

牛肉中に残留する39種類の合成抗菌剤の蛍光検出器及び ダイオードアレイ検出器付き高速液体クロマトグラフィーによる一斉分析法

永田 知子, 長谷川康行, 橋本 博之, 真壁 祐樹

Simultaneous determination of residual 39 kinds of syntetic-antibacterials in bovine muscle
by high performance liquid chromatography with fluorescent and diode array detector

Tomoko NAGATA, Yasuyuki HASEGAWA
Hiroyuki HASHIMOTO, Yuuki MAKABE

Summary

A 39 kinds of antibacterials in bovine muscle were extracted with acetonitrile and the extract was partitioned with hexane to remove fat. The extract was evaporated to dryness and the residues was dissolved with acetonitrile+water (2+8) and applied to high performance liquid chromatograph (HPLC). The drugs were detected with fluorescent and diode array detectors. HPLC was carried out on a TSK-gel ODS-80 TM column using gradient elution with acetonitrile-0.05%trifluoroacetic acid. The recoveries of the drugs from bovine muscles spiked at 0.1 ppm were over 66.0% and the each quantitation limit was between 0.02 ppm and 0.002 ppm.

I はじめに

動物用医薬品は、家畜及び養殖魚の生産性向上、疾病予防に使用されており⁽¹⁾、畜水産食品に残留することが懸念されている。近年報告された動物用医薬品の残留分析法には、サルファ剤^(1,2,3,6,9)、トリメトプリム (TMP)^(4,7,10)、オルメトプリム (OMP)^(4,7,9)、ピリメタミン (PYM)^(4,7,10)、フルベンダゾール (FLBZ)^(2,4,11)、ナイカルバジン (NCZ)^(2,1,6,8,9,13)、ジクラズリル (DCZ)^(2,4,15)、クロサンテール (KLST)^(2,4,15)、クロピドール^(1,6,8,9)、チアンフェニコール (TPC)^(1,6)、ベンズイミダゾール系^(2,4,10,12)、レバミゾール (LVMZ)^(2,4,13)、イソメタミジウム (IMD)^(2,4,11)、キノロン剤^(1,7)等がある。平成17年4月現在、上記の動物用医薬品の中で、NCZ、DCZ、KLST、LVMZ、サルファ剤のスルファジミジン (SDD)、ベンズイミダゾール系のチアベンダゾール (TBZ)、アルベンダゾール代謝物 (ABZ-M)、FLBZ、トリクラベンダゾールについて、牛、豚、羊、馬、鹿、山羊、鶏、家鴨、七面鳥を対象としてそれぞれ残留基準値が定められている^(2,3)。

上記の合成抗菌剤の残留分析法には、畜水産動物の組織^(2,1,10,13,15)、乳^(2,4,10,12)及び卵^(2,16,7,11)を対象とした分析法がある。測定は、紫外外部吸収光度計や蛍光光度計付き高速液体クロマトグラフ (HPLC)^(2,11,15)及び高速液体クロマトグラフ・質量分析計 (LC/MS)⁽¹¹⁾等を用いて行なわれている。

この度、上記の合成抗菌剤ならびに鶏コクシジウム病に用いられているエトバベート (ETB)、さらにシロマジン及びキノロン剤⁽¹⁶⁾を含めた同時分析法を検討した。

II 実験方法

1. 試料

試料は市販の牛肉を用いた。

2. 試薬、標準品及び装置

1) 試薬等：

アセトニトリル (HPLC用、特級)、メタノール、ヘキサン、1-プロピルアルコール、トリフルオロ酢酸、水 (ミリポア水)、水酸化ナトリウム、無水硫酸ナトリウム。HPLC用アセトニトリル以外の試薬は、すべて特級品を用いた。

ヘキサン-アセトニトリル飽和溶液：ヘキサン300mlとアセトニトリル30mlを振とう機で振とうし、静置後上層を用いる。

0.05%トリフルオロ酢酸溶液 (pH2.5)：水1000mlを攪拌子で攪拌しながら、トリフルオロ酢酸を滴下し (約0.5ml)、pHメーターを用いてpH2.5に調整する。

2) 標準品：

スルファニルアミド (SNA)、スルファピリジン (SPD)、スルフィソキサゾール (SIX)、スルファベンザミド (SBAM)、スルファニトラン (SNT)、アルベンダゾール代謝物 (ABZ-M)、チアベンダゾール代謝物 (TBZ-M)、レバミゾール (LVMZ)、イソメタミジウム (IMD)、プラジクアンテル (PRZA)、ジクラズリル (DCZ)、シロマジン、クロピドール：林純薬工業株式会社製、スルファジアジン (SDZ)、スルファチアゾール (STZ)、スルフィソミジン (SID)、スルファメラジン (SMR)、スルファジミジン (SDD)、スルファメトキシピリダジン (SMPD)、スルファモノメトキシ (SMMX)、スルファクロルピリダジン (SCPD)、スルファメトキサゾール (SMMZ)、スルファドキシ (SDOX)、スルファジメトキシ (SDMX)、スルファキノキサリン (SQX)、チアンフェニコール (TPC)、チアベンダゾール (TBZ)、トル

メトプリム (TMP), オルメトプリム (OMP), ピリメタミン (PYM), エトバベート (ETB), フルベンダゾール (FLBZ), ナイカルバジン (NCZ), クロサンテール (KLST): 関東化学株式会社製, スルファグアニジン (SGD): シグマ社製, キノロン剤 13 種は, 文献⁽¹⁾参照

(アンダーラインのある標準品は, 検討したが本法では試料からの妨害成分で測定不可能であった医薬品。)

3) 標準溶液の作成

NCZ, DCZ, KLST を各々10.0mg正確に採り, ジメチルホルムアミド+アセトニトリル (1+1) 混液に溶かして100.0mlとする。FLBZを10.0mg正確に採り, アセトニトリルに溶かして500.0mlとする。その他の標準品は, 各々10.0mgを正確に採りアセトニトリル+水 (1+1) 混液に溶解し100.0mlとする。以上を保存用標準溶液として冷蔵庫で保存する。(FLBZは, 20.0 μg/ml。その他は, 100.0 μg/ml)

4種 (I~IV) 混合標準溶液の作成:

混合標準溶液 I : SNA, SPD, SIX, SBAM, SNT, SDZ, SID, SMR, SDD, SMPD, SMMX, SCPD, SMMZ, SDOX, SDMX, SQX, SGD 各保存用標準溶液 (100.0 μg/ml) を各々1.0ml合わせ採り, アセトニトリル+水 (2+8) 混液で20.0mlとし, 混合標準溶液 I とする (各々5.0 μg/ml)。この混合標準溶液を適宜, アセトニトリル+水 (2+8) 混液で希釈し, 0.01~1.0 μg/ml の希釈混合標準溶液を作成する。

混合標準溶液 II : キノロン剤 (ロメフロキサシンを除く) 12種及びSTZ, TPC 各標準溶液 (100.0 μg/ml) を各々1.0ml合わせ採り, アセトニトリル+水 (2+8) 混液で20.0mlとし, 混合標準溶液 II とする (各々5.0 μg/ml)。この混合標準溶液を適宜, アセトニトリル+水 (2+8) 混液で希釈し, 0.01~1.0 μg/ml の希釈混合標準溶液を作成する。

混合標準溶液 III : ABZ-M, TBZ-M, LVMZ, IMD, PRZA, DCZ, TMP, OMP, NCZ, KLST, クロピドール, シロマジン 各保存用標準溶液 (100.0 μg/ml) を各々1.0ml及びFLBZ保存用標準溶液 (20.0 μg/ml) 5.0mlを合わせ採り, アセトニトリル+水 (2+8) 混液で20.0mlとし, 混合標準溶液 III とする (各々5.0 μg/ml)。この混合標準溶液を適宜, アセトニトリル+水 (2+8) 混液で希釈し, 0.01~1.0 μg/ml の希釈混合標準溶液を作成する。

混合標準溶液 IV : TBZ, TBZ-M, PYM, ETB, ロメフロキサシン (RMFX), シロマジン 各保存用標準溶液 (100.0 μg/ml) を各々1.0ml合わせ採り, アセトニトリル+水 (2+8) 混液で20.0mlとし, 混合標準溶液 IV とする (各々5.0 μg/ml)。この混合標準溶液を適宜, アセトニトリル+水 (2+8) 混液で希釈し, 0.01~1.0 μg/ml の希釈混合標準溶液を作成する。

4) 装置及び測定条件

装置

高速液体クロマトグラフ: LC-10A vp型ポンプ, FCV-10AL vp型ミキシングポンプ, DGU-14A型デガッサー, SIL-10A xL型オートインジェクター, CTO-10A vp型恒温槽, RF-10A xL型蛍光検出器, SPD-M10A vp型ダイオードアレイ検出器, CBM-10A型コミュニケーションバスモジュール,

CLASS-10型データ処理機 (島津製作所製)

測定条件

移動相: A液: アセトニトリル, B液: 0.05%トリフルオロ酢酸溶液 (pH2.5)

グラジエント条件: 0 min: A液10%, B液90%, 7 min: A液20%, B液80%, 17min: A液60%, B液40%, 25min: A液100%, B液100%, 30min: A液100%, B液100%, 31min: A液10%, B液90%, 1サイクル: 45min

カラム: TSKgel ODS-80 TM (4.6mm i.d. x 15cm) 東ソー株式会社製

ガードカラム: TSKguardgel ODS-80 TM (3.2mm i.d. x 1.5cm) 東ソー株式会社製

流速: 1.0ml/min

ダイオードアレイ波長スキャン: 210~300nm

定量用検出波長: 214nm (LVMZ, IMD, DCZ, KLST), 230nm (TPC), 300nm (NCZ), 270nm (サルファ剤, OMP, TMP, FLBZ, PYM)

蛍光検出器: 0 min 励起波長 (EX) 280nm, 蛍光波長 (EM) 310nm (ABZ-M, TBZ) 10.0min EX 295nm, EM 450nm (ニューキノロン剤) 15.6min EX 325nm, EM 365nm (ETB, オールドキノロン剤) () 内は測定に該当する医薬品。

恒温槽温度: 50°C

注入量: 20 μl

3. 試験溶液の調製

細切した試料5gを125mlの遠沈管に秤り採り, 無水硫酸ナトリウム10g及びアセトニトリル25mlを加え, 3分間ホモジナイズし, 2500rpmで10分間遠心分離する。上澄液を, 予めヘキサン-アセトニトリル飽和溶液25mlの入った100mlの分液ロートに移し, 5分間振とう後, 静置する。次いで下層を200mlのナス型フラスコに入れる。先の残渣の入った遠沈管に, 新たにアセトニトリル25mlを加え, 3分間ホモジナイズし, 2500rpmで10分間遠心分離する。上澄液を先のヘキサン-アセトニトリル飽和溶液25mlの入った100mlの分液ロートに移し, 5分間振とう後, 静置する。次いで下層を先の200mlナス型フラスコに合わせ入れる。トプロピルアルコール10mlを加え, 50°Cの水浴上でエバポレーターを用い減圧下濃縮乾固する。残渣にアセトニトリル+水 (2+8) 混液1.0mlを加え超音波にかけ溶解後, その20 μlをHPLCに供する。

III 結果及び考察

1. 抽出操作

試料からの抽出溶媒として, 0.2%メタリン酸溶液-メタノール混液^(2,10), 水酸化ナトリウム溶液-酢酸エチル混液^(12, 13), ギ酸-アセトニトリル-メタノール混液^(2,11), 炭酸塩緩衝液-酢酸エチル混液⁽²⁾, 酢酸エチル^(2,1), アセトニトリル^(2,11,15)が報告されている。本実験においては, 他の動物用医薬品も含めた一斉分析における抽出を考慮し, 抽出溶媒はアセトニトリルとした。

2. クリーンアップ操作

抽出液のクリーンアップ操作で液々分配操作を用いた方法には、アセトニトリル-ヘキサン分配^(2,1,6,9,11,15)、0.1mol/l 塩酸溶液-シクロヘキサン分配⁽¹³⁾、塩化ナトリウム溶液-酢酸エチル分配、炭酸塩緩衝液-酢酸エチル分配⁽¹¹⁾、あるいはジクロロメタン分配^(5,9)等の報告があるが、本法では、アセトニトリル-ヘキサン分配による脱脂操作を行った。

さらに、抽出液をクリーンアップする目的で、固相抽出(SPE)操作を検討した。SPEに用いられている充填剤として、C18^(2,15,9,11)、アルミナ^(2,17,9)、イオン交換⁽²⁾、シアノ⁽⁷⁾及びアミノカートリッジ^(2,4)が報告されている。キノロン剤はアルミナに吸着されること、また、イオン交換系のカートリッジでは、挙動の異なる多種類の医薬品を系統的に分離クリーンアップすることは難しいことから、アセトニトリル-ヘキサン分配による脱脂操作後、アセトニトリル層を濃縮乾固し、ODS系のオアシスHLBカートリッジ(6cc, 500mg)でさらにクリーンアップする方法を検討した。

すなわち濃縮残渣を超音波装置を用いて、水(2ml x 3回)に溶解し、順次カートリッジに負荷した後、水5mlでカートリッジを洗浄した。洗浄時には、いずれの医薬品も溶出しなかった。次いで、メタノール:水(10:90)10mlを負荷したところSDZの溶出が僅かながら認められた。さらにメタノール10mlを負荷したところ、すべての医薬品は100%溶出された。そこで洗浄は、水5mlで行い、次いでメタノール10mlで溶出することとしたが、SPE操作して得られた試験溶液の蛍光検出及びダイオードアレイ検出双方のクロマトグラムは、アセトニトリル-ヘキサン分配操作のみの場合と比較して、いずれもSPEによる夾雑物ピークのクリーンアップ効果はほとんど認められず、SPE操作を行う利点が少なかったことから、検査の迅速性を優先する目的でSPE操作を行わず、クリーンアップ操作はアセトニトリル-ヘキサン分配のみとした。

3. HPLC条件

HPLCによる分離には、逆相系のODS系カラム^(2,1,15)が用いられている。移動相にはリン酸塩緩衝液-アセトニトリル系^(2,1,10,12)、酢酸アンモニウム-アセトニトリル系^(2,1,11,15)、酢酸-アセトニトリル系^(8,9)、クエン酸-アセトニトリル系⁽¹⁾さらにピークのテーリングを防ぐため、移動相にイオンペア試薬を添加した系^(2,1,12,11,15)の報告がある。本試験では、移動相組成としてアセトニトリルと0.05%トリクロロ酢酸溶液(pH2.5)系で検討した。カラムから早く溶出する医薬品とカラムに長く保持される医薬品等、極性がそれぞれ異なる医薬品をシャープなピークとして検出し、かつ短時間で溶出させるために、15cmのODS系カラムを用い、グラジェント溶出法を用いた。最終段階でのアセトニトリル濃度は、カラムに強く保持されるKLSTを溶出し、かつ試験溶液中の低極性妨害物質をカラムから除去する目的で100%にした。

ABZ-M, TBZ, ETB及び大部分のキノロン剤は蛍光を有していることから、検出は選択性のある蛍光検出器で行った。初期条件Ex 280nm, Em 310nmでABZ-M及びTBZを検出し、次いで10.0minにそれぞれEx295nm, Em445nmに切り換えてニューキノロン剤を検出し、さらに15.6minにそれぞれEx325nm, Em365nmに切換え、ETB及びオールドキノロン剤を検出した。

他の医薬品は、蛍光を有さないためダイオードアレイ検出器で検出した。LVMZ, IMD, DCZ, KLSTは214nm付近に、TPCは230nm付近、サルファ剤, OMP, TMP, FLBZ, PYMは270nm付近に、それぞれ極大吸収が認められたことから、それらの波長でそれぞれ定量した。NCZについては、試料からの夾雑ピークの少ない300nmで測定した。

図1~5に標準溶液及び牛肉ブランク試験溶液それぞれのダイオードアレイ検出器ならびに蛍光検出器によるクロマトグラムを示した。

本HPLC条件においてはRMFXとDNFXのピーク保持時間が

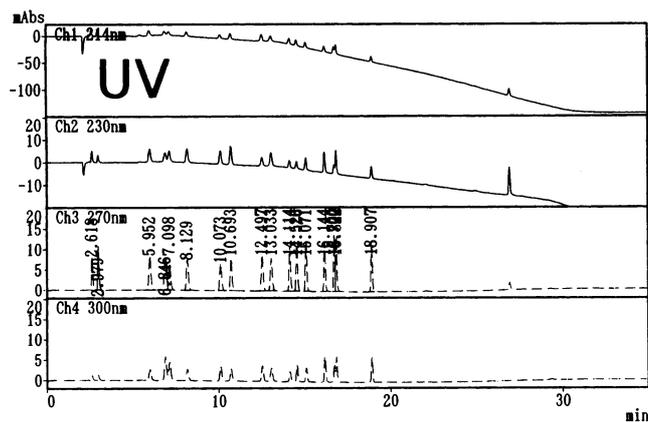


Figure 1. Chromatogram of standards of I group.

SGD : 2.61min, SNA : 2.97min, SDZ : 5.95min, SID : 6.84min, SPD : 7.09min, SMR : 8.12min, SDD : 10.07min, SMPD : 10.69min, SMMX : 12.49min, SCPD : 13.03min, SMMZ : 14.11min, SDOX : 14.52min, SIX : 15.07min, SBAM : 16.14min, SDMx : 16.70min, SQX : 16.82min, SNT : 18.90min (each 50ng), UV : diode array detector.

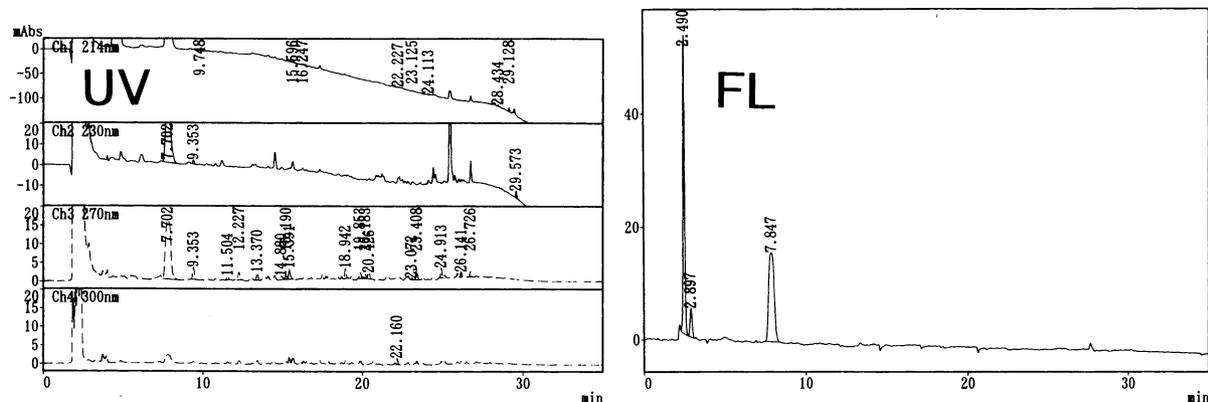


Figure 5. Chromatograms of sample extracts.

UV : diode array detector.

FL : fruorescent detector.

重なった以外、図1～4に示すように各医薬品のピークは分離した。各医薬品ピークの保持時間及びその変動係数 (n=6) が0.1%以上の医薬品は、SDZ 5.95 min (0.24%), STZ 6.67 min (0.22%), SMR 8.12min, SDD 10.07min, SMPD 10.69min, SMMX 12.49min, SCPD 13.03min, SMMZ 14.11min, SDOX 14.52min, SIX 15.07min, SBAM 16.14min, SDMX 16.70min, SQX 16.82min, SNT 18.90min, ABZ-M 9.70min (0.15%), TBZ 9.74min (0.20%), TPC 9.77min (0.13%), LVMZ10.09 min (0.24%), OMP 12.60min(0.19%), IMD 16.53min, PYM 16.56min (0.30%), ETB 16.80min, FLBZ 17.73min, NCZ 22.45min, DCZ 23.62min, KLST 29.18minであり、いずれの医薬品もピーク保持時間については再現性のよい結果が得られた。

本法では、検討した医薬品のうち、サルファ剤のSNA, SPD, SGD, SMR, また、TBZ-M, TMP, PRZA, シロマジン及びクロピドールは、試料からの妨害物の溶出時間が重なり定量は不可能であった。溶出時間が近いSNTとフルメキン (キノロン剤) は、蛍光の有無で、IMDとPYMは、214nm及び270nmのピーク

ク面積の比でそれぞれ判別可能であった。

また、マクロライド系及びβ-ペニシリン系動物用医薬品等(約40種)の測定上における妨害を検討した結果、ペニシリンVが19.07minに溶出し、SNT或いはフルメキンと重なったが214nm及び270nmのピーク面積の比や蛍光の有無で判別可能であった。ジクロキサシンとPRZA、アンピシリンとTMP、セフトオフルとIMD或いはPYM、クロキサシンとPMYの溶出時間がそれぞれ接近していたが214nm及び270nmのピーク面積の比でいづれも判別可能であった。

4. 添加回収実験

牛肉5gに、混合標準溶液 1.0 μg/ml及び0.5 μg/mlをそれぞれ1.0ml添加し、上記 II 3. 試験溶液の調製に従って操作し、得られた回収率を表1に示した。0.2ppm添加した5回試行の平均回収率は、67.1%～96.3% (CV: 1.71%～6.99%), 0.1ppm添加では、66.0～90.2% (CV: 1.37%～9.57%)であった。

Table 1. Average recoveries of each drug from fortified bovine muscles.

Added (ppm)	0.1	0.2	Added (ppm)	0.1	0.2
Drug	Mean* (RSD) (%)	Mean* (RSD) (%)	Drug	Mean* (RSD) (%)	Mean* (RSD) (%)
SDZ	84.3(5.18)	96.1(3.27)	ABZ-M	86.3(3.60)	93.7(4.60)
STZ	74.5(8.58)	79.0(6.99)	TBZ	89.5(5.24)	95.1(3.73)
SID	77.2(6.51)	80.5(2.83)	TPC	85.4(7.39)	92.4(6.23)
SDD	66.3(1.95)	67.1(4.07)	LVMZ	71.9(7.69)	97.0(2.02)
SMPD	80.7(2.85)	82.9(2.95)	OMP	81.1(4.92)	83.0(1.82)
SMMX	90.2(6.97)	91.0(4.09)	IMD	66.0(6.94)	79.9(6.24)
SCPD	73.0(2.38)	76.5(2.82)	PYM	76.0(8.57)	89.2(1.71)
SMMZ	88.2(4.27)	89.8(4.35)	ETB	81.7(9.57)	84.5(3.45)
SDOX	84.0(5.41)	87.6(2.47)	FLBZ	88.8(2.25)	94.8(2.01)
SIX	80.9(4.58)	83.1(2.50)	NCZ	87.7(9.53)	96.3(2.20)
SBAM	71.2(3.23)	74.5(3.44)	DCZ	86.5(5.44)	83.2(2.54)
SDMX	77.6(2.68)	80.1(3.74)	KLST	77.4(7.49)	77.9(4.77)
SQX	76.1(1.37)	82.1(5.21)			
SNT	83.4(3.17)	84.7(3.74)			

* Average recoveries of 5 individual analyses (n=5).

5. 検量線及び定量下限値

検量線は、ピーク面積对各医薬品濃度をプロットして作成した。ABZ-M及びTBZは0.01 µg/ml~1.0 µg/ml, FLBZは0.025 µg/ml~1.0 µg/ml, STZ, SCPD, SMMZ, SDOX, SIX, SBAM, SDMX, SQX, SNT, TPC, LVMZ, OMP, DCZ, PYM, ETB及びKLSTは0.05 µg/ml~2.5 µg/ml, SDZ, SID, SDD, SMPD, SMMX, IMD及びNCZは、0.1 µg/ml~1.0 µg/mlの範囲で直線性を示した。相関係数は、NCZが $\gamma=0.9889$, TPCが $\gamma=0.9956$, IMDが $\gamma=0.9965$, DCZが $\gamma=0.9973$, その他は $\gamma=0.999$ から $\gamma=1.000$ の間であった。

試料当たりの検出下限値は、S/N比の3~5倍でABZ-M及びTBZは0.001ppm, FLBZは0.002ppm, STZ, SCPD, SMMZ, SDOX, SIX, SBAM, SDMX, SQX, SNT, TPC, LVMZ, OMP, DCZ, PYM, ETB及びKLSTは0.005 ppm, SDZ, SID, SDD, SMPD, SMMX, IMD及びNCZは0.01ppmであった。

定量下限値は、ABZ-M及びTBZは0.002ppm, FLBZは0.005 ppm, STZ, SCPD, SMMZ, SDOX, SIX, SBAM, SDMX, SQX, SNT, TPC, LVMZ, OMP, DCZ, PYM, ETB及びKLSTは0.01ppm, SDZ, SID, SDD, SMPD, SMMX, IMD及びNCZは0.02ppmであった。

IV まとめ

牛肉中の39種類の合成抗菌剤をアセトニトリルで抽出し、抽出液をヘキサン分配でクリーンアップし、HPLCで定量する簡便な試験法を開発した。分離カラムにTSK-gel ODS-80 TMを用い、移動相組成はアセトニトリル-0.05%トリフルオロ酢酸溶液とし、グラジエント溶出法で分離し、蛍光及びダイオードアレイ検出器で検出した。添加回収率は、いずれの合成抗菌剤も0.1ppm添加レベルで60.0%以上、定量下限値は0.002~0.02ppmであった。本法で検体からの妨害物質の影響で測定不可能であった数種の医薬品もHPLCで移動相条件を変更する、若しくは高速液体クロマトグラフ・質量分析計(LC/MS)さらにはLC/MS/MSで測定することにより妨害物質の影響を排除し、分析可能となることが考えられる。

参考文献

- (1) 中澤裕之, 伊藤裕子, 岡尚男, 竹葉和江, 永田知子, 堀江正一, 宮崎泰之編: 動物用医薬品 データブック, 92-105
- (2) 食品衛生研究会編: 平成17年度版食品衛生小六法, 1773-1873
- (3) 浦上憲治 (2004): 畜水産食品中の動物用医薬品等の残留基準値の設定及び改正, 食品衛生研究, Vol.54, 17-24
- (4) 食品衛生検査法指針「動物用医薬品・飼料添加物編 厚生労働省監修 (株)日本食品衛生協会 (2003)
- (5) 衛生試験法・注解 日本薬学会編 金原出版(株) (2005) p. 171-477
- (6) 石井里枝, 堀江正一, 星野庸二, 徳丸雅一, 能勢憲英 (1994): フォトダイオードアレイ検出器付き高速液体クロマトグラフィーを用いた畜水産物中の残留抗菌性物質の一斉分析法, 食品衛生学雑誌, 35, 173-179
- (7) 腹巻ゆかり, 反町省三, 堀江正一 (1994): 固相抽出法とHPLCによる畜水産物中の合成抗菌剤の一斉分析, 食品衛生学雑誌, 35, 262-270
- (8) 鯉口智, 長谷川真住, 鎌倉和政, 平原嘉親, 成田美加子, 岡本浩一郎, 宮田昌弘, 山名孝善, 外海泰秀, 伊藤誉志男 (1994): 高速液体クロマトグラフィーによる食用臓器中の残留合成抗菌剤の一斉分析, 衛生化学, 40, 286-291
- (9) 長谷川真住, 関口幸弘, 鯉口智, 鎌倉和政, 平原嘉親, 成田美加子, 三好智子, 宮田昌弘, 前田憲二, 外海泰秀 (1995): 畜肉中の残留有機塩素系農薬及び合成抗菌剤の系統的分析法並びに合成抗菌剤のGC/MSによる確認法の検討, 衛生化学, 41, 470-477
- (10) 長南孝隆夫, 西村一彦, 平間祐志 (2000): HPLCによる食畜産食品中の5種動物用医薬品の迅速定量, 食品衛生学雑誌, 41, 326-329
- (11) 竹葉和江, 藤沼賢司, 坂本美穂, 神保勝彦, 岡尚男, 伊藤裕子, 中澤裕之 (2003): HPLCによる畜産食品中のベンズイミダゾール系寄生虫駆除剤の分析, 食品衛生学雑誌, Vol.44, 246-252
- (12) Fletouris,D., Botsoglou,N., Psomas,I., & Mantis, A., (1996):Rapid Quantitative Screening Assay of Trace Benzimidazole Residues in Milk by Liquid Chromatography, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 79, 1281-1287
- (13) 坂本美穂, 竹葉和江, 藤沼賢司, 神保勝彦, 宮崎泰之 (2002): 高速液体クロマトグラフィーによる畜産物中のレバミゾールの分析, 食品衛生学雑誌, Vol.43, 6-9
- (14) 近藤一成, 堀江正一, 村山三徳, 鈴木隆, 豊田正武 (1999): HPLCによる牛組織及び乳中の残留イソメタミジウムの分析, 食品衛生学雑誌, Vol.40, 211-217
- (15) 神田真軌, 牛山慶子, 井草京子, 村山三徳, 堀江正一, 広門雅子, 宮崎泰之 (2003): HPLCによる鶏組織中の残留抗コクシジウム剤(ジクラズリルおよびナイカルバジン)の簡易分析法, 食品衛生学雑誌, Vol.44, 110-113
- (16) 永田知子, 長谷川康行, 荻澤英一, 橋本博之 (2004): 牛肉中に残留する13種類のキノロン剤の蛍光検出器及びダイオードアレイ検出器付き高速液体クロマトグラフィーによる一斉分析法, 千葉県衛生研究所研究報告, Vol.29, 1-5