

令和7年度 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品衛生検査施設等の検査の信頼性確保に関する研究

研究分担報告書

食品添加物試験法及び動物用医薬品試験法の開発に関する研究

研究代表者	渡辺 卓穂	（一財）食品薬品安全センター秦野研究所
研究分担者	今井 浩一	埼玉県衛生研究所
研究協力者	茂呂 紀寛	埼玉県衛生研究所

研究要旨

食肉に含まれる動物用医薬品について、各検査機関は厚生労働省が通知した試験法等に基づいて分析を実施している。そして、分析値の信頼性を確保するため精度管理を実施おり、その手法の一つとして外部精度管理調査がある。一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所では、豚肉や鶏肉のペーストを試料とした動物用医薬品の外部精度管理調査を実施しており、調査用試料の安定性及び均質性の向上を目標に、スプレードライ法による調査用試料作製の検討を進めている。

このような背景を踏まえ、本研究では、今年度、秦野研究所に対し、パウダー状の鶏肉試料に動物用医薬品 37 成分を浸漬により添加したスプレードライ試料の作製を依頼した。そして、当該試料の分析方法について検討し、均質性及び安定性を確認し、当該試料を用いた外部精度管理調査のパイロットスタディを実施した。

調査用試料の品質評価を実施したところ、外部精度管理調査パイロットスタディの調査対象 4 項目（スルファジミジン、スルファメトキサゾール、エンロフロキサシン及びオキシリン酸）において均質性及び安定性に問題がなく、本試料が実施期間 109 日までのパイロットスタディに十分に使用可能であることを確認した。

パイロットスタディは、14 の参加機関に対して調査用試料を配布し、報告値を確認した。参加機関を抽出方法に基づいてグループ分けし、その報告値を検証した結果、本調査用試料については、「水の存在により抽出回収が改善する」という特性を有すると判断したため、グループごとに報告値を評価した。

本調査試料の長期的な使用への適合性を検証するため、引き続き、本調査試料の浸漬条件の検討や、安定性を確認する予定である。

A. 研究目的

食肉に含まれる動物用医薬品について、各検査機関は厚生労働省が通知した試験法（以下「通知試験法」という。）等に基づいて分析を実施している。そして、分析値の信頼性を確保するため精度管理を実施

しているが、その手法の一つとして外部精度管理調査がある。一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所（以下「秦野研究所」という。）は、豚肉や鶏肉のペーストを試料とした動物用医薬品の外部精度管理調査を実施しており、調査用試料の安定性及び均質性の向上を目標に、スプレードライ法による調査用試料作製の検討を進めている。今年度は、パウダー状の鶏肉試料に対し、動物用医薬品37成分を浸漬により添加し、続いてスプレードライヤにより乾燥・粉末化して、鶏肉スプレードライ試料を作製した。

本研究では、当該試料を用いた外部精度管理調査を実現することを目指し、まず当該試料の均質性及び安定性を適切に評価するための分析方法について検討した。次に、整備した分析方法を用いて、当該試料の均質性・安定性を確認した。そして、当該試料を用いた外部精度管理調査パイロットスタディ（以下「パイロットスタディ」という。）を実施し、実運用に向けての知見を得た。

B. 方法

1. 試料

ブランク試料：鶏むね（皮無し）パウダー（日本化工食品製。秦野研究所より入手したもの。）

試作用鶏肉スプレードライ試料（以下「試作品」という。）：秦野研究所が基材の鶏肉パウダーに混合標準液を添加し、スプレードライして作製したもの。試料中濃度（理論値）：各成分0.2 µg/g。

鶏肉スプレードライ試料（以下「調査用

試料」という。）：秦野研究所が基材として鶏むね（皮無し）パウダーを用いて試作品と同様に作製したもの。試料中濃度（理論値）：各成分0.2 µg/g。

2. 試薬等

混合標準液①：動物用医薬品混合標準溶液PL-2-1（富士フイルム和光純薬製、計24成分、各成分20 µg/mL）

混合標準液②：動物用医薬品混合標準溶液キノロン剤（富士フイルム和光純薬製、計13成分、各成分20 µg/mL）

蒸留水：高速液体クロマトグラフィー用（関東化学製）

アセトニトリル：高速液体クロマトグラフィー用（関東化学製）

メタノール：高速液体クロマトグラフィー用（関東化学製）

メタリン酸：鹿特級（関東化学製）

0.2%(w/v)メタリン酸溶液：メタリン酸1.2 gを水600 mLに溶解したもの。

0.2%(w/v)メタリン酸-アセトニトリル-メタノール(3:1:1)混液：0.2%(w/v)メタリン酸溶液とアセトニトリル及びメタノールを3:1:1の割合で混和したもの。

n-ヘキサン：残留農薬試験・PCB試験用（関東化学製）

酢酸エチル：残留農薬試験・PCB試験用（関東化学製）

酢酸：特級（関東化学製）

ギ酸（移動相用）：LC-MS/MS用（和光純薬製）

ギ酸（抽出用）特級（和光純薬製）

酢酸アンモニウム：特級（和光純薬製）

固相ミニカラム：Oasis HLB (60 mg/3 cc,

Waters製)

アルミパウチ：スタンドパックALタイプ、AL-11（生産日本社製）

3. 標準原液・標準溶液の調製

混合標準溶液：混合標準液①及び②各1 mLを混合し、メタノールで20 mLに定容した（各成分1 µg/mL）。

マトリクス検量線用混合標準溶液：混合標準溶液を、ブランク試料から調製した試験溶液で用時に希釈し、0.5～30 ng/mLの溶液を調製した。

4. 機器

ホモジナイザー：ヒスコトロン NS-52
（マイクロテック・ニチオン製）

遠心機：Model 6200（久保田商事製）
LC-MS/MS

MS：Xevo TQ-S（Waters製）
LC：ACQUITY UPLC

5. LC-MS/MS条件

表1及び2に示す。

6. 試作品及び調査用試料の作製手順

鶏肉パウダーをドライアイスとともにフードカッターで粉碎後、水に懸濁し一晩攪拌混合後、分離した脂質部分を除去した後、水、混合標準液①及び②を加えて懸濁液を調製した。試作品では、各混合標準液10 mLを水で4 kgにし、鶏肉パウダーと合わせて懸濁液5 kgにした。調査用試料では、すべて4倍のスケールで実施した。当該懸濁液のスプレードライ加工を大川原化工機（株）に依頼し、スプレードライ試料と

して作製した。なお、当該懸濁液の調製は、秦野研究所にて実施した。試作品は、鶏肉パウダー1 kgを基材として、調査用試料は、鶏むね（皮無し）パウダー4 kgを基材として、作製した。

7. 試験溶液の調製法

概略を図1に示す。

1) 抽出

試料1.0 gを正確にコニカルビーカーに採取し、蒸留水4.0 mLを加え、軽く振り混ぜたのち15分静置した。静置後、0.2%(w/v)メタリン酸-アセトニトリル-メタノール(3:1:1)混液100 mLを加えて1分間ホモジナイズした。ホモジナイズ後、ろ紙を敷いた桐山ロートを用いてナスフラスコ中に吸引ろ過した。ろ紙上の残留物に0.2%(w/v)メタリン酸-アセトニトリル-メタノール(3:1:1)混液20 mLを加えてかき混ぜた後、吸引ろ過し、ろ液を合わせ、40℃以下で約20 mLまで減圧濃縮した。

2) 精製

Oasis HLB（60 mg/3 cc）に、メタノール5 mL（2.5 mLを2回）及び水5 mL（2.5 mLで2回）を順次注入し、流出液は捨てた。このOasis HLBに1)で得られた溶液を注入し、流出液は捨てた。1)で減圧濃縮に使用したナスフラスコを水5 mL（2.5 mLで2回）で洗いこみ、その液をOasis HLBに注入し、流出液は捨てる。次に、ナスフラスコをメタノール7.5 mL（2.5 mLで3回）で洗いこみ、Oasis HLBに注入し、溶出液をナスフラスコ中に採った。溶出液を40℃以下で減圧濃縮しメタノールを除去する。この残留物にアセトニトリル及び水（1:9）混液を加え

て10mLとし、これを試験溶液とした。

8. 妥当性確認

妥当性については、厚生労働省の「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性ガイドライン」(H22.12.24付け食安発1224第1号)に準じ、添加濃度は、試料中濃度が0.1 µg/g及び0.01 µg/gとなるように設定した。実施者1人、2併行で5日間実施した。

9. 調査用試料の品質評価

作製した調査用試料の均質性は、調査用試料を作製・発送するまでの間に全調査用試料から10個の容器を無作為に抽出し、各容器から2部位を採取し、それぞれについて測定を行った後、一元分散分析することにより判断した。なお、均質性試験の結果を安定性試験の0日間のものとした。

調査用試料の安定性については、報告期限日以降である109日目に残存試料10個を分析し、上記の0日間の結果と比較することにより判定した。

10. パイロットスタディ

パイロットスタディの募集は令和7年11月に行い、参加機関は計14機関であった。調査用試料は、12月10日に到着するよう宅配便（冷蔵）で発送した。実施要領は、電子メールにて送付した。報告は、2月6日までに、調査対象項目4項目（スルファジミジン、スルファメトキサゾール、エンロフロキサシン及びオキシリン酸）のうち、スルファジミジンを含む1項目以上の報告とした。

報告結果は、算術平均値、標準偏差及び相関図等を用いて評価した。なお、今回は小規模なパイロットスタディ（試験所数：14）であることから、その統計解析結果についてはあくまでも参考データに留めるものとした。

11. パイロットスタディ結果に基づく浸漬処理に関する検証

調査用試料の浸漬効果について検証するため、調査用試料1 gを15mLPPチューブに採取し、以下の3パターンで試験溶液を調製し、ピーク面積を比較した（ $n=2$ ）。

① 非浸漬操作

調査用試料に抽出溶媒10 mLを加え、2分間振とうし、遠心分離（3,500 rpm、5分間）した後、上澄みをナスフラスコに分取した。残渣に再度抽出溶媒10 mLを加え、2分間振とう及び遠心分離（3,500 rpm、5分間）を行い、得られた上澄みを先のナスフラスコに合わせた。ナスフラスコ内の液を40℃以下で減圧濃縮し溶媒を除去した。この残留物にアセトニトリル及び水（1：9）混液を加えて10 mLとし、これを試験溶液（以下、「溶媒抽出液」という。）とした。

続いて、この操作後の残渣にアセトニトリル及び水（1：1）混液10 mLを加え、2分間振とうし、遠心分離（3,500 rpm、5分間）した後、上澄みをナスフラスコに移した。ナスフラスコ内の液を40℃以下で減圧濃縮し抽出溶媒を除去した。この残留物にアセトニトリル及び水（1：9）混液を加えて10 mLとし、これを試験溶液（以下、「2次抽出液」という。）とした。

さらに、この操作後の残渣にアセトニト

リル及び水（1：1）混液10 mLを加え、2分間振とうし、遠心分離（3,500 rpm、5分間）した後、上澄みをナスフラスコに移した。ナスフラスコ内の液を40℃以下で減圧濃縮し溶媒を除去した。この残留物にアセトニトリル及び水（1：9）混液を加えて10 mLとし、これを試験溶液（以下、「3次抽出液」という。）とした。

② 水浸漬操作

調査用試料1 gに水4 mLを加えて振り混ぜたのち、15分間静置した。その後、①と同様に操作した。

③ 溶媒浸漬操作

調査用試料1 gに抽出溶媒4 mLを加えて振り混ぜたのち、15分間静置した。その後、①と同様に操作した。

なお、「抽出溶媒」として用いたのは、水、メタノール、アセトニトリル、メタノール及び水（1：1）混液、アセトニトリル及び水（1：1）混液、ヘキサン飽和アセトニトリル、メタノール及びアセトニトリル（1：1）混液、及び酢酸エチルである。

また、②において抽出溶媒としてヘキサン飽和アセトニトリルを用いた場合、上澄みに水及びアセトニトリル層とヘキサン層の2層が確認された。この際、ヘキサン層は分取せず、水及びアセトニトリル層のみを分取してナスフラスコに移した。

その他、②において抽出溶媒として酢酸エチルを用いた場合、上澄みに水層と酢酸エチル層の2層が確認された。この際、水層は分取せず、酢酸エチル層のみを分取してナスフラスコに移した。

C. D. 研究結果および考察

1. はじめに

調査用試料は、次年度以降の本研究において、改めてパイロットスタディに供することを計画している。本報告書に測定項目の具体的な濃度を記載・公表すると、次年度以降のパイロットスタディ参加機関に予断を与えるおそれが否定できない。そこで、今回のパイロットスタディの調査対象項目（スルファジミジン、スルファメトキサゾール、エンロフロキサシン及びオキシリニック酸）を除く項目については、濃度の記載を避け、割合（%）等の表記とした。

2. 添加する動物用医薬品の選定

添加する動物用医薬品を選定するにあたり、秦野研究所が現在スルファジミジンの外部精度管理調査（残留動物用医薬品検査）を実施していることから、スルファジミジンを必須項目とした。しかし、スルファジミジンを添加した鶏肉スプレードライ試料作製の報告はなく、スプレードライ工程による成分量の減少率が不明であった。このため、スルファジミジンの単独添加ではなく、スルファジミジンをはじめとしたサルファ剤を含む市販の混合標準液（動物用医薬品混合標準溶液PL-2-1（富士フイルム和光純薬製））を添加することとした。

さらに、サルファ剤がスプレードライ工程に対して適用不良である可能性に備え、別系統の混合標準液として、近年の検疫所における動物用医薬品の違反事例において件数が多い¹⁾エンロフロキサシンを含むキノロン剤混合標準液（動物用医薬品混合標準溶液キノロン剤（富士フイルム和光純

葉製))の添加を採用した。

添加濃度の設定に関しては、秦野研究所が実施するスルファジミジンの外部精度管理調査における過去10年の添加濃度が概ね0.05~0.15 µg/gであったことを踏まえ、スプレードライ工程により添加成分が半減した場合でも0.1 µg/gを確保できるよう、添加濃度を0.2 µg/gとした。

3. 試作品の検討

1) スプレードライ加工による回収量

秦野研究所には、基材として鶏肉パウダー1 kgを用いた試料作製を依頼した。懸濁液をスプレードライ加工したところ、スプレードライヤの目詰まりが発生し、単一の製品として回収できなかった。その結果、回収物は、製品、スプレードライヤ本体払落し品（以下「本体払落し品」という。）、ダクト払落し品及びサイクロン払落し品等に区分された。外観は、製品がやや湿り気を帯びた塊状の粉末であったのに対し、その他の回収物はいずれもさらさらとした粉末状であった。以上を踏まえ、秦野研究所と協議のうえ、製品（約40 g）及び本体払落し品（約420 g）をそれぞれ測定対象とした。

2) 事前検討

事前検討では、製品量が少量であったため、本体払落し品を使用した。「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅲ（畜水産物）」（以下、「一斉試験法Ⅲ」という。）及び大門らの方法²⁾を用いて本体払落し品の試験溶液を調製し、既報³⁾のLC-MS/MSで測定した ($n=2$)。その結果、2種類の試験法による測定値は、スルファジミジンでは、

一斉試験法Ⅲ及び大門らの方法²⁾でそれぞれ0.120、0.124 µg/gとほぼ同等であったが、エンロフロキサシンのように0.135、0.106 µg/gと差がある項目もあった。

また、大門らの方法²⁾の試料採取量5 gでは、試料が抽出液中で膨潤し、アセトニトリル及びアセトン層にまで及んだ結果、想定する三層分離（ヘキサン層、アセトニトリル及びアセトン層、水層及び固形物の層の順）が十分に成立しなかった。さらに、試料中濃度に0.1 µg/g相当添加で実施した添加回収試験における回収率（59.8%~82.2%）が、一斉試験法Ⅲに比べて低値を示し、不十分な三層分離による影響の可能性が考えられた。三層分離を成立させるため、試料採取量の低減と事前膨潤が必要と考えた。

そこで、大竹の報告⁴⁾を参考に、試料に水を加えて15分静置する浸漬工程を導入することとした。浸漬工程を導入するにあたり、適切な加水量を決定するため、試料1 gに対し段階的に水を添加して観察したところ、1 mL添加までは吸水により団子状の塊と粉が共存し、2 mL添加では塊が複数存在した。3 mL添加では全体が高粘度のペースト状となり、3.5 mL添加で比較的均一な粘度のある液状となった。4 mL添加ではサラサラとした懸濁液になった。各試験法で試料採取量が5の整数倍gとされている点を考慮し、秤量等の実務上の簡便性を優先し、各試験法の試料採取量を1/5に縮小し、残り4/5相当の水を添加する条件を採用した。

この条件で、2種類の試験法で本体払落しを測定した ($n=2$)。その結果、スルファ

ジミジンでは、一斉試験法Ⅲ及び大門らの方法²⁾でそれぞれ0.140、0.137 µg/gであり、また、エンロフロキサシンは0.155、0.165 µg/gと、2種類の試験法でほぼ同程度の値を示した。

そこで、2種類の試験法で、試料採取量を減量し、浸漬工程を含む条件で製品と本体払落しを測定した ($n=4$)。なお、秦野研究所からブランク試料を入手できたので、マトリクス検量線を用いた測定も実施し、結果を比較した (表3)。

その結果、多くの項目において、マトリクス検量線で得られた測定値は絶対検量線で得られた測定値と概ね一致した。一部の項目 (大門らの方法²⁾におけるオキシリン酸等) では、マトリクス検量線で測定した値が絶対検量線で測定した値よりも+10~20%高値であったものの、大部分の項目は±10%以内であった。以上より、絶対検量線を用いても十分に分析可能と考えられるが、本研究ではブランク試料が入手できたことから、マトリクス検量線による測定結果を用いて各試験法の結果を比較した (表4)。

その結果、多くの項目で製品より本体払落しの方が10%程度高値を示す傾向が認められた。例えば、製品中スルファジミジンの平均値±標準偏差は一斉試験法Ⅲ及び大門らの方法²⁾でそれぞれ0.112±0.002、0.115±0.003 µg/gであり、本体払落しでは0.127±0.007、0.123±0.004 µg/gであった。製品に比べて本体払落しはサラサラとしていたことから、水分含量の差が測定値に影響した可能性も考えられるが、今回は水分含量の測定等の検討には至っていな

い。

また、添加回収試験の結果は、一斉試験法Ⅲ及び大門らの方法²⁾でそれぞれ80.4~115.6%、55.8~96.9%となった (表5)。

4. 分析法の検討

試作品の事前検討結果に基づき、すべての項目で添加回収率が70~120%の範囲内であった一斉試験法Ⅲを基盤として分析法を検討した。なお、試料採取量は1 gとし、これに4 mLの水を添加し、15分浸漬してから操作した。

はじめに、けいそう土の使用について検討した。一般に畜水産物試料を吸引ろ過した場合、吸引ろ過時にろ過の目詰まりが生じることがある。そのため、今回の検討の基盤とした一斉試験法Ⅲをはじめ、さまざまな試験法においてけいそう土が使用されている。そこで、ブランク試料1 gの吸引ろ過において、けいそう土を使用した場合と使用しない場合で比較検討した。けいそう土を使用した場合、ろ過速度は著しく向上し、ろ液は澄明となった。一方、けいそう土を使用しない場合、ろ液は若干白濁するものの、今回の添加対象項目に限定すれば、妨害ピークは認められず、添加回収試験の結果も±5%以内と、けいそう土使用時とほぼ同等であった。これらの結果から、操作の簡素化を優先し、けいそう土を使用しないこととした。

次に、吸引ろ過したろ液を減圧濃縮する際に使用するナスフラスコについて、目的物質の残留状況を検討した。検討には、試料中濃度0.1 µg/g相当を添加したブランク試料を用いた。この試料をけいそう土を

使用せずに吸引ろ過し、ろ液をナスフラスコで減圧濃縮した後、濃縮液をOasis HLBで精製し、試験溶液を調製した。その後、使用済みナスフラスコを、アセトニトリル及び水（1：9）混液で洗浄し、その洗液を10 mLに定容して測定した。その結果、フルメキン及び酢酸メレンゲステロールにおいて、それぞれ試験溶液の2.8%に相当する面積のピークがナスフラスコ内に確認される等、一部の項目で残留が確認された。この残留を考慮し、洗浄工程および溶出工程において使用済みナスフラスコの洗液を利用することを検討した。具体的には、洗浄工程ではナスフラスコを水5 mLで洗浄した液を、溶出工程ではナスフラスコをメタノールで洗浄した液をそれぞれOasis HLBに適用する方式への変更を検討した。しかし、Oasis HLBの仕様上、一度に流入可能な液量は3 mLまでであるため、現状では洗浄には水2.5 mLを2回、溶出工程にはメタノール2.5 mLを2回添加している。このため、洗浄工程においては、ナスフラスコを水2.5 mLで洗浄した液を用いてOasis HLBを洗浄することを2回繰り返す方式に変更することとした。

併せて、Oasis HLB内の添加対象項目の残留についても検討した。先のナスフラスコ内への残留を検討した際に使用したOasis HLBについて、メタノール5 mLを通液して溶出液を回収した。この溶出液を40℃以下でメタノール除去後、残留物をアセトニトリル及び水（1：9）混液に溶解し、その溶解液を10 mLに定容して測定した。その結果、ノルフロキサシン及びシプロフロキサシンにおいて、それぞれ試験溶液の

6.0%および5.0%に相当する面積のピークがOasis HLB内に確認されるなど、複数の項目で残留が認められた。そのため、ナスフラスコ内への残留に関する検討結果も踏まえ、Oasis HLBの溶出工程を変更することとした。従来のOasis HLBからメタノール2.5mLで溶出する操作を2回繰り返す方式（総溶出量5 mL）に対し、ナスフラスコをメタノール2.5 mLで洗浄した液を用いてOasis HLBから溶出する操作を3回繰り返す方式（総溶出量7.5 mL）に変更した。

以上の変更を行った分析法を用いて、試験溶液を調製した。その後、ナスフラスコおよびOasis HLBへの添加対象項目の残留について、先の検討と同様の方法で評価した。その結果、ナスフラスコ内にはスルファキノキサリンが0.4%、スルファジメトキシシンが0.2%の残留が認められたほかは、測定対象項目においてピークは確認されなかった。一方、Oasis HLB内においては、複数の項目でピークが確認されたものの、いずれも試験溶液の1%未満に抑えられていた。この残留レベルは変更前の方法と比較して大幅に改善されていることから、この改良された分析法を採用することとした。

また、LC条件についても、既報³⁾のものから変更を行った。既報³⁾のLC条件は、129成分の動物用医薬品を分離すること目的としており、流速及びグラジエント条件を緩やかに設定したため、測定に35分を要していた。しかし、本年度は測定対象項目数が37項目へと減少したため、分析時間の短縮を目的として、カラムは変更せずに流速及びグラジエント条件を見直した。一斉試験法Ⅰ及び一斉試験法Ⅲ等様々な条件を参

考に検討した結果、山本らの報告⁵⁾における条件(20分)が、既報³⁾の条件と比較して大幅に短時間での分析を可能としたことから、同条件を採用した。

5. 妥当性

結果を表6に示す。厚生労働省の「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性ガイドライン」(H22.12.24付け食安発1224第1号)に準じ、実施者1人、2併行で5日間実施した。その結果、チアンフェニコールを除く36項目が基準を満たすことが確認された。

6. 調査用試料の検討

1) スプレードライ加工による回収量

調査用試料については、約3 kgを確保できるように秦野研究所に作製を依頼した。基材には鶏むね(皮無し)パウダー4kgを用いた。添加濃度は、試作品と同様に0.2 µg/gとした。スプレードライの結果、製品が約3,200 g(風袋込み)得られた。加えて、払落とし品及び雑品が合計約700 g(風袋込み)得られた。製品、払落とし品及び雑品の外観はすべてサラサラした状態であり、試作品における本体払落とし品と類似していた。作製した試料のうち、製品のみをフードプロセッサで軽く混合して均質化し、約100 gずつアルミパウチに分注することで、計30袋の調査用試料を作製した。

2) 均質性

調査用試料の均質性試験の結果を表7に示した。

調査対象項目のスルファジミジン、スルファメトキサゾール、エンロフロキサシン

及びオキシリン酸の平均濃度±標準偏差(µg/g)は、それぞれ0.128±0.003、0.142±0.002、0.153±0.004及び0.153±0.003(µg/g)であった。また、一元配置分散分析により評価した結果、F値<F境界値(3.020)、かつp値>0.05を満たしたことから、均質と判断した。

また、調査対象項目以外の32成分について同様に一元配置分散分析で評価したところ、5成分(オフロキサシン、スルファニトラン、スルファピリジン、α-トレンボロン及びβ-トレンボロン)を除く27成分について、F値<F境界値(3.020)、かつp値>0.05を満たしたため、均質と判断した。

なお、試作品と調査用試料を比較したところ、多くの添加対象項目において濃度が一致せず、差が認められた。試作品との違いとして、基材を鶏肉パウダーから鶏むね(皮無し)パウダーに変更した点や、使用機器を大型のスプレードライヤに変更した点などが挙げられるが、現時点では原因の特定には至っていない。

3) 安定性

安定性試験の結果を表8に示した。

スルファジミジン、スルファメトキサゾール、エンロフロキサシン及び置きオキシリン酸の平均濃度±標準偏差(µg/g)は、それぞれ0.128±0.005、0.141±0.004、0.148±0.006及び0.153±0.003(µg/g)であった。この値は、均質性における平均濃度と比較して、それぞれ100.0%、99.6%、97.0%及び99.7%であった。また、|均質性と安定性の平均濃度差|≤0.3σ_{PT}(本検討においては、σ_{PT}には全参加機関の標準偏差ではなく、後述の「浸漬G」の標準偏差を

用いた)を満たしたことから、調査期間中の安定性に問題はなかったと判断した。

なお、先述の27成分のうち、F値<F境界値(3.020)、かつ p 値>0.05を満たしたのは、2成分(酢酸メレンゲステロール及びトリメトプリム)を除いた25成分であった。また、均質性における平均濃度と比較した結果、キノロン系では、シプロフロキサシン(86.3%)、マルボフロキサシン(91.2%)及びノルフロキサシン(91.8%)をはじめとして、多くの成分において濃度の低下傾向が確認された。その他、酢酸メレンゲステロール(89.6%)等においても同様の傾向が見られた。一方、サルファ剤ではスルファメトキシピリダジン(92.7%)では濃度の低下がみられたものの、その他の成分では良好な濃度維持が確認された。

7. パイロットスタディ

1) 調査対象項目の選定

本研究では、調査用試料の作製に先立ってパイロットスタディの参加機関の募集を開始した。そのため、パイロットスタディは、調査用試料の均質性及び安定性を確認しながら併行して実施した。調査対象項目の選定においては、サルファ剤及びキノロン剤ということなる系統の薬剤から、それぞれ2項目ずつ選んだ。これは、仮に一部の項目で均質性等に問題が生じた場合でも、全成分が同時に不適となるリスクを低減するためである。サルファ剤については、現行の外部精度管理調査の対象項目であるスルファジミジンを選定した。加えて、過去に検疫所における違反事例があったスルファメトキサゾールを選定した。キノ

ロン剤については、違反事例が特に多いエンロフロキサシン及び地方衛生研究所において検査対象としての実績が多いオキシリン酸(オキシロニック酸)を選定した。

なお、エンロフロキサシンは、「食品、添加物等の規格基準」(昭和34年厚生省告示370号)において、残留基準が「エンロフロキサシン及びその代謝物であるシプロフロキサシンの和」と規定されている。一方、合算値を報告値として統計解析を行う場合、合算値の z -スコア等が良好であっても、個々の測定値が大きく乖離している場合等、解析が複雑化しうる。そこで本研究では、合算による影響を排するため、測定値の評価にあたり、シプロフロキサシンの値を合算しないエンロフロキサシン単独の値を用いることとした。

2) 結果の報告

すべての参加機関から、期限内に報告値を受領した。スルファジミジン、スルファメトキサゾール及びオキシリン酸は全参加機関が測定可能であった。一方、エンロフロキサシンが測定可能であった参加機関は、10機関であった。なお、エンロフロキサシンについて、1機関からシプロフロキサシンとの合算値についても報告を受けた。前述のとおり、エンロフロキサシンの残留基準はシプロフロキサシンとの合算値として規定されていることから、当該報告はこの規定を踏まえたものと考えられる。これは、実施要領において「エンロフロキサシン単独の値を報告する」旨を明記していなかったことが要因である。次回以降のパイロットスタディにおいて、エンロフロキサシンのように代謝物との合算

値を基準値とする項目を調査対象とする場合には、実施要領において報告値の定義（単独値または合算値）を明記する予定である。

3) 報告値の解析結果

報告値に関して図2～4及び表9に示す。全参加機関のスルファジミジン、スルファメトキサゾール、エンロフロキサシン及びオフロキサシンの平均濃度±標準偏差（ $\mu\text{g/g}$ ）は、 0.0943 ± 0.0483 、 0.101 ± 0.0519 、 0.109 ± 0.0504 及び 0.109 ± 0.0504 ($\mu\text{g/g}$) であった。すべての項目において、報告値には大きな幅があり、一つの機関だけが離れているのではなく、複数の機関がまとまって離れていた。このため、スルファジミジンの場合、報告値にこれだけの幅があるにもかかわらず、2シグマ処理で除外される機関はなかった。

そこで、参加機関の試験溶液作製における抽出方法に基づき分類し、報告値を評価した。まず、抽出に水またはメタノールを用いない機関を「非水抽出G（グループ）」とした。次に、抽出に水またはメタノールを用い、かつ試料を水で浸漬しない機関を「水/メタノール含有抽出G」とした。最後に、試料を水で浸漬した機関を「浸漬G」とした。なお、非水抽出Gは3機関、水/メタノール含有抽出Gは6機関、浸漬Gは5機関であった。このうち、エンロフロキサシンを測定可能な機関は、それぞれ1機関、4機関、5機関であった（図2）。

参加機関の報告値を3グループに分けて箱ひげ図で観察したところ、すべての調査対象項目において、各グループの平均値及び中央値は非水抽出G<水/メタノール含

有抽出G<浸漬Gとなっていた（図3）。

そこで、参加機関の3回測定の平均値を用い、Welchの2標本t検定（両側検定）を実施し、多重比較についてはHolm補正を適用してグループ間の差を検討した。その結果、スルファジミジン及びスルファメトキサゾールでは、非水抽出G - 水/メタノール含有抽出G、非水抽出G - 浸漬G及び水/メタノール含有抽出G - 浸漬Gの各比較が有意であった（Holm補正後 p 値<0.05）。エンロフロキサシンでは水/メタノール含有抽出G - 浸漬Gの比較が有意であった（Holm補正後 p 値<0.05）。なお、エンロフロキサシンについては、非水抽出Gで測定可能であった機関が1機関のみであり、郡内分散を推定できないため、水/メタノール含有抽出Gと浸漬Gの比較のみを実施した。オキシリン酸では、水/メタノール含有抽出G - 浸漬Gは有意水準5%では有意差が認められなかったが（Holm補正後 p 値=0.13）、非水抽出G - 水/メタノール含有抽出G及び非水抽出G - 浸漬Gの各比較が有意であった（Holm補正後 p 値<0.05）。

また、各調査対象項目の濃度の相関性について、スルファジミジンとスルファメトキサゾールの組み合わせでは $R^2=0.9921$ と非常に強い相関が認められた。一方、その他の組み合わせでは、当該組み合わせほど高い相関は示さなかったものの、一定の相関傾向が認められた（図4）。

以上より、調査用試料は「水の存在により抽出回収が改善する」という特性を有すると判断した。通常、食肉検査機関では生の食肉を対象とした検査が主であり、乾燥試料（パウダー状の試料）は多くはない。

また、一斉試験法Ⅲをはじめとした通知法や既存の検査SOPには乾燥試料への加水に関する規定がほとんどないのが現状である。このような背景から、調査用試料が有する「水の存在により抽出回収が改善する」という特性が、各参加機関の測定結果に大きく反映されることとなる。その結果、各機関が採用している抽出方法の種類や、技能評価においてその抽出方法を採用した機関数の偏りが、報告値全体の評価に影響を与える可能性がある。このため、単一の目標値に基づく技能評価では、評価結果が参加者の技能を反映していると明確に判断することは困難であると考ええる。そこで本調査では、抽出方法に基づくグループに分けた上で、各グループ内で評価した。なお、各グループの機関数は最大でも6機関と少なかったため、以降の評価はあくまで参考と位置付ける。

3つのグループそれぞれについて、各調査対象項目における機関別平均値を用い、当該グループの平均値及び標準偏差を基に z -スコアを算出した結果、エンロフロキサシンについては、非水抽出グループの参加機関が1機関のみであったため z -スコアを算出できなかったが、その他については、 z -スコアの絶対値が2を超える機関は認められなかった。

8. パイロットスタディ結果に基づく浸漬処理に関する検討

浸漬に関する検討について、表10～12に示す。

パイロットスタディを進める中で、参加機関からの報告値にばらつきが見られ、そ

の要因として試料の調製方法、特に浸漬の有無が影響している可能性が推定された。この仮説を検証するため、調査用試料の浸漬効果について検証を行った。調査用試料を浸漬しない場合、水で浸漬する場合及び溶媒で浸漬する場合の3パターンを設定し、それぞれについてB. 11. のとおりに溶媒抽出液、2次抽出液及び3次抽出液を調製・測定し、確認した ($n=2$)。この際の「溶媒」としては、水、メタノール、アセトニトリル、メタノール及び水(1:1)混液、アセトニトリル及び水(1:1)混液、ヘキサン飽和アセトニトリル、メタノール及びアセトニトリル(1:1)混液、及び酢酸エチルを用いた。

なお、固相精製等をしていないため、溶媒種によってマトリクス効果が異なり、単純な濃度比較は正確な評価につながらないが、大まかな傾向を把握することは可能と判断した。

その結果、3パターンすべてにおいて、アセトニトリル及び水(1:1)混液を溶媒として用いた際の溶媒抽出液における添加対象項目の濃度が、他の溶媒を用いた溶媒抽出液と比較して最も良好であった。このことから、今回の手順においては、アセトニトリル及び水(1:1)混液が他の溶媒に比べて最も効率的な抽出溶媒であると判断した。そのため、その後の2次抽出液及び3次抽出液の調製においては、アセトニトリル及び水(1:1)混液を用いることとした。

その上で、各パターンにおける抽出傾向を確認した。なお、溶媒抽出液、2次抽出液及び3次抽出液の合計濃度を100%として、各抽出液の濃度を相対値(%)で表記した(表10～12)。

溶媒としてアセトニトリル、ヘキサン飽和アセトニトリル及び酢酸エチルを用いた場合は、浸漬しない場合及び溶媒で浸漬した場合、十分に抽出されない傾向が確認された。一方、水で浸漬した場合であれば、酢酸エチルを用いた場合のキノロン系の一部の項目（シプロフロキサシン、ダノフロキサシン及びノルフロキサシン等）を除き、回収率が大幅に向上する傾向が確認された。

また、溶媒にメタノールのみを用いた場合、キノロン系は中程度の回収率を示したのに対して、サルファ剤系の多くは良好な回収率であった。加えて、水やアセトニトリルとの混液を用いることで、これらの回収率はさらに向上する傾向が確認された。このため、先のパイロットスタディにおいて、水またはメタノールを用いた施設を一つのグループとして評価した。

逆に、溶媒に水のみを用いた場合、浸漬の有無にかかわらず、すべての項目において回収率が中程度と、期待したほど良好ではなかった。メタノールあるいはアセトニトリルとの混液を使用することで、より望ましい抽出結果に繋がっていた。

9. 参加機関からの意見及び次年度以降の課題

調査用試料や外部精度管理調査事業について、参加機関から以下の意見が寄せられた。

約半数の機関から、通常の検査では乾燥試料（パウダー試料を含む）を扱わないため、試料への水の添加量の提示を求める声が寄せられた。中には、SOPに乾燥試料の取

り扱いの規定がないため、浸漬無しでは測定値が低くなることを承知の上で通常の前処理をせざるをえなかった施設や、浸漬なしでは測定値がばらついたためSOPに記載はないものの水で浸漬して測定した施設、試料が溶媒によって膨潤しアセトニトリル層を完全に分取できなかった施設もあった。

また、浸漬に使用する液体について、水を用いるべきか、それとも生理食塩水を用いるべきかという意見もあった。生理食塩水の使用は想定していなかったため、今後の検討において大変参考になる貴重な意見であった。

さらに、試料を実際の肉に近い状態にしてほしいとのご要望もあった。文部科学省が公表した日本食品標準成分表（八訂）増補2023年では、「にわとり むね 皮なし 生」の水分量は72.8%である。原材料の鶏むね（皮無し）パウダーの水分量が製品企画書によると5%未満であったため、本体払落し品も同程度と想定すると、試料に対して約3倍量の水を添加した場合に、生肉と同程度の水分量になると推察される。そこで、調査用試料に水を添加し、秦野研究所から取り寄せた動物用医薬品外部精度管理の残試料（ペースト状）と形状を観察した。その結果、調査用試料1 gに水2.5 mLを添加することで同程度の粘度になり、3 mLの添加では残試料に比べて流動性が高すぎることを確認された。一方で、今回の検討では、試料1 gに水4 mLを添加しており、流動性がより高い状態であった。普段、食肉検査に従事している機関からのこのような意見は、実際の業務状況を反映してい

ることからも、今後、改めて加水量の検討が必要であると考えます。

次に、複数の機関から、調査用試料を容器から取り出す際、静電気によって試料が舞い上がり、秤量操作が困難であった、との意見も寄せられた。今年度は、調査用試料を当所にてアルミパウチにそのまま分注しただけであったが、次回は、イオナイザー及び帯電防止PEボトルの使用等、静電気対策を含めた改善策を検討する必要がある。

その他、エンロフロキサシンについては、単独の値とシプロフロキサシンとの合算値のいずれを報告すべきかについて、提示を求める意見が寄せられた。本件については、今後のパイロットスタディにおいて留意しなければならない。

最後に、調査対象項目には、サルファ剤、キノロン剤中から使用頻度の高いものを含めてほしいといった具体的な要望が寄せられた。

E. 結論

本研究では、パウダー状の鶏肉試料に動物用医薬品 37 成分を浸漬により添加したスプレードライ試料の分析方法について検討し、36 成分について妥当性を確認した。その後、36 成分の中から、調査対象項目としてスルファジミジン、スルファメトキサゾール、エンロフロキサシン及びオキシリン酸を選定し、当該試料を用いた外部精度管理調査のパイロットスタディを実施した。

調査用試料の品質評価を実施した結果、調査対象項目 4 項目において均質性及び

安定性に問題がないことを確認した。このことから、本試料が実施機関 109 日までのパイロットスタディに十分に使用可能であると判断した。なお、調査対象項目以外の添加対象項目については、キノロン系の一部で濃度減少傾向が認められたため、引き続き安定性について確認し、長期的な使用への適合性を検証していく予定である。

また、本パイロットスタディは、14 の参加機関に対して調査用試料を配布し、測定値の収取を行った。参加機関を抽出方法に基づいてグループ分けして検証した結果、本調査用試料については、「水の存在により抽出回収が改善する」という特性を有すると判断したため、グループごとに報告値を評価した。この結果を受け、次回のパイロットスタディでは、鶏肉パウダー試料への一律の浸漬処理後に測定を実施する方針を検討中である。そのためにも、適切な浸漬方法についての検討を引き続き進めていく必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

<謝辞>

パイロットスタディの実施に当たり、多大なるご協力を賜りました各地方衛生研究所の関係者の皆様に、深く感謝申し上げます。

参考文献

1) 違反事例 | 厚生労働省

https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/yunyu_kanshi/ihan/index.html

2) 大門拓実ほか：三層分離抽出を利用した食肉および水産物中の動物用医薬品迅速一斉分析法の検討、食品衛生学雑誌、61巻3号、95-102（2020）

3) 今井浩一：食品添加物試験法及び動物用医薬品試験法の開発に関する研究、厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）食品衛生検査施設等の検査の信頼性確保に関する研究 令和6年度総括・分担報告書、103-133（2025）

4) 大竹貴光：残留農薬分析の外部精度管理に関する研究、厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）食品衛生検査施設等の検査の信頼性確保に関する研究 令和6年度総括・分担報告書、158-170（2025）

5) 山本直美ほか：LC-MS/MS による動物用医薬品等一斉試験法ーその1ー精製方法の比較検討についてー、令和元年度堺市衛生研究所年報、65-69（2021）

以下 図表等

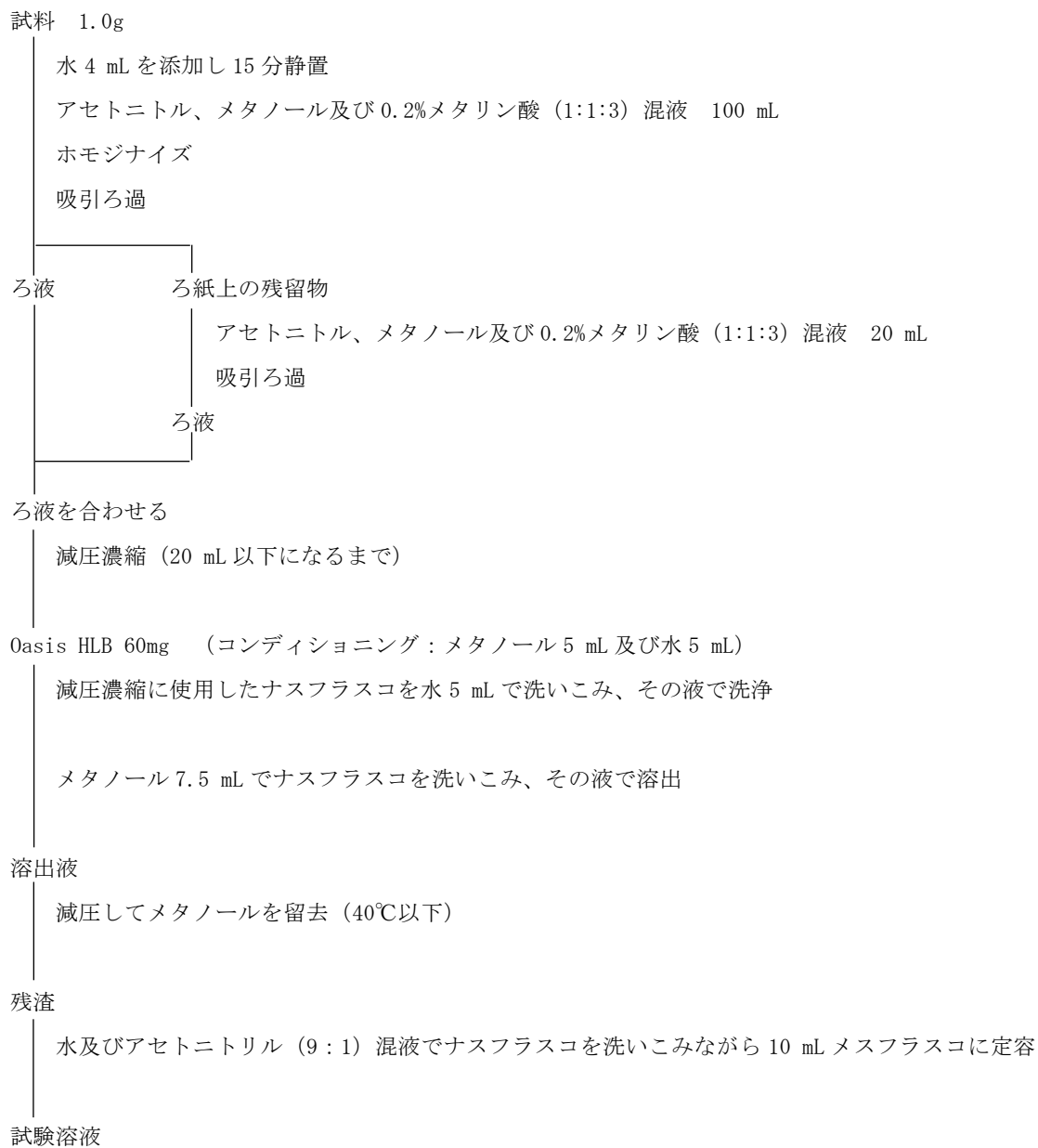
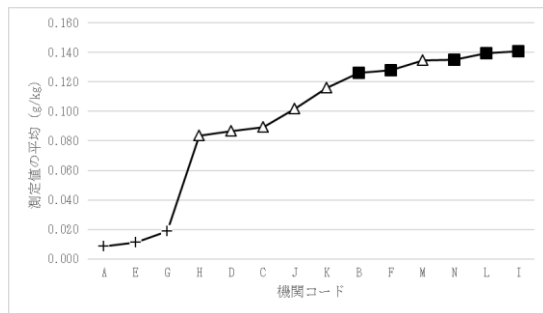
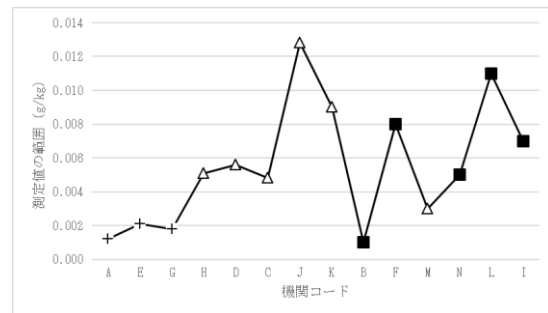


図 1 分析法概略

スルファジミジン

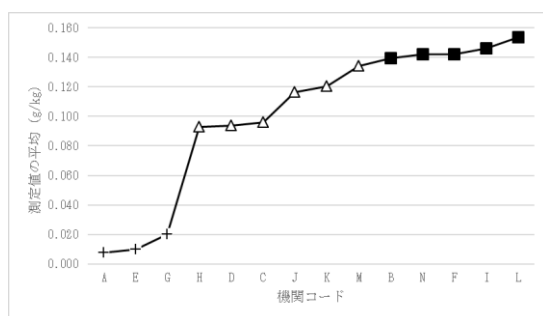


$\bar{X}$ 管理図

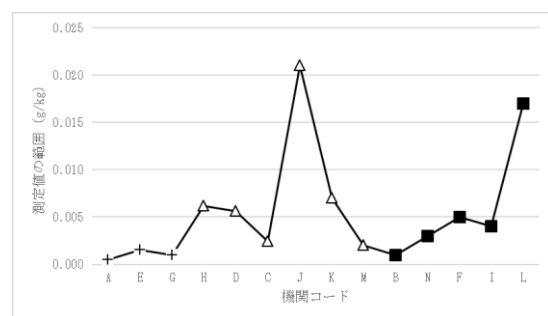


R 管理図

スルファメトキサゾール

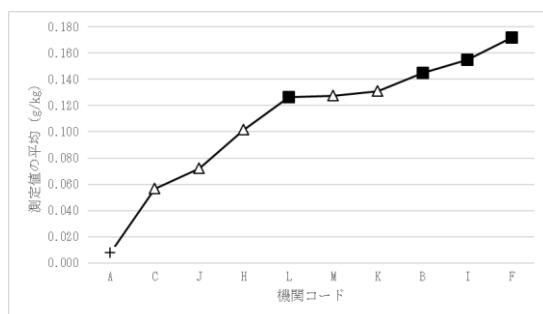


$\bar{X}$ 管理図

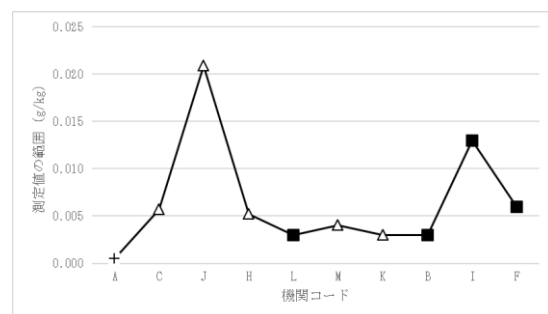


R 管理図

エンロフロキサシン (14 機関中 10 機関のみ測定)

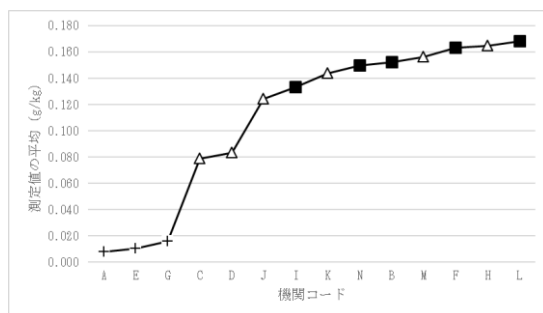


$\bar{X}$ 管理図

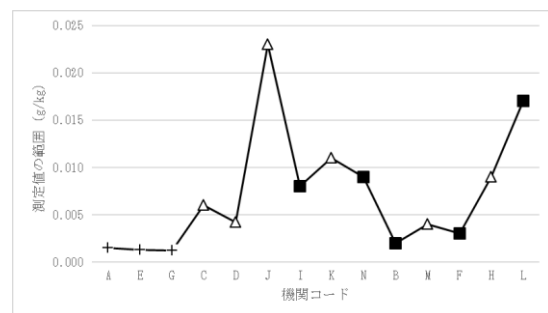


R 管理図

オキシリン酸



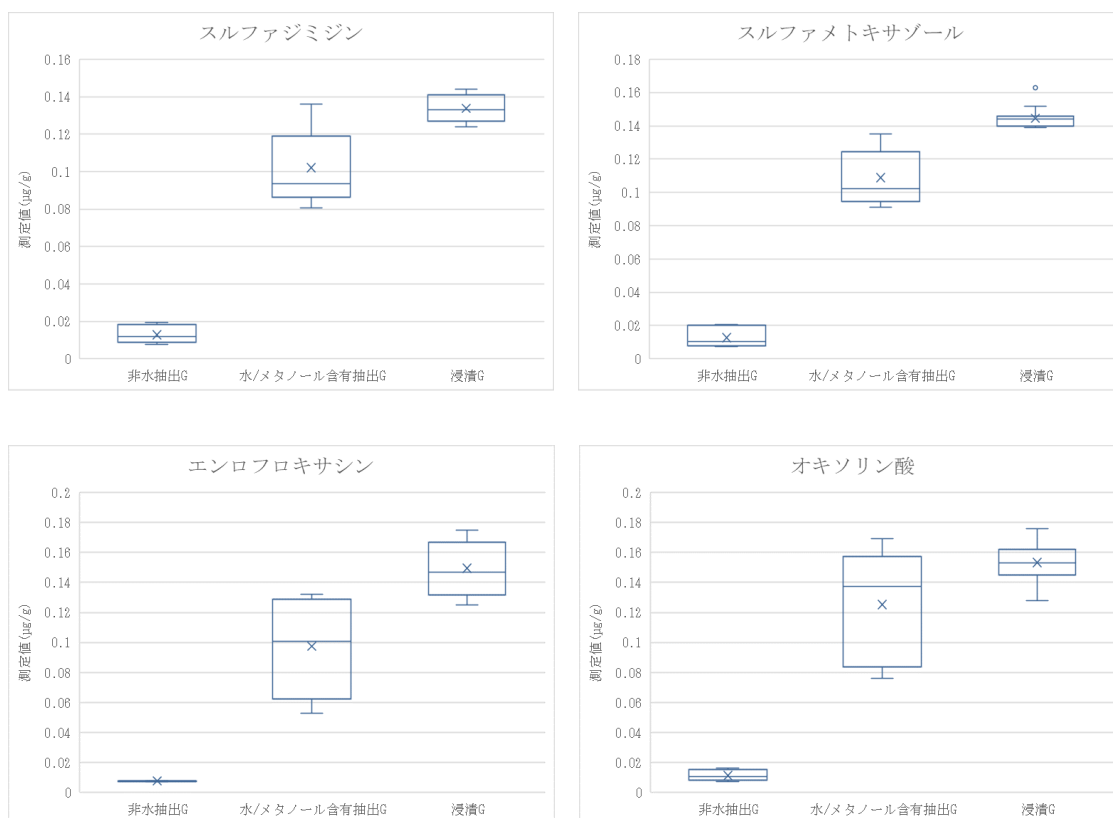
$\bar{X}$ 管理図



R 管理図

図 2 $\bar{X}$ - R 管理図

+ : 非水抽出G
 △ : 水/メタノール含有抽出G
 ■ : 浸漬G



(14機関中10機関のみ測定)

図 3 箱ひげ図

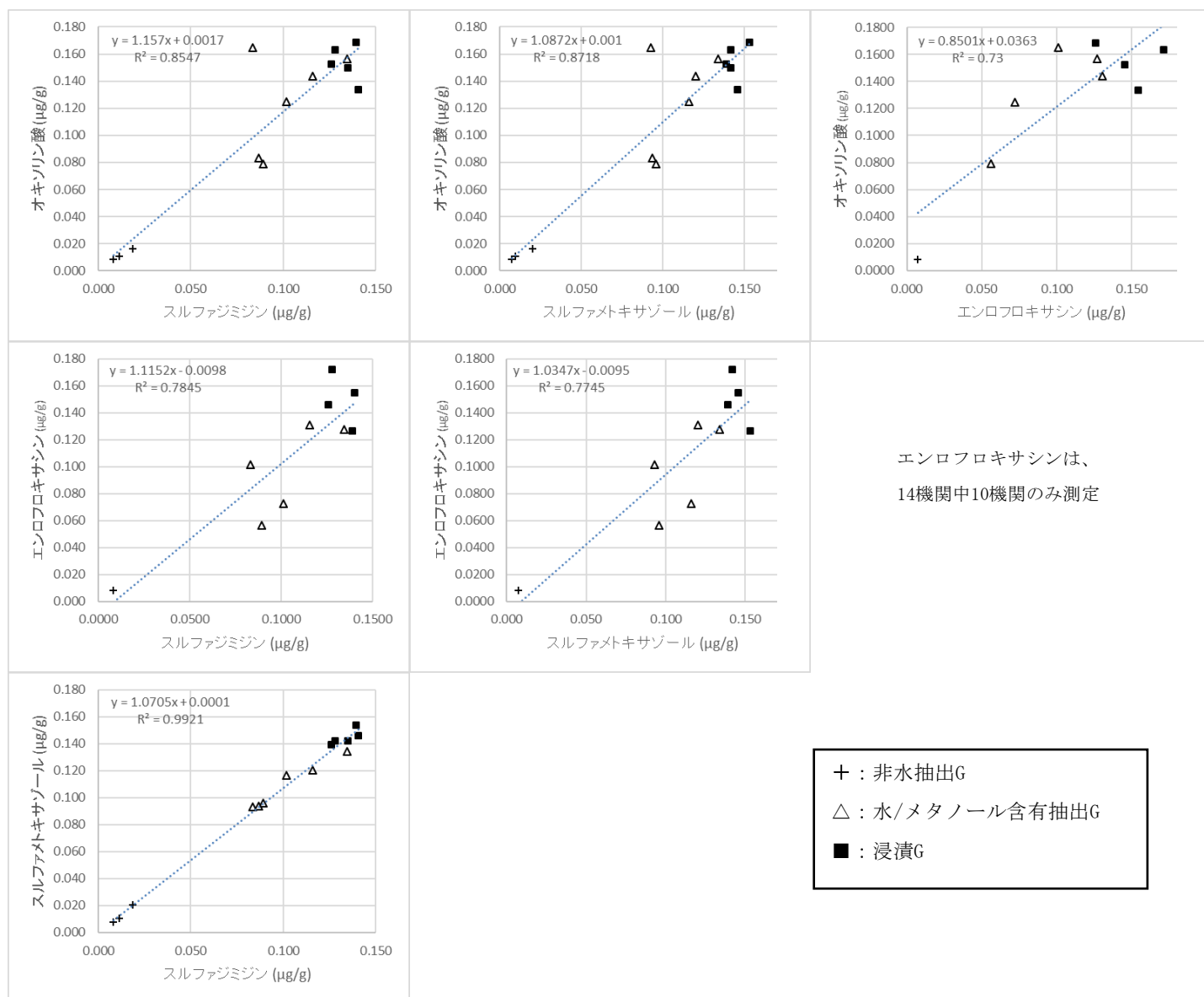


図 4 相関図

表 1 LC-MS/MS 条件①

LC 条件			
装置	ACQUITY UPLC H-Class (Waters 製)		
カラム	L-Column ODS (3 μm, 2.1×100 mm, 化学物質評価研究機構製)		
移動相	A : 0.1 vol% ギ酸		
	B : アセトニトリル		
グラジエント条件	時間	A	B
	(分)	(%)	(%)
	0	95	5
	1	95	5
	10	40	60
	12	2	98
	16	2	98
	16.1	95	5
	20	95	5
流速	0.3 mL/min		
カラム温度	40℃		
注入量	1 μL		
測定時間	20 分		
MS 条件			
装置	Xevo TQ-S (Waters 製)		
イオン化モード	ESI (Positive / Negative)		
キャピラリー電圧	1.0 kV		
ソース温度	150℃		
デゾルベーション温度	500℃		
コーンガス流量	150 L/hr		
デゾルベーションガス流量	1000 L/hr		

表 2 SRM 条件

No.	化合物名	定量	定性
1	5-Propyl-1H-benzimidazole-2-amine	240 > 198	240 > 133
2	Ciprofloxacin	332 > 314	332 > 288
3	Danofloxacin	358 > 82	358 > 96
4	Difloxacin	400 > 299	400 > 356
5	Enlofloxacin	360 > 245	360 > 316
6	Ethopabate	238 > 206	238 > 136
7	Flumequine	262 > 202	262 > 244
8	Levamisole	205 > 178	205 > 91
9	Marbofloxacin	363 > 320	363 > 72
10	Melengestrol acetate	397 > 279	397 > 337
11	Nalidixic acid	233 > 187	233 > 215
12	Norfloxacin	320 > 276	320 > 302
13	Ofloxacin	362 > 261	362 > 318
14	Orbifloxacin	396 > 295	396 > 352
15	Ormetoprim	275 > 259	275 > 123
16	Oxolinic acid	262 > 216	262 > 244
17	Piromidic acid	289 > 271	289 > 243
18	Sarafloxacin	386 > 342	386 > 299
19	Sulfachlorpyridazine	285 > 156	285 > 92
20	Sulfadiazine	251 > 92	251 > 156
21	Sulfadimethoxine	311 > 92	311 > 156
22	Sulfadimidine	279 > 92	279 > 186
23	Sulfadoxine	311 > 92	311 > 156
24	Sulfamerazine	265 > 92	265 > 156
25	Sulfamethoxazole	254 > 92	254 > 156
26	Sulfamethoxypyridazine	281 > 92	281 > 156
27	Sulfamonomethoxine	281 > 92	281 > 156
28	Sulfanitran	334 > 136	334 > 270
29	Sulfapyridine	250 > 92	250 > 156
30	Sulfaquinoxaline	301 > 156	301 > 92
31	Sulfathiazole	256 > 156	256 > 92
32	Thiabendazole	202 > 131	202 > 175
33	Thiamphenicol	354 > 185	354 > 79
34	Trimethoprim	291 > 123	291 > 230
35	Zeranol	321 > 277	321 > 91
36	a-Trenbolone	271 > 253	271 > 199
37	b-Trenbolone	271 > 199	271 > 253

表3 試作品（製品）の各試験法におけるマトリクス検量線測定値を絶対検量線測定値で除した割合

No.	化合物名	一斉試験法Ⅲ	大門らの方法 ²⁾
1	5-Propyl-1H-benzimidazole-2-amine	97.0%	94.3%
2	Ciprofloxacin	87.2%	85.9%
3	Danofloxacin	81.7%	81.9%
4	Difloxacin	94.4%	94.9%
5	Enlofloxacin	91.9%	90.3%
6	Ethopabate	97.0%	94.7%
7	Flumequine	97.2%	96.2%
8	Levamisole	101.5%	95.7%
9	Marbofloxacin	96.9%	93.5%
10	Melengestrol acetate	90.6%	102.0%
11	Nalidixic acid	94.2%	93.4%
12	Norfloxacin	92.8%	93.0%
13	Ofloxacin	97.0%	94.4%
14	Orbifloxacin	94.7%	98.5%
15	Ormetoprim	100.7%	97.4%
16	Oxolinic acid	94.5%	115.4%
17	Piromidic acid	100.0%	99.0%
18	Sarafloxacin	95.6%	90.4%
19	Sulfachlorpyridazine	101.1%	98.7%
20	Sulfadiazine	101.0%	99.1%
21	Sulfadimethoxine	101.6%	100.9%
22	Sulfadimidine	100.0%	101.8%
23	Sulfadoxine	102.8%	95.1%
24	Sulfamerazine	100.0%	100.9%
25	Sulfamethoxazole	104.2%	97.6%
26	Sulfamethoxypyridazine	98.1%	99.1%
27	Sulfamonomethoxine	100.0%	101.2%
28	Sulfanitran	104.8%	102.9%
29	Sulfapyridine	102.0%	99.3%
30	Sulfaquinoxaline	98.3%	96.6%
31	Sulfathiazole	100.0%	100.0%
32	Thiabendazole	88.8%	91.6%
33	Thiamphenicol	84.0%	93.0%
34	Trimethoprim	100.7%	95.3%
35	Zeranol	98.1%	86.1%
36	a-Trenbolone	102.0%	100.0%
37	b-Trenbolone	102.7%	99.4%

表 4 各試験法における製品測定値を本体払落し測定値で除した割合

No.	化合物名	一斉試験法Ⅲ	大門らの方法 ²⁾
1	5-Propyl-1H-benzimidazole-2-amine	84.0%	88.8%
2	Ciprofloxacin	88.1%	96.1%
3	Danofloxacin	82.2%	96.7%
4	Difloxacin	86.5%	89.3%
5	Enrofloxacin	88.3%	93.8%
6	Ethopabate	84.0%	89.0%
7	Flumequine	84.7%	90.7%
8	Levamisole	98.6%	106.8%
9	Marbofloxacin	84.5%	93.3%
10	Melengestrol acetate	86.8%	92.4%
11	Nalidixic acid	83.4%	91.7%
12	Norfloxacin	88.6%	98.8%
13	Ofloxacin	89.0%	94.4%
14	Orbifloxacin	89.3%	96.3%
15	Ormetoprim	84.0%	88.2%
16	Oxolinic acid	83.9%	88.6%
17	Piromidic acid	82.9%	83.4%
18	Sarafloxacin	89.9%	92.7%
19	Sulfachlorpyridazine	79.3%	85.2%
20	Sulfadiazine	85.1%	90.3%
21	Sulfadimethoxine	85.2%	88.0%
22	Sulfadimidine	87.4%	93.1%
23	Sulfadoxine	85.9%	89.1%
24	Sulfamerazine	87.0%	91.7%
25	Sulfamethoxazole	86.2%	89.2%
26	Sulfamethoxypyridazine	81.1%	89.9%
27	Sulfamonomethoxine	84.6%	88.1%
28	Sulfanitran	79.3%	84.1%
29	Sulfapyridine	85.8%	91.8%
30	Sulfaquinoxaline	83.7%	86.1%
31	Sulfathiazole	85.4%	87.9%
32	Thiabendazole	81.5%	86.8%
33	Thiamphenicol	96.2%	100.2%
34	Trimethoprim	83.9%	88.7%
35	Zeranol	78.3%	82.2%
36	a-Trenbolone	91.2%	93.9%
37	b-Trenbolone	79.4%	79.5%

表 5 各試験法における添加回収試験の結果

No.	化合物名	一斉試験法Ⅲ	大門らの方法 ²⁾
1	5-Propyl-1H-benzimidazole-2-amine	104.8%	76.3%
2	Ciprofloxacin	99.0%	63.1%
3	Danofloxacin	97.6%	57.9%
4	Difloxacin	101.0%	94.1%
5	Enrofloxacin	103.3%	85.1%
6	Ethopabate	106.0%	91.6%
7	Flumequine	103.1%	96.9%
8	Levamisole	104.6%	84.4%
9	Marbofloxacin	100.6%	68.6%
10	Melengestrol acetate	97.0%	83.2%
11	Nalidixic acid	103.2%	88.3%
12	Norfloxacin	102.8%	55.8%
13	Ofloxacin	102.0%	66.8%
14	Orbifloxacin	105.3%	86.6%
15	Ormetoprim	106.6%	81.5%
16	Oxolinic acid	103.3%	89.6%
17	Piromidic acid	101.0%	86.1%
18	Sarafloxacin	98.7%	81.9%
19	Sulfachlorpyridazine	93.5%	86.8%
20	Sulfadiazine	100.1%	90.1%
21	Sulfadimethoxine	101.4%	87.4%
22	Sulfadimidine	100.5%	87.7%
23	Sulfadoxine	101.2%	88.8%
24	Sulfamerazine	101.0%	90.9%
25	Sulfamethoxazole	103.4%	90.1%
26	Sulfamethoxypyridazine	94.7%	86.2%
27	Sulfamonomethoxine	102.9%	90.5%
28	Sulfanitran	103.7%	90.3%
29	Sulfapyridine	98.8%	87.6%
30	Sulfaquinoxaline	90.7%	86.9%
31	Sulfathiazole	99.8%	87.1%
32	Thiabendazole	105.2%	84.9%
33	Thiamphenicol	115.6%	90.8%
34	Trimethoprim	105.3%	79.5%
35	Zeranol	97.1%	84.0%
36	a-Trenbolone	96.4%	90.5%
37	b-Trenbolone	80.4%	87.8%

表 6 妥当性

No.	化合物名	0.01 ppm			0.1 ppm			判定
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	
1	5-Propyl-1H-benzimidazole-2-amine	87.1	2.9	4.1	95.9	0.8	2.8	○
2	Ciprofloxacin	85.0	4.9	6.5	97.8	2.2	6.1	○
3	Danofloxacin	88.0	7.4	8.9	102.5	1.3	5.8	○
4	Difloxacin	82.8	3.8	3.8	94.2	1.0	2.1	○
5	Enlofloxacin	84.4	3.4	5.2	94.3	1.5	1.9	○
6	Ethopabate	92.3	3.7	4.1	102.7	1.3	3.1	○
7	Flumequine	86.2	3.5	4.2	99.1	1.3	2.0	○
8	Levamisole	89.6	3.0	3.4	99.0	1.0	1.3	○
9	Marbofloxacin	86.3	6.5	6.6	91.3	1.9	4.9	○
10	Melengestrol acetate	74.2	1.6	3.5	71.3	1.2	9.3	○
11	Nalidixic acid	86.2	4.0	4.3	98.3	1.5	1.7	○
12	Norfloxacin	73.1	10.2	11.6	84.8	2.7	2.9	○
13	Ofloxacin	85.8	3.4	4.4	93.3	1.6	2.1	○
14	Orbifloxacin	86.8	6.1	6.6	95.3	0.8	1.3	○
15	Ormetoprim	89.5	6.9	7.9	97.2	1.1	5.5	○
16	Oxolinic acid	87.1	6.1	6.6	100.9	1.4	2.0	○
17	Piromidic acid	81.1	1.9	4.5	93.6	1.3	1.6	○
18	Sarafloxacin	74.9	3.9	5.7	87.4	0.8	3.5	○
19	Sulfachlorpyridazine	80.2	3.6	4.4	88.8	1.2	3.0	○
20	Sulfadiazine	87.6	2.6	3.2	101.0	1.5	5.2	○
21	Sulfadimethoxine	84.6	3.5	4.1	99.3	2.1	2.8	○
22	Sulfadimidine	87.6	2.5	2.8	96.1	1.2	2.5	○
23	Sulfadoxine	87.2	3.2	3.2	98.9	1.0	2.9	○
24	Sulfamerazine	82.8	2.9	4.0	95.6	1.1	3.7	○
25	Sulfamethoxazole	86.2	3.0	3.1	96.6	1.3	2.1	○
26	Sulfamethoxypyridazine	82.0	4.0	4.5	94.5	0.8	2.3	○
27	Sulfamonomethoxine	84.9	2.4	2.5	94.4	1.2	2.8	○
28	Sulfanitran	73.9	5.6	10.0	102.4	1.3	2.0	○
29	Sulfapyridine	90.3	3.6	6.2	98.6	1.4	6.9	○
30	Sulfaquinoxaline	80.0	3.0	4.5	91.2	1.7	2.0	○
31	Sulfathiazole	84.3	4.0	7.7	95.8	1.4	12.0	○
32	Thiabendazole	94.2	2.6	5.8	98.2	1.6	4.7	○
33	Thiamphenicol	67.3	28.1	32.2	82.2	3.2	6.9	×
34	Trimethoprim	88.3	5.9	6.3	101.5	1.0	3.1	○
35	Zeranol	85.1	5.0	6.8	96.5	2.5	4.2	○
36	a-Trenbolone	83.8	3.6	4.0	97.5	1.2	2.3	○
37	b-Trenbolone	79.7	4.2	4.8	93.5	1.4	3.0	○

表 7 調査用試料の品質評価 (0 日目)

	スルファジミジン	スルファメトキサゾール	エンロフロキサシン	オキシリン酸
平均値 (μg/g)	0.128	0.142	0.153	0.153
SD (μg/g)	0.003	0.002	0.004	0.003
RSD (%)	2.5	1.6	2.7	1.7
<i>F</i> 値	0.877	0.587	2.354	1.427
<i>F</i> 値に対する有意確率 (<i>P</i> 値)	0.573	0.782	0.099	0.293
有意水準 5%点	3.02			

F 値の自由度は (9, 10)

表 8 調査用試料の安定性試験結果 (109 日目)

	スルファジミジン	スルファメトキサゾール	エンロフロキサシン	オキシリン酸
平均値 (μg/g)	0.128	0.141	0.148	0.153
SD (μg/g)	0.005	0.004	0.006	0.003
RSD (%)	3.9	2.8	3.8	1.9
<i>F</i> 値	2.428	1.480	1.156	1.136
<i>F</i> 値に対する有意確率 (<i>P</i> 値)	0.092	0.275	0.409	0.419
均質性と安定性の平均濃度差 (μg/g)	0.000	0.001	0.005	0.000
0.3 σ_{PT}	0.002	0.002	0.006	0.004
有意水準 5%点	3.02			

F 値の自由度は (9, 10)

σ_{PT} には浸漬 G の標準偏差を用いた

表 9 参加機関の抽出方法一覧

グループ	試料採取量(g)	浸漬	抽出溶媒
+	5	なし	アセトニトリル
+	5	なし	ヘキサン飽和アセトニトリル
+	5	なし	酢酸エチル
△	5	なし	アセトニトリル-メタノール (1:1) 混液
△	5.00	なし	マキルベン緩衝液 (pH 7.0) 及び 0.1% 酢酸含有アセトニトリル
△	5	なし	0.2% メタリン酸 : アセトニトリル : メタノール (3 : 1 : 1)
△	10	なし	2% 酢酸及びヘキサンでホモジナイズ抽出後、セライト及びアセトニトリルでホモジナイズ抽出し、遠心分離後、アセトニトリル層を分取。アセトニトリル層を取った残さにアセトニトリルを加え再度ホモジナイズ抽出。
△	2	なし	0.1% 酢酸含有メタノール・アセトニトリル・水 (1 : 2 : 2)
△	5.0	なし	0.2% メタリン酸 : アセトニトリル : メタノール (3 : 1 : 1)
■	1	水 4 mL で 15 分間	0.2% メタリン酸 : アセトニトリル : メタノール (3 : 1 : 1)
■	2.5	水 7.5 mL で 30 分間	5% 酢酸アセトニトリル
■	2	水 5 mL で 30 分間	アセトニトリル
■	1	水 4 mL で 60 分間	アセトニトリル
■	5	水 7.5mL で 30 分間	アセトニトリル

+ : 非水抽出G

△ : 水/メタノール含有抽出G

■ : 浸漬G

表 10 浸漬しない場合における各抽出液の濃度（相対値(%)）

溶媒 浸漬 抽出液	水			メタノール			アセトニトリル			メタノール及び水(1:1)混液		
	なし 溶媒	2 次	3 次	なし 溶媒	2 次	3 次	なし 溶媒	2 次	3 次	なし 溶媒	2 次	3 次
5-Propyl-1H-benzimidazole-2-amine	40.6%	46.1%	13.3%	77.7%	18.2%	4.1%	5.2%	75.8%	19.0%	84.8%	12.3%	3.0%
Ciprofloxacin	47.7%	37.2%	15.1%	20.3%	55.7%	24.0%	0.7%	69.3%	30.0%	65.5%	26.0%	8.5%
Danofloxacin	35.9%	48.1%	16.0%	33.8%	49.6%	16.7%	1.6%	72.1%	26.3%	67.1%	25.7%	7.2%
Difloxacin	39.9%	43.8%	16.3%	54.5%	33.4%	12.0%	4.4%	72.4%	23.2%	60.9%	30.3%	8.8%
Enlofloxacin	40.9%	43.8%	15.3%	56.2%	32.5%	11.3%	3.9%	72.1%	24.0%	68.2%	25.1%	6.7%
Ethopabate	54.8%	37.5%	7.7%	92.2%	7.2%	0.7%	10.2%	76.6%	13.2%	93.5%	6.0%	0.5%
Flumequine	34.9%	50.2%	14.9%	65.1%	28.9%	6.0%	6.5%	76.2%	17.3%	82.2%	14.5%	3.2%
Levamisole	81.8%	15.1%	3.1%	91.9%	7.4%	0.7%	9.1%	75.3%	15.6%	93.4%	6.1%	0.5%
Marbofloxacin	68.8%	23.6%	7.6%	53.3%	34.7%	12.0%	5.7%	68.7%	25.5%	73.2%	20.6%	6.2%
Melengestrol acetate	12.2%	61.4%	26.4%	60.3%	29.1%	10.6%	31.6%	48.1%	20.3%	75.8%	17.3%	6.9%
Nalidixic acid	49.9%	38.4%	11.7%	67.9%	25.9%	6.1%	7.5%	74.1%	18.4%	85.0%	12.4%	2.5%
Norfloxacin	37.7%	44.1%	18.2%	25.0%	49.8%	25.2%	1.5%	66.3%	32.2%	60.1%	29.7%	10.2%
Ofloxacin	60.8%	29.8%	9.4%	54.0%	34.5%	11.5%	5.2%	70.2%	24.6%	74.9%	20.0%	5.2%
Orbifloxacin	66.1%	25.4%	8.5%	44.3%	42.8%	12.9%	4.5%	73.3%	22.2%	73.2%	21.4%	5.4%
Ormetoprim	38.8%	46.4%	14.8%	65.5%	27.6%	6.8%	3.4%	75.9%	20.8%	81.0%	15.6%	3.4%
Oxolinic acid	38.0%	48.1%	13.9%	65.4%	28.5%	6.1%	6.3%	77.3%	16.4%	82.6%	14.5%	2.9%
Piromidic acid	19.5%	59.3%	21.3%	58.8%	32.4%	8.8%	4.4%	75.1%	20.6%	76.3%	18.6%	5.1%
Sarafloxacin	36.6%	44.1%	19.3%	24.3%	49.0%	26.7%	1.7%	69.1%	29.2%	50.9%	35.8%	13.3%
Sulfachlorpyridazine	35.3%	45.9%	18.8%	67.1%	25.3%	7.6%	4.7%	74.5%	20.8%	71.4%	21.7%	6.9%
Sulfadiazine	71.8%	22.4%	5.8%	82.1%	14.9%	3.0%	9.9%	73.6%	16.6%	88.6%	9.6%	1.8%
Sulfadimethoxine	27.0%	56.7%	16.3%	81.2%	16.0%	2.8%	4.6%	79.2%	16.2%	82.3%	14.9%	2.8%
Sulfadimidine	68.6%	25.2%	6.2%	86.5%	11.4%	2.0%	10.1%	74.5%	15.4%	89.6%	8.9%	1.5%
Sulfadoxine	64.9%	28.0%	7.0%	84.8%	13.0%	2.3%	8.7%	76.7%	14.7%	87.9%	10.4%	1.7%
Sulfamerazine	69.6%	24.5%	5.8%	84.9%	13.0%	2.1%	9.7%	74.6%	15.7%	89.7%	9.1%	1.2%
Sulfamethoxazole	54.0%	35.6%	10.4%	83.3%	13.6%	3.1%	8.6%	75.3%	16.1%	84.2%	12.9%	2.9%
Sulfamethoxypyridazine	53.5%	35.3%	11.2%	82.6%	14.7%	2.7%	7.5%	76.0%	16.5%	86.1%	11.8%	2.1%
Sulfamonomethoxine	48.2%	40.0%	11.8%	80.8%	15.9%	3.3%	6.9%	76.2%	16.9%	84.0%	13.3%	2.8%
Sulfanitran	7.0%	72.2%	20.8%	80.5%	16.8%	2.6%	4.3%	80.7%	15.0%	71.0%	23.9%	5.2%
Sulfapyridine	68.2%	25.5%	6.3%	84.1%	13.7%	2.2%	10.3%	73.7%	16.0%	88.9%	9.9%	1.2%
Sulfaquinoxaline	17.0%	60.8%	22.1%	74.8%	20.4%	4.7%	3.7%	77.4%	18.9%	73.2%	21.1%	5.7%
Sulfathiazole	43.2%	43.6%	13.2%	71.2%	23.2%	5.6%	5.9%	75.1%	19.0%	84.0%	13.0%	3.0%
Thiabendazole	16.5%	64.3%	19.2%	88.9%	9.6%	1.5%	5.1%	77.6%	17.3%	83.2%	13.9%	2.9%
Thiamphenicol	86.4%	10.8%	2.8%	86.8%	11.0%	2.2%	8.1%	79.2%	12.7%	92.8%	4.8%	2.4%
Trimethoprim	45.9%	41.8%	12.3%	68.6%	25.7%	5.7%	3.7%	76.3%	20.0%	84.0%	13.2%	2.7%
Zeranol	3.7%	70.9%	25.4%	85.9%	11.8%	2.2%	5.3%	78.1%	16.6%	70.4%	23.5%	6.1%
a-Trenbolone	14.5%	66.0%	19.6%	89.3%	8.7%	1.9%	6.2%	76.6%	17.2%	85.1%	12.3%	2.6%

b-Trenbolone	6. 8%	71. 5%	21. 7%	89. 8%	8. 8%	1. 4%	4. 2%	78. 9%	17. 0%	84. 8%	12. 9%	2. 3%
溶媒 浸漬 抽出液	アセトニトリル及び水(1:1)混液 なし 溶媒 2 次 3 次			ヘキサン飽和アセトニトリル なし 溶媒 2 次 3 次			メタノール及びアセトニトリル(1:1)混液 なし 溶媒 2 次 3 次			酢酸エチル なし 溶媒 2 次 3 次		
5-Propyl-1H-benzimidazole-2-amine	92. 2%	6. 4%	1. 4%	4. 3%	76. 7%	18. 9%	48. 2%	42. 9%	8. 9%	3. 2%	78. 1%	18. 7%
Ciprofloxacin	86. 9%	10. 2%	2. 9%	0. 8%	69. 3%	29. 9%	15. 5%	57. 5%	27. 0%	0. 5%	67. 0%	32. 5%
Danofloxacin	88. 8%	8. 9%	2. 3%	1. 5%	73. 4%	25. 1%	19. 7%	58. 8%	21. 5%	0. 5%	69. 2%	30. 4%
Difloxacin	87. 7%	10. 0%	2. 3%	3. 8%	74. 2%	22. 0%	25. 8%	56. 2%	18. 0%	2. 8%	73. 6%	23. 6%
Enlofloxacin	87. 8%	10. 1%	2. 2%	3. 8%	72. 9%	23. 3%	32. 5%	50. 6%	16. 9%	2. 6%	69. 3%	28. 1%
Ethopabate	96. 5%	3. 5%	0. 0%	8. 2%	78. 3%	13. 5%	73. 0%	23. 8%	3. 2%	5. 4%	83. 3%	11. 3%
Flumequine	93. 9%	5. 3%	0. 7%	5. 2%	77. 9%	16. 9%	43. 7%	46. 4%	9. 9%	4. 2%	82. 9%	12. 9%
Levamisole	96. 2%	3. 8%	0. 0%	7. 6%	76. 8%	15. 6%	77. 3%	19. 6%	3. 2%	3. 8%	78. 8%	17. 3%
Marbofloxacin	86. 9%	10. 4%	2. 7%	5. 0%	69. 5%	25. 5%	35. 5%	46. 5%	18. 0%	3. 7%	64. 8%	31. 5%
Melengestrol acetate	79. 8%	15. 3%	5. 0%	38. 7%	44. 2%	17. 0%	29. 5%	50. 9%	19. 6%	17. 0%	69. 6%	13. 4%
Nalidixic acid	93. 5%	5. 9%	0. 6%	5. 9%	76. 2%	17. 8%	48. 4%	42. 1%	9. 5%	4. 6%	80. 5%	14. 9%
Norfloxacin	80. 2%	15. 0%	4. 8%	1. 9%	67. 6%	30. 5%	20. 6%	53. 1%	26. 3%	1. 3%	61. 5%	37. 2%
Ofloxacin	88. 0%	9. 8%	2. 2%	4. 4%	71. 2%	24. 5%	34. 1%	49. 1%	16. 7%	3. 4%	66. 4%	30. 2%
Orbifloxacin	89. 9%	8. 5%	1. 6%	3. 4%	74. 5%	22. 1%	28. 4%	55. 3%	16. 3%	2. 9%	70. 3%	26. 8%
Ormetoprim	91. 9%	6. 9%	1. 2%	2. 7%	77. 2%	20. 1%	34. 2%	52. 3%	13. 5%	2. 0%	74. 9%	23. 1%
Oxolinic acid	93. 7%	5. 5%	0. 8%	4. 6%	79. 2%	16. 2%	47. 6%	43. 7%	8. 8%	3. 9%	82. 1%	14. 0%
Piromidic acid	91. 0%	7. 5%	1. 5%	3. 9%	76. 3%	19. 7%	37. 5%	49. 3%	13. 2%	2. 8%	80. 4%	16. 8%
Sarafloxacin	81. 7%	14. 0%	4. 3%	1. 7%	69. 9%	28. 4%	15. 7%	57. 8%	26. 5%	1. 6%	65. 5%	32. 9%
Sulfachlorpyridazine	86. 7%	10. 5%	2. 7%	3. 3%	76. 3%	20. 4%	43. 9%	44. 7%	11. 4%	3. 5%	77. 8%	18. 7%
Sulfadiazine	93. 4%	5. 9%	0. 7%	6. 7%	76. 4%	16. 9%	58. 3%	34. 6%	7. 0%	6. 9%	78. 2%	14. 9%
Sulfadimethoxine	94. 0%	5. 5%	0. 5%	3. 3%	81. 1%	15. 6%	47. 1%	44. 6%	8. 3%	2. 5%	86. 4%	11. 0%
Sulfadimidine	93. 5%	5. 8%	0. 7%	7. 1%	77. 6%	15. 3%	58. 5%	34. 9%	6. 6%	6. 2%	80. 2%	13. 6%
Sulfadoxine	94. 3%	5. 2%	0. 4%	6. 2%	79. 1%	14. 7%	57. 0%	37. 0%	6. 1%	5. 3%	82. 5%	12. 2%
Sulfamerazine	94. 3%	5. 6%	0. 2%	6. 8%	77. 2%	16. 0%	57. 8%	35. 6%	6. 6%	6. 4%	79. 9%	13. 7%
Sulfamethoxazole	92. 3%	6. 7%	1. 0%	6. 6%	77. 5%	15. 9%	59. 3%	34. 2%	6. 5%	6. 4%	81. 3%	12. 3%
Sulfamethoxypyridazine	93. 5%	6. 1%	0. 4%	5. 1%	78. 8%	16. 2%	56. 2%	37. 1%	6. 7%	4. 7%	80. 5%	14. 8%
Sulfamonomethoxine	92. 3%	6. 8%	0. 9%	4. 8%	78. 2%	17. 0%	53. 7%	38. 8%	7. 5%	4. 8%	80. 3%	14. 9%
Sulfanitran	95. 9%	3. 9%	0. 1%	3. 7%	81. 3%	15. 0%	47. 8%	44. 4%	7. 8%	3. 6%	87. 9%	8. 5%
Sulfapyridine	94. 1%	5. 7%	0. 2%	7. 1%	77. 1%	15. 8%	59. 2%	34. 6%	6. 2%	6. 9%	77. 8%	15. 3%
Sulfaquinoxaline	91. 0%	7. 7%	1. 4%	2. 7%	79. 3%	18. 0%	44. 8%	45. 2%	10. 1%	2. 0%	84. 0%	14. 0%
Sulfathiazole	91. 0%	7. 7%	1. 3%	4. 2%	77. 0%	18. 8%	45. 8%	43. 9%	10. 3%	4. 0%	78. 0%	18. 1%
Thiabendazole	93. 7%	5. 6%	0. 7%	4. 2%	78. 7%	17. 1%	67. 7%	27. 1%	5. 2%	2. 2%	83. 4%	14. 4%
Thiamphenicol	96. 4%	2. 2%	1. 4%	6. 0%	81. 3%	12. 7%	63. 1%	32. 5%	4. 4%	8. 0%	79. 9%	12. 1%
Trimethoprim	92. 8%	6. 2%	1. 0%	3. 0%	77. 3%	19. 8%	38. 2%	49. 7%	12. 1%	2. 4%	74. 3%	23. 3%
Zeranol	93. 0%	5. 8%	1. 2%	4. 9%	78. 7%	16. 4%	43. 1%	47. 9%	9. 0%	4. 4%	85. 9%	9. 7%

a-Trenbolone	92.0%	6.8%	1.2%	5.4%	78.4%	16.2%	61.5%	32.1%	6.5%	3.6%	83.3%	13.0%
b-Trenbolone	93.5%	5.8%	0.7%	3.9%	79.7%	16.4%	61.3%	32.8%	5.9%	2.2%	85.0%	12.8%

表 11 水で浸漬した場合における各抽出液の濃度（相対値(%)）

溶媒 浸漬 抽出液	水			メタノール			アセトニトリル			メタノール及び水(1:1)混液		
	水 4 mL			水 4 mL			水 4 mL			水 4 mL		
	溶媒	2 次	3 次	溶媒	2 次	3 次	溶媒	2 次	3 次	溶媒	2 次	3 次
5-Propyl-1H-benzimidazole-2-amine	70.7%	24.5%	4.8%	97.4%	2.6%	0.0%	97.7%	2.3%	0.0%	95.7%	4.3%	0.0%
Ciprofloxacin	55.4%	40.2%	4.4%	59.8%	35.8%	4.3%	76.2%	19.4%	4.4%	71.7%	26.1%	2.1%
Danofloxacin	36.7%	60.1%	3.2%	59.3%	38.8%	1.9%	93.6%	6.0%	0.5%	65.3%	33.0%	1.7%
Difloxacin	49.6%	34.3%	16.1%	74.8%	17.9%	7.2%	89.0%	7.3%	3.7%	67.1%	23.3%	9.6%
Enlofloxacin	55.0%	37.0%	8.0%	79.1%	18.3%	2.6%	90.3%	8.2%	1.6%	76.3%	20.8%	2.9%
Ethopabate	61.5%	30.7%	7.8%	95.9%	3.4%	0.7%	98.6%	1.4%	0.0%	93.2%	5.7%	1.1%
Flumequine	40.3%	44.4%	15.3%	86.1%	12.5%	1.4%	95.8%	4.2%	0.0%	87.7%	9.1%	3.2%
Levamisole	93.8%	6.3%	0.0%	98.8%	1.2%	0.0%	100.0%	0.0%	0.0%	97.9%	2.1%	0.0%
Marbofloxacin	88.5%	9.5%	2.0%	85.0%	13.1%	1.9%	86.8%	10.2%	3.0%	88.8%	10.1%	1.1%
Melengestrol acetate	3.9%	64.3%	31.8%	88.6%	9.3%	2.1%	92.6%	6.1%	1.3%	55.2%	33.2%	11.6%
Nalidixic acid	57.1%	32.5%	10.4%	86.9%	10.8%	2.2%	97.2%	2.8%	0.0%	85.9%	11.3%	2.8%
Norfloxacin	61.7%	32.1%	6.3%	62.0%	31.4%	6.7%	75.5%	17.0%	7.4%	79.7%	17.3%	3.0%
Ofloxacin	78.2%	19.7%	2.1%	82.4%	16.3%	1.3%	91.5%	7.5%	1.0%	88.6%	11.4%	0.0%
Orbifloxacin	75.3%	20.8%	3.9%	70.6%	25.6%	3.8%	87.5%	10.5%	1.9%	80.8%	17.4%	1.8%
Ormetoprim	45.2%	47.3%	7.4%	88.9%	10.4%	0.7%	91.7%	7.2%	1.1%	80.1%	18.4%	1.5%
Oxolinic acid	43.5%	43.1%	13.4%	87.6%	10.8%	1.6%	97.9%	2.1%	0.0%	83.6%	13.4%	3.0%
Piromidic acid	23.3%	52.2%	24.5%	83.5%	12.5%	4.0%	94.7%	4.1%	1.3%	74.8%	18.0%	7.3%
Sarafloxacin	45.7%	35.7%	18.6%	45.8%	37.2%	17.0%	74.4%	17.0%	8.5%	58.7%	29.3%	12.0%
Sulfachlorpyridazine	44.4%	39.7%	16.0%	90.7%	5.9%	3.4%	97.1%	2.6%	0.4%	74.1%	18.6%	7.2%
Sulfadiazine	69.4%	23.3%	7.3%	90.9%	7.0%	2.2%	94.8%	4.1%	1.0%	88.3%	8.4%	3.4%
Sulfadimethoxine	30.5%	52.6%	16.9%	90.9%	7.5%	1.6%	94.1%	5.2%	0.7%	75.9%	19.4%	4.8%
Sulfadimidine	73.2%	22.8%	3.9%	94.1%	5.9%	0.0%	96.7%	3.3%	0.0%	90.5%	9.1%	0.4%
Sulfadoxine	65.6%	26.9%	7.5%	92.0%	7.1%	0.9%	97.1%	2.9%	0.0%	86.9%	11.0%	2.1%
Sulfamerazine	76.6%	18.8%	4.6%	95.0%	5.0%	0.0%	97.7%	2.3%	0.0%	90.7%	8.4%	0.9%
Sulfamethoxazole	57.9%	32.0%	10.1%	94.0%	4.4%	1.6%	94.9%	4.8%	0.3%	87.8%	8.4%	3.8%
Sulfamethoxypyridazine	60.1%	31.6%	8.4%	89.4%	9.0%	1.6%	94.9%	4.2%	1.0%	83.2%	13.9%	2.9%
Sulfamonomethoxine	57.0%	32.5%	10.5%	90.8%	7.6%	1.5%	97.9%	2.1%	0.0%	83.7%	13.3%	3.0%
Sulfanitran	8.7%	66.7%	24.6%	93.4%	5.7%	0.9%	98.3%	1.7%	0.0%	60.5%	30.3%	9.2%
Sulfapyridine	74.9%	20.5%	4.6%	95.6%	4.4%	0.0%	99.6%	0.4%	0.0%	92.0%	7.5%	0.5%
Sulfaquinoxaline	21.4%	55.3%	23.3%	87.3%	10.2%	2.5%	94.6%	4.8%	0.6%	69.7%	22.1%	8.2%
Sulfathiazole	55.2%	33.3%	11.5%	88.7%	8.6%	2.6%	95.9%	3.0%	1.0%	85.6%	11.4%	3.0%
Thiabendazole	21.6%	67.0%	11.4%	95.9%	4.1%	0.0%	98.1%	1.9%	0.0%	79.3%	18.7%	2.0%
Thiamphenicol	82.1%	14.9%	3.0%	94.8%	2.6%	2.6%	99.2%	0.0%	0.8%	90.6%	7.6%	1.8%
Trimethoprim	62.8%	33.5%	3.7%	96.2%	3.8%	0.0%	95.0%	5.0%	0.0%	89.9%	10.1%	0.0%
Zeranol	3.2%	65.4%	31.4%	94.4%	5.0%	0.7%	96.7%	3.0%	0.3%	56.4%	31.9%	11.7%
α-Trenbolone	18.1%	60.5%	21.4%	91.1%	7.8%	1.2%	94.3%	5.0%	0.7%	80.4%	15.2%	4.3%

b-Trenbolone	9. 4%	67. 9%	22. 6%	95. 1%	4. 9%	0. 0%	97. 5%	2. 5%	0. 0%	77. 7%	18. 3%	4. 0%
--------------	-------	--------	--------	--------	-------	-------	--------	-------	-------	--------	--------	-------

溶媒 浸漬 抽出液	アセトニトリル及び水(1:1)混液			ヘキサン飽和アセトニトリル			メタノール及びアセトニトリル(1:1)混液			酢酸エチル		
	水 4 mL			水 4 mL			水 4 mL			水 4 mL		
	溶媒	2 次	3 次	溶媒	2 次	3 次	溶媒	2 次	3 次	溶媒	2 次	3 次
5-Propyl-1H-benzimidazole-2-amine	98. 6%	1. 4%	0. 0%	98. 2%	1. 8%	0. 0%	99. 3%	0. 7%	0. 0%	97. 6%	0. 8%	1. 6%
Ciprofloxacin	97. 8%	2. 2%	0. 0%	82. 7%	11. 8%	5. 5%	84. 0%	13. 9%	2. 0%	3. 2%	79. 9%	16. 9%
Danofloxacin	100. 0%	0. 0%	0. 0%	96. 9%	1. 2%	1. 9%	98. 6%	1. 4%	0. 0%	4. 4%	83. 7%	11. 9%
Difloxacin	89. 9%	8. 0%	2. 2%	90. 0%	6. 7%	3. 3%	84. 0%	11. 6%	4. 4%	92. 5%	5. 1%	2. 4%
Enlofloxacin	96. 1%	3. 9%	0. 0%	89. 8%	8. 0%	2. 3%	91. 7%	7. 5%	0. 8%	59. 2%	30. 0%	10. 9%
Ethopabate	96. 1%	3. 1%	0. 8%	98. 6%	1. 4%	0. 0%	97. 8%	2. 2%	0. 0%	100. 0%	0. 0%	0. 0%
Flumequine	91. 9%	7. 5%	0. 6%	95. 3%	4. 7%	0. 0%	97. 8%	2. 2%	0. 0%	97. 1%	2. 9%	0. 0%
Levamisole	100. 0%	0. 0%	0. 0%	100. 0%	0. 0%	0. 0%	100. 0%	0. 0%	0. 0%	72. 9%	26. 1%	1. 0%
Marbofloxacin	97. 2%	2. 8%	0. 0%	90. 1%	6. 9%	3. 0%	92. 7%	6. 4%	0. 9%	29. 6%	57. 2%	13. 2%
Melengestrol acetate	83. 1%	13. 7%	3. 2%	95. 6%	4. 4%	0. 0%	91. 8%	6. 4%	1. 7%	62. 4%	30. 3%	7. 3%
Nalidixic acid	93. 8%	5. 6%	0. 7%	97. 2%	2. 8%	0. 0%	92. 8%	6. 5%	0. 7%	98. 9%	1. 1%	0. 0%
Norfloxacin	96. 8%	2. 6%	0. 6%	81. 1%	13. 0%	5. 9%	83. 3%	12. 2%	4. 5%	3. 4%	81. 5%	15. 1%
Ofloxacin	97. 6%	2. 4%	0. 0%	92. 3%	6. 0%	1. 7%	94. 4%	5. 6%	0. 0%	24. 4%	65. 1%	10. 5%
Orbifloxacin	94. 7%	5. 3%	0. 0%	86. 4%	11. 2%	2. 5%	84. 4%	14. 3%	1. 3%	18. 4%	58. 3%	23. 2%
Ormetoprim	97. 6%	2. 4%	0. 0%	93. 4%	5. 3%	1. 3%	94. 9%	4. 5%	0. 7%	55. 7%	35. 4%	8. 9%
Oxolinic acid	93. 7%	6. 3%	0. 0%	97. 4%	2. 6%	0. 0%	95. 5%	4. 5%	0. 0%	99. 0%	1. 0%	0. 0%
Piromidic acid	90. 2%	7. 4%	2. 5%	94. 5%	4. 3%	1. 2%	89. 0%	8. 5%	2. 5%	96. 1%	3. 3%	0. 7%
Sarafloxacin	88. 1%	9. 4%	2. 5%	74. 4%	16. 6%	9. 1%	60. 9%	28. 1%	11. 0%	20. 1%	53. 2%	26. 8%
Sulfachlorpyridazine	88. 4%	9. 9%	1. 7%	92. 4%	6. 9%	0. 7%	91. 7%	7. 6%	0. 7%	97. 5%	2. 5%	0. 0%
Sulfadiazine	89. 2%	8. 6%	2. 2%	98. 3%	0. 9%	0. 9%	93. 2%	5. 9%	1. 0%	96. 8%	2. 6%	0. 6%
Sulfadimethoxine	87. 4%	11. 1%	1. 5%	94. 5%	5. 5%	0. 0%	90. 6%	8. 6%	0. 7%	95. 2%	4. 8%	0. 0%
Sulfadimidine	92. 7%	7. 3%	0. 0%	96. 0%	4. 0%	0. 0%	95. 2%	4. 8%	0. 0%	98. 2%	1. 8%	0. 0%
Sulfadoxine	92. 0%	7. 0%	1. 0%	96. 3%	3. 7%	0. 0%	95. 6%	4. 4%	0. 0%	99. 1%	0. 9%	0. 0%
Sulfamerazine	96. 5%	3. 5%	0. 0%	96. 3%	3. 7%	0. 0%	97. 6%	2. 4%	0. 0%	100. 0%	0. 0%	0. 0%
Sulfamethoxazole	89. 8%	8. 6%	1. 6%	96. 8%	2. 9%	0. 4%	98. 5%	0. 7%	0. 7%	97. 5%	2. 2%	0. 3%
Sulfamethoxypyridazine	90. 2%	8. 0%	1. 8%	94. 3%	5. 0%	0. 7%	93. 7%	5. 6%	0. 7%	96. 6%	2. 8%	0. 6%
Sulfamonomethoxine	92. 3%	6. 9%	0. 8%	94. 9%	5. 1%	0. 0%	94. 1%	5. 9%	0. 0%	98. 7%	1. 3%	0. 0%
Sulfanitran	93. 3%	5. 6%	1. 1%	97. 5%	2. 5%	0. 0%	96. 5%	3. 5%	0. 0%	94. 8%	4. 3%	0. 9%
Sulfapyridine	95. 1%	4. 9%	0. 0%	99. 1%	0. 9%	0. 0%	98. 4%	1. 6%	0. 0%	100. 0%	0. 0%	0. 0%
Sulfaquinoxaline	87. 9%	9. 4%	2. 7%	94. 0%	5. 4%	0. 6%	92. 5%	6. 5%	1. 0%	97. 2%	2. 5%	0. 3%
Sulfathiazole	91. 0%	7. 5%	1. 5%	94. 0%	4. 5%	1. 5%	93. 6%	5. 7%	0. 7%	96. 6%	0. 0%	3. 4%
Thiabendazole	96. 6%	2. 7%	0. 7%	97. 7%	2. 3%	0. 0%	97. 8%	2. 2%	0. 0%	99. 7%	0. 3%	0. 0%
Thiamphenicol	90. 1%	8. 6%	1. 2%	99. 6%	0. 0%	0. 4%	99. 5%	0. 0%	0. 5%	96. 7%	2. 9%	0. 4%
Trimethoprim	97. 7%	2. 3%	0. 0%	96. 3%	3. 3%	0. 3%	97. 5%	2. 5%	0. 0%	75. 0%	17. 2%	7. 8%

Zeranol	88.8%	8.8%	2.5%	96.8%	3.2%	0.0%	95.4%	3.9%	0.7%	88.6%	8.7%	2.7%
a-Trenbolone	87.8%	9.9%	2.3%	93.6%	5.7%	0.7%	92.4%	6.5%	1.1%	94.1%	4.9%	1.0%
b-Trenbolone	93.3%	6.7%	0.0%	97.0%	3.0%	0.0%	96.0%	4.0%	0.0%	97.8%	2.2%	0.0%

表 12 溶媒で浸漬した場合における各抽出液の濃度（相対値(%)）

溶媒 浸漬 抽出液	水			メタノール			アセトニトリル			メタノール及び水(1:1)混液		
	水 4 mL			メタノール水 4 mL			アセトニトリル 4 mL			メタノール及び水(1:1)混液 4 mL		
	溶媒	2 次	3 次	溶媒	2 次	3 次	溶媒	2 次	3 次	溶媒	2 次	3 次
5-Propyl-1H-benzimidazole-2-amine	—	—	—	94.9%	5.1%	0.0%	7.3%	76.6%	16.1%	94.1%	5.9%	0.0%
Ciprofloxacin	—	—	—	32.8%	52.7%	14.5%	5.0%	75.2%	19.8%	71.7%	25.5%	2.8%
Danofloxacin	—	—	—	38.6%	55.4%	6.1%	1.7%	89.0%	9.4%	72.8%	25.9%	1.3%
Difloxacin	—	—	—	64.6%	23.7%	11.7%	3.3%	68.0%	28.7%	65.6%	25.2%	9.2%
Enlofloxacin	—	—	—	67.8%	24.8%	7.4%	4.1%	73.4%	22.5%	76.0%	21.0%	3.1%
Ethopabate	—	—	—	96.9%	2.8%	0.3%	7.4%	74.4%	18.1%	94.6%	4.8%	0.7%
Flumequine	—	—	—	76.1%	19.8%	4.1%	4.3%	76.6%	19.1%	89.9%	8.0%	2.1%
Levamisole	—	—	—	100.0%	0.0%	0.0%	15.3%	70.4%	14.3%	100.0%	0.0%	0.0%
Marbofloxacin	—	—	—	71.1%	24.0%	4.9%	7.6%	70.6%	21.8%	87.8%	11.2%	1.0%
Melengestrol acetate	—	—	—	83.6%	13.2%	3.1%	8.8%	69.0%	22.1%	71.2%	22.4%	6.4%
Nalidixic acid	—	—	—	76.8%	18.1%	5.1%	4.7%	73.7%	21.5%	88.0%	10.0%	2.0%
Norfloxacin	—	—	—	34.3%	53.7%	12.0%	4.4%	71.1%	24.5%	78.3%	18.5%	3.1%
Ofloxacin	—	—	—	67.5%	28.3%	4.2%	7.4%	75.0%	17.6%	86.2%	13.4%	0.4%
Orbifloxacin	—	—	—	49.4%	37.6%	13.1%	3.3%	71.1%	25.5%	78.2%	18.5%	3.4%
Ormetoprim	—	—	—	79.0%	17.9%	3.1%	2.8%	80.9%	16.3%	84.4%	14.2%	1.4%
Oxolinic acid	—	—	—	78.4%	17.4%	4.2%	3.7%	76.4%	19.9%	86.2%	11.6%	2.2%
Piromidic acid	—	—	—	69.6%	22.6%	7.8%	3.6%	71.9%	24.5%	78.3%	16.1%	5.6%
Sarafloxacin	—	—	—	28.1%	43.8%	28.1%	1.8%	63.7%	34.5%	57.2%	30.2%	12.6%
Sulfachlorpyridazine	—	—	—	77.6%	17.9%	4.5%	2.8%	73.2%	24.0%	78.6%	15.5%	5.9%
Sulfadiazine	—	—	—	91.2%	6.2%	2.7%	6.2%	73.1%	20.7%	86.8%	10.2%	3.0%
Sulfadimethoxine	—	—	—	90.6%	8.0%	1.4%	3.0%	77.3%	19.7%	80.3%	16.3%	3.4%
Sulfadimidine	—	—	—	94.3%	5.7%	0.0%	5.3%	76.9%	17.8%	92.3%	7.3%	0.4%
Sulfadoxine	—	—	—	93.1%	6.2%	0.7%	5.3%	74.6%	20.1%	88.8%	9.5%	1.7%
Sulfamerazine	—	—	—	94.5%	5.5%	0.0%	4.9%	75.2%	19.9%	93.9%	6.1%	0.0%
Sulfamethoxazole	—	—	—	89.9%	8.7%	1.3%	4.6%	76.1%	19.3%	86.3%	11.6%	2.1%
Sulfamethoxypyridazine	—	—	—	90.1%	8.1%	1.8%	3.1%	79.2%	17.8%	87.4%	10.7%	1.9%
Sulfamonomethoxine	—	—	—	89.2%	9.4%	1.4%	5.8%	61.0%	33.1%	86.9%	11.0%	2.1%
Sulfanitran	—	—	—	90.9%	8.0%	1.2%	4.0%	77.7%	18.3%	72.7%	21.6%	5.7%
Sulfapyridine	—	—	—	94.6%	5.4%	0.0%	3.4%	77.0%	19.6%	94.2%	5.8%	0.0%
Sulfaquinoxaline	—	—	—	84.8%	12.1%	3.0%	2.5%	74.6%	22.9%	77.1%	17.4%	5.5%
Sulfathiazole	—	—	—	83.4%	12.7%	3.9%	3.9%	72.1%	23.9%	88.3%	9.1%	2.6%
Thiabendazole	—	—	—	96.6%	3.4%	0.0%	5.2%	74.3%	20.4%	85.8%	12.9%	1.3%

Thiamphenicol	—	—	—	93.2%	5.1%	1.7%	6.8%	75.2%	18.0%	91.0%	7.3%	1.7%
Trimethoprim	—	—	—	86.8%	12.2%	1.0%	3.8%	79.9%	16.3%	92.7%	7.3%	0.0%
Zeranol	—	—	—	93.6%	5.7%	0.7%	3.5%	75.2%	21.3%	69.9%	22.7%	7.4%
a-Trenbolone	—	—	—	92.1%	6.5%	1.4%	4.3%	75.5%	20.1%	84.8%	12.3%	2.9%
b-Trenbolone	—	—	—	95.2%	4.8%	0.0%	3.5%	75.2%	21.3%	86.6%	12.0%	1.4%

溶媒 浸漬 抽出液	アセトニトリル及び水(1:1)混液			ヘキサン飽和アセトニトリル			メタノール及びアセトニトリル(1:1)混液			酢酸エチル		
	アセトニトリル及び水(1:1)混液 4 mL			ヘキサン飽和アセトニトリル 4 mL			メタノール及びアセトニトリル(1:1)混液 4mL			酢酸エチル 4 mL		
	溶媒	2 次	3 次	溶媒	2 次	3 次	溶媒	2 次	3 次	溶媒	2 次	3 次
5-Propyl-1H-benzimidazole-2-amine	99.3%	0.7%	0.0%	7.7%	76.2%	16.1%	86.3%	12.1%	1.6%	4.9%	83.6%	11.5%
Ciprofloxacin	97.2%	2.8%	0.0%	4.2%	75.5%	20.3%	42.3%	44.7%	13.0%	3.3%	64.0%	32.6%
Danofloxacin	100.0%	0.0%	0.0%	1.3%	88.4%	10.3%	44.6%	48.6%	6.8%	1.3%	76.2%	22.5%
Difloxacin	92.0%	6.5%	1.4%	2.9%	68.6%	28.5%	50.0%	34.6%	15.4%	3.7%	68.4%	27.9%
Enlofloxacin	97.7%	2.3%	0.0%	4.1%	72.8%	23.2%	62.4%	28.6%	9.0%	4.7%	59.3%	36.0%
Ethopabate	96.1%	3.1%	0.8%	7.8%	74.4%	17.8%	92.4%	6.3%	1.3%	7.4%	82.7%	10.0%
Flumequine	94.3%	5.7%	0.0%	3.9%	76.3%	19.8%	68.1%	26.0%	5.9%	4.8%	84.8%	10.5%
Levamisole	100.0%	0.0%	0.0%	16.1%	73.4%	10.5%	98.5%	1.5%	0.0%	7.1%	81.8%	11.2%
Marbofloxacin	97.1%	2.9%	0.0%	8.9%	69.9%	21.1%	71.5%	22.3%	6.1%	7.8%	71.1%	21.1%
Melengestrol acetate	89.8%	9.3%	0.9%	15.8%	64.2%	20.0%	49.0%	40.6%	10.4%	5.8%	88.8%	5.4%
Nalidixic acid	95.2%	4.1%	0.7%	5.5%	73.1%	21.4%	70.0%	24.0%	5.9%	5.8%	81.2%	13.0%
Norfloxacin	96.0%	3.3%	0.7%	4.7%	72.5%	22.8%	49.2%	35.2%	15.5%	3.4%	65.5%	31.0%
Ofloxacin	98.3%	1.7%	0.0%	7.5%	73.1%	19.4%	71.8%	22.0%	6.2%	7.0%	68.7%	24.4%
Orbifloxacin	95.7%	4.3%	0.0%	3.6%	71.1%	25.3%	47.2%	39.7%	13.1%	4.5%	59.9%	35.6%
Ormetoprim	97.7%	2.3%	0.0%	2.8%	81.3%	16.0%	67.1%	26.8%	6.1%	3.5%	66.4%	30.0%
Oxolinic acid	95.7%	4.3%	0.0%	3.7%	75.5%	20.8%	72.6%	22.6%	4.7%	5.1%	82.7%	12.2%
Piromidic acid	92.5%	5.8%	1.7%	3.8%	71.2%	25.1%	61.7%	28.7%	9.7%	4.5%	78.9%	16.6%
Sarafloxacin	88.8%	8.1%	3.1%	1.8%	64.9%	33.3%	26.8%	45.4%	27.8%	2.6%	58.3%	39.1%
Sulfachlorpyridazine	91.3%	7.9%	0.8%	3.2%	71.8%	25.0%	66.7%	25.9%	7.4%	4.3%	80.2%	15.4%
Sulfadiazine	95.3%	2.3%	2.3%	6.7%	72.7%	20.6%	81.0%	14.8%	4.2%	15.7%	58.8%	25.5%
Sulfadimethoxine	95.2%	4.0%	0.8%	3.4%	76.8%	19.8%	79.5%	15.3%	5.2%	3.7%	88.4%	7.8%
Sulfadimidine	95.1%	4.9%	0.0%	6.0%	76.2%	17.9%	84.4%	13.8%	1.8%	5.8%	82.6%	11.6%
Sulfadoxine	94.4%	5.6%	0.0%	5.7%	73.8%	20.5%	81.9%	15.2%	2.8%	8.7%	80.8%	10.5%
Sulfamerazine	95.0%	5.0%	0.0%	4.9%	75.7%	19.3%	82.0%	16.4%	1.6%	6.6%	81.7%	11.6%
Sulfamethoxazole	93.1%	6.2%	0.7%	8.3%	61.9%	29.8%	79.9%	16.9%	3.2%	7.0%	84.2%	8.8%
Sulfamethoxypyridazine	91.7%	6.6%	1.7%	3.8%	76.8%	19.4%	79.4%	17.1%	3.5%	6.1%	81.7%	12.2%
Sulfamonomethoxine	93.9%	5.3%	0.8%	4.0%	76.6%	19.4%	83.6%	10.8%	5.6%	5.8%	81.6%	12.6%
Sulfanitran	96.0%	3.5%	0.6%	4.0%	76.7%	19.3%	74.6%	21.1%	4.3%	4.7%	89.7%	5.6%
Sulfapyridine	100.0%	0.0%	0.0%	4.8%	76.6%	18.6%	84.8%	13.6%	1.6%	5.0%	82.8%	12.3%
Sulfaquinoxaline	92.6%	6.1%	1.4%	2.5%	73.7%	23.8%	69.2%	24.0%	6.7%	3.3%	84.9%	11.8%
Sulfathiazole	91.9%	6.6%	1.5%	5.7%	66.5%	27.8%	75.1%	19.0%	5.9%	4.0%	78.5%	17.5%

Thiabendazole	98.1%	1.9%	0.0%	5.5%	73.6%	21.0%	89.6%	9.4%	1.1%	4.8%	79.9%	15.3%
Thiamphenicol	100.0%	0.0%	0.0%	7.9%	73.5%	18.6%	85.9%	11.0%	3.1%	11.7%	72.3%	16.0%
Trimethoprim	98.6%	1.4%	0.0%	3.6%	79.7%	16.8%	76.1%	19.8%	4.1%	4.0%	77.0%	19.0%
Zeranol	93.3%	5.3%	1.3%	4.6%	73.5%	22.0%	72.8%	21.2%	6.0%	4.5%	88.3%	7.2%
a-Trenbolone	90.8%	7.7%	1.5%	5.0%	76.1%	18.9%	83.8%	13.5%	2.7%	4.9%	85.0%	10.1%
b-Trenbolone	94.6%	5.4%	0.0%	3.4%	76.5%	20.2%	86.0%	12.0%	2.0%	3.2%	86.4%	10.5%