ノート

LC-MS/MS による畜産物中のポリエーテル系抗生物質
およびマクロライド系駆虫薬の一斉分析

(平成 23 年 3 月 31 日受理)

山口 瑞香* 柿本 健作 山口 貴弘 尾花 裕孝

Simultaneous Determination of Polyether Antibiotics and Macrolide
Anthelmintics in Livestock Products by Liquid Chromatography/Tandem
Mass Spectrometry

Mizuka YAMAGUCHI*, Kensaku KAKIMOTO, Takahiro YAMAGUCHI and Hirotaka OBANA

Osaka Prefectural Institute of Public Health:

1-3-69 Nakamichi, Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan;

* Corresponding author

A method using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was developed for the simultaneous determination of polyether antibiotics and macrolide anthelmintics in livestock products. The polyether antibiotics and macrolide anthelmintics were extracted from livestock products with acetonitrile and cleaned up with dispersive solid-phase extractions and a silica gel column. The quantification limits of polyether antibiotics and macrolide anthelmintics were 0.00005–0.0005 µg/g. Except for narasin and lasalocid in bovine liver and milk, the recoveries were 70 to 117%. The relative standard deviations met the required guideline. The developed method was applied to six kinds of livestock products.

(Received March 31, 2011)

Key words: 畜産物 livestock product; ポリエーテル系抗生物質 polyether antibiotic; マクロライド系駆虫薬 macrolide anthelmintic; 分散固相抽出 dispersive solid-phase extraction; 液体クロマトグラフィー / タンデム質量分析法 LC-MS/MS

緒言

ポリエーテル系抗生物質は分子内に多数のエーテル結合を有する物質で、抗コクシジウム作用やグラム陽性菌に対する抗菌作用を示すことから、飼料が含有している栄養成分の有効な利用の促進を目的とした飼料添加物として使用されている^{*1}。しかし、EU では成長促進のための抗生物質の使用を禁止しており、ポリエーテル系抗生物質の飼料への添加が禁止されている。日本では動物用医薬品として食品中の残留基準が設定されているが、ポリエーテル系抗生物質の分析法は、厚生労働省から通知されている「HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 I, II (畜水産物)」^{*2}に一部の物質が分析対象とされているのみである。また、飼料または一部の畜産物を対象としたポリエーテル系抗生物質分析法の報告はあるものの^{1), 2)}、多種類の畜産物を対象とした分析法の報告は少ない。

マクロライド系駆虫薬は、大環状ラク톤を有する物質であり、動物用医薬品のみならず農産物用殺虫剤としても

使用されている。平成 22 年にはイベルメクチンが検疫所において検査命令の対象となるなど、食品中への残留が問題となっている。マクロライド系駆虫薬の残留基準は、分析対象試料によって測定物質が異なり^{*3}、複数の物質の総和が残留基準となっているため結果の判定が煩雑である。また、エマメクチン安息香酸塩は乳、鶏の筋肉などで 0.5 ppb という低い残留基準が設定されているので、高感度な分析法が必要である。畜産物中のマクロライド系駆虫薬の通知試験法は、「イベルメクチン、エブリノメクチン、ドラメクチン及びモキシデクチン試験法 (畜水産物)」および「エマメクチン安息香酸塩試験法」が通知されているが^{*2}、蛍光誘導体化後、蛍光検出器付き HPLC で測定す

*1 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律施行規則 (昭和 51 年 7 月 24 日農林省令第 36 号)

*2 食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について (平成 17 年 1 月 24 日厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知食安発第 0124001 号)

*3 食品衛生法等の一部を改正する法律による改正後の食品衛生法第 11 条第 3 項の施行に伴う関係法令の整備について (平成 17 年 11 月 29 日厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知食安発第 1129001 号別添 2)

* 連絡先

大阪府立公衆衛生研究所: 〒537-0025 大阪市東成区中道 1-3-69

るため操作が煩雑であり⁶⁾、分析対象物質が限られているという問題点がある。

ポリエーテル系抗生物質およびマクロライド系駆虫薬は、主に畜産動物の寄生虫駆除等に用いられるため、畜産物での残留が懸念される。そこで畜産物を対象にしたこれらの物質の一斉分析法を検討することとした。これらの物質は極性が低く、水への溶解度が低いという共通点があり、逆相カラムを用いた精製での高極性溶媒への溶解不足や液-液分配による回収率の低下に注意が必要であった。そこで今回、分散固相抽出を用いた簡便な一斉分析法を検討し、迅速かつ高感度な分析法を開発したので報告する。

実験方法

試料

市販の牛乳、鶏卵、鶏肉、豚肉、牛肉、牛肝臓を用いた。食肉類は筋肉部を採取し、牛肝臓はそのまま、鶏卵は殻を除去した全卵をフードプロセッサで均一化した。使用するまでそれぞれ -20°C で保存した。

試薬および器具

標準品：サリノマイシンナトリウム 2.5 水和物、モネンシンナトリウム 1 水和物、マデュラマイシンアンモニウム、ラサロシド A ナトリウム（以下ラサロシド）（100 $\mu\text{g/mL}$ アセトニトリル溶液 1 mL）は Dr. Ehrenstorfer 社製、センデュラマイシンナトリウム、ナラシンは（社）日本科学飼料協会製を用いた。エプリノメクチン、ドラメクチン、モキシデクチンは畜水産品残留安全協議会製、イベルメクチンは関東化学（株）製、安息香酸エマメクチン、8,9-Z-安息香酸エマメクチン、アバメクチン（アベルメクチン B1a）、8,9-Z-アベルメクチン B1a は林純薬工業（株）製を用いた。

標準原液：ポリエーテル系抗生物質について、ラサロシド標準溶液 1 mL をメタノールで希釈し、1 $\mu\text{g/mL}$ の標準原液を調製した。その他の標準品は 10 mg 秤量し、メタノール 20 mL に溶解して 500 $\mu\text{g/mL}$ の標準原液を調製した。マクロライド系駆虫薬標準品は、4 mg 秤量し、アセトニトリル 20 mL に溶解して 200 $\mu\text{g/mL}$ の標準原液を調製した。これらを混合し、メタノールで希釈して

Table 1. LC-MS/MS conditions for the analysis

	ESI +/−	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Product ion (<i>m/z</i>)	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
Salinomycin	+	773	431 531	60	50 50
Monensin	+	693	675 461	60	40 50
Narasin	+	787	431 531	50	50 50
Lasalocid	+	613	377 595	60	40 30
Semduramicin	+	895	833 705	40	30 60
Maduramicin	+	934	629 647	30	30 20
Avermectin	+	890	305 145	20	20 30
8,9-Z-Avermectin	+	890	305 145	20	20 30
Eprinomectin	+	914	186 154	20	20 40
Emamectin	+	886	158 126	50	40 40
8,9-Z-Emamectin	+	886	158 126	50	40 40
Ivermectin	+	892	551 307	20	20 20
Doramectin	+	916	331 145	20	20 40
Moxidectin	+	640	528 497	20	10 10

10 µg/mL 溶液とした。

その他の試薬：アセトニトリル、メタノールは関東化学(株)製高速液体クロマトグラフィー用試薬を用い、ギ酸は和光純薬工業(株)製高速液体クロマトグラフ用試薬、ギ酸アンモニウムは和光純薬工業(株)製特級試薬を用いた。水はミリポア社製 MQ-Advantage により精製して用いた。

固相抽出カラム：Waters 社製 Sep-Pak Plus silica (以下 Si カラム)

固相 (バルク)：Varian 社製 Bondesil PSA (以下 PSA)，和光純薬工業(株)製 Wakosil® 40 C18 (以下 ODS)

メンブランフィルター：アドバンテック東洋(株)製 DISMIC (親水性 PTFE, 13 mmφ, 0.2 µm)

装 置

高速振とう機は CM-1000 (東京理化工機(株)製)，高速 ホ モ ジ ナ イ ザ ー は ポ リ ト ロ ン PT 3100 (KINEMATICA 社製)，遠心分離器は himac CR 5 B 2 (日立工機(株)製)を用いた。LC-MS/MS は AQUITY UPLC-Quattro Premier XE (Waters 社製)を用いた。

LC-MS/MS 測定条件

〈HPLC 条件〉

分析カラム：Waters ACQUITY UPLC BEH C8 (50×2.1 mm i.d., 1.7 µm)，カラム温度：40°C，流速：0.2 mL/min，注入量：5 µL，移動相：A 液；0.1% ギ酸 10 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液 B 液；0.1% ギ酸アセトニトリル，グラジエント条件：B%；30～95% 10 min, 95～100% 1 min

〈MS/MS 条件〉

イオン化法：ESI，

測定モード：マルチプルリアクションモニタリング (MRM)，

イオン源温度：120°C，コーンガス流量：窒素，50 L/hr，

脱溶媒ガス温度および流量：窒素，350°C，900 L/hr，

物質ごとの条件は Table 1 に示した。Product ion は定量用イオンを上段，確認用イオンを下段に示した。

試験溶液の調製

均一化した試料 5 g を 50 mL のポリプロピレン製遠沈管に採取し，アセトニトリル 20 mL を加えて高速ホモジナイザーで均質化した。3,000 rpm で 5 分間遠心分離し，上清を採取した。残留物にアセトニトリル 20 mL を加え，高速振とう機で 5 分間振とう後，同様に遠心分離し，上清を採取した。合わせた上清に ODS 0.5 g, PSA 0.5 g を加えて高速振とう機で 5 分間振とう後，3,000 rpm で 5 分間遠心分離した。上清をあらかじめアセトニトリル 10 mL でコンディショニングした Si カラムに注入し，流出液を回収した。さらにアセトニトリル 2 mL を注入して得られた溶出液を流出液と合わせてエバポレータで濃縮乾固した。残留物にメタノールを 2 mL 加え溶解し，メンブランフィルターでろ過して試験溶液とした。

結果および考察

LC-MS/MS 条件の検討

イオン化にはエレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法を用い，選択性向上のため MRM 法により測定を行った。各標準原液のメタノール希釈液を用いて，MS での最適化を行った。ポリエーテル系抗生物質では，ナトリウムイオン付加体が最も高感度に測定された。ポリエーテル系抗生物質はイオノフォア化合物で分子内に陽イオンを捕捉するため，ナトリウムイオン付加体が形成されたと考えられた。よってサリノマイシン，モネンシン，ラサロシド，ナラシンはナトリウムイオン付加体を Precursor ion とし MS/MS 条件を決定した。マクロライド系駆虫薬は，エマメクチン，8,9-Z-エマメクチン，エプリノメクチン，モキシデクチンは $[M+H]^+$ ，アベルメクチン B1a，8,9-Z-アベルメクチン B1a，イベルメクチン，ドラメクチンは $[M+NH_4]^+$ が最も高感度に測定されたためこれらを Precursor ion とした。

また，HPLC 条件の初期検討で 10 mmol/L ギ酸アンモニウム/アセトニトリルの移動相と長さ 100 mm の C18 カラムを用いた場合にラサロシドのピーク形状が不良であったため，条件の最適化を行った。移動相にギ酸または酢酸/酢酸アンモニウム混液を用いた測定方法が報告されている^{3),4)}ので，移動相はギ酸およびギ酸/ギ酸アンモニウム，分析カラムは長さ 100 mm と 50 mm の C18 カラムおよび C8 カラムについて検討した。

ピーク形状は，長さ 50 mm の C8 カラムが最も良好であり，移動相にはギ酸アンモニウム溶液よりギ酸溶液を用いたほうが良好であった (Fig. 1)。しかし，マクロライド系駆虫薬のアンモニウム付加体を安定的に測定するためギ酸/ギ酸アンモニウム混液を選択し，ギ酸アンモニウムでも良好なピーク形状を示す長さ 50 mm の C8 カラムを選

Fig. 1. Chromatograms of lasalocid

a) AQUITY UPLC BEH C18 100 mm, b) AQUITY UPLC BEH C18 50 mm, c) AQUITY UPLC BEH C8 100 mm, d) AQUITY UPLC BEH C8 50 mm. —: 10 mmol/L ammonium formate, ---: 0.1% formic acid

Table 2. Recoveries of polyether antibiotics and macrolide anthelmintics from fortified livestock products

	Recovery % (RSD %), $n=5$							
	Bovine muscle			Bovine liver		Swine muscle		
	0.05 $\mu\text{g/g}$	0.01 $\mu\text{g/g}$	0.001 $\mu\text{g/g}$	0.1 $\mu\text{g/g}$	0.01 $\mu\text{g/g}$	0.05 $\mu\text{g/g}$	0.01 $\mu\text{g/g}$	0.001 $\mu\text{g/g}$
Salinomycin	79 (3)	105 (1)	81 (6)	82 (7)	77 (8)	79 (5)	92 (6)	77 (8)
Monensin	88 (3)	117 (2)	74 (4)	86 (3)	83 (6)	92 (3)	85 (3)	82 (6)
Narasin	78 (2)	117 (4)	82 (7)	38 (6)	58 (6)	77 (3)	75 (4)	73 (6)
Lasalocid	75 (6)	85 (4)	74 (5)	84 (4)	75 (11)	91 (6)	73 (3)	71 (15)
Semduramicin	77 (4)	84 (3)	80 (5)	91 (4)	87 (3)	89 (3)	90 (1)	83 (3)
Maduramicin	78 (1)	78 (3)	82 (4)	91 (2)	99 (2)	93 (3)	81 (5)	82 (6)
Avermectin	83 (3)	100 (6)	77 (14)	85 (4)	95 (15)	88 (4)	77 (4)	86 (15)
8,9-Z-Avermectin	80 (2)	91 (7)	77 (18)	83 (3)	86 (1)	88 (6)	86 (5)	89 (12)
Eprinomectin	84 (2)	88 (2)	83 (13)	88 (4)	91 (3)	100 (5)	83 (4)	73 (9)
Emamectin	75 (1)	76 (2)	73 (4)	78 (5)	80 (3)	80 (4)	85 (3)	72 (5)
8,9-Z-Emamectin	72 (5)	72 (6)	75 (5)	77 (2)	76 (2)	74 (3)	77 (3)	71 (6)
Ivermectin	78 (2)	105 (2)	89 (18)	82 (2)	85 (7)	85 (5)	79 (9)	78 (11)
Doramectin	80 (4)	81 (7)	77 (6)	84 (2)	94 (8)	92 (4)	86 (6)	71 (16)
Moxidectin	87 (2)	117 (2)	83 (11)	88 (4)	83 (3)	86 (5)	81 (6)	84 (7)

	Recovery % (RSD %), $n=5$						
	Chicken muscle			Hen egg		Bovine milk	
	0.1 $\mu\text{g/g}$	0.01 $\mu\text{g/g}$	0.0002 $\mu\text{g/g}$	0.01 $\mu\text{g/g}$	0.0002 $\mu\text{g/g}$	0.01 $\mu\text{g/g}$	0.0002 $\mu\text{g/g}$
Salinomycin	82 (8)	88 (3)	83 (17)	115 (2)	82 (19)	74 (10)	70 (17)
Monensin	84 (4)	83 (5)	76 (11)	84 (4)	82 (18)	77 (3)	72 (3)
Narasin	70 (2)	78 (7)	72 (10)	109 (4)	94 (14)	60 (14)	76 (14)
Lasalocid	73 (4)	71 (10)	75 (22)	97 (4)	80 (9)	32 (13)	—
Semduramicin	93 (6)	83 (5)	104 (15)	92 (4)	93 (7)	78 (5)	88 (21)
Maduramicin	88 (2)	86 (2)	86 (19)	91 (3)	73 (10)	80 (1)	80 (13)
Avermectin	80 (1)	92 (3)	—	72 (7)	—	96 (10)	—
8,9-Z-Avermectin	83 (3)	74 (9)	—	85 (6)	—	78 (10)	—
Eprinomectin	75 (6)	85 (5)	90 (19)	101 (3)	97 (10)	86 (5)	103 (12)
Emamectin	75 (6)	85 (3)	74 (7)	72 (5)	84 (6)	68 (2)	86 (5)
8,9-Z-Emamectin	74 (5)	75 (5)	75 (8)	73 (3)	77 (4)	78 (3)	80 (8)
Ivermectin	81 (3)	81 (11)	—	71 (8)	—	91 (5)	—
Doramectin	77 (4)	84 (5)	—	68 (3)	105 (14)	93 (5)	—
Moxidectin	81 (5)	80 (4)	—	116 (3)	98 (9)	70 (7)	79 (20)

択することとした。この結果、すべての物質で残留基準に対応可能な測定感度が得られた。

検 量 線

本分析条件にて標準溶液を添加した各試料の試験溶液を測定したところポリエーテル系抗生物質ではイオン化抑制、マクロライド系駆虫薬ではイオン化促進効果が見られた。そのため試験溶液の定量は、ブランク試料の試験溶液で希釈したマトリックス添加混合標準溶液を用いて行うこととした。

測定濃度により 0.0001~0.01 $\mu\text{g/mL}$, 0.01~0.25 $\mu\text{g/mL}$ となるようマトリックス添加混合標準溶液を調製し、5 μL を LC-MS/MS に注入した。Table 1 の product ion から得られたピーク面積から検量線を作成した。この結果、0.0001~0.01 $\mu\text{g/mL}$, 0.01~0.25 $\mu\text{g/mL}$ の範囲内でおおむね相関係数 (r) 0.999 以上の良好な直線性が得られた。一部の物質はブランク試験溶液中のマトリックスの影響を受けたが、 $r \geq 0.99$ であった。標準溶液のみの検量線での定量結果と比較し、マトリックス添加検量線を用いる

ことにより回収率の補正が可能となった。

前処理方法の検討

前処理方法を検討するにあたって、対象物質は極性が低く、高極性溶媒への溶解度が低いため、逆相カラムに負荷する溶媒への十分な溶解が期待できず、逆相カラムでの保持、溶出による精製を行えないと考えた。ポリエーテル系抗生物質は順相カラムによる精製法の報告がある^{1)~5)}ので、Si カラムによる精製法の検討を行った。Si カラムに対象物質を保持させ、溶出、精製する方法を試みたが、一部の物質が保持、溶出されなかった。そこで、保持させずに Si カラムを通過させ精製を行うこととした。しかし、Si カラムのみでは試料の脂質等、低極性成分の除去が十分ではなく、回収率が不良であった。そこで低極性成分の除去のため、分散固相抽出法による精製を試みた。PSA と ODS を混合して用いることで、鶏卵や肝臓の色素成分の除去が行えた。しかし、ラサロンドやセンデュラマイシンナトリウムが ODS に吸着しやすく試料 5 g に ODS 0.5 g を超えて加えると回収率が低下したため、両固相を

Table 3. Results of adequacy evaluation

	Hen egg (0.05 µg/g)			Swine muscle (0.05 µg/g)		
	Recovery (%)	Repeatability (RSD %)	Intermediate Precision (RSD %)	Recovery (%)	Repeatability (RSD %)	Intermediate precision (RSD %)
Salinomycin	85	2	5	90	5	4
Monensin	92	1	7	89	2	3
Narasin	89	4	6	79	4	5
Lasalocid	81	9	10	81	4	8
Semduramicin	90	2	8	87	3	7
Maduramicin	93	4	5	88	3	4
Avermectin	91	2	7	84	5	8
8,9-Z-Avermectin	93	4	6	87	5	5
Eprinomectin	93	6	6	88	4	8
Emamectin	84	4	5	81	2	3
8,9-Z-Emamectin	87	3	6	77	8	6
Ivermectin	89	4	5	82	3	4
Doramectin	93	5	9	80	5	11
Moxidectin	85	3	6	86	4	4

Table 4. Quantification limits ($S/N \geq 10$) of each livestock product

	Bovine muscle	Swine muscle	Chicken muscle	Hen egg	Bovine milk
Salinomycin	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005
Monensin	0.00005	0.00005	0.0001	0.00005	0.00005
Narasin	0.00025	0.00025	0.00005	0.00005	0.00005
Lasalocid	0.00005	0.00025	0.00005	0.00005	0.0001
Semduramicin	0.00005	0.00005	0.0001	0.00005	0.00005
Maduramicin	0.00005	0.00025	0.00005	0.0001	0.00005
Avermectin	0.00025	0.00025	0.00025	0.0005	0.00025
8,9-Z-Avermectin	0.00025	0.00025	0.00025	0.0005	0.00025
Eprinomectin	0.00005	0.00005	0.00005	0.0001	0.0001
Emamectin	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005
8,9-Z-Emamectin	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005	0.00005
Ivermectin	0.0005	0.00005	0.00025	0.0005	0.0005
Doramectin	0.00025	0.00005	0.0001	0.0005	0.00025
Moxidectin	0.00025	0.00005	0.00025	0.00025	0.00005

(µg/g)

0.5 g ずつとした。これにより良好な回収率の前処理方法が構築できた。

添加回収試験

アバメクチン、エマメクチンについて井上ら⁷⁾は残留基準が B1a 体と異性体の総和で設定されていることから、添加回収試験を基準の 1/2 濃度で実施していた。同様にアバメクチン、エマメクチンの基準の 1/2 濃度、一律基準^{*4}および残留基準付近の濃度で添加回収試験を実施した。

試料に各物質の濃度が 0.0002~0.1 µg/g となるように添加し、分析を行った。各試料 5 検体の真度は一部を除き 70~117%，相対標準偏差は「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」^{*5}の目標値

以内の良好な結果が得られた (Table 2)。真度の低かった牛肝臓のナラシンおよび牛乳のナラシン、ラサロシドはマトリックスによる影響を大きく受け良好な定量値が得られず、マトリックス添加検量線で定量しても 32~60% の低い値となった。

妥当性評価ガイドラインを参考に豚肉および鶏卵を分析者 3 名が各試料 2 検体を 2 日間分析した。添加濃度は豚肉の各物質の基準を参考に 0.05 µg/g とした。豚肉および鶏卵の真度、併行精度および室内精度は目標値を十分に満たしていた (Table 3)。以上の結果より本法はポリエーテル系抗生物質およびマクロライド系駆虫薬の分析法として妥当な精度を有していると考えられる。

定量限界

標準溶液をブランク試料の試験溶液に添加し、定量限界 ($S/N \geq 10$) を算出した。定量限界は 0.00005~0.0005 µg/g であった (Table 4)。定量限界は各試料の残留基準以下であることから本法により残留基準の分析が可能であると考えられる。安息香酸エマメクチンおよびアバメクチンは畜産物においては B1a と異性体の総量で残留基準が設定

^{*4} 食品衛生法第十一条第三項の規定により人の健康を損なうおそれのない量として厚生労働大臣が定める量（平成 17 年 11 月 29 日厚生労働省告示第 497 号）

^{*5} 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（平成 22 年 12 月 24 日厚生労働省医薬食品安全部長通知食安発 1224 第 1 号）

されているため、少なくとも基準の1/2の定量限界が必要であると考えた。両物質ともどの試料においても合算値での基準に対して十分に低い定量限界を有していた。その他の物質の定量限界も基準と比較して十分な感度があり、残留基準付近の分析は十分に行えると考えられる。

ま と め

畜産物中のポリエーテル系抗生物質およびマクロライド系駆虫薬の一斉分析法を検討した。試料からアセトニトリルにより抽出し、ODSおよびPSAによる分散固相抽出とSiカラム精製を行い、試験溶液を調製した。この試験溶液をマトリックス添加検量線により定量したところ、一部を除き良好な分析結果が得られた。よって、本法は簡便で十分な感度と精度が得られ、畜産物中のポリエーテル系抗生物質およびマクロライド系駆虫薬のスクリーニング法として有用であると考えられる。

文献

- 1) Makino, D., Yamada, M. Simultaneous microdetermination of salinomycin sodium, semduramicin sodium, narasin, monensin sodium and lasalosid sodium in formula feeds by LC-MS. Research Report of Animal Feed, **33**, 62-77 (2008).
- 2) Blanchflower, W. J., Kennedy, D. G. Determination of monensin, salinomycin and narasin in muscle, liver and eggs from domestic fowl using liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. J. Chromatogr. B, **675**, 225-233 (1996).
- 3) Dubois, M., Pierret, G., Delahaut, Ph. Efficient and sensitive detection of residues of nine coccidiostats in egg and muscle by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. B, **813**, 181-189 (2004).
- 4) Rokka, M., Peltonen, K. Simultaneous determination of four coccidiostats in eggs and broiler meat: Validation of an LC-MS/MS method. Food Additives and Contaminants, **23**, 470-478 (2006).
- 5) Matabudul, D. K., Lumley, I. D., Points, J. S. The determination of 5 anticoccidial drugs (nicarbazin, lasalocid, monensin, salinomycin and narasin) in animal livers and eggs by liquid chromatography linked with tandem mass spectrometry (LC-MS-MS). Analyst, **127**, 760-768 (2002).
- 6) Schenck, F. J., Barker, S. A., Long, A. R. Matrix solid-phase dispersion extraction and liquid chromatographic determination of ivermectin in bovine liver tissue. J. AOAC Int., **75**, 665-658 (1992).
- 7) Inoue, K., Yoshimi, Y., Hino, T., Oka, H. LC/ESI-MS/MS method for the simultaneous determination of macrocyclic lactone parasticides in livestock products and fish. Food Hyg. Saf. Sci., **51**, 1-9 (2010).