

課題 2. 公示試験法の精製操作の簡便化・迅速化及び自動化に向けた検討
研究分担者 志田(齊藤) 静夏 国立医薬品食品衛生研究所 食品部第三室長

研究要旨

通知一斉試験法「LC/MS による動物用医薬品等の一斉試験法 I (畜水産物)」の精製方法を簡便化し、より夾雑成分の除去効果の高い方法へ改良した。本分析法は、通知一斉試験法の抽出方法に従って調製した抽出液を、自動前処理装置を用いて C₁₈ ミニカラム (充填量 50 mg) による 2 段階精製を行った後、LC-MS/MS で測定する方法である。牛筋肉、牛肝臓、牛脂肪及び牛乳を用いて、52 化合物を対象に添加濃度 0.01 ppm で妥当性評価を行った結果、約 8 割以上の化合物において妥当性評価ガイドラインの選択性、真度及び精度の目標値を満たした。確立した分析法は通知一斉試験法と抽出条件が同一であるため、抽出効率に起因する分析値の差異は生じず、規格基準への適否判定に用いることができる方法である。また、通知一斉試験法と比べ、精製に用いる試薬や溶媒の使用量を大幅に削減でき、さらに自動化によって、分析担当者の熟練度に起因するばらつきを抑制し、操作時間の短縮と分析の効率化が期待できる方法である。

研究協力者

望月 龍 (国立医薬品食品衛生研究所 食品部)

ある。さらに精製に供する抽出液量が多いため、充填量が 1,000 mg の C₁₈ ミニカラムを用いており、使用する溶媒量が多い。

研究協力機関

株式会社アイスティサイエンス

一方、諸外国では QuEChERS 法が広く用いられている。QuEChERS 法は、農産物中の残留農薬の一斉分析法として開発された方法であるが、近年では畜産物中の残留動物用医薬品等の分析にも応用されている。この方法は、通知一斉試験法と比較して操作が簡便で操作時間が短いという利点があるが、分散固相抽出で精製する方法であるため、夾雑成分の除去が不十分であり、マトリックスの影響を受けやすく、測定装置に対する負担が大きい。また、アセトニトリルを抽出溶媒として使用するため、特に脂質の多い試料では抽出効率が低い可能性が高い。このため、通知一斉試験法と QuEChERS 法では分析値に差異が生じる恐れがある。

A. 研究目的

畜水産物中の残留動物用医薬品一斉試験法として「LC/MS による動物用医薬品等の一斉試験法 I (畜水産物)」(通知一斉試験法) が公示されている。本試験法はヘキサン共存下アセトニトリルで抽出後、抽出液を C₁₈ ミニカラムで精製する方法である。公示試験法としては比較的簡便な方法であるものの、溶媒除去操作が 2 回あることに加え、ミニカラムのコンディショニング、負荷、溶出といった一連の操作を手作業で行う必要があるため、煩雑である。また、本試験法は C₁₈ ミニカラム 1 個のみで精製する方法であるため、精製効果が低いという問題も

そこで本研究では通知一斉試験法「LC/MS による動物用医薬品等の一斉試験法 I (畜水産

物)」の抽出方法は変更せずに、精製方法を改良することで、簡便で規格基準の適否判定に用いることができる分析法を確立することを目的とした。溶媒除去操作を省略し、自動前処理装置を導入することで操作を簡便化するとともに、夾雑成分の除去効果が高く、使用溶媒量も少ない方法を検討した。

B. 研究方法

1. 試料

牛筋肉（モモ肉）、牛肝臓、牛脂肪及び牛乳はインターネットを介して購入した。牛筋肉、牛肝臓及び牛脂肪は磨砕装置を用いて細切均一化したものを用いた。

2. 試薬及び試液

(1) 有機溶媒及び試薬

試験溶液調製用の水は超高純度蒸留水精製装置で蒸留したもの、アセトニトリル及びヘキサンは関東化学製の残留農薬・PCB 試験用を用いた。LC-MS/MS 測定用の水及びアセトニトリルは関東化学製の LC/MS 用を用いた。無水硫酸ナトリウムは富士フイルム和光純薬製の残留農薬・PCB 試験用、酢酸は富士フイルム和光純薬製の精密分析用、ギ酸は富士フイルム和光純薬製の LC/MS 用を用いた。

(2) 動物用医薬品標準溶液

動物用医薬品標準溶液は林純薬工業製の PL 動物薬 LC/MS Mix 1 及び Mix 2、富士フイルム和光純薬製の動物用医薬品混合標準液（マクロライド）並びに動物用医薬品混合標準液（ホルモン剤）を用いた。

(3) 精製ミニカラム

精製ミニカラムは、オクタデシルシリル化シリカゲル (ODS) ミニカラム (Smart-SPE C18-50; 50 mg 及び Smart-SPE C18-30; 30 mg)、スチレン・ジビニルベンゼン親水性/疎水性ポリマー (PBX) ミニカラム (Smart-SPE PBX-20; 20 mg)、N 含有メタクリレート・スチレン・ジビニルベンゼンポリマー (PLS-3) ミニカラム (Smart-SPE PLS3-20; 20 mg)、ポリスチレン・ジビニルベンゼンミックスモード強陰イオン交換 (AXi) ミニカラム (Smart-SPE AXi3-20; 20 mg) 及びエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル (PSA) ミニカラム (Smart-SPE PSA-30; 30 mg) (いずれもアイスティサイエンス製) を用いた。

3. 装置

磨砕装置は Grindomix GM200 (Verder Scientific 製) を用いた。ホモジナイザーは Polytron PT 10-35 GT (Kinematica 製) を用いた。振とう機は SR-2DW (タイテック製)、遠心分離機はフロア型冷却遠心機 S700FR (久保田商事製) を使用した。自動前処理装置は残留農薬分析用自動前処理装置 ST-L400 (アイスティサイエンス製) を使用した。

LC-MS/MS は Nexera X3 (島津製作所製) 及び Triple Quad 7500 (Sciex 製) を使用した。データ解析は Sciex OS (Sciex 製) を用いて行った。

4. 測定条件

(1) LC 条件

カラム : InertSustain AQ-C18 (内径 2.1 mm, 長さ 100 mm, 粒子径 2 μ m, ジーエルサイエンス製)

カラム温度 : 40°C

注入量 : 3 μ L (分析法検討時は 2 μ L)

移動相：(A) 0.1 vol%ギ酸及び(B) 0.1 vol%ギ酸・
アセトニトリル溶液

流速：0.3 mL/min

グラジエント条件：

0 分 (A:B=98:2) →15 分 (A:B=30:70) →15.01
分 (A:B=5:95) →20 分 (A:B=5:95) →20.01 分
(A:B=98:2)

(2) MS 条件

イオン化法：ESI (+)及び ESI (-)

イオンスプレー電圧：2,000 V

ヒーター温度：450°C

カーテングス：N₂, 35 psi

ネブライザーガス：ドライエアー，70 psi

ターボガス：ドライエアー，80 psi

コリジョンガス：N₂, 7 a.u.

5. 試験溶液調製方法

試験溶液調製方法の概要を図 1 に示す。

(1) 抽出

抽出は通知一斉試験法「LC/MS による動物用
医薬品等の一斉試験法 I (畜水産物)」に従って
行った。試料 10.0 g に *n*-ヘキサン飽和アセトニ
トリル 50 mL, *n*-ヘキサン 50 mL 及び酢酸 1 mL
を加え、約 1 分間ホモジナイズした後、無水硫
酸ナトリウム 20 g を加えてさらに約 1 分間ホ
モジナイズした。毎分 3,000 回転 (1,932 x g) で
5 分間遠心分離した後 *n*-ヘキサン層を捨て、ア
セトニトリル層を採った。残留物にアセトニト
リル 50 mL を加えて約 1 分間ホモジナイズし、
上記と同様に遠心分離した。アセトニトリル層
を採り、先のアセトニトリル層と合わせ、アセ
トニトリルを加えて正確に 100 mL (抽出液) と
した。

(2) 精製

次の操作を、自動前処理装置を用いて行った
(図 1)。C18-50 ミニカラム 2 個をノズルを挟
んで連結した。これにアセトニトリル 1 mL を
負荷し、コンディショニングした後、ノズルか
ら水 0.2 mL を注入しながら、アセトニトリル/
水 (9/1) 1 mL を負荷し、コンディショニング
した。続いてノズルから水 0.4 mL を注入しな
がら、抽出液 2 mL を負荷した後、ノズルから水
0.2 mL を注入しながら、アセトニトリル/水 (9/1)
0.5 mL を負荷し、溶出した。

得られた溶出液を 0.1 vol%ギ酸で 4 mL に定
容し、試験溶液とした。

C. 研究結果及び考察

1. 試験溶液調製方法の検討

(1) ミニカラムの検討

本検討ではキノロン剤、サルファ剤、ホルモ
ン剤、マクロライド系抗生物質等の 54 化合物
を対象とした。抽出は通知一斉試験法「LC/MS
による動物用医薬品等の一斉試験法 I (畜水産
物)」に従って行った。本試験法の抽出方法はヘ
キサン及びアセトニトリルの混液を用いてホ
モジナイズ抽出し、ヘキサン層を除去してアセ
トニトリル層を採取する方法であるため、大部
分の脂質は抽出時に除去される。しかしながら、
抽出液中にも低極性夾雑成分が多く含まれて
いることから、通知一斉試験法と同様に、C₁₈ ミ
ニカラムを用いて低極性夾雑成分を除去する
こととした。使用する有機溶媒量を削減するた
め、精製に供する抽出液量は 2 mL (試料 0.2 g
相当) とし、充填剤量 50 mg の C₁₈ ミニカラム
(C18-50) を用いることとした。C₁₈ ミニカラム
で精製する場合、負荷液の極性を高めることで
精製効果が向上するが、脂質が多い試料に水等

を加えて極性を上げると、夾雑成分が不溶化し、ミニカラムが目詰まりする恐れがある。通知一斉試験法ではミニカラムへの負荷前に溶媒を除去し極性の高い溶媒に置換するが、操作の簡便化の観点から、そのような操作は行わない方が望ましい。また、負荷液中の夾雑成分に対して充填剤量が不足すると過負荷となり、精製効果が低下する恐れがある。このため、ミニカラムを2個用いた2段精製を検討した。すなわち、抽出液（アセトニトリル溶液）を希釈や濃縮をせずにそのまま1段目のC18-50ミニカラムに負荷することで析出の恐れがある脂質成分を概ね除去し、2段目のカラムでノズルから水系溶媒を加えることにより溶媒の極性を上げて様々な夾雑成分を除去することとした。2段目のミニカラムにはC18-30、C18-50、PBX、PLS-3、AXi及びPSAを検討した。牛の筋肉での回収率及びマトリックス効果を表1に示す。検討した精製方法の概要を図2に示した。予備検討として、牛筋肉のブランク抽出液に混合標準溶液を0.01 µg/mL (0.1ppm 相当) となるように添加し、種々のミニカラムでの回収率及びマトリックスの影響を求めた (表1)。その結果、2段目にもC₁₈ミニカラム (C18-30 又は C18-50) を用いた場合、ほとんどの化合物において良好な回収率が得られた。陰イオン交換ミニカラムであるAXi及びPSAを用いた場合は、マトリックスの影響を補正した回収率は良好であったものの、C₁₈ミニカラム (C18-30 及び C18-50) と比べてエリスロマイシン、ロイコマイシンA5及びネオスピラマイシン等でマトリックスの影響が大きかった。ポリマー系ミニカラムであるPBX及びPLS-3を用いた場合も、マトリックスの影響を補正した回収率は概ね良好であったが、半数以上の化合物がマトリックスの影

響を大きく受けていたことから、これらのミニカラムでは夾雑成分を十分に除去できないことが示唆された。以上の結果から、牛筋肉で良好な結果が得られたC18-30、C18-50、AXi及びPSAミニカラムについて牛肝臓、牛脂肪及び牛乳での回収率及びマトリックスの影響を確認した。その結果、マトリックスの影響を補正した回収率はいずれのミニカラムを用いた場合も概ね良好であった (表2~4)。マトリックスの影響は、牛肝臓ではAXi、牛脂肪及び牛乳ではC18-50で小さく、精製効果が高いことが示唆された。これらの結果から、本研究では1段目と2段目の両方にC18-50を用いることとした。

(2) ノズルから加える水の量の検討

①抽出液負荷時の水量

「(1) ミニカラムの検討」では、1段目のC18-50ミニカラムに抽出液を負荷する際、ノズルから水を0.4 mLを加え、1段目のミニカラムからの溶出液を希釈して2段目のC18-50ミニカラムに負荷した。この時、ノズルから加える水の量を増加させれば精製効果が向上する可能性があると考え、水量を0.8 mLに増加させた場合の回収率および精製効果を検討した (表5)。その結果、水量を増加させても回収率の低下は認められなかった。しかし、マトリックスの影響については、水0.4 mLを用いた場合と比較して改善がみられず、抽出液負荷時にノズルから加える水の量を増加させても精製効果の向上は期待できないことが示唆された。これらの結果から、抽出液負荷時にノズルから加える水の量は0.4 mLとした。

②アセトニトリル/水 (9/1) での溶出時の水量

「(1) ミニカラムの検討」では、1段目のC18-50ミニカラムに抽出液を負荷した後、アセトニ

トリル/水 (9/1) 0.5 mL で溶出する際に、ノズルから水 0.2 mL を加え、1 段目のミニカラムからの溶出液を希釈して 2 段目の C18-50 ミニカラムに負荷した。この時も、ノズルから加える水の量を増加させることで、精製効果が向上する可能性があると考え、水量を 0.4 mL に増加させた場合の回収率及び精製効果を検討した (表 6)。その結果、水 0.2 mL を加えた場合と比べて特段の改善がみられなかった。このため、1 段目の C18-50 ミニカラムからアセトニトリル/水 (9/1) で溶出する際にノズルから加える水の量は 0.2 mL とした。

(3) 確立した精製方法

確立した精製方法を図 1 に示す。1 段目の C18-50 ミニカラムに抽出液 (アセトニトリル溶液) をそのまま負荷し、アセトニトリル/水 (9/1) で溶出することにより、低極性夾雑成分が多く含まれる牛脂肪のような試料においても目詰まりを防ぎ、低極性夾雑成分を効果的に除去することができた。また、2 段目のミニカラムへの過負荷を防ぎ、精製効果の低下を抑制できたと考えられる。さらに、1 段目と 2 段目の C₁₈ ミニカラムの間にノズルを配置し、ノズルから水を注入して溶出液を希釈し、極性を高めた溶液を 2 段目のミニカラムに負荷する方法としたことにより、2 段目のミニカラムでの精製効果が向上したものと考えられた。

2. 妥当性評価

本研究で確立した自動前処理装置を用いた動物用医薬品一斉分析法の妥当性評価を、「食品中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 (食安発 1224 第 1 号, 平成 22 年 12 月 24 日)」に従い実施した。牛筋肉、牛肝臓、牛脂肪及び牛乳を用い、添加濃度 0.01

ppm, 1 名が 1 日 1 回 2 併行の試験を 5 日間実施する試験計画とした。なお、「(1) ミニカラムの検討」で用いた 54 化合物のうちスルファニルアミドはピーク形状の不良により定量が困難であった。また、ゼラノールは感度が低く、ピーク面積の再現性が得られなかった。このため、上記の 2 化合物を除いた 52 化合物を評価対象とした。真度、併行精度、室内精度及びマトリックス効果を表 7 に示す。評価対象化合物のいずれにおいても、ブランク試料におけるピーク面積は添加試料におけるピーク面積の 1/10 未満であり、選択性に問題はなかった。真度及び精度の目標値 (真度 70~120%, 併行精度 25% 未満, 室内精度 30% 未満) を満たす化合物数 (全化合物数に対する割合) は、牛筋肉で 45 (87%), 牛肝臓で 41 (79%), 牛脂肪で 48 (92%), 牛乳で 47 (90%) であり、本分析法により約 8 割以上の化合物を精確に定量できることが分かった。ダノフロキサシンは全ての食品で真度が 120% を超過していた。キノロン系抗菌薬は金属とキレートを形成することが知られており、ダノフロキサシンが分析カラムに吸着した影響も考えられた。すなわち、ダノフロキサシンがカラム内部の金属面に結合する度合いが、夾雑成分が存在する添加試料やマトリックス標準溶液では夾雑成分の存在しない溶媒標準溶液と比べて抑えられるために、同じ濃度でも前者のピーク面積が後者のピーク面積よりも小さくなったことが原因であると考えられた。マルボフロキサシンでは牛筋肉及び牛乳、オフロキサシンでは牛の肝臓及び牛乳において真度が 120% 以上となり、マトリックス効果も比較的大きかったが、これらも同様の理由であると考えられた。エリスロマイシン A については、真度が目標値を下回り、かつ精度の不良傾向がみら

れた。エリスロマイシン A は酸性溶液中での分解が報告されており¹⁾、ギ酸を含む試験溶液調製後、LC-MS/MS に注入するまでに分解したことが低真度やばらつきの原因であると考えられた。牛肝臓においてロイコマイシン A5、ネオスピラマイシン I、スピラマイシン I、スルファキノキサリン及びタイロシンの真度が極端に低かった。いずれもマトリックスの影響は小さく、イオン化抑制が原因ではないと考えられた。また、牛肝臓抽出液に添加した場合の回収率（マトリックスの影響を補正した回収率）は良好であったことから（表 2）、試料に標準溶液を添加後の放置時間中または抽出操作中に分解等により減少したものと考えられた。スピラマイシン I については豚肝臓中でシステインと反応してチアゾリジン誘導体に変換されることが報告されており、その機構は、マクロラクトン環に結合しているアルデヒド基とシステインが反応することによる²⁾。ネオスピラマイシン I、ロイコマイシン A5 及びタイロシンも同様のアルデヒド基を有することから、スピラマイシン I と同様のチアゾリジン誘導体への変換反応が推察された。大きな室内精度は、その変換の程度が試験日によって変動したことが原因であると考えられた。スルファキノキサリンについては詳細な原因が不明であるが、熱変性させた牛肝臓においては真度が良好という報告から、肝臓における代謝機構の関与が示唆されている³⁾。

クロステボルも牛肝臓において真度がやや低かった。また、ロイコマイシン A5、ネオスピラマイシン I、スピラマイシン I 及びタイロシンについては牛筋肉及び牛脂肪においても真度が 56～76%とやや低い値となった。これらもマトリックスの影響は小さく、抽出液に添加し

た場合の回収率（マトリックスの影響を補正した回収率）は良好であったことから（表 1～3）、試料に標準溶液を添加後の放置時間中または抽出操作中に減少したものと考えられた。

チルミコシンに関しては真度が目標値を超過していたが、マトリックスの影響は小さいことから、原因は不明でありさらなる検討が必要である。

参考文献

- 1) Kim, Y. H., Heinze, T. M., Beger, R., Pothuluri, J. V., Cerniglia, C. E. A kinetic study on the degradation of erythromycin A in aqueous solution. *Int. J. Pharm.*, 2004, **271**, 63–76.
- 2) Mourier, P., Brun, A. Study of the metabolism of spiramycin in pig liver. *J. Chromatogr. B*, 1997, **704**, 197–205.
- 3) 大木翔平, 小林浩. LC-MS/MS 法による畜産物中の動物用医薬品一斉試験法の検討. 山梨衛環研年報, 2015, **59**, 32–39.

D. 結論

通知一斉試験法「LC/MS による動物用医薬品等の一斉試験法 I（畜水産物）」の精製操作を改良し、簡便かつ迅速な分析法を確立した。本分析法は通知一斉試験法に従って調製した抽出液を、自動前処理装置を用いて C₁₈ ミニカラム（充填剤量 50 mg）で 2 段階精製し、夾雑成分を除去した後、LC-MS/MS で測定する方法である。牛筋肉、牛肝臓、牛脂肪及び牛乳を用いて、52 化合物を対象に添加濃度 0.01ppm で妥当性評価を行った結果、約 8 割以上の化合物で妥当性評価ガイドラインの目標値を満たした。本分析法は、通知一斉試験法と抽出条件が同一であるため、抽出効率に起因する分析値の差異は生

じず，規格基準への適否判定に用いることができる方法である．また，一連の精製操作は通知一斉試験法に比べ小スケールであり，使用する試薬及び溶媒の使用量を大幅に削減することができた．さらに，自動前処理装置を用いることで，操作時間を短縮でき，分析担当者の熟練度に依存しない精度の高い分析が可能であることから，分析の効率化が期待できる方法である．

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

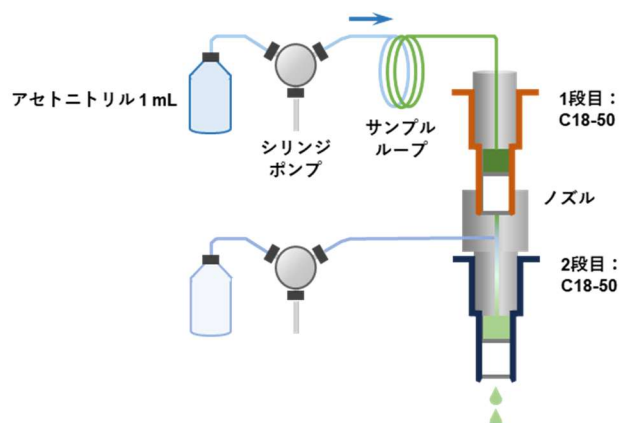
2. 学会発表

なし

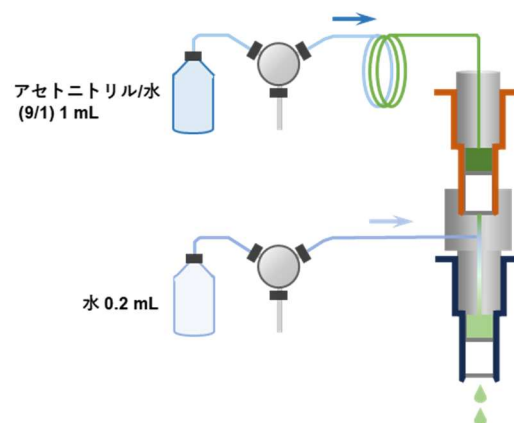
F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

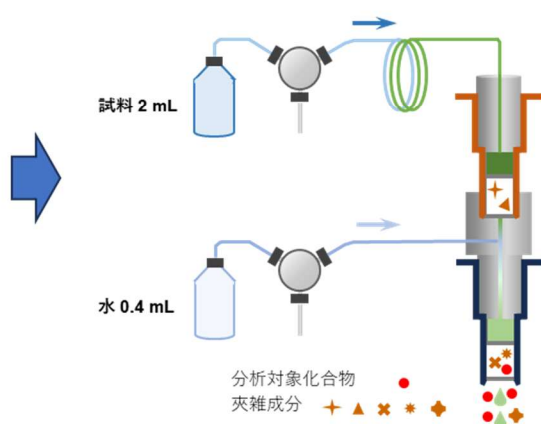
(1) コンディショニング1



(2) コンディショニング2



(3) 試料負荷



(4) 溶出

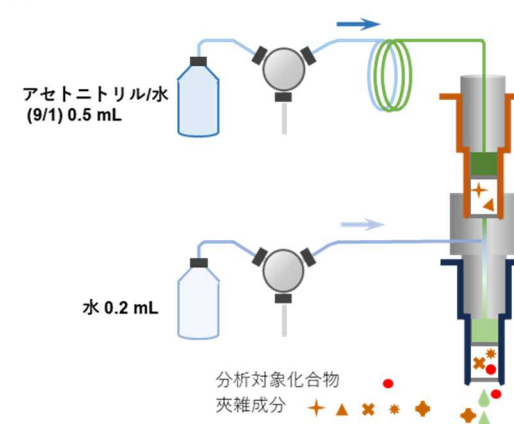


図1 確立した精製方法の概要

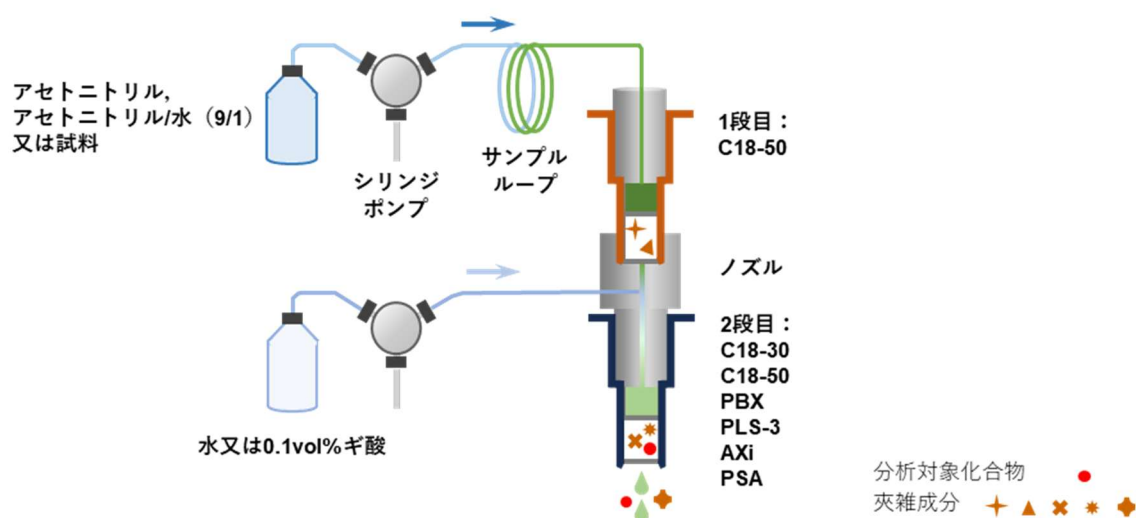


図2 検討した精製方法の概要. ノズルから2段目のカラムに流す溶媒は, C18-30, C18-50, PBS 又は PLS-3 の場合は水, AXi 又は PSA の場合は 0.1vol%ギ酸とした.

表2 ミニカラム検討結果（牛肝臓，％）．網掛け部分は目標値（回収率：70～120％，マトリックス効果：-20～+20％）から外れたものを示す（ $n=1$ ）．SSTD: 溶媒標準溶液，MSTD: マトリックス標準溶液，ME: マトリックス効果

	C18-30			C18-50			AXi			PSA		
	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSTD)	ME	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSTD)	ME	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSTD)	ME	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSTD)	ME
Ciprofloxacin	98.6	97.1	+1.6	74.4	99.4	-25.1	86.7	90.8	-4.5	105.2	87.9	+19.6
Clostebol	87.3	94.3	-7.5	83.6	93.6	-10.6	95.4	98.0	-2.7	94.2	90.3	+4.3
Danofloxacin	96.5	86.8	+11.1	63.3	93.0	-31.9	103.3	91.8	+12.5	126.8	107.1	+18.4
Diaveridine	91.0	90.6	+0.4	89.7	98.1	-8.5	88.0	93.7	-6.1	96.0	97.5	-1.6
Difloxacin	88.7	90.6	-2.1	73.8	97.1	-24.0	94.8	97.8	-3.1	102.5	90.9	+12.8
Enrofloxacin	95.9	90.8	+5.6	74.5	96.2	-22.5	94.4	96.6	-2.3	111.4	93.2	+19.5
Erythromycin A	91.6	91.1	+0.7	86.0	91.7	-6.3	80.8	86.7	-6.8	84.5	94.6	-10.6
Flumequine	94.4	97.3	-3.0	82.8	99.0	-16.4	96.9	98.4	-1.5	106.1	94.8	+11.9
Leucomycin A5	182.2	155.5	+17.2	121.5	112.7	+7.8	126.0	119.3	+5.6	195.6	114.4	+70.9
Marbofloxacin	89.6	91.2	-1.8	70.9	97.2	-27.1	92.7	89.5	+3.6	98.4	92.4	+6.4
Methylprednisolone	93.3	100.8	-7.4	81.2	95.6	-15.0	96.8	97.4	-0.7	100.0	84.2	+18.7
Miloxacin	93.9	96.7	-2.9	78.6	98.1	-19.9	92.4	100.7	-8.2	106.3	94.0	+13.0
Nalidixic acid	89.6	92.0	-2.7	88.2	98.5	-10.5	94.8	99.0	-4.2	102.9	98.5	+4.5
Neospiramycin I	123.9	115.8	+7.0	84.9	96.7	-12.2	105.4	99.3	+6.2	139.1	110.0	+26.5
Norfloxacin	98.3	99.2	-0.9	66.2	100.9	-34.4	79.8	85.2	-6.3	124.2	92.7	+34.1
Ofloxacin	85.8	88.5	-3.1	70.2	95.3	-26.3	92.0	95.9	-4.0	104.5	95.9	+9.0
Orbifloxacin	89.0	91.3	-2.6	83.5	97.2	-14.0	95.3	94.9	+0.4	91.8	93.5	-1.8
Ormetoprim	95.1	97.8	-2.8	91.4	98.7	-7.3	88.3	94.1	-6.1	94.8	93.3	+1.6
Oxolinic acid	89.2	93.1	-4.1	69.6	92.7	-25.0	88.8	96.7	-8.2	109.9	90.4	+21.6
Piromidic acid	92.0	97.0	-5.1	87.9	98.9	-11.0	95.6	102.7	-7.0	94.4	98.1	-3.8
Prednisolone	90.4	96.7	-6.5	79.3	99.9	-20.7	88.0	95.9	-8.3	104.2	97.5	+6.9
Pyrimethamine	95.0	99.1	-4.2	92.2	93.6	-1.4	89.3	93.8	-4.8	99.1	98.7	+0.4
Sarafloxacin	94.2	93.1	+1.1	76.1	94.9	-19.8	90.5	90.1	+0.4	97.8	98.3	-0.4
Spiramycin I	135.3	115.9	+16.8	88.9	95.8	-7.2	95.4	93.5	+2.0	140.3	105.9	+32.5
Sulfabenzamide	91.4	94.8	-3.6	91.1	93.6	-2.7	88.6	91.1	-2.7	89.1	95.2	-6.4
Sulfabromomethazine	98.4	97.1	+1.4	91.7	97.4	-5.9	94.2	88.4	+6.5	126.8	102.0	+24.2
Sulfachloropyridazine	91.6	95.3	-3.8	83.5	98.2	-14.9	97.8	96.3	+1.5	106.2	87.9	+20.8
Sulfadiazine	91.1	99.0	-8.0	85.3	96.0	-11.2	93.2	93.6	-0.4	100.2	93.5	+7.1
Sulfadimethoxine	99.1	99.9	-0.8	90.8	97.0	-6.4	97.4	101.3	-3.9	96.1	91.5	+5.1
Sulfadimidine	100.9	98.3	+2.6	98.0	102.0	-3.9	93.3	96.1	-2.9	105.5	93.5	+12.8
Sulfadoxine	96.4	98.7	-2.3	93.7	99.1	-5.4	94.5	97.3	-2.9	100.6	93.3	+7.8
Sulfaethoxypyridazine	97.7	98.4	-0.7	86.9	104.3	-16.7	92.9	94.1	-1.3	99.2	93.4	+6.2
Sulfaguanidine	74.5	96.0	-22.4	84.2	91.8	-8.2	71.4	95.5	-25.2	88.8	94.7	-6.3
Sulfamerazine	100.0	98.0	+2.0	89.3	104.2	-14.3	85.3	85.5	-0.2	109.0	94.8	+15.0
Sulfamethoxazole	94.3	93.9	+0.4	85.3	96.4	-11.5	89.2	95.8	-6.9	89.5	90.9	-1.5
Sulfamethoxypyridazine	94.6	97.0	-2.5	95.3	101.5	-6.1	102.5	100.0	+2.5	111.1	88.4	+25.8
Sulfamonomethoxine	105.3	93.9	+12.2	85.3	86.9	-1.9	91.6	97.4	-6.0	105.1	95.5	+10.0
Sulfanilamide	96.1	101.8	-5.6	79.6	97.7	-18.5	85.3	95.0	-10.1	90.5	90.9	-0.4
Sulfapyridine	94.8	96.7	-2.0	91.4	98.6	-7.3	96.3	96.0	+0.3	103.4	91.0	+13.7
Sulfaquinoxaline	93.9	92.1	+2.0	85.1	90.1	-5.6	92.4	99.9	-7.5	99.6	99.3	+0.4
Sulfathiazole	98.0	87.4	+12.1	91.0	98.6	-7.6	93.9	98.1	-4.2	103.9	90.1	+15.3
Sulfatroxazole	93.9	95.3	-1.4	82.8	96.0	-13.7	89.0	93.5	-4.8	102.8	92.1	+11.6
Sulfisomdine	92.5	95.0	-2.7	93.3	99.2	-5.9	95.3	97.5	-2.2	94.2	96.3	-2.2
Sulfisoxazole	94.7	97.2	-2.6	84.1	93.2	-9.8	96.5	98.2	-1.7	101.4	89.6	+13.2
Sulfisozole	97.8	98.0	-0.1	90.5	93.0	-2.7	94.3	97.2	-3.1	93.9	98.2	-4.4
Sulfacetamide	92.1	95.6	-3.7	86.4	95.1	-9.2	89.3	97.6	-8.5	88.6	93.2	-5.0
Tiamulin	96.7	100.2	-3.5	100.3	98.3	+2.0	97.4	100.7	-3.3	96.9	98.9	-1.9
Tilmicosin	101.5	92.8	+9.4	87.9	96.4	-8.8	94.1	91.0	+3.4	99.5	89.8	+10.8
Trimethoprim	89.3	89.4	-0.1	91.5	91.6	-0.2	89.8	94.8	-5.3	98.6	95.5	+3.3
Tylosin	118.0	115.7	+1.9	87.9	96.9	-9.3	108.6	101.1	+7.5	124.8	105.1	+18.8
α -Trenbolone	85.0	92.7	-8.3	78.6	99.6	-21.1	90.7	91.0	-0.4	102.7	94.2	+9.0
β -Trenbolone	86.3	95.1	-9.2	72.2	94.4	-23.5	84.0	92.3	-9.0	98.7	94.8	+4.1
Sulfanitran	113.3	104.4	+8.6	111.0	101.4	+9.5	98.6	92.2	+7.0	93.7	75.2	+24.6
Zeranol	86.7	101.0	-14.1	86.1	97.6	-11.8	78.8	96.2	-18.0	81.5	92.6	-12.0

表3 ミニカラム検討結果(牛脂肪, %). 網掛け部分は目標値(回収率: 70~120%, マトリックス効果: -20~+20%)から外れたものを示す ($n=1$). SSTD: 溶媒標準溶液, MSD: マトリックス標準溶液, ME: マトリックス効果

	C18-30			C18-50			AXi			PSA		
	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSD)	ME	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSD)	ME	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSD)	ME	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSD)	ME
Ciprofloxacin	95.9	97.3	-1.4	86.0	82.3	+4.5	77.6	88.2	-12.1	84.2	94.4	-10.8
Clostebol	91.1	93.5	-2.5	94.7	92.3	+2.6	77.1	91.2	-15.4	77.4	92.8	-16.6
Danofloxacin	95.2	94.8	+0.4	104.3	94.3	+10.6	77.1	98.9	-22.0	73.3	88.1	-16.9
Diaveridine	97.7	99.6	-2.0	94.3	88.5	+6.5	86.5	90.1	-4.0	87.9	95.8	-8.3
Difloxacin	89.5	97.0	-7.7	94.8	89.3	+6.2	86.9	89.2	-2.5	83.7	88.5	-5.4
Enrofloxacin	93.2	92.6	+0.6	95.6	89.3	+7.1	75.8	87.1	-12.9	81.4	94.4	-13.8
Erythromycin A	71.0	86.1	-17.6	71.4	81.4	-12.3	38.2	71.2	-46.3	65.7	87.4	-24.8
Flumequine	93.8	101.7	-7.8	93.1	92.5	+0.7	80.3	90.1	-11.0	81.8	95.0	-13.9
Leucomycin A5	172.1	146.4	+17.6	110.1	99.7	+10.4	150.6	96.3	+56.4	146.3	95.4	+53.4
Marbofloxacin	92.5	94.2	-1.9	96.4	93.5	+3.1	79.5	91.5	-13.0	81.5	92.6	-12.0
Methylprednisolone	97.7	106.1	-7.9	94.7	90.7	+4.4	83.5	87.5	-4.6	86.2	89.5	-3.6
Miloxacin	94.6	99.6	-5.0	92.7	91.9	+0.9	74.4	87.1	-14.6	75.8	88.4	-14.2
Nalidixic acid	92.6	99.3	-6.7	92.5	95.8	-3.4	79.1	89.9	-12.1	82.3	96.1	-14.4
Neospiramycin I	124.3	119.7	+3.9	92.2	80.5	+14.5	92.6	87.0	+6.4	91.9	86.5	+6.3
Norfloracin	91.1	96.5	-5.6	88.5	83.4	+6.2	93.3	90.2	+3.5	85.4	87.9	-2.8
Ofloxacin	85.7	87.1	-1.7	96.7	90.2	+7.2	79.4	85.9	-7.7	85.6	94.5	-9.4
Orbifloxacin	91.7	98.0	-6.5	93.2	90.9	+2.5	76.3	83.5	-8.6	80.9	95.2	-15.0
Ormetoprim	95.3	95.3	-0.0	91.6	88.0	+4.1	91.8	91.8	+0.0	93.4	98.3	-5.0
Oxolinic acid	91.4	99.3	-7.9	90.6	90.8	-0.2	72.2	79.5	-9.2	80.1	95.7	-16.4
Piromidic acid	92.9	98.8	-6.0	95.7	97.2	-1.5	89.0	95.8	-7.1	85.3	94.5	-9.8
Prednisolone	95.1	105.2	-9.6	98.7	93.3	+5.9	76.5	81.6	-6.2	79.0	92.0	-14.2
Pyrimethamine	95.0	95.8	-0.9	90.2	87.2	+3.4	87.1	87.9	-0.9	90.8	99.5	-8.7
Sarafloxacin	90.5	93.9	-3.6	92.3	89.2	+3.4	89.7	81.2	+10.5	87.0	88.7	-1.9
Spiramycin I	123.4	107.6	+14.7	88.9	81.1	+9.6	92.6	83.9	+10.4	89.9	81.0	+10.9
Sulfabenzamide	92.6	99.3	-6.8	91.2	93.7	-2.6	83.1	88.8	-6.4	87.6	94.6	-7.4
Sulfabromomethazine	92.9	104.7	-11.3	94.3	97.3	-3.1	75.7	86.2	-12.2	81.5	93.0	-12.4
Sulfachloropyridazine	94.4	103.0	-8.3	99.1	92.3	+7.4	88.2	91.6	-3.7	90.9	91.4	-0.5
Sulfadiazine	87.1	101.2	-13.9	91.5	92.8	-1.4	79.9	95.9	-16.6	81.4	89.3	-8.9
Sulfadimethoxine	96.6	98.7	-2.1	97.1	97.0	+0.1	84.0	88.6	-5.1	84.1	95.1	-11.6
Sulfadimidine	104.0	105.0	-1.0	99.1	95.4	+3.8	88.4	93.9	-5.8	88.7	94.2	-5.9
Sulfadoxine	95.8	98.8	-3.0	92.5	95.0	-2.6	91.4	92.7	-1.3	92.3	101.1	-8.7
Sulfaethoxypyridazine	92.6	90.2	+2.7	91.8	91.1	+0.8	84.4	88.5	-4.6	87.0	96.9	-10.2
Sulfaguanidine	110.2	102.1	+7.9	103.1	92.1	+12.0	103.9	93.4	+11.2	108.0	100.2	+7.8
Sulfamerazine	93.6	93.8	-0.2	104.0	93.2	+11.6	90.3	85.2	+6.0	89.5	93.2	-3.9
Sulfamethoxazole	93.5	98.7	-5.2	94.7	96.7	-2.1	75.3	83.7	-10.0	77.6	95.2	-18.5
Sulfamethoxypyridazine	94.3	99.5	-5.2	90.6	92.8	-2.4	95.5	92.6	+3.1	95.9	91.7	+4.6
Sulfamonomethoxine	104.5	97.6	+7.1	93.0	93.5	-0.6	84.5	86.6	-2.4	87.4	86.3	+1.3
Sulfanilamide	112.9	101.6	+11.2	97.0	89.7	+8.1	80.0	97.5	-17.9	87.2	103.2	-15.5
Sulfapyridine	90.2	104.2	-13.4	97.8	93.6	+4.4	91.3	94.4	-3.3	91.2	92.3	-1.1
Sulfaquinoxaline	95.2	100.4	-5.2	95.3	91.1	+4.6	76.4	94.7	-19.4	72.0	84.6	-14.9
Sulfathiazole	101.4	99.9	+1.5	101.3	92.9	+9.0	87.6	91.4	-4.1	85.9	87.7	-2.1
Sulfatroxazole	94.2	104.4	-9.8	98.2	91.8	+7.0	82.4	91.0	-9.5	79.0	89.2	-11.4
Sulfisomidine	95.2	100.5	-5.3	92.9	94.2	-1.4	84.3	99.2	-15.0	87.2	105.8	-17.6
Sulfisoxazole	96.8	103.6	-6.6	100.5	94.5	+6.3	84.8	88.3	-4.0	89.9	97.6	-7.9
Sulfisozole	96.8	94.6	+2.3	94.7	90.4	+4.7	79.7	92.5	-13.8	83.4	92.5	-9.8
Sulfacetamide	102.3	103.8	-1.5	97.7	93.2	+4.8	75.4	97.0	-22.3	78.1	97.9	-20.2
Tiamulin	95.1	96.7	-1.6	94.8	96.9	-2.1	91.8	92.6	-0.9	93.0	95.8	-2.9
Tilmicosin	103.1	91.7	+12.5	81.5	76.2	+6.8	70.7	73.4	-3.7	82.1	83.1	-1.2
Trimethoprim	94.5	97.2	-2.8	93.6	90.9	+3.0	88.7	95.1	-6.7	90.7	94.2	-3.7
Tylosin	114.7	110.0	+4.3	98.8	92.8	+6.4	99.4	89.6	+11.0	100.1	97.8	+2.3
α -Trenbolone	90.9	105.7	-13.9	95.1	98.1	-3.1	80.1	88.2	-9.2	77.7	95.3	-18.4
β -Trenbolone	92.0	100.7	-8.6	91.7	91.1	+0.7	76.4	85.9	-11.1	81.5	105.4	-22.7
Sulfanitran	123.8	107.2	+15.5	78.9	86.6	-8.8	85.7	79.4	+7.9	99.0	88.9	+11.5
Zeranol	96.0	104.7	-8.2	84.8	98.7	-14.1	79.4	90.0	-11.8	93.7	103.7	-9.6

表4 ミニカラム検討結果(牛乳, %). 網掛け部分は目標値(回収率: 70~120%, マトリックス効果: -20~+20%)から外れたものを示す($n=1$). SSTD: 溶媒標準溶液, MSTD: マトリックス標準溶液, ME: マトリックス効果

	C18-30			C18-50			AXi			PSA		
	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSTD)	ME	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSTD)	ME	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSTD)	ME	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSTD)	ME
Ciprofloxacin	94.1	97.8	-3.9	90.4	89.6	+1.0	103.2	90.7	+13.7	93.8	93.9	-0.1
Clostebol	94.3	103.9	-9.3	94.5	96.1	-1.7	79.6	91.0	-12.6	80.5	100.9	-20.3
Danofloxacin	103.0	100.6	+2.3	100.4	85.0	+18.1	98.2	92.0	+6.7	89.8	90.3	-0.5
Diaveridine	91.8	96.9	-5.2	93.7	92.5	+1.4	90.9	93.5	-2.8	91.4	98.0	-6.7
Difloxacin	92.0	95.9	-4.0	102.8	96.8	+6.2	99.3	95.8	+3.7	89.4	94.7	-5.6
Enrofloxacin	95.0	93.8	+1.2	99.8	92.0	+8.5	91.0	92.7	-1.8	87.9	93.8	-6.3
Erythromycin A	90.3	93.3	-3.2	96.7	95.0	+1.7	51.1	74.4	-31.3	83.0	98.2	-15.5
Flumequine	95.3	100.9	-5.5	102.9	100.1	+2.8	96.8	95.6	+1.2	87.5	97.9	-10.6
Leucomycin A5	194.0	166.7	+16.4	129.6	120.1	+7.9	195.2	115.4	+69.2	186.9	112.5	+66.1
Marbofloxacin	104.2	92.1	+13.2	111.7	88.7	+25.9	96.0	87.3	+9.9	95.0	101.3	-6.2
Methylprednisolone	97.4	103.5	-5.9	97.5	92.5	+5.4	91.9	96.0	-4.3	86.7	104.6	-17.2
Miloxacin	93.8	98.8	-5.1	104.9	95.6	+9.7	90.5	95.5	-5.2	85.1	101.4	-16.1
Nalidixic acid	91.9	98.7	-6.9	96.1	96.8	-0.7	94.3	96.2	-2.0	86.2	96.0	-10.3
Neospiramycin I	146.3	137.5	+6.4	114.2	106.8	+6.9	118.1	94.4	+25.1	104.3	93.4	+11.8
Norfloxacin	95.7	102.2	-6.4	107.5	95.3	+12.7	119.9	90.8	+32.0	100.1	91.9	+9.0
Ofloxacin	92.6	100.2	-7.6	103.0	93.3	+10.4	90.0	93.8	-4.1	87.5	97.2	-10.0
Orbifloxacin	90.7	94.7	-4.2	92.8	93.2	-0.5	87.2	88.8	-1.9	88.0	105.0	-16.2
Ormetoprim	92.0	96.5	-4.6	94.3	104.5	-9.7	92.9	92.9	+0.1	91.3	92.8	-1.6
Oxolinic acid	89.6	98.4	-8.9	103.1	96.8	+6.5	89.4	87.4	+2.2	84.5	98.0	-13.7
Piromidic acid	92.2	96.7	-4.6	94.2	99.0	-4.8	94.0	97.0	-3.1	90.2	99.0	-8.9
Prednisolone	88.9	98.4	-9.7	97.5	92.9	+4.9	83.5	91.7	-9.0	78.3	102.4	-23.5
Pyrimethamine	90.9	92.8	-2.1	92.7	90.7	+2.2	93.8	92.0	+2.0	95.8	100.5	-4.6
Sarafloxacin	101.0	104.5	-3.3	94.8	92.2	+2.8	115.8	98.3	+17.9	106.4	92.2	+15.5
Spiramycin I	143.8	129.2	+11.3	104.3	100.6	+3.7	127.9	104.7	+22.2	111.1	107.0	+3.8
Sulfabenzamide	91.5	101.9	-10.2	93.8	103.7	-9.6	82.1	88.7	-7.4	78.0	91.1	-14.4
Sulfabromomethazine	88.8	100.1	-11.3	95.7	98.1	-2.4	97.0	99.0	-2.0	88.7	101.1	-12.3
Sulfachloropyridazine	91.6	99.4	-7.8	98.6	99.0	-0.4	95.0	92.6	+2.6	95.7	112.1	-14.7
Sulfadiazine	88.0	92.7	-5.1	95.4	92.2	+3.5	87.2	93.3	-6.5	89.6	99.2	-9.7
Sulfadimethoxine	98.9	102.3	-3.3	94.9	97.8	-3.0	95.0	101.0	-5.9	89.7	98.9	-9.3
Sulfadimidine	98.8	100.6	-1.8	96.3	96.1	+0.2	93.4	104.9	-11.0	85.8	96.1	-10.7
Sulfadoxine	94.8	99.0	-4.3	94.9	97.7	-2.9	101.8	100.5	+1.3	96.0	99.4	-3.4
Sulfaethoxypyridazine	94.7	98.9	-4.2	93.3	91.3	+2.3	90.2	93.9	-3.9	90.2	97.0	-7.1
Sulfaguanidine	96.7	96.0	+0.8	102.3	126.2	-19.0	92.9	108.2	-14.2	90.7	101.0	-10.2
Sulfamerazine	93.3	100.3	-7.0	97.7	88.7	+10.2	95.4	88.6	+7.7	96.2	102.3	-6.0
Sulfamethoxazole	88.6	96.2	-7.9	91.9	99.2	-7.3	87.1	95.6	-8.8	82.8	100.7	-17.8
Sulfamethoxypyridazine	86.3	91.2	-5.3	88.3	90.1	-2.0	107.6	114.8	-6.2	104.1	106.0	-1.8
Sulfamonomethoxine	105.6	105.0	+0.5	97.0	99.7	-2.7	87.1	86.9	+0.2	88.1	102.2	-13.8
Sulfanilamide	93.5	94.1	-0.7	91.3	90.6	+0.8	62.8	84.8	-26.0	69.1	124.3	-44.4
Sulfapyridine	91.0	99.3	-8.4	105.2	88.1	+19.4	108.0	94.6	+14.1	101.9	103.1	-1.2
Sulfaquinoxaline	89.9	97.0	-7.3	95.3	92.6	+2.9	89.6	102.5	-12.6	83.5	107.8	-22.5
Sulfathiazole	97.4	92.8	+4.9	97.0	92.3	+5.1	93.4	90.9	+2.7	89.1	103.6	-14.0
Sulfatroxazole	95.6	103.3	-7.5	100.6	98.1	+2.5	91.5	93.7	-2.4	88.7	98.5	-10.0
Sulfisomidine	93.7	95.7	-2.1	94.9	95.6	-0.7	82.7	95.3	-13.2	84.9	105.0	-19.2
Sulfisoxazole	101.7	110.9	-8.3	101.6	93.8	+8.3	86.6	85.6	+1.2	87.7	52.9	+65.8
Sulfisozole	97.9	101.9	-3.9	88.3	94.7	-6.8	83.2	93.2	-10.7	84.3	101.2	-16.7
Sulfacetamide	97.7	100.6	-2.9	96.3	94.9	+1.5	64.4	91.0	-29.2	68.2	114.0	-40.2
Tiamulin	97.0	100.0	-3.0	95.5	97.3	-1.8	94.5	98.3	-3.9	95.1	100.3	-5.3
Tilmicosin	110.3	104.9	+5.1	94.1	85.9	+9.6	82.8	94.8	-12.7	86.1	96.9	-11.2
Trimethoprim	91.7	99.6	-8.0	93.3	90.9	+2.6	92.4	92.1	+0.4	93.4	99.5	-6.2
Tylosin	116.8	113.8	+2.6	104.5	99.7	+4.8	116.9	99.7	+17.3	105.1	96.0	+9.6
α -Trenbolone	85.2	94.9	-10.2	90.4	94.0	-3.8	96.0	95.4	+0.7	85.0	96.7	-12.1
β -Trenbolone	92.7	98.2	-5.6	99.3	102.4	-3.0	87.4	91.5	-4.5	80.3	96.7	-17.0
Sulfanitran	113.5	114.1	-0.5	91.3	101.8	-10.3	105.8	104.5	+1.3	95.8	95.0	+0.9
Zeranol	93.9	100.8	-6.8	84.6	89.7	-5.7	89.5	108.0	-17.1	91.2	90.9	+0.3

表 5 負荷時に加える水の量の検討結果（牛筋肉，％）．網掛け部分は目標値（回収率：70～120%，マトリックス効果：-20～+20％）から外れたものを示す（ $n=1$ ）．SSTD: 溶媒標準溶液，MSTD: マトリックス標準溶液，ME: マトリックス効果．水 0.4 mL の結果は表 1 の C18-50+C18-50 を引用

	水0.4 mL			水0.8 mL		
	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSTD)	ME	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSTD)	ME
Ciprofloxacin	86.3	87.9	-1.8	106.3	105.6	+0.7
Clostebol	90.1	96.4	-6.5	97.1	96.4	+0.7
Danofloxacin	85.7	89.8	-4.6	104.0	94.2	+10.4
Diaveridine	88.4	97.5	-9.3	97.9	101.7	-3.7
Difloxacin	87.3	96.7	-9.6	100.2	91.0	+10.1
Enrofloxacin	85.2	89.5	-4.8	104.2	95.9	+8.6
Erythromycin A	91.4	89.5	+2.1	167.9	96.7	+73.7
Flumequine	94.2	94.5	-0.3	107.1	95.9	+11.7
Leucomycin A5	101.6	106.4	-4.5	97.6	97.6	-0.0
Marbofloxacin	89.1	90.1	-1.1	102.7	97.3	+5.5
Methylprednisolone	94.9	97.5	-2.7	95.5	96.3	-0.9
Miloxacin	90.4	95.6	-5.4	123.6	99.5	+24.2
Nalidixic acid	94.0	98.6	-4.6	104.4	101.4	+3.0
Neospiramycin I	95.4	104.0	-8.3	92.7	103.3	-10.3
Norfloxacin	77.8	87.3	-10.9	105.1	105.8	-0.7
Ofloxacin	84.7	94.4	-10.3	98.8	96.7	+2.1
Orbifloxacin	90.7	95.8	-5.3	103.1	98.7	+4.5
Ormetoprim	89.1	94.8	-6.0	100.7	100.2	+0.4
Oxolinic acid	86.3	97.0	-11.0	121.3	92.8	+30.6
Piromidic acid	94.3	96.5	-2.3	92.2	101.1	-8.9
Prednisolone	83.5	94.4	-11.6	83.8	97.2	-13.8
Pyrimethamine	86.6	92.0	-5.9	95.9	98.5	-2.6
Sarafloxacin	88.4	92.1	-4.1	101.6	92.6	+9.7
Spiramycin I	97.5	99.6	-2.1	109.6	105.5	+3.9
Sulfabenzamide	89.7	94.3	-4.9	101.7	106.9	-4.9
Sulfabromomethazine	88.3	93.3	-5.4	98.8	99.5	-0.7
Sulfachloropyridazine	87.4	93.9	-6.9	96.0	100.3	-4.3
Sulfadiazine	89.1	93.0	-4.2	94.6	101.5	-6.8
Sulfadimethoxine	92.2	98.3	-6.1	101.4	102.4	-0.9
Sulfadimidine	90.0	91.9	-2.1	98.2	104.4	-5.9
Sulfadoxine	93.5	96.5	-3.2	97.2	101.2	-4.0
Sulfaethoxypyridazine	93.2	94.5	-1.3	100.5	105.2	-4.5
Sulfaguanidine	68.2	83.6	-18.5	85.9	118.7	-27.6
Sulfamerazine	90.6	96.5	-6.1	96.6	96.0	+0.7
Sulfamethoxazole	91.2	99.3	-8.2	99.9	102.1	-2.1
Sulfamethoxypyridazine	83.4	99.4	-16.1	93.9	98.7	-4.8
Sulfamonomethoxine	90.1	98.9	-8.9	97.9	99.1	-1.2
Sulfanilamide	68.1	107.3	-36.6	66.4	96.0	-30.8
Sulfapyridine	90.9	96.1	-5.5	95.3	99.0	-3.7
Sulfaquinolaxaline	91.3	93.5	-2.4	97.7	98.7	-1.0
Sulfathiazole	88.8	92.8	-4.4	99.4	102.7	-3.3
Sulfatroxazole	91.2	97.4	-6.4	96.0	98.8	-2.8
Sulfisomdine	90.3	97.9	-7.8	97.9	102.8	-4.8
Sulfisoxazole	90.5	96.7	-6.4	101.2	103.1	-1.9
Sulfisozole	87.5	92.2	-5.1	91.4	95.5	-4.3
Sulfacetamide	96.1	96.7	-0.6	77.1	98.9	-22.1
Tiamulin	94.1	96.6	-2.6	97.5	97.3	+0.2
Tilmicosin	88.2	91.0	-3.0	103.9	100.6	+3.3
Trimethoprim	91.8	96.9	-5.2	97.8	97.4	+0.4
Tylosin	89.3	96.0	-7.0	103.0	104.5	-1.4
α -Trenbolone	85.4	93.1	-8.2	94.4	99.2	-4.8
β -Trenbolone	86.3	93.2	-7.4	102.4	100.3	+2.1
Sulfanitran	83.4	93.8	-11.0	108.0	117.6	-8.2
Zeranol	73.6	87.0	-15.5	95.3	97.1	-1.9

表6 負荷時に加える水の量の検討結果（牛筋肉，％）．網掛け部分は目標値（回収率：70～120%，マトリックス効果：-20～+20％）から外れたものを示す（ $n=1$ ）．SSTD: 溶媒標準溶液，MSTD: マトリックス標準溶液，ME: マトリックス効果．水0.2 mLの結果は表1のC18-50+C18-50を引用

	水0.2 mL			水0.4 mL		
	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSTD)	ME	recovery (vs. SSTD)	recovery (vs. MSTD)	ME
Ciprofloxacin	86.3	87.9	-1.8	95.0	89.7	+6.0
Clostebol	90.1	96.4	-6.5	91.2	86.7	+5.2
Danofloxacin	85.7	89.8	-4.6	94.7	80.6	+17.5
Diaveridine	88.4	97.5	-9.3	95.0	93.6	+1.5
Difloxacin	87.3	96.7	-9.6	103.3	95.6	+8.0
Enrofloxacin	85.2	89.5	-4.8	95.2	89.7	+6.1
Erythromycin A	91.4	89.5	+2.1	154.4	78.5	+96.9
Flumequine	94.2	94.5	-0.3	108.3	97.2	+11.5
Leucomycin A5	101.6	106.4	-4.5	84.3	97.9	-13.9
Marbofloxacin	89.1	90.1	-1.1	103.4	90.0	+14.8
Methylprednisolone	94.9	97.5	-2.7	93.0	91.3	+1.9
Miloxacin	90.4	95.6	-5.4	111.0	93.6	+18.6
Nalidixic acid	94.0	98.6	-4.6	101.6	96.0	+5.8
Neospiramycin I	95.4	104.0	-8.3	85.2	97.4	-12.5
Norfloxacin	77.8	87.3	-10.9	93.3	85.3	+9.4
Ofloxacin	84.7	94.4	-10.3	96.7	89.8	+7.8
Orbifloxacin	90.7	95.8	-5.3	98.5	89.0	+10.8
Ormetoprim	89.1	94.8	-6.0	91.0	98.7	-7.8
Oxolinic acid	86.3	97.0	-11.0	119.7	93.9	+27.5
Piromidic acid	94.3	96.5	-2.3	89.6	95.9	-6.6
Prednisolone	83.5	94.4	-11.6	86.8	96.3	-9.8
Pyrimethamine	86.6	92.0	-5.9	88.9	89.3	-0.5
Sarafloxacin	88.4	92.1	-4.1	100.5	93.4	+7.6
Spiramycin I	97.5	99.6	-2.1	81.7	93.6	-12.7
Sulfabenzamide	89.7	94.3	-4.9	93.9	92.4	+1.6
Sulfabromomethazine	88.3	93.3	-5.4	98.8	93.8	+5.3
Sulfachloropyridazine	87.4	93.9	-6.9	93.1	89.5	+4.0
Sulfadiazine	89.1	93.0	-4.2	96.6	94.3	+2.5
Sulfadimethoxine	92.2	98.3	-6.1	98.6	95.9	+2.8
Sulfadimidine	90.0	91.9	-2.1	100.8	94.7	+6.4
Sulfadoxine	93.5	96.5	-3.2	98.2	95.5	+2.8
Sulfaethoxypyridazine	93.2	94.5	-1.3	97.7	91.7	+6.6
Sulfaguanidine	68.2	83.6	-18.5	71.8	96.4	-25.5
Sulfamerazine	90.6	96.5	-6.1	100.1	97.4	+2.7
Sulfamethoxazole	91.2	99.3	-8.2	99.3	93.9	+5.8
Sulfamethoxypyridazine	83.4	99.4	-16.1	91.6	95.5	-4.1
Sulfamonomethoxine	90.1	98.9	-8.9	96.6	90.4	+6.8
Sulfanilamide	68.1	107.3	-36.6	72.0	103.7	-30.6
Sulfapyridine	90.9	96.1	-5.5	102.0	94.7	+7.7
Sulfaquinoxaline	91.3	93.5	-2.4	96.2	94.9	+1.4
Sulfathiazole	88.8	92.8	-4.4	90.1	89.6	+0.6
Sulfatroxazole	91.2	97.4	-6.4	97.2	95.6	+1.7
Sulfisomdine	90.3	97.9	-7.8	95.8	93.8	+2.1
Sulfisoxazole	90.5	96.7	-6.4	102.3	93.4	+9.5
Sulfisozole	87.5	92.2	-5.1	96.4	96.1	+0.3
Sulfacetamide	96.1	96.7	-0.6	85.3	101.4	-15.9
Tiamulin	94.1	96.6	-2.6	96.5	95.3	+1.3
Tilmicosin	88.2	91.0	-3.0	89.0	81.1	+9.8
Trimethoprim	91.8	96.9	-5.2	98.2	93.2	+5.4
Tylosin	89.3	96.0	-7.0	90.5	89.1	+1.6
α -Trenbolone	85.4	93.1	-8.2	92.4	90.3	+2.3
β -Trenbolone	86.3	93.2	-7.4	98.9	95.1	+3.9
Sulfanitran	83.4	93.8	-11.0	86.5	88.0	-1.7
Zeranol	73.6	87.0	-15.5	81.9	81.4	+0.5

表 7 妥当性評価結果 (%). 網掛け部分は目標値 (真度 : 70~120%, 併行精度 : 25%未満, 室内精度 : 30%未満, マトリックス効果 : -20~+20%) から外れたものを示す. ME: マトリックス効果

	牛筋肉				牛肝臓				牛脂肪				牛乳			
	真度	併行精度	室内精度	ME	真度	併行精度	室内精度	ME	真度	併行精度	室内精度	ME	真度	併行精度	室内精度	ME
Ciprofloxacin	88.1	7.0	7.6	15.9	80.7	4.5	6.3	-15.8	74.5	7.6	10.0	5.4	105.6	3.8	4.3	16.2
Clostebol	89.8	3.7	4.0	0.3	60.5	2.2	11.9	-7.0	83.8	3.2	6.2	1.6	89.2	2.5	2.7	3.3
Danofloxacin	136.4	3.1	5.5	32.3	146.8	5.6	15.6	13.4	120.6	5.5	5.5	13.6	148.3	7.4	7.8	26.8
Diaveridine	82.1	2.8	3.1	3.8	79.8	2.0	2.0	-8.9	85.5	2.7	4.7	1.7	89.7	2.6	2.8	1.7
Difloxacin	105.6	6.3	8.0	0.8	104.8	3.7	5.6	-8.6	101.0	3.7	7.8	1.7	107.4	4.3	4.4	9.2
Enrofloxacin	106.6	3.6	4.8	7.9	110.9	2.2	6.1	-2.8	104.0	5.5	6.6	0.3	109.7	3.2	3.2	8.2
Erythromycin A	92.1	6.7	18.5	12.3	63.4	4.6	51.9	-6.7	71.8	5.1	24.7	-7.4	64.6	31.1	32.9	4.9
Flumequine	101.8	3.9	8.0	5.8	103.5	3.1	10.2	-8.4	97.4	4.9	10.4	-3.7	105.0	6.1	6.4	3.4
Leucomycin A5	62.5	2.9	8.3	-1.1	14.5	4.6	41.3	-10.1	76.1	2.8	15.1	0.3	79.9	4.8	5.1	2.9
Marbofloxacin	123.2	3.9	5.1	17.8	112.7	4.2	5.7	6.4	110.6	2.8	6.8	10.0	141.8	4.9	5.1	25.6
Methylprednisolone	91.0	6.5	6.5	6.8	80.6	4.7	4.7	-2.5	89.2	4.1	7.3	-4.9	90.8	3.8	3.8	-6.6
Miloxacin	101.6	3.7	11.0	1.0	94.8	3.3	16.1	-10.0	97.5	3.9	9.6	-9.8	109.8	8.8	9.3	3.8
Nalidixic acid	104.0	2.7	9.8	4.5	105.2	2.2	8.2	-7.3	95.3	4.5	9.9	-3.5	106.7	6.9	7.3	2.3
Neospiramycin I	63.3	1.3	7.9	9.2	6.9	8.4	103.8	3.1	60.5	5.1	11.2	7.0	105.8	9.8	10.4	-2.9
Norfloxacin	86.3	4.0	5.6	16.7	78.8	2.9	7.6	-13.6	79.4	5.2	12.8	5.8	103.8	4.7	4.8	5.1
Ofloxacin	113.6	3.8	3.8	15.6	114.8	1.1	1.9	-3.0	110.6	4.1	7.3	7.9	123.5	3.9	4.1	5.0
Orbifloxacin	99.7	3.9	4.9	4.9	95.4	4.5	4.5	-11.5	96.8	3.2	7.0	-2.2	101.7	3.2	3.3	-1.9
Ormetoprim	86.0	3.6	3.7	1.3	79.9	3.0	3.0	-5.9	85.3	3.0	5.1	-1.7	87.2	3.1	3.2	-3.2
Oxolinic acid	98.5	2.7	12.9	0.5	100.8	2.3	11.5	-12.8	97.2	5.4	12.5	-5.8	108.9	9.9	10.4	4.4
Piromidic acid	104.4	5.3	8.0	5.5	106.4	3.0	7.2	-9.3	97.0	4.9	9.7	-1.5	106.4	6.4	6.8	2.1
Prednisolone	90.2	3.4	3.4	5.0	79.3	5.5	5.5	-11.6	88.4	2.3	8.0	1.6	90.0	5.4	5.7	6.3
Pyrimethamine	80.7	2.0	3.7	1.1	75.7	4.1	5.1	-11.7	84.3	2.8	5.8	4.3	87.3	1.9	1.9	-0.3
Sarafloxacin	98.2	5.9	11.5	12.8	88.7	5.8	8.8	-2.6	83.1	3.5	7.1	-0.7	104.4	5.1	5.2	2.3
Spiramycin I	63.6	5.9	7.1	5.9	9.7	5.9	60.4	-6.1	60.3	3.8	11.7	5.4	92.3	3.8	4.0	2.9
Sulfabenzamide	88.6	3.1	4.6	3.1	87.8	3.1	5.5	-6.7	89.2	4.0	7.2	0.8	90.5	2.3	2.5	1.4
Sulfabromomethazine	88.7	2.0	3.6	-1.5	102.5	2.5	13.7	3.9	87.6	3.5	6.1	1.4	89.0	2.9	2.9	-6.1
Sulfachloropyridazine	89.8	5.2	5.2	5.5	88.8	3.1	3.9	-9.9	88.6	3.8	6.3	1.8	87.6	3.2	3.2	2.3
Sulfadiazine	89.9	3.5	4.8	4.0	91.5	3.5	3.5	-6.7	91.3	3.7	7.5	1.2	97.6	1.8	1.8	13.2
Sulfadimethoxine	89.9	3.3	5.1	0.4	89.4	4.2	4.2	-7.3	90.2	4.1	8.3	-0.7	88.4	2.4	2.5	2.6
Sulfadimidine	88.0	2.7	5.9	0.2	92.9	2.8	5.5	-8.2	90.4	0.5	7.0	7.0	90.1	5.1	5.1	5.1
Sulfadoxine	90.0	2.5	4.0	0.5	90.0	2.3	3.2	-7.3	90.1	2.6	7.3	-2.0	88.3	3.2	3.4	0.9
Sulfaethoxypyridazine	90.8	2.6	5.1	6.5	89.1	2.6	3.5	-7.1	89.9	2.8	6.2	3.0	86.6	3.1	3.2	-2.9
Sulfaguanidine	88.6	10.1	12.8	10.3	106.6	8.3	16.7	29.3	90.6	8.4	8.4	0.2	87.7	9.2	9.7	-16.3
Sulfamerazine	91.5	4.5	5.2	2.5	88.3	1.8	3.7	-5.7	91.1	3.3	6.1	5.6	89.1	2.6	2.6	-3.1
Sulfamethoxazole	90.3	4.5	6.9	4.0	87.3	2.7	4.2	-8.5	90.7	4.0	6.5	-1.1	88.0	3.7	3.8	-5.8
Sulfamethoxypyridazine	74.0	2.3	10.7	-9.4	91.2	3.2	3.2	-10.3	91.1	2.6	6.6	2.1	88.7	4.3	4.5	3.3
Sulfamonomethoxine	90.2	2.3	5.4	1.3	89.4	3.7	4.7	-10.3	89.7	3.0	5.9	-2.0	89.4	3.8	3.9	4.8
Sulfapyridine	89.8	2.7	4.4	2.2	91.1	3.4	3.4	-7.9	88.7	5.3	7.6	-0.4	104.4	5.9	6.2	4.8
Sulfaquinolaxaline	88.2	2.9	4.8	1.0	10.3	5.8	42.6	-6.6	88.3	4.4	7.7	-1.1	85.3	3.7	3.8	-0.2
Sulfathiazole	88.2	2.6	4.1	2.5	91.7	3.6	4.3	-3.8	89.6	4.2	6.2	-1.2	90.5	3.5	3.7	0.7
Sulfatroxazole	90.4	2.8	4.7	0.3	90.0	2.9	4.7	-8.6	90.6	2.5	7.0	-0.4	88.1	2.6	3.0	5.1
Sulfisomdine	89.7	2.4	4.0	0.2	94.4	3.0	3.0	-7.1	90.5	2.3	6.4	1.5	93.5	3.2	3.2	5.3
Sulfisoxazole	88.2	2.7	5.1	-1.0	84.3	2.6	4.9	-10.9	89.9	4.1	7.6	-3.5	88.2	2.6	2.7	0.5
Sulfisozole	89.8	5.1	5.6	-4.7	85.5	3.7	4.9	-11.9	90.9	2.6	4.1	7.5	89.0	4.5	4.6	-5.8
Sulfacetamide	88.6	4.8	6.6	-0.8	77.6	1.8	4.6	-10.0	89.4	4.2	7.9	-1.1	91.2	3.5	3.6	5.9
Tiamulin	89.1	3.4	3.8	1.3	82.2	2.0	5.9	-8.6	86.7	2.7	6.1	0.8	88.0	1.4	1.4	-1.1
Tilmicosin	124.1	6.2	14.9	32.8	129.7	3.2	24.2	-4.4	89.5	2.8	9.3	10.5	128.6	22.5	23.8	-4.5
Trimethoprim	85.5	3.7	4.0	4.3	85.2	3.8	4.3	0.6	87.2	1.3	6.2	0.1	97.6	5.5	5.7	0.8
Tylosin	56.3	3.5	8.9	-1.2	13.0	7.0	61.7	29.7	65.7	2.3	16.2	-0.2	80.3	8.4	8.8	3.4
α -Trenbolone	85.8	5.7	5.7	-0.1	84.0	8.1	10.0	-15.1	85.0	4.1	6.8	5.0	88.0	2.4	2.4	-0.4
β -Trenbolone	84.3	3.6	3.9	-6.0	70.5	4.9	14.4	-22.2	84.1	2.8	5.9	-1.7	88.5	3.5	3.6	0.9
Sulfanitran	89.0	13.3	17.2	13.5	79.7	10.0	18.8	4.9	88.0	10.3	25.1	17.6	85.3	14.6	15.4	13.5