sub>25</sub>, B=5%; t<sub>25.1</sub>, B=50%; t<sub>35</sub>, B=50%

MS/MS: Xevo TQ-S (Waters 製)

ソース温度: 150°C

脱溶媒温度: 600°C

窒素ガス流量: 1000 L/hr

コーンガス流量: 150 L/hr

キャピラリー電圧: 1.5 kV

イオン化法: エレクトロスプレーイオン化(ESI)法・ポジティブイオンモード

### C. 研究結果及び考察

#### ①タンデム型質量分析条件の設定

MS/MS 測定条件の最適化において得られた、各検討対象化合物のプリカーサーイオン、プロダクトイオン、コーン電圧及びコリジョンエネルギー等を表 1 に示した。表 1 に示される通り、全ての検討対象化合物は、ESI のポジティブイオンモードにおいて「プロトン付加分子イオン」と推察されるイオンが検出された。本研究では、これらのイオンを検討対象化合物のプリカーサーイオンとして選択した。プロダクトイオンは、選択したプリカーサーイオンを衝突誘起解離によりフラグメント化して得られるイオンの中から、最もイオン強度が高いイオンを選択した。

以上のように、MS/MS 測定における測定イオンとして、各検討対象化合物に特異的と考えられるイオンを選択可能であったことから、設定した MS/MS 条件を適切な LC 条件と組み合わせ

ることにより、誘導体化等の煩雑な操作を行うことなく、各検討対象化合物を複雑な食品マトリクス中から特異的に検出可能であることが期待された。

## ②液体クロマトグラフィー条件の検討

LC における測定条件の検討は、先ず種々の分析カラムを用いてアミノグリコシド系抗生物質測定への適用性を検討した。親水性相互作用クロマトグラフィーで一般的に使用されるカルバモイル基、トリアゾール基、ジオール基を修飾した分析カラムを検討したところ、全ての検討対象化合物においては満足できる保持、ピーク形状及び測定感度が得られなかった。

そこで、両性イオン型官能基を修飾した ZIC-HILIC 及び ZIC-cHILIC (共に MERCK MILLIPORE 社製) を検討したところ、イオンペア試薬を用いることなく、非常に高い極性を有する検討対象化合物について良好な保持が得られたことから、以降、これら 2 種の分析カラムを用いて最適な移動相条件の検討を実施した。

LC-MS/MS 測定の移動相として一般的に使用される 0.1 vol% ギ酸及び 0.1 vol% ギ酸・アセトニトリル溶液を用いた場合には、ZIC-HILIC ではカスガマイシン及びスペクチノマイシンのみの溶出が確認された。一方、ZIC-cHILIC では、ネオマイシンを除く検討対象化合物について溶出が確認されたものの、アプラマイシン、ゲンタマイシン C1、ネオマイシン及びネチルマイシンではピークのテーリングが確認され、良好なピーク形状が得られなかった。これらの結果から、ZIC-HILIC は検討対象化合物の保持が強すぎると判断し、以降は ZIC-cHILIC について適切な移動相条件の検討を行った。

分析カラムに ZIC-cHILIC、移動相に 0.1 vol% ギ酸及び 0.1 vol% ギ酸・アセトニトリル溶液を用

いた場合には、ネオマイシン以外の検討対象化合物は溶出可能であったものの、アプラマイシン、ゲンタマイシン C1、ネオマイシン及びネチルマイシンにおいてはピークのテーリングが確認された。そこで、ネオマイシンの溶出、並びに、テーリングが確認された検討対象化合物のピーク形状の改善を目的として、移動相 A 液のギ酸濃度を 0.2 vol% に増加して測定を行った。その結果、ネオマイシンについても溶出が確認され、本研究で選択した全ての検討対象化合物の保持・溶出が可能であることが確認された一方、テーリングが確認された検討対象化合物のピーク形状は改善されなかった。

次いで、検討対象化合物のピーク形状の改善を目的として、移動相の添加剤(塩)濃度の検討を行った。添加する塩としては、MS/MS 測定における揮発性等を考慮してギ酸アンモニウムを選択した。なお、上述の通り、全検討対象化合物の溶出には低 pH 条件が必要と考えられたことから、移動相の pH は 0.2 vol% ギ酸の pH と同様に 2.5 に調整(ギ酸を用いて pH 調整)した。移動相 A 液に 0.2 vol% ギ酸、2 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液 (pH 2.5)、5 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液 (pH 2.5)、10 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液 (pH 2.5)、20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液 (pH 2.5) 及び 50 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液 (pH 2.5) を用い、各検討対象化合物のピーク形状及び測定感度等を比較検討した。

図 1 に、0.2 vol% ギ酸、5 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液 (pH 2.5) 及び 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液 (pH 2.5) で得られた各検討対象化合物のクロマトグラムを示した。図 1 に示される通り、移動相 A 液にギ酸アンモニウムを添加することにより、検討対象化合物のピーク形状を改善可能であることが推察された。

また、表 2 に、本検討で得られた各検討対象化合物の保持時間、ピーク面積、ピーク高さ及び S/N を示した。また、ピーク形状の指標として「高さ/面積」の値を示した。一般的には、算出した「高さ/面積」の値が大きい程、ピーク形状は良好になるものと予想された。表 2 に示される通り、移動相 A 液中のギ酸アンモニウム濃度の増加に伴い、「高さ/面積」の値が増加する傾向が確認された。このことから、移動相 A 液中のギ酸アンモニウム濃度の増加に伴い、各検討対象化合物について得られるピーク形状も良好になることが予想された。

一方、表 2 に示される通り、移動相 A 液中のギ酸アンモニウム濃度の増加に伴い、各検討対象化合物で得られるピーク面積、ピーク高さ及び S/N は減少する傾向が確認された。

本研究では、検討対象化合物のピーク形状と測定感度の兼ね合いを考慮し、移動相 A 液としては 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液 (pH 2.5) を選択した。

以上の検討結果及び考察から、本研究で設定した LC-MS/MS 測定条件を用いることで、イオンペア試薬を使用することなく、また、誘導体化などの煩雑な操作を行うことなく、多くのアミノグリコシド系抗生物質を特異的且つ簡便に測定可能であると考えられた。

#### ③設定した LC-MS/MS 測定条件下における各検討対象化合物の測定

本研究で設定した LC-MS/MS 測定条件下で、各検討対象化合物 100 ng/mL の混合標準溶液を 10 併行で測定した。結果を表 3 に示した。

表 3 に示される通り、各検討対象化合物の保持時間の変動は 0.3 RSD%未満であり、繰り返し測定における保持時間のずれはほとんど無いことが確認された。

一方、ピーク面積値の変動は 2.4~16.3 RSD% であり、特にゲンタマイシン C1、ネオマイシン及びネチルマイシンにおいて変動が大きいことが確認された。今回の繰り返し測定においては、全検討対象化合物について、測定回数の増加に伴うピーク面積値の減少傾向が確認された。ゲンタマイシン C1、ネオマイシン及びネチルマイシンについては特に減少の割合が大きく、その結果、ピーク面積値の変動が大きくなったものと考えられた。

今回の検討で確認されたピーク面積値の減少傾向の原因を調査し、全検討対象化合物についてより安定した測定結果が得られるよう、測定条件を改善する必要があると考えられた。

#### D. 結論

食品中アミノグリコシド系抗生物質分析法の開発を目的として、研究初年度である平成 28 年度は、LC-MS/MS を用いたアミノグリコシド系抗生物質の高感度且つ高精度な測定法の確立について検討した。

MS/MS 測定条件については、各検討対象化合物の測定条件 (プリカーサーイオン、プロダクトイオン、コーン電圧及びコリジョンエネルギー) を設定した。LC 条件については、種々の検討結果から、分析カラムとして ZIC-cHILIC (MERCK MILLIPORE 社製)、移動相として 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液 (pH 4.5) 及び 0.1 vol% ギ酸・アセトニトリル溶液を用いることで、全ての検討対象化合物について良好なピーク形状が得られた。

設定した LC-MS/MS 条件を用いて各検討対象化合物の繰り返し測定を行ったところ、一部の化合物においては測定回数の増加に伴うピーク面積値の減少傾向が大きいことが確認されたこ

とから、原因を調査した後、測定条件の若干の改善が必要であると考えられた。

なし

#### **E. 健康危険情報**

なし

#### **F. 研究発表**

##### **1. 論文発表**

#### **2. 学会発表**

なし

#### **G. 知的財産権の出願・登録状況**

なし

表 1 タンデム型質量分析における検討対象化合物の測定条件

検討対象化合物	分子量	化学式	ESI	プリカーサーイオン (m/z)	コロン電圧 (V)	プロダクトイオン (m/z)	コリジョンエネルギー (eV)
アラマイシン	539.59	C <sub>21</sub> H <sub>41</sub> N <sub>5</sub> O <sub>11</sub>	+	540.3	20	217.2	25
アミカシン	585.60	C <sub>22</sub> H <sub>43</sub> N <sub>5</sub> O <sub>13</sub>	+	586.3	20	163.2	25
カスガマイシン	379.36	C <sub>14</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O <sub>9</sub>	+	380.1	20	112.1	15
カナマイシン	484.50	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> N <sub>4</sub> O <sub>11</sub>	+	485.3	20	163.2	20
ゲンタマイシンC1	477.60	C <sub>21</sub> H <sub>43</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	+	478.3	20	322.3	15
ジヒドロストレプトマイシン	583.59	C <sub>21</sub> H <sub>41</sub> N <sub>7</sub> O <sub>12</sub>	+	584.3	80	263.2	25
ストレプトマイシン	581.58	C <sub>21</sub> H <sub>39</sub> N <sub>7</sub> O <sub>12</sub>	+	582.3	100	263.2	30
スペクチノマイシン	332.35	C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	+	333.2	60	98.1	25
ネオマイシン	614.65	C <sub>23</sub> H <sub>46</sub> N <sub>6</sub> O <sub>13</sub>	+	615.4	20	161.2	25
ネチルマイシン	475.58	C <sub>21</sub> H <sub>41</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	+	476.3	20	299.3	20
ハイグロマイシンB	527.50	C <sub>20</sub> H <sub>37</sub> N <sub>3</sub> O <sub>13</sub>	+	528.2	20	177.2	25



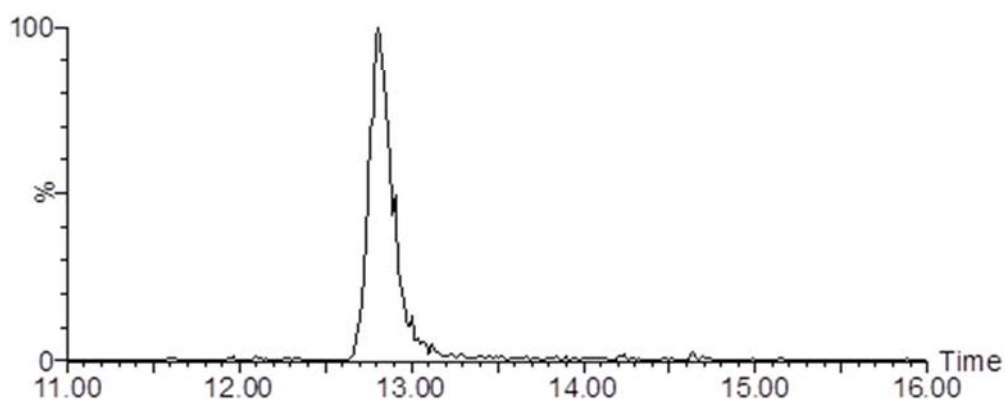
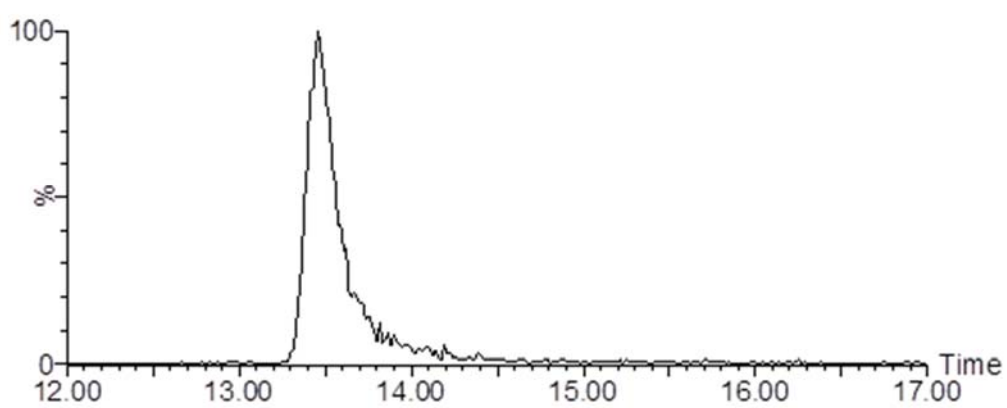
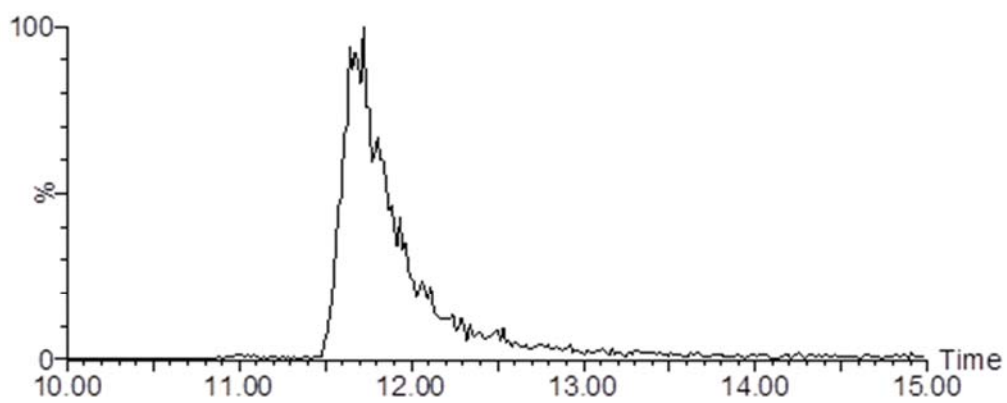


図 1-1 アプラマイシンのクロマトグラム

上段:移動相 A 液 0.2 vol%ギ酸

中段:移動相 A 液 5 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

下段:移動相 A 液 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

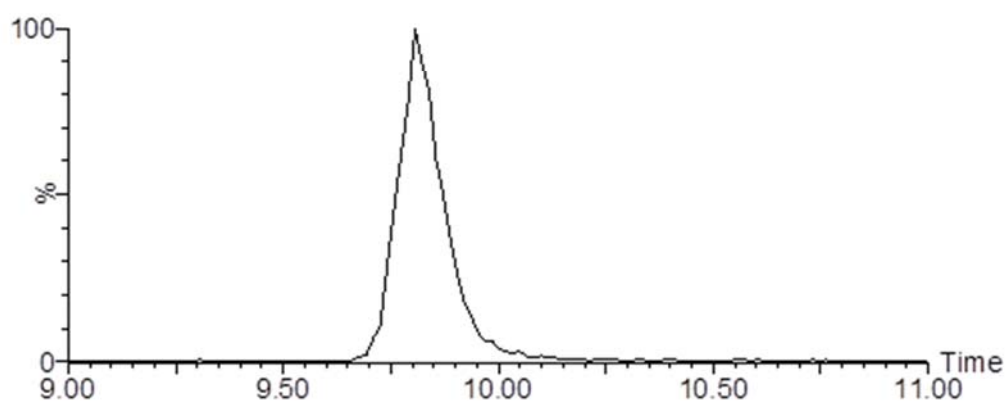
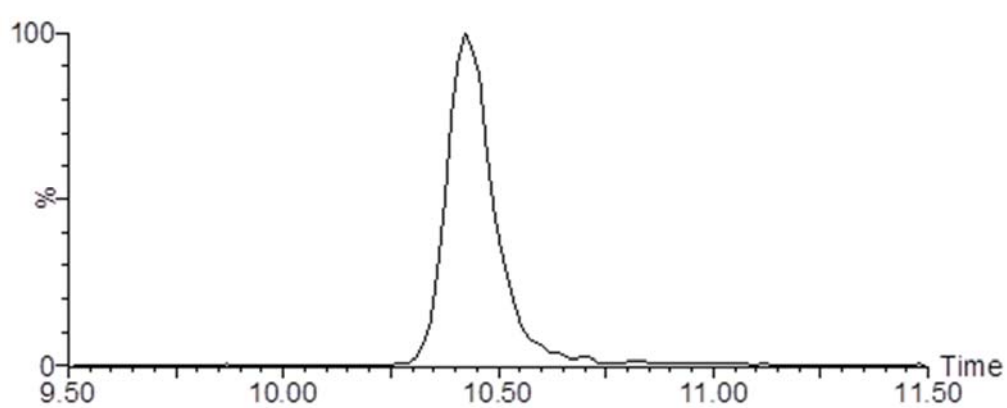
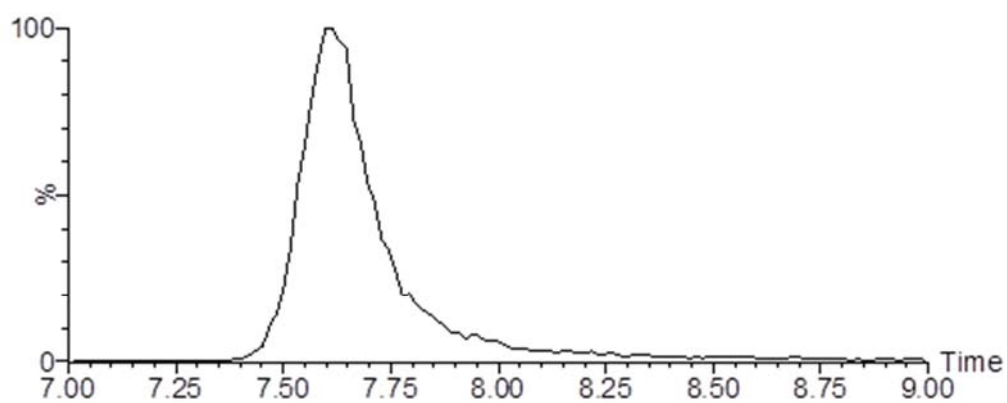


図 1-2 アミカシンのクロマトグラム

上段:移動相 A 液 0.2 vol%ギ酸

中段:移動相 A 液 5 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

下段:移動相 A 液 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

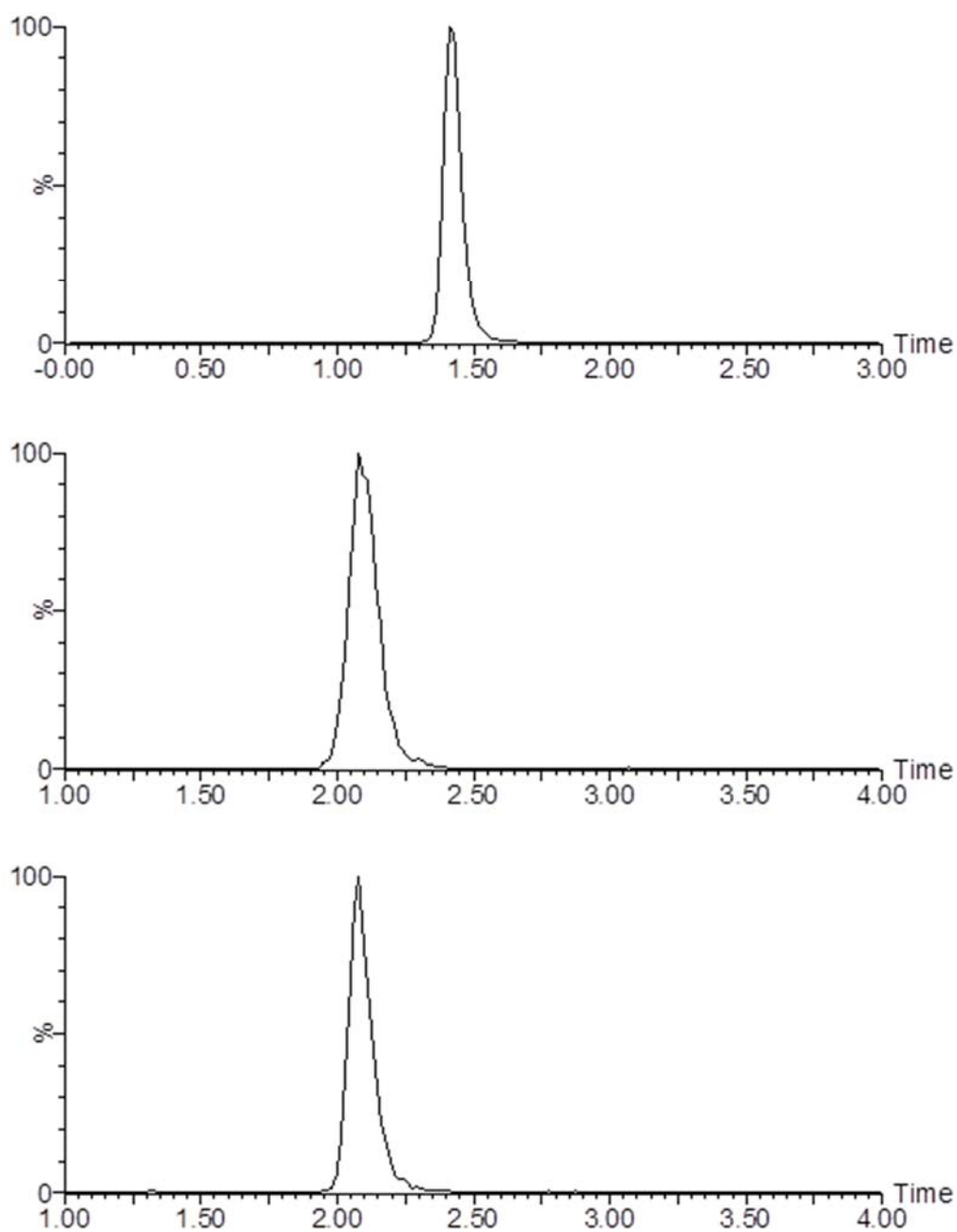


図 1-3 カスガマイシンのクロマトグラム

上段:移動相 A 液 0.2 vol%ギ酸

中段:移動相 A 液 5 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

下段:移動相 A 液 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

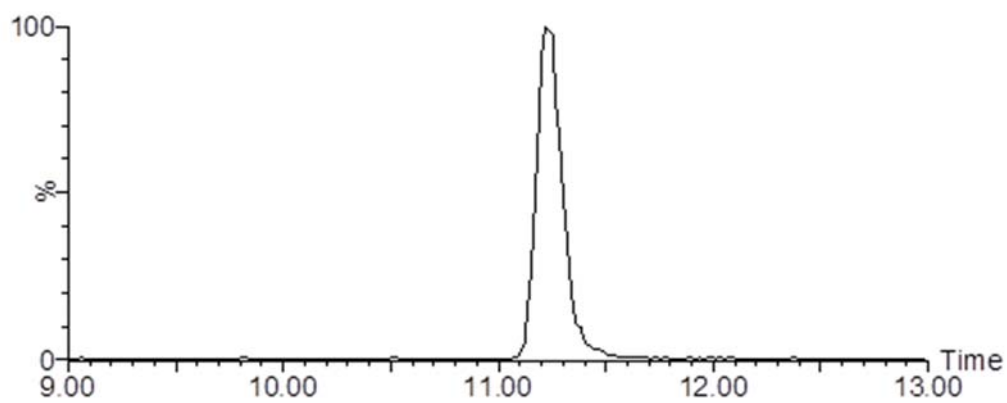
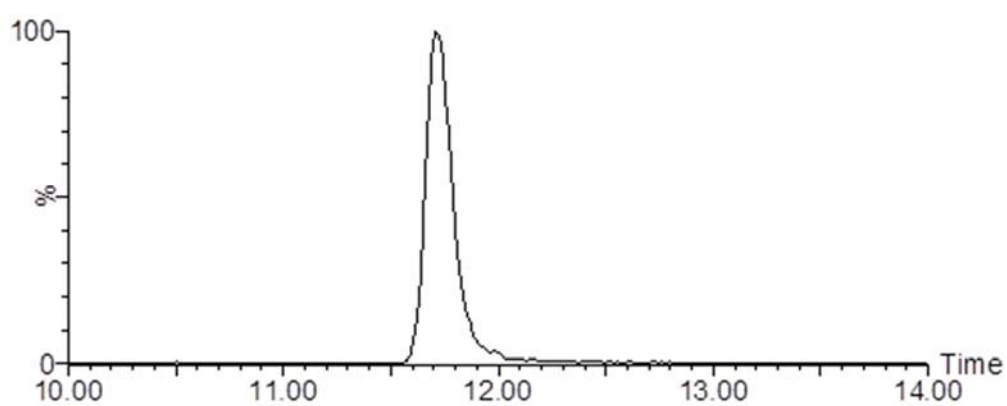
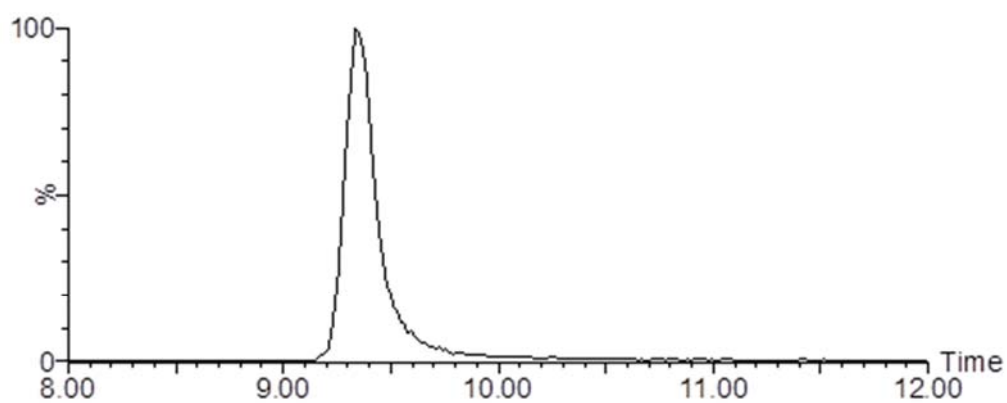


図 1-4 カナマイシンのクロマトグラム

上段:移動相 A 液 0.2 vol%ギ酸

中段:移動相 A 液 5 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

下段:移動相 A 液 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

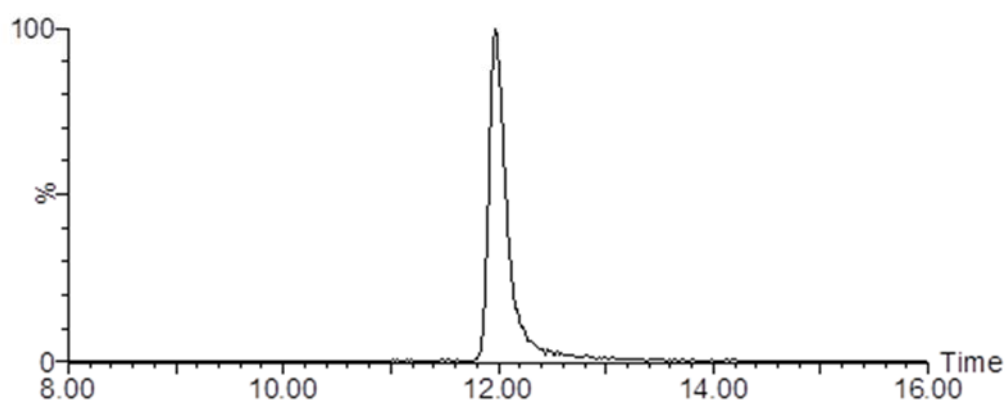
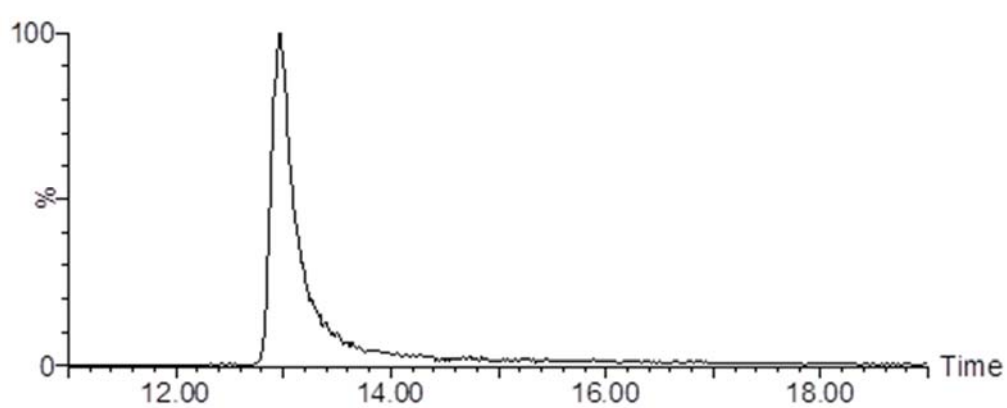
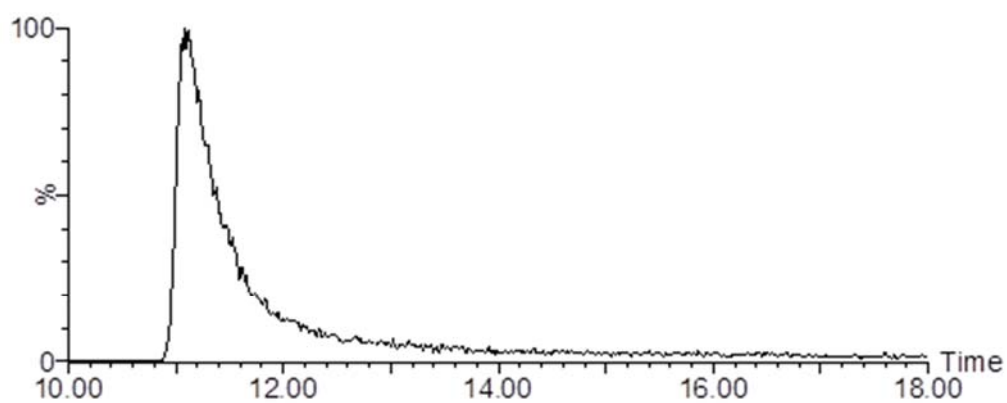


図 1-5 ゲンタマイシン C1 のクロマトグラム

上段:移動相 A 液 0.2 vol%ギ酸

中段:移動相 A 液 5 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

下段:移動相 A 液 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

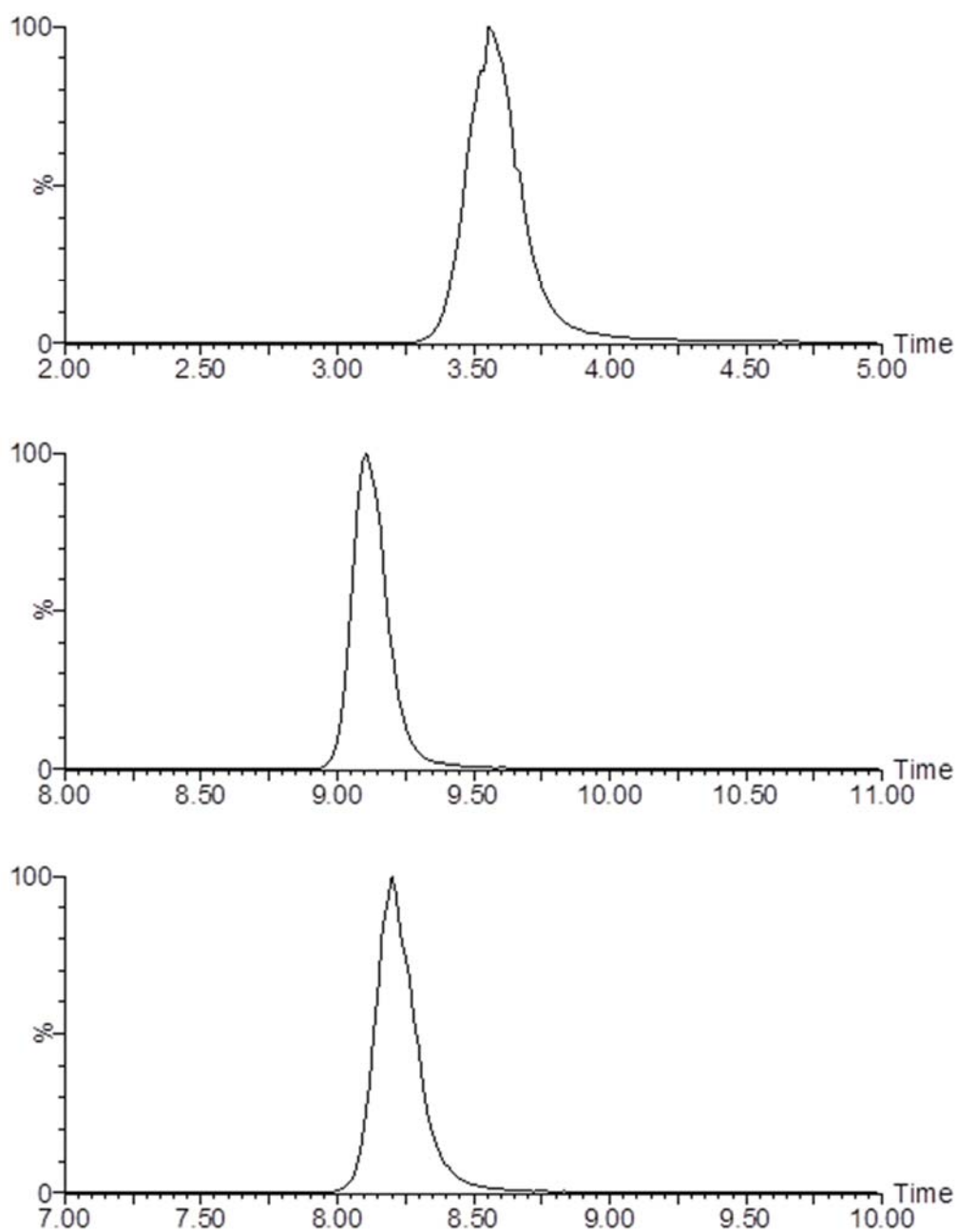


図 1-6 ジヒドロストレプトマイシンのクロマトグラム

上段:移動相 A 液 0.2 vol%ギ酸

中段:移動相 A 液 5 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

下段:移動相 A 液 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

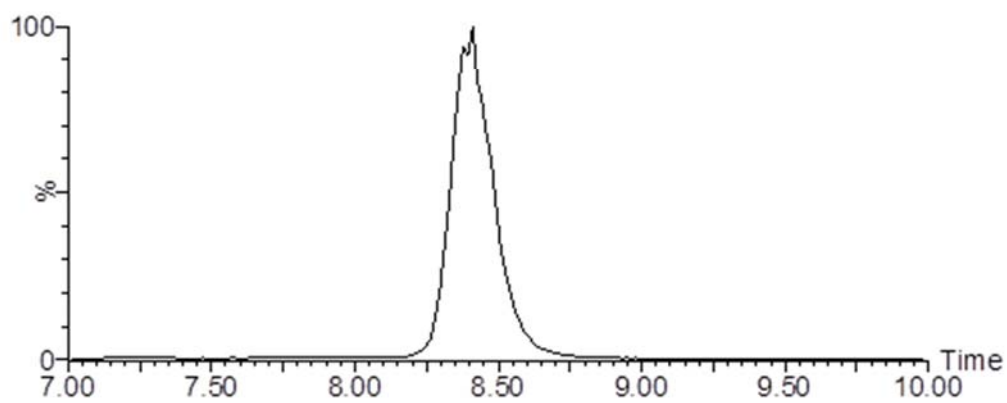
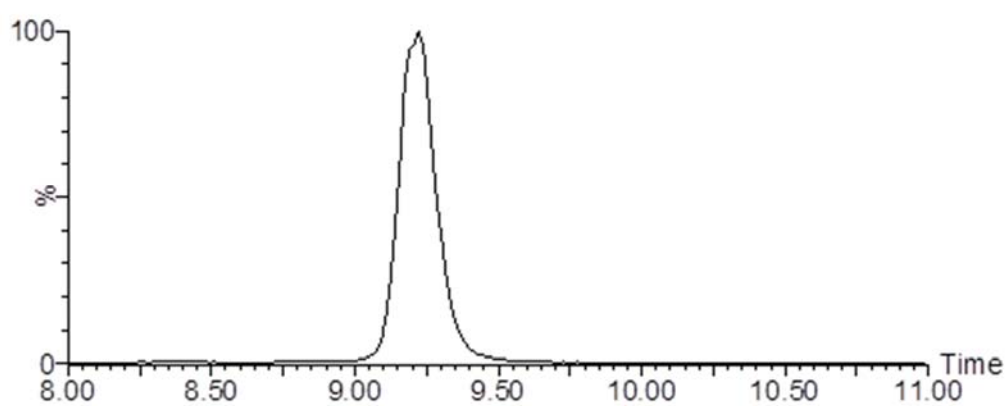
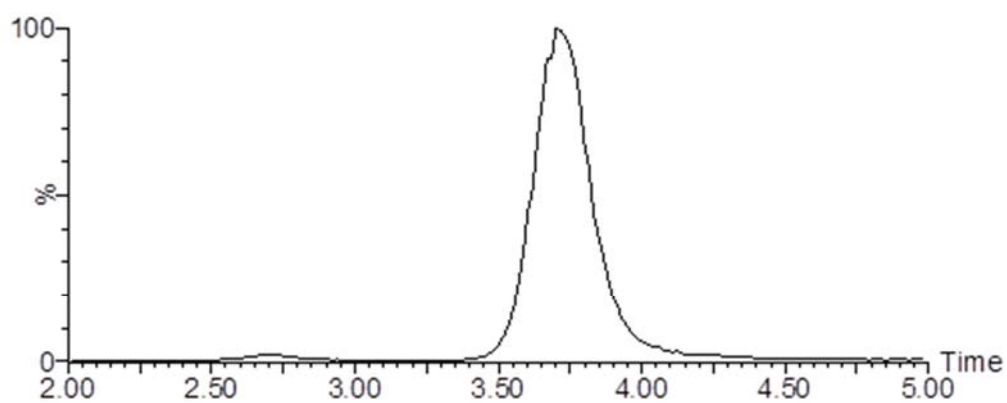


図 1-7 ストレプトマイシンのクロマトグラム

上段:移動相 A 液 0.2 vol%ギ酸

中段:移動相 A 液 5 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

下段:移動相 A 液 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

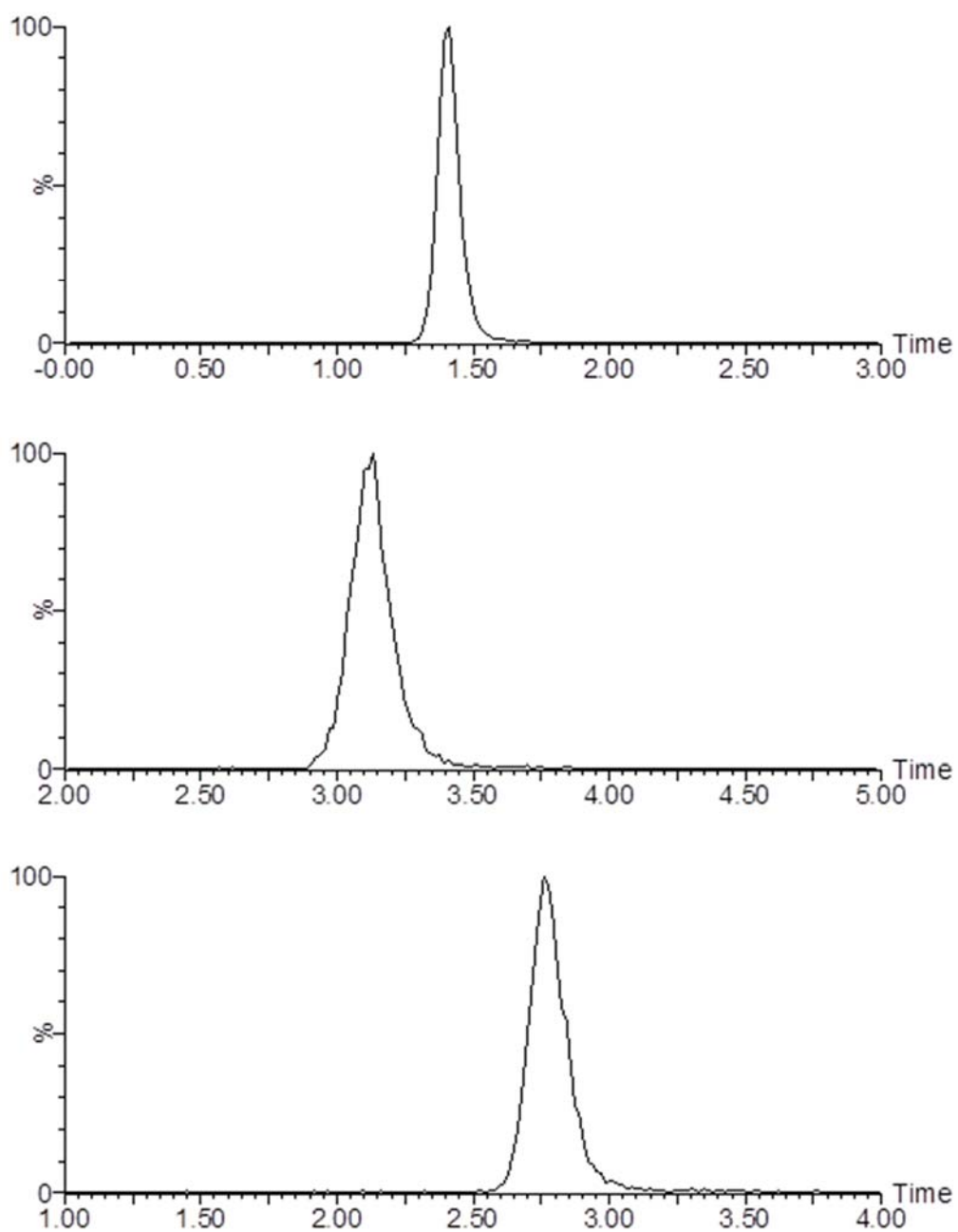


図 1-8 スペクチノマイシンのクロマトグラム

上段:移動相 A 液 0.2 vol%ギ酸

中段:移動相 A 液 5 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

下段:移動相 A 液 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)



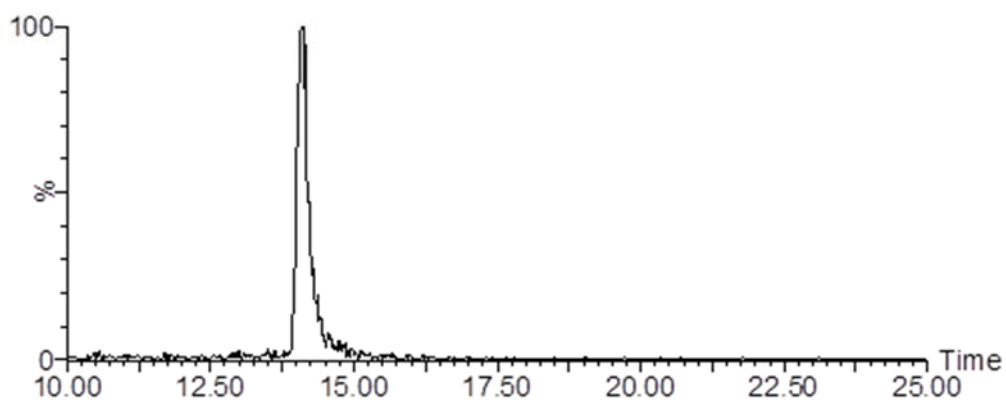
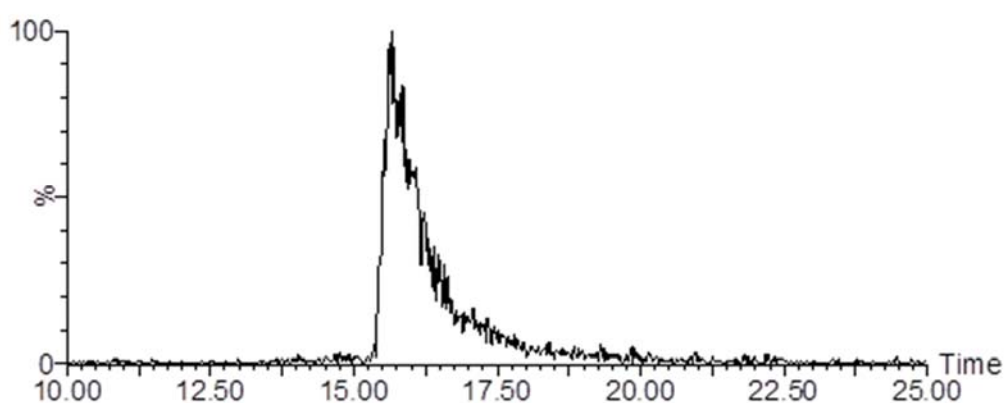
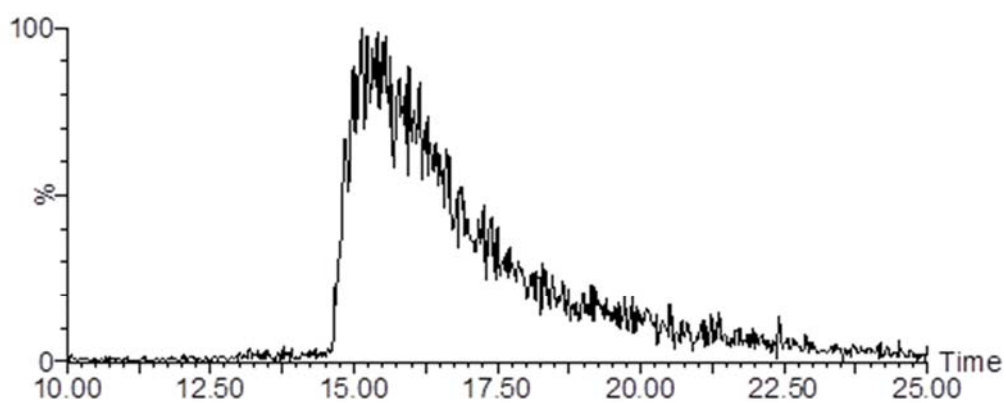


図 1-9 ネオマイシンのクロマトグラム

上段:移動相 A 液 0.2 vol%ギ酸

中段:移動相 A 液 5 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

下段:移動相 A 液 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

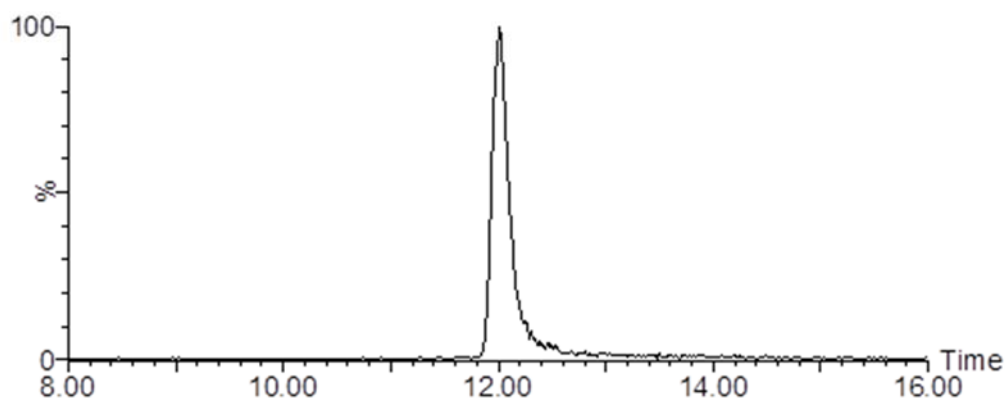
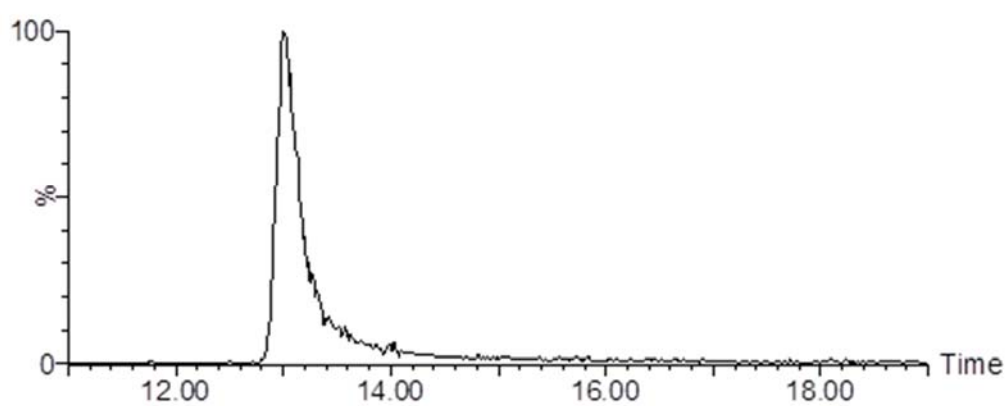
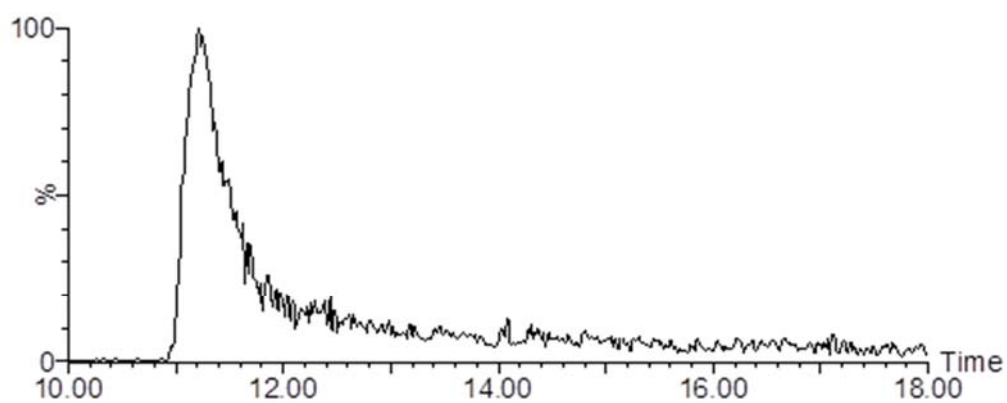


図 1-10 ネチルマイシンのクロマトグラム

上段:移動相 A 液 0.2 vol%ギ酸

中段:移動相 A 液 5 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

下段:移動相 A 液 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

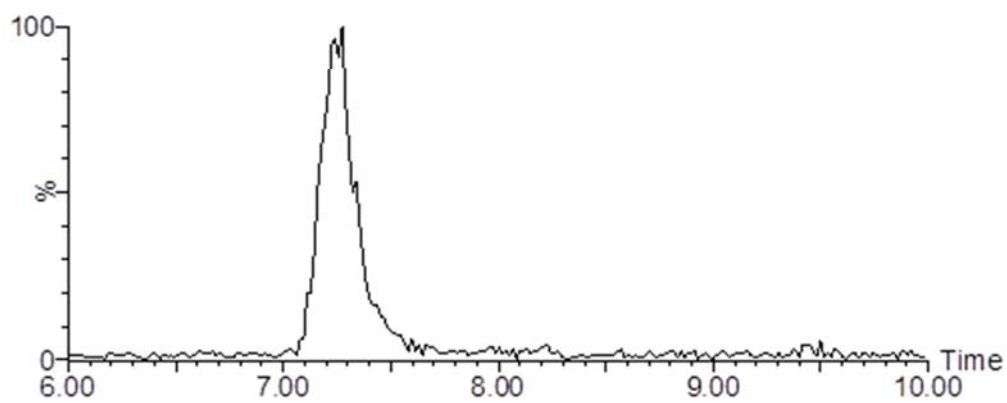
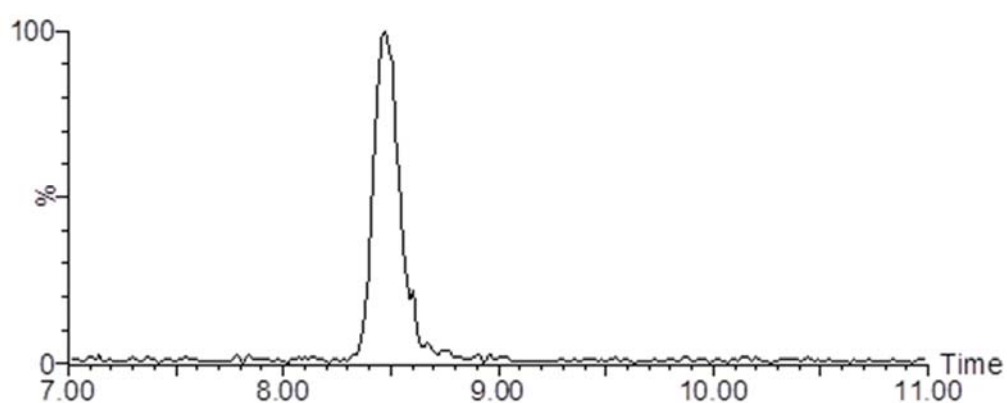
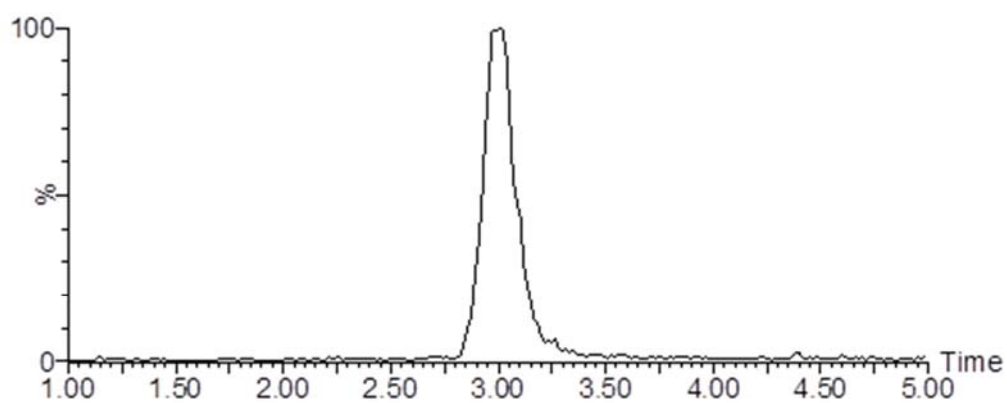


図 1-11 ハイグロマイシンのクロマトグラム

上段:移動相 A 液 0.2 vol%ギ酸

中段:移動相 A 液 5 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

下段:移動相 A 液 20 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.5)

表 2-1 各移動相条件におけるアプラマイシンの測定結果

移動相A液	保持時間 (分)	ピーク面積	ピーク高さ	高さ/面積	S/N
0.2 vol% 半醜	11.7	13910	35455	2.5	282
2 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	13.2	9323	28626	3.1	363
5 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	13.5	7498	28934	3.9	453
10 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	13.6	5398	25034	4.6	566
20 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	12.8	4255	23461	5.5	434
50 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	11.2	3057	17591	5.8	235

表 2-2 各移動相条件におけるアミカシンの測定結果

移動相A液	保持時間 (分)	ピーク面積	ピーク高さ	高さ/面積	S/N
0.2 vol% 半醜	7.6	39907	183352	4.6	1430
2 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	9.9	26366	171132	6.5	2156
5 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	10.4	16352	113093	6.9	1442
10 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	10.6	10770	74768	6.9	1317
20 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	9.8	8643	58484	6.8	938
50 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	8.0	7127	39737	5.6	439

表 2-3 各移動相条件におけるカスガマイシンの測定結果

移動相A液	保持時間 (分)	ピーク面積	ピーク高さ	高さ/面積	S/N
0.2 vol% 半醜	1.4	40781	388215	9.5	6349
2 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	1.9	15633	110258	7.1	4706
5 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	2.1	10569	73974	7.0	2640
10 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	2.2	7176	53558	7.5	1848
20 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	2.1	4962	38956	7.9	779
50 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	1.9	3943	33105	8.4	1201

表 2-4 各移動相条件におけるカナマイシンの測定結果

移動相A液	保持時間 (分)	ピーク面積	ピーク高さ	高さ/面積	S/N
0.2 vol% 半醜	9.4	55559	277044	5.0	1958
2 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	11.2	40877	237792	5.8	2906
5 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	11.7	24247	148058	6.1	2529
10 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	11.9	16996	106529	6.3	1578
20 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	11.2	12880	84167	6.5	1149
50 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	9.6	10147	59598	5.9	694

表 2-5 各移動相条件におけるゲンタマイシン C1 の測定結果

移動相A液	保持時間 (分)	ピーク面積	ピーク高さ	高さ/面積	S/N
0.2 vol% 半醜	11.1	68499	110871	1.6	418
2 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	12.7	76163	180966	2.4	688
5 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	13.0	54880	179841	3.3	935
10 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	13.0	43869	166493	3.8	1240
20 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	12.0	38330	181836	4.7	1385
50 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	9.7	14111	69808	4.9	1142

表 2-6 各移動相条件におけるジヒドロストレプトマイシンの測定結果

移動相A液	保持時間 (分)	ピーク面積	ピーク高さ	高さ/面積	S/N
0.2 vol% 半醜	3.6	569317	2293054	4.0	6302
2 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	8.3	734410	4112044	5.6	21917
5 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	9.1	597495	3627920	6.1	34691
10 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	9.2	351111	2070806	5.9	27979
20 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	8.2	434947	2275358	5.2	31245
50 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	5.8	80118	282231	3.5	9400

表 2-7 各移動相条件におけるストレプトマイシンの測定結果

移動相A液	保持時間 (分)	ピーク面積	ピーク高さ	高さ/面積	S/N
0.2 vol% 半醜	3.7	225168	892460	4.0	463
2 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	8.4	264761	1537624	5.8	8696
5 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	9.2	214742	1305176	6.1	17220
10 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	9.3	129859	788513	6.1	10462
20 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	8.4	155361	825408	5.3	13003
50 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	6.3	30696	110707	3.6	4258

表 2-8 各移動相条件におけるスペクチノマイシンの測定結果

移動相A液	保持時間 (分)	ピーク面積	ピーク高さ	高さ/面積	S/N
0.2 vol% 半醜	1.4	35332	300871	8.5	3538
2 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	2.5	10374	59632	5.7	959
5 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	3.1	9900	51401	5.2	734
10 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	3.2	10005	51874	5.2	696
20 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	2.8	10414	59348	5.7	693
50 mmol/L 半醜アンモニウム (pH 2.5)	2.2	8134	55816	6.9	800

表 2-9 各移動相条件におけるネオマイシンの測定結果

移動相A液	保持時間 (分)	ピーク面積	ピーク高さ	高さ面積	S/N
0.2 vol% 酢酸	15.1	34130	13314	0.4	58
2 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	16.5	8466	5264	0.6	39
5 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	15.7	13034	15755	1.2	114
10 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	15.4	4549	11000	2.4	106
20 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	14.1	4908	18188	3.7	215
50 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	12.2	3672	18894	5.1	152

表 2-10 各移動相条件におけるネチルマイシンの測定結果

移動相A液	保持時間 (分)	ピーク面積	ピーク高さ	高さ面積	S/N
0.2 vol% 酢酸	11.2	21919	28680	1.3	90
2 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	12.8	26364	54400	2.1	357
5 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	13.0	23752	73868	3.1	612
10 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	13.0	23790	86344	3.6	826
20 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	12.0	17931	86071	4.8	760
50 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	9.7	12264	57967	4.7	571

表 2-11 各移動相条件におけるハイグロマイシンの測定結果

移動相A液	保持時間 (分)	ピーク面積	ピーク高さ	高さ面積	S/N
0.2 vol% 酢酸	3.0	12676	68508	5.4	657
2 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	7.7	8542	50304	5.9	599
5 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	8.5	5692	37054	6.5	345
10 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	8.4	4247	26822	6.3	278
20 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	7.2	3472	16697	4.8	189
50 mmol/L 酢酸アンモニウム (pH 2.5)	4.6	2650	12565	4.7	67

表 3 標準溶液の測定結果

	保持時間		ピーク面積値			
	平均値 (分)	相対標準偏差 (RSD%)	最小値	最大値	平均値	相対標準偏差 (RSD%)
アブラマイシン	12.652	0.090	3083.7	4304.0	3618.0	9.046
アミカシン	9.695	0.073	2439.1	3113.4	2797.3	7.331
カスガマイシン	2.060	0.000	4503.0	5067.5	4841.4	3.531
カナマイシン	11.089	0.029	10804.5	12839.0	11589.4	5.527
ゲンタマイシンC1	11.814	0.127	7585.3	13172.8	9671.4	16.283
ジヒドロストレプトマイシン	8.074	0.104	88523.5	112963.4	101283.6	8.321
ストレプトマイシン	8.271	0.069	37037.8	45773.9	41824.7	7.398
スペクチノマイシン	2.713	0.178	8075.7	8655.3	8340.5	2.349
ネオマイシン	13.916	0.217	3229.1	4619.0	3775.9	11.395
ネチルマイシン	11.840	0.113	8757.1	14729.2	11025.8	15.357
ハイグロマイシン	7.108	0.089	2248.2	2612.3	2464.9	5.455

