報 文

HPLC による食肉及び魚肉中の残留動物用
医薬品のスクリーニング法

(平成 10 年 8 月 18 日受理)

堀江 正一^{*1} 吉田 栄充^{*1}
斉藤 貢一^{*1} 中澤 裕之^{*2}Rapid Screening Method for Residual Veterinary Drugs in
Meat and Fish by HPLCMasakazu HORIE^{*1}, Terumitsu YOSHIDA^{*1}, Koichi SAITO^{*1} and Hiroyuki NAKAZAWA^{*2}(*¹Saitama Prefectural Institute of Public Health: 639-1, Kamiokubo, Urawa,
Saitama 338-0824, Japan; *²Hoshi University: 2-4-41, Ebara,
Shinagawa-ku, Tokyo 142-8501, Japan)

A simple and rapid screening method using HPLC for the simultaneous determination of 13 veterinary drugs (oxytetracycline, quinoxaline-2-carboxylic acid, thiabendazole, 5-hydroxythiabendazole, albendazole-2-aminosulfone, sulfadimidine, flubendazole, zeranol, β -trenbolone, sulfadimethoxine, sulfamonomethoxine, oxolinic acid, and enrofloxacin) in meat and fish has been developed. The drugs were extracted with 0.25% metaphosphoric acid-methanol-acetonitrile (6:2:2, v/v), and the extracts were cleaned up on an OASIS HLB (60 mg) cartridge. The HPLC separation was performed on a Wakosil-II-5C18 RS column (150×4.6 mm i.d.) with a gradient system of 0.025 mol/L phosphate buffer (pH 2.5)-acetonitrile as the mobile phase at a flow rate of 0.6 mL/min. The drugs were detected with ultraviolet (UV) and fluorescence detectors with time programming. The calibration graphs were rectilinear from 1 to 20 ng for each drug. The recoveries at levels of 0.02~0.1 μ g/g were 75.1~90.5%.

(Received August 18, 1998)

Key words: 動物用医薬品 veterinary drugs; 残留抗菌性物質 residual antibacterials; タンパク
同化ホルモン anabolic agents; 寄生虫用剤 anthelmintic agents; 食肉 meat; 高速液体クロ
マトグラフィー HPLC

緒 言

動物用医薬品として用いられている抗菌性物質 (抗生物質, 合成抗菌剤), ホルモン剤及び寄生虫用剤は, 畜産動物の疾病予防及び治療に大きく寄与している。しかし, 一方ではこれら薬物の畜産食品中への残留が食品衛生上懸念されており, 迅速で精度の高い残留分析法が要求されている^{1,2)}。

最近まで, 食品衛生法により抗菌性物質については「無残留」規制が, 寄生虫用剤及びホルモン剤については何らの規制もなされていなかった。しかし, 平成 7 年

12 月に食品衛生法が改正され, 現在まで 11 品目の動物用医薬品について残留基準値が設定された。同時に, 11 品目の動物用医薬品に対して 9 通りの試験法が告示された。示された告示試験法は個別試験的なものであり, 分析対象薬物を正確に検出・定量することが可能である。しかし, 個別的な告示試験法を用いて残留基準値の設定された 11 品目の動物用医薬品を一つ一つ検査するには多くの時間と経費を必要とする。したがって, 一度により多くの動物用医薬品の残留の有無をスクリーニングする簡易な検査法の整備が急務とされている。

そこで, 今回残留基準値が設定されている 11 品目の他に, 使用量が多くかつ時折残留例が報告されているエンロフロキサシン, オキシリン酸, スルファモノメトキ

*¹ 埼玉県衛生研究所: 〒338-0824 埼玉県浦和市上大久保 639-1

*² 星薬科大学: 〒142-8501 東京都品川区荏原 2-4-41

Table 1. Operating Conditions of HPLC

Column: Wakosil-II5C18 RS (15 cm×4.6 mm)

Mobile phase: A, 0.025 mol/L phosphate buffer (pH 2.5)-acetonitrile (90 : 10)

B, 0.025 mol/L phosphate buffer (pH 2.5)-acetonitrile (20 : 80)

0 min; A/B=100/0→25 min; A/B=20/80

Flow-rate: 0.6 mL/min

Detection: Time programming

Time (min)	UV (nm)	FL (Ex/Em, nm)
0.0	330	318/525
8.1	290	285/350
9.5	325	295/455
11.2	295	335/380
18.0	310	
20.0	350	
21.5	265	

Column temp.: 40°C

シン及びスルファジメトキシシン^{3)~6)}を含めた動物用医薬品の同時分析法を検討した。

実験方法

1. 試料及び試薬

試料には埼玉県内で市販されている豚肉、牛肉、鶏肉及び魚肉としてマグイを用いた。また、1996年に行った日常検査においてエンロフロキサシンが検出されたヒラメ1検体（冷凍保存）も使用した。

標準溶液：エンロフロキサシン (ERFX) はバイエル (株)，オキシリン酸 (OXA) は田辺製薬 (株)，イベルメクチン (IVM) は関東化学 (株)，スルファモノメトキシシン (SMMX) 及びスルファジメトキシシン (SDMX) は第一製薬 (株) からの供与品を用いた。

キノキサリン-2-カルボン酸 (QCA) はアルドリッチ社製，オキシテトラサイクリン (OTC) はシグマ社製，スルファジミジン (SDD) は ICN Pharm. 社製，チアベンダゾール (TBZ)，5-ヒドロキシチアベンダゾール (TBZ-M) 及びアルベンダゾール-2-アミノスルフォン (別名，5-プロピルスルホニル-1*H*-ベンズイミダゾール-2-アミン：ABZ-M)，フルベンダゾール (FBZ)， α -トレンボロン (α -TB) 及び β -トレンボロン (β -TB)，ゼラノール (ZER)，クロサンテル (CST) は林純薬工業 (株) から，イソメタミジウム (ISM) は食品衛生指定検査機関協議会から購入して使用した。

各 10 mg を精ひょうし，メタノール 100 mL に溶解して標準原液とし，適宜 0.025 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 2.5)-アセトニトリル (80 : 20) で希釈して標準溶液とした。なお，OXA はあらかじめ 0.02 mol/L 水酸化ナトリウム，FBZ はジメチルスルホキシド (DMSO) 約 10 mL 用いて溶解後メタノールに溶解して標準原液とした。

0.025 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 2.5) は，蒸留水 1

L にリン酸一ナトリウム 2.80 g (0.018 mol) 及び 85% リン酸 0.60 mL (0.007 mol) を溶解して調製した。

除タンパク・抽出溶媒は 0.25% メタリン酸，メタノール及びアセトニトリルを (6 : 2 : 2) の割合で混合し，約 10°C に冷却して用いた (用時調製)。

OASIS HLB カートリッジ (60 mg, Waters 社製) は，あらかじめメタノール 5 mL 及び蒸留水 5 mL でコンディショニングした後使用した。その他の試薬はすべて特級品あるいは HPLC 用を用いた。

2. HPLC 装置及び測定条件

高速液体クロマトグラフ：Hewlett Packard 社製 HP-1050 型高速液体クロマトグラフシステムを用いた。分析カラムには Wakosil-II 5C18 RS (15 cm×4.6 mm，和光純薬工業 (株) 製) を使用し，移動相に (A) 0.025 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 2.5)-アセトニトリル (90 : 10) 及び (B) 0.025 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 2.5)-アセトニトリル (20 : 80) を用い，0 分 A/B=100/0，25 分後に A/B=20/80 (vol %) となるリニアグラジエント条件で行った。検出器には UV 検出器と蛍光検出器を併用し，検出波長は波長タイムプログラム法を採用した (Table 1)。なお，流速は毎分 0.6 mL とした。

3. 試験溶液の調製

試料 5 g を採り，約 10°C に冷却した除タンパク・抽出溶媒 100 mL を加えてホモジナイズした後，ろ過補助剤ハイフロスーパーセルを厚さ約 2 mm に敷いた吸引ろ過器 (桐山漏斗) を用いてろ過した。ろ液を 45°C の水浴中で約 25 mL に減圧濃縮した後，OASIS HLB カートリッジに負荷し，蒸留水 20 mL で洗浄後，メタノール 10 mL で溶出した。溶出液を 45°C の水浴中で減圧乾固した後，残留物を 0.025 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 2.5)-アセトニトリル (80 : 20) 1 mL に溶解して試験溶液とし，この 10 μ L を高速液体クロマトグラフ

Fig. 1. Typical chromatograms of standard mixture

Peaks: 1=5-hydroxythiabendazole (5 ng); 2=albendazole-2-aminosulfone (5 ng); 3=thiabendazole (5 ng); 4=oxtetracycline (5 ng); 5=quinoxaline-2-carboxylic acid (2.5 ng); 6=enrofloxacin (5 ng); 7=sulfadimidine (5 ng); 8=sulfamonomethoxine (5 ng); 9=oxolinic acid (5 ng); 10=sulfadimethoxine (5 ng); 11=flubendazole (2.5 ng); 12= β -trenbolone (1ng); 13= α -trenbolone (1 ng); 14=zeranol (1ng). LC conditions: (A) Wakosil-II-5C18 RS, (B) column A. Other conditions as in Table 1.

に注入した。

4. 検量線の作成

QCA, FBZ, ZER 及び β -TB は 0.01~0.2 ppm, その他の薬剤は 0.05~0.5 ppm の範囲で標準溶液を調製し, その 10 μ L を高速液体クロマトグラフに注入した. それぞれ得られたクロマトグラムよりピーク面積を求め, 絶対検量線法により検量線を作製した.

結果及び考察

1. HPLC 測定条件の検討

1.1 分離条件の検討

残留基準値が設定されている 11 品目の動物用医薬品の他に, 使用量が多くかつ時折残留例^{3)~6)}が報告されているエンロフロキサシン (ERFX), オキシリン酸 (OXA), スルファモノメトキシ (SMMX) 及びスルファジメトキシ (SDMX) を分析対象に選択した. なお, TBZ の残留基準値は, TBZ 及び代謝物 (5-hydroxythia-

Table 2. Repeatability of Retention Time and Peak Area of Veterinary Drugs

Drugs	Retention time (min)		Peak area
	Mean	R.S.D. (%)	R.S.D. (%)
5-Hydroxythiabendazole (TBZ-M)	7.61	0.32	0.7
Albendazole-2-aminosulfone (ABZ-M)	8.82	0.27	1.7
Thiabendazole (TBZ)	9.15	0.38	0.5
Oxytetracycline (OTC)	10.02	0.39	1.9
Quinoxaline-2-carboxylic acid (QCA)	10.35	0.27	0.8
Enrofloxacin (ERFX)	10.82	0.27	1.2
Sulfadimidine (SDD)	11.69	0.16	0.8
Sulfamonomethoxine (SMMX)	12.90	0.14	1.2
Oxolinic acid (OXA)	15.61	0.14	1.1
Sulfadimethoxine (SDMX)	16.83	0.12	1.0
Flubendazole (FBZ)	19.35	0.13	1.0
β -Trenbolone (β -TB)	20.42	0.12	1.5
α -Trenbolone (α -TB)	21.12	0.11	1.6
Zeranol (ZER)	22.10	0.10	3.2

(n=6)

bendazole, TBZ-M) の和として, ABZ 及びカルバドックス (CDX) の残留基準値は, それぞれ主代謝物である albendazole-2-aminosulfone (ABZ-M), quinoxaline-2-carboxylic acid (QCA) に対して設定されている。更に, 牛肉中の TB の残留基準値は, β -TB をもって評価することになっている。以上のことから, 分析対象化合物として, TBZ は TBZ 及び TBZ-M, CDX は QCA, ABZ は ABZ-M, TB は β -TB を選択した。

OTC, OXA, ERFX 及び QCA は, 構造中に β -ジケトン構造, あるいは窒素原子とカルボキシル基が隣接した構造を有しており, カラム充てん剤中の金属不純物の影響を強く受ける^{7)~9)}。本実験においても従来タイプのシリカゲルを基材とした ODS カラムではこれらの化合物は強いテーリングを示した。

先に著者らは β -ジケトン構造を有する OTC やキノロン剤を金属不純物の少ない高純度シリカゲルを基材とした ODS カラムを用いることにより, 良好に分析できることを報告した^{10), 11)}。そこで, 高純度シリカゲルを基材とした充てん剤を中心に分離用カラムを検討した。OTC, OXA 及び ERFX はいずれのメーカーの高純度シリカゲルカラムを用いても比較的良好なピーク形状が得られた。しかし, QCA に関しては高純度シリカゲルを基材としたカラムにおいてもテーリングを示す傾向が見られた (Fig. 1)。検討した結果, Wakosil II 5C18 RS を用いることによりいずれの化合物も良好なピーク形状を得ることができた。

次に, 移動相であるが, 構造中にカルボキシル基を有する QCA は, 移動相の液性が中性付近であるとカラムにほとんど保持されず, 溶媒先端近くに溶出された。また, 移動相の液性が中性付近では, カラム充てん剤中に

わずかに残存するシラノール基は解離して弱陽イオン交換基として作用し, OTC やキノロン剤である OXA 及び ERFX のテーリングの一因となる。以上の結果から, 移動相は酸性条件とした。更に, 分析対象薬物が 12 品目と多成分であり, かつ親水性の高い成分から疎水性の高い成分まで存在することから, イソクラティック溶出による分離は困難であった。そこで, 移動相にはリン酸塩緩衝液 (pH 2.5)-アセトニトリル系を用い, 実験の部に示したグラジエント溶出法を採用した。グラジエント溶出法を採用することにより, 12 品目の分析対象薬物を同時に分析することが可能となった。

1.2 測定波長の検討

次に測定波長であるが, 分析対象薬物の極大吸収波長がそれぞれ異なることから, 最大公約数的な単一波長による高感度測定は困難であったので, タイムプログラム法を採用することにした。本 HPLC 条件では, 分析対象薬物が多いことから複雑な波長タイムプログラム法を採用している。そこで, 本条件における各薬物の保持時間とピーク面積の再現性を調べた (Table 2)。本 HPLC 条件における各薬物の保持時間の相対標準偏差 (R.S.D.) は, 0.4% 以下であり, ピーク面積の R.S.D. は 0.7~3.2% と良好な結果が得られた。各薬物の保持時間及びピーク面積の再現性に優れた本法は, 複雑な波長タイムプログラム法を採用しているが, 分析対象薬物を定性及び定量する上で支障はなかった。

今回分析対象としたベンズイミダゾール系の TBZ, ABZ-M 及びキノロン剤である ERFX と OXA は発蛍光性の化合物^{11)~13)}である。蛍光検出は UV 検出に比べ, 選択性に優れかつ高感度検出が可能であり, 発蛍光性物質の検出には極めて有効である。そこで, より選択性の

Table 3. Influence of Extraction Cartridges on the Recovery of Veterinary Drugs

Cartridge	Recovery (%)							
	TBZ	OTC	SDD	QCA	ERFX	FBZ	β -TB	ZER
Bond Elut C18 (500 mg)	95.0	88.7	95.1	17.3	83.8	96.3	87.1	95.4
Baker C18 (500 mg)	89.1	21.9	96.2	50.5	28.7	90.2	80.8	93.3
Sep-Pak PS-2 (400 mg)	93.5	93.5	93.2	94.8	92.2	91.5	89.1	97.1
OASIS HLB (60 mg)	96.2	95.1	93.5	90.7	97.3	95.2	91.2	96.4

The drugs were added to the sample extract (A 5 g amount of pork sample was homogenized with extracting solvent, and then homogenate was filtered). Samples were spiked with 0.1 μ g/g of each drug. Average of results of three replicates.

Fig. 2. UV chromatograms of (A) standard mixture, (B) swine muscle extract, (C) cattle muscle extract and (D) flatfish sample in which enrofloxacin was detected at 0.3 ppm. Peak identification as in Fig. 1. LC conditions as in Table 1.

高い分析法とするために蛍光検出器を併用して用いることとし、蛍光検出器においても波長タイムプログラムを採用した (Table 1).

なお、本 HPLC 条件ではイソメタミジウムは良好なピークが得られず、クロサンテル及びイベルメクチンについては溶出されなかった。また、後述するが本試料調製法による回収実験において、イベルメクチンは約 50%，イソメタミジウムとクロサンテルは 10% 以下であった。以上の理由から、今回はイソメタミジウム、クロサンテル及びイベルメクチンの 3 化合物は分析対象外とした。

2. 試験溶液の調製

2.1 除タンパク・抽出溶媒の検討

著者らは、メタリン酸-メタノール¹⁴⁾、あるいはメタリン酸-アセトニトリル混液⁵⁾が多くの抗菌剤に対して適切な抽出溶媒であることを報告してきた。そこで、抽出溶媒としてメタリン酸とメタノールあるいはアセトニトリルとの混合系を選択し、混合比及びメタリン酸濃度を変えて回収率に及ぼす影響を調べた。メタノール系及びアセトニトリル系とも、抽出溶媒中のメタノールあるいはアセトニトリルの含量を高くすることにより、多くの薬物の回収率が向上した。しかし、メタノール系では

Fig. 3. Fluorescence chromatograms of (A) standard mixture, (B) swine muscle extract, (C) cattle muscle extract and (D) flatfish sample in which enrofloxacin was detected at 0.3 ppm

Peak identification as in Fig. 1. LC conditions as in Table 1.

抽出溶媒中のメタノールの含量を変えても ERFX に関しては十分な回収率は得られず, ERFX の抽出溶媒にはアセトニトリル系が適していた⁵⁾。一方, SDD をはじめとするサルファ剤はメタノール系の方が高い回収率が得られた。以上の結果から, 0.25% メタリン酸-メタノール-アセトニトリル系を用い, その混合比が (6:2:2) のとき, いずれの薬物とも良好な回収率が得られた。次に, 混合比 (6:2:2) を一定とし, メタリン酸濃度を 0.25~1.0% の範囲で変えて回収率に及ぼす影響を調べた。その結果, いずれの薬物の回収率もメタリン酸の濃度に影響されず, ほぼ一定であった。なお, メタリン酸濃度が高い方が除タンパク効果に優れ, 低い方が夾雑成分は少なかった。以上の結果から, 除タンパク・抽出溶媒には 0.25% メタリン酸-メタノール-アセトニトリル (6:2:2) を用いることにした。

2.2 固相抽出カートリッジの選択

汎用されているシリカゲルを基材とした ODS カートリッジ及びポリマーゲルが充てんされたカートリッジに対する代表的薬物の保持能を Table 3 に示す。シリカ

ゲルを基材としたカートリッジでは, 充てん剤中の金属不純物や残存シラノール基の影響により⁵⁾, 回収率が低いものが見られた。一方, ポリマーゲルが充てんされたカートリッジでは, シリカゲルベースのカートリッジが有している金属不純物や残存シラノールの影響がないことから, 良好な回収率が得られた。中でも親水性と疎水性を兼ね備えたポリマーが充てんされた OASIS HLB が総合的に最も優れていた。本法によって得られた試験溶液 (牛肉, 豚肉のブランク及び ERFX が 0.3 ppm 検出されたヒラメ) のクロマトグラムを Fig. 2~3 に示す。Fig. 3 は蛍光検出により得られたクロマトグラムであるが, 「1.2 測定波長の検討」の部で言及したとおり, 蛍光性化合物の検出には, 蛍光検出器の利用が有効であることが分かる。

なお, 前述したがイソメタミジウム, クロサンテル及びイベルメクチンの 3 化合物は, 本分析法では十分な回収率が得られなかった。

3. 添加回収実験

実験方法の部に記載した操作に従い, 検量線を作成し

Table 4. Recoveries of Veterinary Drugs from Meat and Fish

Drugs	Added ($\mu\text{g/g}$)	Recovery (mean $\pm$ S.D., $n=5$) (%)			
		Beef	Pork	Chicken	Fish (sea bream)
OTC	0.1	79.8 $\pm$ 4.0	80.1 $\pm$ 4.7	78.3 $\pm$ 3.6	80.3 $\pm$ 4.5
FBZ	0.05	83.5 $\pm$ 2.8	81.3 $\pm$ 3.3	87.7 $\pm$ 2.9	—
ZER	0.02	80.5 $\pm$ 6.1	82.7 $\pm$ 5.2	81.9 $\pm$ 5.9	—
β -TB	0.02	77.2 $\pm$ 5.0	79.3 $\pm$ 6.5	75.1 $\pm$ 2.8	—
SDD	0.1	88.2 $\pm$ 2.9	85.4 $\pm$ 2.6	80.2 $\pm$ 3.2	—
QCA	0.05	77.3 $\pm$ 5.1	80.3 $\pm$ 4.7	79.8 $\pm$ 3.7	—
TBZ	0.1	89.4 $\pm$ 4.8	90.5 $\pm$ 3.8	86.8 $\pm$ 3.9	—
TBZ-M	0.1	83.7 $\pm$ 2.7	84.7 $\pm$ 3.1	82.9 $\pm$ 1.8	—
ABZ-M	0.1	86.9 $\pm$ 4.9	85.1 $\pm$ 4.0	87.6 $\pm$ 3.0	—
ERFX	0.1	84.0 $\pm$ 4.8	85.2 $\pm$ 3.7	84.9 $\pm$ 3.0	87.0 $\pm$ 3.4
OXA	0.1	88.3 $\pm$ 3.6	90.1 $\pm$ 3.9	89.4 $\pm$ 2.1	88.1 $\pm$ 3.1
SMMX	0.1	86.5 $\pm$ 2.9	87.1 $\pm$ 3.5	81.9 $\pm$ 3.2	82.5 $\pm$ 3.4
SDMX	0.1	85.2 $\pm$ 4.1	87.4 $\pm$ 4.6	88.3 $\pm$ 3.7	85.9 $\pm$ 4.3

たところ、QCA, ZER, FBZ 及び β -TB は 0.1~5 ng の範囲で、他の薬物は 0.5~10 ng の範囲で良好な直線性を示した。豚肉、牛肉、鶏肉及びマグダイに Table 4 に示した濃度で各薬剤を添加し、回収率を求めた。いずれの薬物も 75% 以上回収され、残留分析法としてほぼ満足すべき結果が得られた。本法による検出限界は、 β -TB 及び ZER が 0.002 ppm, QCA が 0.005 ppm であり、他の薬物はいずれも設定されている残留基準値を十分満足するものであった。

現在、我が国では国際基準である Codex 基準に準拠した¹⁵⁾ 残留基準値が設定され、それぞれ薬物ごとに残留分析法が告示されている。個別分析法は残留動物用医薬品をより正確に検出・定量できる利点を持っている。しかし、残留の可能性のある薬物を個別検査法で一つ一つ分析するには多くの労力と経費を必要とする。本法は現在残留基準値が設定されている薬物及び残留の可能性が高く、近い将来残留基準値が設定されると思われる薬物 4 品目を含め、計 12 品目を同時にスクリーニングできることから、本法を用いることにより簡易かつ迅速な残留分析が可能になるものと期待される。

謝 辞

本研究は平成 9 年度埼玉県提案型研究推進制度の助成を受けて実施したものであり、関係各位に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 中澤裕之, 藤田昌彦: 衛生化学 **36**, 163~180 (1990).

- 2) 堀江正一, 中澤裕之: 食衛誌 **36**, 329~343 (1995).
- 3) 堀江正一, 中澤裕之: 月間フードケミカル, No. 4, 49~56 (1996).
- 4) 堀江正一, 斉藤貢一, 能勢憲英, 中澤裕之: Chromatography **15**, 147~152 (1994).
- 5) 堀江正一, 斉藤貢一, 星野庸二, 寺田久屋, 中澤裕之: 食衛誌. **38**, 329~334 (1997).
- 6) 安福 潔, 亀本昌幸, 岩崎俊夫, 森河内潔: 日獣会誌 **51**, 100~104 (1998).
- 7) Oka, H., Nakazawa, H., Harada, K., MacNeil, J. D. ed.: "Chemical Analysis for Antibiotics Used in Agriculture" p. 333~406 (1995) AOAC International.
- 8) Roberts, D. W., Ruane, R. J., Wilson, I. D.: J. Chromatogr. **471**, 437~441 (1989).
- 9) Ikai, Y., Oka, H., Kawamura, N., Nakazawa, H.: J. Chromatogr. **477**, 397~406 (1989).
- 10) 堀江正一, 斉藤貢一, 能勢憲英, 中澤裕之: 食衛誌. **36**, 294~297 (1995).
- 11) 堀江正一, 斉藤貢一, 能勢憲英, 中澤裕之: 同上 **36**, 62~67 (1995).
- 12) Arenas, R. V., Johnson, N. A.: J. AOAC Int. **78**, 642~646 (1995).
- 13) Markus, J., Sherma, J.: *ibid.* **75**, 1,129~1,134 (1992).
- 14) Horie, M., Saito, K., Nakazawa, H., Yamane, Y.: J. Chromatogr. **538**, 484~491 (1991).
- 15) "Codex Alimentarius" Vol. 3, Residues of Veterinary Drugs in Foods (1996) FAO and WHO, Rome.