

Original

畜産物中の動物用医薬品の分析における 高速液体クロマトグラフィー / タンデム質量分析法の データ解析に関する一考察

甲斐茂美、赤星猛、藤巻照久、伊藤伸一

A Study on Data Analysis by Liquid Chromatography / Tandem Mass Spectrometry for the Determination of Veterinary Drugs in Livestock Foods

Shigemi KAI, Takeshi AKABOSHI, Teruhisa FUJIMAKI and Shin-ichi ITO

Kanagawa Prefectural Institute of Public Health, 1-3-1, Shimomachiya, Chigasaki-City, Kanagawa, Japan 253-0087

Received for review January 12, 2006. Accepted February 2, 2007.

Abstract

The data analysis by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC / MS / MS) for the determination of veterinary drugs in livestock foods was studied. LC / MS / MS acquisition parameters were established in positive and negative electrospray ionization (ESI) modes. In multiple reaction monitoring (MRM), target ions were used for the quantification, and relative intensities (intensity ratios) of reference ion to target ion were used for the qualitative analysis. The relative intensities for reference are characteristic of veterinary drugs.

Keywords : liquid chromatography / tandem mass spectrometry, veterinary drug, livestock food

1. 緒言

食の安全・安心について国民の関心が高まる中、国は平成15年に食品の安全確保の基本となる法律「食品衛生法」を改正し、食品の監視・検査体制の見直しを行った。その中で大きく変わったのが、ポジティブリスト制度（基準が設定されていない農薬及び動物用医薬品等が、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値以上含まれる食品の流通を原則禁止する制度）の導入による農薬、動物用医薬品及び飼料添加物の残留規制の強化である。これに伴い、基

準値が設定された動物用医薬品は従来の約40品目から約230品目に増加した。このため、多くの動物用医薬品を一斉に検査できる分析法の開発が急務となった。厚生労働省では、現在、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いた動物用医薬品の一斉分析法を一部公表している[1]。しかし、動物用医薬品の中には、食品への残留が認められていないものがあり、HPLCでの分析では厚生労働省の示している定量限界値が確認できない等の困難が生じている。畜産物中の動物用医薬品の一斉分析には、検出器にHPLCに比べ高感度で選択

Correspondence : Shigemi KAI, Chemistry Division, Kanagawa Prefectural Institute of Public Health, Shimomachiya 1-3-1, Chigasaki, Kanagawa 253-0087, Japan

Tel : +81-467-83-4400

Fax : +81-467-83-4457

E-mail : kai.96jc@pref.kanagawa.jp

性のある高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析装置 (LC/MS/MS) を活用することが有効であると考えられる。

著者らはこの度のポジティブリスト制度施行に際し、LC/MS/MSの高感度で高精度という特性に着目して、畜産物中の動物用医薬品検査項目数の拡大を実現した。更に、Multiple Reaction Monitoring (MRM) 法を用いた定量・同定時におけるデータ解析手法について若干の検討を試みたので報告する。

2. 実験

2.1 試料

試料として神奈川県内で市販されていた牛肉、豚肉、鶏肉を用いた。試料はフードプロセッサで粉碎混合したものをを用いた。

2.2 試薬

分析対象医薬品はTable 1に示した。標準品としては和光純薬(株)、関東化学(株)及び林純薬(株)の残留物質試験用を用いた。標準原液はアセトニトリルまたはメタノールを用いて100 µg/mLになるように調製した。混合標準溶液は35%メタノール水溶液で段階的に希釈し調製した。

アセトニトリル、メタノール及びn-ヘキサンは和光純薬(株)の残留農薬試験用またはLC-MS用を用いた。その他の試薬は和光純薬(株)の特級を用いた。

Waters社製Oasis HLB (60 mg) カートリッジは、あらかじめメタノール10 mL、水10 mL、次いで0.2 mol/Lリン酸緩衝液 (pH 5.0) 2 mLでコンディショニングした。

フロリジルカラムは内径15 mm、長さ300 mmのクロマトグラフ管に、和光純薬(株)の残留農薬分析用フロリジルPR 8 gを、アセトニトリルに懸濁して充填した。

2.3 装置及び測定条件

HPLCはAgilent社製1100シリーズを、MS/MSはApplied Biosystems社製Qtrap LC/MS/MSを用いた。

HPLCのカラムはImtakt社製Cadenza CD-C 18 (2.1 mm i.d. × 150 mm、3 µm) を用い、カラム温度40 °C、流速0.2 mL/min、注入量10 µL、移動相はアセトニトリル-0.1%ギ酸を用いて以下のグラジエント条件で分析した。0 - 25 min; アセトニトリル:0.1%ギ酸 = (5:95) から (99:1) までの直線グラジエント、25 - 35 min; (99:1) で保持させた。MS/MSのイオンソースはESIを使用し、イオン化モードがポジティブの時はイオンスプレー電圧5.5 kV、イオン化モードがネガティブの時はイオンスプレー電圧-4.2 kV、イオン源温度480 °C、ネブライザーガス圧は70 psiで測定した。医薬品ごとのその他の分析条件はTable 1に示した。

2.4 試験溶液の調製

試験溶液の調製は通知法に準じて行った[1,2]。

粉碎均一化した試料の5.00 gを共栓遠沈管に量り採り、95%アセトニトリル水溶液30 mLを加えパイオミキサーを用いて10,000回転で1分間ホモジナイズした後、毎分2,500回

転で5分間遠心分離し、アセトニトリル層を採取した。残留物に95%アセトニトリル水溶液30 mLを加えて激しく振り混ぜた後、上記と同様に遠心分離し、得られたアセトニトリル層を合わせた。

フロリジルカラムにこの溶液及びアセトニトリル30 mLを順次注入し、溶出液を採取した。これにn-ヘキサン100 mLを加え、振とう機を用いて3分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を採り、40 °C以下で溶媒除去した。残留物に0.2 mol/Lリン酸緩衝液 (pH 5.0) 4 mLを加えて溶解し、水6 mLを加えた。

この溶液をOasis HLB (60 mg) に注入した後、0.02 mol/Lリン酸緩衝液 (pH 5.0) 5 mLで洗浄した。70%アセトニトリル水溶液にて溶出させ、40 °C以下で溶媒除去した。残留物に35%メタノール水溶液2.0 mLを加えて溶解し、毎分13,000回転で5分間遠心分離した後、上澄を試験溶液とした。

2.5 添加回収実験

添加回収実験は各標準溶液を0.01及び0.1 µg/g (測定に供する試験溶液中の薬剂量として0.25及び2.5 ngに相当する) になるように、豚及び鶏、牛の筋肉に添加して、試行回数5回で行なった。

3. 結果及び考察

3.1 LC/MS/MS測定条件の検討

1) HPLC条件の検討

通知法[1]には、分離用カラムにオクタデシルシリル化シリカゲル (ODS) カラムを用い、移動相にリン酸緩衝液 (pH 3.0) とアセトニトリルのグラジエント溶出によるHPLCの分析条件が示されているが、確認法のLC/MS (MS) の分析条件は示されていない。そこで、通常LC/MS/MSには好ましくない不揮発性のリン酸緩衝液の代わりに、同等のpHを示す0.1%ギ酸を用いてグラジエント分析を試みた。また、分離カラムとして高純度シリカゲルを基材としたエンドキャッピング済みのODS系カラムを中心に検討した。その結果、対象医薬品を良好に分離して一斉分析することが可能であることが明らかになった。カラムによっては一部の医薬品で強いテーリングを示すものがあった。検討したカラムの中では、各医薬品のピーク形状の観点からCadenza CD-C18が最も良好であった。各医薬品の保持時間はTable 1に示した。

2) MRM分析条件の検討

Multiple Reaction Monitoring (MRM) 法は、コリジョンセルで生成したフラグメントイオンのうち特異的なプロダクトイオンのみを二段目の四重極でモニターする、タンデム質量分析計に特有の測定モードであり、選択性が高く高感度な測定が可能である。イオンソースをESIとし、各標準溶液を直接MSに導入するインフュージョン法によるイオンソースの最適化を行ない、医薬品の最大感度が得られるイオン化条件を求めた。結果はTable 1に示した。EUのガイドライン[3]で

Table 1. Operating conditions of LC/MS/MS for 34 veterinary drugs

MRM Trace : Precursor ion Product ion, DP : Declustering Potential, CE : Collision Energy

Veterinary drugs	Retention Time (min)	Target ion			Reference ion				
		<i>m/z</i>	DP	CE	<i>m/z</i>	DP	CE		
positive mode									
sulfa drugs									
sulfadiazine (SDZ)	8.8	251	156	31	19	251	92	31	37
sulfathiazole (STZ)	9.7	257	157	31	19	257	92	31	37
sulfapyridine (SPY)	10.1	250	92	36	21	250	156	36	39
sulfamerazine (SMR)	10.6	265	92	51	21	265	156	51	37
sulfadimidine (SDD)	11.6	279	156	36	23	279	92	36	43
sulfamethoxypyridazine (SMPD)	11.7	281	156	41	25	281	92	41	39
sulfamonomethoxine (SMMX)	12.4	281	156	36	41	281	92	36	21
sulfachlorpyridazine (SCPD)	12.7	285	156	31	19	285	92	31	41
sulfadoxine (SDX)	13.2	311	156	36	29	311	92	36	47
sulfamethoxazole (SMZ)	13.2	254	92	31	19	254	156	31	41
sulfabenzamide (SBA)	14.3	277	156	21	17	277	92	21	41
sulfachinoxalin (SQ)	14.5	301	156	36	19	301	92	36	36
sulfadimethoxine (SDMX)	14.5	311	156	36	30	311	92	36	47
sulfanitran (SNT)	15.9	336	156	36	17	336	93	36	43
another positive mode drugs									
olaquinox (OQ)	6.3	264	143	36	43	264	75	36	85
5-hydroxythiabendazole (TBZ-M)	9.1	218	191	31	35	218	147	31	43
clopidol (CLP)	9.1	192	87	51	41	192	101	51	33
levamisole (LEV)	9.7	205	91	46	51	205	178	46	27
5-propylsulfonyl-1H-benzimidazole-2-amine (ABZ-M)	9.8	240	133	51	39	240	198	51	21
thiabendazole (TBZ)	10.0	202	175	26	35	202	131	26	43
trimethoprim (TMP)	10.6	291	123	51	39	291	230	51	23
ormetoprim (OMP)	11.0	275	123	51	37	275	81	51	55
oxibendazole (OXBZ)	13.5	250	176	131	39	250	218	131	21
albendazole (ABZ)	15.4	266	234	106	21	266	191	106	45
flubendazole (FBZ)	15.7	314	123	126	49	314	282	126	25
β -trenbolone (β -TB)	16.6	271	165	56	85	271	107	56	63
α -trenbolone (α -TB)	16.9	271	115	51	69	271	165	51	87
negative mode drugs									
thiamphenicol (TPC)	3.0	353	184	-36	-28	353	79	-36	-44
ethopabate (ETB)	14.0	236	192	-41	-30	236	132	-41	-46
zeranol (ZER)	17.2	321	277	-61	-20	321	63	-61	-64
nicarbazin (NCZ)	18.8	301	137	-21	-22	301	106	-21	-52
diclazuril (DCZ)	20.0	405	334	-66	-18	405	299	-66	-48
novobiocin (NB)	20.4	611	205	-51	-64	611	150	-51	-88
closantel (CLS)	25.4	660	127	-96	-86	660	344	-96	-40

は、LC/MS/MSでの分析には1つのプレカーサーイオンと、これから派生する2つのプロダクトイオンの、3種のイオンの測定をもって行うことが提唱されている。そこで、各医薬品とも $[M+H]^+$ または $[M-H]^-$ をプレカーサーイオンとし、相対的に最も感度が強く得られたプロダクトイオンを定量イオンとし、次に高感度だったプロダクトイオンを参照イオンとした。この結果、選択性の高いMRM測定を行うことにより、マトリックスに由来する夾雑物質の影響を軽減することが可能になった。また、各物質とも2種のプロダクトイオンを同時にモニターすることで、より確実に目的物質を同定することができた。なお、サルファ剤についてはプロダクトイオンとして共通構造部分であるanilineに由来する m/z 92及びaniline + SO₂に帰属する m/z 156が各医薬品から感度よく観測されたため、各医薬品とも、これらの2種のプロダクトイオンを選択した。しかし、プレカーサーイオンが異なることから、測定対象医薬品間での干渉は見られず、一斉分析が可能であると判断した。分析対象とした医薬品のうちサルファ剤のスルファジメトキシ (SDMX) とスルファドキシ (SDX)、スルファメトキシピリダジン (SMPD) とスルファモノメトキシ (SMMX) は分子量が同じ構造異性体であり、また合成ホルモン剤のトレンボロン (TB) には α と β の異性体が存在するため、プレカーサーイオン、プロダクトイオンとも m/z が同じになった。しかしこれらの医薬品は

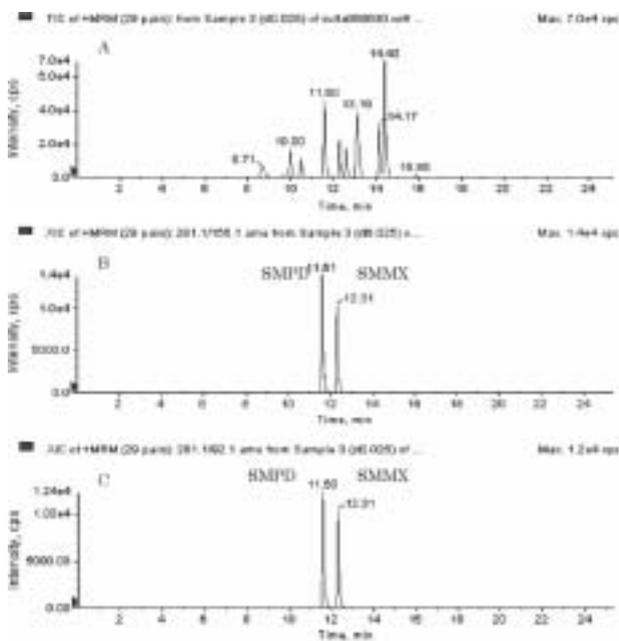


Figure 1. Typical LC/MS/MS MRM chromatograms of 13 sulfa drugs standard mixture (0.025 µg/ml)
 A : total ion chromatogram (TIC)
 B : extract ion chromatogram m/z ; 281 156
 C : extract ion chromatogram m/z ; 281 92
 SMPD : sulfamethoxypyridazine
 SMMX : sulfamonomethoxine
 LC/MS/MS conditions as given in text.

検討したHPLCの分析条件で良好に分離したため、同時分析が可能であった。一例として標準溶液 (Fig. 1) 及び添加回収実験で得られた鶏肉の試験溶液 (Fig. 2 ; 標準品添加, Fig. 3 ; 標準品無添加) のMultiple Reaction Monitoring (MRM) 分析によるクロマトグラムを示した。サルファ剤13種のTICをAに、スルファメトキシピリダジン (SMPD) とスルファモノメトキシ (SMMX) の m/z ; 281 156をB、 m/z ; 281 92をCに示した。

3.2 定量分析

対象医薬品をTable 1に示したサルファ剤、その他のポジティブイオン化医薬品、ネガティブイオン化医薬品の3グループに分け混合標準溶液を調製し、0.01~5.0 ngを注入しピーク面積による絶対検量線法で検量線を作成した。オラキンドックス (OQ)、クロサンテル (CSL)、ナイカルバジン (NCZ) は検量線の直線性が得られなかった。これらを除く各医薬品では0.01~5.0 ngの範囲で良好な直線性が得られ、定量イオンで作成した検量線の相関係数 (r^2) は0.996~1.000であった。各医薬品の注入量ごとの相対標準偏差 ($n=5$) をTable 2に示した。注入量を0.01 ngとしたときのピーク面積の相対標準偏差 ($n=5$) は10~20%となったが、注入量を0.05~5.0 ngとしたときの相対標準偏差 ($n=5$) は概ね10%以内であった。

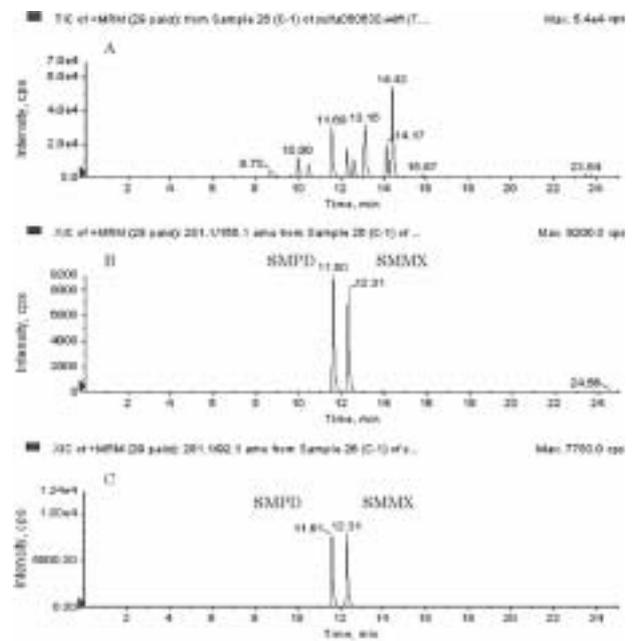


Figure 2. Typical LC/MS/MS MRM chromatograms of chicken extract fortified at 0.01 µg/g of 13 sulfa drugs
 A : total ion chromatogram (TIC)
 B : extract ion chromatogram m/z ; 281 156
 C : extract ion chromatogram m/z ; 281 92
 SMPD : sulfamethoxypyridazine
 SMMX : sulfamonomethoxine
 LC/MS/MS conditions as given in text.

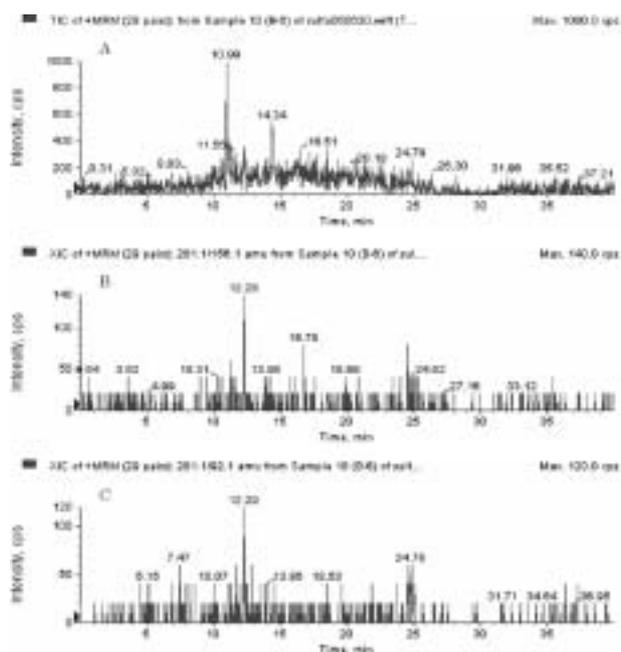


Figure 3. Typical LC/MS/MS MRM chromatograms of chicken extract

A : total ion chromatogram (TIC)

B : extract ion chromatogram m/z ; 281 156

C : extract ion chromatogram m/z ; 281 92

LC/MS/MS conditions as given in text.

3.3 確認分析

EUのガイドライン[3]では「定量イオンに対する参照イオンの強度比が一定範囲にあることで物質を同定する」としている。そこで、医薬品の濃度及びマトリックスの有無、マトリックスの違いが、強度比に影響を及ぼすかどうかについて調べた。豚、鶏、牛の筋肉での添加回収実験で得られた抽出溶液と、標準溶液として0.01 $\mu\text{g/g}$ 添加時の注入量に相当する0.25 ng及び5.0 ngを測定し、定量イオンに対する参照イオンの強度比 (R/T値) を求めた。結果はTable 3に示した。例えばスルファピリジン (SPY) では、定量イオン m/z 92、参照イオン m/z 156、R/T値は0.96~1.02 (平均0.99) で、各測定ポイントの相対標準偏差 ($n=5$) は0.8~5.5であった。

R/T値は参照イオンが測定できなかったオラキンドックス (OQ)、スルファニトラン (SNT)、オキシベンダゾール (OXBZ)を除いて、豚、鶏、牛の筋肉の間でほぼ一定の値を示した。また、それぞれの医薬品ごとの相対標準偏差はほぼ20%以内であった。これはEUのガイドラインで示されている許容範囲を十分に満足する値であった。

これらのことから、各医薬品の定量イオンに対する参照イオンの強度比は、医薬品の濃度や豚、鶏、牛のマトリックスの違いに影響されず、強度比が一定の範囲内にあることが明らかになり、本知見が物質の同定の指標となることが確認された。

4. 結論

食の安全・安心のために導入されたポジティブリスト制度を施行するに際し、畜産物中の動物用医薬品の多成分一斉分析には、LC/MS/MSによる分析が有効な手法である。そのため、MRM法による定量・同定におけるデータ解析手法について検討を試みた。

[M+H]⁺または[M-H]⁻のプレカーサーイオンから派生する2つのプロダクトイオンを選択し、定量イオン及び参照イオンとした時のイオン強度比 (R/T値) は、医薬品濃度、マトリックスの違いにかかわらず一定の範囲内にあることがわかった。このことから、R/T値が目的物質の同定の指標になることが確認でき、日常検査時への適用が期待された。

参考文献

- [1] 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：厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知、食安発第1129002号、(平成17年11月29日)
- [2] 野口昭一郎、寺田久屋、田村征男：LC/MS/MSを用いた畜産食品中の動物用医薬品の一斉分析法、第90回日本食品衛生学会学術講演会抄録、101 (2005)
- [3] European Parliament Decision 2002/657/EC, Official Journal of European Communities L 221, 8 (2002)

Table 2. Relative standard deviation (n=5) of peak area of veterinary drugs in solutions by LC/MS/MS

Veterinary drugs	Relative standard deviation(n=5)				
	Injection volume(ng)				
	0.001	0.005	0.05	0.1	0.5
sulfadiazine (SDZ)	9.9	6.3	6.7	2.2	4.3
sulfathiazole (STZ)	26.5	43.3	5.1	2.6	2.0
sulfapyridine (SPY)	15.0	5.4	5.1	3.0	7.3
sulfamerazine (SMR)	5.4	3.9	3.5	2.7	1.2
sulfadimidine (SDD)	18.1	4.7	4.9	5.3	4.4
sulfamethoxypyridazine (SMPD)	7.9	6.7	3.8	3.1	1.6
sulfamonomethoxine (SMMX)	12.0	9.1	3.9	3.0	3.1
sulfachlorpyridazine (SCPD)	11.3	5.0	3.6	3.7	3.0
sulfadoxine (SDX)	11.5	7.2	3.4	3.0	2.8
sulfamethoxazole (SMZ)	9.8	4.5	3.3	3.3	2.7
sulfabenzamide (SBA)	8.5	3.4	3.5	3.5	3.2
sulfadimethoxine (SDMX)	9.6	4.9	3.6	3.4	3.4
sulfachinoxalin (SQ)	6.8	5.5	3.4	5.1	3.8
sulfanitran (SNT)	42.5	7.5	3.7	1.8	1.8
olaquinox (OQ)	46.0	61.6	30.3	11.6	10.1
5-hydroxythiabendazole (TBZ-M)	14.9	4.8	3.7	3.0	3.4
clopidol (CLP)	13.3	3.2	2.3	3.2	3.1
levamisole (LEV)	20.6	8.2	5.9	4.2	1.8
5-propylsulfonyl-1H-benzimidazole-2-amine (ABZ-M)	7.1	5.1	3.7	3.8	3.3
thiabendazole (TBZ)	9.3	7.4	3.0	3.6	2.6
trimethoprim (TMP)	12.2	3.9	3.9	2.6	2.5
ormetoprim (OMP)	5.5	2.9	3.0	4.0	3.4
oxibendazole (OXBZ)	16.0	14.1	6.4	5.9	3.9
albendazole (ABZ)	21.6	6.6	5.5	3.9	47.5
flubendazole (FBZ)	15.0	19.2	10.0	11.5	56.7
β -trenbolone (β -TB)	9.5	16.2	5.0	6.4	52.2
α -trenbolone (α -TB)	16.3	4.8	7.1	4.9	52.4
thiamphenicol (TPC)	40.7	14.3	4.6	5.1	2.7
ethopabate (ETB)	7.8	7.2	5.7	5.7	2.7
zeranol (ZER)	11.0	8.2	5.0	3.4	3.0
nicarbazin (NCZ)	8.5	5.1	2.9	2.4	10.2
diclazuril (DCZ)	13.2	11.3	4.0	2.3	2.6
novobiocin (NB)	6.6	5.1	2.2	2.1	2.2
closantel (CLS)	17.6	8.7	5.6	4.8	4.2

Table 3. Relative intensity on LC/MS/MS of reference ion to target ion with and without matrix (Swine, Chicken, Beef) (n=5)

Veterinary drugs	Reference ion /Target ion	Relative intensity on LC/MS/MS of reference ion to target ion (n=5) *																	
		Without matrix				Matrix added												Average	
		0.25 ng		5.0 ng		Swine				Chicken				Beef					
		ratio	RSD(%)	ratio	RSD(%)	0.25 ng		2.5 ng		0.25 ng		2.5 ng		0.25 ng		2.5 ng			
SDZ	92/156	0.82	3.6	0.90	0.7	0.83	5.2	0.89	1.0	0.81	5.6	0.90	1.6	0.83	4.5	0.89	0.7	0.86	4.7
STZ	92/157	0.68	8.2	0.75	1.8	0.74	10.6	0.75	4.5	0.65	8.9	0.76	3.2	0.72	20.0	0.75	1.8	0.72	5.6
SPY	156/92	1.02	5.5	0.97	0.8	1.00	2.3	0.98	2.4	1.02	4.3	0.96	1.2	1.01	4.2	0.98	1.0	0.99	2.3
SMR	156/92	0.86	4.3	0.91	1.2	0.83	3.8	0.91	1.2	0.85	3.8	0.91	2.8	0.86	6.3	0.91	1.9	0.88	3.9
SDD	156/92	0.69	5.1	0.64	1.3	0.67	9.4	0.64	1.5	0.71	6.3	0.64	1.4	0.69	3.8	0.64	1.5	0.66	4.3
SMPD	92/156	0.84	1.5	0.82	1.5	0.85	3.0	0.82	0.8	0.87	2.9	0.82	1.2	0.89	1.6	0.83	2.4	0.84	3.0
SMMX	92/156	0.18	5.1	0.17	1.7	0.19	5.4	0.16	2.7	0.17	4.3	0.16	2.8	0.19	7.8	0.16	1.7	0.17	7.1
SCPD	92/156	0.75	1.1	0.72	1.0	0.71	5.3	0.71	1.3	0.73	4.5	0.71	1.0	0.70	5.1	0.71	1.7	0.72	2.1
SDX	92/156	0.65	2.5	0.63	1.7	0.65	1.9	0.63	1.4	0.65	3.6	0.62	0.6	0.66	3.0	0.64	1.3	0.64	2.1
SMZ	156/92	0.95	0.2	0.96	1.7	0.97	1.9	0.96	1.8	0.97	3.4	0.96	1.5	0.94	7.0	0.96	0.3	0.96	1.1
SBA	92/156	0.63	3.1	0.63	0.8	0.62	5.6	0.63	1.6	0.61	5.1	0.63	1.8	0.60	4.9	0.63	1.6	0.62	1.9
SDMX	92/156	0.44	9.8	0.28	1.5	0.44	5.3	0.28	2.7	0.43	13.2	0.29	2.5	0.42	0.5	0.28	1.7	0.36	22.4
SQ	92/156	0.90	3.0	0.87	1.6	0.87	6.1	0.87	1.6	0.90	3.7	0.86	1.1	0.87	3.2	0.87	1.7	0.87	1.6
SNT	93/156	0.43	48.3	0.65	2.8	0.36	17.5	0.65	2.9	0.68	8.1	0.69	4.0	0.76	14.7	0.68	4.0	0.61	22.6
OQ	75/143	0.46	14.0	0.29	25.6	N.D.	N.D.	0.11	36.8	N.D.	N.D.	0.38	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.31	48.3
TBZ-M	147/191	0.84	0.5	0.82	1.4	0.82	6.2	0.83	1.7	0.82	2.7	0.83	0.6	0.81	3.2	0.82	1.0	0.82	1.2
CLP	101/87	0.95	1.3	1.06	1.5	1.01	3.1	1.08	1.7	0.96	4.8	1.06	1.0	0.98	4.5	1.06	1.4	1.02	5.2
LEV	178/91	0.88	3.0	0.93	0.8	0.85	4.0	0.95	2.9	0.86	6.6	0.94	3.1	0.82	7.6	0.90	2.9	0.89	5.2
ABZ-M	198/133	0.27	8.5	0.28	1.7	0.27	2.5	0.28	1.1	0.28	1.2	0.28	1.8	0.28	2.7	0.28	1.2	0.28	2.4
TBZ	131/175	0.69	2.8	0.74	1.2	0.70	1.5	0.73	0.9	0.70	3.9	0.72	1.3	0.70	4.1	0.72	0.9	0.71	2.2
TMP	230/123	0.58	5.8	0.62	1.3	0.59	5.0	0.61	1.2	0.61	2.9	0.62	1.8	0.62	7.6	0.62	0.7	0.61	2.9
OMP	81/123	0.98	2.1	0.98	0.9	0.97	3.5	0.98	1.6	1.00	2.6	0.98	0.8	0.95	3.0	0.98	1.4	0.98	1.3
OXBZ	218/176	0.04	7.4	0.10	5.3	0.05	20.5	0.11	3.9	0.07	33.0	0.11	9.0	0.12	15.1	0.16	8.8	0.10	40.8
ABZ	234/191	0.81	4.7	0.87	13.2	0.65	10.5	0.93	5.1	0.61	9.8	0.89	3.3	0.77	20.0	0.89	5.0	0.80	14.5
FBZ	123/282	0.93	7.8	0.92	12.7	0.93	14.2	0.92	3.2	0.98	19.4	0.94	4.8	0.83	8.6	0.94	8.3	0.93	4.6
β-TB	107/165	0.42	5.9	0.41	3.4	0.42	13.3	0.41	2.6	0.43	5.2	0.41	4.4	0.44	6.3	0.41	3.5	0.42	2.5
α-TB	165/115	0.77	5.4	0.73	2.2	0.77	11.2	0.73	0.9	0.75	4.9	0.73	1.1	0.74	4.3	0.72	1.8	0.74	2.6
TPC	79/184	0.49	4.5	0.48	2.9	0.48	3.2	0.48	2.9	0.49	5.7	0.48	6.4	0.50	7.4	0.49	5.8	0.49	1.7
ETB	132/192	0.34	4.7	0.32	0.8	0.32	3.9	0.31	0.8	0.32	3.3	0.32	0.5	0.33	5.5	0.31	2.6	0.32	3.3
ZER	63/277	0.39	2.2	0.38	1.1	0.38	6.1	0.37	2.2	0.37	3.9	0.38	2.2	0.37	2.3	0.37	2.4	0.37	2.2
NCZ	106/137	0.12	2.9	0.11	2.2	0.12	2.8	0.11	1.1	0.11	1.3	0.11	1.1	0.11	1.9	0.11	1.3	0.11	1.0
DCZ	299/334	0.05	6.4	0.04	0.6	0.05	19.7	0.04	2.8	0.04	17.1	0.04	4.7	0.04	9.1	0.04	3.4	0.04	5.2
NB	150/205	0.37	1.2	0.39	0.7	0.38	3.7	0.39	1.8	0.38	2.1	0.38	2.8	0.39	3.1	0.38	2.8	0.38	1.5
CLS	344/127	0.13	1.9	0.13	2.6	0.12	5.6	0.13	1.4	0.13	2.8	0.13	4.8	0.13	6.4	0.13	2.7	0.13	2.6

*N.D. : Not detectable