高速液体クロマトグラフィーによる鶏組織中に残留する 17種の合成抗菌剤の同時分析法

(昭和62年7月17日受理)

永田知子* 佐伯政信*

Simultaneous Determination of 17 Antibacterials in Chicken Tissues by High Performance Liquid Chromatography

Tomoko NAGATA and Masanobu SAEKI

(Chiba Prefecture Institute of Public Health: 666-2, Nitona-cho, Chiba, Japan)

A high performance liquid chromatographic method (HPLC) for determination of 7 sulfonamides, clopidol, trimethoprim, ormethoprim, furazolidone, dinitolmide, pyrimethamine, ethopabate, difurazone, nicarbazine, and decoquinat, in chicken tissues was developed.

The drugs were extracted from tissues by homogenizing with warm methanol. The homogenate was centrifuged and the supernatant was evaporated to dryness. The residue was dissolved in buffer solution (pH 5.5) and partitioned with *n*-hexane. The buffer solution was then partitioned with chloroform. The chloroform layer was evaporated to dryness and the residue was dissolved in 85% acetonitrile and applied to an alumina column. The drugs were eluted with 85% acetonitrile and the eluate was applied to an HPLC column packed with Nucleosil 5C18.

Decoquinat was eluted with methanol-water (9:1; detected at 315 nm), difurazone and nicarbazine with acetonitrile-acetic acid-water (50:0.5:50; detected at 350 nm), and the other drugs with acetonitrile-acetic acid-water (14:0.5:86; detected at 270 nm and at 350 nm).

The average recoveries of all drugs added at the level of 0.2 ppm were more than 65.5%. The detection limits of clopidol, difurazone, nicarbazine, sulfamerazine and sulfamethoxy-pyridazine were 0.03 ppm, and those of the other drugs were 0.05 ppm.

(Received July 17, 1987)

Key words: 高速液体クロマトグラフィー high performance liquid chromatography; 合成抗菌剤 synthetic antibacterials; 鶏組織 chicken tissue; サルファ剤 sulfa drugs; クロピドール clopidol; トリメトプリム trimethoprim; フラン誘導体 furan derivatives; エトパベート ethopabate; ナイカルバジン nicarbazine; デコキネート decoquinat

家畜の疾病予防や、成長促進などの目的で動物用医薬品及び飼料添加物が使用されており¹⁾、畜産物中に残留するおそれのあるこれらの薬剤を、迅速に分析する試験法が必要とされる。

畜産物中に残留している可能性がある薬剤の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分析法として、クロピドール^{2)~6)}、トリメトプリム、オルメトプリム⁷⁾、フラゾリドン、ジフラゾン^{8)~10)}、ジニトルミド^{2), 3)}、ピリメタミン^{3), 11)}、エトパベート^{2), 3), 12), 13)}、ナイカルバジン^{3), 14), 15)}

及びデコキネート¹⁶⁾などがある。これらの薬剤を個々に分析するには、多くの時間と労力を要する。これらのうちの数種の薬剤の系統的分析法としてガスクロマトグラフィーによる方法¹⁷⁾、HPLCによる方法²⁾などがあるが、これら試験法で取扱われている薬剤の数は、限られている。

著者らは、今回、HPLCによるサルファ剤 (7種)、クロピドール、トリメトプリム、オルメトプリム、フラゾリドン、ジニトルミド、ピリメタミン、エトパベート、ジフラゾン、ナイカルバジン及びデコキネートの計17種薬剤の迅速、簡便な同時分析法を検討したので報告す

Table 1. Operating Condition of HPLC

	Part I	Part II	Part III
Column	Nucleosil 5C18 4.6×250 mm		
Guard column	Nucleosil 10C18 4.6×50 mm		
Mobile phase	CH ₃ CN-CH ₃ COOH-H ₂ O (14:0.5:86)	CH ₃ CN-CH ₃ COOH-H ₂ O (50:0.5:50)	CH ₃ OH-H ₂ O (9:1)
Detector	270 nm, 350 nm	350 nm	315 nm
Sensitivity		0.01 AUFS	
Flow rate		1 ml/min	
Column temp.		45°C	
Sample size		10 µl	

Part I: Clopidol, Trimethoprim, Sulfamerazine, Ormethoprim, Sulfamethoxypyridazine, Sulfamonomethoxine, Dinitolmide, Sulfamethoxazole, Sulfisoxazole, Pyrimethamine, Sulfadimethoxine, Ethopabate, Sulfafinoxaline (270 nm), Furazolidone (350 nm)

Part II: Difurazone, Nicarbazin

Part III: Decoquinatone

る。

実験方法

1. 試料

千葉県内で市販されている鶏の筋肉部及び内臓部（肝臓）を用いた。

2. 試薬

メタノール, *n*-プロピルアルコール, *n*-ヘキサン, アセトニトリル, クロロホルム, リン酸水素二ナトリウム, クエン酸, 塩化ナトリウム, 酢酸, ジメチルホルムアミド: 和光純薬工業(株)製 (特級)

スルファメラジン: 田辺製薬(株)製

スルファメトキシピリダジン, スルファメトキサゾール, スルフィソキサゾール, フラゾリドン: シグマ社製
スルファメトキシニ, スルファジメトキシニ, オルメトプリム: 第一製薬(株)製

ピリメタミン: 福寿製薬(株)製

トリメトプリム: ヘキストジャパン(株)製

スルファキノキサリン, エトパベート, ナイカルバジン: 大日本製薬(株)製

クロピドール, ジニトルミド; ダウケミカル日本(株)製

デコキネート: 協和発酵工業(株)製

ジフラゾン: 台糖ファイザー(株)製

標準溶液: 各薬剤 10 mg を精秤し, フラゾリドン, ジフラゾン及びナイカルバジンはジメチルホルムアミドに, デコキネートはクロロホルム, その他の薬剤は, メタノールに溶解し, それぞれ 100 µg/ml の原液を調製し, 原液を適宜, メタノールで希釈して用いた。

Macvallin 緩衝液 (pH 5.5)

アルミナカラム: 塩基性活性度 I のカラムクロマトグラフィー用アルミナ (Woelm 社製) 3 g を内径 15 mm, 長さ 30 cm のクロマト管に, アセトニトリルを用いて

湿式充てんし, アセトニトリル 25 ml, 次いで 85% アセトニトリル 25 ml で洗浄した。

3. 装置

高速液体クロマトグラフ: (株)島津製作所製 LC-3A 型

検出器: (株)島津製作所製 紫外分光光度計 SPD-2A 型

分光光度計: (株)日立製作所製 自記分光光度計 320 型

ホモジナイザー: Janke & Kunkel GmbH & Co. ウルトララックス T18

超音波槽: Velvo clear. Co., ウルトラソン VS-70R

4. HPLC の測定条件

測定条件は, Table 1 に示した。

5. 試験溶液の調製

均一化した試料 10 g を遠心管に採り, 温メタノール 50 ml を加え, 5 分間ホモジナイズし, 3,000 rpm で 10 分間遠心分離した後, 綿栓ろ過した。残留物に温メタノール 50 ml を加え, 再度, ホモジナイズし, 以下同様に操作し, ろ液を合わせた。ろ液に, *n*-プロピルアルコール 20 ml を加え, ロータリーエバポレーターを用い, 65° の水浴中で減圧下濃縮乾固した。残留物に緩衝液 (pH 5.5) 5 ml を加え, 約 10 秒間超音波にかけた後, 第 1 の分液漏斗に緩衝液 35 ml を使って移した。これに, *n*-ヘキサン 40 ml を加え, 5 分間振とうし, 2 層に分離した後, 下層を第 2 の分液漏斗に移した。第 1 の分液漏斗にアセトニトリル 10 ml を加えて振とうし, 2 層に分離した後, 下層を第 2 の分液漏斗に加えた。つぎに塩化ナトリウム 6 g を第 2 の分液漏斗に加えた後, クロロホルム 40 ml ずつで 2 回抽出し, クロロホルム層を合わせ, ロータリーエバポレーターを用い, 65° の水浴中で減圧下濃縮乾固した。残留物に 85% アセトニトリル 5

Fig. 1. Absorption spectra of antibacterials (6 drugs)

— clopidol; —×—×— trimethoprim; —△—△— ormethoprim; ----- dinitolmide; —○—○— pyrimethamine; -·-·-·- ethopabate
(each drug 10 µg/ml mobile phase)

mlを加え、約 10 秒間超音波にかけた後、アルミナカラムに移した。85%アセトニトリル 35 ml でもとの容器を洗いながら、アルミナカラムに移し、得られた溶出液約 40 ml に、*n*-プロピルアルコール 5 ml を加え、ロータリーエバポレーターを用い、65°の水浴中で減圧下濃縮乾固した。残留物にメタノール 1 ml を加え、約 10 秒間超音波にかけ、0.45 µm のメンブランフィルターでろ過し、ろ液の 10 µl を HPLC に供した。なお、操作は褐色のガラス器具を用い遮光して行った。

結果及び考察

1. HPLC 測定条件の検討

1.1 測定波長

各薬剤を HPLC に用いた移動相中で吸収スペクトルを測定したとき、サルファ剤は、265~275 nm 付近に、クロピドール、エトパバートは、265 nm、トリメトプリム、ピリメタミンは、270 nm、オルメトプリムは、275

Fig. 2. Absorption spectra of antibacterials (4 drugs)

— difurazone; ----- nicarbazin; —○—○— furazolidone; ----- decoquinatone
(each drug 10 µg/ml mobile phase)

nm 付近に極大吸収が認められた (Fig. 1)。またフラゾリドンは、360 nm、ナイカルバジンは 350 nm、ジフラゾン、380 nm 及びデコキネートは、255、及び 315 nm 付近に極大吸収が認められた (Fig. 2)。このことから、270 nm で測定するグループと 350 nm で測定するグループ及び 315 nm で測定するグループに分けて分析を行うこととした。

1.2 カラム及び移動相

カラムは、Nucleosil 5C₁₈ を用い、カラム劣化を防ぐため、ガードカラムに Nucleosil 10C₁₈ を用いた。移動相にアセトニトリル-酢酸-水を用いて薬剤の分離を検討した。薬剤中には、カラムに保持されにくい薬剤と、保持されやすい薬剤があり、前者は、270 nm 付近に、後者は、350 nm 付近に極大吸収が認められた。そこで前者に属する薬剤をアセトニトリル-酢酸-水 (14:0.5:86) で分離し、後者に属する薬剤を (50:0.5:50) で分離することとした。このときフラゾリドンは、比較的カラムに保持されにくく、前者の条件で分離されるため、フラゾリドンのみ 350 nm で測定することとした。また、デコキネートは、アセトニトリル系の移動相では、シャープなピークが得られないため、メタノール-水系の移動相を用い、その比を (9:1) とした。

以上の結果から、測定は、3 グループに分けて行い、移動相アセトニトリル-酢酸-水 (14:0.5:86)、波長 270 nm 及び 350 nm で測定する薬剤グループを (パート

Fig. 3. High performance liquid chromatograms of Part I

S1, 2: mixed standards; M1, 2: muscle extract; L1, 2: liver extract at 270 nm and 350 nm, respectively.)
 C: clopidol; T: trimethoprim; S1: sulfamerazine; O: ormetoprim; S2: sulfamethoxypyridazine; F: furazolidone; S3: sulfamonomethoxine; D: dinitolmide; S4: sulfamethoxazole; S5: sulfisoxazole; P: pyrimethamine; S6: sulfadimethoxine; E: ethopabate; S7: sulfaquinoxaline (each 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

Fig. 4. High performance liquid chromatograms of difurazone and nicarbazine (Part II)
S: mixed standards; M: muscle extract; L: liver extract; Di: difurazone; N: nicarbazine (each 2 μ g/ml)

Fig. 5. High performance liquid chromatograms of decoquinatone (Part III)
S: standard; M: muscle extract; L: liver extract; De: decoquinatone (2 μ g/ml)

Fig. 6. The effect of pH on the extraction of drugs

×—× trimethoprim; $\triangle$ — $\triangle$ ormethoprim; $\circ$ — $\circ$ sulfamonomethoxine; $\bullet$ — $\bullet$ sulfisoxazole (each drug 2 μ g/ml)

I), 移動相アセトニトリル-酢酸-水 (50:0.5:50), 波長 350 nm で測定する薬剤グループを (パート II), 及び移動相メタノール-水 (9:1), 波長 315 nm で測定する薬剤グループを (パート III) とした。またいずれの場合も, 測定時間を速め, 相対感度を高めるため, カラム温度を 45° に設定した (Table 1)。パート I, II 及び III の標準溶液のクロマトグラムを Fig. 3, 4 及び 5 に示す。

2. 検量線及び検出限界

各パートごとに属する各薬剤の 2~10 μ g/ml に相当する量を 100 ml のメスフラスコに採り, メタノールで定容量とし, 混合標準溶液, パート I, II 及び III 用を調製し, これをメタノールで適宜希釈し, 検量線を作成した。

クロピドール, ジフラゾン, ナイカルバジン は 0.2~2 μ g/ml, スルファメラジン, スルファメトキシピリダジンは 0.2~4 μ g/ml, スルファモノメトキシン, スルファメトキサゾール, スルフィソキサゾール, フラゾリドンは 0.3~5 μ g/ml, オルメトプリム, トリメトプリム, ジニトルミド, ピリメタミン, エトパベート, スルファジメトキシン, スルファモノメトキシン, デコキネートは 0.5~10 μ g/ml の範囲でそれぞれ直線性が得られた。試料 10 g を採取したときの定量限界値は, クロピドール, ジフラゾン, ナイカルバジン, スルファメラジン及びスルファメトキシピリダジンは, 0.03 ppm, その他の薬剤は, 0.05 ppm であった。

Table 2. Recovery of 17 Drugs Added to Chicken Tissues

(1) Liver

Statistic	Clodipol		Trimethoprim		Sulfamerazine	
Added μg	1	2	1	2	1	2
Mean ($\times$)	0.630	1.483	0.550	1.471	0.683	1.583
SD	4.001	5.406	4.152	4.481	5.287	7.147
CV, %	0.063	0.072	0.075	0.060	0.077	0.090
Rec, %	63.0	74.1	55.0	73.5	68.3	79.1
Statistic	Ormethoprim		Sulfamethoxypyridazine		Furazolidone	
Added μg	1	2	1	2	1	2
Mean ($\times$)	0.732	1.560	0.650	1.630	0.618	1.499
SD	9.959	2.442	5.303	6.106	5.181	3.959
CV, %	0.135	0.031	0.081	0.074	0.083	0.052
Rec, %	73.2	78.3	65.0	81.8	61.8	74.9
Statistic	Sulfamonomethoxine		Dinitolmide		Sulfamethoxazole	
Added μg	1	2	1	2	1	2
Mean ($\times$)	0.691	1.592	0.726	1.544	0.735	1.644
SD	6.835	7.395	3.562	4.985	3.465	4.797
CV, %	0.098	0.092	0.049	0.064	0.047	0.058
Rec, %	69.1	79.6	72.6	77.2	73.5	82.2
Statistic	Sulfisoxazole		Pyrimethamine		Sulfadimethoxine	
Added μg	1	2	1	2	1	2
Mean ($\times$)	0.655	1.496	0.580	1.438	0.748	1.679
SD	3.448	2.514	6.133	4.246	3.877	5.271
CV, %	0.052	0.033	0.105	0.059	0.051	0.062
Rec, %	65.5	74.8	58.0	71.9	74.8	83.9
Statistic	Ethopabate		Sulfaquinoxaline		Decoquinat	
Added μg	1	2	1	2	1	2
Mean ($\times$)	0.768	1.767	0.843	1.749	0.678	1.531
SD	5.623	1.773	5.412	2.045	7.664	3.467
CV, %	0.073	0.020	0.064	0.023	0.113	0.045
Rec, %	76.8	88.3	84.3	87.4	67.8	76.5
Statistic	Difurazone		Nicarbazin			
Added μg	1	2	1	2		
Mean ($\times$)	0.546	1.371	0.745	1.777		
SD	4.225	3.992	3.197	1.651		
CV, %	0.077	0.058	0.042	0.018		
Rec, %	54.6	68.5	74.5	88.8		

3. 試料からの抽出及びクリーンアップ**3.1 抽出及び脱脂**

各薬剤は、メタノールに溶解するが、ナイカルバジン及びデコキネートは、比較的、溶解しにくいので試料からの抽出は、温メタノールを用いて行った。メタノール抽出液を濃縮する際の突沸を防ぐため、*n*-プロピルアルコールを添加し⁵⁾、減圧下濃縮乾固した。

各薬剤を緩衝液に溶解し、*n*-ヘキサンと緩衝液を分配

して脱脂操作を行った。この操作において、数種の薬剤、特にデコキネート、ジフラゾン及びナイカルバジンは、*n*-ヘキサン層に移行し、その移行率は、50~70%近くに達したため、*n*-ヘキサン層とアセトニトリルを液-液分配し、これら*n*-ヘキサン層に移行した薬剤を、アセトニトリルに移行させ、そのアセトニトリル層を緩衝液層に加え、脱脂による薬剤の損失を防いだ。

Table 2.

(2) Muscle

Statistic	Clopidol		Trimethoprim		Sulfamerazine	
Added μg	1	2	1	2	1	2
Mean ($\times$)	0.756	1.538	0.688	1.445	0.774	1.803
SD	7.829	5.506	5.587	3.414	6.787	6.779
CV, %	0.103	0.071	0.081	0.047	0.087	0.075
Rec, %	75.6	76.9	68.8	72.2	77.4	90.1
Statistic	Ormethoprim		Sulfamethoxypyridazine		Furazolidone	
Added μg	1	2	1	2	1	2
Mean ($\times$)	0.669	1.720	0.745	1.753	0.701	1.640
SD	7.275	6.445	9.192	5.022	6.740	3.647
CV, %	0.108	0.074	0.123	0.057	0.096	0.044
Rec, %	66.9	86.0	74.5	87.6	70.1	82.0
Statistic	Sulfamonomethoxine		Dinitolmide		Sulfamethoxazole	
Added μg	1	2	1	2	1	2
Mean ($\times$)	0.781	1.772	0.797	1.833	0.733	1.783
SD	6.125	6.068	3.631	4.826	6.962	3.357
CV, %	0.078	0.068	0.045	0.052	0.094	0.037
Rec, %	78.1	88.6	79.7	91.6	73.3	89.1
Statistic	Sulfisoxazole		Pyrimethamine		Sulfadimethoxine	
Added μg	1	2	1	2	1	2
Mean ($\times$)	0.774	1.781	0.740	1.681	0.774	1.756
SD	7.897	3.718	7.246	7.091	6.075	3.645
CV, %	0.101	0.041	0.097	0.084	0.078	0.041
Rec, %	77.4	89.0	74.0	84.0	77.4	87.8
Statistic	Ethopabate		Sulfaquinoxaline		Decoquinat	
Added μg	1	2	1	2	1	2
Mean ($\times$)	0.795	1.847	0.802	1.846	0.610	1.468
SD	6.663	3.493	7.724	1.372	4.153	4.734
CV, %	0.083	0.037	0.096	0.014	0.068	0.064
Rec, %	79.5	92.3	80.2	92.3	61.0	73.4
Statistic	Difurazone		Nicarbazin			
Added μg	1	2	1	2		
Mean ($\times$)	0.570	1.312	0.825	1.874		
SD	4.123	5.427	4.641	2.260		
CV, %	0.072	0.082	0.056	0.024		
Rec, %	57.0	65.6	82.5	93.7		

3.2 液-液分配に用いる溶媒の検討

抽出液の前処理に、フロリジルカラム処理と液-液分配処理の検討を行った。フロリジルカラムによる処理は、石油エーテル、*n*-ヘキサン、エーテル系について行ったが、ジフラゾン及びデコキネートが吸着し、回収率が著しく低いため、液-液分配を検討した。

混合標準溶液 1 ml を 10% 塩化ナトリウム溶液に溶解し、エチルエーテル、酢酸エチル、クロロホルム及びジ

クロロメタンとそれぞれ分配したところ、エチルエーテルは、移行率が低く、その他の溶媒では、ほぼ同等の移行率を示した。特にクロピドールについては、酢酸エチルへの移行率が最も高かったが、酢酸エチルを用いた場合、クロマトグラム上に夾雑ピークが多く観察されたため、夾雑ピークの少ないクロロホルムを用いて行うこととした。

3.3 液-液分配移行率と pH の影響

液-液分配時における pH と各薬剤の移行率を検討した。pH 2.0～8.0 の 7 段階の Macvallin 緩衝液 40 ml に混合標準溶液 (2 µg/ml) を 1 ml 添加し、塩化ナトリウム 6 g を加え、クロロホルム 40 ml ずつで 2 回抽出し、その移行率を検討した。Fig. 6 にみられるように、オルメトプリム及びトリメトプリムは、pH 6.0 以上で良好な抽出率を示した。スルファモノメトキシ、スルファメトキサゾール及びスルフィソキサゾールは、pH 5.0 以下で抽出率が良好であった。その他の薬剤の抽出率は、pH 2.0 から pH 8.0 の範囲で pH の影響を受けず、ほぼ一定であった。これらの結果から、緩衝液の pH を 5.5 とし、塩化ナトリウムを加え、クロロホルムで抽出した。

3.4 アルミナカラムクロマトグラフィー

クロロホルム抽出液は、クロマトグラム上に夾雑ピークを含むため、さらにアルミナカラムによる処理を検討した。薬剤がアルミナに吸着するのを防ぐため、アセトニトリル-水の混合溶液でアルミナの活性を弱めて検討した。アルミナ量は、3 g で夾雑物質を除去できた。他の薬剤に比べ、アルミナに保持されやすいサルファ剤をカラムから溶出するには、アセトニトリル-水の混合比を (85:15) とし、またその量を 40 ml 以上にする必要があった。溶出液を濃縮する際、突沸による分析値のばらつきなどを防ぐため、*n*-プロピルアルコールを 5 ml 添加して乾固した。Fig. 3～5 に示すように、各クロマトグラム上に、定量の妨害となるピークは、観察されなかった。

4. 添加回収実験

市販の鶏肉及び肝臓 10 g に各薬剤 2 µg 及び 1 µg を添加し上記試験法に従って回収率を求めた。Table 2 に示すように、良好な値が得られた。鶏肉、肝臓それぞれ 20 及び 22 検体について試験したところ、肝臓 3 検体からナイカルバジンが 0.03～0.19 ppm の範囲で検出されたが、他の薬剤は、いずれの検体からも検出されなかった。

ま と め

鶏肉及び鶏肝臓のサルファ剤 (7 種)、クロピドール、トリメトプリム、オルメトプリム、ジニトルミド、ピリメタミン、エトパペート、フラゾリドン、ジフラゾン、ナイカルバジン及びデコキネートの HPLC による同時

分析法を検討した。

温メタノールで抽出、濃縮乾固後、緩衝液に溶解し、*n*-ヘキサンで脱脂し、クロロホルムで抽出した。ついでアルミナカラム処理し、HPLC で定量した。本法による回収率は、0.2 ppm 添加で、鶏肉 65.5%以上、肝臓 68.5%以上であった。

終わりに、トリメトプリムを供与戴いたヘキストジャパン (株)、オルメトプリムを供与戴いた奈良県衛生研究所 宇野正清先生に深謝いたします。

文 献

- 1) 高島英伍: 衛生化学 **27**, 127～143 (1981).
- 2) 堀 義宏: 食衛誌. **24**, 447～453 (1983).
- 3) 村田 弘, 福島成彦, 宮田秀明, 榎本 隆: 大阪府立公衛研所報. **11**, 3～5 (1980).
- 4) 大塚公人, 堀部京子, 杉谷 哲, 山田不二造: 食衛誌. **22**, 462～466 (1981).
- 5) 中澤裕之, 高島英伍, 日野誠二, Canutee A. M.: 分析化学 **32**, 179～183 (1983).
- 6) Canutee A. M., Nakazawa, H., Takabatake, E.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. **67**, 334～336 (1984).
- 7) 厚生省環境衛生局肉肉衛生課: 畜産物中の残留物質検査法 第 2 集の 7 p. 1～10 (1984).
- 8) Hoener, B., Lee, G., Lundergau, W.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. **62**, 257～261 (1979).
- 9) Winferlin, W., Hall, G., Mourer, C.: *ibid.* **64**, 1,055～1,059 (1981).
- 10) Sugden, E. A., Macintosh, A. I., Vilim, A. B.: *ibid.* **66**, 874～880 (1983).
- 11) 堀 義宏: 食衛誌. **24**, 33～37 (1983).
- 12) 厚生省環境衛生局肉肉衛生課: 畜産物中の残留物質検査法 第 2 集の 5 p. 30～34 (1982).
- 13) Nagata, T., Saeki, M., Fujita, M., Takabatake, E.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. **68**, 27～29 (1985).
- 14) 星野庸二, 堀江正一, 能勢憲英: 食衛誌. **23**, 265～269 (1982).
- 15) 厚生省環境衛生局肉肉衛生課: 畜産物中の残留物質検査法 第 2 集の 6 p. 10～16 (1983).
- 16) 永田知子, 佐伯政信, 中澤裕之, 藤田昌彦, 高島英伍: 食衛誌. **25**, 163～167 (1984).
- 17) 能勢憲英, 星野庸二, 菊池好則, 河内左十: 同上 **23**, 176～183 (1982).