

II. 分担研究報告

1. 動物性食品中の残留物質及び汚染物質の分析法の確立 と妥当性評価

研究分担者 志田(齊藤) 静夏

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)
令和7年度 分担研究報告書

動物性食品中の残留物質及び汚染物質の分析法の確立と妥当性評価

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 第三室長

研究要旨

牛肉等の食肉を EU へ輸出する際には、動物用医薬品等のモニタリング検査を実施する必要がある。また、輸出先である EU で行われる輸入時検査において A 物質が検出された場合には、我が国においても検査を実施し、原因調査を行う必要がある。本研究では、EU での輸入時検査において A 物質が検出された場合に、その原因を調査するための分析法として、鶏筋肉中のニトロイミダゾール類分析法及び牛／鶏筋肉中の β -作動薬分析法を開発し、妥当性評価試験を実施した。ニトロイミダゾール類分析法として、試料からアセトン及び酢酸で抽出した後、強酸性陽イオン交換ミニカラムで精製し、LC-MS/MS で定量及び確認する方法を確立した。鶏筋肉を用いて添加濃度 0.1 $\mu\text{g/kg}$ (ジメトリダゾール、ロニダゾール、2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾールは 0.2 $\mu\text{g/kg}$)で妥当性評価試験を実施した結果、真度、併行精度、室内精度及び選択性の目標値を満たした。また、 β -作動薬(クレンブテロール、ラクトパミン、サルブタモール、ジルパテロール、シマテロール)分析法として、試料からアセトンで抽出した後、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製し、LC-MS/MS で定量及び確認する方法を確立した。牛及び鶏筋肉を用いて添加濃度 0.5 $\mu\text{g/kg}$ (クレンブテロールは 0.05 $\mu\text{g/kg}$ 、シマテロールは 0.1 $\mu\text{g/kg}$)で妥当性評価試験を実施した結果、真度、併行精度、室内精度及び選択性の目標値を満たした。これらの結果から、ニトロイミダゾール類分析法及び β -作動薬分析法はいずれも残留分析法として妥当であることが示された。

研究協力機関

(一財)日本食品分析センター

研究協力者

田口貴章(国立医薬品食品衛生研究所)

A. 研究目的

食肉を EU へ輸出するには、欧州議会および理事会規則(EU)2017/625、欧州委員会委任規則(EU)2022/1644、および欧州委員会施行規則(EU)2022/1646 に準拠した残留物質モニタリング計画に基づき、動物用医薬品等のモニタリング検査を実施する必要がある。検査対象となる薬理活性物質は、禁止・未承認物質である A 物質(スチルベン

類、抗甲状腺薬、ステロイド類、レゾルシル酸ラクトン類、 β -作動薬等)と、その他の B 物質(抗菌性物質、駆虫剤、鎮静剤、非ステロイド性抗炎症薬、抗コクシジウム剤等)に分類される。B 物質がモニタリング部位(肝臓、腎臓等)から検出された場合は筋肉の追加検査を行い、基準値超過が確認されると原因調査が求められる。一方、A 物質がモニタリング部位(尿、肝臓、腎臓等)から検出された場合は、原因究明と必要な措置が完了するまで輸出が禁止される。また、輸出先である EU での検査で A 物質が検出された場合には、我が国においても検査を実施し、原因の調査が必要となる。

本研究では、モニタリング検査または EU におけ

る輸入時検査において A 物質が検出された場合の分析法を開発し、迅速な輸出再開を可能とする体制の整備を目的とする。本年度は、EUでの輸入時検査において筋肉から A 物質が検出された場合の原因調査のための分析法として、ニトロイミダゾール類(7 化合物)分析法および β -作動薬(5 化合物)分析法を開発し、妥当性評価試験を実施した。

B. 研究方法

[1] ニトロイミダゾール類(ジメトリダゾール、ロニダゾール、メトロニダゾール、イプロニダゾール、2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾール、1-(2-ヒドロキシエチル)-2-ヒドロキシメチル-5-ニトロイミダゾール、1-メチル-2-(2'-ヒドロキシイソプロピル)-5-ニトロイミダゾール)分析法

1. 試料

鶏の筋肉は、インターネット経由で千葉県産を購入した。可能な限り脂肪層を除き、ロボクーブブrikサーを用いて細切均一化した。

2. 試薬・試液

ジメトリダゾール標準品:純度 99.6%(富士フィルム和光純薬製) (DTZ 標準品)

ロニダゾール標準品:純度 98.95%(Dr.Ehrenstorfer 製) (RNZ 標準品)

メトロニダゾール標準品:純度 100.0%(富士フィルム和光純薬製) (MNZ 標準品)

イプロニダゾール標準品:純度 99.2%(富士フィルム和光純薬製) (INZ 標準品)

ジメトリダゾール代謝産物 A 標準品:純度 99.5%(富士フィルム和光純薬製) (HMMNI 標準品)

メトロニダゾール-OH 標準品:純度 99.1%(Sigma-Aldrich 製) (MNZOH 標準品)

イプロニダゾール代謝産物 B 標準品:純度 99.8%(富士フィルム和光純薬製) (INZOH 標準品)

ジメトリダゾール- d_3 :(富士フィルム和光純薬製) (DTZ- d_3)

ロニダゾール- d_3 :(林純薬工業製) (RNZ- d_3)

メトロニダゾール- d_4 :(林純薬工業製) (MNZ- d_4)

イプロニダゾール- d_3 :(Sigma-Aldrich 製) (INZ- d_3)

ヒドロキシジメトリダゾール- d_3 :(Toronto Research Chemicals 製) (HMMNI- d_3)

ヒドロキシメトロニダゾール- d_4 :(Toronto Research Chemicals 製) (MNZOH- d_4)

ヒドロキシイプロニダゾール- d_3 :(Toronto Research Chemicals 製) (INZOH- d_3)

メタノール、アセトニトリル、酢酸エチル、酢酸:特級(富士フィルム和光純薬製)

アセトン、28%アンモニア水:特級(関東化学製)

ギ酸:LC-MS 用(富士フィルム和光純薬製)

アセトニトリル:LC-MS 用(関東化学製)

強酸性陽イオン交換ミニカラム:Bond Elut SCX(500 mg/3 mL、Agilent 製)

メンブレンフィルター:Millex-LG(0.2 μ m、MILLIPORE 製)

水、メタノール及びギ酸の混液(900:100:1):水 900 mL、メタノール 100 mL 及びギ酸 1 mL を混合した。
酢酸エチル及び酢酸の混液(19:1):酢酸エチル 95 mL 及び酢酸 5 mL を混合した。

アセトニトリル及び 28%アンモニア水の混液(49:1):アセトニトリル(特級)98 mL 及び 28%アンモニア水 2 mL を混合した。

水及びギ酸の混液(1000:1):水 1000 mL 及びギ酸 1 mL を混合した。

標準原液:DTZ 標準品約 10 mg を精秤し、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。RNZ 標準品約 10 mg を精秤し、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。MNZ 標準品約 10 mg を精秤し、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。INZ 標準品約 10 mg を精秤し、メタノールで

溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。HMMNI 標準品約 10 mg を精秤し、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。MNZOH 標準品約 10 mg を精秤し、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。INZOH 標準品約 10 mg を精秤し、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。

内標準原液:10 mg 容量の DTZ-d₃をメタノールで洗いこみ、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。10 mg 容量の RNZ-d₃をメタノールで洗いこみ、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。10 mg 容量の MNZ-d₄をメタノールで洗いこみ、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。10 mg 容量の INZ-d₃をメタノールで洗いこみ、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。5 mg 容量の HMMNI-d₃をメタノールで洗いこみ、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。1 mg 容量の MNZOH-d₄をメタノールで洗いこみ、メタノールで溶解して 50 mg/L 溶液を調製した。2.5 mg 容量の INZOH-d₃をメタノールで洗いこみ、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。

添加用標準溶液:DTZ 標準原液、RNZ 標準原液及び HMMNI 標準原液をメタノールで希釈して 10 mg/L 混合溶液を調製した。MNZ 標準原液、INZ 標準原液、MNZOH 標準原液及び INZOH 標準原液をメタノールで希釈して 5 mg/L 混合溶液を調製した。さらに、これら溶液を水、メタノール及びギ酸の混液(900:100:1)で希釈して 2 µg/L(DTZ、RNZ 及び HMMNI)及び 1 µg/L(MNZ、INZ、MNZOH 及び INZOH)混合溶液を調製した。

添加用内標準溶液:DTZ-d₃ 内標準原液、RNZ-d₃ 内標準原液及び HMMNI-d₃ 内標準原液をメタノールで希釈して 1 mg/L 溶液を調製した。MNZ-d₄ 内標準原液、INZ-d₃ 内標準原液、MNZOH-d₄ 内標準原液及び INZOH-d₃ 内標準原液をメタノールで希釈して 0.5 mg/L 溶液を調製した。さらに、これら

溶液を水、メタノール及びギ酸の混液(900:100:1)で希釈して 20 µg/L(DTZ-d₃、RNZ-d₃ 及び HMMNI-d₃)及び 10 µg/L(MNZ-d₄、INZ-d₃、MNZOH-d₄ 及び INZOH-d₃)混合溶液を調製した。

3. 装置

ホモジナイザー:NS-52(マイクロテック・ニチオン製)

ロータリーエバポレーター:N-1000V(東京理化工械製)

遠心分離機:H-60R(コクサン製)

LC-MS/MS

装置	型 式	メーカー
MS	Xevo TQ-XS	Waters
LC	ACQUITY Premier QSM	Waters
データ処理	MassLynx	Waters

4. 測定条件

表1に示した。

5. 定量

DTZ 標準原液、RNZ 標準原液及び HMMNI 標準原液をメタノールで希釈して 10 mg/L 混合溶液を調製した。MNZ 標準原液、INZ 標準原液、MNZOH 標準原液及び INZOH 標準原液をメタノールで希釈して 5 mg/L 混合溶液を調製した。DTZ-d₃ 内標準原液、RNZ-d₃ 内標準原液及び HMMNI-d₃ 内標準原液をメタノールで希釈して 1 mg/L 溶液を調製した。MNZ-d₄ 内標準原液、INZ-d₃ 内標準原液、MNZOH-d₄ 内標準原液及び INZOH-d₃ 内標準原液をメタノールで希釈して 0.5 mg/L 溶液を調製した。さらに、これら溶液を水、メタノール及びギ酸の混液(900:100:1)で希釈して表 3 の①～⑤の内標準混合標準溶液を調製した。

DTZ、MNZ及びINZはこの溶液0.4 µLを、RNZ、HMMNI、MNZOH及びINZOHは4 µLをLC-MS/MSに注入して、得られたDTZ-d₃のピーク面積に対するDTZ、RNZ-d₃のピーク面積に対するRNZ、MNZ-d₄のピーク面積に対するMNZ、INZ-d₃のピーク面積に対するINZ、HMMNI-d₃のピーク面積に対するHMMNI、MNZOH-d₄のピーク面積に対するMNZOH及びINZOH-d₃のピーク面積に対するINZOHのピーク面積の比を用いて検量線を作成した。DTZ、MNZ及びINZは試験溶液0.4 µLを、RNZ、HMMNI、MNZOH及びINZOHは4 µLをLC-MS/MSに注入し、検量線から内部標準法によりDTZ、RNZ、MNZ、INZ、HMMNI、MNZOH及びINZOHの含量を算出した。

6. 添加試料の調製

試料10 gに添加用混合標準溶液[2 µg/L(DTZ、RNZ及びHMMNI)及び1 µg/L(MNZ、INZ、MNZOH及びINZOH)]1000 µL[水、メタノール及びギ酸の混液(900:100:1)]及び添加用内標準溶液[20 µg/L(DTZ-d₃、RNZ-d₃及びHMMNI-d₃)及び10 µg/L(MNZ-d₄、INZ-d₃、MNZOH-d₄及びINZOH-d₃)]500 µL[水、メタノール及びギ酸の混液(900:100:1)]を添加し、30分間放置した。

7. 試験溶液の調製

概要

DTZ、RNZ、MNZ、INZ、HMMNI、MNZOH及びINZOHを試料からアセトン及び酢酸で抽出した後、ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製し、LC-MS/MSで定量及び確認した。

分析法フローチャートを図1に示した。

(1)抽出

試料10 gを250 mL容広口ポリ瓶に量り採り、ア

セトン50 mL及び酢酸1 mLを加えた後、ホモジナイザーで攪拌した。2250 ×gで5分間遠心分離した後、上清を綿栓ろ過した。次いで残留物にアセトン30 mLを加え、ホモジナイザーで攪拌した。2250 ×gで5分間遠心分離した後、上清を綿栓ろ過した。ろ液を100 mL容全量フラスコに合わせ、アセトンで定容した。

(2)精製

抽出液5 mL(試料0.5 g相当)に酢酸エチル及び酢酸の混液(19:1)5 mLを混合した液をベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラム[Bond Elut SCX(500 mg/3 mL)](あらかじめメタノール3 mL、酢酸エチル及び酢酸の混液(19:1)3 mLで洗浄したもの)に負荷した。アセトン5 mL、メタノール5 mL及びアセトニトリル5 mLで洗浄した後、アセトニトリル及び28%アンモニア水の混液(49:1)15 mLで溶出した。溶出液をナス形フラスコに入れて、ロータリーエバポレーター(40°C)で濃縮乾固し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。残留物を水、メタノール及びギ酸の混液(900:100:1)0.5 mLに溶解し、メンブレンフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

8. マトリックス添加標準溶液の調製

「7. 試験溶液の調製」に記載した方法に従いブランク試料を濃縮(溶媒除去)操作まで行い、残留物に0.2 µg/L(DTZ、RNZ及びHMMNI)及び0.1 µg/L(MNZ、INZ、MNZOH及びINZOH)混合標準溶液0.5 mLを加えて溶解したものをマトリックス添加標準溶液とした。

9. 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に定量限界濃度[0.2 µg/kg(DTZ、RNZ 及び HMMNI)及び 0.1 µg/kg(MNZ、INZ、MNZOH 及び INZOH)]で妥当性評価試験を実施した。妥当性評価ガイドラインに従い、1日1回(2併行)、5日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。

[2] β-作動薬(クレンプテロール、ラクトパミン、サルブタモール、ジルパテロール、シマテロール)分析法

1. 試料

牛の筋肉は、インターネット経由で北海道産を購入した。可能な限り脂肪層を除き、ロボクープブライクサーを用いて細切均一化した。

鶏の筋肉は、インターネット経由で千葉県産を購入した。可能な限り脂肪層を除き、ロボクープブライクサーを用いて細切均一化した。

2. 試薬・試液

クレンプテロール標準品:純度 99.9%(林純薬工業製)(CBT 標準品)

ラクトパミン塩酸塩標準品:純度 96.3%(Sigma-Aldrich 製)(RCP 塩酸塩標準品)

サルブタモール標準品:純度 99.99%(Sigma-Aldrich 製)(SAL 標準品)

ジルパテロール塩酸塩標準品:純度 96.7%(Sigma-Aldrich 製)(ZPT 塩酸塩標準品)

シマテロール標準品:純度 100.0%(Sigma-Aldrich 製)(CMT 標準品)

クレンプテロール-d₉:(Sigma-Aldrich 製)(CBT-d₉)

ラクトパミン-d₆ 塩酸塩:(Toronto Research Chemicals 製)(RCP-d₆ 塩酸塩)

サルブタモール-d₉:(Toronto Research Chemicals 製)(SAL-d₉)

ジルパテロール-(イソプロピル-¹³C₃)塩酸塩:(Sigma-Aldrich 製)(ZPT-¹³C₃ 塩酸塩)

シマテロール-d₇:(Sigma-Aldrich 製)(CMT-d₇)

メタノール:LC-MS 用(富士フイルム和光純薬製)

ギ酸:LC-MS 用(富士フイルム和光純薬製)

メタノール、酢酸アンモニウム、25%アンモニア水:特級(富士フイルム和光純薬製)

アセトン:特級(関東化学製)

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム:Oasis MCX (500 mg/6 mL、Waters 製)

メンブレンフィルター:TORAST Disc(0.22 µm、島津ジーエルシー製)

メタノール及び水の混液(1:1):メタノール(特級)500 mL 及び水 500 mL を混合した。

水及びメタノールの混液(95:5):水 950 mL 及びメタノール(特級)50 mL を混合した。

水及び 25%アンモニア水の混液(98:2):水 98 mL 及び 25%アンモニア水 2 mL を混合した。

メタノール及び 25%アンモニア水の混液(98:2):メタノール(特級)98 mL 及び 25%アンモニア水 2 mL を混合した。

水、1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液及びギ酸の混液(1000:2:1):水 1000 mL、1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 2 mL 及びギ酸 1 mL を混合した。

標準原液:CBT 標準品約 10 mg を精秤し、メタノール(特級)で溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。RCP 塩酸塩標準品約 11.7 mg(RCP 10 mg 相当)を精秤し、メタノール(特級)で溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。SAL 標準品約 10 mg を精秤し、メタノール(特級)で溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。ZPT 塩酸塩標準品約 5.9 mg(ZPT 5 mg 相当)を精秤し、メタノール(特級)で溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。CMT 標準品約 5 mg を精秤し、メタノール(特級)で溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。

内標準原液:10 mg 容量の CBT-d₉をメタノール(特級)で洗いこみ、メタノール(特級)で溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。1 mg 容量の RCP-d₆塩酸塩をメタノール(特級)で洗いこみ、メタノール(特級)で溶解して 50 mg/L 溶液を調製した。2.5 mg 容量の SAL-d₉ をメタノール(特級)で洗いこみ、メタノール(特級)で溶解して 50 mg/L 溶液を調製した。10 mg 容量の ZPT-¹³C₃ 塩酸塩をメタノール(特級)で洗いこみ、メタノール(特級)で溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。10 mg 容量の CMT-d₇ をメタノール(特級)で洗いこみ、メタノール(特級)で溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。

添加用標準溶液:CBT 標準原液をメタノール(特級)で希釈して 5 mg/L 溶液を調製した。RCP 標準原液、SAL 標準原液及び ZPT 標準原液をメタノール(特級)で希釈して 5 mg/L 溶液を調製した。CMT 標準原液をメタノール(特級)で希釈して 5 mg/L 溶液を調製した。さらに、これら溶液を水及びメタノールの混液(95:5)で希釈して 5 µg/L(CBT)、50 µg/L(RCP、SAL 及び ZPT)及び 10 µg/L(CMT)混合溶液を調製した。

添加用内標準溶液:CBT-d₉ 内標準原液及び CMT-d₇ 内標準原液を水及びメタノールの混液(95:5)で希釈して 0.1 mg/L 溶液を調製した。RCP-d₆ 内標準原液、SAL-d₉ 内標準原液及び ZPT-¹³C₃ 内標準原液を水及びメタノールの混液(95:5)で希釈して 0.5 mg/L 溶液を調製した。さらに、これら溶液を水及びメタノールの混液(95:5)で希釈して 10 µg/L(CBT-d₉ 及び CMT-d₇)及び 50 µg/L(RCP-d₆、SAL-d₉ 及び ZPT-¹³C₃)混合溶液を調製した。

3. 装置

ホモジナイザー:NS-52(マイクロテック・ニチオン製)

ロータリーエバポレーター:N-1000V(東京理化学器械製)

遠心分離機:H-60R(コクサン製)

LC-MS/MS

装置	型 式	メーカー
MS	Triple Quad 6500+	SCIEX
LC	Nexera X2	島津製作所
データ処理	Analyst	SCIEX

4. 測定条件

表 2 に示した。

5. 定量

CBT 標準原液をメタノール(特級)で希釈して 5 mg/L 溶液を調製した。RCP 標準原液、SAL 標準原液及び ZPT 標準原液をメタノール(特級)で希釈して 5 mg/L 溶液を調製した。CMT 標準原液をメタノール(特級)で希釈して 5 mg/L 溶液を調製した。これら溶液を水及びメタノールの混液(95:5)で希釈して 0.625 µg/L(CBT)、6.25 µg/L(RCP、SAL 及び ZPT)及び 1.25 µg/L(CMT)混合溶液、及び 0.0625 µg/L(CBT)、0.625 µg/L(RCP、SAL 及び ZPT)及び 0.125 µg/L(CMT)混合溶液を調製した。CBT-d₉ 内標準原液及び CMT-d₇ 内標準原液を水及びメタノールの混液(95:5)で希釈して 0.1 mg/L 溶液を調製した。RCP-d₆ 内標準原液、SAL-d₉ 内標準原液及び ZPT-¹³C₃ 内標準原液を水及びメタノールの混液(95:5)で希釈して 0.5 mg/L 溶液を調製した。これら溶液を水及びメタノールの混液(95:5)で希釈して 2.5 µg/L(CBT-d₉ 及び CMT-d₇)及び 12.5 µg/L(RCP-d₆、SAL-d₉ 及び ZPT-¹³C₃)混合溶液を調製した。さらに、これら溶液を水及びメタノールの混液(95:5)で希釈して表 7 の①～⑤の内標準混合標準溶液を調製した。

この溶液 5 µL を LC-MS/MS に注入して、得られた CBT-d₉ のピーク面積に対する CBT、RCP-d₆ のピーク面積に対する RCP、SAL-d₉ のピーク面積に

対する SAL、ZPT- $^{13}\text{C}_3$ のピーク面積に対する ZPT、CMT- d_7 のピーク面積に対する CMT のピーク面積の比を用いて検量線を作成した。試験溶液 5 μL を LC-MS/MS に注入し、検量線から内部標準法により CBT、RCP、SAL、ZPT 及び CMT の含量を算出した。

6. 添加試料の調製

試料 10 g に添加用標準溶液[5 $\mu\text{g/L}$ (CBT)、50 $\mu\text{g/L}$ (RCP、SAL 及び ZPT)及び 10 $\mu\text{g/L}$ (CMT)]100 μL [水及びメタノールの混液(95:5)]及び添加用内標準溶液[10 $\mu\text{g/L}$ (CBT- d_9 及び CMT- d_7)及び 50 $\mu\text{g/L}$ (RCP- d_6 、SAL- d_9 及び ZPT- $^{13}\text{C}_3$)]500 μL [水及びメタノールの混液(95:5)]を添加し、30 分間放置した。

7. 試験溶液の調製

概要

CBT、RCP、SAL、ZPT 及び CMT を試料からアセトンで抽出した後、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製し、LC-MS/MS で定量及び確認した。

分析法フローチャートを図 2 に示した。

(1)抽出

試料 10 g を 250 mL 容広口ポリ瓶に量り採り、アセトン 100 mL を加えた後、ホモジナイザーで撹拌した。2250 $\times g$ で 5 分間遠心分離した後、上清を綿栓ろ過した。次いで残留物にアセトン 50 mL を加え、ホモジナイザーで撹拌した。2250 $\times g$ で 5 分間遠心分離した後、上清を綿栓ろ過した。ろ液を 200 mL 容全量フラスコに合わせ、アセトンで定容した。

(2)精製

抽出液 10 mL (試料 0.5 g 相当)に酢酸 500 μL を混合した液をスルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム[Oasis MCX (500 mg/6 mL)][あらかじめメタノール(特級)5 mL、水及びメタノールの混液(1:1)5 mL で洗浄した

もの]に負荷した。水及びメタノールの混液(1:1)5 mL、メタノール(特級)10 mL、水及び 25%アンモニア水の混液(98:2)及びメタノール(特級)5 mL で洗浄した後、メタノール及び 25%アンモニア水の混液(98:2)15 mL で溶出した。溶出液をナス形フラスコに入れて、ロータリーエバポレーター(40°C)で濃縮乾固し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。残留物を水及びメタノールの混液(95:5)2 mL に溶解し、メンブレンフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

8. マトリックス添加標準溶液の調製

「7. 試験溶液の調製」に記載した方法に従い牛及び鶏の筋肉のブランク試料を濃縮(溶媒除去)操作まで行い、残留物に 0.0125 $\mu\text{g/L}$ (CBT)、0.125 $\mu\text{g/L}$ (RCP、SAL 及び ZPT)及び 0.025 $\mu\text{g/L}$ (CMT)混合溶液 2 mL を加えて溶解したものをマトリックス添加標準溶液とした。

9. 妥当性評価試験

牛及び鶏の筋肉を対象に定量限界濃度[0.05 $\mu\text{g/kg}$ (CBT)、0.5 $\mu\text{g/kg}$ (RCP、SAL 及び ZPT)及び 0.1 $\mu\text{g/kg}$ (CMT)]で妥当性評価試験を実施した。牛の筋肉については妥当性評価ガイドラインに従い、1 日 1 回(2 併行)、5 日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。また、鶏の筋肉については妥当性評価ガイドラインに従い、1 日 5 回(5 併行)行い、各性能パラメータを評価した。

C. 結果及び考察

[1] ニトロイミダゾール類(ジメトリダゾール、ロニダゾール、メトロニダゾール、イプロニダゾール、2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾール、1-(2-ヒドロキシエチル)-2-ヒドロキシメチル-5-ニトロイミダゾール、1-メチル-2-(2'-ヒドロキシイソプロピル)-5-ニトロイミダゾール)分析法

1. 分析カラムの検討

分析時間の短縮を目的に、告示試験法の HPLC から UHPLC への測定法の変更を試み、分析カラムの検討を行った。ACQUITY UPLC BEH C18(内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 1.7 μm)、Shim-pack Scepter C18-120(内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 1.9 μm)及び Shim-pack Scepter C18-120 [Metal free](内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 1.9 μm)の 3 種類について検討した。ACQUITY UPLC BEH C18 では HMMNI の確認イオンで夾雑物との良好な分離が得られなかった。Shim-pack Scepter C18-120 では DTZ の内標準物質の回収率が 40%程度と良くなかった。そのため、夾雑物との分離が最も良好で、高回収率が得られた Shim-pack Scepter C18-120 [Metal free]を選択した。

2. 精製カラムの検討

告示試験法では DTZ 及び INZ は減圧濃縮操作により回収率が低下することが示唆されており、また抽出液がアセトンであることから、抽出後の精製工程がヘキサン洗浄、ミニカラム精製、酢酸エチルによる転溶と煩雑である。そこで減圧濃縮操作の回数を減らし、精製工程はミニカラム精製のみとする試験法を試みた。

強酸性陽イオン交換ミニカラムである Bond Elut SCX (500 mg/3 mL)、告示試験法で使用されているスルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム[Oasis MCX (500 mg/6 mL)]及び MCX とは異なる物理的特性を持つスルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム[EVOLUTE EXPRESS CX(500 mg/6 mL)]の 3 種を比較検討した。

各ミニカラムをあらかじめメタノール 3 mL、酢酸エチル及び酢酸の混液(19:1)3 mL で洗浄し、アセトン 5 mL、酢酸エチル及び酢酸の混液(19:1) 5 mL 及び酢酸 50 μL の混合液に各分析対象化合物を

50 ng(DTZ、RNZ 及び HMMNI)及び 25 ng(MNZ、INZ、MNZOH 及び INZOH)添加した液を供し、酢酸エチル及び酢酸の混液(19:1) 5 mL を注入し、ミニカラムからの溶出液を採り、これを負荷区とした。さらにアセトン 5 mL、メタノール 5 mL 及びアセトニトリル 5 mL を順次注入し、各溶出液を採り洗浄区とした。その後、アセトニトリル及び 28%アンモニア水の混液(49:1)5 mL ずつ 4 回順次注入し各溶出液を採り溶出区とした。各溶出液を水及びギ酸の混液(1000:1)で 50 mL に定容し、LC-MS/MSを用いて各溶出液中の分析対象化合物量を求めた。なお負荷区は濃縮操作を行い、酢酸エチル及びアセトンを除去し系内を酢酸のみの状態とした後、定容を行った。測定については、注入量は全て 2 μL で行い、HMMNI の定量には感度の良好なイオン m/z 158 $\rightarrow$ 55(コーン電圧:3 V、コリジョンエネルギー:12 eV)を用いた。コーン電圧について DTZ は 34 V、RNZ は 2 V とした。

結果を表 4 に示した。負荷区では EVOLUTE EXPRESS CX のみ RNZ で 1%の溶出が認められたが、他は溶出していなかった。洗浄区(アセトン 5 mL、メタノール 5 mL 及びアセトニトリル 5 mL)ではいずれのミニカラムからも溶出せず、これらの溶液は洗浄操作に使用することが可能であることが示された。溶出区では、Bond Elut SCX はアセトニトリル及び 28%アンモニア水の混液(49:1)15 mL までにいずれの物質も 98~103%溶出され良好な結果であった。一方で、Oasis MCX 及び EVOLUTE EXPRESS CX では RNZ の回収率が、それぞれ 79%、69%と低かった。

以上の結果より、全分析対象化合物に対応可能であった Bond Elut SCX(500 mg/3 mL)による精製法を選択した。

3. 妥当性評価試験結果

(1)選択性

ブランク試料を本試験法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されなかった(図3)。

(2) 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表5に示した。真度の目標値(70~120%)及び精度の目標値(併行精度30%未満、室内精度35%未満)を満たした。また、内標準物質として用いたDTZ-d₃、RNZ-d₃、MNZ-d₄、INZ-d₃、HMMNI-d₃、MNZOH-d₄及びINZOH-d₃の回収率はいずれも40%以上であった。

(3) 試料マトリックスの測定への影響

試料マトリックスの測定への影響について検討した結果を表6に示した。添加回収試験における回収率100%相当濃度になるように調製したマトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積比を求めた。その結果、ピーク面積比は、DTZで0.97、RNZで1.44、MNZで0.98、INZで0.98、HMMNIで1.05、MNZOHで0.98、INZOHで0.95であった。本法ではRNZにおいて試料由来のマトリックスの影響を受けていたため、内標準物質による補正を行って定量する方法とした。

(4) 検量線の直線性

DTZ、RNZ及びHMMNIは0.1~1 µg/L、MNZ、INZ、MNZOH及びINZOHは0.05~0.5 µg/Lの範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.999$ となり、良好な直線性が得られた。

(5) 定量限界

定量限界濃度を添加した添加試料から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

4. 考察

妥当性評価試験結果から、本試験は鶏の筋肉を対象とした定量限界0.2 µg/kg(DTZ、RNZ及びHMMNI)及び0.1 µg/kg(MNZ、INZ、MNZOH及

びINZOH)での残留分析として妥当であると評価された。

[2] β-作動薬(クレンブテロール、ラクトパミン、サルブタモール、ジルパテロール、シマテロール)分析法

1. LC-MS/MS条件の検討

CBTの告示試験法に基づき、水系移動相に水及びギ酸の混液を用いて検討を行ったが、β-作動薬(5化合物)の同時分析では、CMTの検量線は十分な直線性を示さなかった。そこで、塩基性化合物のカラムへの吸着抑制及びピーク形状の改善を目的とし、移動相にギ酸及び酢酸アンモニウムを添加した条件を検討した。その結果、CMTを含む全ての分析対象化合物において良好な直線性が確認されたため、本条件を水系移動相として採用した。

2. 試料前処理の検討

CBT告示試験法は抽出後の転溶操作に加え二工程のミニカラム精製を要し、操作が煩雑である。そこで、精製工程の簡略化を目的とした検討を行った。β-作動薬は塩基性化合物であることから、CBTの告示試験法で使用されている強陽イオン交換カラムを用いた精製を選択した。CBTの告示試験法と同等のベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム[Bond Elut SCX HF(500 mg/3 mL)]、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム[Oasis MCX(500 mg/6 mL)]及びMCXとは異なる物理的特性を持つスルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム[EVOLUTE EXPRESS CX(150 mg/6 mL)]の3種を比較検討した。各ミニカラムをあらかじめメタノール(特級)5 mL、水及びメタノールの混液(1:1)5 mLで洗浄した後、

アセトン 10 mL に酢酸 500 μ L を混合した液に標準溶液[1.25 μ g/L(CBT 及び CMT)及び 6.25 μ g/L(RCP、SAL 及び ZPT)]200 μ L[水及びメタノールの混液(95:5)]を添加した液を供し、水及びメタノールの混液(1:1)5 mL、メタノール(特級)10 mL、水及び 25%アンモニア水の混液(98:2) 5 mL 及びメタノール(特級)5 mL で洗浄した後、メタノール及び 25%アンモニア水の混液(98:2)10 mL で溶出し、さらにメタノール及び 25%アンモニア水の混液(98:2)5 mL で追加溶出した。各画分をナス形フラスコに採り、ロータリーエバポレーター(40°C)で濃縮乾固し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。残留物を水及びメタノールの混液(95:5)2 mL に溶解し、LC-MS/MSを用いて各溶液中の分析対象化合物量を求めた。結果を表 8 に示した。Bond Elut SCX HF(500 mg/3 mL)では水及び 25%アンモニア水の混液(98:2)洗浄後のメタノール洗浄区間においていずれの物質も 9~32%の溶出が認められ、かつ RCP の合計回収率が 13%と著しく低かった。EVOLUTE EXPRESS CX(150 mg/6 mL)は Bond Elut SCX HF(500 mg/3 mL)に比べて合計回収率は向上したものの、水及び 25%アンモニア水の混液(98:2)洗浄後のメタノール洗浄時の ZPT が 34%溶出していた。これらに対して、Oasis MCX (500 mg/6 mL)は 3 種類のミニカラムの中で最も良好な保持挙動を示した。RCP 及び CMT の合計回収率はそれぞれ 73%、75%に留まったものの、負荷時及び洗浄時における流出はほとんど認められなかった。

以上の結果より、全分析対象化合物に対応可能であった Oasis MCX (500 mg/6 mL)による精製法を選択した。なお、実試料を用いる際に、内標準物質による補正を行うことで定量性を確保することとした。

3. 妥当性評価試験結果

(1)選択性

牛及び鶏の筋肉のブランク試料を本試験法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されなかった(図 4)。

(2)真度、併行精度及び室内精度

牛の筋肉において真度、併行精度及び室内精度の結果を表 9 に示した。真度の目標値(70~120%)及び精度の目標値(併行精度 30%未満、室内精度 35%未満)を満たした。

また、内標準物質として用いた CBT-d₉、RCP-d₆、SAL-d₉、ZPT-¹³C₃ 及び CMT-d₇ の回収率はいずれも 40%以上であった。

(3)真度

鶏の筋肉において真度の結果を表 10 に示した。真度の目標値(70~120%)を満たした。

また、内標準物質として用いた CBT-d₉、RCP-d₆、SAL-d₉、ZPT-¹³C₃ 及び CMT-d₇ の回収率はいずれも 40%以上であった。

(4)試料マトリックスの測定への影響

牛及び鶏の筋肉において試料マトリックスの測定への影響について検討した結果を表 11 に示した。添加回収試験における回収率 100%相当濃度になるように調製したマトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積比を求めた。その結果、牛の筋肉におけるピーク面積比は、CBT で 0.90、RCP で 0.84、SAL で 0.83、ZPT で 0.91、CMT で 0.91 であった。また、鶏の筋肉におけるピーク面積比は、CBT で 0.94、RCP で 0.89、SAL で 0.93、ZPT で 0.91、CMT で 0.93 であった。本法ではいずれの分析対象化合物も試料由来のマトリックスの影響を若干受けていたが、内標準物質による補正を行う方法としたため定量性に問題はないと判断した。

(5)検量線の直線性

0.00625~0.0625 μ g/L(CBT)、0.0625~0.625

μg/L(RCP、SAL 及び ZPT)及び 0.0125～0.125 μg/L(CMT)の範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.998$ となり、良好な直線性が得られた。

(6)定量限界

定量限界濃度を添加した添加試料から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

4. 考察

妥当性評価試験結果から、本試験は牛及び鶏の筋肉を対象とした定量限界 0.05 μg/kg(CBT)、0.5 μg/kg(RCP、SAL 及び ZPT)及び 0.1 μg/kg(CMT)での残留分析として妥当であると評価された。

D. 結論

本研究では、EUでの輸入時検査においてA物質が検出された場合の原因調査のための分析法として、鶏筋肉中のニトロイミダゾール類分析法及び牛・鶏筋肉中のβ-作動薬分析法を開発した。ニトロイミダゾール類分析法は、試料をアセトン及び酢酸で抽出した後、ベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製し、LC-MS/MSで定量及び確認する方法を確立した。また、β-作動薬(クレンブテロール、ラクトパミン、サルブタモール、ジルパテロール、シマテロール)については、試料をアセトンで抽出した後、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製し、LC-MS/MSで定量及び確認する方法を確立した。妥当性評価試験の結果、これらの方法はいずれも残留分析法として妥当であることが示された。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 小椋和彦、畑寛子、飯塚誠一郎、河野洋一、伊藤里恵、堤智昭、穂山浩、志田(齊藤)静夏. LC-MS/MSによる牛筋肉中の高感度ステロイド類一斉分析法の検討. 日本食品衛生学会第121回学術講演会(2025.10.16)

2) 池側智香子、畑寛子、飯塚誠一郎、河野洋一、伊藤里恵、堤智昭、穂山浩、志田(齊藤)静夏. 牛筋肉中のスチルベン類(ジェネストロール、ジェチルスチルベストロール及びヘキセステロール)分析法の検討. 日本食品衛生学会第121回学術講演会(2025.10.16)

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 ニトロイミダゾール類の測定条件

LC 条件																																	
カラム	Shim-pack Scepter C18-120 [Metal free] (内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 1.9 μm : 島津製作所)																																
移動相流速(mL/min)	0.4																																
注入量(μL)	DTZ、MNZ 及び INZ:0.4 RNZ、HMMNI、MNZOH 及び INZOH:4																																
カラム温度(℃)	40																																
移動相	A 液:水及びギ酸の混液(1000:1) B 液:アセトニトリル(LC-MS 用)																																
グラジエント条件	<table><tr><td>時間(分)</td><td>A 液(%)</td><td>B 液(%)</td></tr><tr><td>0.0</td><td>98</td><td>2</td></tr><tr><td>3.0</td><td>93</td><td>7</td></tr><tr><td>5.5</td><td>70</td><td>30</td></tr><tr><td>8.5</td><td>70</td><td>30</td></tr><tr><td>8.51</td><td>0</td><td>100</td></tr><tr><td>12.0</td><td>0</td><td>100</td></tr><tr><td>12.01</td><td>98</td><td>2</td></tr><tr><td>14.5</td><td>98</td><td>2</td></tr></table>						時間(分)	A 液(%)	B 液(%)	0.0	98	2	3.0	93	7	5.5	70	30	8.5	70	30	8.51	0	100	12.0	0	100	12.01	98	2	14.5	98	2
	時間(分)	A 液(%)	B 液(%)																														
	0.0	98	2																														
	3.0	93	7																														
	5.5	70	30																														
	8.5	70	30																														
	8.51	0	100																														
	12.0	0	100																														
	12.01	98	2																														
14.5	98	2																															
MS 条件																																	
測定モード	MS/MS、選択イオン検出																																
イオン化モード	ESI(+)																																
キャピラリー電圧(V)	300																																
ソース温度(℃)	150																																
脱溶媒温度(℃)	600																																
コーンガス	窒素、150 L/hr																																
脱溶媒ガス	窒素、1000 L/hr																																
コリジョンガス	アルゴン																																
定量イオン(<i>m/z</i>)、定性イオン(<i>m/z</i>)																																	
	プリカーサー イオン	コーン 電圧 (V)	プロダクトイオン① (定量用)		プロダクトイオン② (定性用)																												
			(<i>m/z</i>)	コリジョン エネルギー (eV)	(<i>m/z</i>)	コリジョン エネルギー (eV)																											
DTZ	142	2	95	23	96	14																											
DTZ-d ₃	145	2	98	22	—	—																											
RNZ	201	25	140	10	94	28																											
RNZ-d ₃	204	25	143	10	—	—																											
MNZ	172	16	82	22	128	14																											
MNZ-d ₄	176	2	128	12	—	—																											
INZ	170	8	109	24	124	18																											
INZ-d ₃	173	6	112	22	—	—																											
HMMNI	158	3	111	26	94	21																											
HMMNI-d ₃	161	3	58	12	—	—																											
MNZOH	188	30	123	12	68	22																											
MNZOH-d ₄	192	2	127	12	—	—																											

INZOH	186	2	121	25	107	24
INZOH-d ₃	189	2	124	26	—	—
保持時間(min)	DTZ 4.9、RNZ 5.3、MNZ 4.5、INZ 7.8、HMMNI 4.2、MNZOH 3.4、INZOH 6.6					

秤 取

↓ 試料 10 g

抽 出

↓ アセトン 50 mL 及び酢酸 1 mL を加え、ホモジナイズ

↓ 2250 ×g で 5 分間遠心分離

↓ 綿栓ろ過

↓ アセトン 30 mL を加え、ホモジナイズ

↓ 2250 ×g で 5 分間遠心分離

↓ 綿栓ろ過

↓ ろ液を合わせてアセトンで 100 mL に定容

ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラム [Bond Elut SCX(500 mg/3 mL)]

↓ メタノール 3 mL、酢酸エチル及び酢酸の混液(19:1)3 mL でコンディショニング

↓ 抽出液 5 mL 及び酢酸エチル及び酢酸の混液(19:1) 5 mL の混合液を注入

↓ アセトン 5 mL で洗浄

↓ メタノール 5 mL で洗浄

↓ アセトニトリル 5 mL で洗浄

↓ アセトニトリル及び 28%アンモニア水の混液(49:1)15 mL で溶出(全溶出液を採取)

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物を水、メタノール及びギ酸の混液(900:100:1)0.5 mL に溶解

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 1 ニトロイミダゾール類の分析法フローチャート

表 2 β -作動薬類の測定条件

LC 条件																														
カラム	ACQUITY UPLC BEH C18 (内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 1.7 μm: Waters 製)																													
移動相流速(mL/min)	0.35																													
注入量(μL)	5																													
カラム温度(°C)	40																													
移動相	A 液: 水、1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液及びギ酸の混液(1000:2:1) B 液: メタノール(LC-MS 用)																													
グラジエント条件	<table><tr><td>時間(分)</td><td>A 液(%)</td><td>B 液(%)</td></tr><tr><td>0.0</td><td>97</td><td>3</td></tr><tr><td>3.0</td><td>97</td><td>3</td></tr><tr><td>11.0</td><td>50</td><td>50</td></tr><tr><td>11.01</td><td>5</td><td>95</td></tr><tr><td>15.00</td><td>5</td><td>95</td></tr><tr><td>15.01</td><td>97</td><td>3</td></tr><tr><td>18.5</td><td>97</td><td>3</td></tr></table>						時間(分)	A 液(%)	B 液(%)	0.0	97	3	3.0	97	3	11.0	50	50	11.01	5	95	15.00	5	95	15.01	97	3	18.5	97	3
時間(分)	A 液(%)	B 液(%)																												
0.0	97	3																												
3.0	97	3																												
11.0	50	50																												
11.01	5	95																												
15.00	5	95																												
15.01	97	3																												
18.5	97	3																												
MS 条件																														
測定モード	MS/MS、選択イオン検出																													
イオン化モード	ESI(+)																													
イオンスプレー電圧(V)	5000																													
ヒーター温度(°C)	600																													
ネブライザーガス	空気、70 psi																													
ターボガス	空気、50 psi																													
コリジョンガス	窒素																													
定量イオン(<i>m/z</i>)、定性イオン(<i>m/z</i>)																														
	プリカーサーイオン	DP (V)	プロダクトイオン① (定量用)		プロダクトイオン② (定性用)																									
			<i>m/z</i>	コリジョンエネルギー (eV)	<i>m/z</i>	コリジョンエネルギー (eV)																								
CBT	277	26	203	21	168	37																								
CBT-d ₉	286	41	204	25	—	—																								
RCP	302	61	164	23	107	51																								
RCP-d ₆	308	41	168	23	—	—																								
SAL	240	56	148	25	222	15																								
SAL-d ₉	249	46	149	27	—	—																								
ZPT	262	61	185	33	202	27																								
ZPT- ¹³ C ₃	265	56	185	33	—	—																								
CMT	220	21	143	31	160	21																								
CMT-d ₇	227	60	161	30	—	—																								
保持時間(min)	CBT 9.3、RCP 8.7、SAL 6.1、ZPT 6.0、CMT 5.5																													

秤 取

↓ 試料 10 g

抽 出

↓ アセトン 100 mL を加え、ホモジナイズ

↓ 2250 ×g で 5 分間遠心分離

↓ 綿栓ろ過

↓ アセトン 50 mL を加え、ホモジナイズ

↓ 2250 ×g で 5 分間遠心分離

↓ 綿栓ろ過

↓ ろ液を合わせてアセトンで 200 mL に定容

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム [Oasis MCX (500 mg/6 mL)]

↓ メタノール(特級)5 mL、水及びメタノールの混液(1:1)5 mL でコンディショニング

↓ 抽出液 10 mL 及び酢酸 500 µL の混合液を注入

↓ 水及びメタノールの混液(1:1)5 mL で洗浄

↓ メタノール(特級)10 mL で洗浄

↓ 水及び 25%アンモニア水の混液(98:2)5 mL で洗浄

↓ メタノール(特級)5 mL で洗浄

↓ メタノール及び 25%アンモニア水の混液(98:2)15 mL で溶出(全溶出液を採取)

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物を水及びメタノールの混液(95:5)2 mL に溶解

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 2 β-作動薬類の分析法フローチャート

表 3 内標準混合標準溶液（ニトロイミダゾール類）

測定物質	濃度(μg/L)				
	①	②	③	④	⑤
DTZ、RNZ及びHMMNI	0.1	0.2	0.3	0.4	1
MNZ、INZ、MNZOH及びINZOH	0.05	0.1	0.15	0.2	0.5
DTZ-d ₃ 、RNZ-d ₃ 及びHMMNI-d ₃	1	1	1	1	1
MNZ-d ₄ 、INZ-d ₃ 、MNZOH-d ₄ 及びINZOH-d ₃	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

表 4-1 Bond Elut SCX (500 mg/3 mL)からの溶出状況(%)（ニトロイミダゾール類）

	負荷	アセト ン	メタ ノール	アセト ニトリル	アセトニトリル及び 28%アンモニア水 の混液(49:1)				合計
		0-5 mL	0-5 mL	0-5 mL	0-5 mL	5-10 mL	10-15 mL	15-20 mL	
DTZ	0	0	0	0	9	94	0	0	103
RNZ	0	0	0	0	9	90	0	0	99
MNZ	0	0	0	0	9	91	0	0	100
INZ	0	0	0	0	9	94	0	0	103
HMMNI	0	0	0	0	9	90	1	0	100
MNZOH	0	0	0	0	7	90	1	0	98
INZOH	0	0	0	0	8	91	2	1	102

表 4-2 Oasis MCX (500 mg/6 mL)からの溶出状況(%)（ニトロイミダゾール類）

	負荷	アセト ン	メタ ノール	アセト ニトリル	アセトニトリル及び 28%アンモニア水 の混液(49:1)				合計
		0-5 mL	0-5 mL	0-5 mL	0-5 mL	5-10 mL	10-15 mL	15-20 mL	
DTZ	0	0	0	0	94	10	0	0	104
RNZ	0	0	0	0	70	9	0	0	79
MNZ	0	0	0	0	81	16	1	0	98
INZ	0	0	0	0	92	11	0	0	103
HMMNI	0	0	0	0	85	15	0	0	100
MNZOH	0	0	0	0	21	77	1	0	99
INZOH	0	0	0	0	91	13	0	0	104

表 4-3 EVOLUTE EXPRESS CX(500 mg/6 mL)からの溶出状況(%) (ニトロイミダゾール類)

		アセト ン	メタ ノール	アセト ニトリル	アセトニトリル及び 28%アンモニア水 の混液(49:1)				合計
	負荷	0-5 mL	0-5 mL	0-5 mL	0-5 mL	5-10 mL	10-15 mL	15-20 mL	
DTZ	0	0	0	0	101	1	0	0	102
RNZ	1	0	0	0	67	1	0	0	69
MNZ	0	0	0	0	95	3	0	0	98
INZ	0	0	0	0	100	1	0	0	101
HMMNI	0	0	0	0	98	1	0	0	99
MNZOH	0	0	0	0	91	4	0	0	95
INZOH	0	0	0	0	102	1	0	0	103

J

表5-1 DTZの真度、併行精度及び室内精度

添加 濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.2	1回目	0.149	0.233	0.215	0.232	0.211	0.208	103.9	5.0	14.3
	2回目	0.167	0.208	0.225	0.230	0.208				

表5-2 RNZの真度、併行精度及び室内精度

添加 濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.2	1回目	0.190	0.186	0.192	0.208	0.207	0.196	98.1	2.7	4.4
	2回目	0.196	0.193	0.189	0.194	0.208				

表5-3 MNZの真度、併行精度及び室内精度

添加 濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.1	1回目	0.104	0.095	0.101	0.099	0.101	0.098	97.5	3.4	3.9
	2回目	0.099	0.091	0.098	0.093	0.095				

表5-4 INZの真度、併行精度及び室内精度

添加 濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.1	1回目	0.100	0.103	0.100	0.101	0.102	0.101	100.5	2.3	2.3
	2回目	0.101	0.097	0.099	0.103	0.100				

表5-5 HMMNIの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.2	1回目	0.225	0.168	0.195	0.182	0.205	0.194	96.9	6.0	11.1
	2回目	0.222	0.188	0.164	0.184	0.205				

表5-6 MNZOHの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.1	1回目	0.102	0.112	0.118	0.109	0.106	0.108	108.1	2.3	6.1
	2回目	0.101	0.105	0.118	0.108	0.102				

表5-7 INZOHの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.1	1回目	0.097	0.100	0.104	0.100	0.097	0.099	99.2	1.4	2.4
	2回目	0.097	0.101	0.100	0.100	0.096				

表 6 試料マトリックスの測定への影響(ニトロイミダゾール類)

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (μ g/kg)	基準値 (ppm)	添加濃度 (μ g/kg)	標準溶液 濃度 ¹⁾ (μ g/L)	ピーク面積(高さ) ²⁾									備考
							面積又は 高さの別	ブランク ³⁾	マトリックス添加標準溶液 ⁴⁾			溶媒標準溶液			ピーク面積 (高さ)比 ⁵⁾	
1	DTZ	鶏の筋肉	0.2	不検出	0.2	0.2	面積	0	n=1 100717	n=2 96435	平均 98576	n=1 99564	n=2 104376	平均 101970	0.97	
2	RNZ	鶏の筋肉	0.2	不検出	0.2	0.2	面積	0	6232697	6230853	6231775	4351571	4314694	4333133	1.44	
3	MNZ	鶏の筋肉	0.1	不検出	0.1	0.1	面積	0	136358	138021	137190	138986	139702	139344	0.98	
4	INZ	鶏の筋肉	0.1	不検出	0.1	0.1	面積	0	382946	389336	386141	394192	395052	394622	0.98	
5	HMMNI	鶏の筋肉	0.2	不検出	0.2	0.2	面積	0	73516	74494	74005	70008	71267	70638	1.05	
6	MNZOH	鶏の筋肉	0.1	不検出	0.1	0.1	面積	0	794709	793718	794214	819621	802192	810907	0.98	
7	INZOH	鶏の筋肉	0.1	不検出	0.1	0.1	面積	0	1065599	1063208	1064404	1123921	1117923	1120922	0.95	

*1 添加回収試験における回収率 100%相当濃度になるように、ブランク試料の試験溶液で調製した標準溶液(マトリックス添加標準溶液)及び溶媒で調製した標準溶液(溶媒標準溶液)を作成する。

*2 マトリックス添加標準溶液及び溶媒標準溶液の順に交互に2回以上測定した結果から評価する。(必要に応じて起爆注入を行う。)

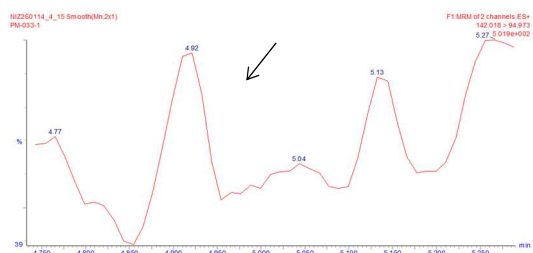
*3 ブランクにピークが認められた場合には、マトリックス添加標準溶液の値はブランク値を差し引いた値を用いる。

*4 マトリックス添加標準溶液は試験当日のブランク試料の試験溶液を用いて調製する。

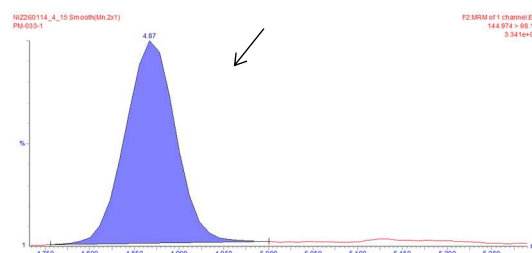
*5 マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積(又は高さ)の比を求める。

代表的なクロマトグラム

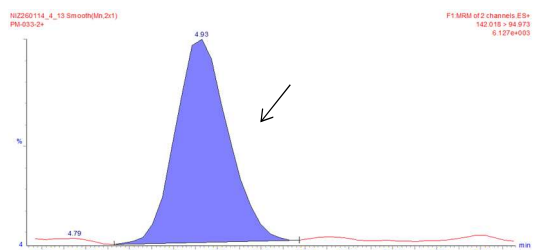
ブランク試料



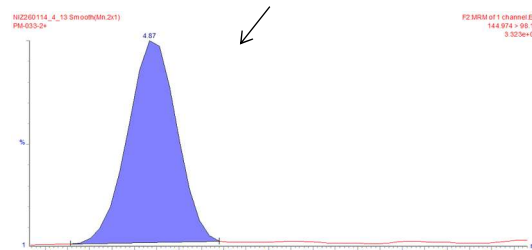
ブランク試料の内標準物質(1 µg/L)



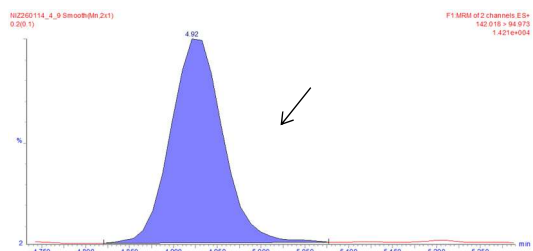
添加試料



添加試料の内標準物質(1 µg/L)



標準溶液(0.2 µg/L)



標準溶液(0.2 µg/L)の内標準物質(1 µg/L)

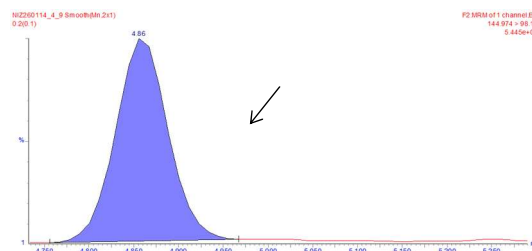
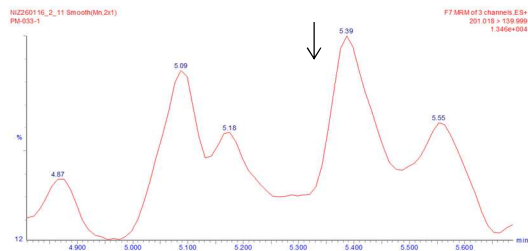


図 3-1 DTZ の SRM クロマトグラム

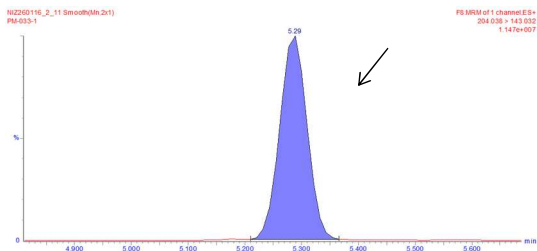
(m/z 142→95)

添加濃度: 0.2 µg/kg

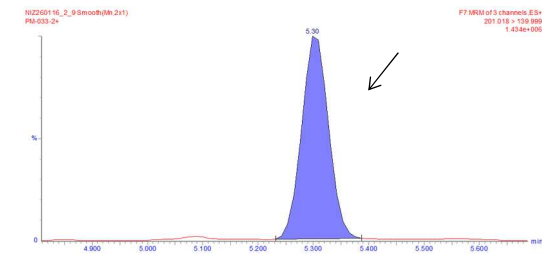
ブランク試料



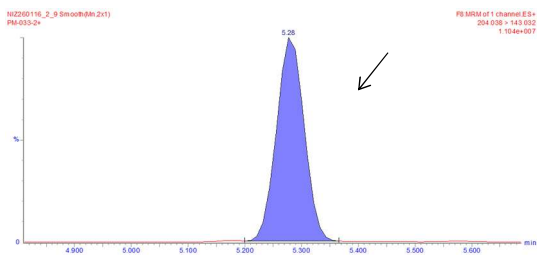
ブランク試料の内標準物質(1 µg/L)



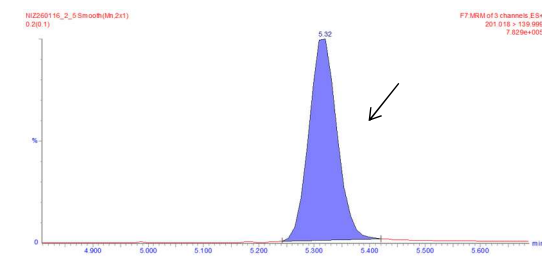
添加試料



添加試料の内標準物質(1 µg/L)



標準溶液(0.2 µg/L)



標準溶液(0.2 µg/L)の内標準物質(1 µg/L)

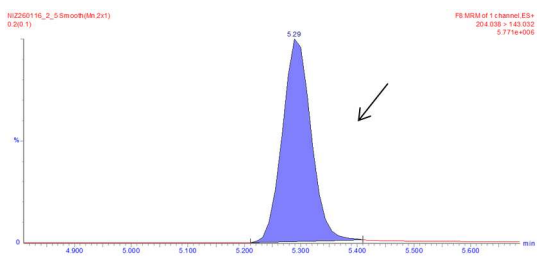
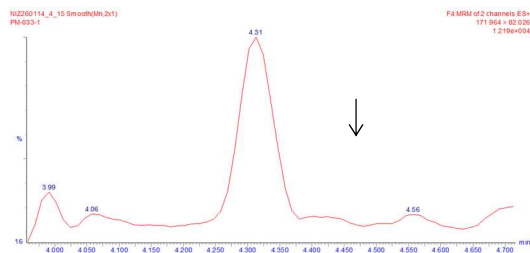


図 3-2 RNZ の SRM クロマトグラム

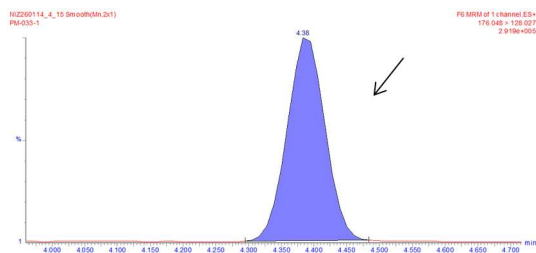
(m/z 201→140)

添加濃度: 0.2 µg/kg

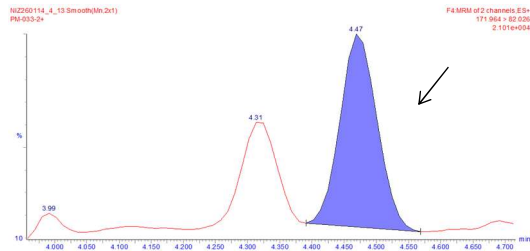
ブランク試料



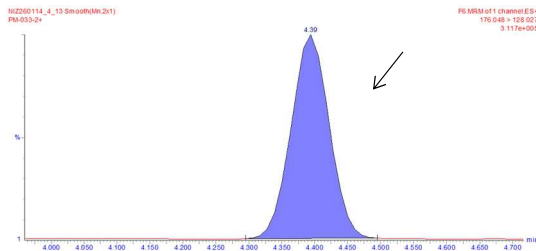
ブランク試料の内標準物質(0.5 µg/L)



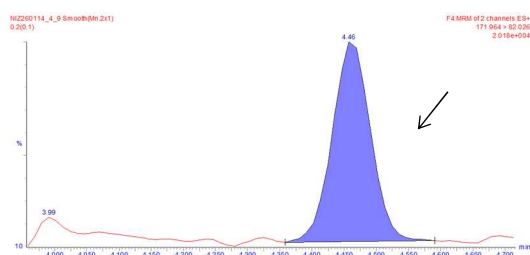
添加試料



添加試料の内標準物質(0.5 µg/L)



標準溶液(0.1 µg/L)



標準溶液(0.1 µg/L)の内標準物質(0.5 µg/L)

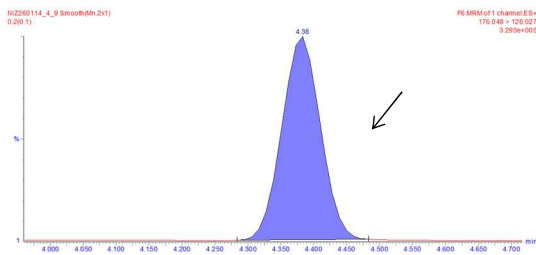
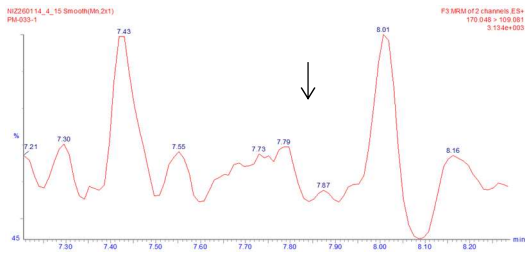


図 3-3 MNZ の SRM クロマトグラム

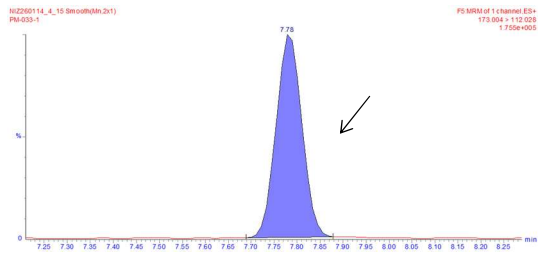
(m/z 172→82)

添加濃度: 0.1 µg/kg

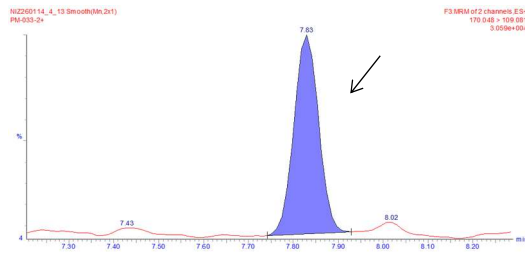
ブランク試料



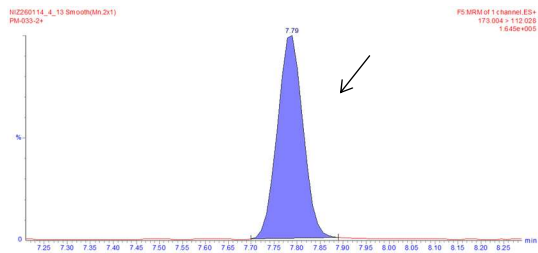
ブランク試料の内標準物質(0.5 µg/L)



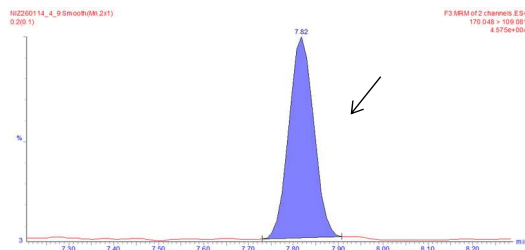
添加試料



添加試料の内標準物質(0.5 µg/L)



標準溶液(0.1 µg/L)



標準溶液(0.1 µg/L)の内標準物質(0.5 µg/L)

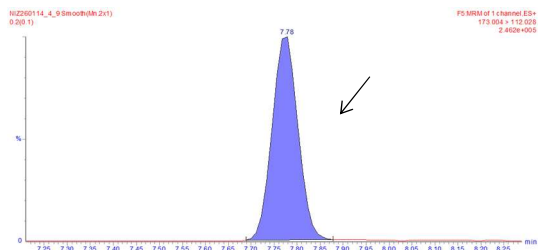
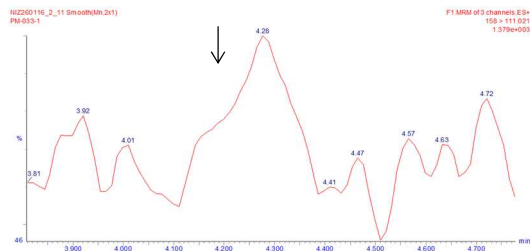


図 3-4 INZ の SRM クロマトグラム

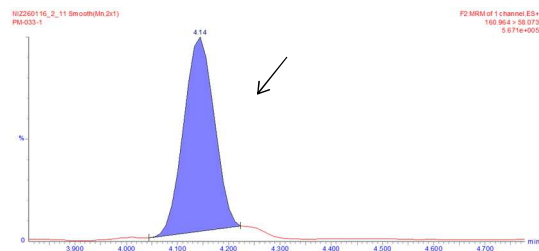
(m/z 170→109)

添加濃度 : 0.1 µg/kg

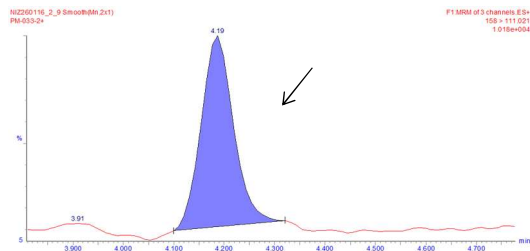
ブランク試料



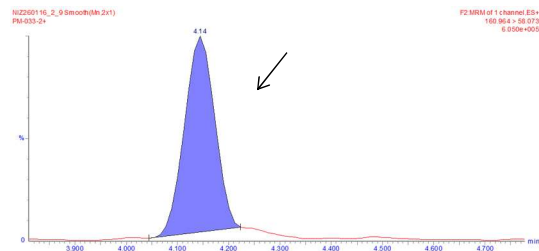
ブランク試料の内標準物質(1 µg/L)



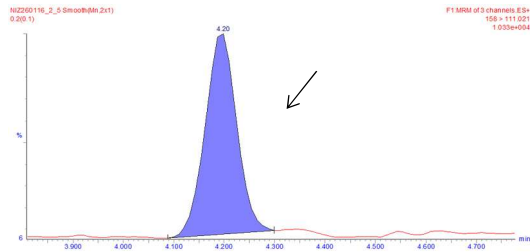
添加試料



添加試料の内標準物質(1 µg/L)



標準溶液(0.2 µg/L)



標準溶液(0.2 µg/L)の内標準物質(1 µg/L)

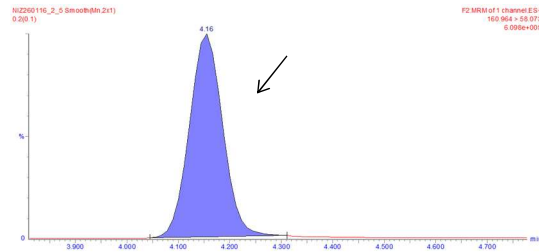
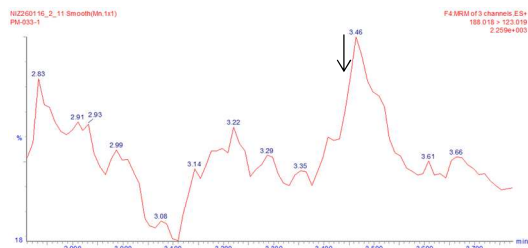


図 3-5 HMMNI の SRM クロマトグラム

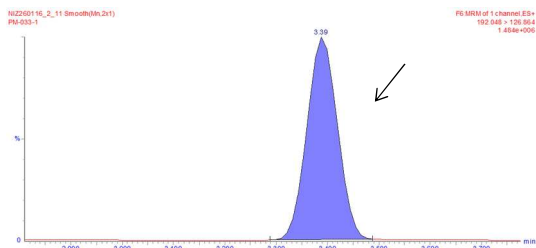
(m/z 158→111)

添加濃度 : 0.2 µg/kg

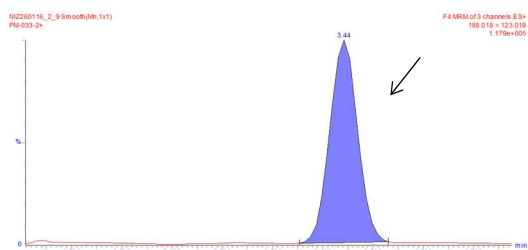
ブランク試料



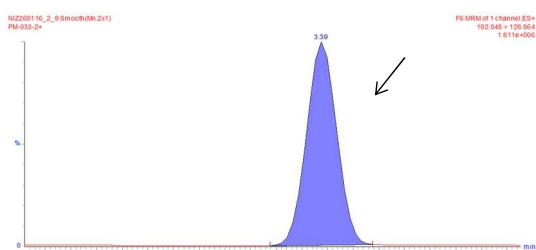
ブランク試料の内標準物質(0.5 µg/L)



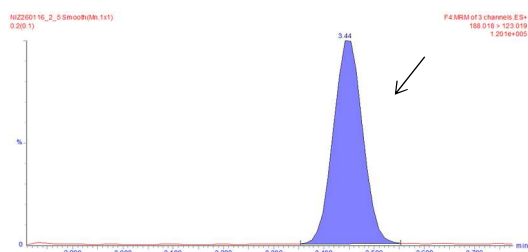
添加試料



添加試料の内標準物質(0.5 µg/L)



標準溶液(0.1 µg/L)



標準溶液(0.1 µg/L)の内標準物質(0.5 µg/L)

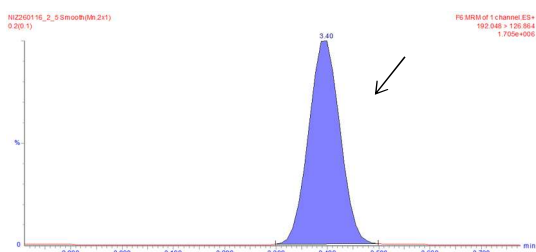
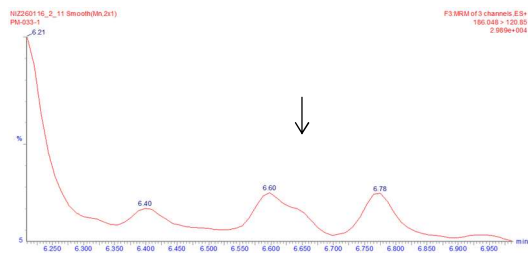


図 3-6 MNZOH の SRM クロマトグラム

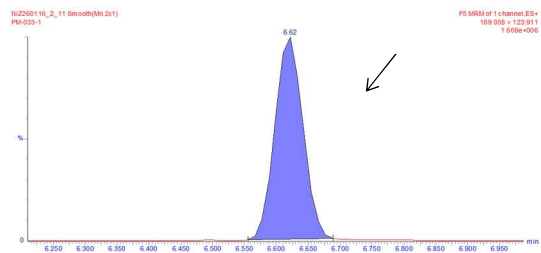
(m/z 188→123)

添加濃度 : 0.1 µg/kg

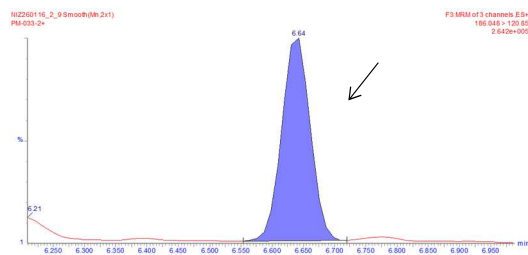
ブランク試料



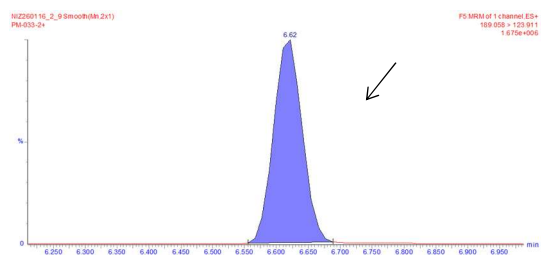
ブランク試料の内標準物質(0.5 µg/L)



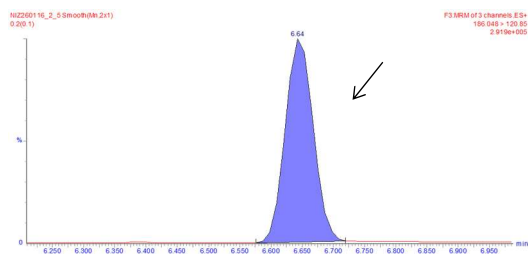
添加試料



添加試料の内標準物質(0.5 µg/L)



標準溶液(0.1 µg/L)



標準溶液(0.1 µg/L)の内標準物質(0.5 µg/L)

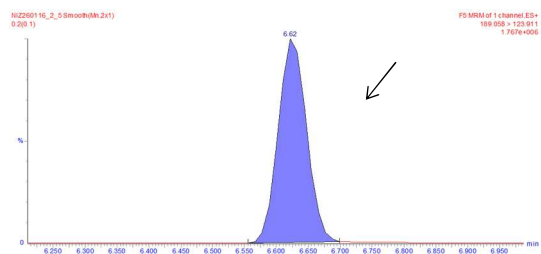


図 3-7 INZOH の SRM クロマトグラム

(m/z 186→121)

添加濃度 : 0.1 µg/kg

表 7 内標準混合標準溶液 (β-作動薬類)

測定物質	濃度(μg/L)				
	①	②	③	④	⑤
CBT	0.00625	0.0125	0.01875	0.025	0.0625
RCP、SAL及びZPT	0.0625	0.125	0.1875	0.25	0.625
CMT	0.0125	0.025	0.0375	0.05	0.125
CBT-d ₉ 及びCMT-d ₇	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125
RCP-d ₆ 、SAL-d ₉ 及びZPT- ¹³ C ₃	0.625	0.625	0.625	0.625	0.625

表 8-1 Bond Elut SCX HF(500 mg/3 mL)からの溶出状況(%) (β-作動薬類)

	負荷	水及びメタノールの混液(1:1)	メタノール	水及び25%アンモンニア水の混液(98:2)	メタノール	メタノール及び25%アンモンニア水の混液(98:2)		合計
		0-5 mL	0-10 mL	0-5 mL	0-5 mL	0-10 mL	10-15 mL	
CBT	0	0	0	0	24	52	0	76
RCP	0	0	0	2	9	2	0	13
SAL	0	0	0	1	17	18	1	37
ZPT	0	0	0	0	32	4	0	36
CMT	0	0	0	0	23	61	0	84

表 8-2 EVOLUTE EXPRESS CX(150 mg/6 mL)からの溶出状況(%) (β-作動薬類)

	負荷	水及びメタノールの混液(1:1)	メタノール	水及び25%アンモンニア水の混液(98:2)	メタノール	メタノール及び25%アンモンニア水の混液(98:2)		合計
		0-5 mL	0-10 mL	0-5 mL	0-5 mL	0-10 mL	10-15 mL	
CBT	0	0	0	0	0	60	1	61
RCP	0	0	0	0	2	63	0	65
SAL	0	0	0	1	3	83	0	87
ZPT	0	0	0	0	34	62	0	96
CMT	0	0	0	0	0	72	1	73

表 8-3 Oasis MCX (500 mg/6 mL)からの溶出状況(%) (β-作動薬類)

	負荷	水及びメタノールの混液(1:1)	メタノール	水及び25%アンモンニア水の混液(98:2)	メタノール	メタノール及び25%アンモンニア水の混液(98:2)		合計
		0-5 mL	0-10 mL	0-5 mL	0-5 mL	0-10 mL	10-15 mL	
CBT	0	0	0	0	2	81	3	86
RCP	0	0	0	0	0	72	1	73
SAL	0	0	0	0	0	80	1	81
ZPT	0	0	0	0	0	99	1	100
CMT	0	0	0	0	0	72	3	75

表 9-1 CBT の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 (μg/kg)	測定値 (μg/kg)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.05	1回目	0.0469	0.0473	0.0464	0.0520	0.0448	0.0485	97.0	5.6	5.6
	2回目	0.0490	0.0522	0.0481	0.0483	0.0501				

表 9-2 RCP の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.476	0.490	0.497	0.488	0.510	0.491	98.1	0.8	2.2
	2回目	0.481	0.484	0.489	0.486	0.504				

表 9-3 SAL の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.438	0.463	0.457	0.478	0.494	0.464	92.8	2.5	3.5
	2回目	0.453	0.453	0.468	0.473	0.465				

表 9-4 ZPT の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.5	1回目	0.487	0.504	0.486	0.500	0.500	0.493	98.6	2.9	3.0
	2回目	0.464	0.484	0.517	0.500	0.487				

表 9-5 CMT の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
0.1	1回目	0.096	0.100	0.110	0.099	0.093	0.098	98.2	6.3	6.7
	2回目	0.092	0.097	0.094	0.108	0.091				

表 10-1 CBT の真度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)						平均 回収率 (%)
	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	全平均	
0.05	0.0528	0.0474	0.0513	0.0514	0.0490	0.0504	100.8

表 10-2 RCP の真度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)						平均 回収率 (%)
	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	全平均	
0.5	0.494	0.488	0.505	0.502	0.488	0.495	99.1

表 10-3 SAL の真度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)						平均 回収率 (%)
	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	全平均	
0.5	0.453	0.470	0.456	0.466	0.462	0.461	92.3

表 10-4 ZPT の真度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)						平均 回収率 (%)
	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	全平均	
0.5	0.495	0.499	0.491	0.491	0.500	0.495	99.1

表 10-5 CMT の真度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)						平均 回収率 (%)
	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	全平均	
0.1	0.098	0.089	0.086	0.093	0.088	0.091	90.9

表 11-1 牛の筋肉における試料マトリックスの測定への影響

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (μg/kg)	基準値 (ppm)	添加濃度 (μg/kg)	標準溶液 濃度 ¹⁾ (μg/L)	ピーク面積(高さ) ²⁾								備 考	
							面積又は 高さの別	ブランク ³⁾	マトリックス添加標準溶液 ⁴⁾			溶媒標準溶液				ピーク面積 (高さ)比 ⁵⁾
									n=1	n=2	平均	n=1	n=2	平均		
1	CBT	牛の筋肉	0.05	0.0002	0.05	0.0125	面積	0	45995	51420	48708	52832	55976	54404	0.90	—
2	RCP	牛の筋肉	0.5	0.01	0.5	0.125	面積	0	598481	599843	599162	712757	706151	709454	0.84	—
3	SAL	牛の筋肉	0.5	—	0.5	0.125	面積	0	611095	593260	602178	722015	734216	728116	0.83	—
4	ZPT	牛の筋肉	0.5	0.01	0.5	0.125	面積	0	494338	493059	493699	536003	543885	539944	0.91	—
5	CMT	牛の筋肉	0.1	—	0.1	0.025	面積	0	66837	65811	66324	75026	71532	73279	0.91	—

*1 添加回収試験における回収率 100%相当濃度になるように、ブランク試料の試験溶液で調製した標準溶液(マトリックス添加標準溶液)及び溶媒で調製した標準溶液(溶媒標準溶液)を作成する。

*2 マトリックス添加標準溶液及び溶媒標準溶液の順に交互に2回以上測定した結果から評価する。(必要に応じて起爆注入を行う。)

*3 ブランクにピークが認められた場合には、マトリックス添加標準溶液の値はブランク値を差し引いた値を用いる。

*4 マトリックス添加標準溶液は試験当日のブランク試料の試験溶液を用いて調製する。

*5 マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積(又は高さ)の比を求める。

表 11-2 鶏の筋肉における試料マトリックスの測定への影響

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 ($\mu\text{g/kg}$)	基準値 (ppm)	添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	標準溶液 濃度 ^{*1} ($\mu\text{g/L}$)	ピーク面積(高さ) ^{*2}								備 考	
							面積又は 高さの別	ブランク ^{*3}	マトリックス添加標準溶液 ^{*4}			溶媒標準溶液				ピーク面積 (高さ)比 ^{*5}
									n=1	n=2	平均	n=1	n=2	平均		
1	CBT	鶏の筋肉	0.05	不検出	0.05	0.0125	面積	0	48241	49941	49091	52369	52306	52338	0.94	—
2	RCP	鶏の筋肉	0.5	—	0.5	0.125	面積	0	621291	617223	619257	698654	698976	698815	0.89	—
3	SAL	鶏の筋肉	0.5	—	0.5	0.125	面積	0	668495	658650	663573	710853	720418	715636	0.93	—
4	ZPT	鶏の筋肉	0.5	—	0.5	0.125	面積	0	497741	487385	492563	528022	548679	538351	0.91	—
5	CMT	鶏の筋肉	0.1	—	0.1	0.025	面積	0	70530	65492	68011	72522	73771	73147	0.93	—

*1 添加回収試験における回収率 100%相当濃度になるように、ブランク試料の試験溶液で調製した標準溶液(マトリックス添加標準溶液)及び溶媒で調製した標準溶液(溶媒標準溶液)を作成する。

*2 マトリックス添加標準溶液及び溶媒標準溶液の順に交互に2回以上測定した結果から評価する。(必要に応じて起爆注入を行う。)

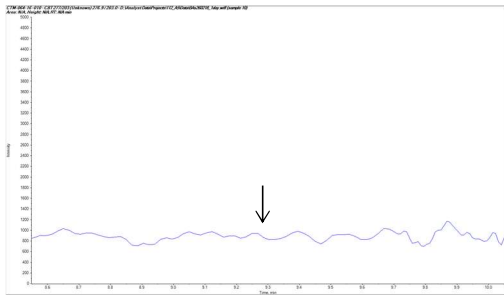
*3 ブランクにピークが認められた場合には、マトリックス添加標準溶液の値はブランク値を差し引いた値を用いる。

*4 マトリックス添加標準溶液は試験当日のブランク試料の試験溶液を用いて調製する。

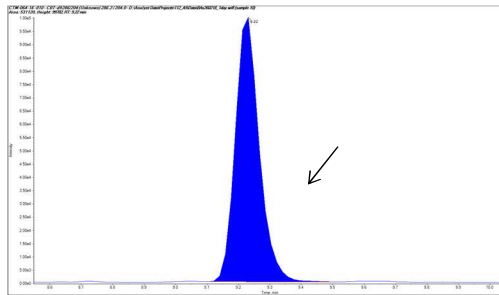
*5 マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積(又は高さ)の比を求める。

代表的なクロマトグラム

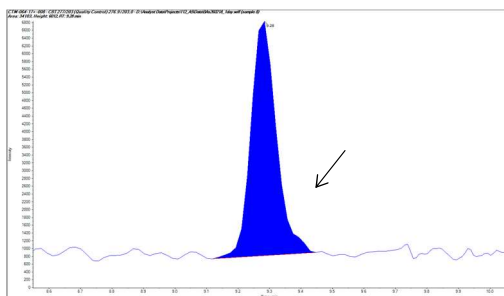
ブランク試料



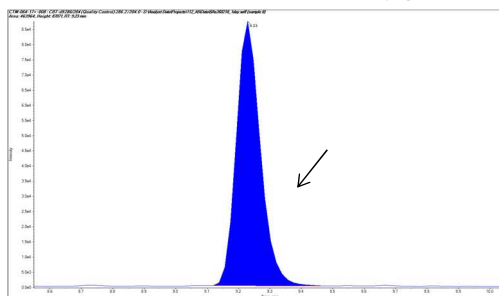
ブランク試料の内標準物質(0.125 µg/L)



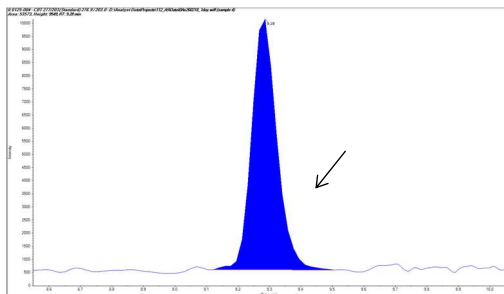
添加試料



添加試料の内標準物質(0.125 µg/L)



標準溶液(0.0125 µg/L)



標準溶液(0.0125 µg/L)の内標準物質(0.125 µg/L)

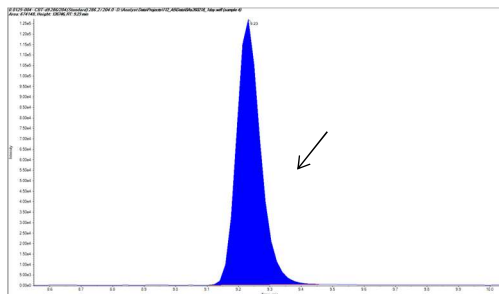


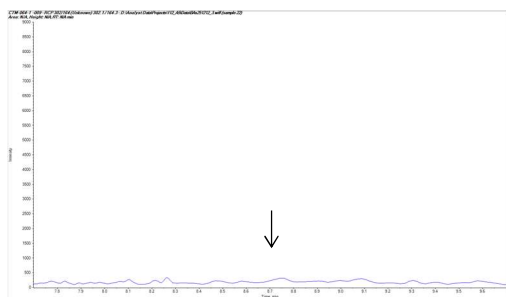
図 4-1 CBT の SRM クロマトグラム

(m/z 277→203)

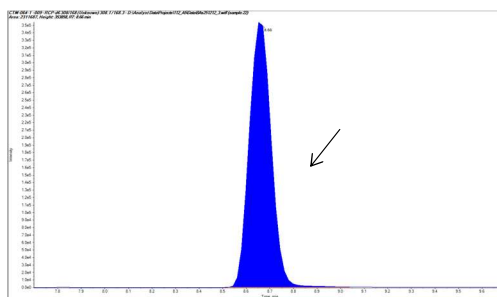
ブランク試料: 牛の筋肉

添加濃度: 0.05 µg/kg

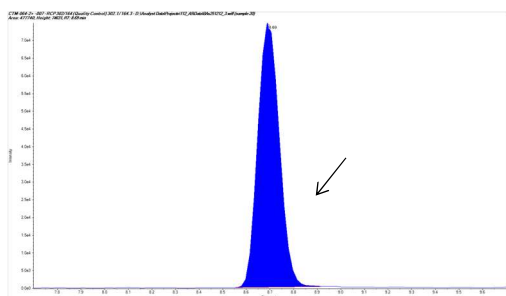
ブランク試料



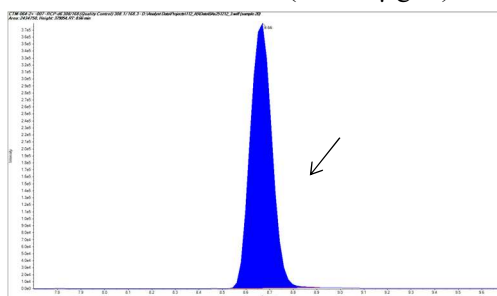
ブランク試料の内標準物質(0.625 µg/L)



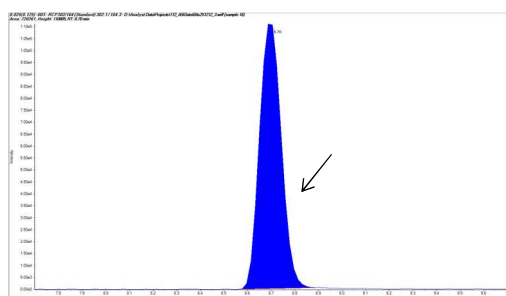
添加試料



添加試料の内標準物質(0.625 µg/L)



標準溶液(0.125 µg/L)



標準溶液(0.125 µg/L)の内標準物質(0.625 µg/L)

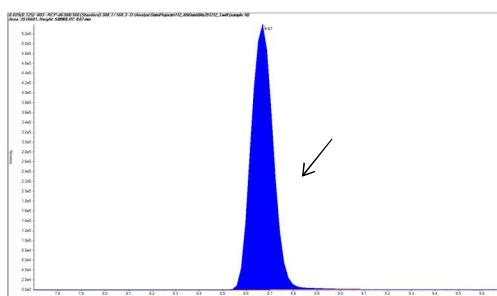


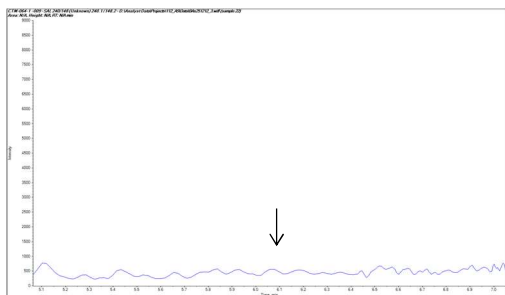
図 4-2 RCP の SRM クロマトグラム

(m/z 302→164)

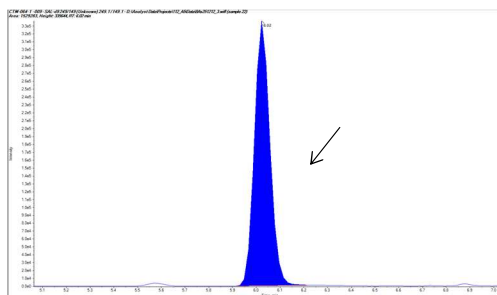
ブランク試料: 牛の筋肉

添加濃度: 0.5 µg/kg

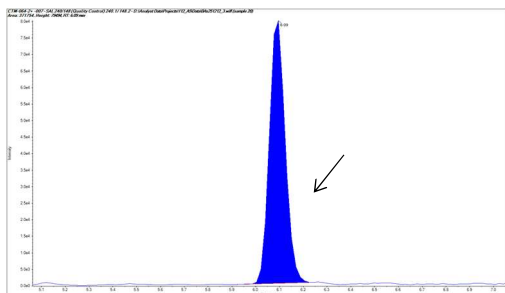
ブランク試料



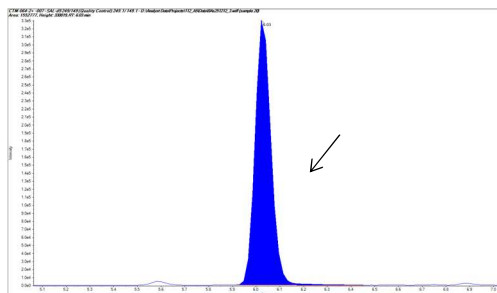
ブランク試料の内標準物質(0.625 µg/L)



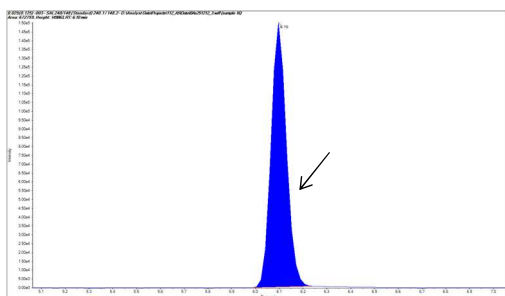
添加試料



添加試料の内標準物質(0.625 µg/L)



標準溶液(0.125 µg/L)



標準溶液(0.125 µg/L)の内標準物質(0.625 µg/L)

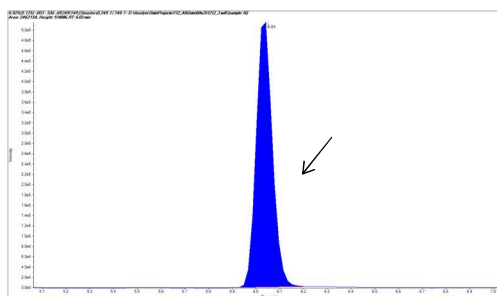


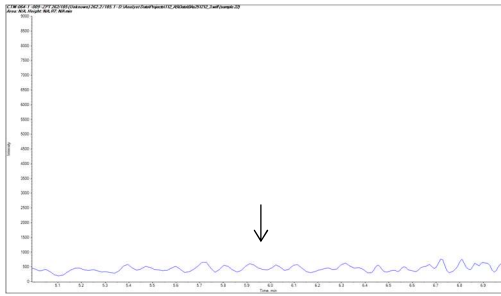
図 4-3 SAL の SRM クロマトグラム

(m/z 240→148)

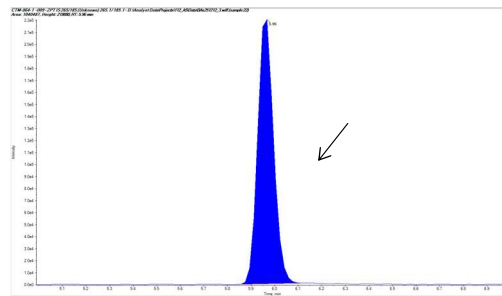
ブランク試料: 牛の筋肉

添加濃度: 0.5 µg/kg

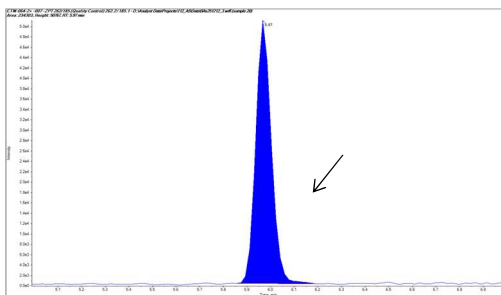
ブランク試料



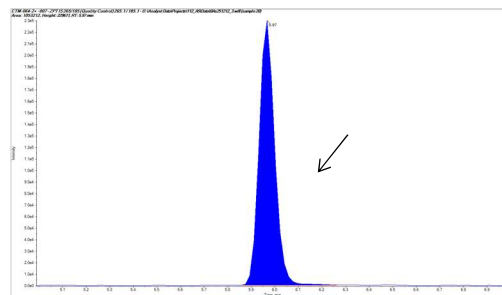
ブランク試料の内標準物質(0.625 µg/L)



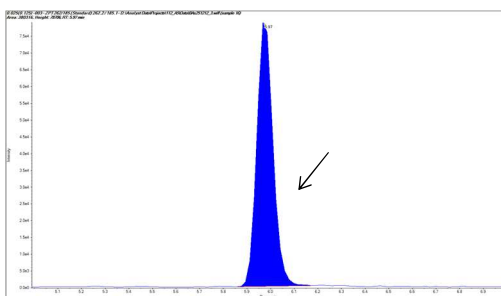
添加試料



添加試料の内標準物質(0.625 µg/L)



標準溶液(0.125 µg/L)



標準溶液(0.125 µg/L)の内標準物質(0.625 µg/L)

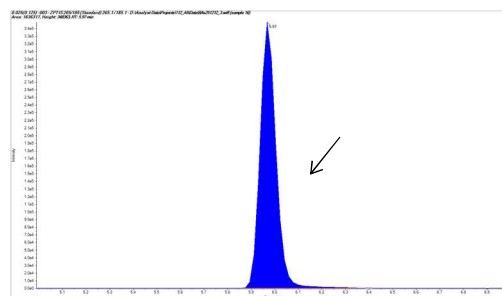


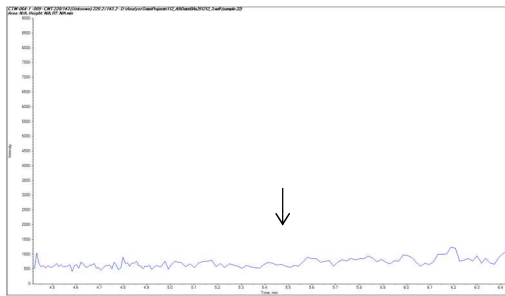
図 4-4 ZPT の SRM クロマトグラム

(m/z 262→185)

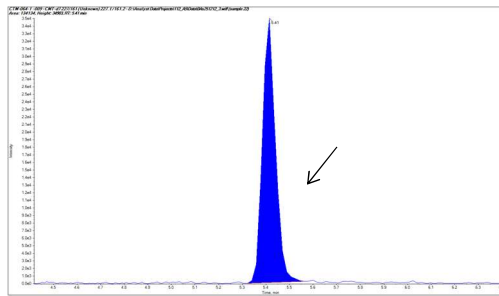
ブランク試料: 牛の筋肉

添加濃度: 0.5 µg/kg

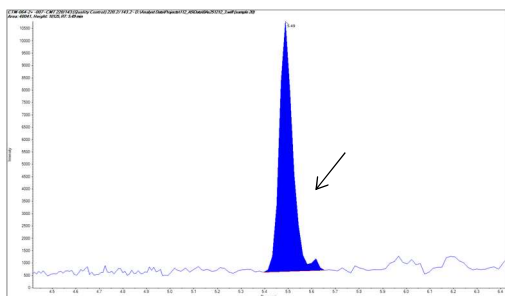
ブランク試料



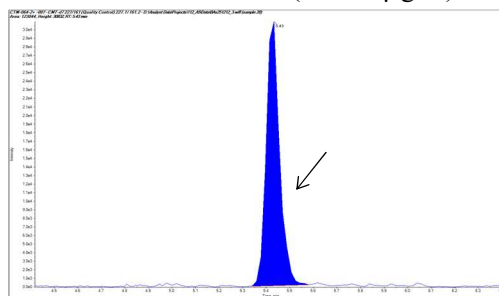
ブランク試料の内標準物質(0.125 µg/L)



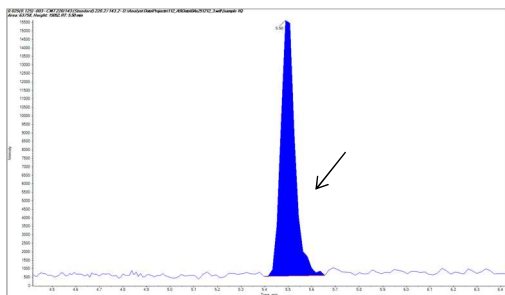
添加試料



添加試料の内標準物質(0.125 µg/L)



標準溶液(0.025 µg/L)



標準溶液(0.025 µg/L)の内標準物質(0.125 µg/L)

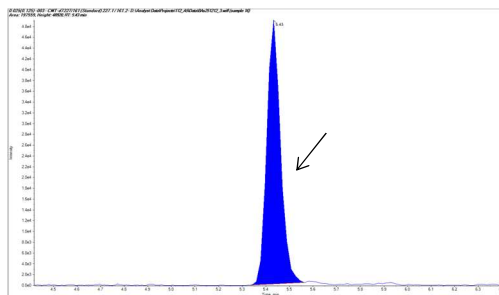


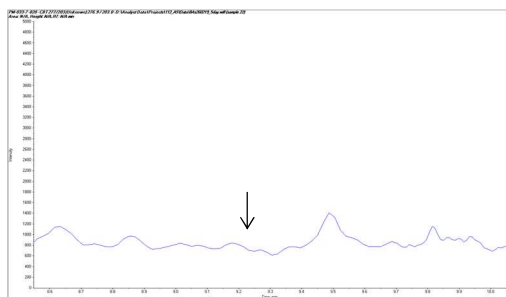
図 4-5 CMT の SRM クロマトグラム

(m/z 220→143)

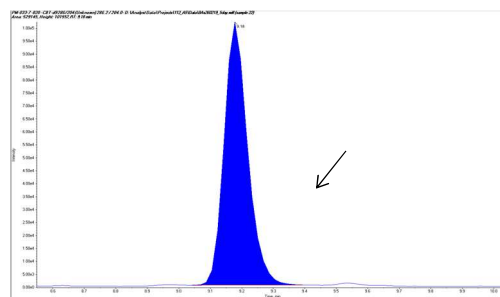
ブランク試料: 牛の筋肉

添加濃度: 0.1 µg/kg

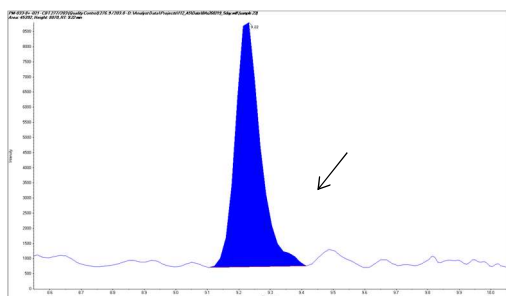
ブランク試料



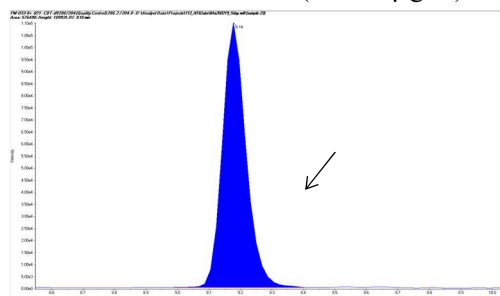
ブランク試料の内標準物質(0.125 µg/L)



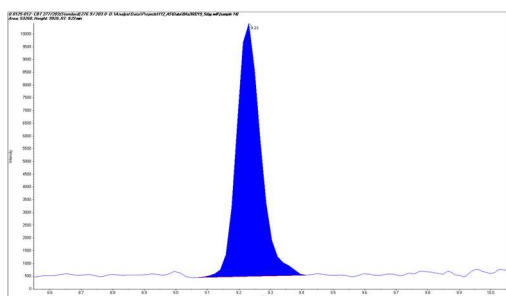
添加試料



添加試料の内標準物質(0.125 µg/L)



標準溶液(0.0125 µg/L)



標準溶液(0.0125 µg/L)の内標準物質(0.125 µg/L)

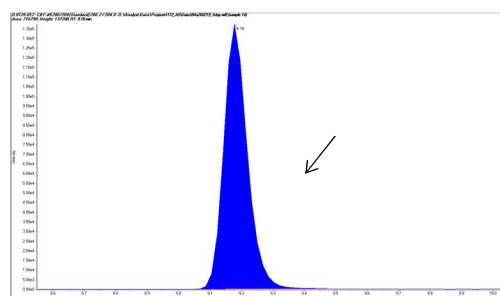


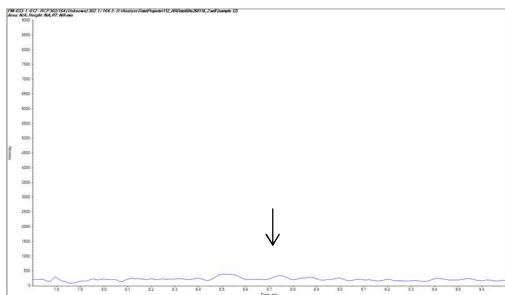
図 4-6 CBT の SRM クロマトグラム

(m/z 277→203)

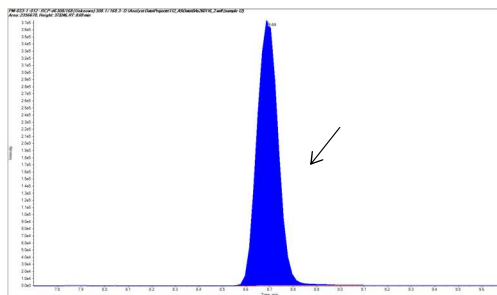
ブランク試料: 鶏の筋肉

添加濃度: 0.05 µg/kg

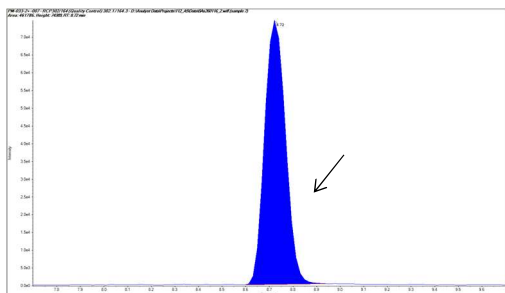
ブランク試料



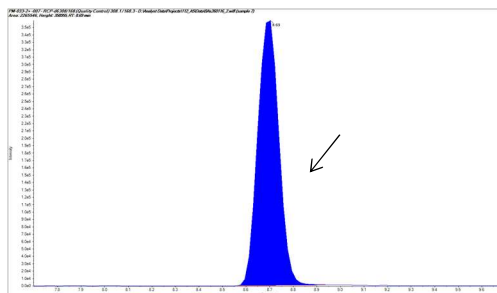
ブランク試料の内標準物質(0.625 µg/L)



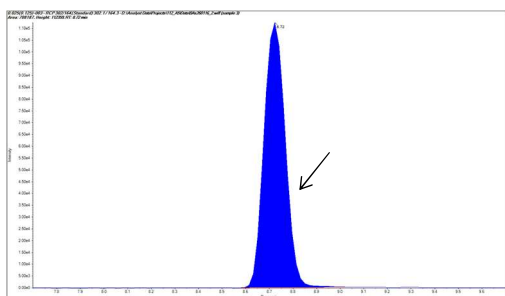
添加試料



添加試料の内標準物質(0.625 µg/L)



標準溶液(0.125 µg/L)



標準溶液(0.125 µg/L)の内標準物質(0.625 µg/L)

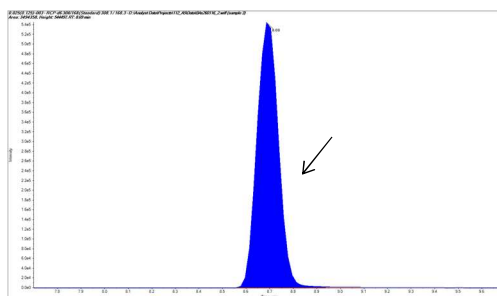


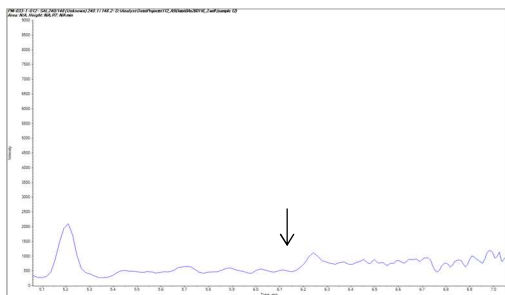
図 4-7 RCP の SRM クロマトグラム

(m/z 302→164)

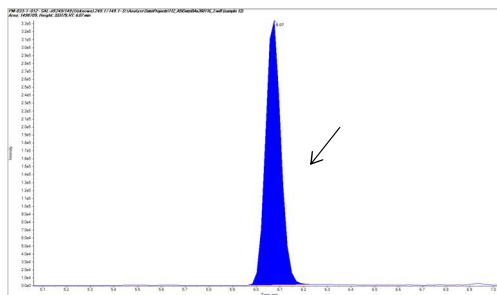
ブランク試料: 鶏の筋肉

添加濃度: 0.5 µg/kg

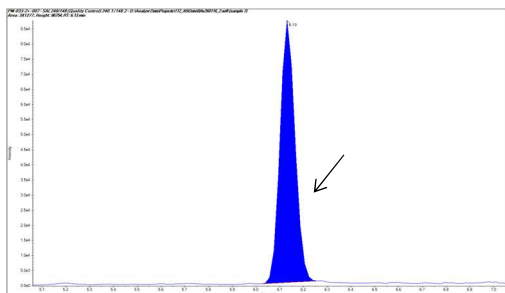
ブランク試料



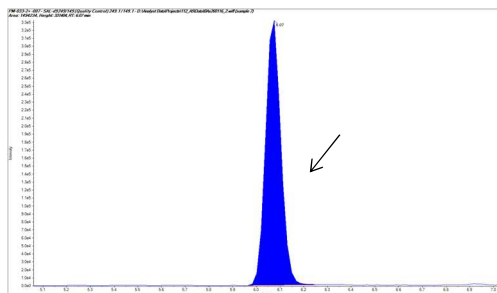
ブランク試料の内標準物質(0.625 $\mu\text{g/L}$)



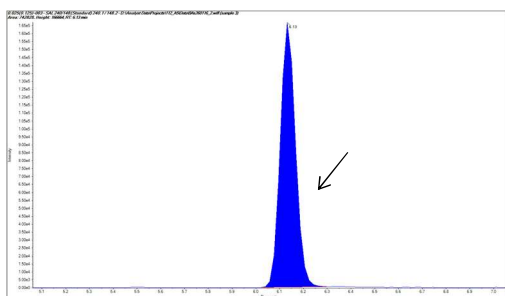
添加試料



添加試料の内標準物質(0.625 $\mu\text{g/L}$)



標準溶液(0.125 $\mu\text{g/L}$)



標準溶液(0.125 $\mu\text{g/L}$)の内標準物質(0.625 $\mu\text{g/L}$)

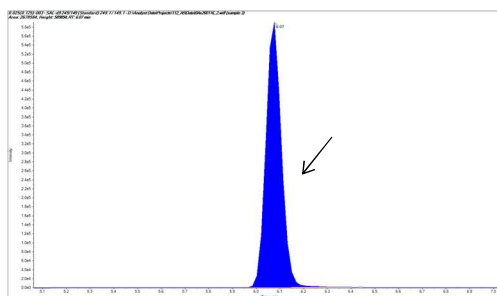


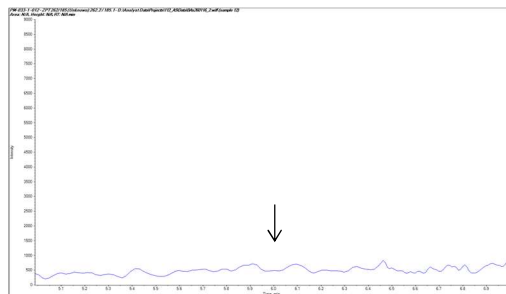
図 4-8 SAL の SRM クロマトグラム

(m/z 240 $\rightarrow$ 148)

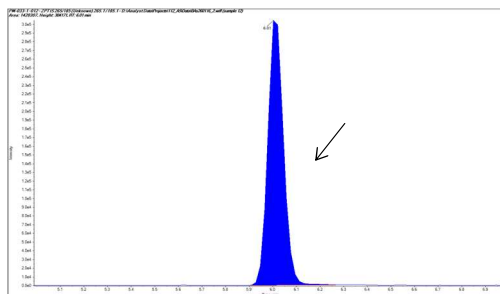
ブランク試料:鶏の筋肉

添加濃度:0.5 $\mu\text{g/kg}$

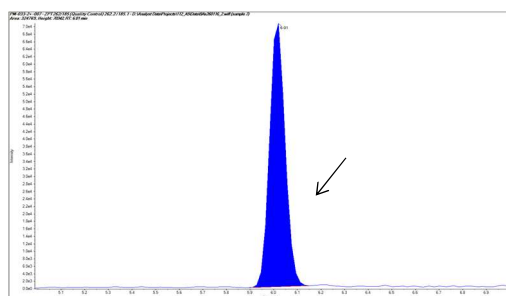
ブランク試料



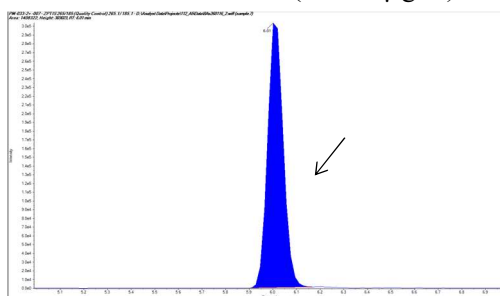
ブランク試料の内標準物質(0.625 µg/L)



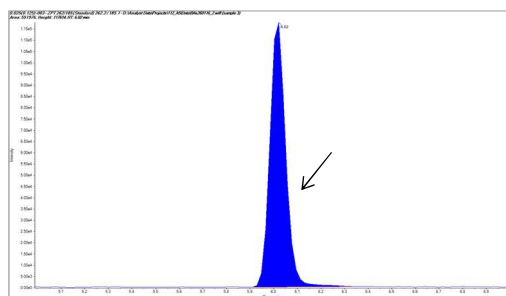
添加試料



添加試料の内標準物質(0.625 µg/L)



標準溶液(0.125 µg/L)



標準溶液(0.125 µg/L)の内標準物質(0.625 µg/L)

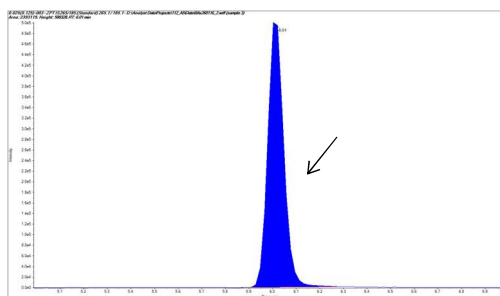


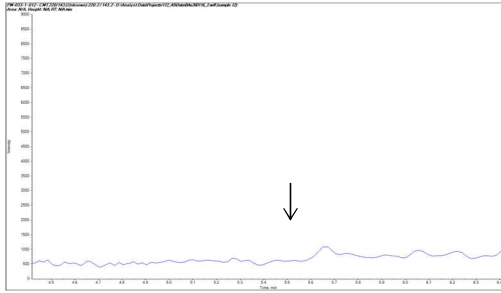
図 4-9 ZPT の SRM クロマトグラム

(m/z 262→185)

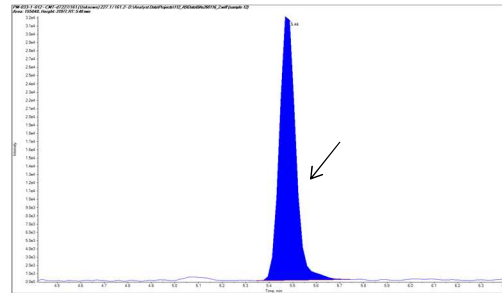
ブランク試料: 鶏の筋肉

添加濃度: 0.5 µg/kg

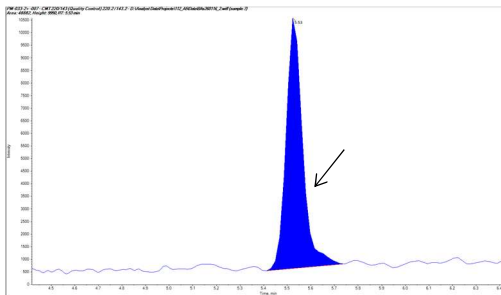
ブランク試料



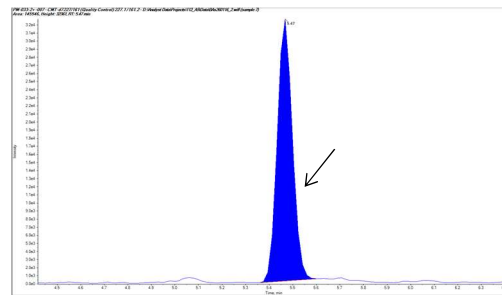
ブランク試料の内標準物質(0.125 µg/L)



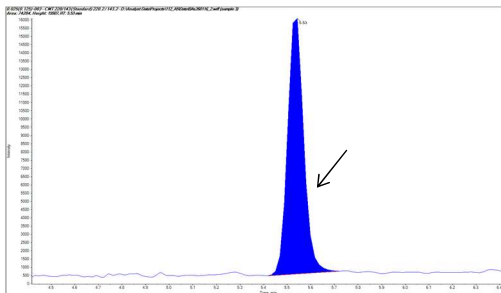
添加試料



添加試料の内標準物質(0.125 µg/L)



標準溶液(0.025 µg/L)



標準溶液(0.025 µg/L)の内標準物質(0.125 µg/L)

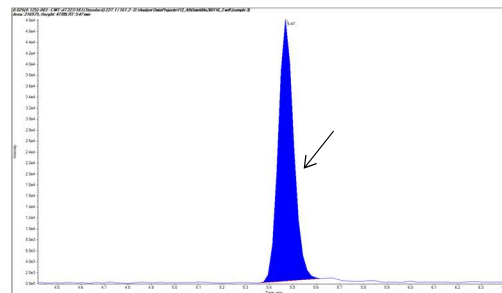


図 4-10 CMT の SRM クロマトグラム

(m/z 220→143)

ブランク試料: 鶏の筋肉

添加濃度: 0.1 µg/kg