

## Ⅱ. 分担研究報告

### 4. 課題4:スクリーニング分析法のガイドライン策定のための 基礎的検討

研究分担者 志田(齊藤)静夏



食品中残留農薬等の分析法に関する研究

4. スクリーニング分析法のガイドライン策定のための基礎的検討

研究分担者 志田(齊藤)静夏 国立医薬品食品衛生研究所 食品部主任研究官

**研究要旨**

残留農薬等の検査では、迅速且つ簡便な分析法でスクリーニング分析を行い、基準値超過の疑いがある場合のみ、精確に定量可能な試験法で確定試験を行えば、検査の迅速化・効率化が可能であるが、我が国には残留農薬等のスクリーニング分析に関するガイドラインはない。本研究ではスクリーニング分析法の性能評価方法を確立するため、海外の残留農薬等分析法のガイドラインのスクリーニング分析に関する項目を調査した。調査したガイドラインのうち、EU において公開している Guideline for the validation of screening methods for residues of veterinary medicines (残留動物用医薬品のスクリーニング分析法の性能評価に関するガイドライン、2002/657/EC 付属文書)を参考にして、残留濃度が基準値の 1/2 以上の試料を「陽性」と判定(偽陰性率 1%未満及び偽陽性率 5%未満)できるように分析データを基に性能評価方法及び性能要件を提案した。

**A. 研究目的**

食品中の農薬等(農薬、飼料添加物及び動物用医薬品)の残留基準は、現在、約 740 品目に設定されている。地方公共団体や検疫所による国産及び輸入食品中残留農薬等の検査(平成 27 年度、約 298 万件)における検出割合は 0.36%(基準値超過の割合は 0.008%)と非常に低く、検出される農薬の種類も 100 前後と言われている。しかし、農薬等の不適切な使用や意図的/非意図的な混入の可能性もあることから、検出頻度の高い農薬等だけではなく、残留の可能性の低い農薬等も対象とした効率の良い検査方法の確立が望まれている。

食品中の残留農薬等の基準値は低いものが多いため、精確な分析値を求めるためには、時間やコストを要する分析法で分析を行う必要がある。しかし、前述のように残留農薬等の検出頻度は非常

に低いことから、まず、迅速且つ簡便な分析法でスクリーニング(基準値超過の可能性のない検体をふるい分け)し、基準値超過の疑いがある検体のみ、精確に定量可能な分析法で確定試験を行えば、検査の迅速化・効率化を図ることが可能である。海外の残留農薬等分析法のガイドライン等では、スクリーニング分析について言及されているものが多いが、我が国にはスクリーニング分析に関するガイドラインはない。

本分担課題では、スクリーニング分析法の性能評価方法を確立することを目的とした。海外の残留農薬等分析法に関するガイドライン等について、スクリーニング分析に関する項目を調査後、調査したガイドライン等を参考にして、分析データを基にスクリーニング分析法の性能評価方法及び性能要件を提案した。

## B. 研究方法

### I. スクリーニング分析に関するガイドライン等の調査

平成 29 年度は、EU、コーデックス委員会 (Codex Alimentarius Commission: CAC) の残留農薬部会 (Codex Committee on Pesticide Residues: CCPR) 及び食品残留動物用医薬品部会 (Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Foods: CCRVDF) において公開している食品中の残留農薬等の分析法に関するガイドライン(1)～(3)について、スクリーニング分析に関する項目を調査し、まとめた。また、米国農務省 (USDA) が公開している畜産物中の農薬のスクリーニング分析法(4)に記載されている性能基準等についてもまとめた。平成 30 年度は、EU において公開している動物用医薬品等の分析法の性能基準等に関するガイドライン(5)及びその付属文書の残留動物用医薬品のスクリーニング分析法の性能評価に関するガイドライン(6)について、スクリーニング分析に関する項目を調査し、まとめた。

(1) SANTE/11813/2017 (EU) 「Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed (食品及び飼料中の残留農薬分析法についての精度管理およびバリデーション手順に関するガイダンス文書)」<sup>1)</sup>

(2) CAC/GL 90-2017 (CCPR) 「Guidelines on performance criteria for methods of analysis for the determination of pesticide residues in food and feed (食品及び飼料中残留農薬の分析法についての性能基準に関するガイドライン)」<sup>2)</sup>

(3) CAC/GL 71-2009 (CCRVDF) 「Guidelines for the design and implementation of national regulatory food safety assurance programme associated with

the use of veterinary drugs in food producing animals (食料生産動物における動物用医薬品の使用に関連する国家規制食品安全保証プログラムの設計及び実施に関するガイドライン)」<sup>3)</sup>

(4) CLG-PST5.07 (USDA) 「Screening for Pesticides by LC/MS/MS and GC/MS/MS (LC-MS/MS 及び GC-MS/MS を用いた農薬のスクリーニング分析法)」<sup>4)</sup>

(5) 2002/657/EC (EU) 「Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and interpretation of results, Off. J. Eur. Commun. L221:8-36」<sup>5)</sup>

(6) CRLs 2010 (2002/657/EC (EU) 付属文書) 「Community Reference Laboratories Residues (CRLs) 20/1/2010. Guideline for the validation of screening methods for residues of veterinary medicines (initial validation and transfer) (残留動物用医薬品のスクリーニング分析法の性能評価に関するガイドライン)」<sup>6)</sup>

### II. スクリーニング分析法の開発

#### 1. 試薬及び試液

##### (1) 有機溶媒及び試薬

試験溶液の調製及び LC-TOF-MS 測定においては、関東化学製 LC-MS 用アセトニトリル、メタノール及び蒸留水を用いた。硫酸マグネシウム(無水)は関東化学製の特級を用いた。クエン酸三ナトリウム二水和物及び酢酸アンモニウムは和光純薬工業製の特級、クエン酸水素二ナトリウム 1.5 水和物は和光純薬工業製の一級、塩化ナトリウムは、和光純薬工業製の残留農薬試験用試薬を用いた。

リファレンス(ロックマス)用試薬は、ロイシン-エンケファリン酢酸塩水和物 (Sigma-Aldrich 製) を水

及びメタノール(1:1)混液に溶解したものをを用いた。

## (2) 農薬標準品及び標準溶液

検討農薬(130化合物)を表1に示した。各農薬標準品は、林純薬工業、関東化学、和光純薬工業、Sigma-Aldrich、Dr. Ehrenstorfers 及び Riedel-de Haën 及び AccuStandard の残留農薬試験用試薬を用いた。標準原液(1000 mg/L)は、各農薬 10 mg を精秤し、アセトニトリル(アセトニトリルへの溶解性が低い場合はメタノール)10 mL に溶解して調製した。混合標準溶液は、各農薬の標準原液を混合し、メタノールで適宜希釈して調製した。

## (3) スピнкаラム

ジーエルサイエンス製の Monospin C18、Monospin C18 FF、Monospin C18-AX 及び Monospin SAX を用いた。

## 2. 試料

市販のりんご及びほうれんそうを凍結粉碎したものをを用いた。凍結粉碎は以下のように行った。りんごは果梗を除去後、包丁で約 16 等分に切ったもの 250~300 g、ほうれんそうは包丁で約 5 cm 幅に切ったもの 250~300 g に、同量のドライアイス(粉碎したものを)を加えて混合し、3 分間放置後、予めドライアイス約 100 g を粉碎して予冷した粉碎機に入れ、2 分間粉碎した。

## 3. 装置

LC-TOF-MS は、ACQUITY UPLC I-Class 及び Xevo G2-S QTOF (Waters 製)を使用した。粉碎機は Robot Coupe 製 Robot Coupe BLIXER-3D を用いた。遠心分離機は、50mL 遠心管ではテーブルトップ多本架遠心機 8100(久保田商事製)、スピнкаラムでは Centrifuge 5417R (Eppendorf)を使用した。

## 4. 測定条件

### (1) MS 条件

イオン化法 ESI(+); キャピラリー電圧 1000

V; コーン電圧 20 V; ソース温度 120°C; 脱溶媒ガス温度 450°C; 脱溶媒ガス 800 L/h(N<sub>2</sub>); コーンガス 50 L/h(N<sub>2</sub>); コリジョンガス Ar; コリジョンエネルギー 4 eV(低エネルギー)及び 10-40 eV(高エネルギー); スキャン範囲  $m/z$  50~1000; リファレンス(ロックマス) ロイシン-エンケファリン; 分解能 >30,000 FWHM、 $m/z$  556.2766; 定量イオン 表1に示した。

### (2) LC 条件

カラム Inertsil ODS-4(内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 2 µm、ジーエルサイエンス社製); カラム温度 40°C; 注入量 3 µL; 移動相 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液(A液)及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液(B液); 流速 0.30 mL/min; グラジエント条件 0 分(A:B=95:5)→10 分(A:B=5:95)→13 分(A:B=5:95)→13.01 分(A:B=0:100)→18 分(A:B=0:100)→18.01 分(A:B=95:5); 保持時間 表1に示した。

## 5. 試験溶液の調製

試料 10.0 g をポリプロピレン製遠心管(50 mL)に量り採り、アセトニトリル 10 mL を加え、1 分間振とうした。これに無水硫酸マグネシウム 4 g、塩化ナトリウム 1 g、クエン酸三ナトリウム二水和物 1 g、クエン酸水素二ナトリウム 1.5 水和物 0.5 g を加え、1 分間振とうし、遠心分離(毎分 3000 回転、5 分間)した。得られたアセトニトリル層を分取し、アセトニトリルで 10 mL に定容し、抽出液とした。

スピнкаラム(Monospin C18)にアセトニトリル 0.1 mL を加え、遠心分離(毎分 3000 回転、1 分間)し、得られた溶液は捨てた。このスピнкаラムに抽出液 0.2 mL を負荷し、遠心分離(毎分 3000 回転、1 分間)後、アセトニトリル 0.1 mL を加えて再度、遠心分離(毎分 3000 回転、1 分間)した。得られた溶液にアセトニトリルを加えて 0.5 mL にして試験溶液とした(試料 0.4 g/mL)。

## 6.マトリックス標準溶液の調製

ブランク試験溶液 100 μL をバイアルに採り、窒素を吹き付けて乾固した後、残留物を回収率 100%相当濃度の混合標準溶液 100 μL に溶解した。

### Ⅲ. 性能評価方法への分析データの適用検討

性能評価方法への分析データの適用検討は、平成 27 年度に行った LC-TOF-MS を用いた動物用医薬品一斉分析法の妥当性評価試験データ<sup>7)</sup>を、(1)スクリーニング分析法の性能評価方法、または(2)妥当性評価ガイドライン<sup>8)</sup>に従って評価した。

添加回収試験：1日2併行、5日間、2食品(牛肉、牛乳)

検討化合物：動物用医薬品 81 化合物

添加濃度：0.01 ppm

試験溶液の調製方法：通知一斉試験法「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法I(畜水産物)」を改良した方法<sup>7)</sup>

#### (1)スクリーニング分析法の性能評価方法による評価

ブランク試料及び添加試料について回収率 100%相当濃度の標準溶液に対するピーク面積比を求めた。以下のように閾値(T)及びカットオフ値(C)を求め、CRLs 2010(EU)の性能要件(C>T、 $C = S_{Average} - 1.64 \times S_{SD}$ )または性能要件①～④で評価した。なお、スクリーニング濃度(添加濃度)は 0.01 ppm とした。

#### 閾値(T)

$$T = B_{Average} + 1.64 \times B_{SD}$$

$B_{Average}$ ：ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の平均値

$B_{SD}$ ：ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の標準偏差

(ブランク試料にピークがない場合は T=0 とした)

#### カットオフ値(C)

$$C = S_{Average} - 1.64 \times S_{SD} \text{ または}$$

$$C = S_{Average} - 2.33 \times S_{SD}$$

$S_{Average}$ ：添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の平均値

$S_{SD}$ ：添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の標準偏差

性能要件①：C>T、添加試料のピーク S/N $\geq$ 10  
( $C = S_{Average} - 1.64 \times S_{SD}$ )

性能要件②：C>T、添加試料のピーク S/N $\geq$ 10  
( $C = S_{Average} - 2.33 \times S_{SD}$ )

性能要件③：C>T、C $\geq$ 0.2、添加試料のピーク S/N $\geq$ 10 ( $C = S_{Average} - 1.64 \times S_{SD}$ )

性能要件④：C>T、C $\geq$ 0.2、添加試料のピーク S/N $\geq$ 10 ( $C = S_{Average} - 2.33 \times S_{SD}$ )

#### (2)妥当性評価ガイドライン<sup>8)</sup>に従った評価

検量線(6点)を用いて定量したデータを用いて妥当性評価ガイドライン<sup>8)</sup>に従って評価した。

## C. 研究結果及び考察

### I. スクリーニング分析に関するガイドライン等の調査

平成 29 年度は、SANTE/11813/2017 (EU)<sup>1)</sup>、CAC/GL 90-2017 (CCPR)<sup>2)</sup>、CAC/GL 71-2009 (CCRVDF)<sup>3)</sup>の各ガイドラインのスクリーニング分析に関する部分、及び USDA が公開しているスクリーニング分析法 CLG-PST5.07<sup>4)</sup>に記載されている性能基準等について調査した。平成 30 年度は、2002/657/EC (EU)<sup>5)</sup>のスクリーニング分析に関する部分及び 2002/657/EC (EU)の付属文書の残留動物用医薬品のスクリーニング分析法の性能評価に関するガイドライン CRLs 2010 (EU)<sup>6)</sup>について調査した。

## (1)SANTE/11813/2017(EU)<sup>1)</sup>

### G. 分析法バリデーションおよび性能基準

G7 スクリーニング法、特に自動 MS による検出を採用した方法は費用対効果が高く、試料中に存在する可能性の低い分析対象化合物への適用範囲拡大に貢献する。検出頻度の高い分析対象化合物については、妥当性が確認された定量的な一斉分析法により検出および測定を継続すべきである。

G8 スクリーニング法においては、一定の濃度での分析対象化合物の検出信頼性を確立すべきである。これは、定量分析バリデーションで得られた報告下限 (RL) に基づくスクリーニング法または定性分析バリデーションで得られたスクリーニング検出限界 (SDL) に基づくスクリーニング法により達成可能である。

G9 スクリーニング法を用いる場合、少なくとも一連の測定の最初と最後に RL または SDL に相当する検量線用標準液を注入し、分析対象化合物が一連の測定の全バッチを通して検出可能であることを保証すべきである。分析対象化合物が検出された場合、暫定報告のみ行うことができる。引き続き妥当性が確認され適切な校正手順を踏んだ定量分析法による確認分析を行ってから、信頼性のある定量結果を報告しなければならない。分析対象化合物が検出されない場合、結果を <SDL mg/kg または <RL mg/kg として報告しなければならない。

G10 SDL に基づくスクリーニング法のバリデーションは検出能力に注目することができる。各個別食品群 (付属文書 A 参照) について、基本的なバリデーションは、推定される SDL において 20 試料以上の分析を行うべきである。選択された試料は、同じ食品グループの複数の食品を代表し、各食品について最低 2 種類の試料を用いるべきである。またこれらは試験所が意図する適用範囲を代表す

べきである。追加のバリデーションデータは、ルーチン分析における継続 AQC データおよび分析法性能検証から収集することができる。

G11 スクリーニング法を定性分析目的にのみ使用しようとする場合、分析対象化合物の回収率に関する要求事項はない。選択性を評価するには、偽陽性の有無について未添加試料 (できれば「ブランク」) を用いて検証すべきである。スクリーニング法によって暫定的に検出された分析対象化合物が同定され、適切な確認方法を用いた試料の二次分析においてこれが確認される限り、偽陽性数に関する厳格な基準の必要はない。定性スクリーニング法の SDL は、95% 以上の試料において (即ち、許容される偽陰性率は 5%) 分析対象化合物が検出される最低濃度 (MS 同定基準を満たす必要はない) とする。

G12 初回または継続分析法バリデーションに含まれなかった分析対象化合物については、ある一定の残留濃度での検出の信頼水準は不明となる。結果として、バリデーションの適用範囲にない分析対象化合物は、当該分析法により検出可能であるが SDL については特定できない。

G13 定性スクリーニング法を用いる場合、妥当性が確認された分析対象化合物のみ試験所のルーチン分析適用範囲に追加することができる。

### C. 試料分析

ルーチン分析中の継続分析法の性能検証

C46 非常に多くの分析対象化合物を対象とした定性一斉分析法では、各分析バッチですべての分析対象化合物を対象とすることは現実的でないと考えられる。各バッチについての全般的な分析法の性能を検証するには、分析法のすべての重要点を満たす少なくとも 10 以上の代表 (指標) 分析対象化合物 (有効適応範囲内) をマトリックスに添加すべきである。ローリングプログラムにおいて、

適応範囲内にあるすべての分析対象化合物に対する性能について以下の表に示す通りに検証すべきである。

表 回収率評価の最低頻度(スクリーニング法性能検証)

	代表(指標)分析対象化合物	その他の分析対象化合物
分析対象化合物数	1 検出系につき分析法に関するすべての重要点を網羅した 10 以上の分析対象化合物	定性分析として適用可能な全分析対象化合物
回収率の確認の最低頻度	各バッチ	最低 12 カ月ごと、可能であれば 6 カ月ごと
濃度	SDL	SDL
基準	全(指標)分析対象化合物が検出可能	全(適用可能)分析対象化合物が検出可能

## (2)CAC/GL 90-2017(CCPR)<sup>2)</sup>

スクリーニング分析法(Screening Method)は、「最小関心濃度以上で分析対象化合物または分析対象化合物群の有無を判別するよう予め設定した基準に合致する分析法」と定義している。

『スクリーニング分析法の性能許容基準』

32. スクリーニング分析法は一般的に、定性または半定量のいずれかの性質をもち、その目的は閾値以上の農薬等が含まれない(「陰性」)試料を、閾値以上の農薬等を含む(「陽性」)試料と判別することである。よって、そのバリデーション戦略は、その値以上であれば結果が「陽性の可能性」となる閾値濃度の設定、統計学に基づき結果が「偽陽性」または「偽陰性」となる確率の算出、選択性の評価、適切な使用条件の設定に注目することである。スク

リーニングの概念は、試料中に残留する可能性が低い農薬等にまで分析の適用範囲を広げるような効率的な方法を試験所に提供することである。検出頻度の高い農薬等については、妥当性が確認された定量一斉分析法を用いて継続的にモニタリングを行うべきである。定量分析法と同様に、スクリーニング分析法の選択性や感度についても確認すべきである。場合によっては、市販の検査キットが有用となるが、現在の技術は実用面で多成分残留スクリーニングのニーズに費用的に見合うものではない。選択性および分析範囲は、検出前にクロマトグラフィーや他の分離法を用いることにより向上する場合が多い。他のアプローチは、質量分析(MS)法を用いたスクリーニング分析法を使用することで、これにより特定の化合物を他の化合物と区別することが可能となる。

33. スクリーニング分析法は適切な選択性を有し、試料中に存在すると考えられる他の物質から分析対象化合物または化合物グループの存在を区別できなくてはならない。スクリーニング分析法の選択性は通常定量分析法の選択性ほど優れていない。スクリーニング分析法は化合物群またはクラスに共通の構造がある場合に利用されることが多く、化合物を明確に同定できない免疫測定や分光光度法の応答に基づく場合がある。

34. スクリーニング検出限界(Screening Detection Limit, SDL)に基づくスクリーニング分析法のバリデーションは、検出能に注目することができる。それぞれを代表するマトリックスについて、最低限のバリデーションでも推定 SDL でスパイクした 5 試料以上の分析を行うべきである。反復試料の種類や数を増やすことでバリデーションの質は向上する。マトリックスの種類ごとに最低 2 つの異なる試料について、試験所が意図する適用範囲に適合すべきである。追加のバリデーションデータは、継続中



の QC データおよび日常分析中の分析法性能評価から収集することができる。定性スクリーニング分析法の SDL は、少なくとも 95%の試料(許容される偽陰性率は 5%)で農薬等が検出された(必ずしも MS 同定基準を満たす必要はない)最低濃度である。

### **(3)CAC/GL 71-2009(CCRVDF)<sup>3)</sup>**

#### 14. 残留規制のための分析法に関する概論

スクリーニング分析法はその性質上定性または半定量的であり、MRLVD(動物用医薬品の最大残留基準値)または管轄当局により設定された他の規制値を超える残留物を含有する可能性のある、一群の動物またはロットから採取される試料の有無を特定するスクリーニング分析法として用いられる。これらの分析法は存在する濃度の正確な測定や残留物の構造確認を行うものではないが、どの物質についてさらに検査すべきか、またはどれが免除可能かを迅速に判断するために用いられる。これらの分析法はフードチェーンまたは検査施設に入る時点、または試料中に規制値を超える残留物が含まれているかどうかを決定する試験所での試料の受領時に適用される。このような分析法は、通常分析効率を高め、試験所外で実施できる場合があり、規制管理プログラムでの使用においては試験所内で行われる検査よりも低費用と考えられる。スクリーニング分析法を使用することにより、試験所は、本検査により陽性(疑い)が推測される試料の分析に集中することが可能となる。これらの分析法は、偽陰性率が低いことが明らかで、公的な試料に関する残留規制目的では、MRLVD に適合していない可能性があるとして特定された試料への適用に妥当性が確認された定量分析法や確認分析法がないのであれば、単独で使用すべきではない。

スクリーニング、定量、および確認の 3 つのカテゴリの分析法は、一部の性能特性を共有することがよくある。さらに、カテゴリごとに特定の懸念事項を有する。バランスのとれた残留規制プログラムの開発および実施には、これら 3 つのカテゴリの分析法同士の関係を理解することが重要である。残留規制プログラムでは、これら 3 つのカテゴリの分析法が続けて用いられる可能性がある。

スクリーニング分析法で「陽性」の試料は疑わしいとみなされ、通常さらに確定的な分析法を用いた試験所検査に供される。これにはスクリーニング分析法による試料の反復検査が含まれる場合があるが、試料が規制値を超えた残留物を含有していることを確定するには、試験所において定量分析法や確認分析法を用いるのが一般的である。このような検査は、最初の検査で検出された分析対象化合物が間違いなく疑わしい物質であり、MRLVD (または当局が設定した他の規制値)を確実に超過していることを確認するために、最初のスクリーニング分析法で用いた試料からの新たな分析試料について実施されるべきである。性能属性または特性は、スクリーニング、定量および確認の各種分析法の分析法バリデーションにおいて決定される必要がある。これについては下記の「食品中の残留動物用医薬品に関する分析法の特性」に記載する

『食品中の残留動物用医薬品に関する分析法の特性』

#### 18.1 スクリーニング分析法の性能特性

通常、スクリーニング分析法はその性質上定性または半定量的であり、閾値以上の検出可能な残留物が含まれていない(「陰性」)試料と閾値以上の残留物を含む(「陽性」)試料を区別する目的を有する。よって、バリデーションの方針は「陽性」結果となる閾値濃度の設定、統計学に基づいた結果

の「偽陽性」および「偽陰性」率の決定、選択性に関する検査および適切な使用条件の設定に重点を置く。

スクリーニング分析法の「選択性」とは、陰性応答を示す試料が真に陰性であることを判定する検査能力をいう。また、検査は、標的化合物または化合物群の存在と試料に存在すると考えられる他の物質とを区別できなくてはならない。スクリーニング分析法は化合物グループまたはクラスに共通の構造的特徴を利用することが多いため、通常、その選択性は定量分析法ほど良好ではない。一般にスクリーニング分析法のカテゴリーに適合するこれらの分析法は、化合物を明確に同定しないような微生物の生育阻害、免疫測定、または発色反応に基づくものが多い。スクリーニング分析法をクロマトグラフィーまたは他の分離手法後の検出系として用いた場合、その選択性は増大する。95%信頼水準で 90%以上の選択性(スクリーニング検査に推奨される)を示すため、最低 6 つの異なるソースからの代表的ブランク試料マトリックスについて 30 の反復試料分析を実施する。結果はすべて陰性となるべきである。その後、予想される干渉および交差反応について、予想される夾雑成分(動物の処置に用いられる可能性のある他の薬剤、予想される環境汚染物質、薬剤の代謝物、または化学的関連のある化合物など)を添加したブランクマトリックスを検査することにより追加検査を行うことがある。試料中に合理的に存在すると考えられる濃度でこれら化合物が存在するとき、反応結果はやはり陰性となるべきである。

ある化合物の検査のための閾値の「カットオフ値」は一般に、濃度を漸増し、各濃度でスパイク添加した 30 反復試料(最低 6 つのソースから採取)を用いた濃度-応答実験により設定する。30 反復試料のすべてが陰性応答を示す濃度と陽性応答を示

す濃度が確定したならば、ブランクマトリックス物質を用い、「すべて陰性」の濃度と「すべて陽性」の濃度の間の均等な間隔の4濃度でスパイク添加して実験を繰り返す。別のセットを用い「すべて陽性」の濃度の 20%増で検査を行う。結果の統計解析により、使用者は要求される信頼水準(通常 95%)で確実な検出濃度を設定することが可能となる。

『付録 C: 残留動物用医薬品の多成分一斉分析法(MRM)の性能特性』

C5. スクリーニング分析のための MRM の性能特性

スクリーニング分析のためのMRMは、通常定性的であり、ある範囲の分析対象化合物が閾値またはカットオフ値を上回る濃度の残留物を含まない試料(「陰性/適合」と、その値を上回る濃度の残留物を含む試料(「陽性/推定陽性/疑わしい陽性」とを判別することを目的としている。

承認された動物用医薬品のスクリーニング分析法は、定義した統計的限界(通常は95%信頼限界)内で対象化合物が確実に検出される最低濃度において95%の信頼水準で90%の選択性を示すべきである。規制目的では、これらのスクリーニング方法で「陽性/推定陽性/疑わしい陽性」試料は、追加の確認および/または定量分析を行い、「疑わしい」残留物の存在を同定、確認及び/または定量しなければならないため、少数の「偽陽性」のみ許容することができる。

#### (4) CLG-PST5.07 (USDA)<sup>4)</sup>

G. 計算/同定

1. 計算

b. 推定濃度

スクリーンカットオフレベルとの比較により計算した定量的推定濃度。ポジティブコントロールをリファレンスとした 1 点校正に基づいている。MS 装置

は、この計算を自動的に行うようにプログラムすることができるとができる。

$$D = E \times A_{\text{sample}} / A_{\text{pos. ctrl.}}$$

D = 試料中の推定濃度 (ppb)

E = ポジティブコントロールの添加濃度 (ppb)

A sample = サンプルの相対感度係数

A pos. ctrl. = ポジティブコントロールの相対感度係数

c. スクリーンカットレベル

この濃度は、試料が陰性/陽性を判定するために使用される。規制値違反を見逃さないように、2つの安全係数が含まれている。

$$F = 0.5 \times G \times H$$

F = スクリーンカットレベル (ppb)

G = 規制値 (ppb)

規制値またはアクションレベルは、各試料/分析対象化合物について参照する必要がある。

ゼロ・トレランスまたは規制値がない場合、試料はポジティブコントロールの添加濃度でスクリーニングされ、 $G = 2 \times E$  及び  $F = E \times H$  とする。

第一の安全係数は規制値の 1/2 でスクリーニングすることである。

H = 回収率の最小値/最大値

(値は CLG-PST5.07<sup>5)</sup> の表 7 および表 8 参照。値は更新されることがある。)

これは、回収率のばらつきによって違反を見逃さないようにするための第 2 の安全係数である。これらの値は、ポジティブコントロールの回収率の最大値と最小値に基づいている。

## 2. スクリーニング基準

a. 保持時間は、一連の測定開始時に測定したポジティブコントロールまたは標準溶液の保持時間と一致 (LC の場合 5%、GC の場合 1% 以内) しなければならない。

b. CLG-PST5.07<sup>5)</sup> の表 5 および 6 に示された

定量イオン及び少なくとももう 1 つのイオンが存在しなければならない。

c. 選択されたすべてのイオンについて  $S/N \geq 3$  でなければならない。これは目視で確認することができる。

d. 規制値がポジティブコントロールの添加濃度の 10 倍を超える ( $G > 10 \times E$ ) 化合物を検出した場合は、スクリーニング陽性かどうかを判定するために希釈および再測定が必要な場合がある。推定濃度がポジティブコントロールの添加濃度の 10 倍を超える場合 ( $D > 10 \times E$ ) は、ISTD を添加していないブランクマトリックス抽出物でサンプルを 10 倍に希釈し、適切な質量分析計で再測定を行う。

e. 推定濃度がスクリーンカットオフレベルと等しいまたは超える場合 ( $D \geq F$ )、試料は陽性である。

f. ブランク中の全ての定量イオンのピーク面積は、一連の測定の開始時に測定したポジティブコントロールの 10% 未満でなければならない。

g. 一連の測定の開始時に測定した標準溶液、ポジティブコントロール、及び一連の測定の最後に測定したポジティブコントロールは、分析対象化合物の 95% で b, c の全ての基準を満たさなければならない。関連する QC 試料でスクリーニング基準を満たさない化合物について陽性となった場合、追加試験が必要である。

## (5) 2002/657/EC (EU) <sup>5)</sup>

『分析法の性能基準、その他の要求事項および手順

### 1. 定義

1.35. 「スクリーニング分析法」とは、目的濃度において物質または物質クラスの存在を検出するために用いられる分析法をいう。このような分析法はサンプルのハイスループット能力を有し、大量のサンプルから不適合結果を示す可能性のあるサンプル

を選別するのに用いられる。この分析法は特に偽適合(陰性)結果を避けるようにデザインされている。

## 2. 分析法の性能基準およびその他の要求事項

### 2.2. スクリーニング分析法

指令 96/23/EC に準拠したスクリーニング目的には、妥当性が確認され、目的濃度において 5%未満の偽適合( $\beta$  過誤)率を示す分析法であることが、文書化された追跡可能な方法で証明できる分析法のみを使用するものとする。不適合結果が疑われる場合、この結果を確認分析法で確認するものとする。

### 3. バリデーション

バリデーションは、分析法が関連する性能特性に適用される基準に準拠していることを示すものとする。

異なる規制目的には、異なる種類の分析法が要求される。以下の表に分析法の種類ごとに検証すべき性能特性を規定する。

表 分析法の分類と測定が求められる性能特性

			判定限界 CC $\alpha$	真度/ 回収率	精度	選択性/ 特異性	適合性/ 頑健性/ 安定性
定性分 析法	S	+	-	-	-	+	+
	C	+	+	-	-	+	+
定量分 析法	S	+	-	-	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+

S = スクリーニング分析法、C = 確認分析法、+ = 測定が義務付けられる』

## (6) CRLs 2010 (EU)<sup>6)</sup>

### 『2. 定義

#### 2.2. スクリーニング標的濃度

スクリーニング標的濃度は、スクリーニング試験においてスクリーニング陽性と判定する濃度である。

- ・ スクリーニング標的濃度は基準値以下とする

(基準値の 1/2 濃度に設定するのが望ましい)。

- ・ 使用が禁止されている化合物や認可されていない化合物のスクリーニング標的濃度は最小要求性能限界(MRPL)以下としなければならない。

### 2.3. 検出能力 CC $\beta$

検出能力(CC $\beta$ )は、 $\beta$  の過誤確率をもって試料中の分析対象化合物の検出、同定および/または定量が可能となる最低含有量をいう。 $\beta$  過誤は、陽性の試料に対して陰性の結果が得られる確率である。スクリーニング試験の場合、 $\beta$  過誤(偽陰性率)は<5%であるべきである。基準値が設定されている試料の場合、CC $\beta$  は  $1-\beta$  の統計学的確かさをもって分析法が許容基準濃度を検出できる濃度である。CC $\beta$  は、偽陰性率が $\leq 5\%$ の濃度である。この場合、CC $\beta$  は基準値濃度以下でなければならない。

### 2.4. カットオフレベル

カットオフレベルは、スクリーニング分析のレスポンスまたはシグナルであり、試料がスクリーニング標的濃度以上の分析対象化合物を含むことを示す。カットオフレベルを超えた場合、確認試験を行う。

## 4. スクリーニング分析法の性能評価を行う上で従うべき原則

### 4.1. 必須要件

(定性または(半)定量)スクリーニング分析法に対する必須要件は、選択されたスクリーニング標的濃度で分析対象化合物を確実に検出し、偽陰性を回避する能力である。スクリーニング標的濃度は、分析対象化合物が基準値濃度で試料中に存在する場合、試料が「スクリーニング陽性」として確実に判定されるのに十分に低くあるべきである。性能評価は、この重要な要件が満たされているという客観的な証拠を提供するべきである。

## 5. 性能評価方法

## 5.1. 古典的アプローチによる特異性/選択性および検出能力 $CC\beta$ の決定

### 5.1.1. 性能評価に必要な試料数

各分析対象化合物のスクリーニング陽性試料(すなわち、スクリーニング標的濃度で添加した試料)の数は、要求される統計的信頼度、およびスクリーニング標的濃度と基準値の関係に依存する。基準値と比較してスクリーニング標的濃度が低いほど、基準値濃度で汚染された試料のスクリーニング判定において同程度の信頼性を与えるのに必要な試料数は少ない。

- ・スクリーニング標的濃度が基準値の 1/2 濃度の場合、少なくとも 20 のスクリーニング陽性試料を分析して偽陰性が 1 または 0 個であれば、 $CC\beta$  は基準値の 1/2 濃度以下である。
- ・スクリーニング標的濃度が基準値の 50~90% の場合、少なくとも 40 のスクリーニング陽性試料を分析して、偽陰性が 2 個以下であれば  $CC\beta$  は基準値以下である。
- ・スクリーニング標的濃度が、基準値に近い場合は、より多くのスクリーニング陽性試料を分析する必要がある。 $CC\beta$  がその目的に適合していることを実証するためには、最大 60 の試料を分析(偽陰性が 3 個以下)する必要がある。

### 5.1.2. カットオフレベルの同定と $CC\beta$ の計算

カットオフレベルを設定するために、ブランク試料に添加するスクリーニング標的濃度 ( $x_1$ ) は、理想的には基準値の 1/2 濃度に設定すべきである。不可能な場合は、基準値の 50~100% の濃度を選択すべきである。

マトリックスが牛の筋肉の場合、各試料は異なるバッチのものを用いる。信頼性の高い  $CC\beta$  を求め、特異性を評価するためには、少なくとも 60 個のブランク試料と 60 個の添加試料を分析する必要がある。

### ステップ 1

60 個のブランク試料に分析対象化合物を濃度  $x_1$  で添加する。

### ステップ 2

SOP に従って、60 個の添加試料と 60 個のブランク試料を分析する。これらの分析は、異なる日に行うべきであり、好ましくは異なる分析者によって行われるべきである。理想的には、方法を使用するときに遭遇する可能性のある全ての条件を模倣すべきである。

### ステップ 3

半定量スクリーニング分析法のカットオフレベルの設定方法は、後述するアプローチ I(付属文書)及びアプローチ II(付属文書)に示されている。

### ステップ 4

カットオフレベル以下の添加試料の数を確認する。60 個のうち 3 個(5%)以上の添加試料がカットオフレベルを下回っている場合、スクリーニング標的濃度は低すぎる。

### ステップ 5 $CC\beta$ の計算

60 個の添加試料を分析して偽陰性が 5% 以下となった場合、添加濃度(スクリーニング標的濃度)が分析法の検出能力  $CC\beta$  である(60 個の添加試料のうち、偽陰性が 3 個以下の濃度)。

### 5.1.3. スクリーニング分析法の適用性及び堅牢性の評価

#### 適用性

スクリーニング分析法を、性能評価を行ったマトリックスとは別のマトリックスに適用した場合、同じ  $CC\beta$  が得られるとは限らない。このため、新たに適用するマトリックスを用いて  $CC\beta$  を求めなければならない。

#### 検討スキーム

例：4 つの異なる種からの同じ種類のマトリックス(筋肉など)の場合

基準値がすべての種で同じであり、既に性能評価したマトリックスと同じである場合、CCβ は 20 個のブランク試料(1 種あたり 5 試料)及び同じ 20 個のブランク試料にスクリーニング標的濃度を添加した添加試料を分析して求める。

- ・ 20 個の添加試料がすべて陽性である(カットオフレベルを超える)場合、またはカットオフレベル以下が 1 個までの場合、新しいマトリックス(または種)は既に性能評価されたマトリックスと同じ CCβ を適用できる。
- ・ 陰性となった添加試料が 2 個以上ある場合、それらの種の CCβ は既に性能評価されたマトリックスの CCβ よりも大きいと推測される。そのような場合、スクリーニング分析法は新たに適用するマトリックスについて完全に性能評価すべきである(スクリーニング標的濃度を上げて、性能評価を行う)。

### 異なるマトリックスおよび／または異なる種への分析法の適用拡大

最初の性能評価試験で 1 つのマトリックス(例えば、牛の筋肉)に対して CCβ を求め、その分析法を同じ種または別の種の異なるマトリックス(例えば、肝臓)に適用する場合、ほぼ確実に顕著なマトリックス効果があり、同じ CCβ を新たなマトリックスに適用できるとは限らない。そのため、CCβ は新たに適用するマトリックスで求めなければならない。

この問題への一つのアプローチは、2002/657 / EC の 3.1.3 に示されているようなマトリックス包括的アプローチを使うことである。あるいは、20 個のブランク試料(例えば、豚肝臓)および同じ 20 個のブランク試料(豚肝臓)にスクリーニング標的濃度で添加した試料を分析することによって、それぞれの新しい種／マトリックスの組み合わせについて CCβ を求めることができる。この試験は、各分析対

象化合物、または各グループの代表的な分析対象化合物について実施すべきである。

### 5.2. マトリックス包括的アプローチによる特異性/選択性および検出能力(CCβ)の決定

マトリックス包括的アプローチによる性能評価方法は2002/657 / ECの3.1.3に示されている。この多因子アプローチを使用すると、性能評価に必要な分析数(因子-レベルの組み合わせ)を減らすことができる。』

### 10. 付属文書

CRLs 2010 の付属文書には、半定量スクリーニング分析法のカットオフレベルを設定するための 2 つのアプローチが示されている。

#### 『1. 半定量スクリーニング試験におけるカットオフレベルと CCβ の設定

##### 例 A (表 2)

MRL = 1.0 µg/ kg

望ましいスクリーニング標的濃度 = 0.5 µg/kg

20 個(またはその倍数)の異なるブランク試料を選択する。これらにスクリーニング標的濃度、この場合は 0.5 µg/ kg で添加する。

ブランク試料及び添加試料は、好ましくは異なる日に分析する。ブランク試料のレスポンスのうち、最大のレスポンスを選択する- この場合 0.137 units。添加試料のレスポンスのうち、最小のレスポンスを選択する- この場合、0.252 units。

示されている例では、添加試料のレスポンスとブランク試料のレスポンスの範囲は重ならないため、このスクリーニング分析法の CCβ は 0.5 µg/ kg 以下と言える。

示されている例では、最小のレスポンスが 0.252 であるため、カットオフレベルは 0.252 である。この値を超えるレスポンスを示す試料は全て「スクリーニング陽性」と見なされ、スクリーニング分析法の CCβ を超える。

スクリーニング試験においては、バッチ許容基準として、添加試料のレスポンスは 0.25 以上でなければならない。

#### 例 B (表 3)

MRL = 1.0 µg/ kg

望ましいスクリーニング標的濃度 = 0.5 µg/kg

この例では、ブランク試料の最大のレスポンスは 0.137 units であるが、添加試料の最小のレスポンスは 0.132 units である。この場合、2 つの母集団の間に 5% を超える重なりがある (2 つの添加試料のレスポンスが、ブランク試料のレスポンスの最大値よりも小さい)。

明確なカットオフレベルを設定することはできない (ブランク試料と添加試料のレスポンスの範囲が重なっているため)。これらのデータから、 $CC\beta$  は 0.5 µg/ kg より大きく、この分析法で 0.5 µg/ kg のスクリーニング標的濃度を確実に検出することはできないと推論することができる。分析法を改良するか、より高いスクリーニング標的濃度で性能評価を行う必要がある。

## 2. 半定量スクリーニングのためのカットオフレベルと $CC\beta$ の設定

### 閾値 T

$T = B + 1.64 \times SDb$  またはテクニカル閾値

B: ブランク試料のレスポンスの平均値、

SDb: ブランク試料のレスポンスの標準偏差

### カットオフ ファクター $Fm$

$Fm = M - 1.64 \times SD$

M: 添加試料のレスポンスの平均値

SD: 添加試料のレスポンスの標準偏差

$Fm > B$  の場合: 分析法の検出能力の妥当性が確認される

$B < Fm < T$  の場合: 偽陽性率は 5% より大きい

$Fm > T$  の場合: 偽陽性率は 5% 未満 』

## II. スクリーニング分析法の開発

### 1. 分析法の検討

#### (1) 試験溶液の調製

抽出は、QuEChERS 法の一つである European Committee for Standardization (CEN) Standard Method EN 15662 と同条件で行うこととした。

QuEChERS 法は定容操作がなく、内標を加えて補正を行う方法を採用しているが、本分析法では抽出液を正確に 10 mL に定容した後、一部を分取し、精製する方法とした。

QuEChERS 法では、精製方法として C18、PSA、グラファイトカーボン等の粉末状の固相を用いた分散固相抽出を採用している。この方法は、ミニカラム精製と比較して迅速且つ簡便で安価であるものの、精製効果は劣る。そこで本研究では、分散固相抽出と比較して精製効果が高いと考えられたシリカモノリススピнкаラムを用いた迅速且つ簡便な精製方法を検討した。シリカモノリスは、3次元網目構造をとっており、貫通孔であるスルーポア (数十 µm 程度) と細孔であるメソポア (数 nm 程度) を有しているため、高い空隙率を維持しながら、大きな表面積を持つ。シリカモノリススピнкаラムは従来のミニカラムと比較して①コンディショニング、洗浄、溶出等が遠心分離によってできるため、操作が簡便、②内部に液がほとんど残らないため、少量の溶媒で高回収率が得られる、③充填剤の溶出がない等の利点がある。

まず、4 種類のスピнкаラム (Monospin C18FF、Monospin C18、Monospin C18-AX、Monospin SAX) について、各農薬の回収率を比較した。スピнкаラムにアセトニトリル 100 µL を加え、遠心分離 (毎分 3000 回転、1 分間) し、コンディショニングを行った。これに、混合標準溶液 (アセトニトリル、1 µg/mL) 200 µL を負荷し、遠心分離 (毎分 3000 回転、1 分間) 後、アセトニトリルを加えて遠心分離

(毎分 3000 回転、1 分間)し、各農薬の回収率を求めた(表 4 及び 5)。その結果、imazalil、spinosyn A、spinosyn D 及び spiroxamine を除き、いずれのスピンカラムからもアセトニトリル 100  $\mu$ L で回収率 80%以上が得られた。

次に、ほうれんそうの抽出液を用いて各スピンカラムでの精製効果を比較した。その結果、Monospin C18 や Monospin C18FF では緑色色素が除去されたのに対し、Monospin C18-AX や Monospin SAX では緑色色素の除去効果が低かった。Monospin C18 及び Monospin C18FF では色素の除去効果に大きな差は認められなかった。このため、本研究では Monospin C18 を用いて精製を行うこととした。確立した試験溶液の調製方法を図 1 示した。

## (2) 添加回収試験

りんご及びほうれんそうを用いて、130 農薬について添加濃度 0.01 ppm で 5 併行の添加回収試験を行った。定量は回収率 100%相当のマトリックス標準溶液(1 点)を用いて行った。真度及び併行精度の結果を表 6 に示した。りんご及びほうれんそうのいずれも fenpropimorph を除き、妨害ピークは認められなかった。真度が 70%未満となった化合物はりんご 3 化合物、ほうれんそう 2 化合物、併行精度 25%以上となった化合物はりんご 4 化合物であった。ほうれんそうでは併行精度 25%以上となった化合物はなかった。

## III. 性能評価方法への分析データの適用検討

調査した海外の残留農薬等分析法のガイドライン<sup>1~3, 5, 6)</sup>ではいずれもスクリーニング分析について言及しているが、CRLs 2010(EU)<sup>6)</sup>を除き、性能評価方法の詳しい手順については示されていない。そこで、CRLs 2010(EU)<sup>6)</sup>に示されている性能評価方法を分析データに適用し、問題点等を考察し

た後、性能評価方法及び性能要件を提案することとした。

適用検討は、平成 27 年度に行った LC-TOF-MS を用いた動物用医薬品一斉分析法の妥当性評価試験データ<sup>7)</sup>を用いて行った。CRLs 2010(EU)<sup>6)</sup>では、カットオフレベルを設定する方法として、2 つの方法(I 及び II)を示している。本検討では統計学的方法である II を用いることとした。CRLs 2010(EU)<sup>6)</sup>では分析対象化合物のレスポンスを用いて評価しているが、LC-MS(/MS)や GC-MS(/MS)では測定感度が変動するため、標準溶液に対するピーク面積比を用いて評価した。また、CRLs 2010(EU)<sup>6)</sup>では食品毎に性能評価を行うこととなっているが、本検討では牛乳及び牛肉の 2 食品のデータ(1 食品につきブランク試料及び添加試料各 10 試料)を用いた。スクリーニング濃度は 0.01 ppm とし、動物用医薬品 81 化合物を対象とした。CRLs 2010(EU)<sup>6)</sup>と同様に、カットオフ値(C)は  $C = S_{\text{Average}} - 1.64 \times S_{\text{SD}}$  とし、性能要件は  $C > T$  (偽陰性率 5%未満、偽陽性率 5%未満)とした。

代表的な結果を図 2~4 に示した。アザペロン(図 2)は  $C > T$  であり、CRLs 2010(EU)<sup>6)</sup>の性能要件を満たした。一方、オラキンドックス(図 3)は牛肉においてマトリックスの影響を大きく受けて  $C < T$  となり、性能要件を満たさなかった。牛肉において定量を妨害するピークが認められたスルファチアゾール(図 4)も  $C = T$  となり、性能要件を満たさなかった。牛乳のデータのみを用いて評価した場合は、オラキンドックス、スルファチアゾールのいずれも  $C > T$  となり、性能要件を満たした。これらの結果から、回収率やマトリックスの影響、選択性は食品によって大きく異なる場合があるため、スクリーニング分析法の性能評価は食品毎に行う必要があると考えられた。

カットオフ値(C)の下限值



図 5 に回収率が低いダノフロキサシンの結果を示した。C は低いものの、 $C > T$  であり、CRLs 2010 (EU)<sup>6)</sup>では C の下限値は設定されていないため、性能要件を満たしている。しかし、添加試料のピーク面積が標準溶液のピーク面積と比べて非常に小さい場合、定量性が低くなるため、C の下限値を設定した方がよいと考えられた。C は 0.2 程度がよいと考えられる。

#### 偽陰性率

CRLs 2010 (EU)<sup>6)</sup>では、偽陰性率 5%未満となるように  $C = S_{\text{Average}} - 1.64 \times S_{\text{SD}}$  としている。しかし、 $C = S_{\text{Average}} - 1.64 \times S_{\text{SD}}$  としても、一部の化合物では添加試料 20 試料のうち、2 試料のピーク面積比が C よりも低い値となった(図 6)。

$C = S_{\text{Average}} - 1.64 \times S_{\text{SD}}$  (偽陰性率 5%未満)とした場合、検討した 81 化合物中 40 化合物で C よりピーク面積比が低い試料が 1 試料以上あった(図 7)。6 化合物は C よりピーク面積比が低い試料が 2 試料あった。一方、 $C = S_{\text{Average}} - 2.33 \times S_{\text{SD}}$  (偽陰性率 1%未満)とした場合、C よりピーク面積比が低い試料があったのは 81 化合物中 5 化合物のみであり、いずれも 1 試料のみであった。これらの結果から  $C = S_{\text{Average}} - 2.33 \times S_{\text{SD}}$  (偽陰性率 1%未満)とするのがよいと考えられた。

#### 偽陽性率

調査したガイドライン<sup>1,3,5,6)</sup>のうち、偽陽性率の許容範囲を設定しているのは CRLs 2010 (EU)<sup>6)</sup>のみであった。偽陽性があっても確定試験を行えば正しい判定は可能である。しかし、確定試験が必要な化合物/検体が多いと検査の効率は向上しない。このため、CRLs 2010 (EU)<sup>6)</sup>の方法と同様に偽陽性率 5%未満となるように性能要件 ( $T = B_{\text{Average}} + 1.64 \times B_{\text{SD}}$ ,  $C > T$ )を設定するのがよいと考えられた。

#### 感度

CRLs 2010 (EU)<sup>6)</sup>の性能評価方法では、感度が非常に低い場合でも、 $C > T$  を満たせば、性能要件を満たす。しかし、非常に感度が低い場合、定量性は低いと考えられることから、「添加試料のピークは  $S/N \geq 10$  であること」を性能要件に加えるのがよいと考えられた。

#### 試料数

CRLs 2010 (EU)<sup>6)</sup>の性能評価方法では、スクリーニング標的濃度が基準値の 1/2 の場合、試料数はブランク試料及び添加試料各 20 試料としている。試料数を多くすれば信頼性の高い評価が可能であるが、性能評価に時間を要する。このため、試料数はブランク試料及び添加試料各 10 試料以上とするのが良いと考えられた。

表 7 及び表 8 に各性能要件(①~④)での性能評価結果を示した。また、図 8 にスクリーニング分析法の性能評価方法及び妥当性評価ガイドライン<sup>8)</sup>による評価での適合化合物数を示した。スクリーニング分析法の性能評価では性能要件を厳しくすると不適合となる化合物数が増加したが、性能要件が最も厳しい④( $C > T$ ,  $C \geq 0.2$ 、添加試料のピーク  $S/N \geq 10$  (ただし  $C = S_{\text{Average}} - 2.33 \times S_{\text{SD}}$ ))を用いた場合においても、妥当性評価ガイドライン<sup>8)</sup>に従った評価と比較して不適合となる化合物数は 4 割以下と少なかった。

#### IV. 性能評価方法及び性能要件の提案

分析データの適用検討の結果を基に、以下にスクリーニング分析法の性能評価方法及び性能要件を提案する。性能要件は、残留濃度が基準値の 1/2 以上の試料を「陽性」と判定(偽陰性率 1%未満及び偽陽性率 5%未満)できるように設定した。

##### (1) 性能評価方法

農薬等を含まない試料(ブランク試料)及び農薬

等を添加した試料(添加試料)を各 10 試料以上分析し、標準溶液に対するピーク面積比から①閾値(T)及び②カットオフ値(C)を求め、(2)性能要件に適合していることを確認する。添加濃度(スクリーニング濃度)は基準値の 1/2 濃度とする。性能評価は食品毎に行う。異なる試料を用いて、異なる日に実施するのが望ましい。

#### ①閾値(T)

$$T = B_{\text{Average}} + 1.64 \times B_{\text{SD}}$$

$B_{\text{Average}}$  : ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の平均値

$B_{\text{SD}}$  : ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の標準偏差  
(ブランク試料にピークがない場合は  $T=0$  とする)

#### ②カットオフ値(C)

$$C = S_{\text{Average}} - 2.33 \times S_{\text{SD}}$$

$S_{\text{Average}}$  : 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の平均値

$S_{\text{SD}}$  : 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の標準偏差

#### (2)性能要件

以下の性能を有する分析法とする。

- $C > T$
- $C \geq 0.2$
- 添加試料から得られるピークは  $S/N \geq 10$

#### (3)判定基準

試料を分析し、基準値の 1/2 に相当する濃度の標準溶液に対するピーク面積比がカットオフ値(C)以上となった場合、「陽性」とする。陽性となった場合、妥当性が確認された定量分析法での確定試験を行う。

なお、スクリーニング濃度は、基準値の 1/2 濃度より低い濃度でもよいが、残留濃度が基準値より低い試料を陽性と判定してしまう可能性が高くなる。また、カットオフ値(C)は  $C < S_{\text{Average}} - 2.33 \times S_{\text{SD}}$  とし

てもよいが、残留濃度が基準値より低い試料を陽性と判定してしまう可能性が高くなる。

## D. 結論

スクリーニング分析法の性能評価方法を確立するため、海外の残留農薬等分析法のガイドラインのスクリーニング分析に関する項目を調査した。調査したガイドラインのうち、2002/657/EC<sup>5)</sup>の付属文書 CRLs 2010<sup>6)</sup>を参考にして、残留濃度が基準値の 1/2 以上の試料を「陽性」と判定(偽陰性率 1%未満及び偽陽性率 5%未満)できるように性能評価方法及び性能要件を設定した。本方法によって評価した分析法でスクリーニング分析を行い、基準値超過の疑いがある検体のみ、精確に定量可能な分析法で確定試験を行えば、検査の迅速化・効率化を図ることができると考えられる。

## E. 参考文献

- 1) European Commission, Directorate General for Health and Food Safety, SANTE/11813/2017, Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. 21 – 22 November 2017 rev.0.
- 2) Codex Alimentarius Commission, CAC/GL 90-2017, Guidelines on performance criteria for methods of analysis for the determination of pesticide residues in food and feed. Adopted in 2017.
- 3) Codex Alimentarius Commission, CAC/GL 71-2009, Guidelines for the design and implementation of national regulatory food safety assurance programme associated with the use of veterinary drugs in food producing animals. Adopted 2009. Revision 2012, 2014.
- 4) United States Department of Agriculture

Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health Science. CLG-PST5.07. Screening for Pesticides by LC/MS/MS and GC/MS/MS. Revision: .07. 03/14/2016.

5) Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and interpretation of results (2002/657/EC). Off. J. Eur. Commun. L221:8–36.

6) Community Reference Laboratories Residues (CRLs) 20/1/2010. Guideline for the validation of screening methods for residues of veterinary medicines (initial validation and transfer).

7) 厚生労働科学研究補助金 食品の安全確保推進研究事業 「食品中残留農薬等の安全性確保に関する研究」、平成 27 年度総括・分担研究報告書

8) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 「食品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について」平成 19 年 11 月 15 日、食安発第 1115001 号(平成 22 年 12 月 24 日一部改正、食安発 1224 第 1 号)

## F. 研究発表

1. Saito-Shida S., Nemoto S., Teshima R., Akiyama H. • Quantitative analysis of pesticide residues in vegetables and fruits by liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry. • Food Addit. Contam. A • 2016 • 33 (119-127)

2. Saito-Shida S., Sakai T., Nemoto S., Akiyama H. • Quantitative analysis of veterinary drugs in bovine muscle and milk by liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry. • Food Addit. Contam. A • 2017 • 34 (1153-1161)

3. Saito-Shida S., Hamasaka T., Nemoto S., Akiyama H. • Multiresidue determination of pesticides in tea by liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry: Comparison between Orbitrap and time-of-flight mass analyzers. • Food Chemistry • 2018 • 256 (140–148)

G. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

表 1 検討化合物の保持時間及び定量イオン

	化合物	組成式	保持時間 (分)	イオン	計算精密質量 ( <i>m/z</i> )
1	Acetamidrid	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub>	5.5	[M + H] <sup>+</sup>	223.0745
2	Acibenzolar- <i>S</i> -methyl	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> OS <sub>2</sub>	9.1	[M + H] <sup>+</sup>	210.9994
3	Acrinathrin	C <sub>26</sub> H <sub>21</sub> F <sub>6</sub> NO <sub>5</sub>	10.9	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	559.1662
4	Ametryn	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> N <sub>5</sub> S	8.8	[M + H] <sup>+</sup>	228.1277
5	Anilofos	C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> ClNO <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>	9.6	[M + H] <sup>+</sup>	368.0305
6	Atrazine	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>5</sub>	8.1	[M + H] <sup>+</sup>	216.1010
7	Azoxystrobin	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	8.6	[M + H] <sup>+</sup>	404.1241
8	Benalaxyl	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>	9.7	[M + H] <sup>+</sup>	326.1751
9	Benzofenap	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	10.3	[M + H] <sup>+</sup>	431.0924
10	Bitertanol	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	9.8	[M + H] <sup>+</sup>	338.1863
11	Bromacil	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> BrN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	7.1	[M + H] <sup>+</sup>	261.0233
12	Boscalid	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	8.7	[M + H] <sup>+</sup>	343.0399
13	Buprofezin	C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> OS	10.4	[M + H] <sup>+</sup>	306.1635
14	Butafenacil	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	9.0	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	492.1144
15	Cadusafos	C <sub>10</sub> H <sub>23</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>	10.0	[M + H] <sup>+</sup>	271.0950
16	Carpropamid	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>3</sub> NO	9.6	[M + H] <sup>+</sup>	334.0527
17	Chlorfenvinphos	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>4</sub> P	9.6, 9.8	[M + H] <sup>+</sup>	358.9768
18	Chloridazon	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>3</sub> O	5.6	[M + H] <sup>+</sup>	222.0429
19	Chloroxuron	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	9.0	[M + H] <sup>+</sup>	291.0895
20	Chlorpyrifos	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS	10.7	[M + H] <sup>+</sup>	349.9336
21	Chromafenozide	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	9.1	[M + H] <sup>+</sup>	395.2329
22	Clomeprop	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	10.4	[M + H] <sup>+</sup>	324.0553
23	Cloquintocet mexyl	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> ClNO <sub>3</sub>	10.5	[M + H] <sup>+</sup>	336.1361
24	Cumyluron	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> ClN <sub>2</sub> O	9.0	[M + H] <sup>+</sup>	303.1259
25	Cyanazine	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>6</sub>	6.9	[M + H] <sup>+</sup>	241.0963
26	Clothianidin	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub> S	5.1	[M + H] <sup>+</sup>	250.0160
27	Cyazofamid	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	9.3	[M + H] <sup>+</sup>	325.0521
28	Cycloprothrin	C <sub>26</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>4</sub>	10.8	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	499.1186
29	Cyflufenamid	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> F <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	9.7	[M + H] <sup>+</sup>	413.1283
30	Cyproconazole	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>3</sub> O	8.8, 9.0	[M + H] <sup>+</sup>	292.1211
31	Cyprodinil	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub>	9.9	[M + H] <sup>+</sup>	226.1339
32	Daimuron	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O	8.9	[M + H] <sup>+</sup>	269.1648
33	Diazinon	C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS	9.8	[M + H] <sup>+</sup>	305.1083
34	Difenoconazole	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	9.9, 10.0	[M + H] <sup>+</sup>	406.0720
35	Diflubenzuron	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> ClF <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	9.4	[M + H] <sup>+</sup>	311.0393
36	Diflufenican	C <sub>19</sub> H <sub>11</sub> F <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	10.1	[M + H] <sup>+</sup>	395.0813
37	Dimethirimol	C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O	7.8	[M + H] <sup>+</sup>	210.1601
38	Dimethoate	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>	5.4	[M + H] <sup>+</sup>	230.0069
39	Dimethomorph	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> ClNO <sub>4</sub>	8.6, 8.8	[M + H] <sup>+</sup>	388.1310
40	Diuron	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	8.1	[M + H] <sup>+</sup>	233.0243

表 1 (つづき)

	化合物	組成式	保持時間 (分)	イオン	計算精密質量 ( <i>m/z</i> )
41	Edifenphos	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>	9.7	[M + H] <sup>+</sup>	311.0324
42	Epoxiconazole	C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> ClFN <sub>3</sub> O	9.2	[M + H] <sup>+</sup>	330.0804
43	Ethion	C <sub>9</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> P <sub>2</sub> S <sub>4</sub>	10.5	[M + H] <sup>+</sup>	384.9949
44	Ethiprole	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>3</sub> N <sub>4</sub> OS	8.5	[M + H] <sup>+</sup>	396.9899
45	Etoazole	C <sub>21</sub> H <sub>23</sub> F <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	10.8	[M + H] <sup>+</sup>	360.1770
46	Etrimfos	C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> PS	9.8	[M + H] <sup>+</sup>	293.0719
47	Fenamidone	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> OS	8.6	[M + H] <sup>+</sup>	312.1165
48	Fenarimol	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	9.2	[M + H] <sup>+</sup>	331.0399
49	Fenbuconazole	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>4</sub>	9.2	[M + H] <sup>+</sup>	337.1215
50	Fenobucarb	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	8.5	[M + H] <sup>+</sup>	208.1332
51	Fenoxaprop ethyl	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> ClNO <sub>5</sub>	10.2	[M + H] <sup>+</sup>	362.0790
52	Fenoxycarb	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>	9.4	[M + H] <sup>+</sup>	302.1387
53	Fenpropathrin	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>	10.8	[M + H] <sup>+</sup>	350.1751
54	Fenpropimorph	C <sub>20</sub> H <sub>33</sub> NO	11.4	[M + H] <sup>+</sup>	304.2635
55	Flamprop methyl	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> ClFNO <sub>3</sub>	8.9	[M + H] <sup>+</sup>	336.0797
56	Fludioxonil	C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	8.8	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	266.0736
57	Flufenacet	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> F <sub>4</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	9.1	[M + H] <sup>+</sup>	364.0737
58	Fluquinconazole	C <sub>16</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> FN <sub>5</sub> O	9.1	[M + H] <sup>+</sup>	376.0163
59	Fluridone	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> F <sub>3</sub> NO	8.6	[M + H] <sup>+</sup>	330.1100
60	Furametpyr	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	7.9	[M + H] <sup>+</sup>	334.1317
61	Hexythiazox	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	10.6	[M + H] <sup>+</sup>	353.1085
62	Imazalil	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	9.6	[M + H] <sup>+</sup>	297.0556
63	Imibenconazole	C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>4</sub> S	10.4	[M + H] <sup>+</sup>	410.9999
64	Indanofan	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> ClO <sub>3</sub>	9.3	[M + H] <sup>+</sup>	341.0939
65	Indoxacarb	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	9.9	[M + H] <sup>+</sup>	528.0780
66	Iprovalicarb	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	9.0	[M + H] <sup>+</sup>	321.2173
67	Isoprocab	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>	7.9	[M + H] <sup>+</sup>	194.1176
68	Isoxathion	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> NO <sub>4</sub> PS	10.0	[M + H] <sup>+</sup>	314.0610
69	Lactofen	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> ClF <sub>3</sub> NO <sub>7</sub>	10.3	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	479.0827
70	Linuron	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	8.7	[M + H] <sup>+</sup>	249.0192
71	Malathion	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O <sub>6</sub> PS <sub>2</sub>	8.9	[M + H] <sup>+</sup>	331.0433
72	Mepanipyrim	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub>	9.5	[M + H] <sup>+</sup>	224.1182
73	Metalaxyl	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	8.0	[M + H] <sup>+</sup>	280.1543
74	Methabenzthiazuron	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> OS	8.1	[M + H] <sup>+</sup>	222.0696
75	Methiocarb	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub> S	8.7	[M + H] <sup>+</sup>	226.0896
76	Metolachlor	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> ClNO <sub>2</sub>	9.3	[M + H] <sup>+</sup>	284.1412
77	Monolinuron	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	7.7	[M + H] <sup>+</sup>	215.0582
78	Myclobutanil	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>4</sub>	8.8	[M + H] <sup>+</sup>	289.1215
79	Naproanilide	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	9.5	[M + H] <sup>+</sup>	292.1332
80	Napropamide	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>2</sub>	9.3	[M + H] <sup>+</sup>	272.1645

表 1 (つづき)

	化合物	組成式	保持時間 (分)	イオン	計算精密質量 ( <i>m/z</i> )
81	Norflurazon	C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O	8.2	[M + H] <sup>+</sup>	304.0459
82	Novaluron	C <sub>17</sub> H <sub>9</sub> ClF <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	10.1	[M + H] <sup>+</sup>	493.0196
83	Oxadixyl	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	6.7	[M + H] <sup>+</sup>	279.1339
84	Oxaziclomefone	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	10.2	[M + H] <sup>+</sup>	376.0866
85	Paclobutrazol	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>3</sub> O	8.7	[M + H] <sup>+</sup>	294.1368
86	Penconazole	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub>	9.5	[M + H] <sup>+</sup>	284.0716
87	Pencycuron	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O	9.9	[M + H] <sup>+</sup>	329.1415
88	Phenthoate	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> O <sub>4</sub> PS <sub>2</sub>	9.6	[M + H] <sup>+</sup>	321.0379
89	Phosalone	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> ClNO <sub>4</sub> PS <sub>2</sub>	9.8	[M + H] <sup>+</sup>	367.9941
90	Phosphamidon	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> ClNO <sub>3</sub> P	6.7	[M + H] <sup>+</sup>	300.0762
91	Piperonyl butoxide	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	10.5	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	356.2431
92	Pirimicarb	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	7.9	[M + H] <sup>+</sup>	239.1503
93	Pirimiphos methyl	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS	10.0	[M + H] <sup>+</sup>	306.1036
94	Prochloraz	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	9.8	[M + H] <sup>+</sup>	376.0381
95	Profenofos	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> BrClO <sub>3</sub> PS	10.3	[M + H] <sup>+</sup>	372.9424
96	Prometryn	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> S	9.3	[M + H] <sup>+</sup>	242.1434
97	Propachlor	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> ClNO	8.1	[M + H] <sup>+</sup>	212.0837
98	Propanil	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>2</sub> NO	8.7	[M + H] <sup>+</sup>	218.0134
99	Propaquizafop	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	10.4	[M + H] <sup>+</sup>	444.1321
100	Propargite	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub> S	10.7	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	368.1890
101	Propiconazole	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	9.6	[M + H] <sup>+</sup>	342.0771
102	Propyzamide	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NO	8.9	[M + H] <sup>+</sup>	256.0290
103	Pyraclufos	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS	9.8	[M + H] <sup>+</sup>	361.0537
104	Pyraclostrobin	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	9.9	[M + H] <sup>+</sup>	388.1059
105	Pyrazophos	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> PS	10.0	[M + H] <sup>+</sup>	374.0934
106	Pyrifthalid	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S	8.6	[M + H] <sup>+</sup>	319.0747
107	Pyrimethanil	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub>	9.0	[M + H] <sup>+</sup>	200.1182
108	Pyriproxyfen	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>	10.7	[M + H] <sup>+</sup>	322.1438
109	Quinalphos	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS	9.7	[M + H] <sup>+</sup>	299.0614
110	Quinoxifen	C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> FNO	10.8	[M + H] <sup>+</sup>	308.0040
111	Quizalofop ethyl	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	10.3	[M + H] <sup>+</sup>	373.0950
112	Simazine	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> ClN <sub>5</sub>	7.3	[M + H] <sup>+</sup>	202.0854
113	Simeconazole	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> FN <sub>3</sub> OSi	9.0	[M + H] <sup>+</sup>	294.1432
114	Spinosyn A	C <sub>41</sub> H <sub>65</sub> NO <sub>10</sub>	11.4	[M + H] <sup>+</sup>	732.4681
115	Spinosyn D	C <sub>42</sub> H <sub>67</sub> NO <sub>10</sub>	11.6	[M + H] <sup>+</sup>	746.4838
116	Spiroxamine	C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> NO <sub>2</sub>	10.4, 10.5	[M + H] <sup>+</sup>	298.2741
117	Tebuconazole	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>3</sub> O	9.5	[M + H] <sup>+</sup>	308.1524
118	Tebufenpyrad	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> ClN <sub>3</sub> O	10.3	[M + H] <sup>+</sup>	334.1681
119	Tebuthiuron	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> OS	7.3	[M + H] <sup>+</sup>	229.1118
120	Terbutryn	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> S	9.4	[M + H] <sup>+</sup>	242.1434

表 1 (つづき)

	化合物	組成式	保持時間 (分)	イオン	計算精密質量 ( <i>m/z</i> )
121	Tetrachlorvinphos	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>4</sub> O <sub>4</sub> P	9.4	[M + H] <sup>+</sup>	366.9036
122	Tetraconazole	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>4</sub> N <sub>3</sub> O	9.1	[M + H] <sup>+</sup>	372.0288
123	Thiacloprid	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> ClN <sub>4</sub> S	6.1	[M + H] <sup>+</sup>	253.0309
124	Tolfenpyrad	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	10.5	[M + H] <sup>+</sup>	384.1473
125	Triadimefon	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	8.9	[M + H] <sup>+</sup>	294.1004
126	Triazophos	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS	9.1	[M + H] <sup>+</sup>	314.0723
127	Trifloxystrobin	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	10.1	[M + H] <sup>+</sup>	409.1370
128	Triflumizole	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O	10.1	[M + H] <sup>+</sup>	346.0929
129	Triflumuron	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	9.7	[M + H] <sup>+</sup>	359.0405
130	Triticonazole	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>3</sub> O	9.0	[M + H] <sup>+</sup>	318.1368

表 2 半定量スクリーニング試験におけるカットオフレベルと CCβ の設定 (例 A)

Sample number	Negative samples	Spike sample (0.5 µg/kg)
1	0	0.355
2	0.09	<u>0.252</u>
3	0	0.532
4	0	0.554
5	0	0.408
6	0.07	0.501
7	0	0.524
8	0.015	0.559
9	0	0.471
10	0.01	0.661
11	0.07	0.642
12	0.129	0.724
13	0.046	0.596
14	0.034	0.599
15	0.041	0.64
16	<u>0.137</u>	0.75
17	0.112	0.655
18	0.12	0.66
19	0.132	0.695
20	0.063	0.635

表 3 半定量スクリーニング試験におけるカットオフレベルと CCβ の設定 (例 B)

Sample number	Negative samples	Spike sample (0.5 µg/kg)
1	0	0.355
2	0.09	<u>0.132</u>
3	0	0.532
4	0	0.554
5	0	<u>0.135</u>
6	0.07	0.501
7	0	0.524
8	0.015	0.559
9	0	0.471
10	0.01	0.661
11	0.07	0.642
12	0.129	0.724
13	0.046	0.596
14	0.034	0.599
15	0.041	0.64
16	<u>0.137</u>	0.75
17	0.112	0.655
18	0.12	0.66
19	0.132	0.695
20	0.063	0.635



表4 スピノカラム(C18FF、C18)からの回収率(%)

化合物	C18FF			合計	C18			合計	
	Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3		Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3		
	負荷液 +0.1 mL	0.1~0.2 mL	0.2~0.3 mL		負荷液 +0.1 mL	0.1~0.2 mL	0.2~0.3 mL		
1	Acetamiprid	92	0	0	92	92	0	0	92
2	Acibenzolar-S-methyl	95	0	0	95	88	0	0	88
3	Acrinathrin	96	0	0	96	92	0	0	92
4	Ametryn	94	0	0	95	92	0	0	93
5	Anilofos	97	0	0	98	93	0	0	93
6	Atrazine	93	0	0	94	93	0	0	93
7	Azoxystrobin	97	0	0	97	94	0	0	95
8	Benalaxyl	97	0	0	97	94	0	0	95
9	Benzofenap	97	0	0	97	93	0	0	94
10	Bitertanol	100	0	0	100	93	0	0	93
11	Bromacil	97	0	0	97	94	0	0	94
13	Buprofezin	100	0	0	100	96	0	0	96
14	Butafenacil	98	0	0	98	94	0	0	94
15	Cadusafos	96	0	0	96	94	1	0	94
16	Carpropamid	99	0	0	99	95	0	0	95
17	Chlorfenvinphos	98	0	0	98	95	0	0	95
18	Chloridazon	94	0	0	94	93	0	0	94
19	Chloroxuron	97	0	0	97	95	0	0	96
20	Chlorpyrifos	94	0	0	94	84	0	0	84
21	Chromafenozide	101	0	0	101	92	0	0	92
22	Clomeprop	98	0	0	98	95	0	0	95
23	Cloquintocet mexyl	100	0	0	100	94	0	0	94
25	Cumyluron	96	0	0	96	94	0	0	94
26	Cyanazine	94	0	0	94	93	0	0	93
27	Cyazofamid	97	0	0	98	94	0	0	94
28	Cycloprothrin	96	0	0	96	91	0	0	91
29	Cyflufenamid	98	0	0	98	95	0	0	95
30	Cyproconazole	96	0	0	96	93	0	0	94
31	Cyprodinil	95	0	0	95	94	0	0	94
32	Daimuron	96	0	0	96	94	0	0	94
33	Diazinon	95	0	0	95	91	0	0	92
34	Difenoconazole	97	0	0	97	94	0	0	94
35	Diiflubenzuron	99	0	0	99	95	0	0	95
36	Diiflufenican	99	0	0	99	93	0	0	93
37	Dimethirimol	94	1	0	95	93	1	0	94
38	Dimethoate	94	0	0	94	93	0	0	94
39	Dimethomorph	97	0	0	97	93	0	0	93
40	Diuron	95	0	0	95	96	0	0	96
41	Edifenphos	97	0	0	97	95	0	0	95
42	Epoxiconazole	97	0	0	97	94	0	0	94
43	Ethion	97	0	0	97	91	0	0	91
44	Ethiprole	96	0	0	96	93	0	0	94
45	Etoxazole	97	0	0	98	95	0	0	95
46	Etrimfos	96	0	0	96	86	0	0	86
47	Fenamidone	97	0	0	97	95	0	0	95
48	Fenarimol	96	0	0	96	91	0	0	91
49	Fenbuconazole	97	0	0	97	93	0	0	93
50	Fenobucarb	94	0	0	94	90	0	0	90

表 4 (つづき)

化合物	C18FF				C18				
	Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3	合計	Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3	合計	
	負荷液 +0.1 mL	0.1~0.2 mL	0.2~0.3 mL		負荷液 +0.1 mL	0.1~0.2 mL	0.2~0.3 mL		
51	Fenoxaprop ethyl	97	0	0	98	94	0	0	94
52	Fenoxycarb	98	0	0	98	95	0	0	95
53	Fenpropathrin	93	0	0	93	91	0	0	91
54	Fenpropimorph	114	0	0	114	96	0	0	96
55	Flamprop methyl	97	0	0	97	95	0	0	95
56	Fludioxonil	101	0	0	101	95	0	0	95
57	Flufenacet	97	0	0	97	94	0	0	94
58	Fluquinconazole	97	0	0	97	92	0	0	93
59	Fluridone	96	0	0	96	95	0	0	95
60	Furametpyr	96	1	0	97	94	0	0	95
61	Hexythiazox	93	0	0	93	93	0	0	93
62	Imazalil	93	5	2	99	93	2	0	96
63	Imibenconazole	98	0	0	98	92	0	0	92
64	Indanofan	98	0	0	98	94	0	0	94
65	Indoxacarb	99	0	0	99	95	0	0	95
66	Iprovalicarb	98	0	0	98	93	0	0	93
67	Isoproc carb	93	0	0	93	92	0	0	92
68	Isoxathion	97	0	0	97	98	0	0	98
69	Lactofen	97	0	0	97	93	0	0	94
70	Linuron	95	0	0	95	94	0	0	94
71	Malathion	97	0	0	97	94	0	0	94
72	Mepanipyrim	95	0	0	96	94	0	0	94
73	Metalaxyl	95	0	0	95	93	0	0	93
74	Methabenzthiazuron	95	0	0	95	94	0	0	94
75	Methiocarb	98	1	0	99	93	0	0	93
76	Metolachlor	97	0	0	97	94	0	0	94
77	Monolinuron	94	0	0	94	92	0	0	92
78	Myclobutanil	95	0	0	95	93	0	0	93
79	Naproanilide	96	0	0	96	94	0	0	94
80	Napropamide	97	0	0	97	93	0	0	94
81	Norflurazon	96	0	0	96	95	0	0	96
82	Novaluron	99	0	0	99	91	0	0	91
83	Oxadixyl	96	0	0	96	93	0	0	93
84	Oxaziclomefone	97	0	0	97	94	0	0	94
85	Paclobutrazol	96	0	0	96	94	0	0	94
86	Penconazole	96	0	0	96	91	0	0	92
87	Pencycuron	97	0	0	97	95	0	0	95
88	Phenthoate	98	0	0	99	95	0	0	95
89	Phosalone	97	0	0	97	95	0	0	95
90	Phosphamidon	96	0	0	96	92	0	0	92
91	Piperonyl butoxide	100	0	0	100	94	0	0	95
92	Pirimicarb	95	0	0	95	93	0	0	93
93	Pirimiphos methyl	98	0	0	98	93	0	0	93
94	Prochloraz	99	0	0	100	96	0	0	97
95	Profenofos	96	0	0	96	93	0	0	94
96	Prometryn	95	0	0	96	93	0	0	93
97	Propachlor	94	0	0	94	93	0	0	93
98	Propanil	96	0	0	97	95	0	0	95
99	Propaquizafop	99	0	0	99	95	0	0	95
100	Propargite	94	1	0	95	83	0	0	83

表 4 (つづき)

化合物	C18FF				C18				
	Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3	合計	Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3	合計	
	負荷液 +0.1 mL	0.1~0.2 mL	0.2~0.3 mL		負荷液 +0.1 mL	0.1~0.2 mL	0.2~0.3 mL		
101	Propiconazole	96	0	0	97	94	0	0	94
102	Propyzamide	96	0	0	96	93	0	0	93
103	Pyraclofos	97	0	0	97	95	0	0	95
104	Pyraclostrobin	96	0	0	97	95	0	0	96
105	Pyrazophos	96	0	0	96	93	0	0	94
106	Pyrifthalid	97	0	0	97	95	0	0	95
107	Pyrimethanil	94	0	0	94	92	0	0	92
108	Pyriproxyfen	96	0	0	96	90	0	0	90
109	Quinalphos	95	0	0	95	93	0	0	93
110	Quinoxifen	96	0	0	96	92	0	0	92
111	Quizalofop ethyl	98	0	0	98	95	0	0	95
112	Simazine	92	0	0	93	92	0	0	92
113	Simeconazole	97	0	0	97	95	0	0	95
114	Spinosyn A	86	4	2	92	83	5	1	90
115	Spinosyn D	81	5	1	87	82	5	2	89
116	Spiroxamine	58	10	5	73	59	15	7	81
117	Tebuconazole	97	0	0	97	93	0	0	93
118	Tebufenpyrad	96	0	0	96	93	0	0	93
119	Tebuthiuron	94	0	0	95	92	0	0	92
120	Terbutryn	96	0	0	97	94	0	0	94
121	Tetrachlorvinphos	97	0	0	98	95	0	0	95
122	Tetraconazole	97	0	0	97	93	0	0	93
123	Thiacloprid	95	0	0	95	94	0	0	94
124	Tolfenpyrad	99	0	0	99	94	0	0	94
125	Triadimefon	95	0	0	96	93	0	0	93
126	Triazophos	98	0	0	98	94	0	0	94
127	Trifloxystrobin	98	0	0	98	94	0	0	94
128	Triflumizole	95	0	0	95	89	1	0	90
129	Triflumuron	99	0	0	99	95	0	0	95
130	Triticonazole	97	0	0	97	94	0	0	94

表5 スピンカラム(C18-AX、SAX)からの回収率(%)

化合物	C18-AX			合計	SAX			合計	
	Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3		Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3		
	負荷液 +0.1 mL	0.1~0.2 mL	0.2~0.3 mL		負荷液 +0.1 mL	0.1~0.2 mL	0.2~0.3 mL		
1	Acetamiprid	95	0	0	95	94	0	0	94
2	Acibenzolar-5-methyl	99	0	0	99	90	0	0	90
3	Acrinathrin	96	0	0	96	88	0	0	88
4	Ametryn	98	0	0	98	95	0	0	95
5	Anilofos	98	0	0	98	93	0	0	93
6	Atrazine	97	0	0	97	83	0	0	84
7	Azoxystrobin	98	0	0	98	95	0	0	95
8	Benalaxyl	98	0	0	98	95	0	0	95
9	Benzofenap	97	0	0	97	98	0	0	98
10	Bitertanol	100	0	0	100	85	0	0	85
11	Bromacil	98	0	0	98	85	0	0	85
13	Buprofezin	99	0	0	99	88	0	0	88
14	Butafenacil	98	0	0	98	93	0	0	93
15	Cadusafos	98	0	0	98	86	1	0	87
16	Carpropamid	97	0	0	97	90	0	0	90
17	Chlorfenvinphos	97	0	0	97	96	0	0	96
18	Chloridazon	96	0	0	96	91	1	0	92
19	Chloroxuron	98	0	0	98	95	0	0	96
20	Chlorpyrifos	97	0	0	97	95	0	0	95
21	Chromafenozide	97	0	0	97	85	0	0	85
22	Clomeprop	96	0	0	97	88	0	0	88
23	Cloquintocet mexyl	99	0	0	99	95	0	0	95
25	Cumyluron	97	0	0	97	95	0	0	96
26	Cyanazine	97	0	0	97	83	0	0	83
27	Cyazofamid	98	0	0	98	86	0	0	86
28	Cycloprothrin	97	0	0	97	90	0	0	90
29	Cyflufenamid	98	0	0	98	91	0	0	91
30	Cyproconazole	98	0	0	98	84	0	0	84
31	Cyprodinil	97	0	0	97	96	0	0	96
32	Daimuron	97	0	0	97	90	0	0	91
33	Diazinon	97	0	0	97	99	0	0	99
34	Difenoconazole	97	0	0	97	93	0	0	93
35	Diflubenzuron	97	0	0	97	85	1	0	86
36	Diflufenican	102	0	0	102	87	0	0	87
37	Dimethirimol	98	1	0	99	97	0	0	97
38	Dimethoate	96	0	0	96	93	0	0	93
39	Dimethomorph	98	0	0	98	86	0	0	86
40	Diuron	99	0	0	100	90	1	0	91
41	Edifenphos	98	0	0	98	94	0	0	94
42	Epoxiconazole	97	0	0	97	89	0	0	89
43	Ethion	98	0	0	98	81	0	0	81
44	Ethiprole	97	0	0	97	90	0	0	90
45	Etoxazole	98	0	0	98	96	0	0	96
46	Etrimfos	98	0	0	98	102	0	0	102
47	Fenamidone	97	0	0	98	87	0	0	87
48	Fenarimol	98	0	0	98	87	0	0	87
49	Fenbuconazole	98	0	0	98	89	0	0	89
50	Fenobucarb	97	0	0	97	90	0	0	90

表 5(つづき)

化合物	C18-AX			合計	SAX			合計	
	Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3		Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3		
	負荷液 +0.1 mL	0.1~0.2 mL	0.2~0.3 mL		負荷液 +0.1 mL	0.1~0.2 mL	0.2~0.3 mL		
51	Fenoxaprop ethyl	98	0	0	98	93	0	0	93
52	Fenoxycarb	99	0	0	99	90	0	0	90
53	Fenpropathrin	96	0	0	96	81	0	0	81
54	Fenpropimorph	112	0	0	112	111	7	1	119
55	Flamprop methyl	98	0	0	98	90	0	0	91
56	Fludioxonil	102	0	0	102	87	1	0	88
57	Flufenacet	98	0	0	98	92	0	0	92
58	Fluquinconazole	98	0	0	98	91	0	0	91
59	Fluridone	97	0	0	98	96	0	0	96
60	Furametpyr	97	0	0	98	89	0	0	89
61	Hexythiazox	102	0	0	103	84	0	0	84
62	Imazalil	101	1	0	101	99	0	0	99
63	Imibenconazole	95	0	0	95	91	0	0	91
64	Indanofan	97	0	0	97	88	0	0	88
65	Indoxacarb	97	0	0	97	92	0	0	92
66	Iprovalicarb	99	0	0	99	91	0	0	91
67	Isoprocarb	100	0	0	100	92	0	0	92
68	Isoxathion	96	0	0	96	94	0	0	94
69	Lactofen	97	0	0	97	96	0	0	97
70	Linuron	98	0	0	98	90	0	0	91
71	Malathion	98	0	0	98	93	0	0	93
72	Mepanipyrim	98	0	0	98	94	0	0	94
73	Metalaxyl	97	0	0	97	95	0	0	95
74	Methabenzthiazuron	97	0	0	97	92	0	0	93
75	Methiocarb	100	0	0	100	88	0	0	88
76	Metolachlor	98	0	0	98	94	0	0	94
77	Monolinuron	98	0	0	98	92	0	0	92
78	Myclobutanil	97	0	0	97	89	0	0	89
79	Naproanilide	97	0	0	97	93	0	0	93
80	Napropamide	98	0	0	98	94	0	0	94
81	Norflurazon	98	0	0	99	91	0	0	92
82	Novaluron	99	0	0	99	84	0	0	84
83	Oxadixyl	96	0	0	96	94	0	0	94
84	Oxaziclomefone	98	0	0	98	93	0	0	93
85	Paclobutrazol	98	0	0	98	83	0	0	83
86	Penconazole	98	0	0	98	91	0	0	91
87	Pencycuron	98	0	0	98	94	0	0	94
88	Phenthoate	100	0	0	100	89	0	0	89
89	Phosalone	97	0	0	97	93	0	0	93
90	Phosphamidon	96	0	0	96	96	0	0	96
91	Piperonyl butoxide	98	0	0	98	87	0	0	87
92	Pirimicarb	98	0	0	98	97	0	0	97
93	Pirimiphos methyl	99	0	0	99	94	0	0	94
94	Prochloraz	98	0	0	99	89	0	0	89
95	Profenofos	96	0	0	96	97	0	0	97
96	Prometryn	98	0	0	98	99	0	0	99
97	Propachlor	98	0	0	98	97	0	0	97
98	Propanil	103	0	0	103	81	0	0	81
99	Propaquizafop	97	0	0	97	93	0	0	93
100	Propargite	99	0	0	100	82	2	2	86

表 5(つづき)

化合物	C18-AX				SAX				
	Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3	合計	Fr. 1	Fr. 2	Fr. 3	合計	
	負荷液 +0.1 mL	0.1~0.2 mL	0.2~0.3 mL		負荷液 +0.1 mL	0.1~0.2 mL	0.2~0.3 mL		
101	Propiconazole	97	0	0	97	94	0	0	94
102	Propyzamide	97	0	0	97	90	0	0	90
103	Pyraclufos	98	0	0	98	93	0	0	93
104	Pyraclostrobin	97	0	0	97	96	0	0	96
105	Pyrazophos	98	0	0	98	92	0	0	92
106	Pyrifthalid	97	0	0	98	97	0	0	97
107	Pyrimethanil	97	0	0	97	97	0	0	97
108	Pyriproxyfen	99	0	0	99	91	0	0	91
109	Quinalphos	102	0	0	102	94	0	0	94
110	Quinoxifen	97	0	0	97	87	0	0	87
111	Quizalofop ethyl	98	0	0	98	93	0	0	93
112	Simazine	98	0	0	98	84	0	0	84
113	Simeconazole	98	0	0	98	90	0	0	90
114	Spinosyn A	87	1	0	88	89	0	0	89
115	Spinosyn D	99	1	0	100	97	0	0	97
116	Spiroxamine	83	9	3	95	100	0	0	100
117	Tebuconazole	98	0	0	98	88	0	0	88
118	Tebufenpyrad	96	0	0	96	91	0	0	91
119	Tebuthiuron	98	0	0	98	88	0	0	88
120	Terbutryn	98	0	0	98	95	0	0	95
121	Tetrachlorvinphos	98	0	0	98	95	0	0	95
122	Tetraconazole	98	0	0	98	92	0	0	92
123	Thiacloprid	96	0	0	96	93	0	0	93
124	Tolfenpyrad	98	0	0	98	89	0	0	89
125	Triadimefon	98	0	0	98	92	0	0	92
126	Triazophos	99	0	0	99	92	0	0	92
127	Trifloxystrobin	98	0	0	98	93	0	0	93
128	Triflumizole	98	0	0	99	92	0	0	92
129	Triflumuron	99	0	0	99	87	0	0	87
130	Triticonazole	98	0	0	98	88	0	0	88

#### 秤 取

- ↓ 試料 10.0 g
- ↓ アセトニトリル 10 mL を加える
- ↓ 1 分間振とう
- ↓ 無水硫酸マグネシウム 4 g、塩化ナトリウム 1 g、クエン酸三ナトリウム二水和物 1 g、クエン酸水素二ナトリウム 1.5 水和物 0.5 g を加える
- ↓ 1 分間振とう
- ↓ 遠心分離 (毎分 3000 回転、5 分間)
- ↓ アセトニトリルで 10 mL に定容 (抽出液)

#### Monospin C18 精製

- ↓ アセトニトリル 0.1 mL を加え、遠心分離 (毎分 3000 回転、1 分間)
- ↓ 抽出液 0.2 mL を負荷
- ↓ 遠心分離 (毎分 3000 回転、1 分間)
- ↓ アセトニトリル 0.1 mL を加え、遠心分離 (毎分 3000 回転、1 分間)
- ↓ アセトニトリル 0.5 mL に定容

#### LC-TOF-MS 測定

図 1 試験溶液の調製方法

表 6 添加回収試験結果

	化合物	りんご		ほうれんそう	
		真度(%)	併行精度 (RSD%)	真度(%)	併行精度 (RSD%)
1	Acetamiprid	97	10	78	3
2	Acibenzolar-S-methyl	97	6	80	8
3	Acrinathrin	87	11	88	2
4	Ametryn	83	3	86	1
5	Anilofos	81	3	85	1
6	Atrazine	77	4	85	1
7	Azoxystrobin	82	3	87	2
8	Benalaxyl	82	5	86	1
9	Benzofenap	80	5	80	1
10	Bitertanol	113	12	86	4
11	Boscalid	106	20	88	1
12	Bromacil	76	11	72	4
13	Buprofezin	81	3	80	1
14	Butafenacil	79	7	89	2
15	Cadusafos	79	5	85	2
16	Carpropamid	91	12	82	2
17	Chlorfenvinphos	86	7	84	1
18	Chloridazon	81	7	74	3
19	Chloroxuron	84	3	88	1
20	Chlorpyrifos	90	8	92	4
21	Chromafenozide	82	8	88	3
22	Clomeprop	84	8	66	2
23	Cloquintocet mexyl	81	5	83	2
24	Clothianidin	89	14	82	2
25	Cumyluron	82	5	88	1
26	Cyanazine	81	7	84	2
27	Cyazofamid	88	7	87	1
28	Cycloprothrin	111	24	84	4
29	Cyflufenamid	75	6	88	1
30	Cyproconazole	81	3	89	3
31	Cyprodinil	88	5	85	1
32	Daimuron	84	6	89	1
33	Diazinon	59	56	83	2
34	Difenoconazole	93	8	83	2
35	Diflubenzuron	92	20	83	3
36	Diflufenican	81	10	84	3
37	Dimethirimol	71	4	81	1
38	Dimethoate	79	5	80	2
39	Dimethomorph	85	3	86	1
40	Diuron	79	5	76	0.5
41	Edifenphos	83	6	86	1
42	Epoxiconazole	94	6	86	2
43	Ethion	84	9	82	1
44	Ethiprole	85	5	87	3
45	Etoxazole	79	2	85	1
46	Etrimfos	76	11	92	7
47	Fenamidone	80	6	88	2
48	Fenarimol	77	18	86	3
49	Fenbuconazole	85	12	85	3
50	Fenobucarb	86	7	89	3



表 6 (つづき)

化合物	りんご		ほうれんそう		
	真度(%)	併行精度 (RSD%)	真度(%)	併行精度 (RSD%)	
51	Fenoxaprop ethyl	78	3	87	1
52	Fenoxycarb	82	7	88	1
53	Fenpropathrin	95	12	82	3
54	Fenpropimorph	.. <sup>a</sup>	.. <sup>a</sup>	.. <sup>a</sup>	.. <sup>a</sup>
55	Flamprop methyl	89	8	89	2
56	Fludioxonil	91	26	99	2
57	Flufenacet	86	8	87	2
58	Fluquinconazole	96	9	86	2
59	Fluridone	84	1	86	0.5
60	Furametpyr	77	3	86	2
61	Hexythiazox	75	14	90	5
62	Imazalil	93	5	84	1
63	Imibenconazole	68	10	58	3
64	Indanofan	84	9	86	5
65	Indoxacarb	86	7	84	2
66	Iprovalicarb	89	4	86	2
67	Isoprocarb	95	5	93	4
68	Isoxathion	84	5	86	2
69	Lactofen	80	2	80	2
70	Linuron	83	9	86	2
71	Malathion	82	8	90	2
72	Mepanipyrim	82	2	87	1
73	Metalaxyl	84	4	85	1
74	Methabenzthiazuron	81	3	80	2
75	Methiocarb	91	13	94	7
76	Metolachlor	81	5	85	1
77	Monolinuron	81	8	84	2
78	Myclobutanil	85	6	88	1
79	Naproanilide	76	6	86	2
80	Napropamide	85	5	86	2
81	Norflurazon	83	2	88	0.4
82	Novaluron	69	9	82	4
83	Oxadixyl	89	10	83	3
84	Oxaziclomefone	79	6	84	1
85	Paclobutrazol	82	5	88	3
86	Penconazole	71	5	86	2
87	Pencycuron	80	3	86	1
88	Phenthoate	83	9	85	3
89	Phosalone	79	9	84	2
90	Phosphamidon	86	4	83	2
91	Piperonyl butoxide	82	10	89	2
92	Pirimicarb	78	3	84	1
93	Pirimiphos methyl	85	7	83	2
94	Prochloraz	76	6	84	1
95	Profenofos	73	4	79	1
96	Prometryn	86	4	86	1
97	Propachlor	87	6	83	1
98	Propanil	105	8	95	2
99	Propaquizafop	79	5	77	1
100	Propargite	95	5	92	3

表 6 (つづき)

化合物	りんご		ほうれんそう		
	真度(%)	併行精度 (RSD%)	真度(%)	併行精度 (RSD%)	
101	Propiconazole	87	10	85	2
102	Propyzamide	84	16	89	1
103	Pyraclofos	84	3	87	1
104	Pyraclostrobin	83	28	87	1
105	Pyrazophos	79	3	86	1
106	Pyrifthalid	83	2	86	1
107	Pyrimethanil	88	8	80	2
108	Pyriproxyfen	83	6	87	1
109	Quinalphos	82	2	86	2
110	Quinoxifen	74	5	83	1
111	Quizalofop ethyl	84	4	84	1
112	Simazine	83	6	83	2
113	Simeconazole	86	3	90	2
114	Spinosyn A	82	3	84	1
115	Spinosyn D	89	8	90	3
116	Spiroxamine	85	4	88	1
117	Tebuconazole	73	12	87	1
118	Tebufenpyrad	82	4	74	1
119	Tebuthiuron	79	4	81	2
120	Terbutryn	81	5	85	1
121	Tetrachlorvinphos	74	6	84	1
122	Tetraconazole	89	7	88	2
123	Thiacloprid	82	6	80	2
124	Tolfenpyrad	78	1	84	1
125	Triadimefon	86	10	87	1
126	Triazophos	81	5	88	1
127	Trifloxystrobin	99	32	87	1
128	Triflumizole	74	3	85	2
129	Triflumuron	76	6	87	3
130	Triticonazole	76	8	89	2

<sup>a</sup> 妨害

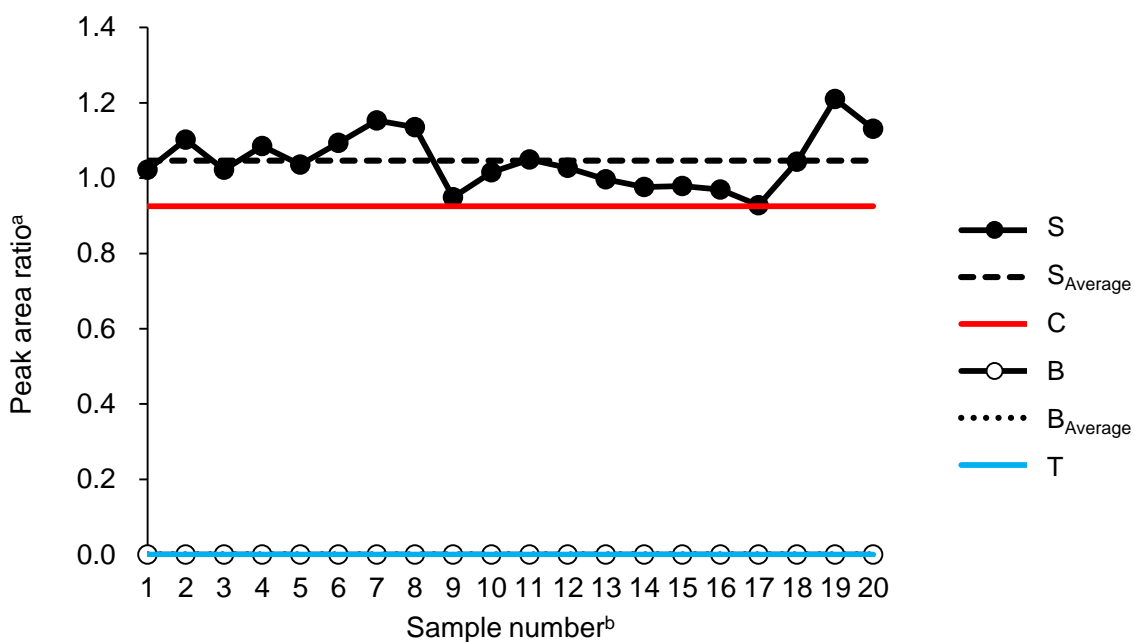


図 2. アザペロンの標準溶液に対する添加試料またはブランク試料のピーク面積比

<sup>a</sup> 標準溶液に対する添加試料またはブランク試料のピーク面積比

<sup>b</sup> 試料番号 1～10 は牛乳、11～20 は牛肉

S: 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積

$$C = S_{Average} - 1.64 \times S_{SD}$$

S<sub>Average</sub>: 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の平均値

S<sub>SD</sub>: 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の標準偏差

B: ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積

$$T = B_{Average} + 1.64 \times B_{SD}$$

B<sub>Average</sub>: ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の平均値

B<sub>SD</sub>: ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の標準偏差

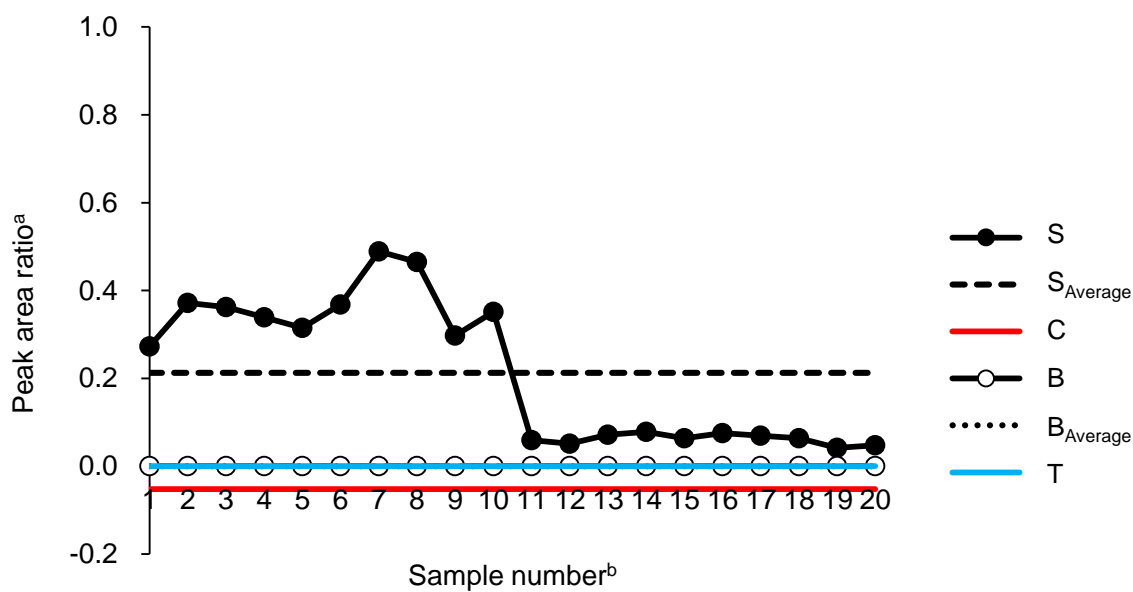


図 3. オラキンドックスの標準溶液に対する添加試料またはブランク試料のピーク面積比

<sup>a</sup> 標準溶液に対する添加試料またはブランク試料のピーク面積比

<sup>b</sup> 試料番号 1～10 は牛乳、11～20 は牛肉

S: 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積

$$C = S_{\text{Average}} - 1.64 \times S_{\text{SD}}$$

$S_{\text{Average}}$ : 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の平均値

$S_{\text{SD}}$ : 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の標準偏差

B: ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積

$$T = B_{\text{Average}} + 1.64 \times B_{\text{SD}}$$

$B_{\text{Average}}$ : ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の平均値

$B_{\text{SD}}$ : ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の標準偏差

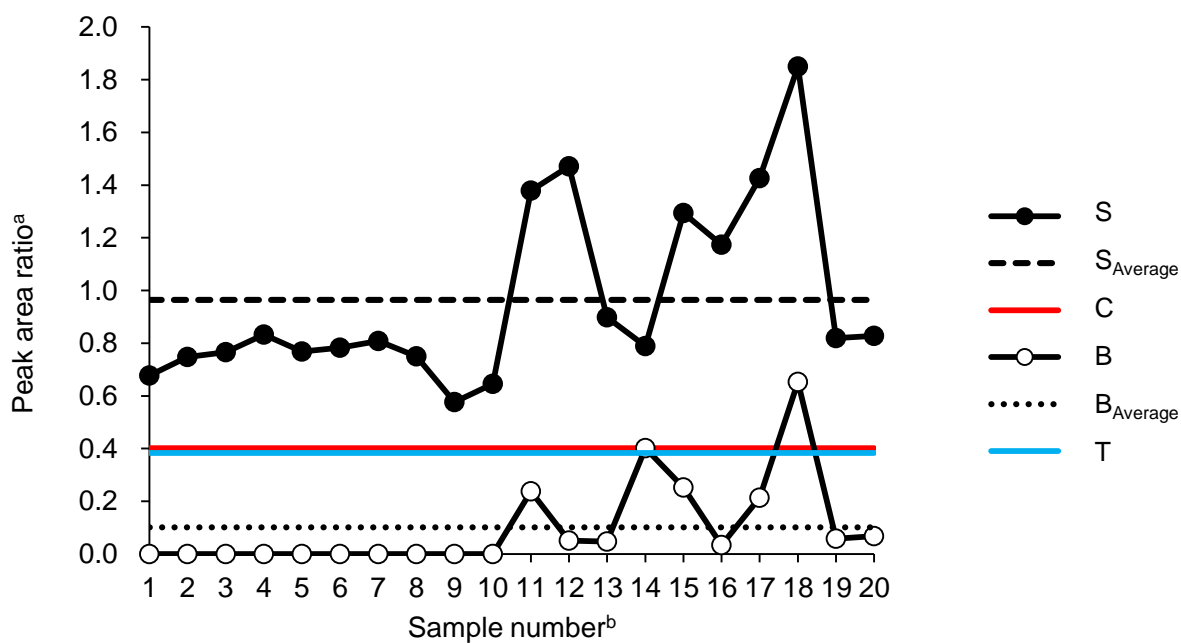


図 4. スルファチアゾールの標準溶液に対する添加試料またはブランク試料のピーク面積比

<sup>a</sup> 標準溶液に対する添加試料またはブランク試料のピーク面積比

<sup>b</sup> 試料番号 1～10 は牛乳、11～20 は牛肉

S: 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積

$$C = S_{Average} - 1.64 \times S_{SD}$$

S<sub>Average</sub>: 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の平均値

S<sub>SD</sub>: 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の標準偏差

B: ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積

$$T = B_{Average} + 1.64 \times B_{SD}$$

B<sub>Average</sub>: ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の平均値

B<sub>SD</sub>: ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の標準偏差

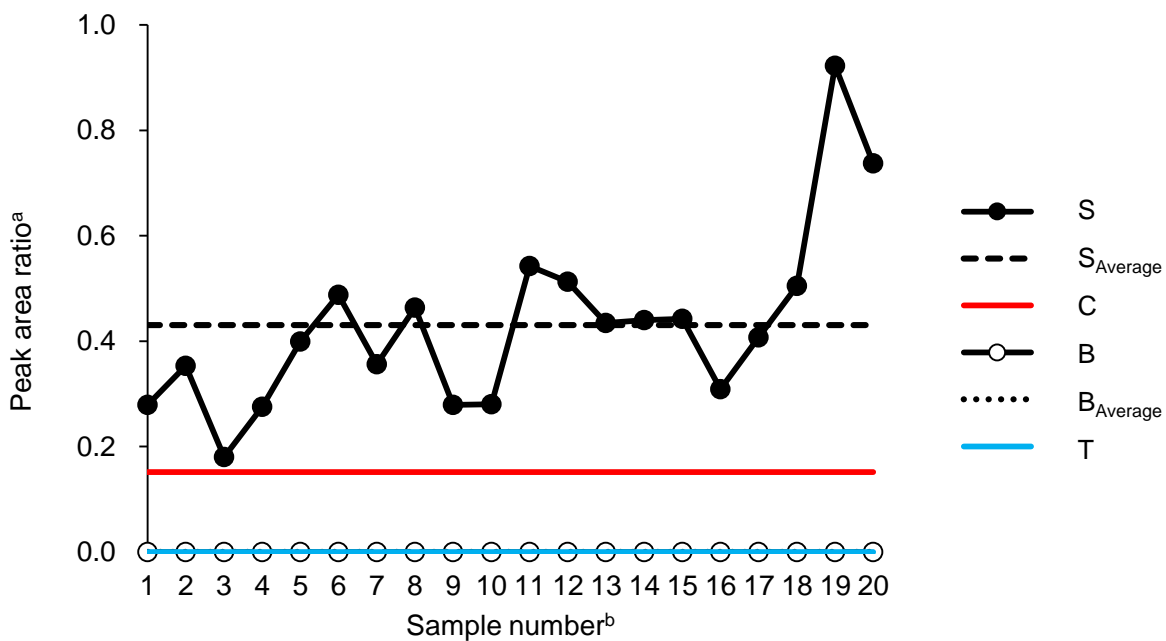


図 5. ダノフロキサシンの標準溶液に対する添加試料またはブランク試料のピーク面積比

<sup>a</sup> 標準溶液に対する添加試料またはブランク試料のピーク面積比

<sup>b</sup> 試料番号 1～10 は牛乳、11～20 は牛肉

S: 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積

$$C = S_{\text{Average}} - 1.64 \times S_{\text{SD}}$$

$S_{\text{Average}}$ : 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の平均値

$S_{\text{SD}}$ : 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の標準偏差

B: ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積

$$T = B_{\text{Average}} + 1.64 \times B_{\text{SD}}$$

$B_{\text{Average}}$ : ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の平均値

$B_{\text{SD}}$ : ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の標準偏差

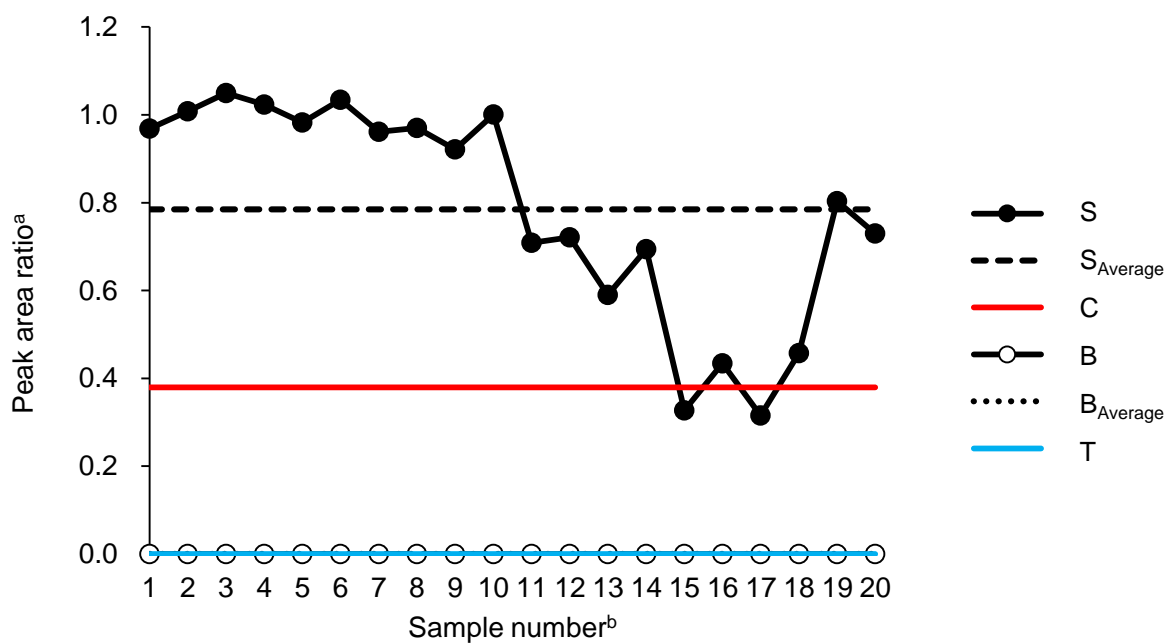


図 6. 5-ヒドロキシチアベンダゾールの標準溶液に対する添加試料またはブランク試料のピーク面積比

<sup>a</sup> 標準溶液に対する添加試料またはブランク試料のピーク面積比

<sup>b</sup> 試料番号 1～10 は牛乳、11～20 は牛肉

S: 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積

$$C = S_{\text{Average}} - 1.64 \times S_{\text{SD}}$$

S<sub>Average</sub>: 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の平均値

S<sub>SD</sub>: 添加試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の標準偏差

B: ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積

$$T = B_{\text{Average}} + 1.64 \times B_{\text{SD}}$$

B<sub>Average</sub>: ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の平均値

B<sub>SD</sub>: ブランク試料のピーク面積/標準溶液のピーク面積の標準偏差



図 7. S(標準溶液に対する添加試料のピーク面積比) < C(カットオフ値)となる試料の数  
 A :  $C = S_{Average} - 1.64 \times S_{SD}$ 、B :  $C = S_{Average} - 2.33 \times S_{SD}$

数字は化合物数



表7 牛乳のスクリーニング分析の性能評価結果

		ブランク試料			添加試料			性能要件への適合				備考	
		B <sub>AVERAGE</sub>	B <sub>SD</sub>	T	S <sub>AVERAGE</sub>	S <sub>SD</sub>	C=S <sub>AVERAGE</sub> -1.64×S <sub>SD</sub>	C=S <sub>AVERAGE</sub> -2.33×S <sub>SD</sub>	①	②	③		④
1	2-Acetylmisofenbutrazole	0.00	0.00	0.00	1.00	0.14	0.77	0.67	○	○	○	○	
2	A benzazole	0.00	0.00	0.00	1.01	0.03	0.96	0.94	○	○	○	○	
3	Atrenogest	0.00	0.00	0.00	0.84	0.04	0.76	0.73	○	○	○	○	
4	Azaperone	0.00	0.00	0.00	1.06	0.06	0.96	0.91	○	○	○	○	
5	Benzocaine	0.00	0.00	0.00	0.60	0.04	0.53	0.50	○	○	○	○	
6	Bromacil	0.00	0.00	0.00	1.10	0.15	0.85	0.75	○	○	○	○	
7	Butizolam	0.00	0.00	0.00	1.08	0.04	1.01	0.98	○	○	○	○	
8	Cefoperazone	0.00	0.00	0.00	0.94	0.27	0.50	0.32	×	×	×	×	低感度
9	Chlormadinone	0.00	0.00	0.00	1.01	0.07	0.90	0.85	○	○	○	○	
10	Cisbicalol	0.00	0.00	0.00	1.04	0.05	0.97	0.93	○	○	○	○	
11	Danofloxacin	0.00	0.00	0.00	0.34	0.10	0.18	0.11	○	○	×	×	
12	Dexamethasone	0.00	0.00	0.00	0.99	0.09	0.85	0.79	○	○	○	○	
13	Diazepam	0.00	0.00	0.00	0.75	0.15	0.51	0.40	○	○	○	○	
14	Dicyclanil	0.00	0.00	0.00	0.91	0.06	0.81	0.77	○	○	○	○	
15	Difloxacin	0.00	0.00	0.00	0.64	0.08	0.52	0.47	○	○	○	○	
16	Difluzuron	0.00	0.00	0.00	1.02	0.07	0.90	0.86	○	○	○	○	
17	Emamectin Benzoate	0.00	0.00	0.00	0.96	0.06	0.87	0.83	○	○	○	○	
18	Enrofloxacin	0.00	0.00	0.00	0.50	0.09	0.35	0.28	○	○	○	○	
19	Ethopazine	0.00	0.00	0.00	1.09	0.06	0.99	0.94	○	○	○	○	
20	Fampridine	0.00	0.00	0.00	1.07	0.05	0.99	0.96	○	○	○	○	
21	Fenobucarb	0.00	0.00	0.00	0.65	0.07	0.53	0.48	○	○	○	○	
22	Flubendazole	0.00	0.00	0.00	1.08	0.04	1.01	0.98	○	○	○	○	
23	Flumequine	0.00	0.00	0.00	0.86	0.08	0.74	0.68	○	○	○	○	
24	Flunixin	0.00	0.00	0.00	1.01	0.03	0.96	0.93	○	○	○	○	
25	Halofuginone	0.00	0.00	0.00	0.64	0.10	0.48	0.41	○	○	○	○	
26	5-Hydroxythiabendazole	0.00	0.00	0.00	0.99	0.04	0.93	0.90	○	○	○	○	
27	Ketoprofen	0.00	0.00	0.00	1.06	0.05	0.98	0.94	○	○	○	○	
28	Levamisole	0.00	0.00	0.00	0.93	0.04	0.87	0.85	○	○	○	○	
29	Lincomycin	0.00	0.00	0.00	0.93	0.04	0.86	0.83	○	○	○	○	
30	Mafloxacin	0.00	0.00	0.00	1.04	0.02	1.00	0.99	○	○	○	○	
31	Marfloxacin	0.00	0.00	0.00	0.31	0.08	0.18	0.12	○	○	×	×	
32	Mebendazole	0.00	0.00	0.00	1.06	0.03	1.02	1.00	○	○	○	○	
33	Mebexicam	0.00	0.00	0.00	0.88	0.04	0.82	0.79	○	○	○	○	
34	Mebutone	0.00	0.00	0.00	1.09	0.06	0.99	0.95	○	○	○	○	
35	Methylprednisolone	0.00	0.00	0.00	1.09	0.08	0.96	0.91	○	○	○	○	
36	Mifloxacin	0.00	0.00	0.00	0.59	0.13	0.39	0.30	○	○	○	○	
37	Morantel	0.00	0.00	0.00	0.72	0.03	0.68	0.66	○	○	○	○	
38	Nalidixic acid	0.00	0.00	0.00	0.85	0.07	0.73	0.68	○	○	○	○	
39	Ofloxacin	0.00	0.00	0.00	0.37	0.10	0.21	0.14	○	○	○	×	
40	Oquinox	0.00	0.00	0.00	0.36	0.07	0.25	0.20	○	○	○	○	
41	Orfloxacin	0.00	0.00	0.00	0.74	0.06	0.64	0.60	○	○	○	○	
42	Omeprazole	0.00	0.00	0.00	0.95	0.04	0.87	0.84	○	○	○	○	
43	Oxibendazole	0.00	0.00	0.00	1.04	0.02	1.01	0.99	○	○	○	○	
44	Oxolinic acid	0.00	0.00	0.00	0.62	0.17	0.34	0.22	○	○	○	○	
45	Phenoxymethylpenicillin	0.00	0.01	0.01	0.72	0.15	0.46	0.36	×	×	×	×	低感度
46	Praziquantel	0.00	0.00	0.00	1.09	0.04	1.03	1.00	○	○	○	○	
47	Prednisolone	0.00	0.00	0.00	1.08	0.11	0.89	0.82	○	○	○	○	
48	Prinidazole	0.00	0.00	0.00	0.90	0.02	0.87	0.86	○	○	○	○	
49	Pyrantel	0.00	0.00	0.00	0.85	0.02	0.81	0.80	○	○	○	○	
50	Pyrimethamine	0.00	0.00	0.00	1.00	0.02	0.96	0.94	○	○	○	○	
51	Robenidine	0.00	0.00	0.00	0.83	0.10	0.67	0.60	○	○	○	○	
52	Sarafloxacin	0.00	0.00	0.00	0.56	0.08	0.43	0.37	○	○	○	○	
53	Sulfabenzamide	0.00	0.00	0.00	0.86	0.06	0.77	0.73	○	○	○	○	
54	Sulfabromomethazine	0.00	0.00	0.00	0.84	0.06	0.75	0.71	○	○	○	○	
55	Sulfacetamide	0.00	0.00	0.00	0.74	0.10	0.57	0.50	○	○	○	○	
56	Sulfachloropyridazine	0.01	0.03	0.06	0.84	0.08	0.71	0.66	○	○	○	○	
57	Sulfadiazine	0.00	0.00	0.00	0.40	0.23	0.03	-0.13	○	×	×	×	
58	Sulfadimethoxine	0.00	0.00	0.00	0.86	0.06	0.77	0.73	○	○	○	○	
59	Sulfadimidine	0.00	0.00	0.00	0.78	0.06	0.67	0.63	○	○	○	○	
60	Sulfadoxine	0.00	0.00	0.00	0.86	0.06	0.77	0.73	○	○	○	○	
61	Sulfathoxypyridazine	0.00	0.00	0.00	0.77	0.08	0.64	0.59	○	○	○	○	
62	Sulfamerazine	0.00	0.00	0.00	0.79	0.07	0.67	0.62	○	○	○	○	
63	Sulfamethoxazole	0.00	0.00	0.00	0.87	0.06	0.77	0.73	○	○	○	○	
64	Sulfamethoxypyridazine	0.00	0.00	0.00	0.75	0.06	0.65	0.61	○	○	○	○	
65	Sulfamonomethoxine	0.00	0.00	0.00	0.84	0.06	0.74	0.70	○	○	○	○	
66	Sulfapyridine	0.00	0.00	0.01	0.90	0.13	0.69	0.60	○	○	○	○	
67	Sulfiquinoxaline	0.00	0.00	0.00	0.78	0.04	0.71	0.68	○	○	○	○	
68	Sulfisithazole	0.00	0.00	0.00	0.74	0.08	0.61	0.55	○	○	○	○	
69	Sulfisoxazole	0.00	0.00	0.00	0.87	0.06	0.77	0.73	○	○	○	○	
70	Temephos	0.00	0.00	0.00	1.01	0.13	0.79	0.70	○	○	○	○	
71	Thiabendazole	0.00	0.00	0.00	1.04	0.10	0.87	0.80	○	○	○	○	
72	Thiamulin	0.00	0.00	0.00	1.00	0.03	0.95	0.92	○	○	○	○	
73	Thiolenamic acid	0.00	0.00	0.00	0.89	0.05	0.81	0.78	○	○	○	○	
74	Thiorenolone	0.00	0.00	0.00	0.96	0.05	0.88	0.85	○	○	○	○	
75	Trichlorfon	0.00	0.00	0.00	0.77	0.12	0.57	0.49	○	○	○	○	
76	Trimethoprim	0.00	0.00	0.00	0.93	0.09	0.78	0.72	○	○	○	○	
77	Triphenamine	0.00	0.00	0.00	0.90	0.06	0.80	0.76	○	○	○	○	
78	Tylosin	0.00	0.00	0.00	1.04	0.33	0.49	0.26	○	○	○	○	
79	Vahemulin	0.00	0.00	0.00	1.01	0.04	0.95	0.93	○	○	○	○	
80	Warfarin	0.00	0.00	0.00	1.06	0.04	1.00	0.97	○	○	○	○	
81	Xylazine	0.00	0.00	0.00	0.86	0.05	0.77	0.74	○	○	○	○	

性能要件①: C>T、添加試料のピーク S/N ≥ 10 (C=S<sub>Average</sub>-1.64×S<sub>SD</sub>)  
 性能要件②: C>T、添加試料のピーク S/N ≥ 10 (C=S<sub>Average</sub>-2.33×S<sub>SD</sub>)  
 性能要件③: C>T、C ≥ 0.2、添加試料のピーク S/N ≥ 10 (C=S<sub>Average</sub>-1.64×S<sub>SD</sub>)  
 性能要件④: C>T、C ≥ 0.2、添加試料のピーク S/N ≥ 10 (C=S<sub>Average</sub>-2.33×S<sub>SD</sub>)  
 ○: 適合、×: 不適合

表 8 牛肉のスクリーニング分析の性能評価結果

		ブランク試料			添加試料			性能要件への適合				備考	
		B <sub>AVERAGE</sub>	B <sub>SD</sub>	T	S <sub>AVERAGE</sub>	S <sub>SD</sub>	C=S <sub>AVERAGE</sub> -1.64×S <sub>SD</sub>	C=S <sub>AVERAGE</sub> -2.33×S <sub>SD</sub>	①	②	③		④
1	2-Acetylmisofluthazole	0.00	0.00	0.00	0.85	0.11	0.66	0.58	○	○	○	○	
2	A benzazole	0.00	0.00	0.00	0.88	0.03	0.83	0.80	○	○	○	○	
3	Atrenogest	0.00	0.00	0.00	0.57	0.07	0.46	0.42	○	○	○	○	
4	Azaperone	0.00	0.00	0.00	1.03	0.08	0.89	0.84	○	○	○	○	
5	Benzocaine	0.00	0.00	0.00	0.63	0.04	0.56	0.53	○	○	○	○	
6	Bromacil	0.00	0.00	0.00	0.91	0.05	0.84	0.81	○	○	○	○	
7	Butizolam	0.00	0.00	0.00	1.18	0.11	1.01	0.93	○	○	○	○	
8	Cefoperazone	0.00	0.00	0.00	0.65	0.30	0.16	-0.05	×	×	×	×	低感度
9	Chlormadinone	0.00	0.00	0.00	0.59	0.04	0.52	0.49	○	○	○	○	
10	Cisbambol	0.00	0.00	0.00	0.91	0.05	0.82	0.79	○	○	○	○	
11	Danofloxacin	0.00	0.00	0.00	0.53	0.18	0.23	0.11	○	○	○	×	
12	Dexamethasone	0.00	0.00	0.00	0.87	0.11	0.70	0.63	○	○	○	○	
13	Diazepam	0.00	0.00	0.00	0.66	0.03	0.62	0.60	○	○	○	○	
14	Dicyclanil	0.00	0.00	0.00	0.74	0.07	0.62	0.56	○	○	○	○	
15	Difloxacin	0.00	0.00	0.00	0.75	0.08	0.62	0.57	○	○	○	○	
16	Difluzuron	0.00	0.00	0.00	0.27	0.07	0.15	0.10	○	○	×	×	
17	Emamectin Benzoate	0.00	0.00	0.00	0.93	0.22	0.57	0.42	○	○	○	○	
18	Enrofloxacin	0.00	0.00	0.00	0.68	0.10	0.51	0.44	○	○	○	○	
19	Ethopazine	0.00	0.00	0.00	0.98	0.08	0.85	0.79	○	○	○	○	
20	Fampridone	0.00	0.00	0.00	0.97	0.05	0.90	0.86	○	○	○	○	
21	Fenobucarb	0.00	0.00	0.00	0.69	0.05	0.61	0.58	○	○	○	○	
22	Flubendazole	0.00	0.00	0.00	1.03	0.04	0.96	0.93	○	○	○	○	
23	Flumequine	0.00	0.00	0.00	0.94	0.08	0.81	0.76	○	○	○	○	
24	Floxacin	0.00	0.00	0.00	0.94	0.02	0.90	0.89	○	○	○	○	
25	Halofuginone	0.00	0.00	0.00	0.59	0.04	0.52	0.49	○	○	○	○	
26	5-Hydroxythiabendazole	0.00	0.00	0.00	0.58	0.18	0.28	0.16	○	○	○	×	
27	Ketoprofen	0.00	0.00	0.00	0.98	0.05	0.90	0.87	○	○	○	○	
28	Levamisole	0.00	0.00	0.00	0.88	0.04	0.82	0.79	○	○	○	○	
29	Lincomycin	0.00	0.00	0.00	0.71	0.04	0.64	0.61	○	○	○	○	
30	Mafloxacin	0.00	0.00	0.00	1.01	0.03	0.96	0.94	○	○	○	○	
31	Marfloxacin	0.00	0.00	0.00	0.48	0.11	0.29	0.21	○	○	○	○	
32	Mebendazole	0.00	0.00	0.00	1.03	0.04	0.97	0.95	○	○	○	○	
33	Mebexicam	0.00	0.00	0.00	0.87	0.05	0.79	0.76	○	○	○	○	
34	Mebutone	0.00	0.00	0.00	0.91	0.08	0.78	0.72	○	○	○	○	
35	Methylprednisolone	0.00	0.00	0.00	0.98	0.11	0.80	0.72	○	○	○	○	
36	Mifloxacin	0.00	0.00	0.00	0.77	0.13	0.57	0.48	○	○	○	○	
37	Morantel	0.00	0.00	0.00	0.76	0.04	0.70	0.68	○	○	○	○	
38	Nalidixic acid	0.00	0.00	0.00	0.99	0.09	0.83	0.77	○	○	○	○	
39	Ofloxacin	0.00	0.00	0.00	0.52	0.06	0.42	0.38	○	○	○	○	
40	Oquinox	0.00	0.00	0.00	0.06	0.01	0.04	0.03	○	○	×	×	
41	Orfloxacin	0.00	0.00	0.00	0.71	0.06	0.62	0.58	○	○	○	○	
42	Ometoprim	0.00	0.00	0.00	0.89	0.03	0.85	0.83	○	○	○	○	
43	Oxibendazole	0.00	0.00	0.00	0.97	0.03	0.92	0.90	○	○	○	○	
44	Oxolinic acid	0.00	0.00	0.00	0.74	0.11	0.55	0.47	○	○	○	○	
45	Phenoxymethylpenicillin	0.01	0.02	0.05	0.86	0.23	0.48	0.32	×	×	×	×	低感度
46	Praziquantel	0.00	0.00	0.00	1.09	0.06	1.00	0.96	○	○	○	○	
47	Prednisolone	0.00	0.00	0.00	0.89	0.07	0.77	0.72	○	○	○	○	
48	Prinidazole	0.00	0.00	0.00	0.90	0.03	0.84	0.82	○	○	○	○	
49	Pyrantel	0.00	0.00	0.00	0.85	0.04	0.78	0.75	○	○	○	○	
50	Pyrimethamine	0.00	0.00	0.00	0.90	0.03	0.85	0.83	○	○	○	○	
51	Robenidine	0.00	0.00	0.00	0.66	0.09	0.52	0.46	○	○	○	○	
52	Sarafloxacin	0.00	0.00	0.00	0.53	0.16	0.26	0.14	○	○	○	×	
53	Sulfabenzamide	0.00	0.00	0.00	0.62	0.06	0.52	0.48	○	○	○	○	
54	Sulfabromomethazine	0.00	0.00	0.00	0.65	0.07	0.54	0.50	○	○	○	○	
55	Sulfacetamide	0.00	0.00	0.00	0.15	0.06	0.05	0.01	○	○	×	×	
56	Sulfachlorpyridazine	0.00	0.00	0.00	0.72	0.06	0.63	0.58	○	○	○	○	
57	Sulfadiazine	0.00	0.00	0.00	0.42	0.07	0.30	0.25	○	○	○	○	
58	Sulfadimethoxine	0.00	0.00	0.00	0.65	0.07	0.54	0.50	○	○	○	○	
59	Sulfadiazine	0.00	0.00	0.00	0.71	0.06	0.61	0.56	○	○	○	○	
60	Sulfadoxine	0.00	0.00	0.00	0.65	0.07	0.54	0.50	○	○	○	○	
61	Sulfathiazopyridazine	0.00	0.00	0.00	0.73	0.07	0.62	0.58	○	○	○	○	
62	Sulfamerazine	0.00	0.00	0.00	0.73	0.04	0.66	0.63	○	○	○	○	
63	Sulfamethoxazole	0.02	0.03	0.06	0.72	0.06	0.62	0.58	○	○	○	○	
64	Sulfamethoxyypyridazine	0.00	0.00	0.00	0.59	0.11	0.40	0.32	○	○	○	○	
65	Sulfamonomethoxine	0.00	0.00	0.00	0.76	0.06	0.66	0.62	○	○	○	○	
66	Sulfapyridine	0.00	0.00	0.00	0.66	0.05	0.58	0.55	○	○	○	○	
67	Sulfaquinoxaline	0.00	0.00	0.00	0.72	0.05	0.63	0.60	○	○	○	○	
68	Sulfathiazole	0.20	0.20	0.53	1.19	0.35	0.61	0.37	○	×	○	×	
69	Sulfatiazole	0.00	0.00	0.00	0.85	0.07	0.73	0.67	○	○	○	○	
70	Temephos	0.00	0.00	0.00	0.54	0.05	0.47	0.44	○	○	○	○	
71	Thiabendazole	0.00	0.00	0.00	0.83	0.04	0.77	0.74	○	○	○	○	
72	Thiamulin	0.00	0.00	0.00	0.97	0.04	0.91	0.88	○	○	○	○	
73	Thiolenamic acid	0.00	0.00	0.00	0.65	0.05	0.57	0.54	○	○	○	○	
74	Thiorenolone	0.00	0.00	0.00	0.72	0.02	0.68	0.67	○	○	○	○	
75	Trichlorfon	0.00	0.00	0.00	0.59	0.05	0.51	0.48	○	○	○	○	
76	Trimethoprim	0.00	0.00	0.00	0.79	0.03	0.74	0.72	○	○	○	○	
77	Triphenamine	0.00	0.00	0.00	1.00	0.06	0.89	0.85	○	○	○	○	
78	Tylosin	0.00	0.00	0.00	1.01	0.19	0.70	0.57	○	○	○	○	
79	Vahemulin	0.00	0.00	0.00	0.85	0.06	0.75	0.70	○	○	○	○	
80	Warfarin	0.00	0.00	0.00	0.80	0.09	0.66	0.60	○	○	○	○	
81	Xylazine	0.00	0.00	0.00	0.80	0.04	0.74	0.71	○	○	○	○	

性能要件①: C>T、添加試料のピーク S/N $\geq$ 10 (C=S<sub>Average</sub>-1.64×S<sub>SD</sub>)  
 性能要件②: C>T、添加試料のピーク S/N $\geq$ 10 (C=S<sub>Average</sub>-2.33×S<sub>SD</sub>)  
 性能要件③: C>T、C $\geq$ 0.2、添加試料のピーク S/N $\geq$ 10 (C=S<sub>Average</sub>-1.64×S<sub>SD</sub>)  
 性能要件④: C>T、C $\geq$ 0.2、添加試料のピーク S/N $\geq$ 10 (C=S<sub>Average</sub>-2.33×S<sub>SD</sub>)  
 ○: 適合、×: 不適合

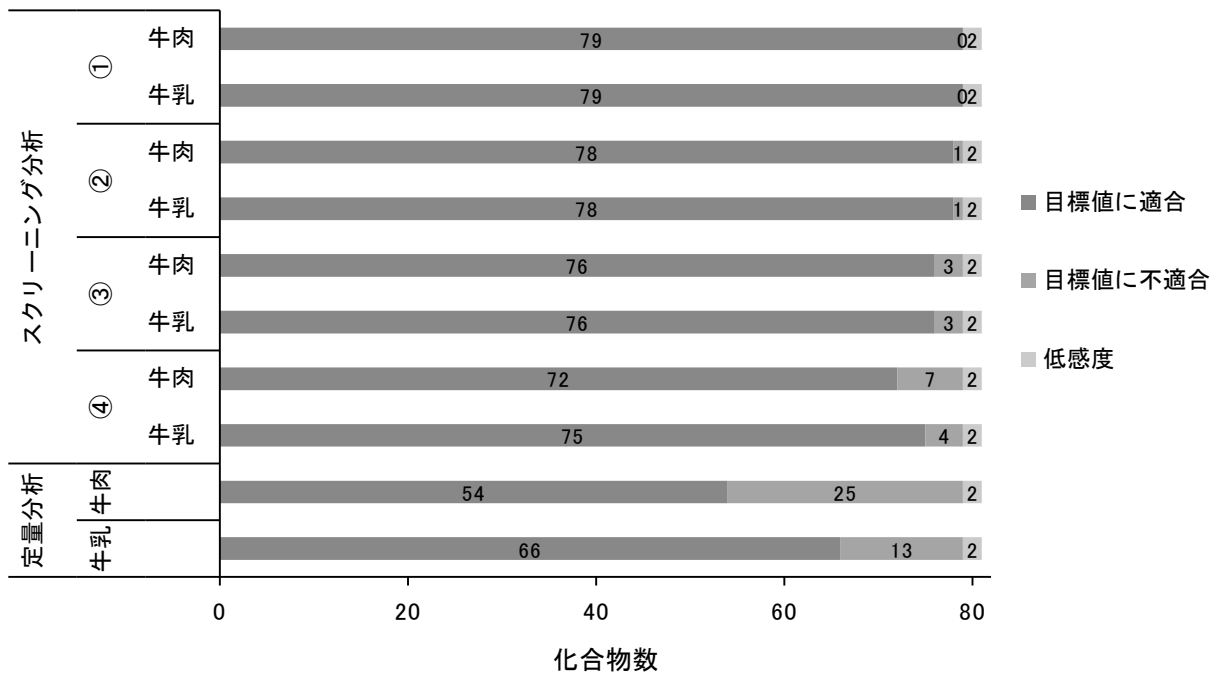


図 8. スクリーニング分析法の性能評価方法 (性能要件①～④) 及び妥当性評価ガイドラインによる評価での適合化合物数

スクリーニング分析: 1日2併行、5日間の添加回収試験(スクリーニング濃度: 0.01 ppm)によって得られたデータ(試料数: 添加試料 10、ブランク試料 10)を用いて評価した。

性能要件①:  $C > T$ 、添加試料のピーク  $S/N \geq 10$  ( $C = S_{Average} - 1.64 \times S_{SD}$ )

性能要件②:  $C > T$ 、添加試料のピーク  $S/N \geq 10$  ( $C = S_{Average} - 2.33 \times S_{SD}$ )

性能要件③:  $C > T$ 、 $C \geq 0.2$ 、添加試料のピーク  $S/N \geq 10$  ( $C = S_{Average} - 1.64 \times S_{SD}$ )

性能要件④:  $C > T$ 、 $C \geq 0.2$ 、添加試料のピーク  $S/N \geq 10$  ( $C = S_{Average} - 2.33 \times S_{SD}$ )

定量分析: 1日2併行、5日間の添加回収試験(添加濃度: 0.01 ppm)を行い、検量線(6点)を用いて定量したデータを妥当性評価ガイドライン<sup>8)</sup>に従って評価した。

