

平成 28 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進事業）

検査機関の信頼性確保に関する研究

研究分担報告書

残留分析の測定値に与える食品成分の影響に関する研究

研究代表者 渡辺卓穂 一般財団法人食品薬品安全センター 食品衛生事業部 部長

研究分担者 梶村計志 大阪府立公衆衛生研究所 食品化学課 課長

研究要旨

食品中に残留する農薬や動物用医薬品の分析において、試験液中の共存成分（マトリックス）により分析値が過小あるいは過大評価される場合があり、これらは「マトリックス効果」と呼ばれている。マトリックス効果は、分析値の信頼性に大きな影響を及ぼすため、制御方法の確立は重要である。本研究は、マトリックスが機器分析に与える影響に焦点をあて、マトリックス効果を引き起こす要因の解明及び制御法を検証する。平成 28 年度は、LC-MS/MS を用いた、動物用医薬品の残留分析時におけるマトリックス効果について近畿地区 6 地研と協力して、基礎的知見の収集を試みた。

事前検討として畜水産食品の分析時に観察されるマトリックス効果について検討した。食品試料として鶏卵、牛乳、魚介類（ブリ、サケ、カレイ、エビ）を、分析対象物質としてサルファ剤 17 種、葉酸拮抗剤 3 種、キノロン剤 10 種を選択した。大阪府の検査標準作業書に基づきマトリックス標準溶液を調製して検量線を作成し、傾きを溶媒検量線と比較したところ、サルファ剤、葉酸拮抗剤ではイオン化抑制を、キノロン剤ではイオン化促進を確認した。この傾向は、魚介類以外では試料中の成分が凍結や加工によって異なっても同じであり、動物用医薬品の分析時におけるマトリックス効果の程度は食品の種類よりも医薬品の種類に依存することが推察された。

次に近畿地区 6 地研の協力により、大阪府で鶏卵及び牛乳から調製した共通マトリックス溶液と、共通マトリックス溶液の調製に供したものと同一の食品より各機関の検査標準作業書に基づいて調製した独自マトリックス溶液でそれぞれ検量線を作製した。その傾きを溶媒検量線と比較し、分析条件や前処理条件の違いが検量線の傾きに及ぼす影響を機関横断的に評価した。共通マトリックス溶液を用いた分析では機関毎にイオン化抑制、イオン化促進、影響僅少と様々なマトリックス効果が観察された。すなわち、動物用医薬品分析時のマトリックス効果は分析条件に依存することが示唆された。また、独自マトリックス溶液の分析結果ではマトリックス効果が減少した機関と増大した機関が見られた。減少の要因としては脱水剤の追加、増大の要因としては最終液中の食品試料濃度の高さが考えられ、畜水産食品中の動物用医薬品分析において、マトリックス効果を低減するためには、前処理過程で水溶性の妨害物質を排除すること、抽出液の食品試料濃度を下げることが有用であると示唆された。

研究協力者	
伴埜行則	京都市衛生環境研究所
上田一穂	京都市衛生環境研究所
高尾恭平	京都市衛生環境研究所
大久保祥嗣	神戸市環境保健研究所
中島 涼	神戸市環境保健研究所
吉野共広	神戸市環境保健研究所
先山孝則	大阪市立環境科学研究所
上村聖子	大阪市立環境科学研究所
浅川大地	大阪市立環境科学研究所
山下浩一	奈良県保健研究センター
西山隆之	奈良県保健研究センター
田畑佳世	堺市衛生研究所
山本直美	堺市衛生研究所
高井靖智	和歌山県環境衛生研究センター
樋下勝彦	和歌山県環境衛生研究センター
永吉晴奈	大阪府立公衆衛生研究所
柿本健作	大阪府立公衆衛生研究所
小西良昌	大阪府立公衆衛生研究所
内田耕太郎	大阪府立公衆衛生研究所
山口瑞香	大阪府立公衆衛生研究所
吉田優子	大阪府立公衆衛生研究所

A. 研究目的

食品中に残留する農薬及び動物用医薬品等の分析では、試験液中の共存成分（マトリックス）が測定に大きく関与し、分析結果の信頼性に大きな影響を及ぼす。本研究では、食品成分等のマトリックスが残留分析の測定に与える影響に焦点を当て、原因の解明及び制御法を検証する。

食品成分が機器分析の測定値に影響を及ぼす現象は、一斉分析法の普及と関連して

いる。一斉分析法では、多様な物性を持つ化合物を同時に分析するため、的を絞った精製が困難であり、単一成分の分析法に比べて試験液の精製度は低くなる。このため、試験液中には多くのマトリックスが残存し、分析値への影響が大きくなると考えられる。一般にこのような現象は「マトリックス効果」と呼ばれており、質量分析計を用いた測定で顕著に観察される。

タンデム型を含むガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS(/MS)）では、GC注入口における試験液の気化やキャピラリーカラムへの導入の際にマトリックスによる影響を受けると考えられている。マトリックスが共存することにより、注入口における測定対象物質の吸着や熱分解が抑制され、シャープで良好なピーク形状となり、検出感度が上がる場合が多い。一方、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計（LC-MS/MS）では、測定対象物質がイオン化する際にマトリックスが共存した場合、測定対象物質のイオン化が抑制または促進され、過小あるいは過大な定量値を示すと考えられる。本研究では、協力機関との連携の下、マトリックス効果の主要な発現機構が基本的に異なる GC-MS(/MS)と LC-MS/MS についてマトリックス効果の特徴把握、原因の解明及び対策等の検討を実施し、より普遍的で効果的なマトリックス効果の制御法を検討する。また、得られた知見を協力機関と共有し、分析精度の向上に役立てることを目指す。

本研究では、平成 26 年度、平成 27 年度に、GC-MS(/MS)を用いた農産物中の残留農薬分析時のマトリックス効果について検証してきた。平成 28 年度は、LC-MS/MS を用

いた、畜水産食品中の残留動物用医薬品分析時のマトリックス効果に焦点を当てる。

GC-MS(/MS)で観察されるマトリックス効果及びそのメカニズムに関しては相応の知見が得られているのに対し、LC-MS/MS分析に関しては比較的知見が少ない。一般的にLC-MS/MS分析では試料が質量分析計に導入される際の気化・イオン化の段階において、目的物質と共存する妨害物質の影響でイオン化が抑制されるイオンサプレッションが生じると考えられている一方、GC-MS(/MS)に観察されるようなイオン化促進(イオンエンハンスメント)も見られる。LC-MS/MSのイオン化部は、液体を気化した上でイオン化しMS/MS部に導入するプロセスが必要なため、機器メーカーによって取り込み機構が異なる。そのため、妨害物質から受ける影響が一様でないことがマトリックス効果を複雑化する原因の一つだと考えられている。また、試料由来の要因としては、生体由来物質であるりん脂質が一因とされており、最近、りん脂質除去に着目した精製法が試薬メーカーより提案されている。

LC-MS/MSによる分析でマトリックス効果を回避する方法としては、前処理の工夫で妨害物質を除去すること、LC部において移動相やグラジエント条件を工夫し妨害物質との共溶出を防ぐこと、試験液を希釈することで共溶出する妨害物質の絶対量を減らすこと、内部標準物質を用いた相対検量線法によって定量することなどが考えられるが、ポジティブリスト制度の導入により多種類の医薬品を同時に、そして迅速に測定することが求められる現状において必ずしも効果的とはいえない。そのため分析対象物質を含有しない陰性試料を用いて検査と

併行して試験液を調製し、この試験液(マトリックス溶液)で作成したマトリックス検量線を用いて定量することでマトリックス効果を相殺することも多い。

上記のようにLC-MS/MS分析時におけるマトリックス効果の回避策は多岐にわたる。残留動物用医薬品の検査を行う地方衛生研究所ではこれらの回避策を柔軟に組み合わせながら信頼性の高い分析を実施している。しかし、それぞれの機関の対応策や得られた知見を共有化する試み、更には機関横断的な検討の例はほとんど見当たらない。そこで本研究では、近畿地区7地方衛生研究所で同一の前処理法で抽出した共通のマトリックス抽出液や同一の食品試料から機関独自に前処理したマトリックス標準溶液を用いて共通の動物用医薬品を測定し、各地研で観察されるマトリックス効果を把握することで、地研間の情報の共有化や有用なマトリックス効果低減策の構築に向けた基礎的知見の収集を試みた。

B. 研究方法

1. 実施機関

大阪府立公衆衛生研究所(以下、大阪府と略)は、食品試料や共通マトリックス溶液の調製及び配布試料の送付、分析結果の解析、協力機関との連絡調整、報告書の作成及び研究遂行に係る事務を行った。また研究に先立ち、事前検討を実施した。

2. 協力機関

京都市衛生環境研究所、神戸市環境保健研究所、大阪市立環境科学研究所、奈良県保健研究センター、堺市衛生研究所及び和歌山県環境衛生研究センターは、協力機関

として研究に参画した。

3. 実施日程

協力機関に今年度の試験内容及び事前検討の結果説明を行うため、班会議を平成 28 年 8 月 10 日に実施機関で開催した。共同試験に関わる試料、標準品及び実施要領を 8 月 31 日に宅配便（冷凍）で送付した。協力機関は測定を実施するまでの間、試料等を -20℃ 以下で保管した。分析結果等の提出期限は 9 月 30 日とした。

4. 事前検討

4.1. 試料・試薬

4.1.1. 食品試料

実施機関における事前検討には牛乳（無脂肪乳、特濃乳、一般的な牛乳）、鶏卵、ブリ、サケ、カレイ、エビを用いた。いずれも大阪府内の流通品を購入し、フードプロセッサ等を用いて細切混合後、分析対象の合成抗菌剤が残留しないことを確認した。

4.1.2. 標準品・試薬

標準品は林純薬製 PL 動物薬 LC/MS Mix 1（サルファ剤 + 葉酸拮抗剤）と PL 動物薬 LC/MS Mix 2（キノロン剤）、各成分 20 µg/mL（アセトニトリル溶液）を用いた。試薬はいずれも LC/MS 分析用相当グレードのものを使用した。それぞれの標準混合溶液に含まれる動物用医薬品の一覧及び大阪府の分析条件下で良好に分析できた薬剤については、その溶出時間を表 1 に示した。

4.2. 実施機関による事前検討

4.2.1 事前検討 1

共同研究に先立ち、事前検討を行った。まず、大阪府の検査条件におけるマトリッ

クス効果の傾向を把握するため、大阪府の標準作業書の前処理法に従って処理した鶏卵及び一般的な牛乳のマトリックス溶液と 10%メタノール水溶液を用いて、同じ濃度範囲の希釈系列を各々作製し、LC-MS/MS で測定、検量線の傾きを比較した。以後、マトリックス溶液を用いて調整した希釈系列をマトリックス標準溶液、10%メタノール水溶液を用いて調整した希釈系列を溶媒標準溶液とする。

マトリックス溶液の調製フローを図 1 に示した。すなわち、2.0 g の食品試料をポリプロピレン製（PP 製）試験管に秤取し、8 mL のヘキサン飽和アセトニトリル、2%ギ酸含有ヘキサン飽和アセトニトリルで 2 回に分けて抽出した。新しい PP 製試験管に上清を合わせ、ヘキサン飽和アセトニトリルで 20 mL に定容した。その後、ヘキサン 10 mL を積層し、攪拌後遠心分離した。アセトニトリル層（抽出液）を 500 µL 採取し、ジメチルスルホキシド 25 µL を加え、遠心濃縮したものをマトリックス溶液とした。マトリックス溶液を用いて、最終標準品濃度が 1、5、10、20 ppb となるよう標準溶液を添加し、10%メタノール溶液で 500 µL に調製したものをマトリックス標準溶液とした。なお、最終液中の食品試料濃度は 0.1 g/mL であった。鶏卵に関しては、別にアセトニトリル層を 2.5 mL 採取し、最終的に 500 µL に調製した最終食品試料濃度 0.5 g/mL のマトリックス標準溶液も作製した。

測定に際しては、表 2 に示すように、最終濃度 1、5、10、20 ppb となるように調製したマトリックス標準溶液を各 5 µL 注入した場合（以後、注入量一定）と、牛乳のみ最終濃度 20 ppb のマトリックス標準溶液

を用いて LC-MS/MS への注入量を変化させて濃度勾配を作ると同時に機器へのマトリックスの負荷絶対量を変化させた場合（以後、注入濃度一定）を実施し、得られた 2 種類の検量線について、マトリックス量が検量線の傾きに与える影響を観察した。

以後すべての検討において、マトリックス標準溶液の測定と同時に用時調製した溶媒標準溶液の測定も行った。

4.2.2 事前検討 2

食品中の成分組成の違いがマトリックス検量線に与える影響を評価した。食品成分組成の異なる魚介類として、ブリ、サケ、カレイ、エビを選択した。また乳脂肪分の異なる乳として無脂肪乳（乳脂肪分 0.1%）と特濃乳（乳脂肪分 4.2%）を選択した。

魚介 4 種類について、4.2.1 の方法でマトリックス標準溶液を作製し、検量線を作成した。乳 2 種類も同様に検量線を作成した。魚介類については、サルファ剤、キノロン剤、葉酸拮抗剤を、乳はサルファ剤と葉酸拮抗剤を分析した。また、乳に限り注入量一定と注入濃度一定の測定を実施した。

4.2.3 事前検討 3

共同試験に使用する試料の調製法を検討した。また、事前に実施したアンケートの結果から、実施機関及び全ての協力機関において検査が実施されているサルファ剤を測定対象物質とした。共同試験における共通食品試料としては均一な検体の調製が容易な牛乳と鶏卵を選択した。

冷凍での配送が必要なため、試料の凍結融解が検量線の傾きへ及ぼす影響を評価した。4.2.1 で使用した鶏卵と市販の牛乳を

使用し、未凍結の状態で 4.2.1. と同様に前処理したもの、2.0 g を PP 製試験管に秤取した後、一晚-20 で凍結させた試料を、融解させた後に前処理したもの、複数回凍結融解を繰り返した後に前処理したものの 3 種類でマトリックス標準溶液を作製し、検量線の傾きを比較した。

さらに、マトリックス溶液を冷凍保存した際の安定性を確認した。4.2.1. で示した方法でマトリックス溶液を調製し、PP 製試験管で冷凍保存した（-20 ）。調製直後、1 週間後、2 週間後、4 週間後にマトリックス標準溶液を調製し、検量線を作成して傾きを比較した。なお、それぞれの再測定時には、凍結保存マトリックス溶液に加え未凍結の同一食品試料から再調製したマトリックス標準溶液も並行して測定し凍結マトリックス溶液と比較した。

5. 共同試験

5.1. 共同試験概要

共同試験は以下の 2 種類を実施した。

- 1) 実施機関で前処理したマトリックス溶液（共通マトリックス溶液）を用いて検量線を作成し溶媒検量線と傾きを比較した。
- 2) 同一食品検体を、協力機関の合成抗菌剤検査標準作業書に沿って前処理したマトリックス溶液（独自マトリックス溶液）を用いて検量線を作成し溶媒検量線、1) で得られた検量線と傾きを比較した。
 - 1) の試験では、同一組成で構成されているマトリックス溶液を異なる分析機器条件で測定することで、機器や分析条件（LC グラジエント条件や MS/MS のパラメーター）の違いがマトリックス効果に及ぼす影響に

ついて調査した。また、2)の試験では同一検体から異なる方法で得たマトリックス溶液に由来するマトリックス効果について評価し、前処理法の違いがもたらす影響の観察を狙いとした。共通のマトリックス溶液を用いて異なる実験室、異なる分析条件でマトリックス効果を評価した例はほとんど見当たらず、新たな知見が得られることが期待された。食品試料としては、ロット管理された食品試料で均一化が容易なこと、事前のアンケート結果から、ほとんどの協力機関においていずれかは検査を実施していることを理由に鶏卵と牛乳を選択した。分析対象とする動物用医薬品は実施機関及び全ての協力機関で検査を実施している（標準作業書が作成されている）サルファ剤を選択した。

5.2. 試料・試薬

5.2.1. 食品試料

鶏卵及び牛乳（一般的な牛乳）は大阪府内の市販品を購入した。鶏卵についてはブレンダーで攪拌混合後、牛乳についてはそのまま、50 mL 容の PP 製試験管に分注した。いずれの食品試料も使用まで -20 で凍結保存した。

5.2.2. 標準品・試薬

同一ロットの林純薬製 PL 動物薬 LC/MS Mix 1 を調達し、食品試料と同時に 2 本ずつ配布した。その他試薬等については協力機関で通常の検査時に使用しているものを使用した。

5.2.3. 実施機関による共通マトリックス溶液の調製

4.2.1. で示した方法に従い、牛乳と鶏卵からマトリックス溶液を調製した。その後、PP 製 15 mL 試験管に 150 μ L のマトリックス溶液を分注し、凍結後送付した。

実施機関及び協力機関において、標準品を常温に戻したのち 50%メタノール水溶液を用いて検査で使用する検量線範囲等に応じて濃度を 4 点以上設定し、最終測定濃度の 10 倍の濃度になるよう希釈系列を作製した（溶液イ）。また、送付したマトリックス溶液を常温に戻し、10%メタノール水溶液を 2550 μ L 加えて溶液口を調整した。そして、溶液イを溶液口で 10 倍希釈し、試料濃度 0.1 g/mL のマトリックス標準溶液を調製し、検量線を作成した。以上の調製は可能な限り PP 製の容器で行い、測定まで一日に行うよう依頼した。分析対象のサルファ剤は、配布した標準品に含まれる薬剤のうち、良好な選択性をもって測定できるもののみを測定することとした。実施機関は協力機関に 17 種類の代表的な MRM 条件（表 3）を例示したが、表 3 以外の条件も可とした。また、4.2.2. と同様に分析の際には、注入量一定と注入濃度一定の 2 パターンの測定を実施した。その後、結果を実施機関が送付したワークシート（図 2、3）に記入し返送した。

なお、実施機関及び協力機関は分析の実施まで標準品及びマトリックス溶液を冷凍保管した。分析は試料到着後 1 ヶ月以内に実施することとした。

5.2.4. 協力機関による独自マトリックス溶液の調製

協力機関 A、B、C には牛乳を、協力機関 D、E、F には鶏卵を送付した。試料は各協

力機関で通常サルファ剤の検査に運用されている検査標準作業書の前処理法に従って処理した。なお、牛乳や鶏卵を検査対象食品としていない場合は他の畜水産食品のサルファ剤の残留検査に用いる標準作業書に従って調製することとした。このとき、マトリックス標準溶液を作製するために、通常の最終液量の 0.9 倍の容量に調製し、5.2.3.と同様に溶液イと 1:9 の割合で混合して独自マトリックス標準溶液を作製した。その後、5.2.3.と同じ条件で分析し、結果を実施機関が送付したワークシートに記入し返送した。以上の調製から分析は可能な限り 5.2.3.も含めて同一日に実施するよう依頼した。各機関の独自マトリックス溶液調製フローを図 4~9 に示した。

さらに、協力機関には、可能であれば分析時間中のスキャンデータの取得を依頼した。

6. 機器条件

6.1. 実施機関の分析機器条件

大阪府の分析機器条件を以下に示す。

使用機器：LC 部；Acquity UPLC I-Class (Waters 製)、MS 部；Xevo TQ-S (Waters 製) (LC 条件)

使用カラム：CORTECS C18 (粒子径 1.6 μm、内径 2.1 mm、カラム長 10 cm、Waters)

移動相：A 液；0.1% ぎ酸水溶液、B 液；0.1% ぎ酸含有メタノール溶液

グラジエント条件：B 液% 10%(0 min)→10%(5 min) 74%(17 min) 90%(20 min)→99%(25 min)；総分析時間 27 分

流速：0.2 mL/min

カラム温度：50

注入量：表 2 参照

(MS 条件)

イオン化方式：エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法

MRM 条件：表 3 参照

イオン源温度：150

脱溶媒温度：400

6.2. 協力機関の分析機器条件

すべての協力機関において使用機器は LC-MS/MS、イオン化法は ESI 法 (ポジティブ) であった。大阪府も含めた各機関の分析機器の条件を表 4 に抜粋した。

7. 結果の評価

事前検討及び共同試験において得られた検量線データは表計算ソフト上でその傾き値を算出した。マトリックス効果は溶媒標準溶液による検量線の傾き値を 100%とした際のマトリックス検量線の傾きのパーセント比 (傾き比) を用いて評価した。

C. D. 研究結果及び考察

1. 実施機関による事前検討

1.1. 事前検討 1

鶏卵マトリックス溶液を用いて最終食品試料濃度を 0.1 g/mL 又は 0.5 g/mL とした場合の検量線の傾き比を図 10 に示した。それぞれ同一の抽出液から調製し、溶媒標準溶液で得られた検量線の傾きを 100%としたときのパーセント比 (傾き比) を算出した。図に示した動物用医薬品は左から溶出時間順に並べたものである。全体的な傾向としてサルファ剤と葉酸拮抗剤でイオン化抑制を確認した。さらに、食品試料濃度が 0.1 g/mL と比較すると 0.5 g/mL のほうがより大きなマトリックス効果を受けており、鶏

卵分析時に観察されるマトリックス効果は食品抽出物由来であることが示唆された。

次に、牛乳マトリックス溶液を測定した際の検量線の傾き比を図 11 に示した。牛乳の場合にはサルファ剤と葉酸拮抗剤に加えてキノロン剤についても傾き比を算出した。また、マトリックス効果を強く受けたスルファジアジン（溶出時間 3.16 分）、スルファジミジン（溶出時間 8.33 分）と受けなかったスルファメトキサゾール（溶出時間 9.17 分）の散布図を図 12 に示した。鶏卵の場合と同じく、牛乳でもサルファ剤分析時にはイオン化抑制効果が確認された。一方、キノロン剤に関しては、イオン化促進効果を観察した。また、牛乳に関しては注入量一定と注入濃度一定の 2 つの検量線を作成した。どちらの場合も観察されるマトリックス効果は同じで、傾き比にも大きな変化は見られなかった。しかし、図 12 を見ると散布図ではスルファジアジンにおいて注入濃度一定の低濃度領域で注入量一定より溶媒標準に近づく傾向が見られた。すなわち、牛乳においても鶏卵と同様にマトリックス負荷量の減少がマトリックス効果の改善につながる可能性がある。

マトリックス効果を受けやすい時間帯として、溶出時間 3~5 分と 8 分あたりが抽出された。大阪府の分析条件では、3~5 分における移動相の有機溶媒濃度は 10%、8 分では 25%強と比較的高極性の物質が溶出する時間帯であった。近年、動物用医薬品分析時のマトリックス成分として疑われているりん脂質は、極性の基質であるりん酸基を含む脂質であり、脂肪酸とアルコールからなる単純脂質より極性が高い。そのため、この時間帯のマトリックス効果の原因物質

としてりん脂質の影響が疑われる。りん脂質は血漿などの臨床試料を分析する際のマトリックス効果の原因とされており、その除去ツールが各社より販売されている。これらのツールを利用することで効果的なマトリックス効果低減策となる可能性がある。一方、この時間帯以外では傾き比が 90%を超える物質も見られ、これらの物質に限れば溶媒検量線による定量が十分可能であると推察された。

1.2. 事前検討 2

1.2.1. 組成の異なる魚介類のマトリックス効果への影響

マトリックス検量線を用いて検査を実施する場合、マトリックス溶液にはできる限り検体となる食品と成分組成の類似する食品を用いる必要がある。しかし、実際の検査の現場においては、明らかに成分組成の異なる食品を同時に検査することがしばしばある。その際、ある 1 種類の食品由来のマトリックス検量線の異なる組成の食品への適用可否を検討することは重要である。そこで、複数種の魚介類によるマトリックス効果の違いを評価した。

ブリ、サケ、カレイ、エビの検量線の傾き比を図 13 に示した。概ね牛乳の場合と同様に、サルファ剤でイオン化抑制効果を、キノロン剤でイオン化促進効果を認めた。一方で、魚種によるマトリックス効果の程度は医薬品の種類によって大きく異なった。図 14 に示すように、スルファジアジン等のサルファ剤については、4 種類の魚介類で同程度の抑制を受けており、異なる魚種で作成したマトリックス検量線でも十分定量可能であると判断できる。一方、キノロン

剤では、魚種により効果が大きく異なり、特にダノフロキサシン（溶出時間 9.37 分）では溶媒標準を中心に上下に散布図が分布した。すなわち、キノロン剤の検査では異なる魚種で作成したマトリックス検量線による定量は、真値を過小もしくは過大に見積もる可能性があるため、可能な限り同じ魚種で作成したマトリックス検量線を用いるべきであろう。

1.2.2. 組成の異なる乳のマトリックス効果への影響

乳は一般的な牛乳であれば多少の差はあれ、食品成分組成はほぼ同一であると考えられる。一方、無脂肪乳や加工乳など成分の調製を行って商品化されているものが多種存在する。加工を施された乳は成分組成が異なることが想定されるため、今回、乳脂肪分を除去した無脂肪乳と脂肪分を上乗せした特濃乳を用いて検量線の傾き比を比較した。図 15 に示すように、1.1.と同様、3~5 分と 8~9 分にマトリックス効果を比較的強く受ける時間帯が存在した。また、3~5 分では乳の種類による差はほとんど見られなかったのに対し、溶出時間 8~9 分においては無脂肪乳より特濃乳のほうがより強くマトリックス効果を受けた。この結果より溶出時間 8~9 分のマトリックス効果には、試料に含まれる脂質量が影響していることが示唆された。図 16 に、注入濃度一定で分析したスルファジアジン（溶出時間 3.16 分）スルファジミジン（溶出時間 8.33 分）及びスルファメトキサゾール（溶出時間 9.17 分）の散布図を示した。この場合、高濃度になるほど分析時のマトリックス負荷量が増大することになるが、スルファジ

アジンよりも後に溶出するスルファジミジンとスルファメトキサゾールにマトリックス負荷量増大に伴って線分の傾きが緩やかになる傾向を認めた。すなわち、この時間帯に溶出する動物用医薬品には、共溶出する脂質が影響することが推測される。しかし、マトリックス効果の差は 1.2.1.で示した魚介類の場合に比べるとわずかであり、脂質量の異なる乳で作成したマトリックス検量線による定量結果への影響は無視できるだろう。

これまで鶏卵・牛乳・魚介類と種類の異なる食品試料から作成したマトリックス検量線の傾きを評価してきたが、サルファ剤に関してはいずれもイオン化抑制の傾向が観察された。反して、キノロン剤では、魚介類でイオン化促進効果が認められ、データは示さないが他の食品試料についてもキノロン剤はイオン化促進効果を受けることを経験しており、動物用医薬品分析時のマトリックス効果は食品よりも、医薬品の種類に依存することが推察された。

1.3. 事前検討 3

1.3.1. 凍結保存によるマトリックス効果への影響

畜水産食品のようなたんぱく質や脂質の含量が多い食品を凍結融解すると、たんぱく質の変性等により外見が変化していることがある。そこで凍結融解による外見上の変化がマトリックス標準溶液の検量線の傾きへ及ぼす影響を評価した。

同一検体から 2.0 g を秤量し、一方は秤量直後に、もう一方は一晩-20 で保存後に完全に融解して、マトリックス標準溶液を調製した。さらに、複数回凍結融解を繰

り返した食品も使用してマトリックス検量線を作成した。図 17 と図 18 に鶏卵と牛乳の検量線傾き比を示した。いずれも凍結による顕著な影響は見られず、サルファ剤分析においては試料の凍結は検量線に影響しないと考えられた。本項の結果より、鶏卵及び牛乳の検査時には事前に陰性を確認し、凍結保存した試料でマトリックス検量線を作成できることが確認された。

1.3.2. 共通マトリックスの調製と安定性

共同試験において、実施機関による試料の送付から測定結果の返送までを 1 ヶ月以内と設定した。この期間内において共通マトリックス溶液が冷凍保存で品質を保持できるか確認した。

調製直後、1 週間保存後、2 週間保存後、4 週間保存後の鶏卵マトリックス標準溶液（保存マトリックス）及び測定時に再度凍結していない鶏卵試料から調製したマトリックス標準溶液（再調製マトリックス）を分析し、検量線の傾きを算出した。表 5 に再調製マトリックス標準溶液の傾きに対する保存マトリックス標準溶液の傾き比を示した。なお、結果は鶏卵の注入量一定分析のものを示した。いずれの保存期間においても観察されたマトリックス効果は同程度であった。この傾向は鶏卵の注入濃度一定および牛乳の注入量一定と注入濃度一定、いずれの場合も同様であった。従って 1 ヶ月間マトリックス溶液を冷凍保存しても問題がないと結論付けた。

1.4. まとめ

様々な条件で調製したマトリックス標準溶液を用いて検量線を作成し、その傾きを

比較した。本項において確認した知見を以下に列記する。

- 1) マトリックス効果の程度は最終溶液中の食品試料濃度に依存した。
- 2) 妨害物質と共溶出すると想定される時間帯においてより強くマトリックス効果を受けた。また、その時間帯は比較的極性の高い薬剤が溶出する時間帯であった。
- 3) 鶏卵や牛乳では、試料由来成分の違いや凍結融解によるマトリックス効果への影響は小さいが、魚介類中のキノロン剤では医薬品によってマトリックス効果が大きく変動したため、異なる魚種を一種類の代表的なマトリックス検量線で定量することには問題がある。
- 4) サルファ剤や葉酸拮抗剤はイオン化抑制をキノロン剤はイオン化促進を受ける。この影響は試料の種類に依存せず動物用医薬品の種類によると考えられる。
- 5) 実施機関の分析前処理フローで得たマトリックス調製液は少なくとも 1 ヶ月間凍結環境下（-20℃）の保存で安定であった。

2. 共同試験結果

2.1. 協力機関における分析条件

2.1.1. LC-MS/MS 分析条件

表 4 に実施機関及び協力機関の LC-MS/MS 分析条件を示した。全 7 機関の使用機種は異なっていた。イオン化法は全ての機関がエレクトロスプレーイオン化法を用い、Multiple reaction monitoring 法 (positive) で測定した。分析カラムは大阪府を含む 6 機関が ODS カラムを使用し、機関 F のみ資生堂社の CAPCELL CORE ADME を使用した。

移動相は全ての機関でギ酸含有水溶液を水相として使用し、有機相はギ酸含有メタノール 3 機関、アセトニトリル 2 機関、ギ酸含有アセトニトリル 2 機関であった。流速、測定時間についても機関で大きな違いは見られなかった。

2.1.2. 独自マトリックス調製法

図 4~9 に協力機関の独自マトリックス調製法を示した。機関 D は厚生労働省の「HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 I (畜水産物)」を、機関 E は厚生労働省の「スルファキノキサリン、スルファジアジン、スルファジミジン、スルファジメトキシシン、スルファメトキサゾール、スルファメトキシピリダジン、スルファメラジン、スルファモノメトキシシン及びスルフィソゾール試験法 (畜水産物)」を用いた。その他の機関は機関独自に開発した前処理法を使用した。独自法では抽出過程においてアセトニトリルもしくはアセトニトリル/メタノール混液を使用し、続いてヘキサシンによる脱脂を実施していた。固相抽出による精製は独自試験法を用いた 4 機関中 3 機関で実施していた。

全ての協力機関において共通して分析可能であったサルファ剤は表 6 に示したように、スルファピリジン、スルファメラジン、スルファジミジン、スルファモノメトキシシン、スルファメトキシピリダジン、スルファクロロピリダジン、スルファメトキサゾール、スルファジメトキシシン、スルファキノキサリンの 9 種類であった。各協力機関の分析シーケンスを表 7~12 に示した。

2.2. 分析結果

2.2.1. 共通マトリックスの傾き比

表 13 及び表 14 に共通マトリックスを用いて調製したマトリックス検量線と溶媒検量線の傾きの比率を示した。同じマトリックス抽出液を測定しているにもかかわらず、イオン化抑制を示した機関 (機関 B、E) とイオン化促進を示した機関 (機関 A、C) が存在した。また機関 D、F では溶媒検量線との乖離は少なかった。

次に注入量一定と注入濃度一定の二種類の検量線を比較すると、鶏卵では大阪府と機関 A、B に注入量一定の場合、マトリックス効果の改善傾向が認められた。一方、機関 C では注入濃度一定のほうがマトリックス効果に改善傾向が認められた。牛乳に関しては機関 C で注入濃度一定の場合にマトリックス効果の改善傾向が見られたほかは目立った変化はなかった。

注入量一定の場合と注入濃度一定の場合で回帰直線の決定係数 (R^2 値) を比較した (表 15、表 16)。全ての分析で R^2 値は良好な結果を示したが、注入濃度一定と注入量一定の場合を比較すると、鶏卵では大阪府と機関 B、E、F で注入量一定の場合に検量線の直線性に改善傾向が見られ、機関 C で注入濃度一定の場合により良好な R^2 値を示した。機関 C では注入濃度を一定にすることでマトリックス効果が減少し、結果として直線性も改善したと推察した。牛乳に関しては、大阪府と機関 D、E、F に注入量一定の場合、マトリックス効果の減少が認められた。

また、マトリックス効果を大きく受ける時間帯は共通して分析できた 9 種類のサルファ剤には認められなかったが、機関 B が報告したスルファグアニジン (溶出時間

1.35 分)は強いイオン化抑制効果を受け、溶媒検量線と比較して鶏卵で 19%、牛乳では 32%の傾き比であった(データは示さない)。その他、極性の高い条件で速やかに溶出するサルファ剤に関してもスルファグアニジンと同様の傾向を認め、マトリックス溶液に混在する水溶性の妨害物質が強く影響することが推察された。さらに、共通マトリックス溶液の分析において、イオン化抑制とイオン化促進両方の効果が認められたことから、今回の実験条件では、マトリックス効果の受け方は動物用医薬品の種類ではなく、分析条件(機器の種類、グラジエント条件など)により強く依存することが考えられた。

2.2.2. 独自マトリックスの傾き比

表 17 及び表 18 に協力機関で独自に調製したマトリックス標準溶液の溶媒検量線に対する傾き比を示した。また、図 19 で同一食品由来の共通マトリックス溶液と独自マトリックス溶液の検量線の傾き比を比較した。なお、機関 A、B、C は牛乳を、機関 D、E、F では鶏卵を分析した。さらに、機関 A 及び C において強くマトリックス効果を受けた物質の散布図を図 20 に示した。

共通マトリックスの分析時にイオン化促進効果を受けていた機関 A 及び機関 C については、より強いイオン化促進効果を受けた。これら二つの機関では、共通マトリックスよりも濃い食品試料濃度(ともに 1 g/mL)の溶液を使用していた。その結果、分析時のマトリックス負荷量が増大し、より強くマトリックス効果を受けたものと推察された。また、共通マトリックスにおいて良好な結果を示した D 及び F については、

同じく良好な結果を示した。これら 2 機関では、分析機器の条件やグラジエント条件が妨害物質の影響を十分排除できるものであったと推察された。

一方比較的強いイオン化抑制効果を受けていた機関 B 及び機関 E では検量線の傾き比が大幅に改善した。良好な結果を示した機関の前処理条件では抽出時における脱水剤の添加が共通していた。図 21 に機関 B の共通マトリックス及び独自マトリックス分析時のスキャンデータを、図 22 に変化がなかった機関 D の共通マトリックス及び独自マトリックス分析時のスキャンデータを示す。共通マトリックスと独自マトリックスで効果に差がなかった機関 D ではトータルイオンクロマトグラフに大きな変化は認められなかったが、大幅に改善した機関 B については、独自マトリックスで特に早い溶出時間の総イオン量が減少している。機関 B において溶出時間の早いスルファグアニジンが水溶性の妨害物質による強いマトリックス効果を受けていたことや共通マトリックスと独自マトリックス共にマトリックス効果の影響が少なかった機関 D、F についても前処理過程で脱水剤を使用していたことを勘案すると、脱水剤を添加することで水溶性の妨害物質の試験液への溶出を防いだことが良好な結果につながったと考えられた。機関 E は、サルファ剤に特化した通知法を採用しており、抽出溶媒にアセトニトリルやメタノールよりも極性が低く、水溶性物質を抽出しづらい酢酸エチルを使用していた。こちらの場合も抽出液への水溶性妨害物質の溶出を防いだことが良好な結果につながった可能性がある。

2.3. まとめ

実施機関及び 6 機関の協力機関を得て、共通マトリックス溶液と同一食品試料から協力機関で独自に調製したマトリックス溶液を用いて検量線を作成し、得られたデータを比較した。本項において確認した知見を以下に列記する。

- 1) 共通マトリックスを異なる条件で分析した際、イオン化促進、イオン化抑制の両方のマトリックス効果を認めた。すなわち、マトリックス効果は動物用医薬品の種類より分析の条件により強く依存する傾向が示唆された。
- 2) 独自マトリックスの結果では、食品試料濃度が共通マトリックスより高い場合、マトリックス効果が増大した。
- 3) マトリックス効果の改善に脱水剤の使用が有効であることが示唆された。また、事前検討からも比較的水に溶けやすい妨害物質がマトリックス効果の原因であることが推察された。脱水剤を添加し、水溶性の妨害物質の溶出を防ぐことが改善策の一つであると考えられる。

E. 結論

本研究において畜水産食品中の動物用医薬品の LC-MS/MS 分析におけるマトリックス効果について基礎的知見を得た。LC-MS/MS 分析ではイオン化抑制が観察されることが多いが、実施機関の事前検討では医薬品の種類によりイオン化抑制及びイオン化促進が共に観察された。また、比較的極性の高い物質が溶出する時間帯においてより強くマトリックス効果を受ける傾向が認められた。これは、畜水産食品分析におけ

るマトリックス効果の原因物質として極性の高いりん脂質が挙げられるという知見に沿うものであった。さらに、食品試料の種類や試料の保存状態を変えても、マトリックス効果はほぼ同程度であった。そのため、マトリックス効果によってイオン化が抑制されるか促進されるかは、畜水産食品の種類よりは、動物用医薬品の種類に依存すると考えていた。しかし、近畿地区 6 地研との共同試験から、共通マトリックス溶液を異なる分析条件で測定した結果、同じ医薬品でもイオン化の抑制と促進、どちらも観察された。さらに、同一食品試料から独自に調製したマトリックス溶液でも医薬品の受けるマトリックス効果の傾向は共通マトリックスと同様だったことから、畜水産食品中の動物用医薬品分析時のマトリックス効果は医薬品の種類のみではなく、液体クロマトグラフのグラジエント条件や質量分析計の各種パラメーターなどの分析条件も原因となることが示唆された。

複数の協力機関において共通マトリックスより独自に調製したマトリックスでマトリックス効果の改善が見られたが、いずれの機関も前処理時に脱水剤を使用していた。また、独自に調製したマトリックスの方がより強くマトリックス効果を受けた機関では分析時の最終食品試料濃度が共通マトリックスと比較して 10 倍以上高かった。以上から、畜水産食品中の動物用医薬品分析において、マトリックス効果を低減するには、前処理で可能な限り水溶性の妨害物質を排除すること、抽出液の食品試料濃度をできるだけ下げることが有用であることが示唆された。ただし、この対策は比較的極性の低い医薬品に対して限定的に有効なもので

ある。例えば、 β -ラクタム系抗生物質のような高極性の医薬品の分析には、抽出溶媒も高極性のものにする必要があることから、高極性の医薬品を分析する際には今回とは別の対策を講じる必要があるだろう。

最後に、本研究のような動物用医薬品の LC-MS/MS 分析におけるマトリックス効果について機関横断的に検討した例はほとんどなく、本研究で得られた知見が、今後より精度の高い検査法の開発に寄与することを期待する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) K. Akutsu, M. Yoshimitsu, Y. Kitagawa, S. Takatori, N. Fukui, M. Osakada, S. Yamaguchi, K. Kajimura, H. Obana, T. Watanabe, Evaluation of matrix-like effects in multiresidue pesticide analysis by GC/MS/MS, Journal of Separation Science, 40(6), 1293-1300 (2017)

2. 学会発表

1) 阿久津和彦, 吉光真人, 北川陽子, 高取聡, 福井直樹, 小阪田正和, 山口聡子, 並河幹夫, 伴創一郎, 大久保祥嗣, 中島涼, 丸山量子, 角谷直哉, 宮本伊織, 山下浩一, 西山隆之, 神藤正則, 山本直美, 高井靖智, 樋下勝彦, 梶村計志, 尾花裕孝, 渡辺卓穂: GC-MS(/MS)測定における農薬由来マトリックス効果の検討 1 近畿地衛研 6 機関における共同研究結果 : 第 111 回日本食

品衛生学会学術講演会, 東京, 2016

2) 吉光真人, 阿久津和彦, 北川陽子, 高取聡, 福井直樹, 小阪田正和, 山口聡子, 並河幹夫, 伴創一郎, 大久保祥嗣, 中島涼, 丸山量子, 角谷直哉, 宮本伊織, 山下浩一, 西山隆之, 神藤正則, 山本直美, 高井靖智, 樋下勝彦, 梶村計志, 尾花裕孝, 渡辺卓穂: GC-MS(/MS)測定における農薬由来マトリックス効果の検討 2 近畿地衛研 6 機関における共同研究結果 : 第 111 回日本食品衛生学会学術講演会, 東京, 2016

3) 阿久津 和彦, 吉光 真人, 北川 陽子, 高取 聡, 福井 直樹, 小阪田 正和, 山口 聡子, 梶村 計志, 尾花 裕孝: GC-MS/MS 測定における農薬由来マトリックス効果の検討 アナライトプロテクタント添加法の有効性 : 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会, 青森, 2016

4) 吉光 真人, 阿久津 和彦, 北川 陽子, 高取 聡, 福井 直樹, 小阪田 正和, 山口 聡子, 梶村 計志, 尾花 裕孝: GC-MS/MS 測定における農薬由来マトリックス効果の検討 食品マトリックス存在下における挙動と制御 : 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会, 青森, 2016

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1. 本研究で使用した混合標準溶液に含まれる動物用医薬品一覧

LC Mix1	大阪府の条件下における保持時間(min)	LC Mix2	大阪府の条件下における保持時間(min)
スルファグアニジン		シプロフロキサシン	
スルファニルアミド		ダノフロキサシン	9.37
スルファセタミド		エンフロキサシン	
スルフィソミジン		フルメキン	13.93
スルファジアジン	3.16	マルボフロキサシン	7.73
スルファチアゾール	3.82	ミロキサシン	
スルファピリジン	4.59	ノルフロキサシン	
スルファメラジン	5.53	オフロキサシン	8.52
スルフィソゾールナトリウム	5.51	オルビフロキサシン	9.74
スルファジミジン	8.33	オキシリニック酸	11.9
スルファモノメトキシ	9.26	ピロミド酸	
スルファメキシピリダジン	8.55	サラフロキサシン	9.98
スルファクロルピリダジン	8.89	ジフロキサシン	9.78
スルファメキサゾール	9.17	ナリジクス酸	13.62
スルファドキシ	9.98		
スルファトロキサゾール	9.49		
スルファエトキシピリダジン	10.83		
スルフィソキサゾール			
スルファベンザミド	10.33		
スルファジメトキシ	11.58		
スルファキノキサリン	11.96		
スルファプロモメタジン	13.85		
スルファニトラン			
トリメトプリム	7.86		
ジアベリジン	6.55		
オルメトプリム	8.84		
ピリメタミン	11.68		

数値の記入がない薬剤は大阪府の分析条件では良好な選択性を得られなかったもの

表2. 事前検討における分析シーケンス (例)

試料名	試験液濃度 (ppb)	注入量 (μ L)	注入絶対量 (pg)	
0810std1	1	5.0	5	
0810std2	5	5.0	25	溶媒検量線 注入量一定
0810std3	10	5.0	50	
0810std4	20	5.0	100	
0810std4_1	20	0.1	2	
0810std4_2	20	0.5	10	溶媒検量線 注入濃度一定
0810std4_3	20	2.0	40	
0810std4_4	20	5.0	100	
0810std4_5	20	7.5	150	
0810std4_6	20	10.0	200	
0810Matrixstd1	1	5.0	5	
0810Matrixstd2	5	5.0	25	
0810Matrixstd3	10	5.0	50	
0810Matrixstd4	20	5.0	100	
0810Matrixstd4_1	20	0.1	2	マトリックス検量線 注入濃度一定
0810Matrixstd4_2	20	0.5	10	
0810Matrixstd4_3	20	2.0	40	
0810Matrixstd4_4	20	5.0	100	
0810Matrixstd4_5	20	7.5	150	
0810Matrixstd4_6	20	10.0	200	

表3. 大阪府の提示したサルファ剤測定マストランジション例

化合物	m/z
スルファジアジン	251 > 156
スルファチアゾール	256 > 156
スルファピリジン	250 > 156
スルファメラジン	265 > 92
スルフィソゾールナトリウム	240 > 156
スルファジミジン	279 > 186
スルファモノメトキシ	281 > 156
スルファメトキシピリダジン	281 > 92
スルファクロロピリダジン	285 > 156
スルファメトキサゾール	254 > 156
スルファドキシ	311 > 156
スルファトロキサゾール	268 > 92
スルファエトキシピリダジン	295 > 156
スルファベンザミド	277 > 156
スルファジメトキシ	311 > 156
スルファキノキサリン	301 > 156
スルファプロモメタジン	357 > 92

表 4 協同試験における分析機器の条件

機関名	LC/MS/MS		測定法	メーカー	分析カラム カラム名	カラム温度 (°C)	移動層	流速 (mL/min)	測定時間 (min)	
	メーカー	機種名								
A	Waters	Xevo TQ	ESI+	MRM	Waters	ACQUITY UPLC BEH C18	40	2mM 甲酸水溶液 2mM 甲酸アセトニトリル	0.4	22
B	Thermo	Quantum Discovery MAX	ESI+	MRM	シグマアルドリッチ	Ascentis Express C18	40	0.05% 甲酸水溶液 0.05% 甲酸メタノール	0.2 ~ 0.4	25
C	島津	LCMS-8030	ESI+	MRM	島津	Shim-pack HR-ODS	40	0.1% 甲酸水溶液 アセトニトリル	0.2	40
D	ABsciex	API4500Qtrap	ESI+	MRM	Waters	Xbridge C18	40	5% アセトニトリル含有 0.1% 甲酸水溶液 アセトニトリル	0.2	30
E	Agilent	6430	ESI+	MRM	化学物質評価機構	L-column ODS	40	0.1% 甲酸水溶液 0.1% 甲酸メタノール	0.2	29
F	Agilent	6460	ESI+	MRM	資生堂	CAPCELL CORE ADME	40	0.05% 甲酸水溶液 0.05% 甲酸アセトニトリル	0.3	28.5
大阪府	Waters	Xevo TQ-S	ESI+	MRM	Waters	CORTECS UPLC C18	50	0.1% 甲酸水溶液 0.1% 甲酸メタノール	0.2	27

表5 共通マトリックス溶液の安定性

	保存マトリックスの傾き/ 再調製マトリックスの傾き(%)		
	1週間後	2週間後	4週間後
スルファジアジン	98.3	100.4	100.6
スルファチアゾール	97.5	100.3	99.8
スルファピリジン	97.4	101.2	99.3
スルファメラジン	99.4	101.9	99.8
スルフィソゾール	97.8	101.7	101.0
スルファジミジン	99.9	101.9	100.5
スルファメトキシピリダジン	98.3	100.4	101.5
スルファクロルピリダジン	99.1	100.7	102.4
スルファメトキサゾール	99.9	103.1	103.3
スルファモノメトキシ	98.2	101.4	99.1
スルファトロキサゾール	100.6	102.9	100.9
スルファドキシ	98.5	101.6	96.8
スルファベンザミド	99.9	101.1	100.8
スルファエトキシピリダジン	99.1	99.9	98.7
スルファジメトキシ	98.4	101.1	99.4
スルファキノキサリン	99.7	100.6	97.3
スルファプロモメタジン	100.0	96.0	100.7

表6 各機関が測定したサルファ剤一覧

サルファ剤	A	B	C	D	E	F	大阪府
スルファグアニジン							
スルファニルアミド							
スルファセトアミド							
スルフィソミジン							
スルファジアジン							
スルファチアゾール							
スルファピリジン							
スルファメラジン							
スルフィソゾールナトリウム							
スルファジミジン							
スルファモノメトキシ							
スルファメキシピリダジン							
スルファクロピリダジン							
スルファメトキサゾール							
スルファドキシ							
スルファトロキサゾール							
スルファエトキシピリダジン							
スルフィソキサゾール							
スルファベンザミド							
スルファジメトキシ							
スルファキノキサリン							
スルファプロモメタジン							
スルファニトラン							

網掛け部は7機関で共通して測定できたサルファ剤

表7 協力機関Aのサンプル注入リスト

試料名	試験液濃度 (ppb)	注入量 (μ L)	注入絶対量 (pg)
KK16-STD-ACN-0.005	5	10.0	50
KK16-STD-ACN-0.01	10	10.0	100
KK16-STD-ACN-0.02	20	10.0	200
KK16-STD-ACN-0.04	40	10.0	400
KK16-STD-ACN-0.04-20	40	20.0	800
KK16-STD-ACN-0.04-10	40	10.0	400
KK16-STD-ACN-0.04-5	40	5.0	200
KK16-STD-ACN-0.04-2	40	2.0	80
ACN	0	10.0	0
H2O/ACN	0	10.0	0
KK16-STD-MeOH-0.005	5	10.0	50
KK16-STD-MeOH-0.01	10	10.0	100
KK16-STD-MeOH-0.02	20	10.0	200
KK16-STD-MeOH-0.04	40	10.0	400
KK16-STD-MeOH-0.04-20	40	20.0	800
KK16-STD-MeOH-0.04-10	40	10.0	400
KK16-STD-MeOH-0.04-5	40	5.0	200
KK16-STD-MeOH-0.04-2	40	2.0	80
ACN	0	10.0	0
H2O/ACN	0	10.0	0
KK16-EggSTD-0.005	5	10.0	50
KK16-EggSTD-0.01	10	10.0	100
KK16-EggSTD-0.02	20	10.0	200
KK16-EggSTD-0.04	40	10.0	400
KK16-EggSTD-0.04-20	40	20.0	800
KK16-EggSTD-0.04-10	40	10.0	400
KK16-EggSTD-0.04-5	40	5.0	200
KK16-EggSTD-0.04-2	40	2.0	80
ACN	0	10.0	0
H2O/ACN	0	10.0	0
KK16-MilkSTD-0.005	5	10.0	50
KK16-MilkSTD-0.01	10	10.0	100
KK16-MilkSTD-0.02	20	10.0	200
KK16-MilkSTD-0.04	40	10.0	400
KK16-MilkSTD-0.04-20	40	20.0	800
KK16-MilkSTD-0.04-10	40	10.0	400
KK16-MilkSTD-0.04-5	40	5.0	200
KK16-MilkSTD-0.04-2	40	2.0	80
ACN	0	10.0	0
H2O/ACN	0	10.0	0
KK16-7070MilkSTD-ACN-0.005	5	10.0	50
KK16-7070MilkSTD-ACN-0.01	10	10.0	100
KK16-7070MilkSTD-ACN-0.02	20	10.0	200
KK16-7070MilkSTD-ACN-0.04	40	10.0	400
KK16-7070MilkSTD-ACN-0.04-20	40	20.0	800
KK16-7070MilkSTD-ACN-0.04-10	40	10.0	400
KK16-7070MilkSTD-ACN-0.04-5	40	5.0	200
KK16-7070MilkSTD-ACN-0.04-2	40	2.0	80
ACN	0	10.0	0
H2O/ACN	0	10.0	0
KK16-7070MilkSTD-MeOH-0.005	5	10.0	50
KK16-7070MilkSTD-MeOH-0.01	10	10.0	100
KK16-7070MilkSTD-MeOH-0.02	20	10.0	200
KK16-7070MilkSTD-MeOH-0.04	40	10.0	400
KK16-7070MilkSTD-MeOH-0.04-20	40	20.0	800
KK16-7070MilkSTD-MeOH-0.04-10	40	10.0	400
KK16-7070MilkSTD-MeOH-0.04-5	40	5.0	200
KK16-7070MilkSTD-MeOH-0.04-2	40	2.0	80

表8 協力機関Bのサンプル注入リスト

試料名	試験液濃度 (ppb)	注入量 (μ L)	注入絶対量 (pg)
STD_youbai_1ppb_01	1	5.0	5
STD_youbai_5ppb_01	5	5.0	25
STD_youbai_10ppb_01	10	5.0	50
STD_youbai_20ppb_01	20	5.0	100
STD_youbai_20ppb_01_inj	20	0.1	2
STD_youbai_20ppb_05_inj	20	0.5	10
STD_youbai_20ppb_20_inj	20	2.0	40
STD_youbai_20ppb_50_inj	20	5.0	100
STD_youbai_20ppb_75_inj	20	7.5	150
STD_youbai_20ppb_100_inj	20	10.0	200
STD_megg_osaka_1ppb_01	1	5.0	5
STD_megg_osaka_5ppb_01	5	5.0	25
STD_megg_osaka_10ppb_01	10	5.0	50
STD_megg_osaka_20ppb_01	20	5.0	100
STD_megg_osaka_20ppb_01_inj	20	0.1	2
STD_megg_osaka_20ppb_05_inj	20	0.5	10
STD_megg_osaka_20ppb_20_inj	20	2.0	40
STD_megg_osaka_20ppb_50_inj	20	5.0	100
STD_megg_osaka_20ppb_75_inj	20	7.5	150
STD_megg_osaka_20ppb_100_inj	20	10.0	200
STD_mmilk_osaka_1ppb_01	1	5.0	5
STD_mmilk_osaka_5ppb_01	5	5.0	25
STD_mmilk_osaka_10ppb_01	10	5.0	50
STD_mmilk_osaka_20ppb_01	20	5.0	100
STD_mmilk_osaka_20ppb_01_inj	20	0.1	2
STD_mmilk_osaka_20ppb_05_inj	20	0.5	10
STD_mmilk_osaka_20ppb_20_inj	20	2.0	40
STD_mmilk_osaka_20ppb_50_inj	20	5.0	100
STD_mmilk_osaka_20ppb_75_inj	20	7.5	150
STD_mmilk_osaka_20ppb_100_inj	20	10.0	200
STD_mmilk_1ppb_01	1	5	5
STD_mmilk_5ppb_01	5	5	25
STD_mmilk_10ppb_01	10	5	50
STD_mmilk_20ppb_01	20	5	100
STD_mmilk_20ppb_01_inj	20	0.1	2
STD_mmilk_20ppb_05_inj	20	0.5	10
STD_mmilk_20ppb_20_inj	20	2	40
STD_mmilk_20ppb_50_inj	20	5	100
STD_mmilk_20ppb_75_inj	20	7.5	150
STD_mmilk_20ppb_100_inj	20	10	200

表9 協力機関Cのサンプル注入リスト

試料名	試験液濃度 (ppb)	注入量 (μ L)	注入絶対量 (pg)
溶媒検量線_STD1	5	10.0	50
溶媒検量線_STD2	10	10.0	100
溶媒検量線_STD3	50	10.0	500
溶媒検量線_STD4	100	10.0	1000
溶媒検量線_STD1_1	100	0.5	50
溶媒検量線_STD2_2	100	1.0	100
溶媒検量線_STD3_3	100	10.0	1000
溶媒検量線_STD4_4	100	15.0	1500
送付牛乳マトリックス検量線STD1	5	10.0	50
送付牛乳マトリックス検量線STD2	10	10.0	100
送付牛乳マトリックス検量線STD3	50	10.0	500
送付牛乳マトリックス検量線STD4	100	10.0	1000
送付牛乳マトリックス検量線STD1_1	100	0.5	50
送付牛乳マトリックス検量線STD2_2	100	1.0	100
送付牛乳マトリックス検量線STD3_3	100	10.0	1000
送付牛乳マトリックス検量線STD4_4	100	15.0	1500
送付鶏卵マトリックス検量線STD1	5	10.0	50
送付鶏卵マトリックス検量線STD2	10	10.0	100
送付鶏卵マトリックス検量線STD3	50	10.0	500
送付鶏卵マトリックス検量線STD4	100	10.0	1000
送付鶏卵マトリックス検量線STD1_1	100	0.5	50
送付鶏卵マトリックス検量線STD2_2	100	1.0	100
送付鶏卵マトリックス検量線STD3_3	100	10.0	1000
送付鶏卵マトリックス検量線STD4_4	100	15.0	1500
前処理牛乳マトリックス検量線STD1	5	10.0	50
前処理牛乳マトリックス検量線STD2	10	10.0	100
前処理牛乳マトリックス検量線STD3	50	10.0	500
前処理牛乳マトリックス検量線STD4	100	10.0	1000
前処理牛乳マトリックス検量線STD1_1	100	0.5	50
前処理牛乳マトリックス検量線STD2_2	100	1.0	100
前処理牛乳マトリックス検量線STD3_3	100	10.0	1000
前処理牛乳マトリックス検量線STD4_4	100	15.0	1500

表 1 0 協力機関Dのサンプル注入リスト

試料名	試験液濃度 (ppb)	注入量 (μ L)	注入絶対量 (pg)
Sstd_5ppb	5	5.0	25
Sstd_10ppb	10	5.0	50
Sstd_20ppb	20	5.0	100
Sstd_40ppb	40	5.0	200
Sstd_20ppb_1uL	20	1.0	20
Sstd_20ppb_2uL	20	2.0	40
Sstd_20ppb_5uL	20	5.0	100
Sstd_20ppb_7uL	20	7.0	140
Sstd_20ppb_10uL	20	10.0	200
Mstd_milk_5ppb	5	5.0	25
Mstd_milk_10ppb	10	5.0	50
Mstd_milk_20ppb	20	5.0	100
Mstd_milk_40ppb	40	5.0	200
Mstd_milk_20ppb_1uL	20	1.0	20
Mstd_milk_20ppb_2uL	20	2.0	40
Mstd_milk_20ppb_5uL	20	5.0	100
Mstd_milk_20ppb_7uL	20	7.0	140
Mstd_milk_20ppb_10uL	20	10.0	200
Mstd_egg_5ppb	5	5.0	25
Mstd_egg_10ppb	10	5.0	50
Mstd_egg_20ppb	20	5.0	100
Mstd_egg_40ppb	40	5.0	200
Mstd_egg_20ppb_1uL	20	1.0	20
Mstd_egg_20ppb_2uL	20	2.0	40
Mstd_egg_20ppb_5uL	20	5.0	100
Mstd_egg_20ppb_7uL	20	7.0	140
Mstd_egg_20ppb_10uL	20	10.0	200
Mstd_KIH_egg_5ppb	5	5.0	25
Mstd_KIH_egg_10ppb	10	5.0	50
Mstd_KIH_egg_20ppb	20	5.0	100
Mstd_KIH_egg_40ppb	40	5	200
Mstd_KIH_egg_20ppb_1uL	20	1	20
Mstd_KIH_egg_20ppb_2uL	20	2	40
Mstd_KIH_egg_20ppb_5uL	20	5	100
Mstd_KIH_egg_20ppb_7uL	20	7	140
Mstd_KIH_egg_20ppb_10uL	20	10	200

表 1 1 協力機関Eのサンプル注入リスト

試料名	試験液濃度 (ppb)	注入量 (μ L)	注入絶対量 (pg)
01_Yobai_STD_5	5	5.0	25
02_Yobai_STD_10	10	5.0	50
03_Yobai_STD_50	50	5.0	250
04_Yobai_STD_100	100	5.0	500
05_Yobai_STD_100_1	100	0.1	10
06_Yobai_STD_100_2	100	0.5	50
07_Yobai_STD_100_3	100	2.0	200
08_Yobai_STD_100_4	100	5.0	500
09_Yobai_STD_100_5	100	7.5	750
10_Yobai_STD_100_6	100	10.0	1000
11_Kyotsu_Milk_STD_5	5	5.0	25
12_Kyotsu_Milk_STD_10	10	5.0	50
13_Kyotsu_Milk_STD_50	50	5.0	250
14_Kyotsu_Milk_STD_100	100	5.0	500
15_Kyotsu_Milk_STD_100_1	100	0.1	10
16_Kyotsu_Milk_STD_100_2	100	0.5	50
17_Kyotsu_Milk_STD_100_3	100	2.0	200
18_Kyotsu_Milk_STD_100_4	100	5.0	500
19_Kyotsu_Milk_STD_100_5	100	7.5	750
20_Kyotsu_Milk_STD_100_6	100	10.0	1000
21_Kyotsu_Egg_STD_5	5	5.0	25
22_Kyotsu_Egg_STD_10	10	5.0	50
23_Kyotsu_Egg_STD_50	50	5.0	250
24_Kyotsu_Egg_STD_100	100	5.0	500
25_Kyotsu_Egg_STD_100_1	100	0.1	10
26_Kyotsu_Egg_STD_100_2	100	0.5	50
27_Kyotsu_Egg_STD_100_3	100	2.0	200
28_Kyotsu_Egg_STD_100_4	100	5.0	500
29_Kyotsu_Egg_STD_100_5	100	7.5	750
30_Kyotsu_Egg_STD_100_6	100	10.0	1000
31_Kobetsu_Egg_STD_5	5	5	25
32_Kobetsu_Egg_STD_10	10	5	50
33_Kobetsu_Egg_STD_50	50	5	250
34_Kobetsu_Egg_STD_100	100	5	500
35_Kobetsu_Egg_STD_100_1	100	0.1	10
36_Kobetsu_Egg_STD_100_2	100	0.5	50
37_Kobetsu_Egg_STD_100_3	100	2	200
38_Kobetsu_Egg_STD_100_4	100	5	500
39_Kobetsu_Egg_STD_100_5	100	7.5	750
40_Kobetsu_Egg_STD_100_6	100	10	1000

表 1 2 協力機関Fのサンプル注入リスト

試料名	試験液濃度 (ppb)	注入量 (μ L)	注入絶対量 (pg)
20160914st010	1	5.0	5
20160914st025	2.5	5.0	12.5
20160914st050	5	5.0	25
20160914st100	10	5.0	50
20160914st250	25	5.0	125
20160914st100-1	10	1.0	10
20160914st100-2	10	2.0	20
20160914st100-5	10	5.0	50
20160914st100-7	10	7.0	70
20160914st100-10	10	10.0	100
20160914st100-12	10	12.0	120
20160914milk010	1	5.0	5
20160914milk025	2.5	5.0	12.5
20160914milk050	5	5.0	25
20160914milk100	10	5.0	50
20160914milk250	25	5.0	125
20160914milk100-1	10	1.0	10
20160914milk100-2	10	2.0	20
20160914milk100-5	10	5.0	50
20160914milk100-7	10	7.0	70
20160914milk100-10	10	10.0	100
20160914milk100-12	10	12.0	120
20160915egg010	1	5.0	5
20160915egg025	2.5	5.0	12.5
20160915egg050	5	5.0	25
20160915egg100	10	5.0	50
20160915egg250	25	5.0	125
20160915egg100-1	10	1.0	10
20160915egg100-2	10	2.0	20
20160915egg100-5	10	5.0	50
20160915egg100-7	10	7	70
20160915egg100-10	10	10	100
20160915egg100-12	10	12	120
20160920_100-1	10	1.0	10
20160920_100-2	10	2.0	20
20160920_100-5	10	5.0	50
20160920_100-7	10	7	70
20160920_100-10	10	10	100
20160920_100-12	10	12	120
20160920_010	1	5.0	5
20160920_025	2.5	5.0	12.5
20160920_050	5	5.0	25
20160920_100	10	5.0	50
20160920_250	25	5.0	125

表13 溶媒検査線に対する共通マトリックス検査線の傾き比（鶏卵）

	濃度一定						大阪府
	A	B	C	D	E	F	
スルファピリジン	111.7%	57.3%	83.1%	84.2%	40.3%	89.1%	68.8%
スルファメラジン	99.4%	52.3%	125.4%	76.5%	37.3%	92.4%	66.1%
スルファジミジン	85.2%	57.3%	127.5%	81.0%	41.6%	93.6%	76.7%
スルファモノトキシシン	106.1%	59.6%	127.0%	98.1%	44.6%	93.5%	76.0%
スルファメトキシピリダジン	117.4%	58.3%	122.8%	82.4%	37.0%	92.1%	76.2%
スルファクロピリダジン	103.0%	51.8%	109.1%	99.6%	38.5%	97.4%	80.4%
スルファメトキサゾール	106.4%	43.7%	110.7%	99.3%	40.5%	95.4%	85.9%
スルファジメトキシシン	96.7%	59.3%	115.3%	89.0%	40.9%	94.0%	79.8%
スルファキノキサリン	106.3%	64.3%	108.8%	87.5%	46.4%	97.0%	81.0%
	注：入量一定						大阪府
	A	B	C	D	E	F	
スルファピリジン	95.3%	64.5%	92.7%	81.9%	38.2%	92.0%	77.6%
スルファメラジン	94.6%	67.7%	167.7%	75.5%	34.4%	91.1%	75.7%
スルファジミジン	84.2%	58.9%	159.8%	80.1%	39.7%	94.0%	83.6%
スルファモノトキシシン	97.4%	57.7%	163.2%	97.0%	43.0%	94.8%	83.7%
スルファメトキシピリダジン	105.2%	62.5%	162.0%	83.7%	35.2%	91.7%	81.6%
スルファクロピリダジン	89.1%	59.5%	138.0%	100.2%	37.6%	96.9%	85.4%
スルファメトキサゾール	93.6%	43.9%	146.3%	107.3%	37.3%	98.5%	88.6%
スルファジメトキシシン	87.2%	65.5%	134.9%	92.9%	40.4%	93.8%	85.8%
スルファキノキサリン	99.1%	75.0%	127.4%	137.6%	45.2%	98.9%	86.7%

表 1 4 溶媒検量線に対する共通マトリックス検量線の傾き比（牛乳）

	A	B	C	D	E	F	大阪府
濃度一定							
スルファピリジン	119.1%	55.7%	95.4%	104.5%	40.7%	88.4%	69.0%
スルファメラジン	114.4%	48.6%	136.4%	80.6%	38.2%	91.7%	65.4%
スルファジミジン	85.3%	66.2%	132.4%	80.0%	45.6%	94.0%	76.8%
スルファモノトキシシン	97.3%	65.1%	120.2%	90.2%	48.0%	93.1%	76.9%
スルファメトキシピリダジン	98.5%	66.5%	115.5%	83.5%	39.3%	93.3%	76.0%
スルファクロピリダジン	98.3%	55.9%	107.1%	90.9%	41.4%	96.9%	80.4%
スルファメトキサゾール	102.7%	43.6%	107.9%	93.6%	40.6%	92.8%	85.5%
スルファジメトキシシン	93.0%	62.5%	115.0%	86.0%	42.9%	95.6%	81.1%
スルファキノキサリン	102.6%	68.8%	115.4%	92.7%	49.5%	97.1%	83.6%
注入量一定							
スルファピリジン	101.5%	61.2%	101.2%	92.9%	41.5%	95.6%	75.6%
スルファメラジン	101.3%	53.5%	166.3%	97.1%	38.6%	97.8%	76.2%
スルファジミジン	85.1%	63.0%	154.2%	81.5%	46.3%	99.7%	83.3%
スルファモノトキシシン	99.2%	46.8%	145.9%	85.6%	48.5%	101.7%	83.0%
スルファメトキシピリダジン	96.4%	63.8%	139.2%	83.4%	40.2%	97.4%	81.1%
スルファクロピリダジン	91.1%	56.5%	131.6%	89.1%	41.9%	100.0%	85.6%
スルファメトキサゾール	93.5%	42.9%	134.4%	87.2%	41.3%	101.4%	88.8%
スルファジメトキシシン	91.7%	58.4%	127.5%	88.6%	46.9%	99.9%	86.4%
スルファキノキサリン	101.9%	63.3%	127.9%	87.0%	52.5%	102.5%	87.8%

表 1 5 共通マトリックス分析（鶏卵）における検量線の決定係数

	A		B		C		D		E		F		大阪府	
	濃度一定	注入量一定	濃度一定	注入量一定	濃度一定	注入量一定	濃度一定	注入量一定	濃度一定	注入量一定	濃度一定	注入量一定		
スルファピリジン	0.9996	0.9986	0.9944	0.9938	1.0000	0.9982	0.9997	0.9994	0.9975	0.9974	0.9998	0.9997	0.9995	0.9994
スルファメラジン	0.9983	0.9994	0.9810	0.9975	1.0000	0.9989	0.9988	0.9996	0.9962	0.9969	0.9999	0.9991	0.9999	0.9980
スルファジミジン	0.9946	0.9982	0.9937	0.9990	0.9994	0.9971	0.9983	0.9996	0.9946	0.9961	1.0000	0.9996	0.9999	1.0000
スルファモノメトキシ	1.0000	0.9993	0.9988	0.9942	0.9999	0.9996	0.9991	0.9998	0.9975	0.9981	0.9999	0.9996	0.9999	0.9990
スルファメトキシピリダジン	0.9990	0.9969	0.9849	0.9950	0.9985	0.9960	0.9995	0.9986	0.9964	0.9979	0.9999	0.9993	0.9999	0.9996
スルファクロピリダジン	0.9998	0.9995	0.9943	0.9990	0.9999	0.9999	0.9973	0.9986	0.9961	0.9974	1.0000	0.9998	1.0000	1.0000
スルファメトキサソール	0.9996	0.9995	0.9835	0.9997	1.0000	0.9999	0.9995	0.9969	0.9960	0.9985	0.9999	0.9994	0.9999	0.9998
スルファジメトキシ	0.9981	0.9984	0.9772	0.9881	0.9997	0.9989	0.9996	0.9989	0.9953	0.9969	1.0000	0.9999	1.0000	1.0000
スルファキノキサリン	0.9994	0.9994	0.9959	0.9999	1.0000	0.9995	0.9941	0.9887	0.9967	0.9978	0.9998	0.9995	0.9998	0.9997

表 16 共通マトリックス（牛乳）分析における検量線の決定係数

	A		B		C		D		E		F		大阪府		
	濃度一定	注入量一定	濃度一定	注入量一定	濃度一定	注入量一定	濃度一定	注入量一定	濃度一定	注入量一定	濃度一定	注入量一定			
スルファピリジン	0.9975	0.9999	0.9937	0.9998	1.0000	0.9984	0.9989	0.9960	0.9999	0.9990	0.9999	0.9994	0.9998	0.9996	0.9998
スルファメラジン	1.0000	0.9997	0.9875	0.9978	0.9987	0.9999	0.9940	1.0000	0.9987	1.0000	0.9995	0.9995	0.9998	0.9963	0.9996
スルファジミジン	0.9912	0.9994	0.9973	0.9968	0.9995	0.9969	0.9991	1.0000	0.9988	0.9999	0.9996	0.9996	0.9996	0.9997	0.9997
スルファモノストキシン	0.9997	0.9997	0.9995	0.9905	1.0000	1.0000	0.9970	0.9998	0.9994	1.0000	0.9990	0.9990	0.9997	0.9987	0.9999
スルファトキシピリダジン	0.9991	0.9993	0.9985	0.9982	0.9992	0.9982	0.9994	0.9987	0.9991	0.9999	0.9995	0.9995	0.9999	0.9995	0.9999
スルファクロロピリダジン	0.9988	0.9986	0.9990	0.9998	0.9999	1.0000	0.9993	1.0000	0.9994	0.9997	0.9995	0.9995	0.9999	0.9990	1.0000
スルファトキサゾール	0.9999	0.9984	0.9989	0.9997	0.9997	1.0000	0.9993	0.9999	0.9978	1.0000	0.9998	0.9998	0.9999	0.9997	0.9997
スルファトキシ	0.9958	0.9992	0.9960	0.9895	1.0000	0.9993	0.9991	0.9998	0.9972	1.0000	0.9999	0.9998	0.9999	0.9997	0.9998
スルファキノキサリン	0.9996	0.9996	0.9997	0.9969	1.0000	0.9997	0.9989	0.9999	0.9990	0.9999	0.9999	0.9993	0.9998	0.9997	0.9997

表 1 7 溶媒検量線に対する独自マトリックス検量線の傾き比（鶏卵）

	濃度一定		注入量一定			
	D	E	F	D	E	F
スルファピリジン	98.4%	86.5%	94.1%	89.7%	85.1%	93.3%
スルファメラジン	90.1%	95.9%	95.9%	88.5%	88.7%	95.5%
スルファジミジン	99.1%	97.2%	95.0%	92.4%	91.7%	95.8%
スルファモノメトキシ	103.8%	92.9%	91.4%	100.6%	87.7%	96.1%
スルファメトキシピリダジン	99.4%	92.4%	90.7%	97.1%	87.3%	93.0%
スルファクロロピリダジン	105.2%	93.2%	93.4%	98.7%	89.9%	95.3%
スルファメトキサゾール	103.1%	94.8%	92.0%	107.2%	84.4%	98.0%
スルファジメトキシ	99.7%	94.4%	96.8%	97.4%	86.9%	97.7%
スルファキノキサリン	106.0%	99.0%	98.7%	102.5%	90.7%	101.8%

表18 溶媒検量線に対する独自マトリックス検量線の傾き比（牛乳）

	濃度一定			注入量一定		
	A	B	C	A	B	C
スルファアピリジン	353.3%	80.6%	87.7%	397.6%	74.3%	112.3%
スルファメラジン	83.3%	94.2%	180.3%	101.7%	80.9%	236.0%
スルファジミジン	75.8%	91.9%	203.0%	82.3%	81.4%	250.9%
スルファモノメトキシ	95.9%	114.3%	159.5%	106.4%	78.5%	210.0%
スルファメトキシピリダジン	78.9%	97.8%	191.4%	97.0%	85.3%	236.6%
スルファクロピリダジン	88.4%	91.4%	111.9%	92.6%	89.1%	147.4%
スルファメトキサゾール	141.4%	85.7%	119.4%	157.7%	67.4%	155.1%
スルファジメトキシ	91.1%	90.3%	141.2%	85.2%	82.1%	171.1%
スルファキノキサリン	163.0%	87.8%	150.9%	172.8%	81.2%	177.9%

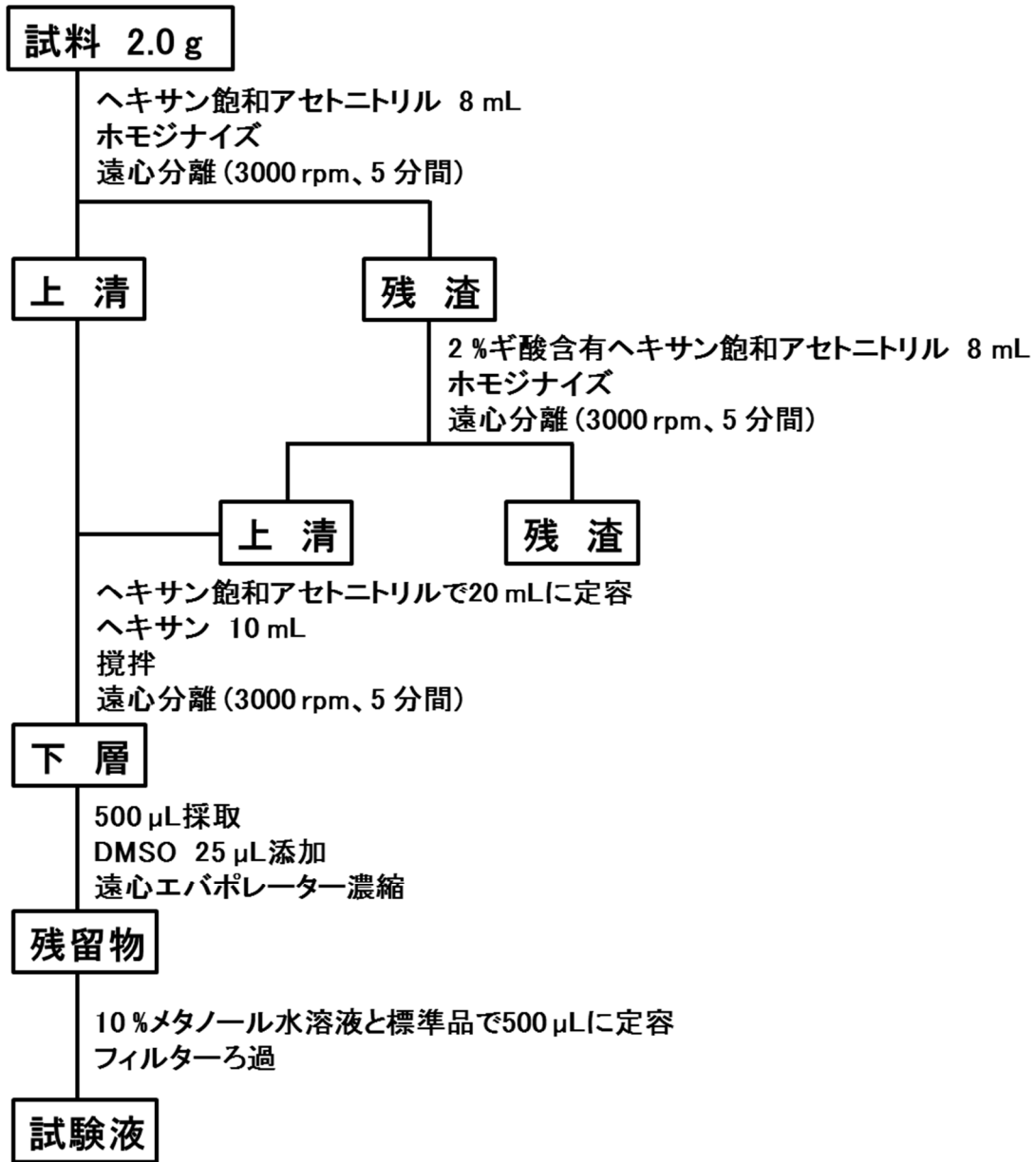


図1. 大阪府のサルファ剤分析前処理フロー

試料量	: 2g				
抽出溶媒組成	: 1回目アセトニトリル、2回目2%ギ酸アセトニトリル				
精製の有無(内容)	: 有(ヘキサンによる脱脂)				
固相使用の有無	: 無	測定試験液中の試料濃度	0.1	g/mL	
固相の種類	:				
フィルターろ過の有無	: 有	この(例)だと…			
最終溶液の組成	: 10%メタノール475μL+DMSO25μL	試料2.0gを溶媒20mLに抽出、その後濃縮・希釈は行わないので $2g/20mL = 0.1 \text{ g/mL}$ となる			

試料2g

ヘキサン飽和アセト 8mL
ホモジナイズ, 3000rpm, 5min

上清 **残渣**

2%ギ酸入りヘキサン飽和アセト 8mL
ホモジナイズ, 3000rpm, 5min

上清 **残渣**

ヘキサン飽和アセトで20mLに定容
ヘキサン10mL、攪拌, 3000rpm, 5min

下層

0.5mL採取、25μL DMSO添加
遠心エバポレーター濃縮

残留物

10%メタノール水溶液と標準品で
0.5mLに定容、フィルターろ過

試験液

図2. 送付したワークシートの抜粋 1

図3 送付したワークシートの様相 2

溶媒検量線	西暦時											検量	切片	検量 ²			
	2	10	40	100	150	200	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!						
スルファジアジン	2.97	1872.56	70879.58	287050.2	699473.3	1020079	1346074										
スルファニルアミド	3.51	1677.28	79366.2	326173.8	813568.8	1200223	1597531										
スルファセトアミド	4.08	1837.14	81586.52	328342.7	823298.2	1243385	1666276										
スルファゾキサゾール	4.56	1638.11	79431.93	312379.5	779797	1178455	1575374										
スルファメトキサゾール	5.21	877.839	42861.86	170147.8	427247.4	670598.9	857278.9										
スルファメトキサゾール	7.87	1801.5	81068.87	327375.6	815438.2	1205389.4	1599441										
スルファメトキサゾール	9.05	1785	81068.87	327375.6	815438.2	1205389.4	1599441										
スルファメトキサゾール	8.21	1456	70879.58	287050.2	699473.3	1020079	1346074										
スルファメトキサゾール	8.71	1726	81068.87	327375.6	815438.2	1205389.4	1599441										
スルファメトキサゾール	9.03	851.1	42861.86	170147.8	427247.4	670598.9	857278.9										
スルファメトキサゾール	9.86	3734.25	187740.6	748515.2	1928390	2923527	3960321										
スルファメトキサゾール	9.37	1091.99	61813.65	238480.3	622689.4	945411.8	1314627										
スルファメトキサゾール	10.68	2772.58	128435.5	511795.3	1322039	2020357	2747280										
スルファメトキサゾール	10.25	1041.62	58435.51	242158.6	625637.4	964130.8	1350943										
スルファメトキサゾール	11.51	3942.29	197158.6	834235.1	1641302	2518678	3366346										
スルファメトキサゾール	11.89	2780.8	138398.1	568826.8	1475919	2270553	3030652										
スルファメトキサゾール	13.8	937.706	506336.1	201041.4	527509.4	817323.1	1092140										
スルファメトキサゾール																	
共通Milkマトリックス検量線																	
スルファジアジン	2.97	1024.61	51107.11	192309.1	456208.1	681668.6	901698.3										
スルファニルアミド	3.51	1846.84	68455.1	246211.2	576777.2	847369.1	1127714										
スルファセトアミド	4.08	1159.36	65236.63	262850.6	635900.4	957372.3	1276145										
スルファゾキサゾール	4.96	1766.15	65240.7	255637.5	576596.4	824292.2	1070880										
スルファメトキサゾール	5.21	601.706	36126.35	149579	343511.1	485925.7	617661.8										
スルファメトキサゾール	7.87	1936	81068.87	327375.6	815438.2	1205389.4	1599441										
スルファメトキサゾール	9.05	1888	81068.87	327375.6	815438.2	1205389.4	1599441										
スルファメトキサゾール	8.21	1800	81068.87	327375.6	815438.2	1205389.4	1599441										
スルファメトキサゾール	8.71	1917	81068.87	327375.6	815438.2	1205389.4	1599441										
スルファメトキサゾール	9.03	538.1	42861.86	170147.8	427247.4	670598.9	857278.9										
スルファメトキサゾール	9.66	30785.42	169157.3	702624.6	1691144	2473397	3169524										
スルファメトキサゾール	9.37	810.86	53936.96	222676.2	548463.8	829558.3	1081913										
スルファメトキサゾール	10.68	2378.22	122890.8	502503.3	1215980	1768606	2313032										
スルファメトキサゾール	10.25	1875.82	57315.59	241450.7	607347.8	891539.9	1208494										
スルファメトキサゾール	11.51	2595.1	146860.9	627303.3	1523737	2236367	2946968										
スルファメトキサゾール	11.89	2311.42	128178	547515	1360372	2013124	2623225										
スルファメトキサゾール	13.8	786.205	51678.49	210642.3	499382.8	711059.7	890690.6										
スルファメトキサゾール																	

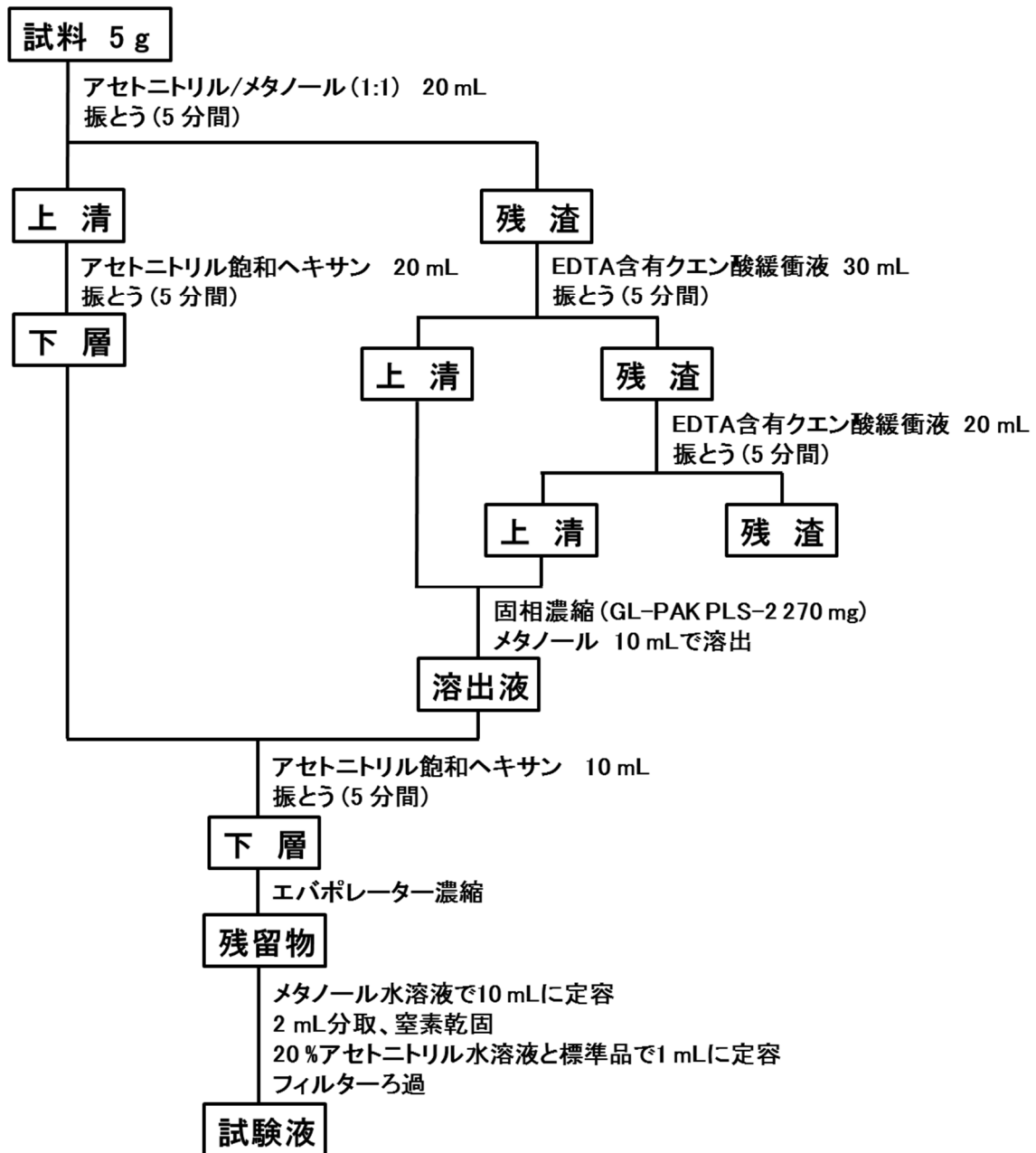


図4 協力機関Aの前処理フロー

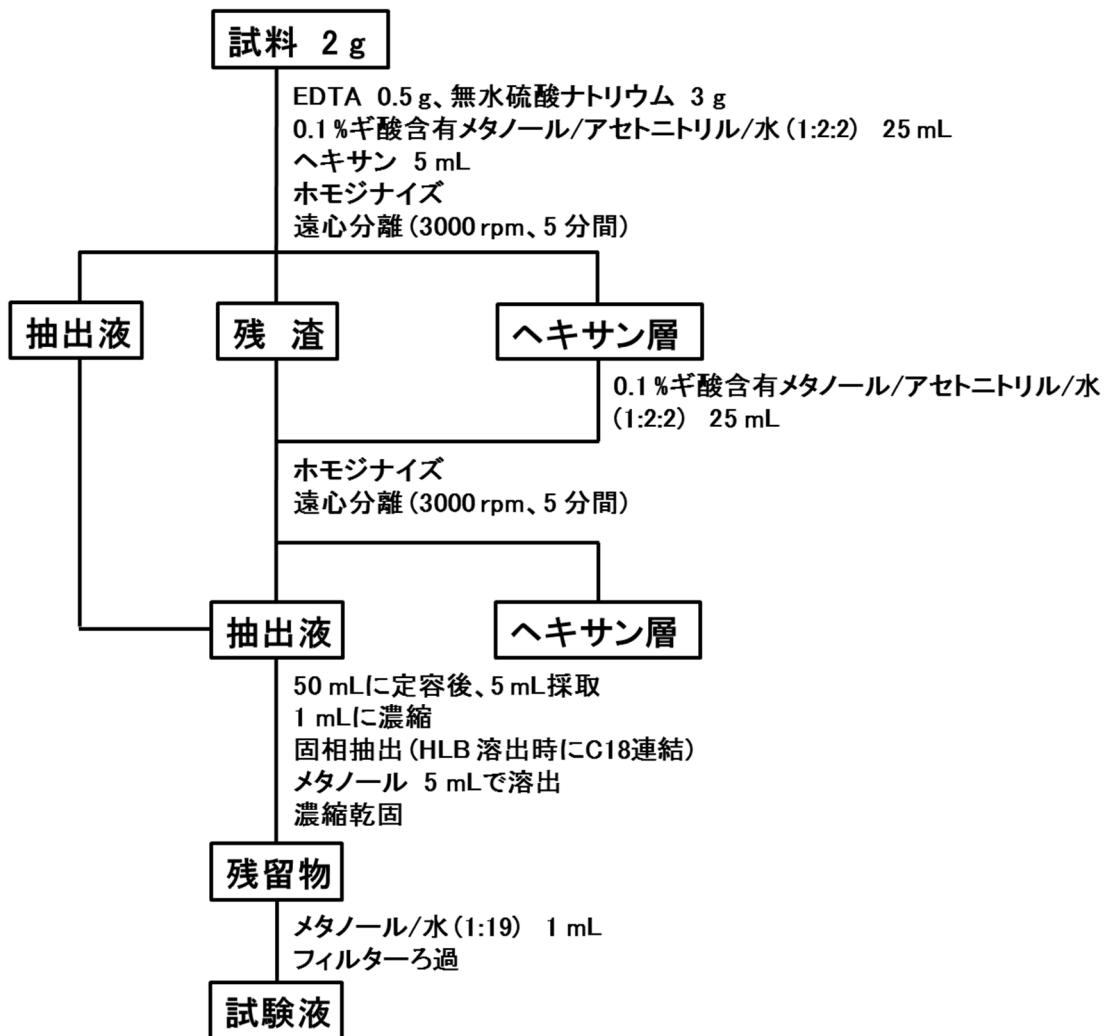


図5 協力機関Bの前処理フロー

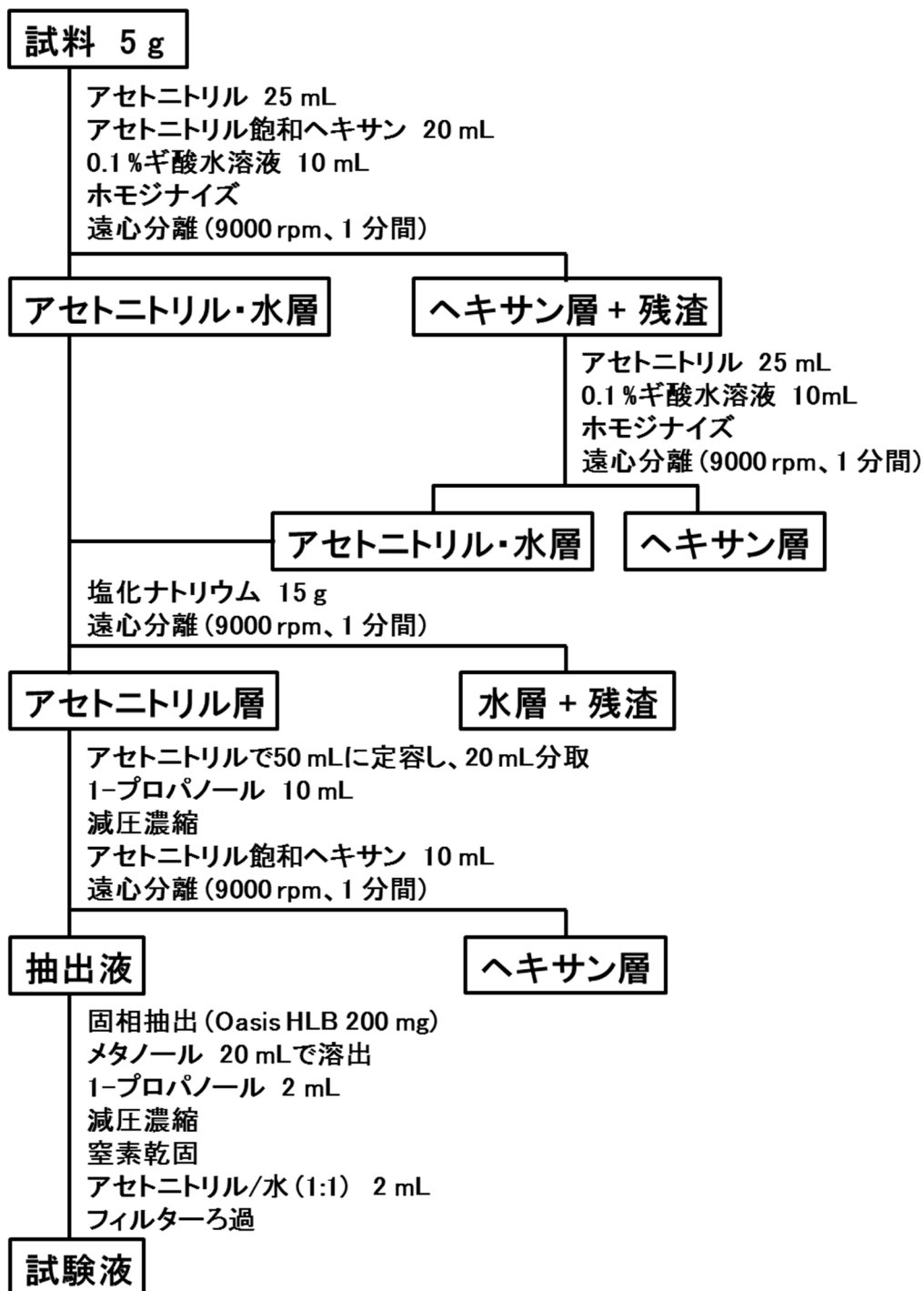


図6 協力機関Cの前処理フロー

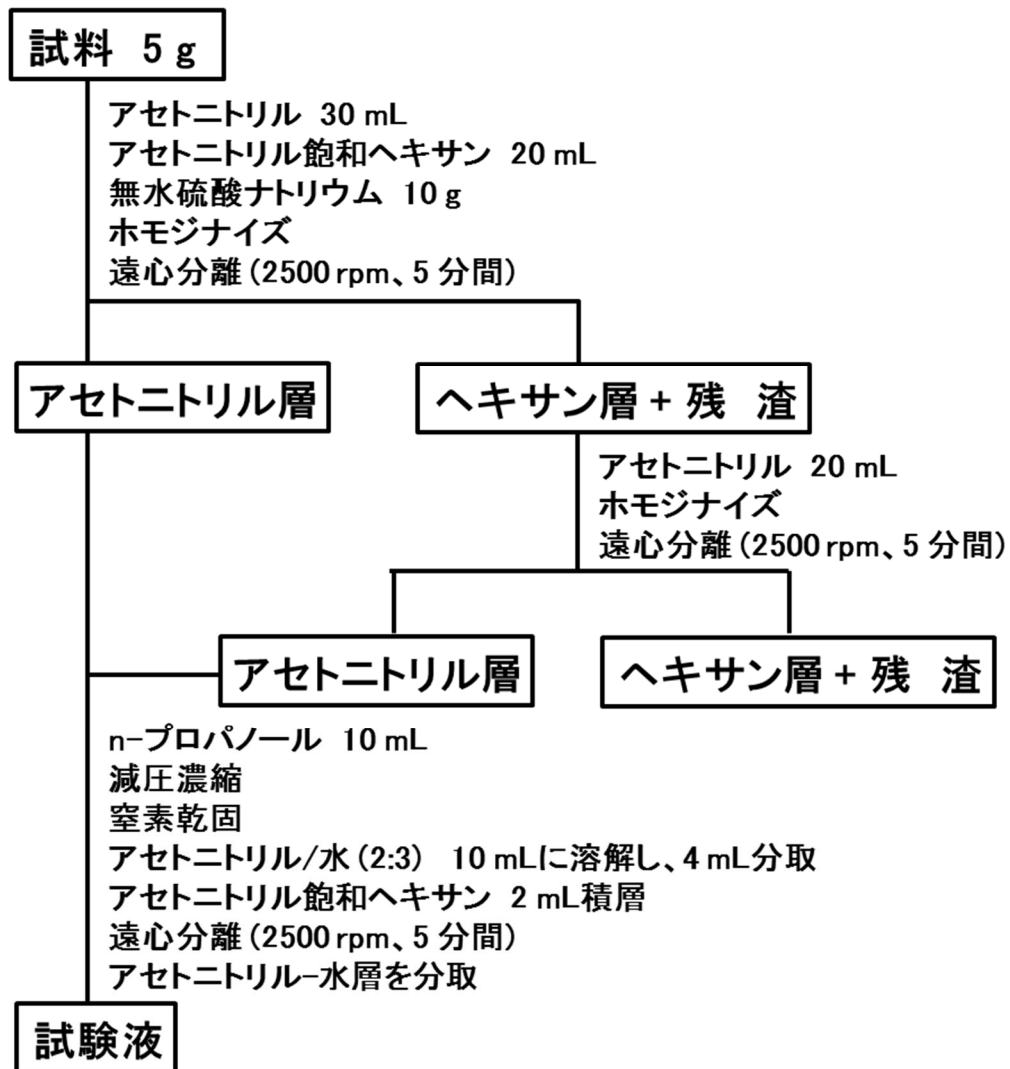


図7 協力機関Dの前処理フロー

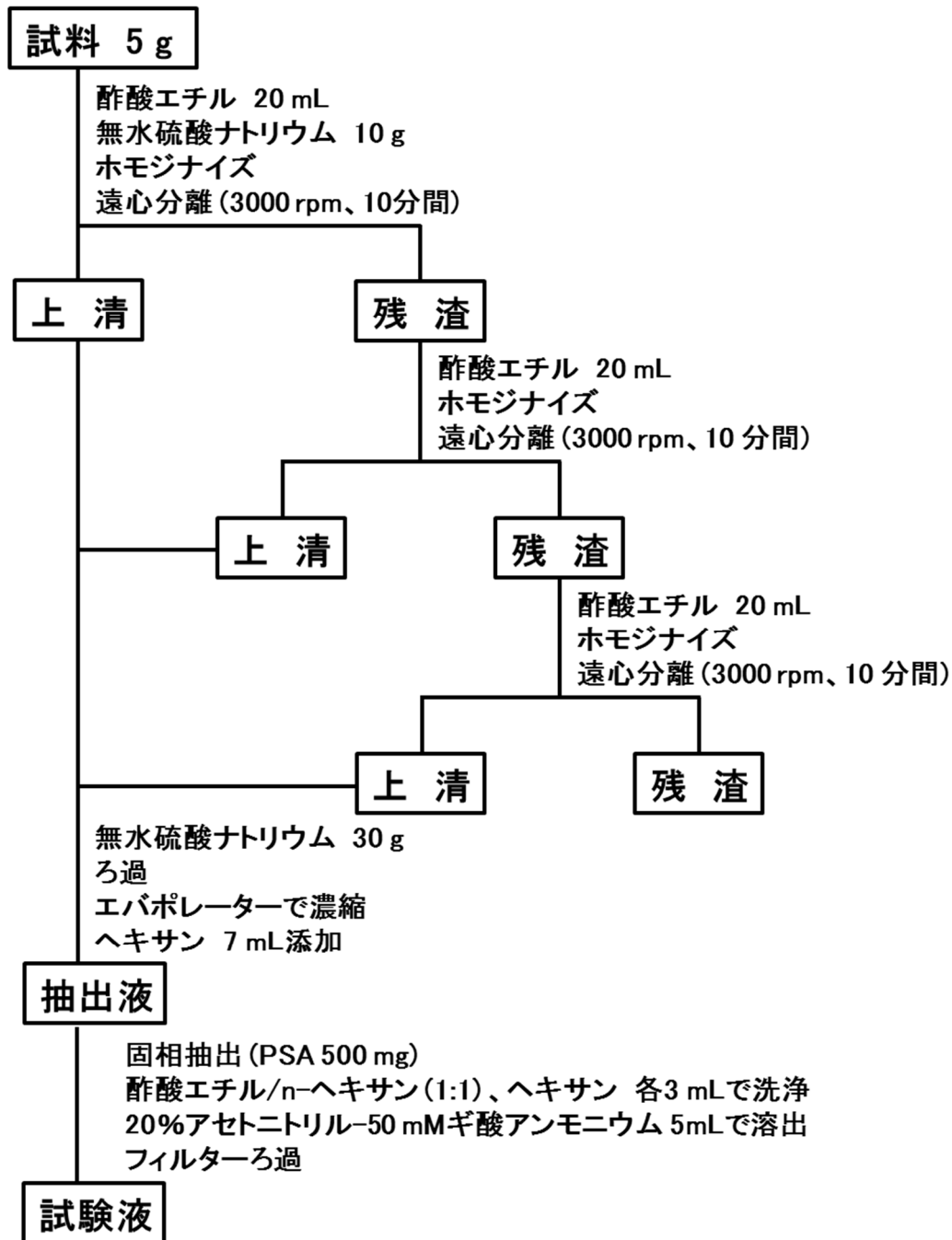


図8 協力機関Eの前処理フロー

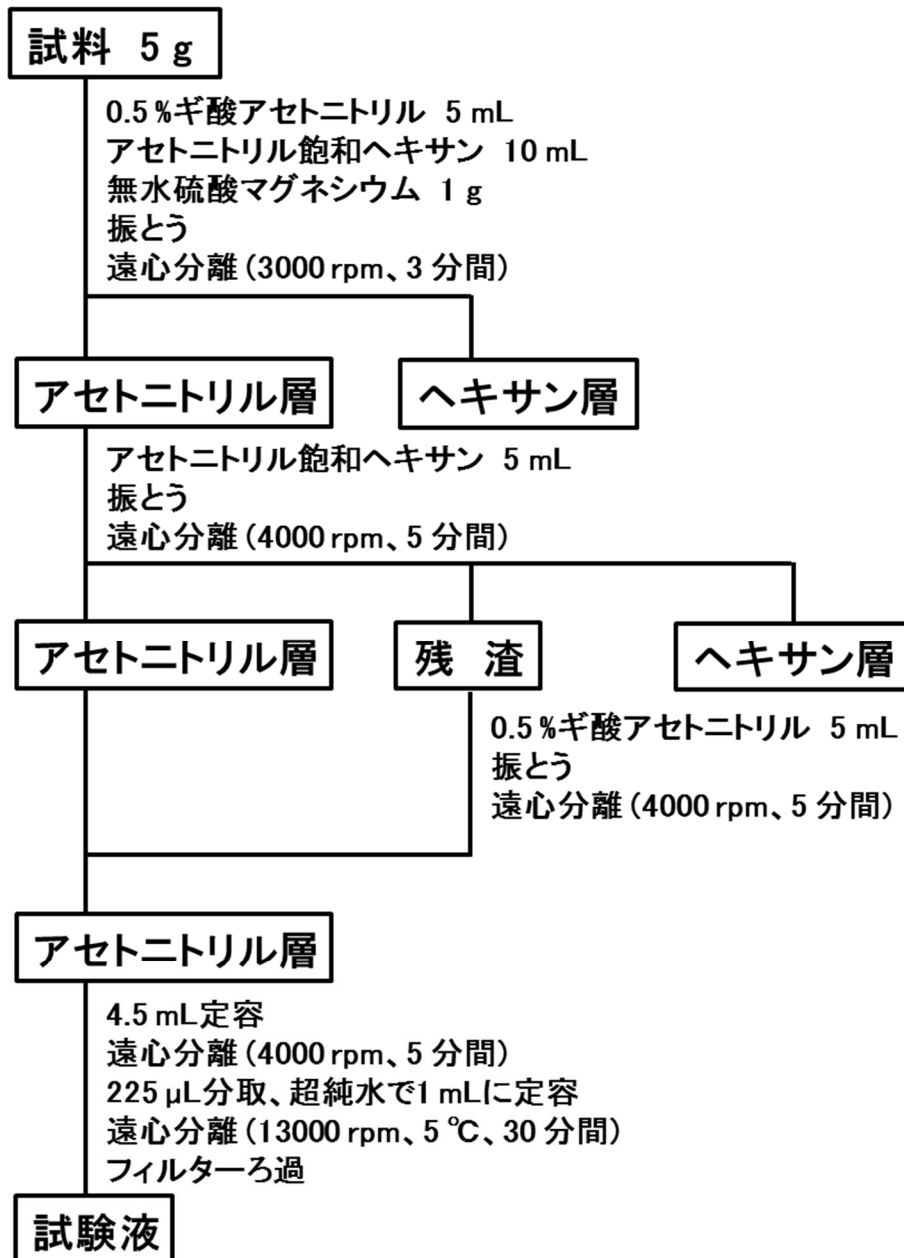


図9 協力機関Fの前処理フロー

■ 注入量一定 □ 注入濃度一定

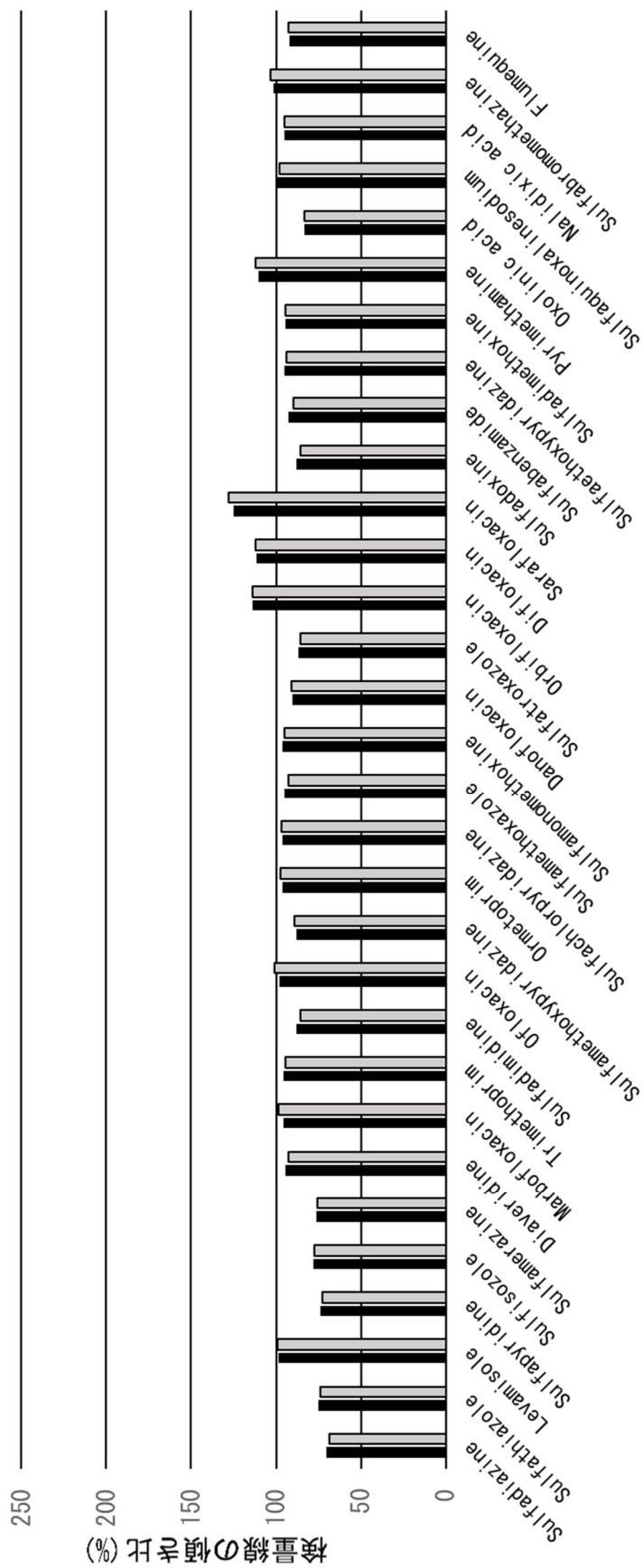


图 11 事前検討 1 における牛乳の検査線傾き比