

表4 牛筋肉からの添加回収試験結果

No.	分析対象化合物	回収率(%), n=3																溶出 画分
		第1画分								第2画分								
		Exp.1		Exp.2		Exp.3		Exp.4		Exp.1		Exp.2		Exp.3		Exp.4		
平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD			
1	2,4-D	nd		nd		nd		nd		85	5	80	7	83	9	78	6	2
2	2,4-DB	nd		nd		nd		nd		95	7	95	12	92	5	92	13	2
3	4-CPA	nd		nd		nd		nd		88	8	68	3	70	5	55	6	2
4	EPTC	35	3	19	25	35	14	32	4	nd		nd		nd		nd		1
5	MCPA	nd		nd		nd		nd		91	5	84	7	85	5	80	5	2
6	MCPB	nd		nd		nd		nd		101	5	101	7	85	2	89	10	2
7	アザメチホス	44	52	49	50	17	26	20	47	nd		nd		nd		nd		1
8	アシフルオルフェン	nd		nd		nd		nd		78	12	80	4	85	13	90	4	2
9	アセタミプリド	92	6	91	8	94	6	94	5	nd		nd		nd		nd		1
10	アセフェート	72	6	63	14	69	5	74	5	1	53	1	38	nd		1	70	1
11	アノキシストロピン	92	1	95	4	91	9	95	7	nd		nd		nd		nd		1
12	アベルメクチンB1a	80	9	86	1	83	6	90	5	nd		nd		nd		nd		1
13	アベルメクチンB1b	97	9	99	6	85	4	102	9	nd		nd		nd		nd		1
14	アベルメクチン8,9-Z異性体B1a	79	7	77	9	103	1	96	5	nd		nd		nd		nd		1
15	アミトラズ	9	41	4	46	20	32	5	26	nd		nd		nd		nd		1
16	アミトラズ代謝物	88	13	87	5	78	3	91	4	nd		nd		1	35	1	44	1
17	アルジカルブ	78	7	86	3	84	7	79	8	nd		nd		nd		nd		1
18	アルドキシカルブ	94	7	89	14	97	7	98	6	nd		nd		nd		nd		1
19	イオドスルフロメチルナトリウム塩	nd		nd		nd		nd		94	4	91	5	90	3	91	2	2
20	イソキサフルトール	32	22	26	28	34	3	34	13	nd		nd		nd		nd		1
21	イブロジオン	61	34	69	13	7	36	7	70	1	59	nd		nd		nd		1
22	イブロジオン代謝物	104	7	99	8	163	3	168	3	nd		nd		nd		nd		1
23	イマザビック	nd		nd		nd		nd		66	2	67	1	62	5	64	2	2
24	イマザビル	nd		nd		nd		nd		42	10	40	3	51	8	44	4	2
25	イマザモックス	nd		nd		nd		nd		62	4	60	1	62	5	60	1	2
26	イマゼタビル	nd		nd		nd		nd		76	0	77	4	75	4	75	1	2
27	イミダグロプリド	91	6	93	9	97	8	95	4	nd		nd		nd		nd		1
28	インドキサカルブ	95	4	93	6	100	5	103	4	nd		nd		nd		nd		1
29	エタメツルフロメチル	nd		nd		nd		nd		92	2	90	3	87	2	89	4	2
30	エトキシキン	21	39	nd		27	42	18	22	nd		nd		nd		nd		1
31	エトキシスルフロン	nd		nd		nd		nd		108	2	100	6	104	3	104	2	2
32	エマメクチン安息香酸塩B1a	94	3	92	6	98	1	97	3	nd		nd		nd		nd		1
33	エマメクチン安息香酸塩B1b	94	1	97	4	102	4	102	4	nd		nd		nd		nd		1
34	エマメクチンN-メチルホルミルアミノ/B1a	71	11	74	1	88	3	84	4	nd		nd		nd		nd		1
35	エマメクチンN-メチルホルミルアミノ/B1b	84	10	90	4	72	3	81	4	nd		nd		nd		nd		1
36	エマメクチン安息香酸塩B1a 8,9-Z異性体	81	4	87	7	100	6	98	5	nd		nd		nd		nd		1
37	エマメクチンアミノ体B1a	93	8	95	4	99	6	98	4	1	22	1	25	1	5	nd		1
38	エマメクチンアミノ体B1b	94	6	104	5	101	13	111	7	nd		nd		nd		nd		1
39	エマメクチンホルミルアミノ体B1a	101	9	100	7	103	2	107	10	nd		nd		nd		nd		1
40	エマメクチンホルミルアミノ体B1b	102	4	87	13	81	1	83	8	nd		nd		nd		nd		1
41	オキサミル	86	9	89	12	94	7	93	4	nd		nd		nd		nd		1
42	オキシデメトンメチル	84	6	83	3	86	5	88	4	nd		nd		nd		nd		1
43	オトエート	80	8	77	9	84	6	85	7	nd		nd		nd		nd		1
44	カルバリル	92	5	95	5	92	5	95	2	nd		nd		nd		nd		1
45	カルベタミド	93	9	95	10	95	6	101	5	nd		nd		nd		nd		1
46	カルベンダジム	94	5	96	9	95	6	95	6	1	16	1	38	1	29	1	48	1
47	チオファネートメチル	80	1	75	3	98	9	94	5	nd		nd		nd		nd		1
48	3-ヒドロキシカルボフラン	90	5	92	8	94	8	97	5	nd		nd		nd		nd		1
49	キザロホップエチル	88	6	92	1	89	6	93	5	nd		nd		nd		nd		1
50	キザロホップ-P-テフリル	90	6	99	3	92	6	93	4	nd		nd		nd		nd		1
51	キンクロラック	nd		nd		nd		nd		24	15	30	11	52	3	42	5	2
52	クレトジム(異性体1+2)	71	7	73	2	85	5	83	3	11	4	8	24	6	11	4	17	1+2
53	クレトジムスルホン(異性体1+2)	25	8	32	18	30	20	45	9	69	9	68	8	76	9	59	9	1+2
54	クロキントセットメキシル	90	5	90	1	95	4	84	12	nd		nd		nd		nd		1
55	クロジナホップ酸	nd		nd		nd		nd		92	3	91	4	86	2	86	3	2
56	クロジナホッププロバルギル	92	7	87	11	85	7	87	3	nd		nd		nd		nd		1
57	クロチアニジン	91	7	94	6	96	8	95	4	nd		nd		nd		nd		1
58	クロフェンセット	nd		nd		nd		nd		75	4	70	4	70	3	70	2	2
59	クロフェンテジン	82	9	83	2	86	5	87	3	nd		nd		nd		nd		1
60	クロリダゾン	91	5	90	10	95	8	97	7	nd		nd		nd		nd		1

表4 牛筋肉からの添加回収試験結果(続き)

No.	分析対象化合物	回収率(%), n=3																抽出 画分
		第1画分								第2画分								
		Exp.1		Exp.2		Exp.3		Exp.4		Exp.1		Exp.2		Exp.3		Exp.4		
		平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	
61	クロルスルフォン	nd		nd		nd		nd		90	3	87	4	82	3	83	0	2
62	クロルフルアズロン	92	6	92	7	93	8	96	3	nd		nd		nd		nd		1
63	クロクサロン	96	3	95	3	96	3	97	1	nd		nd		nd		nd		1
64	ジウロン	90	8	97	1	100	7	101	5	nd		nd		nd		nd		1
65	シクラニド	nd		nd		nd		nd		88	7	84	6	97	4	94	8	2
66	ジノセブ	nd		nd		nd		nd		78	6	77	4	86	3	86	1	2
67	ジノテフラン	86	6	87	8	86	4	88	6	nd		nd		nd		nd		1
68	ジノテルブ	1	83	1	25	nd		nd		78	7	72	11	81	2	83	4	2
69	ジフルベンズロン	99	3	91	5	94	0	93	4	nd		nd		nd		nd		1
70	シプロジニル	78	5	75	6	81	4	82	5	nd		nd		nd		nd		1
71	ジメチピン	92	22	98	19	86	12	72	5	nd		nd		nd		nd		1
72	ジメエート	89	6	90	10	104	9	100	4	nd		nd		nd		nd		1
73	ジメトモルフ(E)	85	3	95	5	92	4	101	1	nd		nd		nd		nd		1
74	ジメトモルフ(Z)	91	3	95	6	97	2	97	6	nd		nd		nd		nd		1
75	シモキサニル	82	6	91	4	83	8	84	4	nd		nd		nd		nd		1
76	シロマジン	53	11	41	17	44	12	51	10	2	23	2	34	4	20	5	9	1+2
77	スピノシン A	59	10	70	6	92	2	94	5	nd		nd		nd		nd		1
78	スピノシン D	56	8	65	7	83	5	83	5	nd		nd		nd		nd		1
79	スピロジクロフェン	65	5	63	5	67	7	65	3	nd		nd		nd		nd		1
80	スピロメシフェン	77	15	69	3	78	19	85	3	1	8	1	14	nd		10	4	1
81	スルホスルフォン	nd		nd		nd		nd		95	7	90	6	90	7	89	1	2
82	セトキシジム(異性体1+2)	58	4	66	9	70	8	66	2	3	26	2	24	nd		1	17	1+2
83	チアクロプリド	94	5	93	9	101	7	101	7	nd		nd		nd		nd		1
84	チアベンダゾール	91	5	89	8	90	2	87	1	2	22	2	58	1	20	2	43	1
85	5-ヒドロキシチアベンダゾール	52	24	53	16	55	9	54	5	15	9	13	20	23	14	2	74	1+2
86	チアメキサム	99	5	99	7	108	5	109	6	nd		nd		nd		nd		1
87	チジアズロン	nd		nd		nd		nd		95	3	101	3	92	2	91	3	2
88	チフェンスルフォン	nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd		不明
89	テトラコナゾール	102	6	100	7	96	3	96	8	nd		nd		nd		nd		1
90	テブチウロン	91	5	92	8	94	4	95	2	nd		nd		nd		nd		1
91	テブフェノジド	103	2	91	4	97	3	97	4	nd		nd		nd		nd		1
92	テブラロキシジム(異性体1+2)	83	7	87	5	105	4	99	4	12	7	11	29	5	10	4	2	1+2
93	DMP	80	8	83	5	89	7	89	7	nd		nd		nd		nd		1
94	OH-DMP	81	5	81	9	94	6	89	7	nd		nd		nd		nd		1
95	テフルベンズロン	83	10	87	4	91	6	94	11	nd		nd		nd		nd		1
96	トリアスルフォン	nd		nd		nd		nd		95	3	92	5	86	2	91	4	2
97	トリクロピル	nd		nd		nd		nd		71	9	75	7	98	11	90	12	2
98	トリクロルホン	59	21	67	10	54	14	54	5	nd		nd		nd		nd		1
99	トリフルミゾール	74	10	83	1	77	7	78	2	nd		nd		nd		nd		1
100	トリフルミゾール代謝物	93	3	91	4	87	3	89	6	nd		nd		nd		nd		1
101	トリフルロン	97	4	92	8	96	4	95	2	nd		nd		nd		nd		1
102	トリフロキシスルフォンナトリウム塩	nd		nd		nd		nd		100	3	96	6	95	3	98	2	2
103	トリベヌロンメチル	nd		nd		nd		nd		101	3	95	10	223	3	229	2	2
104	トリホリン(異性体1+2)	91	8	99	0	100	4	102	9	nd		nd		nd		nd		1
105	ナフタロホス	63	12	94	18	87	6	99	16	nd		nd		nd		nd		1
106	ノバルロン	85	9	98	0	96	7	99	5	nd		nd		nd		nd		1
107	ノルフルラゾン	93	5	98	1	96	5	97	2	nd		nd		nd		nd		1
108	バルベンダゾール	101	5	98	7	92	4	93	4	nd		nd		nd		nd		1
109	ハロキシホップ	nd		nd		nd		nd		91	5	89	3	96	3	85	2	2
110	ハロスルプロンメチル	nd		nd		nd		nd		95	2	95	6	84	2	86	2	2
111	ピクロラム	nd		nd		nd		nd		2	26	4	26	12	16	9	4	2
112	ピノキサデン	43	3	38	39	40	17	41	36	nd		nd		nd		nd		1
113	ピメトロジン	32	15	26	13	32	9	26	10	37	9	35	13	25	12	35	1	1+2
114	ピリチオバクナトリウム塩	nd		nd		nd		nd		95	4	92	6	91	4	94	2	2
115	ピリデート	3	99	3	54	3	32	2	17	nd		nd		nd		nd		不明
116	ピリデートヒドロキシ体	4	52	1	16	4	4	3	50	100	1	102	2	86	4	94	2	2
117	ピンドン	nd		nd		nd		nd		49	6	45	7	76	4	56	13	2
118	フェノキサプロップエチル	87	6	90	0	90	5	91	3	nd		nd		nd		nd		1
119	フェノキサプロップ	nd		nd		nd		nd		83	3	84	7	20	4	16	29	2
120	CDHB	1	41	2	82	2	79	6	147	87	3	84	7	88	5	95	3	1+2

表4 牛筋肉からの添加回収試験結果(続き)

No.	分析対象化合物	回収率(%), n=3																溶出 画分
		第1画分								第2画分								
		Exp.1		Exp.2		Exp.3		Exp.4		Exp.1		Exp.2		Exp.3		Exp.4		
平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD			
121	フェンアミドン	85	8	97	12	95	3	100	5	nd		nd		nd		1		
122	MPID	100	15	95	0	102	8	94	7	nd		nd		2	59	2	44	1
123	フェンピロキシメート(E)	82	3	82	1	82	5	83	1	nd		nd		nd		nd		1
124	フェンピロキシメート(Z)	84	4	83	3	88	5	84	4	nd		nd		nd		nd		1
125	フェンヘキサミド	7	36	6	35	13	22	2	79	83	2	85	6	81	12	90	4	1+2
126	フェンメディファム	90	8	96	3	91	2	99	4	nd		nd		nd		nd		1
127	ブタフェナシル	102	6	94	2	89	4	92	1	nd		nd		nd		nd		1
128	ブトロキシジム(異性体1+2)	79	6	83	7	94	5	96	1	5	22	4	20	2	16	1	18	1+2
129	フラチオカルブ	74	11	75	8	79	6	77	5	nd		nd		nd		nd		1
130	ブリミスルフロンメチル	nd		nd		nd		nd		95	2	90	5	103	3	104	3	2
131	フルアジホップ	nd		nd		nd		nd		89	5	92	5	94	3	94	2	2
132	フルアジホップブチル	86	2	85	1	85	7	84	6	nd		nd		nd		nd		1
133	フルアズロン	99	3	99	3	96	5	88	15	nd		nd		nd		nd		1
134	フルトリアホール(異性体1+2)	93	7	101	3	91	9	105	7	nd		nd		nd		nd		1
135	フルミオキサジン	89	8	98	6	100	8	98	4	nd		nd		nd		nd		1
136	フルミクロラックベンチル	92	2	97	2	97	2	89	5	nd		nd		nd		nd		1
137	フルメツラム	nd		nd		nd		nd		89	1	91	5	50	6	54	3	2
138	フルメトリン	67	13	59	10	61	9	61	2	nd		nd		nd		nd		1
139	フルロキシビル	nd		nd		nd		nd		74	6	72	3	71	5	75	8	2
140	ブクロラズ	96	3	90	8	95	5	96	1	nd		nd		nd		nd		1
141	2,4,6-トリクロロフェノール	nd		nd		nd		nd		70	19	66	13	62	8	73	17	2
142	プロスルフロン	nd		nd		nd		nd		94	4	93	5	99	1	100	1	2
143	プロディファコウム	nd		nd		nd		nd		86	4	81	11	81	8	81	4	2
144	プロバクロール	52	17	48	22	66	4	65	9	nd		nd		nd		nd		1
145	プロボキシカルバゾン	nd		nd		nd		nd		88	5	83	4	85	5	87	3	2
146	プロボキスル	79	9	82	10	83	2	83	3	nd		nd		nd		nd		1
147	プロマシル	92	6	97	5	100	5	99	6	nd		nd		nd		nd		1
148	プロモキシニル	nd		nd		nd		nd		83	9	87	1	83	5	87	7	2
149	ヘキサジノン	92	6	93	6	97	4	98	1	nd		nd		nd		nd		1
150	ヘキシチアゾクス	74	2	70	1	75	5	73	4	nd		nd		nd		nd		1
151	ベンスルフロンメチル	nd		nd		nd		nd		97	1	95	5	96	4	98	5	2
152	ベンダイオカルブ	85	7	91	3	94	9	95	6	nd		nd		nd		nd		1
153	ベントゾン	nd		nd		nd		nd		84	6	83	5	77	5	87	5	2
154	ベンフラカルブ	nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd		1
155	ホキシム	87	3	92	9	81	11	91	13	nd		nd		nd		nd		1
156	ボスカリド	83	6	97	11	97	4	96	1	nd		nd		nd		nd		1
157	メコブロップ	nd		nd		nd		nd		82	4	76	10	79	6	81	0	2
158	メソスルフロンメチル	nd		nd		nd		nd		96	4	93	5	95	5	99	3	2
159	チオジカルブ	10	69	9	84	28	31	18	61	nd		nd		nd		nd		1
160	メタクリホス	69	1	62	0	65	7	64	8	nd		nd		nd		nd		1
161	メタラキシル	90	5	90	7	95	5	96	3	nd		nd		nd		nd		1
162	メトキシフェノジド	95	1	103	10	94	1	95	5	nd		nd		nd		nd		1
163	メスラム	nd		nd		nd		nd		95	4	95	1	78	4	79	2	2
164	メスルフロンメチル	nd		nd		nd		nd		76	3	78	2	85	8	86	2	2
165	メトリブジン	89	6	90	10	82	7	83	1	nd		nd		nd		nd		1
166	メトリブジンDA	nd		nd		nd		nd		104	4	102	6	92	4	94	3	2
167	メトリブジンDK	分解		分解		95	8	73	27	分解		分解		分解		nd		1+2
168	メトリブジンDADK	nd		nd		4	57	5	74	94	5	90	6	82	6	86	9	1+2
169	メビンホス(E)	68	10	64	10	80	7	80	6	nd		nd		nd		nd		1
170	メビンホス(Z)	82	11	83	17	81	8	88	7	nd		nd		nd		nd		1
171	モノリニユロン	80	8	84	4	87	6	88	3	nd		nd		nd		nd		1
172	リニユロン	87	3	90	5	98	15	90	10	nd		nd		nd		nd		1
173	ルフェヌロン	94	6	98	2	91	9	85	11	nd		nd		nd		nd		1
174	ワルファリン	nd		nd		nd		nd		95	3	95	4	83	3	84	1	2
175	N-(2-エチルヘキシル)-8,9,10-トリノルボルン-5- エン-2,3-ジカルボキシイミド(異性体1+2)	69	5	67	2	76	5	72	10	nd		nd		nd		nd		1
176	2,4,5-T	nd		nd		nd		nd		85	12	79	9	79	1	86	3	2
177	カブタホール	nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd		1
178	エテホン	nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd		不明
179	カルボスルファン	nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd		nd		1

RSD: relative standard deviation, nd: not detected.

表5 牛肝臓からの添加回収試験結果

No.	分析対象化合物	回収率(%), n=3																溶出 画分
		第1画分								第2画分								
		Exp.1		Exp.2		Exp.3		Exp.4		Exp.1		Exp.2		Exp.3		Exp.4		
平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD			
1	2,4-D	nd		nd		nd		nd		81	9	76	5	90	1	78	5	2
2	2,4-DB	nd		nd		nd		nd		80	9	82	10	99	9	110	8	2
3	4-CPA	nd		nd		nd		nd		66	8	55	10	72	6	51	7	2
4	EPTC	42	7	43	4	35	18	41	11	nd		nd		nd		nd		1
5	MCPA	nd		nd		nd		nd		71	6	67	8	90	4	79	3	2
6	MCPB	nd		nd		nd		nd		77	3	75	9	79	11	80	11	2
7	アザメチホス	12	47	6	67	2	27	2	23	nd		nd		nd		nd		1
8	アシフルオルフェン	nd		nd		nd		nd		94	3	86	8	95	5	101	7	2
9	アセタミプリド	99	3	95	4	88	3	94	2	nd		nd		4	36	2	77	1
10	アセフェート	66	4	67	7	53	7	58	4	1	14	nd		5	35	3	61	1
11	アゾキシストロビン	97	1	94	1	93	1	96	3	nd		nd		1	26	nd		1
12	アベルメクチンB1a	96	5	98	6	101	9	100	1	nd		nd		nd		nd		1
13	アベルメクチンB1b	71	12	77	5	66	6	101	4	nd		nd		nd		nd		1
14	アベルメクチン8,9-Z異性体B1a	81	6	84	7	86	7	101	2	nd		nd		nd		nd		1
15	アミトラズ	12	89	10	33	7	15	18	40	nd		nd		nd		nd		1
16	アミトラズ代謝物	95	3	89	7	88	2	93	5	2	30	2	26	14	9	10	43	1
17	アルジカルブ	89	9	84	7	70	5	79	5	nd		nd		2	24	nd		1
18	アルドキシカルブ	96	7	96	8	88	4	94	8	nd		nd		3	42	2	89	1
19	イオドスルフロメチルナトリウム塩	nd		nd		nd		nd		89	6	86	2	93	2	90	2	2
20	イソキサフルトール	30	20	29	12	19	39	20	39	nd		nd		nd		nd		1
21	イプロジオン	29	17	43	12	16	19	15	8	nd		nd		nd		nd		1
22	イプロジオン代謝物	128	10	169	8	155	6	172	5	nd		nd		nd		nd		1
23	イマザピック	nd		nd		nd		nd		72	5	63	2	72	4	54	7	2
24	イマザピル	nd		nd		nd		nd		36	8	29	2	44	4	22	13	2
25	イマザモックス	nd		nd		nd		nd		63	6	53	2	64	5	44	8	2
26	イマゼタピル	nd		nd		nd		nd		84	7	79	4	80	4	75	1	2
27	イミダグロプリド	95	4	101	6	87	1	92	3	nd		nd		4	43	2	74	1
28	インドキサカルブ	84	3	91	8	97	2	95	6	nd		nd		nd		nd		1
29	エタメツルフロメチル	nd		nd		nd		nd		87	5	86	4	93	1	94	2	2
30	エトキシキン	72	12	28	21	49	5	31	33	nd		nd		3	16	nd		1
31	エトキシスルフロ	nd		nd		nd		nd		104	5	101	5	95	3	97	3	2
32	エマメクチン安息香酸塩B1a	96	2	93	1	81	8	88	9	1	33	1	38	8	8	2	34	1
33	エマメクチン安息香酸塩B1b	74	6	92	5	82	6	92	1	1	43	1	43	12	12	2	59	1
34	エマメクチンN-メチルホルミルアミノ/B1a	90	1	89	1	81	3	79	1	nd		nd		nd		nd		1
35	エマメクチンN-メチルホルミルアミノ/B1b	89	3	85	11	78	6	97	13	nd		nd		nd		nd		1
36	エマメクチン安息香酸塩B1a 8,9-Z異性体	94	1	91	3	83	2	83	5	1	27	1	25	8	14	2	21	1
37	エマメクチンアミノ体B1a	79	7	90	4	91	8	104	3	3	20	3	17	13	14	4	24	1
38	エマメクチンアミノ体B1b	87	8	95	3	80	4	93	0	1	76	2	52	16	15	4	52	1
39	エマメクチンホルミルアミノ体B1a	92	1	93	9	77	7	82	6	nd		nd		nd		nd		1
40	エマメクチンホルミルアミノ体B1b	88	5	84	5	77	17	116	0	nd		nd		nd		nd		1
41	オキサミル	73	14	64	10	54	12	55	7	nd		nd		4		nd		1
42	オキシデメトンメチル	85	6	81	5	73	2	77	2	nd		nd		4	31	2	62	1
43	オメトエート	85	4	79	3	72	3	78	9	nd		nd		1	37	1	63	1
44	カルバリル	83	4	86	7	89	1	90	12	nd		nd		nd		nd		1
45	カルベタミド	105	5	100	4	90	4	99	7	nd		nd		4	25	1	72	1
46	カルベンダジム	102	5	98	6	82	5	92	6	1	32	2	10	12	12	5	50	1
47	チオファネートメチル	96	1	89	7	91	0	94	6	nd		nd		nd		nd		1
48	3-ヒドロキシカルボフラン	90	7	87	4	90	1	93	4	nd		nd		2	39	1	69	1
49	キザロホップエチル	27	13	32	14	36	6	36	6	nd		nd		nd		nd		1
50	キザロホップ-P-テフリル	5	73	4	45	5	4	5	8	nd		nd		nd		nd		1
51	キンクロラック	nd		nd		nd		nd		48	10	38	4	56	6	37	9	2
52	クレトジム(異性体1+2)	86	7	84	9	83	3	92	5	18	7	18	8	10	19	10	22	1+2
53	クレトジムスルホン(異性体1+2)	49	12	38	6	27	8	23	9	53	0	58	6	75	7	80	5	1+2
54	クロキントセットメキシル	18	37	32	17	31	6	34	2	nd		nd		nd		nd		1
55	クロジナホップ酸	nd		nd		nd		nd		125	9	122	6	126	5	127	3	2
56	クロジナホッププロパルギル	3	51	4	59	2	18	3	25	nd		nd		nd		nd		1
57	クロチアニジン	95	2	103	5	85	6	92	1	nd		nd		4	28	3	70	1
58	クロフェンセット	nd		nd		nd		nd		70	6	65	1	76	3	66	4	2
59	クロフェンテジン	86	14	87	3	68	2	75	10	nd		nd		nd		nd		1
60	クロリダゾン	102	6	101	5	87	2	99	6	nd		nd		5	37	2	76	1

表5 牛肝臓からの添加回収試験結果(続き)

No.	分析対象化合物	回収率(%), n=3																溶出 画分
		第1画分								第2画分								
		Exp.1		Exp.2		Exp.3		Exp.4		Exp.1		Exp.2		Exp.3		Exp.4		
平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD			
61	クロルスルフロ	nd		nd		nd		nd		89	10	86	4	85	5	88	5	2
62	クロルフルアズロン	92	8	91	5	91	2	91	6	nd		nd		nd		nd		1
63	クロロクソロン	89	5	97	6	95	13	86	6	nd		nd		1	25	nd		1
64	ジウロン	106	4	98	3	94	5	101	8	nd		nd		2	45	1	63	1
65	シクラニリド	nd		nd		nd		nd		90	2	87	5	84	3	86	1	2
66	ジノセブ	nd		nd		nd		nd		89	5	86	4	84	2	86	2	2
67	ジノテフラン	91	3	86	2	79	1	87	4	nd		1	29	6	32	4	95	1
68	ジノテルブ	nd		nd		nd		nd		84	1	80	3	78	2	78	2	2
69	ジフルベンスズロン	92	2	99	5	92	1	93	5	nd		nd		nd		nd		1
70	シプロジニル	78	4	81	7	77	2	88	9	nd		nd		2	51	nd		1
71	ジメチピン	98	12	98	2	91	11	95	9	nd		nd		nd		nd		1
72	ジメトエート	90	4	88	5	85	4	89	2	nd		nd		2	35	1	66	1
73	ジメトモルファ(E)	95	2	95	4	93	1	97	2	nd		nd		2	28	nd		1
74	ジメトモルファ(Z)	98	5	92	5	98	3	95	9	nd		nd		1	20	nd		1
75	シモキサニル	78	7	79	9	71	3	77	8	nd		nd		nd		nd		1
76	シロマジン	57	7	57	5	18	1	33	5	14	7	12	11	18	13	18	32	1+2
77	スピノシン A	86	4	86	1	79	2	87	5	nd		nd		3	11	1	34	1
78	スピノシン D	75	1	75	2	73	1	81	3	nd		nd		2	2	nd		1
79	スピロジクロフェン	56	19	67	13	63	2	68	14	nd		nd		nd		nd		1
80	スピロメシフェン	61	16	76	10	64	1	70	1	nd		nd		1	9	1	16	1
81	スルホスルフロ	nd		nd		nd		nd		91	10	87	5	88	5	93	5	2
82	セトキシジム(異性体1+2)	82	1	79	5	78	3	81	5	2	54	3	9	2	23	2	28	1+2
83	チアクトプロリド	82	2	89	9	90	5	96	4	nd		nd		4	24	2	67	1
84	チアベンダゾール	96	1	95	7	74	1	82	1	2	54	3	15	13	8	8	66	1
85	5-ヒドロキシチアベンダゾール	64	8	65	6	28	5	38	7	30	6	31	12	53	6	50	6	1+2
86	チアメキサム	97	7	95	4	89	4	94	5	nd		nd		6	32	3	81	1
87	チジアズロン	nd		nd		nd		nd		93	8	91	5	98	2	99	2	2
88	チフェンスルフロ	nd		nd		nd		nd		1	34	nd		4	8	nd		不明
89	テトラコナゾール	93	6	96	5	95	0	99	4	nd		nd		nd		nd		1
90	テブチウロン	91	2	95	3	88	3	94	6	nd		nd		3	33	1	60	1
91	テブフェノジド	88	3	90	0	92	3	95	6	nd		nd		1	4	nd		1
92	テブラロキシジム(異性体1+2)	96	3	90	1	94	5	96	6	8	15	9	9	6	11	7	21	1+2
93	DMP	19	52	17	22	5	4	5	7	nd		nd		nd		nd		1
94	OH-DMP	83	5	85	7	78	2	86	7	nd		nd		4	42	1	106	1
95	テフルベンスズロン	64	1	100	9	94	0	93	3	nd		nd		nd		nd		1
96	トリアスルフロ	nd		nd		nd		nd		89	4	86	5	90	5	92	1	2
97	トリクロビル	nd		nd		nd		nd		82	17	81	6	87	6	84	14	2
98	トリクロルホン	68	4	71	10	39	6	42	11	nd		nd		nd		nd		1
99	トリファルミゾール	61	7	79	7	78	9	80	6	nd		nd		nd		nd		1
100	トリファルミゾール代謝物	83	3	95	4	81	4	84	4	nd		nd		5	29	1	55	1
101	トリファルムロン	90	4	91	7	90	6	96	4	nd		nd		nd		nd		1
102	トリプロキシスルフロ	nd		nd		nd		nd		94	5	92	1	98	2	98	1	2
103	トリベヌロンメチル	nd		nd		nd		nd		134	7	130	5	171	4	179	2	2
104	トリホリン(異性体1+2)	98	4	98	2	89	1	94	10	nd		nd		5	26	1	45	1
105	ナフタロホス	20	46	17	27	6	3	6	4	nd		nd		nd		nd		1
106	ノバルロン	78	3	94	5	93	3	95	2	nd		nd		nd		nd		1
107	ノルフルラゾン	93	9	95	4	93	4	98	9	nd		nd		3	18	1	58	1
108	バルベンダゾール	94	5	97	8	86	0	96	7	nd		nd		4	26	1	30	1
109	ハロキシホップ	nd		nd		nd		nd		93	3	88	3	91	4	95	3	2
110	ハロスルフロ	nd		nd		nd		nd		91	3	88	3	90	3	92	1	2
111	ピクロラム	nd		nd		nd		nd		9	10	7	3	13	4	7	14	2
112	ピノキサデン	13	89	11	60	17	54	16	46	nd		nd		nd		nd		1
113	ピメトロジン	47	4	31	16	17	2	20	20	36	8	42	3	34	5	43	6	1+2
114	ピリチオバックナトリウム塩	nd		nd		nd		nd		86	8	82	9	90	2	88	1	2
115	ピリデート	3	49	2	20	1	1	1	47	nd		nd		nd		nd		不明
116	ピリデートヒドロキシ体	1	16	0.9	44	1	69	nd		109	9	109	7	108	5	112	6	2
117	ピンドン	nd		nd		nd		nd		77	6	72	6	75	7	77	2	2
118	フェノキサプロップエチル	25	18	29	10	29	2	30	4	nd		nd		nd		nd		1
119	フェノキサプロップ	nd		nd		nd		nd		67	14	58	9	67	9	60	3	2
120	CDHB	46	9	35	11	17	33	15	15	53	8	66	2	73	1	75	8	1+2

表5 牛肝臓からの添加回収試験結果(続き)

No.	分析対象化合物	回収率(%), n=3																溶出 画分
		第1画分								第2画分								
		Exp.1		Exp.2		Exp.3		Exp.4		Exp.1		Exp.2		Exp.3		Exp.4		
平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD	平均	RSD			
121	フェンアミドン	99	1	97	3	92	2	97	1	nd	nd	2	36	nd	1			
122	MPID	78	11	74	6	87	8	84	3	nd	nd	6	31	5	35	1		
123	フェンピロキシメート(E)	83	7	84	2	86	5	81	3	nd	nd	nd	nd	nd	1			
124	フェンピロキシメート(Z)	53	8	86	1	89	1	90	0	nd	nd	nd	nd	nd	1			
125	フェンヘキサミド	36	6	27	14	9	7	7	29	58	3	64	5	74	6	80	3	1+2
126	フェンメディファム	91	4	92	2	84	3	88	8	nd	nd	nd	nd	nd	1			
127	ブタフェナシル	77	6	70	4	67	3	66	3	nd	nd	nd	nd	nd	1			
128	プトロキシジム(異性体1+2)	97	4	98	1	103	2	103	1	3	25	3	14	2	16	3	26	1+2
129	フラチオカルブ	3	119	2	63	3	79	3	63	nd	nd	nd	nd	nd	1			
130	ブリミスルフロメチル	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	113	5	108	3	99	3	97	2	2
131	フルアジホップ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	134	10	131	5	135	2	135	1	2
132	フルアジホップブチル	5	52	7	41	10	10	10	8	nd	nd	nd	nd	nd	1			
133	フルアズロン	68	7	99	7	93	5	100	3	nd	nd	nd	nd	nd	1			
134	フルトリアホール(異性体1+2)	95	4	95	7	91	1	98	5	nd	nd	3	40	1	57	1		
135	フルミオキサジン	93	5	102	5	96	9	100	11	nd	nd	2	78	1	39	1		
136	フルミクロラックベンチル	7	49	8	30	14	19	14	12	nd	nd	nd	nd	nd	1			
137	フルメツラム	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	63	4	63	3	46	9	43	5	2
138	フルメトリン	73	10	72	8	75	9	74	7	nd	nd	nd	nd	nd	1			
139	フルロキシビル	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	74	2	63	2	72	7	61	6	2
140	ブクロラズ	85	9	94	3	88	7	94	9	nd	nd	3	36	nd	1			
141	2,4,6-トリクロロフェノール	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	65	9	60	7	93	6	96	3	2
142	ブロスルフロン	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	103	5	97	2	98	1	104	2	2
143	ブロディファコウム	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	66	14	61	8	64	3	63	6	2
144	ブロバクロール	10	86	8	32	1	6	1	2	nd	nd	nd	nd	nd	1			
145	ブロボキシカルバゾン	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	84	4	80	3	88	2	85	2	2
146	ブロボキシル	86	2	86	3	77	3	82	7	nd	nd	1	55	nd	1			
147	ブロマシル	88	3	93	6	95	2	99	4	nd	nd	1	26	nd	1			
148	ブロモキシニル	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	86	9	81	9	72	2	73	4	2
149	ヘキサジン	100	0.4	99	6	88	2	94	3	nd	nd	4	32	1	62	1		
150	ヘキシチアゾクス	55	5	88	3	81	4	83	4	nd	nd	nd	nd	nd	1			
151	ベンスルフロメチル	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	92	3	92	3	93	3	95	2	2
152	ベンダイオカルブ	91	4	90	7	79	3	87	7	nd	nd	nd	nd	nd	1			
153	ペンタゾン	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	77	3	75	5	78	8	79	8	2
154	ベンフラカルブ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1			
155	ホキシム	84	8	91	1	84	7	97	7	nd	nd	nd	nd	nd	1			
156	ボスカリド	111	2	105	6	95	2	98	1	nd	nd	1	37	nd	1			
157	メコプロップ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	81	4	82	12	95	2	95	3	2
158	メソスルフロメチル	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	94	6	92	4	97	3	97	2	2
159	チオジカルブ	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1			
160	メタグリホス	64	8	64	10	61	7	65	4	nd	nd	nd	nd	nd	1			
161	メタラキシル	91	1	94	3	91	3	95	7	nd	nd	2	37	nd	1			
162	メキシフェノジド	97	1	98	3	95	4	101	4	nd	nd	1	36	nd	1			
163	メスラム	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	94	2	88	1	86	3	85	2	2
164	メスルフロメチル	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	88	5	79	4	86	5	82	4	2
165	メトリブジン	101	3	98	6	86	1	93	5	nd	nd	nd	nd	nd	1			
166	メトリブジンDA	3	85	nd	nd	nd	nd	nd	nd	100	4	99	1	102	3	101	1	2
167	メトリブジンDK	484	103	167	25	44	24	47	49	nd	nd	24	27	19	12	1+2		
168	メトリブジンDADK	25	5	21	5	11	29	9	9	61	3	62	6	83	11	84	7	1+2
169	メビンホス(E)	35	10	42	1	34	10	37	9	nd	nd	nd	nd	nd	1			
170	メビンホス(Z)	49	4	56	4	59	10	63	6	nd	nd	nd	nd	nd	1			
171	モノリニユロン	74	10	80	7	76	4	84	10	nd	nd	1	23	nd	1			
172	リニユロン	97	1	91	5	91	1	95	2	nd	nd	nd	nd	nd	1			
173	ルフエヌロン	60	1	99	6	94	1	97	2	nd	nd	nd	nd	nd	1			
174	ワルファリン	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	87	4	84	5	85	3	88	2	2
175	N-(2-エチルヘキシル)-8,9,10-トリノルボルン-5- エン-2,3-ジカルボキシイミド(異性体1+2)	68	2	75	4	77	6	76	7	nd	nd	nd	nd	nd	1			
176	2,4,5-T	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	90	10	83	4	93	1	83	9	2
177	カプタホール	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1			
178	エテホン	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	不明			
179	カルボスルファン	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	1			

RSD: relative standard deviation, nd: not detected.

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

11. 平成 20 年度分担研究報告書

食品中に残留する農薬等におけるリスク管理手法の精密化に関する研究：

2. 一律基準適用畜水産食品中残留農薬分析法の開発

2.1 QuEChERS 法の検討

分担研究者 飯島和昭
(財団法人 残留農薬研究所)

厚生労働省科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)

II. 平成 20 年度分担研究報告書

食品中に残留する農薬等のリスク管理手法の精密化に関する研究:

2 一律基準適用畜水産食品中残留農薬分析法の開発

2.1 QuChERS 法の検討

分担研究者 飯島和昭 財団法人 残留農薬研究所 化学部残留第 1 研究室長

研究要旨

畜水産食品に残留基準の設定されていない約 200 種農薬成分の内、前年度までの検討において GC-MS あるいは LC-MS による一斉分析法（厚生労働省通知一斉試験法及び新規一斉試験法案）の適用が困難と判断した 40 成分について、QuChERS 法の一部改良法の適用性を評価した。当該改良法には、高脂質試料からの分析対象成分の抽出効率に配慮した *n*-ヘキサン共存下での抽出条件を適用した他、マトリックス調製標準溶液と PTV 注入法を適用した GC-MS 測定、及び高感度・分解能である LC-MS/MS 測定を適用した。10 種畜水産物試料（牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛の腎臓、うなぎ、さけ、えび、牛乳、鶏卵、はちみつ）を用いた妥当性評価において、QuChERS 法の一部改良法の適用が可能と判断した分析対象数は 12 成分であった。その内、アリドクロール、シアナジン、スルフェントラゾン、デメトン-*S*-メチル及びピロキロンは GC-MS 及び LC-MS/MS の両測定で適用が可能、イソキサチオン、ドジン、フルアジナム、プロパモカルブ、ベンゾピシクロン及びメタアルデヒドの 6 成分は LC-MS/MS 測定のみで適用可能、ジクロベニルについては GC-MS 測定のみで適用可能と評価した。

研究協力者

藤田真弘 残留農薬研究所化学部残留
第 1 研究室
矢島智成 残留農薬研究所化学部残留
第 1 研究室
生稲直美 残留農薬研究所化学部残留
第 1 研究室

測定で検討した 130 種農薬成分（3 種異性体を含む）については、厚生労働省通知一斉試験法により 76 成分（牛乳、鶏卵及びはちみつのみで適用可能な 4 成分を除く）の分析が可能と判断した。また、同様に LC-MS 測定を検討した 120 種農薬成分については、*n*-ヘキサン共存下アセトニトリルで抽出する新規一斉試験法案により 64 成分の分析が可能と判断した。

A. 研究目的

畜水産食品に残留基準の設定されていない約 200 種農薬成分の分析法を開発する一環として、平成 18～19 年度は厚生労働省通知一斉試験法¹⁾及び新規一斉試験法案²⁾の適用を検討してきた。その結果、GC-MS

本年度は、前年度までに GC-MS 及び LC-MS による各一斉試験法の適用が困難と評価した分析対象 40 成分について、精製工程での損失防止効果等を期待し、濃縮工程を伴わず迅速性に優れた

QuEChERS 法^{3,4)}の適用を試みた。

B. 研究方法

1. 検討概要

はじめに、QuEChERS 法を畜水産物分析に最適化するため、抽出時に脂肪分を可溶化させる *n*-ヘキサン混和法、ならびに抽出液中の脂肪分を除去する凍結沈殿法⁵⁾の有用性を、脂肪及び牛乳試料を用いて検討した。そして、予備検討結果に基づいて QuEChERS 法を畜水産物試料用に最適化し、その改良法について妥当性評価ガイドライン⁶⁾に準じて、各分析対象成分の 10 種畜水産物試料における適用性を評価した。

本年度は、全ての分析対象成分について、GC・MS ならびに LC・MS/MS の両測定法について検討した。その際、GC・MS 測定については、前年度の研究成果である改良測定法（マトリックス調製標準溶液による検量線、及び PTV（温度プログラム気化注入法））を適用した。また、LC・MS 測定では、濃縮工程の省略に伴う検出感度の補完、及び精製工程の簡略化に伴う夾雑成分の影響回避を意図して、高感度で選択性の高い測定が可能な LC・MS/MS を使用した。

2. 分析対象成分

昨年度までの検討結果に基づき、次の条件により選別した 43 成分を検討対象成分とした（表 1 参照）。この内、アザフェニジン、アミノエトキシビニルグリシン及びラクトフェンの 4 種農薬成分は標準品が入手出来なかったため、本研究における分析対象は 40 成分とした。なお、残留分析に関する既存情報や物理的・化学的性質などから、一斉分析法の適用が明らかに困難と想

定された成分は分析対象成分から除外した。

a. 通知一斉試験法または新規一斉試験法案の適用が困難と判断した成分。

b. GC・MS 測定の適用を想定して LC・MS 測定では未検証の成分、逆に、LC・MS 測定の適用を想定して GC・MS 測定では未検証の成分、

c. 異なる精製工程の適用で、一斉分析が可能となることが期待される成分（濃縮時での損失が疑われる成分など）。

d. LC・MS/MS の適用により、一斉分析が可能となることが期待される成分（マトリックス効果が大きく認められていた成分など）。

3. 農薬標準品

検討対象とした 43 種農薬成分の標準品入手先、及びその純度または溶液濃度は別表 1 にまとめた。

4. 分析対象試料

分析対象試料は、妥当性評価ガイドライン⁶⁾に準じて、市販の牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛の腎臓、うなぎ、さけ、えび、牛乳、鶏卵、はちみつの 10 種畜水産物試料とした（以降の記載は、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓と略記する）。各分析対象試料は、別表 2 に従い前処理して分析法の検討及び妥当性評価実験に供した。

5. 試薬

一般試薬及び有機溶媒は特級品、残留農薬試験用またはそれに準ずる等級のものを使用した。水は、日本ミリポア・リミテッド製の Milli-Q 純水製造装置で調製した高純度水を用いた。

n-アルカン標準溶液は林純薬工業製の環境分析用試薬 (C₇~C₁₄, C₁₆~C₂₉: 100 mg/L, C₁₅, C₃₀~C₃₃: 200 mg/L, *n*-ヘキサン溶液) を, エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル粉末 (以降, PSA 粉末と略) は Varian 製の Bondesil-PSA 40 μm を, メンブランフィルターは Millipore 製の Millex-LG を使用した。

6. 装置

電子天秤: AG245 型, PG4002-S 型他 (メトラー・トレド製)。ミンサー: EH-8802 (トレーディングセンター製)。ミキサー: MX-V100 (パナソニック製)。ホモジナイザー: ポリトロン (Kinematica 製)。遠心分離機: KUBOTA 7930 (株式会社久保田製作所製)。LC-MS/MS システム (Waters 製, 2695 高速液体クロマトグラフ, Quattro Premier XE タンデム四重極質量分析計, MassLynx 4.1 ワークステーション)。PTV-GC-MSD システム (Agilent Technologies 製, 6890N ガスクロマトグラフ, 5973 inert 四重極型質量分析計, ChemStation ワークステーション及び ATAS GL 製, Focus オートインジェクター, Optic 3 試料導入装置)。

7. 標準溶液の調製

各標準品 50 mg 相当量を, それぞれ別々の 50 mL 容のメスフラスコに量り取り, アセトンに溶解して定容とし, 1000 mg/L の各標準原液を調製した (溶液として入手した標準品を除く, 別表 1 参照)。これらの標準原液の一定量を 50 mL 容のメスフラスコにはかり取り, アセトンで希釈して

各分析対象成分 10 mg/L 濃度の混合標準溶液を調製した。

8. 分析操作

分析操作は, S.J. Lehotay らの報告^{3, 4)}を参考にし, QuEChERS 法の改良法を用いた。分析操作全体の概要を付図 1 に示す。分析操作の詳細を以降に記す。

8.1. 添加回収用試料の調製

第 7 項で調製した混合標準溶液をアセトンで希釈して, 低濃度添加用の 0.2 mg/L 混合溶液を調製した。均質化した試料 10.0 g をフッ化エチレンプロピレン製の遠沈管にはかり取った。10 及び 0.2 mg/L 濃度の混合標準溶液 0.5 mL を添加して 30 分間放置し, 添加濃度 0.5 及び 0.01 mg/kg の添加回収用試料を調製した。

8.2. 抽出

試料 10.0 g にアセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 5 mL を加え, よく混ぜた後, *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 10 mL を加え, ホモジナイズした。硫酸マグネシウム 4 g 及び塩化ナトリウム 1 g を加え, 1 分間手で激しく振とうした後, 1400 × g (3000 rpm) で 1 分間遠心分離した。

8.3. Dispersive SPE 精製

n-ヘキサン層を除去した後, アセトニトリル層 5 mL を分取し, PSA 粉末 0.1 g 及び硫酸マグネシウム 0.6g を加え, 1 分間激しく振とうした後, 1400 × g で 1 分間遠心分離した。得られた上澄液をメンブランフィルターに通過させ試験溶液とした。その際, 0.5 mg/kg 添加試料は, アセトニトリルで 5 倍希釈し, 試験溶液とした。

8.4. LC-MS/MS の操作条件

8.4.1. 高速液体クロマトグラフ

カラム：XTerra MS C18 3.5 μm (2.1 mm i.d. \times 150 mm, Waters 製)。移動相：水/メタノール/200 mmol/L 酢酸エチル (825:150:25 - 1 min - 575:400:25(2.5 min) - 2.5 min - 475:500:25 - 2 min - 425:550:25 - 9.5 min - 25:950:25(12.5 min), v/v/v)。流速：0.2 mL/min。カラム温度：40 $^{\circ}\text{C}$ 。注入量：5 μL 。

8.4.2. 質量分析計

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)，コーンガス流量：50 L/h (N_2)，脱溶媒ガス流量：800 L/h (N_2)，脱溶媒ガス温度：350 $^{\circ}\text{C}$ ，ソースブロック温度：120 $^{\circ}\text{C}$ ，キャピラリー電圧：3.5 kV，コーン電圧：30 V，コリジョン電圧：15 V，コリジョンガス：アルゴン，イオン検出法：MRM 法 (各農薬成分のモニタリングイオン，コーン電圧及びコリジョン電圧は表 1 を参照)

8.5. GC-MS の操作条件

8.5.1. PTV 注入/ガスクロマトグラフ

本研究において使用した PTV-GC-MS 測定装置の主要なパラメータである注入口温度，GC オープン温度，スプリット (排気) 流量及びキャリアーガス流量のプログラム条件を図 9 に示す。

プレカラム：不活性化処理フェーズドシリカカラム，30 \cdot cm \times 0.53 \cdot mm i.d. (GLサイエンス製)。カラム：HP-5ms (Agilent Technologies 製)，内径 0.25 mm，長さ 30 m，膜厚 0.25 μm 。カラム昇温条件：70 $^{\circ}\text{C}$ (1.5 min) - 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ - 300 $^{\circ}\text{C}$ (5 min)。注入方式：アトカラム注入法 (溶媒排気時間 1.5 min)。注入量 (別表 3 参照)：2 μL (1 μL + 1 μL)。注入口温度：66 $^{\circ}\text{C}$ (1.5 min) - 5 $^{\circ}\text{C}/\text{sec}$ - 250 $^{\circ}\text{C}$ 。キャリアー：高純度ヘリウム，1 mL/min 定流量。

8.5.2. 質量分析計

イオン化方式：電子衝撃法 (EI)。加速電圧：70 eV。インターフェース温度：300 $^{\circ}\text{C}$ 。イオン源温度：230 $^{\circ}\text{C}$ 。SCAN 測定時の走査範囲：50~550 amu。定量測定モード：選択イオン検出法 (SIM，各農薬成分の定量及び参照用のモニタリングイオンは表 2 を参照)

8.6. 検量線の作成

混合標準溶液を，アセトニトリルで希釈して各分析成分濃度が 0.005，0.01，0.05，0.1 及び 0.2 mg/L の検量線用の混合標準溶液を調製した。その混合標準溶液を第 8.4 及び 8.5 項の操作条件の LC-MS/MS 及び GC-MS に注入し，各分析対象成分の定量イオンの MRM 及び SIM クロマトグラムを解析してピーク面積値を求めた。なお，GC-MS におけるマトリックス添加標準溶液は，オートインジェクターによりブランク試料溶液及び前述の溶媒調製標準溶液を 1 μL ずつ連続注入して GC 注入口内で混合して調製した (別表 3 参照)。各分析対象成分の重量を横軸に，同ピーク面積値を縦軸にとり，絶対検量線法により各検量線を作成した。検量線は全濃度域 (LC; 0.025~1 ng, GC; 0.005~0.2 ng) と低濃度域 (LC; 0.025~0.25 ng, GC; 0.005~0.05 ng) の 2 パターンで作成した。

8.7. 回収率の算出

試料溶液を，前述の操作条件の LC-MS/MS 及び GC-MS に注入して，ピーク面積を測定し，各農薬成分の添加濃度に対する回収率を算出した。なお，ブランク試料において妨害ピークが確認された場合には，その値を差し引いて回収率を算出した。

9. LC-MS/MS 測定

9.1. マススペクトルの確認

分析対象の 40 成分の個別標準溶液 (10 mg/L) を調製し、第 8.4 項の操作条件の LC-MS/MS に注入して、SCAN 測定により各分析対象成分のプリカーサーイオン、プロダクトイオン、コーン電圧及びコロジオン電圧を決定した。

9.2. 定量測定時の注入順序

各試験溶液は、ブランク試料 (BL)、検量線用標準溶液 (STD)、添加回収試料 (R_h: 高濃度添加, R_l: 低濃度添加) 及びマトリックス添加標準溶液 (マトリックス STD) を次の順序で注入した。

注入順序: BL-1 → STD-0.005 → STD-0.01 → STD-0.05 → STD-0.1 → STD-0.2 → R_h-1 → R_h-2 → R_h-3 → R_h-4 → R_h-5 → R_l-1 → R_l-2 → R_l-3 → R_l-4 → R_l-5 → BL-2 → マトリックス・STD → STD-0.005 → STD-0.01 → STD-0.05 → STD-0.1 → STD-0.2

9.3. ブランク試料

各ブランク試料は、BL-1 を LC-MS/MS 装置を安定させるための起爆注入用、BL-2 を定量限界評価用とした。

9.4. マトリックス効果の算出

0.01 mg/L 濃度のマトリックス添加標準溶液 (マトリックス・STD) の測定値と、同濃度の溶媒調製標準溶液の測定値 (STD-0.01) との比を求めた。

10. GC-MS 測定

10.1. マススペクトルの確認

分析対象の 40 成分の個別標準溶液 (10

mg/L) を調製し、第 8.5 項の操作条件の GC-MS に注入して、SCAN 測定により各分析対象成分のマススペクトルを得た。そして、GC-MS 測定装置付属プログラムによるライブラリ検索を行なった。

10.2. 定量測定時の注入順序

各試験溶液は、ブランク試料 (BL)、検量線用マトリックス添加標準溶液 (STD) 及び添加回収試料 (R_h: 高濃度添加, R_l: 低濃度添加) を、次の順序で注入した。また、同時にマトリックス効果検証用の溶媒調製標準溶液 (溶媒調製・STD) 及びマトリックス添加標準溶液 (マトリックス・STD) も測定した。

注入順序: BL-1 → BL-2 → BL-3 → STD-0.005 → R_h-1 → STD-0.01 → R_h-2 → STD-0.05 → R_h-3 → STD-0.1 → R_h-4 → STD-0.2 → R_h-5 → マトリックス・STD-a → 溶媒調製・STD-0.01 → STD-0.005 → R_l-1 → STD-0.01 → R_l-2 → STD-0.05 → R_l-3 → STD-0.1 → R_l-4 → STD-0.2 → R_l-5

10.3. ブランク試料

各ブランク試料は、BL-1 を GC-MS 装置を安定させるための起爆注入用、BL-2 は SCAN 測定によるバックグラウンド解析用、そして BL-3 を定量限界評価用とした。

10.4. マトリックス効果の算出

0.01 mg/L 濃度のマトリックス添加標準溶液 (マトリックス・STD) の測定値と、同濃度の溶媒調製標準溶液 (STD-0.01) の測定値との比を求めた。なお、マトリックス添加標準溶液は、オートインジェクターによりブランク溶液及び 0.25 mg/L 濃度の検

量線用標準溶液を順次各 1 μ L ずつを連続して注入して GC 注入口内で混合して調製した (別表 3 参照)。

C. 研究結果

1. 測定条件

1.1. LC-MS/MS

LC-MS/MS 測定における各分析対象成分のマススペクトル及び検量線の一例を図 1 に示す。LC-MS/MS での保持時間、プリカーサーイオン、プロダクトイオン、コーン電圧及びコリジョン電圧等の測定情報は表 1 にまとめた。LC-MS/MS 測定での各分析対象成分の標準溶液及び添加回収試料の MRM クロマトグラムを図 2 に示す。また、混合標準溶液の MRM 測定のトータルイオンクロマトグラムの例を図 3 に示す。

分析対象とした 40 成分の内、アニラジン、ジクロベニル、ジフェニル、2,6-ジフルオロ安息香酸、ジベレリン、1-ナフトレン酢酸、ヒメキサゾール、フルカルバゾンナトリウム塩及びホルペットの 9 成分は、当該操作条件での検出感度が不十分であったため LC-MS/MS の測定対象から除外した。LC-MS/MS の測定対象とした 31 成分の内、フルスルファミド及びフルアジナムの 2 成分は負モードで、その他の 29 成分は正モードで測定した (表 1)。

1.2. GC-MS

GC-MS における各分析対象成分の保持時間、モニターイオン等の測定情報は表 2 にまとめた。分析対象成分のマススペクトル及び検量線の一例を図 4 に示す。GC-MS 測定での各分析対象成分の標準溶液及び添加回収試料の SIM クロマトグラムを図 5 に示す。また、混合標準溶液にお

ける SIM 測定のトータルイオンクロマトグラムを図 6 に示す。

分析対象とした 40 成分の内、マススペクトルが確認できたアリドクロール、イソキサチオン、シアナジン、ジクロフルアニド、ジクロベニル、ジフェニル、シラフルオフエン、スルフェントラゾン、デメトン-S-メチル、トリネキサパックエチル、トリルフルアニド、ピロキロン、プロパモカルブ、プロベナゾール、ホルペット、リムスルフロロン及び TCMTB の 17 成分を GC-MS の測定対象とした。なお、アニラジン、2,6-ジフルオロ安息香酸、ジベレリン、1-ナフトレン酢酸及びヒメキサゾールの 4 成分は LC-MS/MS 及び GC-MS のいずれにおいても測定困難であった。

2. 予備検討

2.1. 抽出時 *n*-ヘキサン混和法

抽出時に脂肪分を可溶化させる *n*-ヘキサン混和法について、添加濃度 1 mg/kg の脂肪及び牛乳の回収試料を用いて検討した。抽出時において *n*-ヘキサン混和有の場合と混和しない場合での脂肪及び牛乳試料における添加回収率の算出結果を表 3 に示す。

脂肪試料での抽出時に *n*-ヘキサンを混和した場合に平均回収率 ($n=2$) が評価基準 (70~120%) の許容範囲内であった分析対象数は、LC-MS/MS、GC-MS でそれぞれ 9 及び 8 成分であった。*n*-ヘキサンを混和しなかつた場合に、平均回収率が評価基準の許容範囲内となった分析対象数は、LC-MS/MS、GC-MS でそれぞれ 11 及び 9 成分であった。

牛乳試料において、*n*-ヘキサンを加えた場合に平均回収率が評価基準の許容範囲内

であった分析対象数は、LC-MS/MS、GC-MSでそれぞれ13及び7成分であった。また、*n*-ヘキサンを加えなかった場合に平均回収率が評価基準の範囲内となった分析対象数は、LC-MS/MS、GC-MSでそれぞれ22及び10成分であった。

2.2. 凍結法による脂肪除去効果の検討

脂肪試料において、抽出操作後のアセトニトリル層を-20℃で2時間放置し、脂肪分を沈殿させる手法について検討した。①抽出時に*n*-ヘキサンを混和した上で凍結保存、②抽出時に*n*-ヘキサン混和せずに凍結保存の2パターンでのLC-MS/MSにおける添加回収率の算出結果を表4及び表5に示す。

平均回収率が評価基準の許容範囲内であった分析対象数は、抽出時に*n*-ヘキサンを混和した上で凍結保存した場合(①)は9成分、抽出時に*n*-ヘキサンを混和せずに凍結保存した場合(②)は12成分であった。また、いずれの実験条件においても凍結処理による沈殿物の有無を確認することは出来なかった。

2.3. 精製条件の設定

抽出液時に*n*-ヘキサンを加えた場合のメリットは、脂肪分が溶解した均質な抽出液状態が得られることと、*n*-ヘキサン画分を廃棄することにより一定の精製効果が得られることであった。逆に、*n*-ヘキサンを加えた場合のデメリットは、複数の分析対象成分で回収率の損失が認められたことであった。回収率低下の要因としては、*n*-ヘキサン層の廃棄による損失の他、*n*-ヘキサンの混入によるアセトニトリル層の液量増加が考えられた。

以降の検証では、実試料での抽出効率の

低下に関する懸念があることから、抽出時に*n*-ヘキサンを混和する方法を採用することとした。また、以降の検証では、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル及びアセトニトリル飽和*n*-ヘキサンを使用して、アセトニトリル層の容量が変動しないように改善した。なお、凍結法による精製については、明らかな改善効果は確認できなかったことから適用しないこととした。

3. 分析対象成分の測定状況

3.1. LC-MS/MSにおける検量線の直線性

10種分析対象試料の測定時に作成した0.025~1 ngの全濃度域での検量線の回帰式($n=5$)の傾き、切片及び相関係数(r^2)を表6-1に示す。また、各分析対象成分の検量線の一例を図1に示す。回帰式の相関係数(r^2)は、全10種試料の測定で0.9950以上が21成分、9種試料の測定で0.9950以上が2成分、8種試料の測定で0.9950以上が2成分、7種試料の測定で0.9950以上が2成分、4種試料の測定で0.9950以上が2成分、3種試料の測定で0.9950以上が1成分、1種試料の測定で0.9950以上が1成分であった(表7-1)。

低濃度域(0.025~0.25 ng, $n=3$)での検量線の回帰式の傾き、切片及び相関係数(r^2)を表6-2に示す。回帰式の相関係数(r^2)は、全10種試料の測定で0.9950以上が24成分、5種試料の測定で0.9950以上が1成分、1種試料の測定で0.9950以上が2成分であった。ジフルフェンゾピル、ナプタラム、プロパモカルブ及びホルムスルフロンの4成分はいずれの試料においても、0.9950以上とならなかった。(表7-2)。

全濃度域と低濃度域での結果を比較した場合、後者の検量線の方が良好な相関性を示した。また、一律基準値相当試料の測定時には妨害成分等のバックグラウンドの影響を受け易いことから、本研究においては0.01 mg/kg 添加の場合、低濃度域の標準溶液で作成した検量線で添加回収率の算出を行なった。

実測定 10 例の内、5 例以上で全濃度域または低濃度域のいずれかにおける検量線の直線性に問題 ($r^2 < 0.9950$) が認められた分析対象成分は、ジフルフェンゾピル、シラフルオフェン、ナプタラム、ニコスルフロ、プロパモカルブ、プロベナゾール、ホルムスルフロ及びピリムスルフロンの 8 成分であった。これらを除く他の分析対象成分については、全濃度域及び低濃度域のいずれで検量線を作成した場合においても、全体として良好な直線性が確認された。

3.2. GC-MS における検量線の直線性

10 種分析対象試料の測定時に作成した0.025~1 ng の全濃度域でのマトリックス検量線の回帰式 ($n=5$) の傾き、切片及び相関係数 (r^2) を表 6-3 に示す。また、各分析対象成分の検量線の一例を図 1 に示す。回帰式の相関係数 (r^2) は、全 10 種試料の測定で 0.9950 以上が 2 成分、9 種試料の測定で 0.9950 以上が 6 成分、8 種試料の測定で 0.9950 以上が 6 成分、2 種試料の測定で 0.9950 以上が 1 成分、1 種試料の測定で 0.9950 以上が 1 成分であった。ホルペットはいずれの試料においても、0.9950 以上とならなかった (表 7-3)。

回収試料検液の理論値付近の低濃度域 (0.025~0.25 ng, $n=3$) でのマトリックス検量線の回帰式の傾き、切片及び相関係

数 (r^2) を表 6-4 に示す。回帰式の相関係数 (r^2) は、全 10 種試料の測定で 0.9950 以上が 5 成分、9 種試料の測定で 0.9950 以上が 1 成分、8 種試料の測定で 0.9950 以上が 4 成分、6 種試料の測定で 0.9950 以上が 3 成分、5 種試料の測定で 0.9950 以上が 2 成分、1 種試料の測定で 0.9950 以上が 2 成分であった (表 7-4)。

全濃度域と低濃度域での結果を比較した場合、後者の検量線の方が良好な相関性を示した。また、一律基準値相当試料の測定時には妨害成分等のバックグラウンドの影響を受け易いことから、本研究においては0.01 mg/kg 添加の場合、低濃度域の標準溶液で作成した検量線で添加回収率の算出を行なった。

実測定 10 例の内、5 例以上で全濃度域または低濃度域のいずれかにおける検量線の直線性に問題 ($r^2 < 0.9950$) が認められた分析対象成分は、イソキサチオン、プロベナゾール、ホルペット及びピリムスルフロンの 4 成分であった。これらを除く他の分析対象成分については、全濃度域及び低濃度域のいずれで検量線を作成した場合においても、全体として良好な直線性が確認された。

4.3. 最小検出濃度の検出状況

実測定 10 例の内、3 例以上で、最小濃度 (0.005 mg/L) の検量線標準溶液の測定結果が不検出または解析困難であった分析対象成分は、LC-MS/MS 測定ではジフルフェンゾピル及びプロベナゾールの 2 成分であった。GC-MS 測定ではイソキサチオン、シアナジン、スルフェントラゾン、プロベナゾール、ホルペット及びピリムスルフロンの 6 成分であった。これらの分析対象成分は、測定感度が弱い、測定感度の変動が大

きい、または、夾雑成分の影響を受け易いものと推定されることから、解析時には測定感度の変動及び夾雑成分の影響に注意する必要があると考えられた。

3.4. 各測定で問題の認められた分析対象成分

検量線の直線性(第4.1, 4.2項参照)及び最小検出濃度の検出状況(第4.3項参照)のいずれにおいても問題が認められた分析対象成分は、LC-MS/MS測定ではジフルフェンゾピル及びプロベナゾールの2成分、GC-MS測定ではイソキサチオン、プロベナゾール、ホルペット及びリムスルフロンの4成分であった。これらの分析対象成分は、各測定において定量性の確保が困難と判断した。また、検量線の直線性及び最小検出濃度の検出状況のいずれかで問題が認められた各分析対象成分については、その旨の注釈を妥当性評価結果(表13)の備考欄に記載した。これらを除く他の分析対象成分については、概ね良好な測定状況が確認された。

3.5. マトリックス効果

マトリックス添加標準溶液(M)と0.01 µg/mL濃度の溶媒調製標準溶液(S)の測定感度の比較結果を表8に示す。LC-MS/MS測定での溶媒調製標準溶液に対するマトリックス添加標準溶液の比率(M/S;マトリックス効果)をみると、4(うなぎ)~20成分(はちみつ)で良好な範囲内(0.90~1.10)であった(表9-1)。逆に、0(はちみつ)~10成分(さけ)については、その比率が1.5以上もしくは0.5未満(不検出もしくは妨害成分の影響で評価不能を含む)と著しく不良であった。また、GC-MS測定でのマトリックス効果は、

0(牛乳)~10成分(鶏卵)で良好な範囲内(0.90~1.10)であった(表9-2)。逆に、3(鶏卵)~11成分(肝臓)については、その比率が1.5以上もしくは0.5未満(不検出もしくは妨害成分の影響で評価不能を含む)と著しく不良であった。

LC-MS/MS測定においてマトリックス効果の評価基準を0.90~1.10とした場合には、8種試料以上で良好がデメトン-S-メチル、ピロキロン、フルスルファミドの3成分であった(表10-1の上段)。マトリックス効果の評価基準を0.80~1.20とした場合には、8種試料以上で良好が11成分であった(表10-1の中段)。そして、マトリックス効果の評価基準をさらに拡大し、0.50~1.50とした場合には、8種試料以上で良好が22成分であった(表10-1の下段)。

GC-MS測定においてマトリックス効果の評価基準を0.90~1.10とした場合には、8種試料以上で良好となる成分はなかった(表10-2の上段)。マトリックス効果の評価基準を0.80~1.20とした場合には、8種試料以上で良好がジクロベニル、ジフェニル、シラフルオフェンの3成分であった(表10-2の中段)。そして、マトリックス効果の評価基準をさらに拡大し、0.50~1.50とした場合には、8種試料以上で良好が4成分であった(表10-1の下段)。

本検討結果においてマトリックス効果の影響が比較的大きく、測定時に留意が必要と想定される分析対象成分(前述した測定に問題の認められた分析対象成分を除く)は、LC-MS/MS測定ではフルオリミドのみであった(表10-1の下段)。GC-MS測定ではアリドクロール、ジクロフルアニド、デメトン-S-メチル、トリネキサパックエチ

ル、トリルフルアニド、プロパモカルブ、TCMTBの7成分であった(表10-1の下端)。

4. 添加回収率

分析法の適用性は、妥当性評価ガイドラインに準じて検証した。即ち、分析対象試料を10種の畜水産物(筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、えび、うなぎ、さけ、牛乳、鶏卵及びはちみつ)とし、各試料における回収率の算出を5連で行い、それらの平均回収率の中央値について正確度(真度)の評価を行った。添加回収濃度は、分析対象成分の基準値相当濃度である0.01 mg/kgとともに、高濃度0.5 mg/kgでも評価した。10種畜水産物試料別の回収率の算出結果を、それぞれ表11-1~12-10にそれぞれ示す。

4.1. 回収率の中央値評価

10種分析対象試料において平均回収率から求めた総平均値、最小値、25パーセンタイル値(25p%)、中央値、75パーセンタイル値(75p%)及び最大値などの統計解析値を、測定法別及び添加濃度別に表13に示す。総平均値と中央値の差は、概ね±10%の範囲内であった。

4.1.1. LC-MS/MS 測定

LC-MS/MSの測定対象とした31成分の内、定量的な測定が困難と判断した2成分(第3.4項参照)は平均回収率の中央値評価の対象から除外した。さらに、平均回収率の例数が全20例(2濃度×10種試料)の内、10例以下だったジクロフルアニド、トリルフルアニド、フルオルイミド及びTCMTBの4種農薬成分は当該分析法の適用が困難と判断し、評価対象から除外した。

0.01 mg/kg 添加試料における平均回収

率の中央値が70~120%(A)の範囲で良好な正確度が確認された分析対象はアリドクロール、イソキサチオン、シアナジン、スルフェントラゾン、デメトン-Sメチル、ドジン、ピロキロン、フルアジナム、プロパモカルブ、ベンゾピシクロン、メタアルデヒドの11成分であった(表14-1)。フルスルファミドについては0.5 mg/kg 添加では平均回収率の中央値が87%と良好な結果であったが、0.01 mg/kg では平均回収率の中央値が69%とやや不良であった(表14-2)。

4.1.2. GC-MS 測定

GC-MSの測定対象とした17成分の内、定量的な測定が困難と判断した4成分(第3.4項参照)は平均回収率の中央値評価の対象から除外した。さらに、平均回収率の例数が全20例(2濃度×10種試料)の内、10例以下だったジクロフルアニド、トリルフルアニド及びTCMTBの3種農薬成分は当該分析法の適用が困難と判断し、評価対象から除外した。

0.01 mg/kg 添加試料における平均回収率の中央値が70~120%(A)の範囲で良好な正確度が確認された分析対象はアリドクロール、シアナジン、ジクロベニル、スルフェントラゾン、デメトン-Sメチル、トリネキサバクエチル及びピロキサロンの7成分であった(表14-3)。しかしながら、トリネキサバクエチルについては0.5 mg/kg 添加での平均回収率の中央値が49%と明らかに不良であったため適用困難と判断した。プロパモカルブについては0.5 mg/kg 添加では平均回収率の中央値が85%と良好な結果であったが、0.01 mg/kg では平均回収率の中央値が60%とやや不

良であった (表 14・4)。

4.1.3.総合評価

LC-MS/MS 及び GC-MS のいずれかにおいて (または双方において) 検討した 34 成分について、最終的な評価を表 14・5 にまとめた。少なくとも一方の測定法で分析可能と評価した分析対象数は 12 成分であった。その内、両測定法において分析可能と評価された成分はアリドクロール、シアナジン、スルフエントラゾン、デメトン・S-メチル、ピロキロン の 5 成分であった。イソキサチオン、ドジン、フルアジナム、プロパモカルブ、ベンゾピシクロン、メタアルデヒドの 6 成分は LC-MS/MS 測定のみで、ジクロベニルは GC-MS のみで分析可能と評価した。

アジムスルフロン、ニコスルフロン、フラザスルフロン、フルスルファミド、フロラスラム、ホラムスルフロン、リムスルフロンの 7 成分は LC-MS/MS で、ジフェニル、トリネキサパックエチルの 2 成分は GC-MS で平均回収率の中央値が評価基準よりも低く分析の際に注意が必要 (B・2) と判断した。なお、残り 13 成分は分析法の適用が困難 (C) とした。

4.2. 回収率の試料別評価

平均回収率の評価結果を分析対象試料別に表 15 にまとめた。LC-MS/MS 測定で 0.5 mg/kg 添加試料の測定では平均回収率が 70~120% の分析対象は 8 (鶏卵) ~18 (うなぎ, 牛乳) 成分であり, 0.01 mg/kg 添加試料では 6 (鶏卵) ~16 (うなぎ) 成分であった。両濃度において, 平均回収率が 70~120% の分析対象は鶏卵試料が最も少なく, うなぎ試料が最も多い結果となった。また, 肝臓試料では, 他試料と比較し,

0.01 mg/kg 添加試料の測定で 121~200% (B・1) となる成分数が 5 成分と多かった。

GC-MS 測定では 0.5 mg/kg 添加試料において平均回収率が 70~120% の分析対象は 6 (肝臓, 腎臓, えび, 鶏卵) ~10 (うなぎ) 成分であり, 0.01 mg/kg 添加試料では 5 (えび) ~9 (はちみつ) 成分であった。GC-MS 測定では分析対象試料間における差はみられなかった。

4.3. 特異的な回収損失について

分析対象試料ごとの平均回収率に特徴があった分析対象成分については表 13 の備考に示した。LC-MS/MS 測定では, アジムスルフロン, フルスルファミドの 2 成分は脂肪及びはちみつ試料において特に低回収率を示した。アリドクロールは鶏卵, スルフエントラゾン及びプロパモカルブははちみつ, ドジンは肝臓及びはちみつ, フルアジナムは脂肪, 鶏卵及びはちみつ, ベンゾピシクロンはえび及び鶏卵でそれぞれ低回収率を示した。GC-MS ではシアナジンは 0.01 mg/kg 添加試料において, 肝臓, えび及びうなぎで, 不検出または解析困難であった。

5. ブランク試料の妨害状況

LC-MS/MS の MRM 測定及び GC-MS の Scan 測定での 10 種の畜水産物の各ブランク試料のトータルイオンクロマトグラムの例を図 7 及び図 8 にそれぞれ示す。

GC-MS における各ブランク試料の未知ピークについては, 装置付属のライブラリ検索ソフトで解析したが, いずれも分析対象成分以外の脂肪酸などの試料由来の夾雑成分や, 試薬及び装置由来のフタル酸エステル類であり, 既存の標準品データとの同

一性は認められなかった。従って、当該試料の GC-MS において検出された未知ピークは、いずれも妨害ピーク由来と推察した。

各ブランク試料の GC-MS 測定結果を比較した場合、腎臓及び鶏卵試料のトータルイオンクロマトグラム上に比較的大きな妨害ピークが認められた他、肝臓、うなぎ及びさけ試料のトータルイオンクロマトグラムではベースラインの上昇傾向が認められた。

D. 考察

1. LC-MS/MS 測定

検量線の直線性及び最小検出濃度の検出状況を評価した結果、LC-MS/MS 測定において注意が必要と思われる分析対象成分については、表 13-1 の備考欄にその旨の注釈を記した。妥当性評価の結果、LC-MS/MS 測定での当該分析法の適用が可能と判断した分析対象は 11 成分であった。その内、イソキサチオン、シアナジン、デメトン-*S*-メチル、ピロキロン及びメタアルデヒドの 5 成分は、本年度新たに LC-MS/MS を用いた分析法の適用性を評価した分析対象成分であった。そして、アリドクロール、スルフェントラゾン、ドジン、フルアジナム及びプロパモカルブの 5 成分は、従前の LC-MS での妥当性評価では回収損失 (B-2, C) が認められた分析対象成分であった。ベンゾピシクロンは、従前の LC-MS での検討では、測定困難と評価した分析対象成分であった。

従前の検討においては、検出感度が弱いまたはイオン化不良等により LC-MS 測定困難と判断した 10 種分析対象成分の内、アラニカルブ、シラフルオフエン、チフェ

ンスルフロメチル、トリルフルアニド、フルスルファミド、ベンゾピシクロン、トリルフルアニド及びリムスルフロンの 6 成分は、LC-MS/MS の使用により 0.01 mg/kg 相当での回収率評価が可能となった。2,6-ジフルオロ安息香酸、ジベレリン及びヒメキサゾールの 3 成分は、今回の LC-MS/MS 操作条件においても測定困難であった。

2. GC-MS 測定

検量線の直線性及び最小検出濃度の検出状況を評価した結果、GC-MS 測定において注意が必要と思われる分析対象成分については、表 13-3 の備考欄にその旨の注釈を記した。妥当性評価の結果、GC-MS 測定での当該分析法の適用が可能と判断した分析対象は、アリドクロール、シアナジン、スルフェントラゾン、デメトン-*S*-メチル、ピロキロン及びジクロベニルの 6 成分であった。それらは、従前の GC-MS での妥当性評価では回収損失 (B-2) が認められた成分であった (GC-MS 未検証であったスルフェントラゾンを除く)。従って、今回の GC-MS 測定の検証において分析法の適用が可能となった分析対象成分の多くは、QuEChERS 法の一部改良法の適用により回収損失が改善されたものと推察された。

3. 回収率の総合評価

LC-MS/MS 及び GC-MS のいずれかで測定可能と判断した分析対象は 32 成分であった。その内、QuEChERS 法の一部改良法の適用が可能と判断した分析対象は 12 成分であった (表 14-3)。これらの分析対象成分の多くは、従前の分析法の検討時では

回収損失 (B-2, C) が認められた成分であったことから、精製工程の簡略化及び濃縮工程の省略による改善効果が認められたものと考えられた。また、LC-MS/MS の適用による測定感度及び選択性の向上が寄与した改善効果も認められた。

分析対象成分の蒸気圧及びオクタノール/水分配係数の計算値、前年度までの LC-MS ならびに GC-MS での分析法の検証結果、そして、本年度の LC-MS/MS ならびに GC-MS 分析法の検証結果を表 16 に示す。蒸気圧及びオクタノール/水分配係数の計算値は、米国環境保護省のウェブサイト⁷⁾から入手した有機化合物の物理的・化学的特性値の計算ソフト EPI Suite™ (v 4.0) を用いて、分析対象成分の化学構造式から算出した。

QuEChERS 法の一部改良法の適用が可能と判断した分析対象成分の内、比較的蒸気圧の高い (>1 mPa) アリドクロール、デメトン-Sメチル、ピロキロン、プロパモカルブ、メタアルデヒドについては、濃縮工程の省略が回収率の向上に寄与したものと推察された。また、厚生労働省の通知個別試験法⁸⁾においては、加水分解を抑制するため抽出時にリン酸添加が規定されているベンゾピシクロンについては、QuEChERS 法の迅速性が回収率の向上に寄与したものと推察された。また、QuEChERS 法の一部改良法の適用が困難と判断した分析対象成分の内、比較的非極性のシラフルオフェン (log Pow=9.0) については、抽出時工程で廃棄した *n*-ヘキサン層への回収損失が疑われた。

当該分析法の妥当性はガイドラインに準じて、0.01 mg/kg 添加試料の平均回収率の

中央値で評価したが、GC-MS 測定におけるトリネキサパックエチルについては、高濃度添加試料での平均回収率の中央値が 49%であったことから、分析法の適用は困難と判断した。一律基準値相当の低濃度域においては、分析対象成分の測定感度に余裕が無い場合が多く、試料夾雑成分に由来するバックグラウンドノイズの影響を受け易いことから、高濃度添加試料での回収率評価を併行実施することにより、より信頼性の高い妥当性評価が行なえるものと考えられた。

E. 結論

従前の検討において厚生労働省の通知一斉法 (一部改良含む) の適用が困難であった農薬成分の分析法の構築を検討した。分析対象 40 成分の内、QuEChERS 法の一部改良法の適用が可能と判断したのは 12 成分であった。本年度は、既存の通知一斉試験法での適用が困難である農薬成分を検討対象としていることから、通常の GC-MS ならびに LC-MS で測定可能な農薬成分の多くを除外して検討している。そのため、今回の検討により適用可能と判断された農薬数が比較的少数であったことは、妥当な結果と考えられた。今後は個別の農薬成分ごとに分析条件を最適化して個別に試験法を確立しなければならないものと想定される。

F. 参考文献

1) 食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法 (平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通