

表 1 検討農薬の保持時間と測定イオン

No.	Compound	Retention time	Quantitation			Confirmation		
			Precursor ion ( <i>m/z</i> )	Product ion ( <i>m/z</i> )	Collision energy (eV)	Precursor ion ( <i>m/z</i> )	Product ion ( <i>m/z</i> )	Collision energy (eV)
1	Acetochlor	13.57	223	132	17	223	146	20
2	Acrinathrin	19.8, 20.3	181	152	25	208	181	8
3	Alachlor	13.75	188	160	10	237	160	11
4	Ametryn	13.89	227	170	11	227	212	1
5	Atrazine	12.22	215	200	10	200	104	14
6	Azoxystrobin	23.83	344	329	14	388	345	15
7	$\alpha$ -BHC	11.77	181	145	10	219	183	15
8	$\beta$ -BHC	12.24	181	145	10	219	183	15
9	$\gamma$ -BHC	12.46	181	145	10	219	183	15
10	$\delta$ -BHC	13	181	145	10	219	183	15
11	Bifenthrin	18.9	181	166	15	181	141	22
12	Biphenyl	8.31	154	153	15	153	152	15
13	Bitertanol	20.65	170	141	20	170	115	25
14	Bromopropylate	18.98	185	157	20	341	185	15
15	Buprofezin	16.65	172	57	10	249	193	10
16	Chlorfenapyr	16.79	247	227	20	249	229	20
17	Chlorfenvinphos ( <i>E</i> )	15.17	267	159	15	325	269	10
18	Chlorfenvinphos ( <i>Z</i> )	15.37	267	159	15	325	269	10
19	Chlorpropham	11.22	213	171	7	127	65	25
20	Chlorpyrifos	14.54	197	169	15	314	258	13
21	Chlorpyrifos methyl	13.61	286	271	13	286	93	20
22	Clomeprop	19.33	288	169	14	323	288	10
23	Cyanazine	14.58	225	189	10	212	123	20
24	Cyanophos	12.53	243	109	13	125	79	8
25	Cyfluthrin	21.24, 21.34, 21.4, 21.44	163	127	10	206	151	20
26	Cyhalothrin	19.7, 19.88	197	141	13	181	152	23
27	Cypermethrin	21.58, 21.68, 21.75, 21.79	181	152	20	163	127	7
28	Cyprodinil	15.22	224	208	20	225	210	18
29	Deltamethrin	23.3, 23.61	253	93	18	181	152	20
30	Diazinon	12.63	137	84	10	199	93	15
31	Dichloran	12.01	206	176	12	176	148	15
32	Diethofencarb	14.54	225	125	15	267	225	8
33	Dimethoate	12.01	229	87	11	125	79	9
34	Dimethomorph	24.03, 24.52	301	165	10	387	301	12
35	$\alpha$ -Endosulfan	16.15	241	206	13	196	159	15
36	$\beta$ -Endosulfan	17.28	241	206	13	272	237	18
37	Endosulfan sulfate	18	274	239	15	272	237	13
38	EPN	18.96	157	110	12	169	141	10
39	Ethion	17.32	231	129	20	231	175	15
40	Ethoprophos	21.95	163	107	16	163	135	10
41	Etofenprox	11.02	158	97	14	200	97	22
42	Etoxazole	19.05	300	270	22	302	274	15
43	Fenarimol	20.14	139	111	15	251	139	15
44	Fenitrothion	14.23	277	109	20	277	260	11
45	Fenoxanil	16.95	293	155	20	189	125	20
46	Fenpropathrin	19.09	265	89	10	349	181	24
47	Fenvalerate	22.61	167	125	10	225	119	10
48	Fipronil	15.23	367	213	25	367	255	25
49	Flucythrinate	21.75, 21.96	199	107	22	199	157	7
50	Fludioxonil	16.29	248	127	26	248	154	20

表 1 (つづき)

No.	Compound	Retention time	Quantitation			Confirmation		
			Precursor ion ( <i>m/z</i> )	Product ion ( <i>m/z</i> )	Collision energy (eV)	Precursor ion ( <i>m/z</i> )	Product ion ( <i>m/z</i> )	Collision energy (eV)
51	Fluquinconazole	20.85	340	298	22	340	286	25
52	Flutolanil	16.24	173	145	15	281	173	15
53	Fluvalinate	22.74, 22.82	250	200	17	252	200	20
54	Fosthiazate	15.03, 15.07	195	103	10	195	139	10
55	Fthalide	14.91	272	243	10	243	215	15
56	Indoxacarb	23.36	150	123	15	218	203	10
57	Iprobenfos	13.18	204	91	10	204	122	15
58	Isoprocarb	9.89	136	121	10	121	103	10
59	Isoprothiolane	16.36	231	189	9	290	118	15
60	Kresoxim methyl	16.63	206	131	14	206	116	15
61	Lenacil	17.96	153	136	15	153	82	15
62	Malathion	14.39	173	99	10	127	99	10
63	Mepronil	17.55	269	119	14	269	210	10
64	Metalaxyl	13.89	234	174	10	249	190	8
65	Methidathion	15.81	145	85	7	145	58	15
66	Methoxychlor	19.05	227	169	20	227	212	15
67	Myclobutanil	16.57	179	125	15	288	179	7
68	Oxadixyl	17.28	163	132	10	132	117	15
69	Paclobutrazol	15.96	236	125	15	238	127	15
70	Parathion	14.71	291	109	15	291	137	10
71	Parathion methyl	13.74	263	109	12	263	127	15
72	Pendimethalin	15.18	252	162	12	252	191	12
73	Permethrin	20.71, 20.84	183	168	15	183	153	11
74	Phenthoate	15.53	274	246	10	274	121	7
75	Phosalone	19.58	182	111	15	182	138	10
76	Phosmet	18.92	160	77	20	160	133	15
77	Procymidone	15.57	283	96	9	283	255	10
78	Profenofos	16.44	337	267	20	339	269	20
79	Propargite	18.3	173	135	12	135	107	15
80	Propiconazole	17.88, 18.00	259	173	20	261	175	20
81	Propoxur	10.68	152	110	10	110	64	10
82	Prothiofos	16.36	267	239	10	309	239	5
83	Pyridaben	20.9	147	117	20	147	132	15
84	Pyrifenox ( <i>E</i> )	15.89	262	200	20	262	192	20
85	Pyrifenox ( <i>Z</i> )	15.38	262	200	20	262	192	20
86	Pyrimethanil	12.73	199	198	10	198	118	31
87	Pyrimidifen	22.39	186	171	20	184	169	0
88	Pyriproxyfen	19.74	136	96	15	136	78	15
89	Quinalphos	15.53	146	118	15	274	121	10
90	Quintozene	12.34	249	214	10	295	237	15
91	Silafluofen	22.1	286	258	13	286	207	15
92	Tebufenpyrad	19.19	276	171	15	333	171	20
93	Tefluthrin	12.88	177	127	20	197	141	15
94	Tetraconazole	14.72	336	218	12	336	204	20
95	Tetradifon	19.47	227	199	18	354	159	15
96	Tolclofos methyl	13.77	265	250	18	265	220	20
97	Triadimefon	14.77	208	181	10	208	111	25
98	Triadimenol	15.58, 15.74	168	70	12	128	65	19
99	Triazophos	17.59	161	134	10	257	162	10
100	Trifloxystrobin	17.79	116	89	15	190	130	10
101	Vinclozolin	13.67	212	172	15	285	212	14

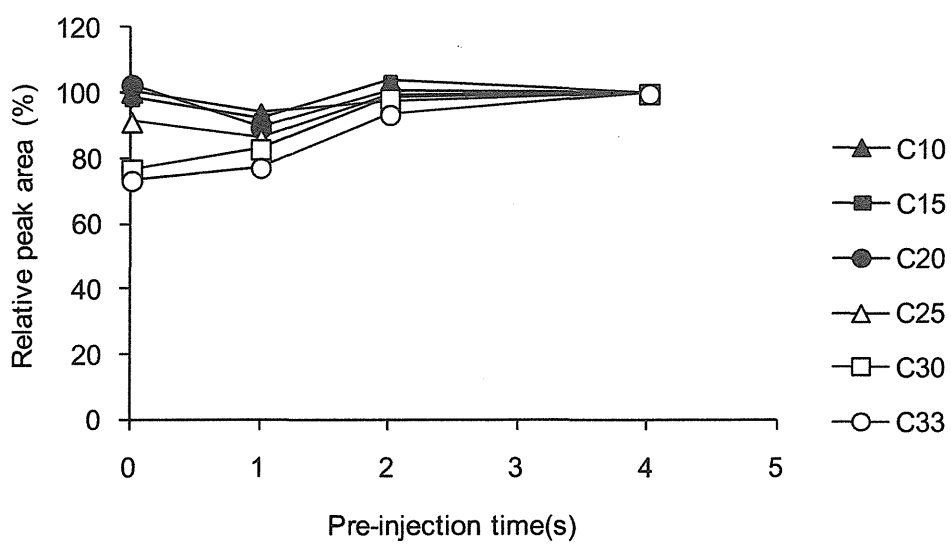


図1 Pre-injection time による *n*-アルカンのピーク面積値への影響  
 (C10: C<sub>10</sub>H<sub>22</sub>、C15: C<sub>15</sub>H<sub>32</sub>、C20: C<sub>20</sub>H<sub>42</sub>、C25: C<sub>25</sub>H<sub>52</sub>、C30: C<sub>30</sub>H<sub>62</sub>、C33: C<sub>33</sub>H<sub>65</sub>)

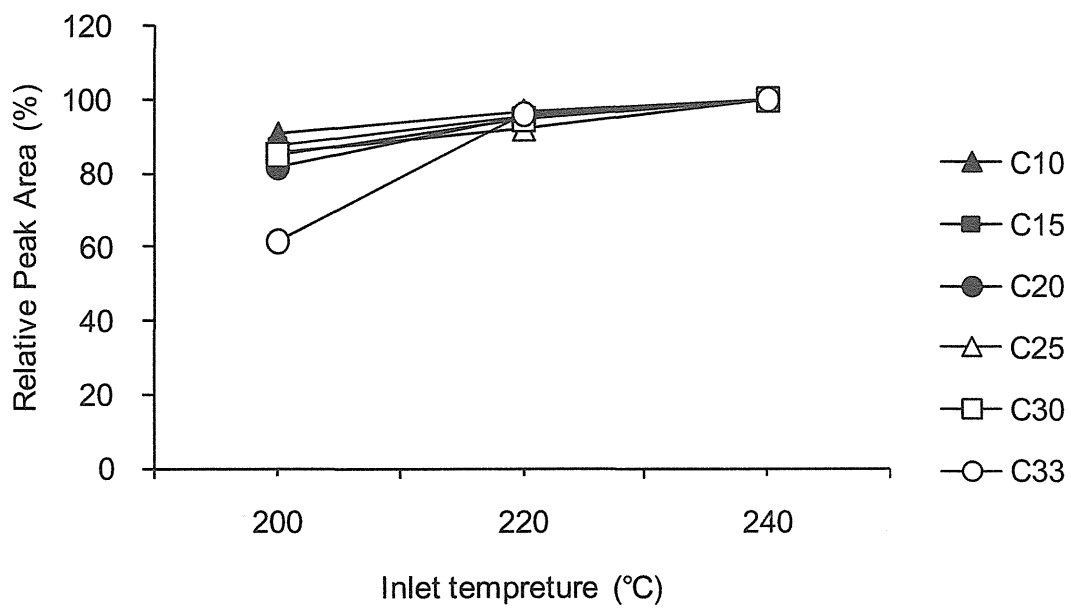


図2 注入口温度による *n*-アルカンのピーク面積値への影響

(C10: C<sub>10</sub>H<sub>22</sub>、C15: C<sub>15</sub>H<sub>32</sub>、C20: C<sub>20</sub>H<sub>42</sub>、C25: C<sub>25</sub>H<sub>52</sub>、C30: C<sub>30</sub>H<sub>62</sub>、C33: C<sub>33</sub>H<sub>68</sub>)

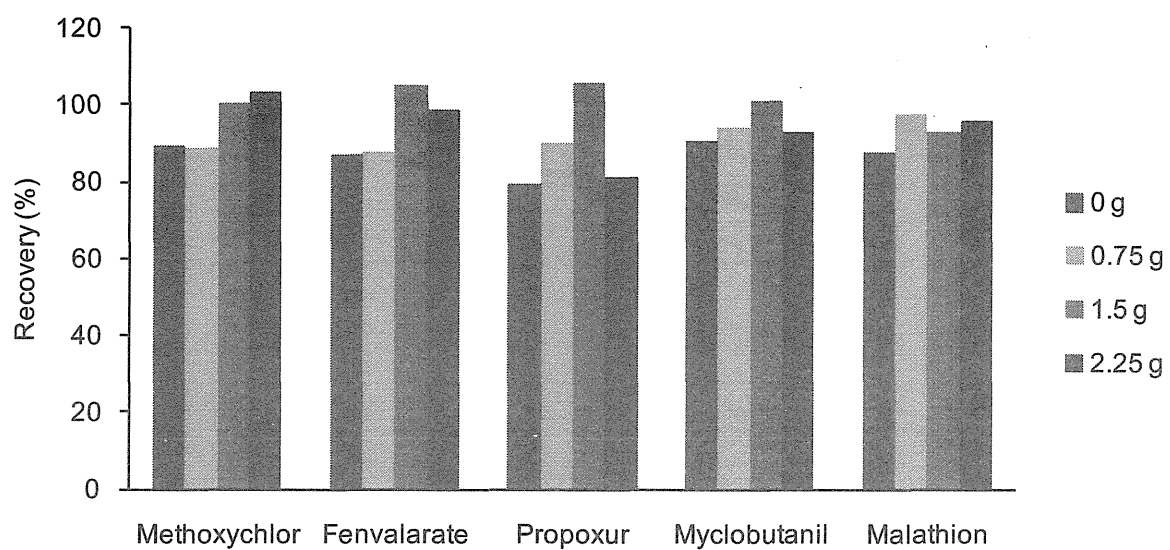


図3 無水硫酸マグネシウム量による影響

SFE 条件: 試料混合物 3.00 g[トマト/セライト(1:1)]、モディファイヤー(メタノール 0.2 mL)、抽出圧力 16.4 MPa (CO<sub>2</sub>密度 0.8 g/mL)、抽出温度 40°C、抽出時間 30 分

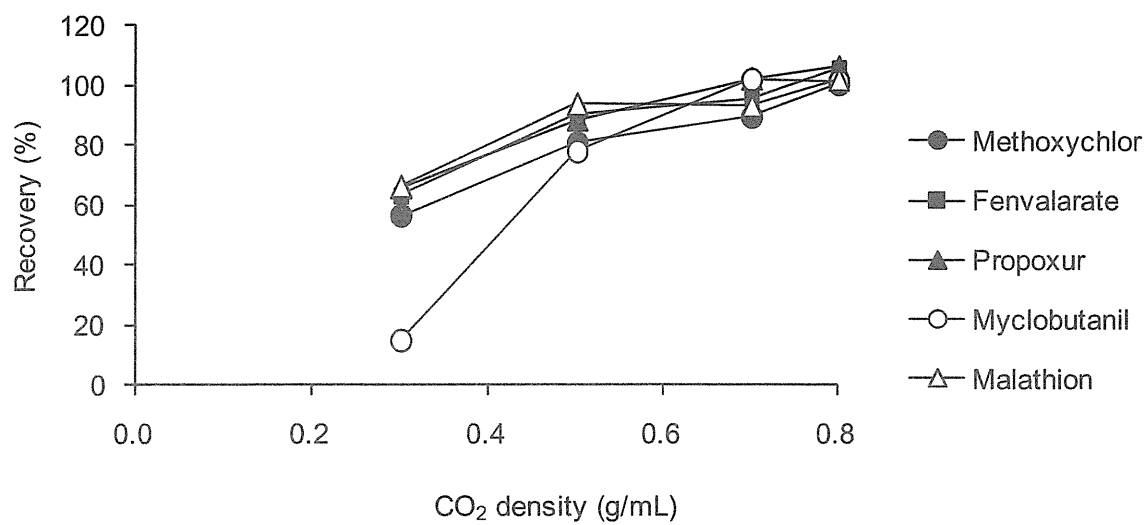


図4 CO<sub>2</sub>密度の影響

SFE条件: 試料混合物 4.50 g[トマト/セライト/無水硫酸マグネシウム(1:1:1)]、モディファイヤー(メタノール 0.2 mL)、抽出温度 40°C、抽出時間 30分

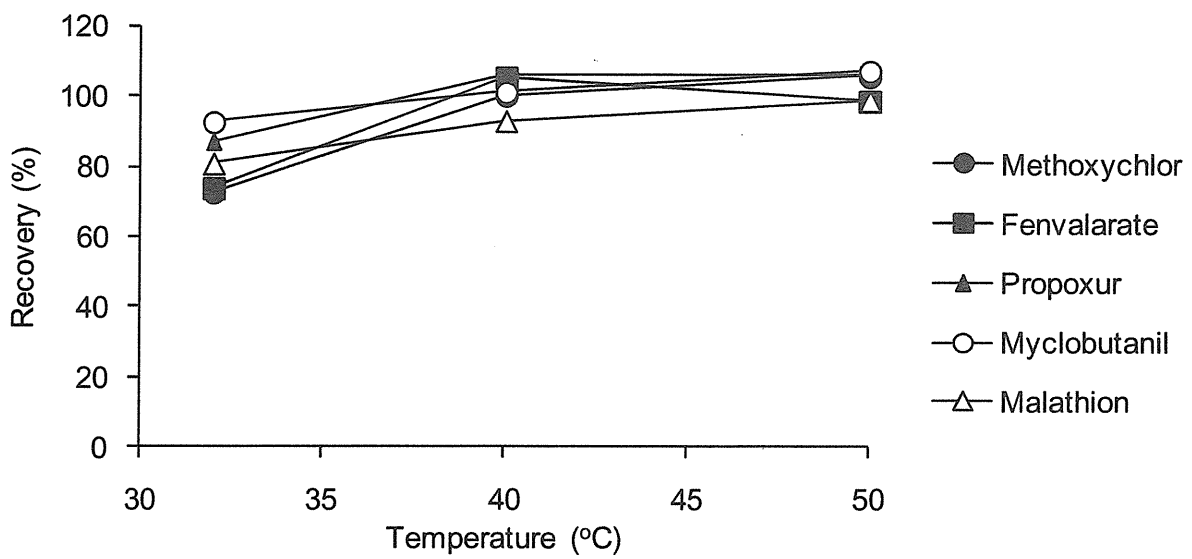


図5 抽出温度の影響

SFE 条件： 試料混合物 4.50 g[トマト/セライト/無水硫酸マグネシウム(1:1:1)]、モディファイヤー(メタノール 0.2 mL)、CO<sub>2</sub> 密度 0.8 g/mL、抽出時間 30 分

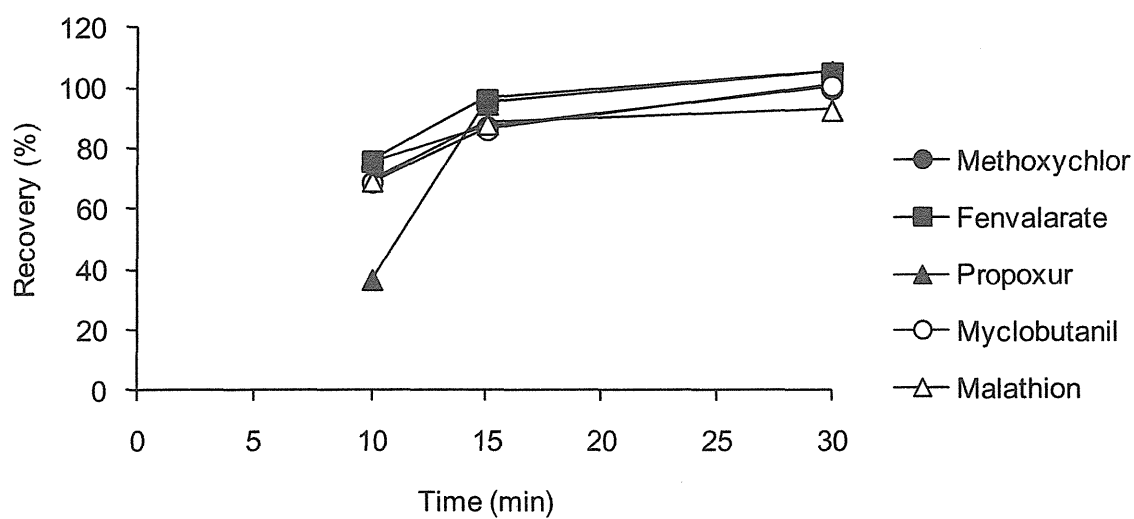


図 6 抽出時間の影響

SFE条件： 試料混合物 4.50 g[トマト/セライト/無水硫酸マグネシウム(1:1:1)]、モディファイヤー(メタノール 0.2 mL)、圧力 16.4 MPa (CO<sub>2</sub>密度 0.8 g/mL)、抽出温度 40°C



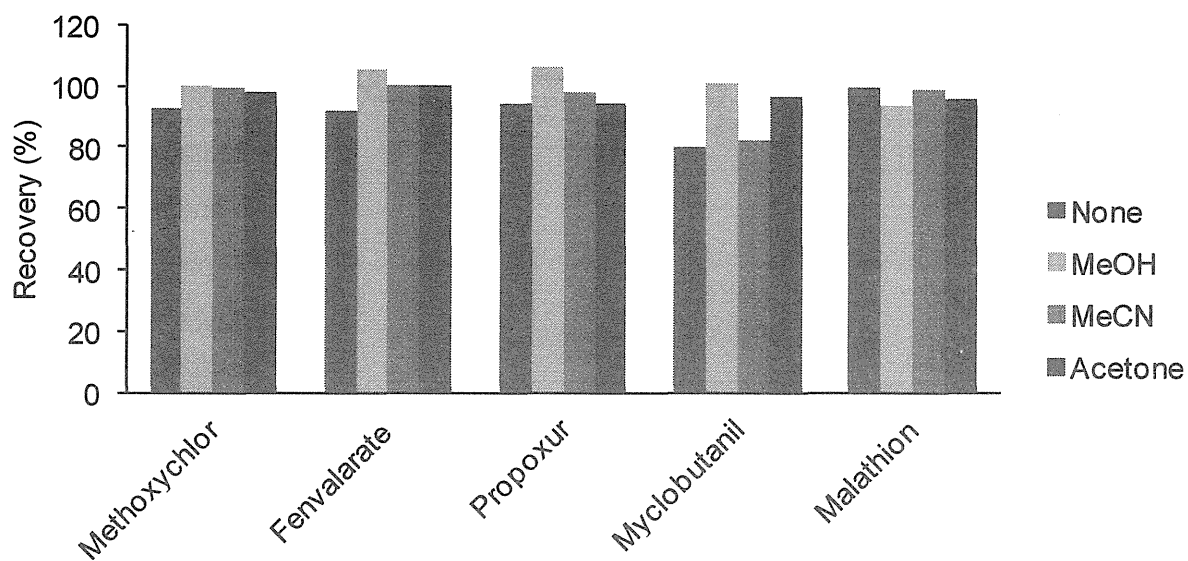


図7 モディファイヤーの種類の影響

SFE 条件: 試料混合物 4.50 g[トマト/セライト/無水硫酸マグネシウム(1:1:1)], 圧力 16.4 MPa (CO<sub>2</sub> 密度 0.8 g/mL)、抽出温度 40°C、抽出時間 30 分

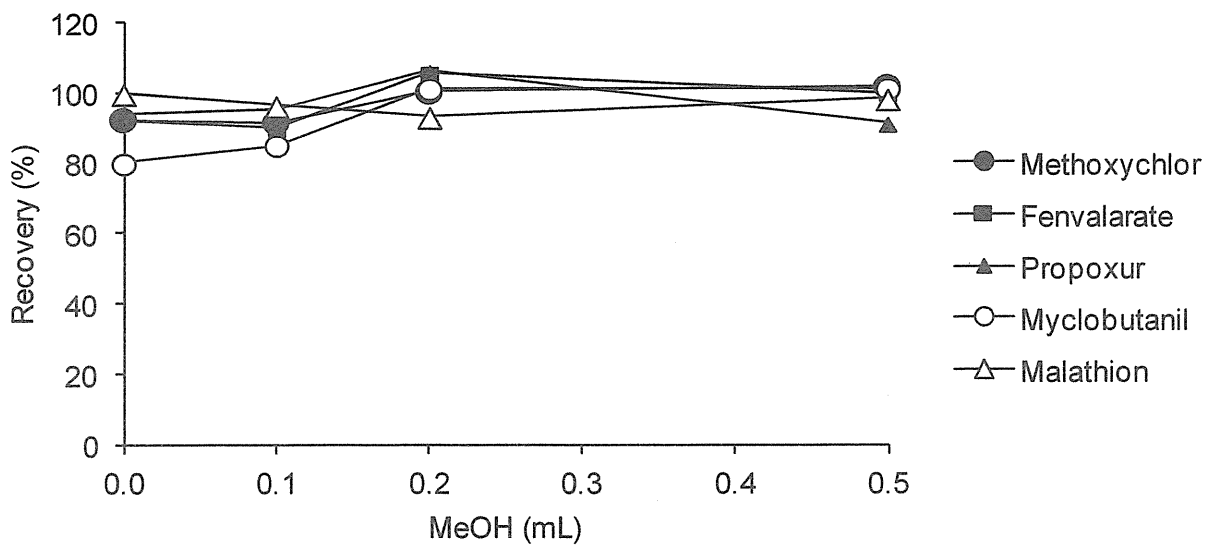


図8 モディファイヤー(メタノール)量の影響

SFE 条件: 試料混合物 4.50 g [トマト/セライト/無水硫酸マグネシウム(1:1:1)], 圧力 16.4 MPa (CO<sub>2</sub> 密度 0.8 g/mL)、抽出温度 40°C、抽出時間 30 分

表 2 添加回收試驗結果

No.	Compound	Spinach				Tomato			
		0.1ppm		0.01ppm		0.1ppm		0.01ppm	
		Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)
1	Acetochlor	90	3	103	5	94	5	103	3
2	Acrinathrin	91	6	96	5	88	2	102	3
3	Alachlor	92	3	111	3	87	3	105	2
4	Ametryn	90	4	101	10	91	6	104	3
5	Atrazine	91	4	104	11	94	6	97	6
6	Azoxystrobin	92	4	80	14	87	3	100	7
7	$\alpha$ -BHC	61	7	98	2	94	4	98	4
8	$\beta$ -BHC	90	2	88	3	96	4	107	4
9	$\gamma$ -BHC	72	3	108	5	109	4	101	5
10	$\delta$ -BHC	97	2	86	6	79	4	102	6
11	Bifenthrin	96	6	102	2	86	1	103	3
12	Biphenyl	33	13	67	11	50	6	53	14
13	Bitertanol	88	5	90	18	84	2	98	3
14	Bromopropylate	91	4	103	1	83	2	102	4
15	Buprofezin	81	4	89	6	77	6	107	1
16	Chlorfenapyr	87	5	108	4	95	6	103	3
17	Chlorfenvinphos ( <i>E</i> )	89	3	103	1	82	4	114	6
18	Chlorfenvinphos ( <i>Z</i> )	86	4	103	4	79	4	106	7
19	Chlorpropham	87	1	102	7	82	4	110	5
20	Chlorpyrifos	88	3	116	8	86	8	106	4
21	Chlorpyrifos methyl	87	2	112	1	89	2	109	5
22	Clomeprop	90	4	112	11	72	5	105	3
23	Cyanazine	88	2	108	11	97	9	95	5
24	Cyanophos	88	1	116	3	91	5	112	3
25	Cyfluthrin	94	6	101	7	87	3	108	5
26	Cyhalothrin	93	6	104	5	84	4	103	4
27	Cypermethrin	92	5	97	4	84	3	106	4
28	Cyprodinil	91	3	92	9	91	4	102	3
29	Deltamethrin	107	10	76	2	118	9	82	5
30	Diazinon	77	2	94	3	88	4	105	5
31	Dichloran	87	1	114	4	84	1	114	12
32	Diethofencarb	90	1	98	4	95	7	108	3
33	Dimethoate	112	6	114	17	93	11	105	15
34	Dimethomorph	97	6	76	17	85	3	99	5
35	$\alpha$ -Endosulfan	92	4	95	2	90	5	99	3
36	$\beta$ -Endosulfan	90	5	97	1	88	6	103	4
37	Endosulfan sulfate	89	3	106	5	82	5	103	3
38	EPN	97	6	108	5	88	5	103	3
39	Ethion	97	6	118	4	89	4	115	4
40	Ethoprofos	83	2	107	1	88	2	107	4
41	Etofenprox	95	4	96	9	88	2	108	5
42	Etoxazole	90	4	108	3	73	6	107	4
43	Fenarimol	87	3	83	10	86	2	97	3
44	Fenitrothion	91	3	111	11	82	5	108	4
45	Fenoxanil	91	3	99	6	84	4	98	3
46	Fenpropathrin	94	8	100	13	71	5	103	7
47	Fenvalerate	95	6	91	8	86	1	105	4
48	Fipronil	90	3	92	14	94	5	105	6
49	Flucythrinate	93	5	98	6	87	1	105	3
50	Fludioxonil	93	3	86	8	72	7	96	6

表 2(つづき)

No.	Compound	Spinach				Tomato			
		0.1ppm		0.01ppm		0.1ppm		0.01ppm	
		Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)	Rec. (%)	RSD (%)
51	Fluquinconazole	87	3	113	10	75	2	104	7
52	Flutolanil	91	4	95	4	87	3	101	3
53	Fluvalinate	88	4	92	8	85	3	103	2
54	Fosthiazate	88	7	90	13	75	9	100	5
55	Fthalide	94	2	105	4	81	5	107	3
56	Indoxacarb	89	6	90	8	81	2	101	3
57	Iprobenfos	91	3	111	4	90	3	110	4
58	Isoprocarb	82	5	102	2	85	2	108	6
59	Isoprothioiane	92	4	101	5	86	6	106	2
60	Kresoxim methyl	87	5	91	5	87	2	105	4
61	Lenacil	91	3	89	12	76	2	106	3
62	Malathion	86	3	93	7	84	5	107	4
63	Mepronil	94	4	111	4	73	4	104	5
64	Metalaxyl	90	5	100	8	88	10	105	2
65	Methidathion	87	4	90	4	77	2	108	4
66	Methoxychlor	92	4	100	4	85	4	101	2
67	Myclobutanil	91	3	82	9	82	2	102	4
68	Oxadixyl	94	4	96	7	89	3	97	10
69	Paclobutrazol	88	4	84	7	88	8	101	5
70	Parathion	92	2	117	5	94	4	114	4
71	Parathion methyl	93	2	109	11	82	3	116	5
72	Pendimethalin	91	4	97	6	84	6	111	4
73	Permethrin	96	6	113	10	87	3	100	5
74	Phenthoate	101	5	104	7	97	3	95	9
75	Phosalone	93	5	109	2	79	3	110	8
76	Phosmet	90	2	106	3	73	2	97	5
77	Procymidone	100	2	96	9	83	6	105	3
78	Profenofos	90	4	100	9	75	4	105	3
79	Propargite	92	5	97	2	80	8	117	7
80	Propiconazole	90	5	108	10	72	3	102	5
81	Propoxur	84	3	108	3	83	2	101	8
82	Prothiofos	95	2	100	3	73	5	107	2
83	Pyridaben	90	5	104	12	87	2	105	5
84	Pyrifenox ( <i>E</i> )	80	4	70	0	68	9	63	9
85	Pyrifenox ( <i>Z</i> )	79	4	81	19	86	13	81	6
86	Pyrimethanil	94	2	102	6	85	3	106	3
87	Pyrimidifen	94	4	84	10	82	5	92	10
88	Pyriproxyfen	95	4	109	5	81	2	99	4
89	Quinalphos	89	3	90	2	85	4	110	3
90	Quintozene	71	2	108	5	85	4	99	5
91	Silafuofen	92	3	95	13	88	3	109	8
92	Tebufenpyrad	90	5	120	8	84	6	103	4
93	Tefluthrin	88	2	104	4	89	2	103	3
94	Tetraconazole	92	3	77	5	88	5	104	4
95	Tetradifon	89	5	92	7	89	4	101	5
96	Tolclofos methyl	88	3	111	6	85	3	106	3
97	Triadimefon	86	5	98	3	86	6	101	5
98	Triadimenol	99	2	80	9	87	2	106	7
99	Triazophos	93	3	100	5	86	6	91	10
100	Trifloxystrobin	92	4	110	3	87	2	108	6
101	Vinclozolin	88	3	109	4	92	5	108	4

表3 SFE法と溶媒抽出法の分析値の比較

	Sample	Pesticide	Concentration (mg/kg), n=3				Ratio*	MRL (ppm)
			SFE		Solvent Extraction			
			Ave.	RSD	Ave.	RSD		
1	Apple	Chlorpyrifos	0.006	38	0.004	29	1.37	1
2	Lettuce	Procimidone	0.012	6	0.011	8	1.16	5
3	Spinach	Permethrin	0.009	4	0.011	9	0.79	2
		Tefluthrin	0.017	8	0.017	1	0.99	0.5

## Ⅱ. 分担研究報告

### 2. 畜水産物中残留動物用医薬品及び農薬の 包括的スクリーニング分析法の開発

研究分担者 坂井隆敏

畜水産物中残留動物用医薬品及び農薬の包括的スクリーニング分析法の開発

研究分担者 坂井 隆敏 国立医薬品食品衛生研究所 食品部主任研究官

研究要旨

検査機関におけるより効率的な検査態勢の確立を目的として、畜水産物に基準値が設定されている残留動物用医薬品及び農薬(農薬等)の包括的スクリーニング分析法の開発を試みた。平成 24 年度は、昨年度までに開発検討した分析法について、種々の畜水産物に対する適用性を評価することを目的として、畜水産物 10 食品(牛の筋肉、鶏の筋肉、牛の肝臓、牛の脂肪、牛乳、鶏卵、ウナギ、サケ、しじみ及びはちみつ)を用いた添加回収試験を実施した。その結果、多くの対象化合物/対象食品の組合せにおいて良好な回収率得られ、測定時の試料マトリックスの影響を大きく受ける化合物/食品の組合せも少なかったことから、本研究で開発検討した分析法は、種々の畜水産物中の残留農薬等の包括的スクリーニング分析法として有用であると考えられた。

A. 研究目的

平成 18 年 5 月 29 日、食品に残留する農薬、飼料添加物及び動物用医薬品(農薬等)に関するポジティブリスト制度が施行された。本制度の導入に伴い、農薬、動物用医薬品それぞれに対する一斉試験法の研究・開発がなされ、今日までに動物用医薬品について 3 種類、農薬について 5 種類の一斉試験法が通知されている。現在、各検査機関においては、これら通知試験法に準拠した分析法を用いて食品中の残留農薬等の検査が実施されている。これら通知試験法の分析対象化合物は、当然ではあるが、動物用医薬品一斉試験法であれば動物用医薬品、農薬一斉試験法であれば農薬であり、動物用医薬品一斉試験法で農薬が、また農薬一斉試験法で動物用医薬品が分析可能であるかについては、ほとんど検討がなされていない。

一方、動物用医薬品はもとより、農薬の中にも畜水産物に基準値が設定されているものがあるため(約 300 農薬)、畜水産物については動物

用医薬品及び農薬の両方を分析する必要がある。しかしながら、上述のように、現行の通知一斉試験法は動物用医薬品もしくは農薬のどちらか一方のみが分析対象であるため、畜水産物を検査する場合、現状では動物用医薬品一斉試験法及び農薬一斉試験法を用いて二度の分析を行う必要がある。

動物用医薬品と農薬は、使用対象や使用方法・目的などは当然異なるが、食品中に残留した場合には、どちらも人の健康を損なうおそれのある化学物質である。したがって、分析対象となる食品が同じであれば、同一の方法で動物用医薬品と農薬とを分析することが可能であると考えられる。動物用医薬品及び農薬を同時に分析できる方法が開発されれば、現在それぞれの試験法で行われている検査を一回の検査に短縮できる為、より効率的な食品の検査が可能になると考えられる。

本研究では、検査機関におけるより効率的な検査態勢の確立を目的として、畜水産物に基準

値が設定されている農薬及び動物用医薬品を対象として、これらの包括的一斉スクリーニング分析法の開発を試みた。

平成 24 年度は、昨年度までに開発検討した分析法の種々の畜水産物に対する適用性を評価することを目的として、畜水産物 10 食品(牛の筋肉、鶏の筋肉、牛の肝臓、牛の脂肪、牛乳、鶏卵、ウナギ、サケ、しじみ及びはちみつ)を用いた添加回収試験を実施した。

## B. 研究方法

種々の畜水産物中の残留農薬等を効率的に分析するためには、様々な物性の農薬等を、様々な畜水産物から効率的に抽出し、複雑な試料マトリックスを効果的に除去した後、試料中の濃度を正確に求めることが可能な分析法が必要である。

平成 22 年度及び平成 23 年度は、試料調製中の分解抑制方法の検討、効率的な抽出方法の検討、効果的な精製方法の検討を行い、畜水産物中の残留農薬等の効率的な分析法の開発を検討した。

平成 24 年度は、畜水産物 10 食品を対象に添加回収試験を行い、開発検討した分析法の適用性を評価した。

### ①対象化合物

対象化合物は、平成 22 年度及び平成 23 年度の分析法の開発検討で用いた農薬等に、畜水産物に基準値が設定されている農薬等のうち液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)を用いた測定において良好な感度が得られた化合物を追加し、農薬 206 化合物、動物用医薬品 145 化合物、合計 351 化合物を用いた。

### ②対象食品

添加回収試験の対象食品には、食品の成分等を考慮して、牛の筋肉、鶏の筋肉、牛の肝臓、牛の脂肪、牛乳、鶏卵、ウナギ、サケ、しじみ及びはちみつ(ソバはちみつ)を選択して用いた。

### ③分析法

添加回収試験には、昨年度までに開発検討した分析法に若干改良を加えたものを用いた。以下に詳細を示した。

試料にアセトン 100 mL 及び酢酸 1 mL を加えてホモジナイズ後、遠心分離した。有機層を採り、残留物にエタノール及び水(1:1)混液 10 mL を加えて攪拌した後、アセトン 50 mL 及び酢酸 1 mL を加えてホモジナイズ及び遠心分離した。有機層を採り、先の有機層と合わせ、アセトンを加えて正確に 200 mL とした。この 10 mL を採り、40°C 以下で約 1 mL まで濃縮した。なお、はちみつの場合は、溶媒を除去した後、残留物をアセトニトリル及び 20 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液(pH 4.5) (9:1)混液 2 mL に溶解し、アセトニトリル/ヘキサン分配は省略した。濃縮液に *n*-ヘキサン 30 mL を加えた後、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL ずつで 3 回振とう抽出した。アセトニトリル層を合わせ、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去した。残留物をアセトニトリル及び 20 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液(pH 4.5) (9:1)混液 2 mL に溶解した。これを、予めアセトニトリル 5 mL、アセトニトリル及び 20 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液(pH 4.5) (9:1)混液 5 mL を順次通液して平衡化したオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムに注入し、さらにアセトニトリル及び 20 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液(pH 4.5) (9:1)混液 15 mL を注入し、全溶出液を採った。溶出液を 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去した後、得られた残留物を酢酸エチル、トルエン及びメタノール(2:1:2)混液 2 mL に溶解した。これを、グラフア



イトカーボン(GCB)/シリカゲル(SI)連結カラムに注入し、さらに酢酸エチル、トルエン及びメタノール(2:1:2)混液 15 mLを注入した後、GCBミニカラムを取り外し、SIミニカラムに酢酸エチル、トルエン及びメタノール(2:1:2)混液 5 mLを注入した。なお、GCBミニカラムは予め酢酸エチル、トルエン及びメタノール(2:1:2)混液 15 mLを、SIミニカラムは酢酸エチル、トリエチルアミン、トルエン及びメタノール(40:1:20:40)混液 10 mL、酢酸エチル、トルエン及びメタノール(2:1:2)混液 5 mLを順次注入して平衡化した。全溶出液を採り、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去した後、得られた残留物をアセトニトリル及び 20 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液(pH 4.5) (1:1)混液 1 mLに溶解したものを試験溶液とした。

#### ④標準溶液の調製

各対象化合物の標準品を適切な溶媒に溶解し、各対象化合物の標準原液(1 g/L)を調製した。各標準原液を混合、希釈し、混合標準溶液を調製した。なお、検量線作成用混合標準溶液はアセトニトリル及び 20 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液(pH 4.5) (1:1)混液を用いて調製し、添加試料を作成する際に用いる添加用混合標準溶液はアセトンを用いて調製した。

#### ⑤添加回収試験

上記の各対象食品 10.0 gを採り、エタノール及び水(1:1)混液 10 mLを加えてよく攪拌した後、各対象食品中の濃度が 0.01 mg/kgとなるように対象化合物を添加してよく攪拌したものを添加試料とした。各食品について 5 個の添加試料を作成し、上記の分析法に従って試験溶液を調製した。

各対象化合物の回収率(%)は次のように求めた。各濃度の対象化合物の溶媒標準溶液それぞれ 5  $\mu$ Lを LC-MS/MS に注入し、得られたピ

ーク面積から各対象化合物の検量線を作成した。次いで、添加回収試験溶液 5  $\mu$ Lを LC-MS/MS に注入し、得られたピーク面積から絶対検量線法により各対象化合物の添加回収試験溶液中の濃度を算出した。得られた濃度の平均値の添加濃度に対する比を求め、これを各対象化合物の回収率(%)とした。

#### ⑥試料マトリックスの測定への影響の確認

LC-MS/MS 測定において、試料マトリックスが各対象化合物の測定値に及ぼす影響について、以下のように確認した。

まず、ブランク試料(対象化合物を添加していない各対象食品)について、上記の分析法に従って抽出、精製操作を行った。GCBミニカラム及び SIミニカラム精製後の溶出液を 40°C以下で濃縮し、溶媒を除去した後、得られた残留物を検量線作成用混合標準溶液(各対象化合物 0.005 mg/L) 1 mLに溶解したものをマトリックス添加混合標準溶液とした。

マトリックス添加混合標準溶液及び検量線作成用混合標準溶液(各対象化合物 0.005 mg/L)それぞれ 5  $\mu$ Lを LC-MS/MS に注入し、各対象化合物のピーク面積を得た。検量線作成用混合標準溶液のピーク面積(PA<sub>SS</sub>)に対するマトリックス添加混合標準溶液のピーク面積(PA<sub>MS</sub>)の比(PA<sub>MS</sub>/PA<sub>SS</sub>)を算出し、試料マトリックスが各対象化合物の測定値に及ぼす影響を確認した。

#### ⑦装置及び測定条件

##### ・HPLC

高速液体クロマトグラフ: Acquity UPLC (Waters 製)

分析カラム: Inertsil ODS-4 HP(内径 3 mm、長さ 150 mm、粒子径 3  $\mu$ m、GL Sciences 製)  
カラム温度: 40°C

移動相: 20 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液

(pH 4.5) (A 液) 及びアセトニトリル (B 液)

グラジエント条件 (t: 時間 (分)):

t<sub>0</sub>, B=1%; t<sub>5</sub>, B=1%; t<sub>35</sub>, B=100%;

t<sub>40</sub>, B=100%; t<sub>40.1</sub>, B=1%; t<sub>50</sub>, B=1%

流速: 0.4 mL/min

注入量: 5 µL

#### ・質量分析

質量分析計: Acquity TQ Detector (Waters 製)

ソース温度: 150°C

脱溶媒温度: 400°C

窒素ガス流量: 800 L/hr

コーンガス流量: 50 L/hr

キャピラリー電圧: 1.5 kV

イオン化法: エレクトロスプレーイオン化法

本研究で用いた対象化合物を表 1 及び表 2 に示した。

(倫理面への配慮)

人、動物を研究対象としていないため特に必要としなかった。

### C. 研究結果

#### ① LC-MS/MS における測定

畜水産物に基準値が設定されている農薬等のうち、農薬約 300 化合物、動物用医薬品約 200 化合物について、LC-MS/MS 測定条件を検討した。その結果、LC-MS/MS により良好な測定感度、すなわち 0.005 mg/L の溶媒標準溶液を測定した際に S/N ≥ 10 の測定感度が得られた化合物数は、農薬で 206、動物用医薬品で 145 であった。

本研究で用いた対象化合物を表 1 及び表 2 に示した。

LC-MS/MS により良好な測定感度が得られたこれらの化合物を対象として、添加回収試験を

実施した。

#### ② 添加回収試験結果

畜水産物の中から食品の成分等を考慮して選択した 10 食品 (牛の筋肉、鶏の筋肉、牛の肝臓、牛の脂肪、牛乳、鶏卵、ウナギ、サケ、しじみ及びはちみつ) を用いて添加試料を作成し、5 併行の添加回収試験を実施した。結果は以下の通りであった (表 3 及び表 4)。

##### ・牛の筋肉

農薬については、回収率 50% 以上の化合物数は 195 (95%)、回収率 70%~120% の化合物数は 190 (92%) であった。動物用医薬品については、回収率 50% 以上の化合物数は 121 (83%)、回収率 70%~120% の化合物数は 114 (79%) であった。各対象化合物の保持時間と回収率の関係を図 1 に示した。

なお、回収率 50% 以上の化合物については、フェノキシメチルペニシリン (回収率 51%、併行精度 20.3%) を除いて、併行精度 20% 未満であった。

##### ・鶏の筋肉

農薬については、回収率 50% 以上の化合物数は 199 (97%)、回収率 70%~120% の化合物数は 190 (92%) であった。動物用医薬品については、回収率 50% 以上の化合物数は 123 (85%)、回収率 70%~120% の化合物数は 117 (81%) であった。各対象化合物の保持時間と回収率の関係を図 2 に示した。

なお、回収率 50% 以上の化合物については、全て併行精度 20% 未満であった。

##### ・牛の肝臓

農薬については、回収率 50% 以上の化合物数は 192 (93%)、回収率 70%~120% の化合物数は 171 (83%) であった。動物用医薬品については、回収率 50% 以上の化合物数は 123

(85%)、回収率 70%~120%の化合物数は 107 (74%)であった。各対象化合物の保持時間と回収率の関係を図 3 に示した。

なお、回収率 50%以上の化合物については、全て併行精度 20%未満であった。

#### ・牛の脂肪

農薬については、回収率 50%以上の化合物数は 193 (94%)、回収率 70%~120%の化合物数は 175 (85%)であった。動物用医薬品については、回収率 50%以上の化合物数は 116 (80%)、回収率 70%~120%の化合物数は 106 (73%)であった。各対象化合物の保持時間と回収率の関係を図 4 に示した。

なお、回収率 50%以上の化合物については、フェノキシメチルペニシリン(回収率 59%、併行精度 25.0%)を除いて、併行精度 20%未満であった。

#### ・牛乳

農薬については、回収率 50%以上の化合物数は 196 (95%)、回収率 70%~120%の化合物数は 189 (92%)であった。動物用医薬品については、回収率 50%以上の化合物数は 118 (81%)、回収率 70%~120%の化合物数は 114 (79%)であった。各対象化合物の保持時間と回収率の関係を図 5 に示した。

なお、回収率 50%以上の化合物については、全て併行精度 20%未満であった。

#### ・鶏卵

農薬については、回収率 50%以上の化合物数は 194 (94%)、回収率 70%~120%の化合物数は 179 (87%)であった。動物用医薬品については、回収率 50%以上の化合物数は 122 (84%)、回収率 70%~120%の化合物数は 117 (81%)であった。各対象化合物の保持時間と回収率の関係を図 6 に示した。

なお、回収率 50%以上の化合物については、全て併行精度 20%未満であった。

#### ・ウナギ

農薬については、回収率 50%以上の化合物数は 196 (95%)、回収率 70%~120%の化合物数は 177 (86%)であった。動物用医薬品については、回収率 50%以上の化合物数は 124 (86%)、回収率 70%~120%の化合物数は 114 (79%)であった。各対象化合物の保持時間と回収率の関係を図 7 に示した。

なお、回収率 50%以上の化合物については、全て併行精度 20%未満であった。

#### ・サケ

農薬については、回収率 50%以上の化合物数は 197 (96%)、回収率 70%~120%の化合物数は 182 (88%)であった。動物用医薬品については、回収率 50%以上の化合物数は 124 (86%)、回収率 70%~120%の化合物数は 112 (77%)であった。各対象化合物の保持時間と回収率の関係を図 8 に示した。

なお、回収率 50%以上の化合物については、インドキサカルブ(回収率 89%、併行精度 25.3%)、セファピリン(回収率 55%、併行精度 25.1%)及びセファレキシム(回収率 67%、併行精度 27.1%)を除いて、併行精度 20%未満であった。

・しじみ農薬については、回収率 50%以上の化合物数は 193 (94%)、回収率 70%~120%の化合物数は 169 (82%)であった。動物用医薬品については、回収率 50%以上の化合物数は 126 (87%)、回収率 70%~120%の化合物数は 116 (80%)であった。各対象化合物の保持時間と回収率の関係を図 9 に示した。

なお、回収率 50%以上の化合物については、ピコリナフェン(回収率 52%、併行精度 24.5%)

及びフェノキシメチルペニシリン(回収率 62%、併行精度 20.6%)を除いて、併行精度 20%未満であった。

#### ・はちみつ

農薬については、回収率 50%以上の化合物数は 197(96%)、回収率 70%~120%の化合物数は 188(91%)であった。動物用医薬品については、回収率 50%以上の化合物数は 121(83%)、回収率 70%~120%の化合物数は 94(65%)であった。各対象化合物の保持時間と回収率の関係を図 10 に示した。

なお、回収率 50%以上の化合物については、プレドニゾロン(回収率 56%、併行精度 25.6%)を除いて、併行精度 20%未満であった。

#### ・農薬

検討した 10 食品中 8 食品以上で、回収率 50%以上の化合物数は 192(93%)、回収率 70%~120%の化合物数は 174(84%)であった。9 食品以上で、回収率 50%以上の化合物数は 188(91%)、回収率 70%~120%の化合物数は 164(80%)であった。また、検討 10 食品全てにおいて、回収率 50%以上の化合物数は 181(88%)、回収率 70%~120%の化合物数は 125(61%)であった。

#### ・動物用医薬品

検討した 10 食品中 8 食品以上で、回収率 50%以上の化合物数は、121(83%)、回収率 70%~120%の化合物数は 109(75%)であった。9 食品以上で、回収率 50%以上の化合物数は 116(80%)、回収率 70%~120%の化合物数は 98(68%)であった。また、検討 10 食品全てにおいて、回収率 50%以上の化合物数は 99(68%)、回収率 70%~120%の化合物数は 59(41%)であった。

#### ③試料マトリックスの測定への影響について

各対象化合物及び各対象食品について、検量線作成用混合標準溶液のピーク面積( $PA_{SS}$ )に対するマトリックス添加混合標準溶液のピーク面積( $PA_{MS}$ )の比( $PA_{MS}/PA_{SS}$ )を算出し、試料マトリックスが各対象化合物の測定値に及ぼす影響を確認した。以下に結果を示した(表 5 及び表 6)。

#### ・牛の筋肉

農薬については、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.5 以上の化合物数は 202(98%)、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.7~1.2 の化合物数は 199(97%)であった。動物用医薬品については、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.5 以上の化合物数は 145(100%)、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.7~1.2 の化合物数は 145(100%)であった。各対象化合物の保持時間と  $PA_{MS}/PA_{SS}$  の関係を図 11 に示した。

#### ・鶏の筋肉

農薬については、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.5 以上の化合物数は 205(99%)、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.7~1.2 の化合物数は 200(97%)であった。動物用医薬品については、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.5 以上の化合物数は 145(100%)、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.7~1.2 の化合物数は 143(99%)であった。各対象化合物の保持時間と  $PA_{MS}/PA_{SS}$  の関係を図 12 に示した。

#### ・牛の肝臓

農薬については、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.5 以上の化合物数は 205(99%)、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.7~1.2 の化合物数は 191(93%)であった。動物用医薬品については、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.5 以上の化合物数は 143(99%)、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.7~1.2 の化合物数は 135(93%)であった。各対象化合物の保持時間と  $PA_{MS}/PA_{SS}$  の関係を図 13 に示した。

#### ・牛の脂肪

農薬については、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.5 以上の化合物数は 206(100%)、 $PA_{MS}/PA_{SS}$  0.7~1.2 の化合物数は 204(99%)であった。動物用医薬品につ