

製によるマトリックス効果の影響を検討するため、ほうれん草およびえだまめの精製は GCB/PSA 単独と C18+GCB/PSA の併用の 2 種類とした。野菜果実ジュースは SOP に準じ GCB/PSA のみで精製を行った。

PEG 溶液は 0.5% の濃度にアセトン/ヘキサン (1/1, v/v) で希釈した。リン酸トリフェニル溶液は 200 ppb の濃度になるよう、アセトン/ヘキサン (1/1, v/v) で希釈し調製した。

表 4 に従い、5 種類の検量線を調製し、ブランク試験液に農薬混合標準溶液を 50 ppb になるよう添加した試験液を各検量線で定量した。検量線は試験液の分析前後に 2 回測定を行い、平均面積値で検量線の傾き、切片、相関係数 ( $r^2$ ) を算出した。

絶対検量線法 (IS 補正なし) および相対検量線法 (IS 補正あり) を用い、50 ppb と定量された場合を回収率 100% とし、それぞれの試験液における回収率を算出し、マトリックス補正効果の指標とした。判定基準は、回収率が  $100 \pm 10\%$  の範囲を「良好な結果」として判定した。

## 9-2. 協力機関

各協力機関の試験液調製方法は、各機関の農薬 SOP に準じた方法で行い、図 9 の計算シートに基づき算出した濃度の試験液、PEG 溶液およびリン酸トリフェニル溶液の調製を行った。

検量線は表 4 に従って、5 種類調製した。各協力機関は、GC-MS (/MS) のカラムおよびインサートを新品に交換し、一定の安定化を行った後に表 5 に示すシーケンスを作成し、分析を行った。初めに、検量線 A (マトリックスマッチング) を用いて試験を行

い、絶対検量線法を用いた定量結果について、各協力機関の測定可能な農薬数の 9 割以上が回収率 90~110% の範囲であることを確認した。これによって GC-MS (/MS) の状況を含めて実験系が正常であることが確認される。90~110% の回収率に入る農薬数が 9 割に満たない場合は、再度、装置の安定化、農薬混合標準溶液の再調製を行い、9 割以上が良好な結果を得ていることを確認した。

その後、検量線 B、C、D および E の検量線による定量を順次行った。

マトリックス補正効果の判定基準は、事前検討と同様に、回収率が  $100 \pm 10\%$  の範囲を補正可能な目安として「良好な結果」と判定した。

## 10. 評価方法

各協力機関には、あらかじめ送付しておいたエクセルファイルに、試料毎に検量線に用いた標準溶液、試験液 (ブランクおよび添加) の面積値を入力し、ファイルを大阪府に提出することを求めた。

提出されたデータから絶対検量線法および相対検量線法のそれぞれについて、検量線の傾き、切片、 $r^2$  を計算し、各農薬の回収率を算出した。算出した回収率から度数分布表を作成し、マトリックス補正効果について考察した。

### C および D. 研究結果および考察

#### 1. 事前検討 (大阪府)

##### 1-1. 検量線によるマトリックス補正効果の比較

評価対象農薬 89 農薬のうち、ピレトリンは感度が低く、検出することができなかつ

た。また、ほうれん草から微量のシペルメトリンが検出されたため、ほうれん草に関してはシペルメトリンを対象項目から除外した。このため、事前検討はピレトリンを除いた 88 農薬（ほうれん草はシペルメトリンをさらに除いた 87 農薬）を対象とした。個々の検量線で定量した結果を図 10～14 の度数分布に示した。

#### 1-1-1. 検量線 A(マトリックスマッチング) (図 10)

検量線、追加精製の有無および試料に関わらず、測定可能な農薬数（ほうれん草 87 農薬、えだまめ 88 農薬）の 9 割以上が回収率 90～110%の範囲に入った。当該検量線では、試験液と標準溶液中のマトリックスが一致しているため、良好な結果が得られた。

#### 1-1-2. 検量線 B (溶媒標準) (図 11)

絶対検量線法では、追加精製の有無および試料に関わらず、ほうれん草およびえだまめ共に、回収率 200%を超えるものが多かった。これは、いわゆるマトリックス効果による定量値の過大評価を如実に示していると考えられた。溶媒標準では、GC 内の活性点に農薬が吸着し、質量分析計に到達する農薬が、マトリックスを含む試験液に比べ減少していることが要因と考えられた。

相対検量線法を用いて定量した場合、ほうれん草およびえだまめ共に回収率が 100%以下となる農薬が多数確認された。また、追加精製を行った場合、若干の回収率の改善が認められたが、当該検量線では、内部標準による補正を用いても良好な回収率を示す農薬は少なかった。

#### 1-1-3. 検量線 C (VFJ 添加) (図 12)

ほうれん草では、農薬の回収率が広範囲に分布する傾向が認められた。この傾向は検量線の種類、追加精製の有無に関わらず同じであった。絶対検量線法では過剰定量される農薬が多い傾向が認められたが、追加精製を行うことで良好な結果を示す農薬数が増加した。相対検量線法では、検量線 B と同じく、回収率は低めの傾向を示したが、検量線 B よりも良好な結果を示す農薬数は増加した。

えだまめに関しては、多くの農薬が良好な回収率を示した。特に C18 による追加精製を行った場合、絶対検量線法、相対検量線法ともに 88 農薬中 60 農薬以上が良好な結果を示した。

#### 1-1-4. 検量線 D (PEG 添加) (図 13)

一部の農薬（シハロトリン、シフルトリン、フェンバレレートおよびホスメット等）に関して、ピーク面積値が低下した。これらの農薬では、濃度とピーク面積値の間での比例関係が脆弱であり、検量線の直線性の指標となる  $r^2$  も 0.990 を下回った。これらの現象については追試確認を行い、1-2 および 1-3 の項で記述した。定量値は、検量線の直線性に関わらず、得られた検量線で定量し、度数分布に反映した。

試料および追加精製の有無に関わらず、絶対検量線法では過剰定量される農薬が多かった。相対検量線法では過剰定量の傾向は認められるものの、絶対検量線法に比べて若干の回収率の改善が認められた。

#### 1-1-5. 検量線 E (VFJ+PEG 添加) (図 14)

絶対検量線法においては、ほうれん草およびえだまめ共に良好な結果を示す農薬の割合が高かった。また、追加精製により良好な結果を示す農薬数は増加し、ほうれん草で 87 農薬中 56 農薬、えだまめで 88 農薬中 67 農薬が良好な結果を示した。

相対検量線法においては、絶対検量線法に比べて若干過剰定量の傾向が認められた。ほうれん草にその傾向が強く、追加精製を行った場合、110~130%の回収率を示す農薬の度数が最も多くなり（87 農薬中 56 農薬）、良好な結果を示す農薬数は 7 農薬にとどまった。一方、えだまめは、精製度に関わらず 6 割以上の農薬が良好な結果を示した。

## 1-2. 標準溶液連続測定による農薬感度とその安定性の比較

前述のとおり検量線 D において、一部の農薬に関してピーク面積値の低下、ならびに濃度とピーク面積値の間で比例関係の脆弱性（検量線の直線性の低下； $r^2=0.990$  未満）が認められた。

これらの現象の要因を検証するため、各検量線 B~E に含まれる濃度点（50 ppb）を代表濃度点として調製し、連続（25 回）分析を行った。最初の 5 回は機器の安定化を図るための捨て分析とし、残りの 20 回のピーク面積値について平均値、標準偏差および相対標準偏差（RSD）を算出した。表 6 に検量線 B の平均値を 100 とし、検量線 C、D および E について相対面積値を算出した結果を示した。また RSD は表 7 に示した。

相対面積値を比較すると、検量線 C は、検量線 B と比較して概ね 200~400%のマトリックス効果を示した。検量線 D は、200

~1000%のマトリックス効果を示す農薬がある一方で、1-1-4 に記した農薬（ホスメット、シハロトリン、フルキンコナゾール、シフルトリン、シペルメトリン、フルシトリネート、フェンバレレート、フルバリネートおよびデルタメトリン）等は PEG を添加しても面積値が増大せず、検量線 B の約 60%以下の強度に低下していた。これらの傾向は、検量線 E では面積値増大の傾向が認められたが、100~250%程度にとどまった。

RSD を比較すると、マトリックスを添加した検量線 C~E は概ね 5%以下と安定した面積値を保った。しかし、PEG 添加で面積値の低下が認められたホスメット、シハロトリン、フルキンコナゾール、シフルトリン、シペルメトリン、フルシトリネート、フェンバレレート、フルバリネートおよびデルタメトリンは RSD が 20%を超えた。

すなわち、検量線 D の濃度と面積値の間での比例関係の脆弱性が認められた農薬は、連続測定で RSD が高かった農薬と一致しており、これらは PEG の添加による影響と考えられた。

## 1-3. PEG 添加量と農薬感度の関連性

注入時の PEG 添加量が農薬の感度に及ぼす影響について検討した。検量線 B の代表濃度点（50 ppb）に対して、1 インジェクションあたり、0、100、250、500 および 750 ng の注入量となるよう PEG をそれぞれ添加し、分析を行った。結果を表 8 に示した。PEG の添加量が増加するに伴って、多くの農薬の感度は増加する傾向が認められ、概ね 500 ng の PEG 添加により十分なマトリックス効果が得られることが確認された。一

例としてペルメトリンのMRMクロマトグラムを図15に示した。

一方で、ホスメット、シハロトリン、フルキンコナゾール、シフルトリン、シペルメトリン、フルシトリネート、フェンバレレート、フルバリネート、デルタメトリンについては、PEGの添加量が増加するにつれ、ピーク面積値が減少した。一例としてフルシトリネートのMRMクロマトグラムを図15に示した。PEG添加量が増加するにつれ、保持時間22分近傍のピーク(図15内の矢印)の面積値が増大していた。このピークは、フルシトリネート単独あるいはPEG単独注入時には認められなかったため、PEG添加時に注入口で分解した物質であると推察された。

## 2. 各協力機関の測定結果

各協力機関の結果を図16～27に示した。なお、配布したほうれん草中に微量のシペルメトリンが検出されたため、ほうれん草に関してはシペルメトリンを項目から除外している。

全体的な傾向として、検量線AにおいてはIS補正の有無に関わらず、ほぼ90%以上の農薬が良好な結果を示した。検量線Bでは、絶対検量線法では過剰定量、相対検量線法では過小定量の傾向が認められた。検量線CおよびDに関しては、各機関に差が認められたが、相対検量線法で定量することにより、良好な結果を示す農薬数が増加した。検量線Eは絶対検量線法ある相対検量線法のいずれかで良好な結果を示す農薬数が最大になった。以下に各機関の結果を示す。

### 2-1. 機関a(図16および17)

各検量線を用いた定量結果の度数分布は、ほうれん草とえだまめで類似していた。検量線Bの絶対検量線法でやや強い過剰定量の傾向が認められ、検量線Dの絶対検量線法でも過剰定量が認められた。この傾向は、IS補正を行うと緩和された。検量線CおよびEに関しては、良好な結果を示す農薬の割合が高く、マトリックス補正効果が認められた。検量線Dにおいて、一部の農薬(ホスメット、シフルトリン、フルバリネート等)については顕著な面積値の減少が認められたことから回収率を算出することが出来ず、他の検量線よりも良好な結果を示す農薬数が少なかった。

### 2-2. 機関b(図18および19)

各検量線を用いた定量結果の度数分布は、ほうれん草とえだまめで類似していた。検量線Bの絶対検量線法でやや過剰定量の傾向を示したが、相対検量線法ではやや過小定量となった。検量線C、DおよびEを用いた場合、良好な結果を示す農薬の割合が高かったが、特に検量線DおよびEは、マトリックスの補正効果が高いと考えられた。

### 2-3. 機関c(図20および21)

全体的に面積値の変動が大きく、絶対検量線法による定量結果において、試験液の定量値にばらつきが認められた。これは、機器の安定化が不十分であったこと、試験液の濃度が協力機関内で最も高い(10g/mL相当)ことが要因と考えられた。しかし相対検量線法では、検量線の直線性および添加試験液のRSDが改善され、ほうれん草およびえだまめの結果に類似性が認められた。

回収率については、検量線 B、C、D および E いずれも良好なマトリックス補正効果が確認され、特に検量線 D および E では、その傾向が顕著であった。

#### 2-4. 機関 d (図 22 および 23)

各検量線を用いた定量結果の度数分布は、ほうれん草とえだまめで類似していた。検量線 B および D の絶対検量線法でやや過剰定量の傾向を示したが、相対検量線法により改善された。検量線 C および E を用いた場合、良好な結果を示す農薬の割合が高く、IS 補正の有無に関わらずマトリックスの補正効果が高かった。

#### 2-5. 機関 e (図 24 および 25)

各検量線を用いた定量結果の度数分布は、ほうれん草とえだまめで類似しているが、検量線 C、D および E においてほうれん草はえだまめと比較して、やや分散する傾向が認められた。検量線 B の絶対検量線法では強い過剰定量(概ね 200%以上)を示したが、相対検量線法では過小定量となった。

えだまめでは、IS 補正に関わらず、検量線 C および E において良好な結果を示す農薬数が多かった。検量線 D に関しては、絶対検量線法ではやや過剰定量であったが、相対検量線法では良好な結果を示す農薬数が増加した。

ほうれん草は、検量線 C の相対検量線法と検量線 E の絶対検量線法を除いて、良好な結果を示す農薬数はやや少ない傾向であった。

#### 2-6. 機関 f (図 26 および 27)

各検量線を用いた定量結果の度数分布は、

IS 補正の有無に関わらず、ほうれん草とえだまめで類似していた。検量線 C、D および E は検量線 A と同様の結果を示し、どの検量線を用いても概ね良好なマトリックス補正効果が確認された。また、検量線 B においても、1/3 以上の農薬が良好な結果を示した。図 28 に検量線 B 測定時のリン酸トリフェニルの面積値のプロットを示す。検量線 B は通常最も強いマトリックス効果が予想される。機関 a~e については、標準溶液(溶媒標準)と試験液との間に面積値の差(マトリックス効果)が認められるが、機関 f においては、顕著な差は認められなかった。これが何に起因するのかは不明であり、今後追加検討する予定である。その他の検量線についても機関 f は IS の面積値の変動が少なく、今回の結果では、多くの農薬についても IS と同様に面積値の変動が少ないことが推察された。

### 3. 機関横断的な評価

#### 3-1. マトリックス補正効果の比較

絶対検量線法での各機関のえだまめの定量結果について、回収率が  $100 \pm 10\%$  の範囲に入る農薬(補正可能農薬; 良好な結果)の数を各々算出し、測定可能な農薬数に対する割合(%)で示した(図 29)。検量線 D に関しては、補正可能な農薬の割合が高い機関と低い機関が混在していたが、検量線 E では割合が低い機関の結果が改善され、機関による差が縮小した。検量線 C と検量線 E の傾向は類似していたが、一機関を除く全ての機関において、補正可能な農薬の割合が検量線 E で 10%程度増加した。

えだまめの相対検量線法での結果を図 30 に示す。IS 補正により、補正可能な農薬の

割合は各検量線とも増加した。検量線 D では、IS 補正により各機関での割合の差は縮小したが、検量線 C および E と比べると、機関間の差は大きかった。

ほうれん草の結果を図 31~34 に示す。ほうれん草の場合は回収率  $100 \pm 10\%$  となった農薬数を基準にした場合、検量線 C、D、E の間にえだまめの様に明解な傾向が認められなかった (図 31 および 32) ため、回収率  $100 \pm 20\%$  の農薬を補正可能農薬とした (図 33 および 34)。その結果、ほうれん草の結果はえだまめの傾向に類似し、検量線 E がどの機関についても汎用性の高い検量線となった。検量線 D においては機関間の差が大きく、汎用性は認められなかった。IS による補正効果は、いずれの検量線についても、えだまめの結果と同様に効果的であった。

### 3-2. PEG の影響

大阪府の事前検討において、一部の農薬 (シハロトリン、シフルトリン、フェンバレート、ホスメット等) に PEG 添加による感度低下が認められた。同様の傾向を示したのは、機関 a のみであり、機関 e においては、フルバリネートのみ感度低下の傾向を示した。

大阪府と機関 b および機関 e は同じメーカーの GC-MS/MS を使用し、GC の分析条件にも大きな違い (注入口温度、インサートライナーの種類、スプリットレス時の圧力等) はない。しかし、PEG に対する挙動は異なっており、感度低下の要因となる因子は特定できなかった。今後、要因の因子解明についてさらに検討を行っていく予定である。

### 3-3. 試験液の影響

大阪府および協力機関の試験液調製方法は、以下の 2 種類に大別された。

イ. QuEChRS 法をベースとした方法 (大阪府、機関 a、c、e および f)

ロ. 厚生労働省の一斉分析法をベースとした方法 (機関 b および d)

このうち、機関 f は、検量線 C、D および E 全てについて良好なマトリックス補正効果が認められた。QuEChRS 法をベースとした方法を採用している機関は 4 機関であり、補正効果が試験液調製方法によるものであるとは確定できなかった。今後、試験液の精製度および負荷量による差について検討を行う予定である。

### 3-4. 機器の影響

大阪府および協力機関の機器の内訳は、Agilent 社製の GC-MS が 1 機関、GC-MS/MS が 5 機関、Thermo 社製の GC-MS が 1 機関であった。機関 f は Agilent 社製の GC-MS/MS を使用し、かつ注入口の仕様がアイステイサイエンス社製の胃袋型インサートによる大量注入方式であった。機関 f は検量線 C、D および E において良好なマトリックス補正効果が認められたが、1 機関のみの結果であったため、補正効果の要因が胃袋型インサートによる大量注入方式であるとは確定できなかった。他の機関の結果からは、機器による明白な差は認められなかった。

## E. 結論

本研究結果より、マトリックスマッチング検量線に匹敵する汎用マトリックス添加検量線としては、検量線 D および E が有用

であり、ISによる補正も有効であった。しかし、検量線 D は機関間の補正効果および感度の安定性の差が大きく、補正効果が期待できない場合も考えられた。今回、共同研究を行った各機関の試験液調製方法、試験液濃度、注入量および分析機種は多種多様であったが、少なくとも検量線 E を用いた場合、すべての機関で補正可能な農薬の割合が最も安定していた。以上のことから、PEG と VFJ を併用する検量線 E は汎用マトリックス検量線として有用であると考えられた。

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

1) 高取聡、北川陽子、福井直樹、山口聡子、吉光真人、小阪田正和、梶村計志、尾花裕孝：残留農薬分析におけるマトリックス効果補正法の比較：第 51 回 全国衛生化学技術協議会年会，大分，2014.

2) 山口聡子、高取聡、福井直樹、北川陽子、吉光真人、小阪田正和、梶村計志、尾花裕孝：妥当性評価ガイドラインを踏まえた残留農薬検査における大阪府の取り組み：第 51 回 全国衛生化学技術協議会年会，大分，2014.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

表1 評価対象農薬一覧

PL-1-2	PL-2-1	PL-3-3
Omethoate	Propoxur	Ethoprophos
Trifluralin	Carbofuran	Simazine
Dimethoate	Quintozene	Diazinon
Atrazine	Propyzamide	Propanil
Terbufos	Triallate	Parathion-methyl
Tefluthrin	Vinclozolin	Pirimiphos-methyl
Spiroxamine	Alachlor	Chlorpyrifos
Chlorpyrifosmethyl	Fenitrothion	Parathion
Terbutryn	Metolachlor	Triadimefon
Thiobencarb	Fenthion	Allethrin
Malathion	Isofenphos Oxon	Fipronil
Fenpropimorph	Chlorfenvinphos (E, Z)	Flutolanil
Pendimethalin	Isofenphos	Profenofos
Penconazole	Triadimenol	Oxyfluorfen
Procymidone	Tetrachlorvinphos	Chlorobenzilate
Methidathion	Isoprothiolane	Triazophos
Fenamiphos	Myclobutanil	Quinoxifen
Oxadiazon	Buprofezin	Tebuconazole
Kresoxim-methyl	Cyproconazole	Acetamiprid
Chlorfenapyr	Ethion	Bromopropylate
Pyrethrin	Propiconazole	Fenpropathrin
Norflurazon	Hexazinone	Cyhalothrin
Diiflufenican	Propargite	Bitertanol
Bifenthrin	Phosmet	Pyridaben
Azinphos-methyl	Methoxychlor	Cypermethrin
Fenarimol	Pyriproxyfen	Fenvalerate
<i>trans</i> -Permethrin	Pyraclofos	Deltamethrin
<i>cis</i> -Permethrin	Fluquinconazole	
Cyfluthrin	Fenbuconazole	
Flucythrinate	Fluridone	
Fluvalinate	Difenoconazole	
31 農薬	31 農薬	27 農薬



表2 事前検討（大阪府）MRM条件

No	農薬名	MRM条件
1	Acetamiprid	152 > 116
2	Alachlor	188 > 160
3	Allethrin	123 > 81
4	Atrazine	215 > 173
5	Azinphos-methyl	160 > 77
6	Bifenthrin	181 > 165
7	Bitertanol	170 > 115
8	Bromopropylate	341 > 183
9	Buprofezin	172 > 57
10	Carbofuran	164 > 149
11	Chlorfenapyr	328 > 247
12	Chlorfenvinphos	323 > 267
13	Chlorobenzilate	251 > 139
14	Chlorpyrifos	314 > 258
15	Chlorpyrifosmethyl	286 > 93
16	Cyfluthrin	163 > 127
17	Cyhalothrin	197 > 141
18	Cypermethrin	163 > 127
19	Cyproconazole	222 > 125
20	Deltamethrin	253 > 93
21	Diazinon	199 > 93
22	Difenoconazole	323 > 265
23	Diiflufenican	394 > 266
24	Dimethoate	229 > 87
25	Ethion	231 > 129
26	Ethoprophos	158 > 97
27	Fenamiphos	303 > 195
28	Fenarimol	219 > 107
29	Fenbuconazole	198 > 129
30	Fenitrothion	277 > 260
31	Fenpropathrin	265 > 210
32	Fenpropimorph	128 > 70
33	Fenthion	278 > 109
34	Fenvalerate	167 > 125
35	Fipronil	351 > 255
36	Flucythrinate	199 > 107
37	Fluquinconazole	340 > 108
38	Fluridone	329 > 328
39	Flutolanil	173 > 145
40	Fluvalinate	250 > 55
41	Hexazinone	171 > 71
42	Isofenphos	213 > 121
43	Isofenphos Oxon	229 > 201
44	Isoprothiolane	290 > 118

No	農薬名	MRM条件
45	Kresoxim-methyl	206 > 116
46	Malathion	173 > 99
47	Methidathion	145 > 85
48	Methoxychlor	227 > 169
49	Metolachlor	238 > 162
50	Myclobutanil	179 > 125
51	Norflurazon	303 > 145
52	Omethoate	156 > 110
53	Oxadiazon	258 > 175
54	Oxyfluorfen	300 > 223
55	Parathion	291 > 109
56	Parathion-methyl	263 > 109
57	Penconazole	248 > 157
58	Pendimethalin	252 > 162
59	<i>cis</i> -Permethrin	163 > 127
60	<i>trans</i> -Permethrin	163 > 127
61	Phosmet	160 > 77
62	Pirimiphos-methyl	290 > 125
63	Procyridone	283 > 96
64	Profenofos	339 > 269
65	Propanil	217 > 161
66	Propargite	135 > 107
67	Propiconazole	259 > 69
68	Propoxur	110 > 64
69	Propyzamide	173 > 145
70	Pyraclufos	360 > 97
71	Pyridaben	147 > 117
72	Pyriproxyfen	136 > 78
73	Quinoxifen	307 > 237
74	Quintozene	249 > 214
75	Simazine	201 > 173
76	Spiroxamine	100 > 58
77	Tebuconazole	250 > 125
78	Tefluthrin	177 > 127
79	Terbufos	231 > 129
80	Terbutryn	241 > 185
81	Tetrachlorvinphos	331 > 109
82	Thiobencarb	257 > 100
83	Triadimefon	208 > 181
84	Triadimenol	168 > 70
85	Triallate	268 > 184
86	Triazophos	257 > 162
87	Trifluralin	306 > 264
88	Vinclozolin	285 > 212

表 3 参加機関の GC-MS (/MS) 測定条件

研究機関名		a	b	c	d	e	f
使用機器 (GC)	メーカー	Thermo	Agilent	Agilent	Agilent	Agilent	Agilent
	機種名	Polaris Q	7890A	7890ZA	7890A	7890B	7890A
使用機器 (MS)	メーカー	同上	Agilent	Agilent	Agilent	Agilent	Agilent
	機種名		7000C	5975C	7000B	7000C	7000B
使用カラム		関東化学 ENV-5MS	Agilent VF-5MS	Agilent HP-5MS UI	Agilent DB-5MS	Agilent VF-5MS	Agilent DB-5MS UI
温度条件	カラム	50°C (1) → 20°C/分→ 180°C (0) → 5°C/分→ 300°C (10) post run 320 (10)	70°C (2) → 25°C/分→ 150°C (0) → 3°C/分→ 200°C (0) → 8°C/分→ 310°C (5)	50°C (1) → 20°C/分→ 160°C (0) → 5°C/分→ 220°C (0) →8°C/分→ 310°C (10, 25)	50°C (1) → 25°C/分→ 125°C (0) → 10°C/分→ 300°C (10) →20°C/分 →310°C (10)	70°C (2) → 25°C/分→ 150°C (0) → 3°C/分→ 200°C (0) → 8°C/分→ 310°C (10)	50°C (4) → 25°C/分→ 125°C → 10°C/分→ 300°C (6) →25°C/分 →310°C (8, 1)
	注入口	50°C (0. 1) →14. 5°C/ 秒→260°C (5)	250°C	280°C	250°C	250°C	70°C (0. 3) →120°C/分 →240°C→ 50°C/分→ 290°C (32. 3)
注入方式 注入時圧力値		PTV スプリ ットレス 17. 4 psi	パルスド スプリッ トレス 25 psi	スプリッ トレス 8. 8 psi	スプリッ トレス 20. 2 psi	パルスド スプリッ トレス 25 psi	大量注入 装置
インサートライナー		PTV 用 ウール無	スプリッ トレス用 ウール有	スプリッ トレス用 ウール無	スプリッ トレス用 ウール有	スプリッ トレス用 ウール有	胃袋型 ウール無
測定モード		SCAN	MRM	SIM	MRM	MRM	MRM
注入量 (μL)		1	2	2	2	2	25
最終試験液濃度 (試料 g/mL 相当)		2	1	10	4	1	0. 5
負荷量 (試料 mg 相当) *		2	2	20	8	2	12. 5

\*: 一分析あたりの負荷量 (試料 mg 相当) = 最終試験液濃度 (mg/μL) × 注入量 (μL)

表4 検量線の調製方法（ホールピペットを用いて等量混合）

添加試薬	検量線				
	A	B	C	D	E
内部標準液	○	○	○	○	○
ブランク試験液（試料マトリックス）	○	-	-	-	-
ブランク試験液（VFJ）	-	-	○	-	○
PEG	-	-	-	○	○

表5 シークエンス作成方法

分析 順	検量線 A (例：ほうれん草)	検量線 B, C, D, E
	試験液	試験液
1	捨て分析 (Std. 10 ng/mL)	捨て分析 (Std. 10 ng/mL)
2	Std. 10 ng/mL	Std. 10 ng/mL
3	Std. 20 ng/mL	Std. 20 ng/mL
4	Std. 50 ng/mL	Std. 50 ng/mL
5	Std. 75 ng/mL	Std. 75 ng/mL
6	Std. 100 ng/mL	Std. 100 ng/mL
7	捨て分析（ほうれん草 BL）	捨て分析（ほうれん草 BL）
8	ほうれん草 BL	ほうれん草 BL
9	ほうれん草 Spiked-1	ほうれん草 Spiked-1
10	ほうれん草 Spiked-2	ほうれん草 Spiked-2
11	ほうれん草 Spiked-3	ほうれん草 Spiked-3
12	捨て分析 (Std. 10 ng/mL)	捨て分析（えだまめ BL）
13	Std. 10 ng/mL	えだまめ BL
14	Std. 20 ng/mL	えだまめ Spiked-1
15	Std. 50 ng/mL	えだまめ Spiked-2
16	Std. 75 ng/mL	えだまめ Spiked-3
17	Std. 100 ng/mL	捨て分析 (Std. 10 ng/mL)
18	終了	Std. 10 ng/mL
19		Std. 20 ng/mL
20		Std. 50 ng/mL
21		Std. 75 ng/mL
22		Std. 100 ng/mL
23		終了

注) 検量線の標準溶液の濃度は、各協力機関により異なる

表6 標準溶液 (50 ppb) 感度比較 (連続 20 回測定。検量線 B の平均面積値を 100 とした)

ID	農薬名	相対ピーク面積値			
		B	C	D	E
1	Triphenyl-phosphate	100	374	401	532
2	Omethoate	100	737	763	1633
3	Propoxur	100	351	85	243
4	Ethorophos	100	243	233	337
5	Trifluralin	100	206	177	250
6	Dimethoate	100	353	312	517
7	Carbofuran	100	418	80	245
8	Simazine	100	235	220	288
9	Atrazine	100	224	212	270
10	Quintozene	100	146	134	155
11	Terbufos	100	199	260	281
12	Propyzamide	100	204	294	319
13	Diazinon	100	188	238	255
14	Tefluthrin	100	182	198	220
15	Triallate	100	179	192	228
16	Propanil	100	274	338	437
17	Chorpyrifos-methyl	100	180	172	210
18	Vinclozolin	100	188	188	233
19	Parathion-methyl	100	202	201	263
20	Atachlor	100	260	270	335
21	Spiroxamine	100	280	257	329
22	Pirimiphos-methyl	100	229	212	302
23	Terbutryn	100	315	310	443
24	Fenitrothion	100	235	228	325
25	Malathion	100	269	163	327
26	Metolachlor	100	248	245	326
27	Chlorpyrifos	100	173	162	206
28	Thiobencarb	100	230	229	296
29	Fenthion	100	194	181	238
30	Fenprophosph	100	231	196	265
31	Parathion	100	199	190	281
32	Isofenphos Oxon	100	276	534	904
33	Triadimefon	100	248	232	327
34	Chlorfenvinphos	100	396	789	936
35	Pendimethalin	100	333	207	406
36	Fipronil	100	312	388	524
37	Penconazole	100	293	411	450
38	Allethrin	100	303	479	571
39	Isofenphos	100	300	378	402
40	Triadimenol	100	349	601	732
41	Procymidone	100	196	216	242
42	Methidathion	100	287	322	417
43	Tetrachlorvinphos	100	440	644	902
44	Fenamiphos	100	298	738	1189
45	Flutolanil	100	299	398	529
46	Isoprothiolane	100	334	368	492
47	Profenofos	100	394	398	733
48	Oxadiazon	100	232	232	282
49	Myclobutanil	100	316	294	396
50	Oxvfluorfen	100	276	244	377
51	Kresoxim-methyl	100	404	271	464
52	Buprofezin	100	365	300	418
53	Chlorfenpyr	100	246	208	278
54	Cyproconazole	100	366	345	533
55	Chlorobenzilate	100	317	277	440
56	Ethion	100	284	225	372
57	Triazonphos	100	382	337	569
58	Norflurazon	100	360	574	715
59	Propconazole	100	337	508	587
60	Quinoxifen	100	241	320	338
61	Hexazinone	100	423	694	772
62	Tebuconazole	100	380	624	777
63	Diflufenican	100	410	644	839
64	Propargite	100	411	530	644
65	Acetamiprid	100	411	1181	1656
66	Bifenthrin	100	349	367	497
67	Phosmet	100	411	38	245
68	Bromopropylate	100	309	382	559
69	Methoxychlor	100	208	229	259
70	Fenpropathrin	100	324	273	500
71	Azinphos-methyl	100	481	436	764
72	Cyhalothrin	100	246	59	267
73	Pyriproxyfen	100	342	343	459
74	Fenarimol	100	278	636	668
75	Pyraclofos	100	468	1010	2235
76	Bitertanol	100	319	743	1068
77	trans-Permethrin	100	323	469	617
78	cis-Permethrin	100	291	450	576
79	Fluquinconazole	100	277	50	265
80	Pyridaben	100	303	435	572
81	Cyfluthrin	100	258	40	261
82	Fenbuconazole	100	369	615	826
83	Cypermethrin	100	270	45	284
84	Flucythrinate	100	256	51	317
85	Fluridone	100	344	2191	2687
86	Fenvalerate	100	244	55	310
87	Fluvalinate	100	229	16	112
88	Difenoconazole	100	290	787	1081
89	Deltamethrin	100	207	32	217

表7 標準溶液 (50 ppb) 連続測定 (20回) における相対標準偏差 (%)

ID	農薬名	連続測定 RSD (%)			
		B	C	D	E
1	Triphenyl-phosphate	8	5	4	3
2	Omethoate	30	10	12	6
3	Propoxur	6	4	7	6
4	Ethoprophos	5	4	2	3
5	Trifluralin	4	3	2	4
6	Dimethoate	10	4	5	4
7	Carbofuran	7	5	8	8
8	Simazine	5	3	3	4
9	Atrazine	6	3	3	4
10	Quintozene	4	3	3	3
11	Terbufos	5	3	2	3
12	Propyzamide	4	3	2	3
13	Diazinon	5	4	2	4
14	Tefluthrin	4	3	3	3
15	Triallate	5	3	3	3
16	Propanil	6	3	3	4
17	Chlorpyrifos-methyl	5	4	2	3
18	Vinclozolin	5	4	3	4
19	Parathion-methyl	5	4	5	4
20	Alachlor	5	4	2	3
21	Spiroxamine	4	3	3	3
22	Pirimiphos-methyl	5	4	3	4
23	Terbutryn	5	3	3	4
24	Fenitrothion	5	4	4	4
25	Malathion	5	4	8	3
26	Metolachlor	5	4	3	3
27	Chlorpyrifos	6	3	3	4
28	Thiobencarb	6	4	4	4
29	Fenthion	5	4	3	3
30	Fenpropi-morph	4	3	2	4
31	Parathion	4	3	4	4
32	Isofenphos Oxon	11	7	3	3
33	Triadimefon	5	3	3	4
34	Chlorfenvinphos	7	4	2	3
35	Pendimethalin	4	4	4	4
36	Fipronil	5	4	6	4
37	Penconazole	6	3	2	3
38	Allethrin	5	4	6	4
39	Isofenphos	6	3	2	3
40	Triadimenol	6	4	3	4
41	Procymidone	4	4	3	3
42	Methidathion	5	4	5	4
43	Tetrachlorvinphos	7	7	8	5
44	Fenamiphos	10	4	4	4
45	Flutolanil	5	3	3	4
46	Isoprothiolane	8	3	3	4
47	Profenofos	7	6	9	4
48	Oxadiazon	5	3	3	3
49	Myclobutanil	6	3	3	3
50	Oxfluorfen	5	4	4	4
51	Kresoxim-methyl	6	4	3	4
52	Buprofezin	6	4	3	4
53	Chlorfenpyr	7	6	5	3
54	Cyproconazole	5	3	3	4
55	Chlorobenzilate	4	3	3	3
56	Ethion	5	3	3	4
57	Triazophos	7	4	3	3
58	Norflurazon	6	4	3	3
59	Propiconazole	5	3	3	3
60	Quinoxifen	5	4	3	3
61	Hexazinone	10	4	2	3
62	Tebuconazole	6	4	3	3
63	Diflufenican	6	4	3	4
64	Propaquizafop	4	4	4	3
65	Acetamiprid	18	11	3	4
66	Bifenthrin	5	4	3	4
67	Phosmet	6	7	25	12
68	Bromopropylate	6	4	3	4
69	Methoxychlor	5	8	5	6
70	Fenpropathrin	5	4	7	4
71	Azinphos-methyl	6	10	15	7
72	Cyhalothrin	5	4	21	6
73	Pyrriproxifen	5	4	2	4
74	Fenarimol	5	3	2	4
75	Pyraclofos	8	12	18	6
76	Bitertanol	6	6	3	5
77	trans-Permethrin	5	4	3	4
78	cis-Permethrin	5	4	3	4
79	Fluquinconazole	6	4	25	6
80	Pyridaben	4	4	3	4
81	Cyfluthrin	4	5	25	7
82	Fenbuconazole	7	6	4	4
83	Cypermethrin	4	4	27	8
84	Flucythrinate	5	4	25	6
85	Fluridone	15	10	3	4
86	Fenvalerate	4	4	28	6
87	Fluvalinate	4	4	25	14
88	Difenoconazole	9	6	4	4
89	Deltamethrin	5	5	28	8

表 8 PEG 添加濃度が農薬感度に及ぼす影響 (溶媒標準の平均面積値を 100 とした)

ID	農薬名	PEG 添加量 (ng)				
		0	100	250	500	750
1	Triphenyl-phosphate	100	411	549	558	564
2	Omethoate	100	1179	2124	2695	3371
3	Propoxur	100	239	205	173	157
4	Ethoprophos	100	185	246	275	307
5	Trifluralin	100	138	182	202	219
6	Dimethoate	100	289	403	458	524
7	Carbofuran	100	189	181	170	164
8	Simazine	100	163	225	255	288
9	Atrazine	100	158	215	245	269
10	Quintozene	100	126	147	148	151
11	Terbufos	100	266	311	295	310
12	Propyzamide	100	260	325	347	372
13	Diazinon	100	205	257	272	295
14	Tefluthrin	100	170	208	223	239
15	Triallate	100	164	204	216	232
16	Propanil	100	238	336	383	437
17	Chorpyrihos-methy	100	170	207	214	231
18	Vinclozolin	100	156	196	209	226
19	Parathion-methyl	100	191	243	250	271
20	Alachlor	100	204	282	314	348
21	Spiroxamine	100	199	281	322	341
22	Pirimiphos-methyl	100	165	219	244	271
23	Terbutryn	100	201	295	347	394
24	Fenitrothion	100	193	255	280	306
25	Malathion	100	205	234	207	214
26	Metolachlor	100	183	250	281	315
27	Chlorpyrifos	100	149	179	191	207
28	Thiobencarb	100	167	229	255	278
29	Fenthion	100	161	200	214	232
30	Fenpropimorph	100	156	204	224	244
31	Parathion	100	161	209	217	239
32	Isofenphos Oxon	100	627	1063	1335	1642
33	Triadimefon	100	165	224	256	282
34	Chlorfenvinphos	100	1451	1134	1248	1242
35	Pendimethalin	100	155	211	232	251
36	Fipronil	100	273	548	469	387
37	Penconazole	100	380	457	478	503
38	Allethrin	100	384	541	541	564
39	Isofenphos	100	378	475	432	450
40	Triadimenol	100	373	608	739	836
41	Procymidone	100	189	235	246	263
42	Methidathion	100	324	443	484	536
43	Tetrachlorvinphos	100	692	1135	1349	1608
44	Fenamiphos	100	604	1124	1569	1940
45	Flutolanil	100	263	389	456	511

ID	農薬名	PEG 添加量 (ng)				
		0	100	250	500	750
46	Isoprothiolane	100	331	479	553	624
47	Profenofos	100	420	618	654	722
48	Oxadiazon	100	196	246	266	290
49	Myclobutanil	100	240	321	355	390
50	Oxvflorfen	100	196	261	288	310
51	Kresoxim-methyl	100	218	294	311	329
52	Buprofezin	100	251	341	378	402
53	Chlorfenpyr	100	193	236	245	264
54	Cyproconazole	100	265	382	446	509
55	Chlorobenzilate	100	246	333	363	398
56	Ethion	100	182	240	264	298
57	Triazophos	100	313	474	549	637
58	Norflurazon	100	536	753	813	893
59	Propconazole	100	463	647	667	724
60	Quinoxifen	100	274	373	377	365
61	Hexazinone	100	964	1526	1706	186
62	Tebuconazole	100	465	764	922	102
63	Diflufenican	100	366	623	715	808
64	Propargite	100	487	732	757	803
65	Acetamidrid	100	1669	3753	5253	639
66	Bifenthrin	100	255	378	425	476
67	Phosmet	100	263	123	<i>82</i>	<i>69</i>
68	Bromopropylate	100	380	560	619	689
69	Methoxychlor	100	265	377	414	459
70	Fenpropathrin	100	231	316	311	317
71	Azinphos-meth	100	560	898	1054	121
72	Cyhalothrin	100	143	<i>93</i>	<i>62</i>	<i>59</i>
73	Pyriproxyfen	100	251	372	423	480
74	Fenarimol	100	373	790	775	794
75	Pyraclifos	100	1065	2491	2856	315
76	Bitertanol	100	588	1251	1681	197
77	trans-Permethrin	100	242	444	530	601
78	cis-Permethrin	100	246	447	516	582
79	Fluquinconazole	100	206	120	<i>60</i>	<i>47</i>
80	Pyridaben	100	289	497	586	654
81	Cyfluthrin	100	128	<i>78</i>	<i>50</i>	<i>45</i>
82	Fenbuconazole	100	644	1322	1617	193
83	Cypermethrin	100	132	<i>89</i>	<i>58</i>	<i>50</i>
84	Flucythrinate	100	187	124	<i>76</i>	<i>66</i>
85	Fluridone	100	1353	5960	9041	108
86	Fenvalerate	100	140	100	<i>69</i>	<i>61</i>
87	Fluvalinate	100	<i>78</i>	<i>33</i>	<i>25</i>	<i>22</i>
88	Difenoconazole	100	665	1633	2394	292
89	Dertamethrin	100	114	<i>69</i>	<i>44</i>	<i>37</i>

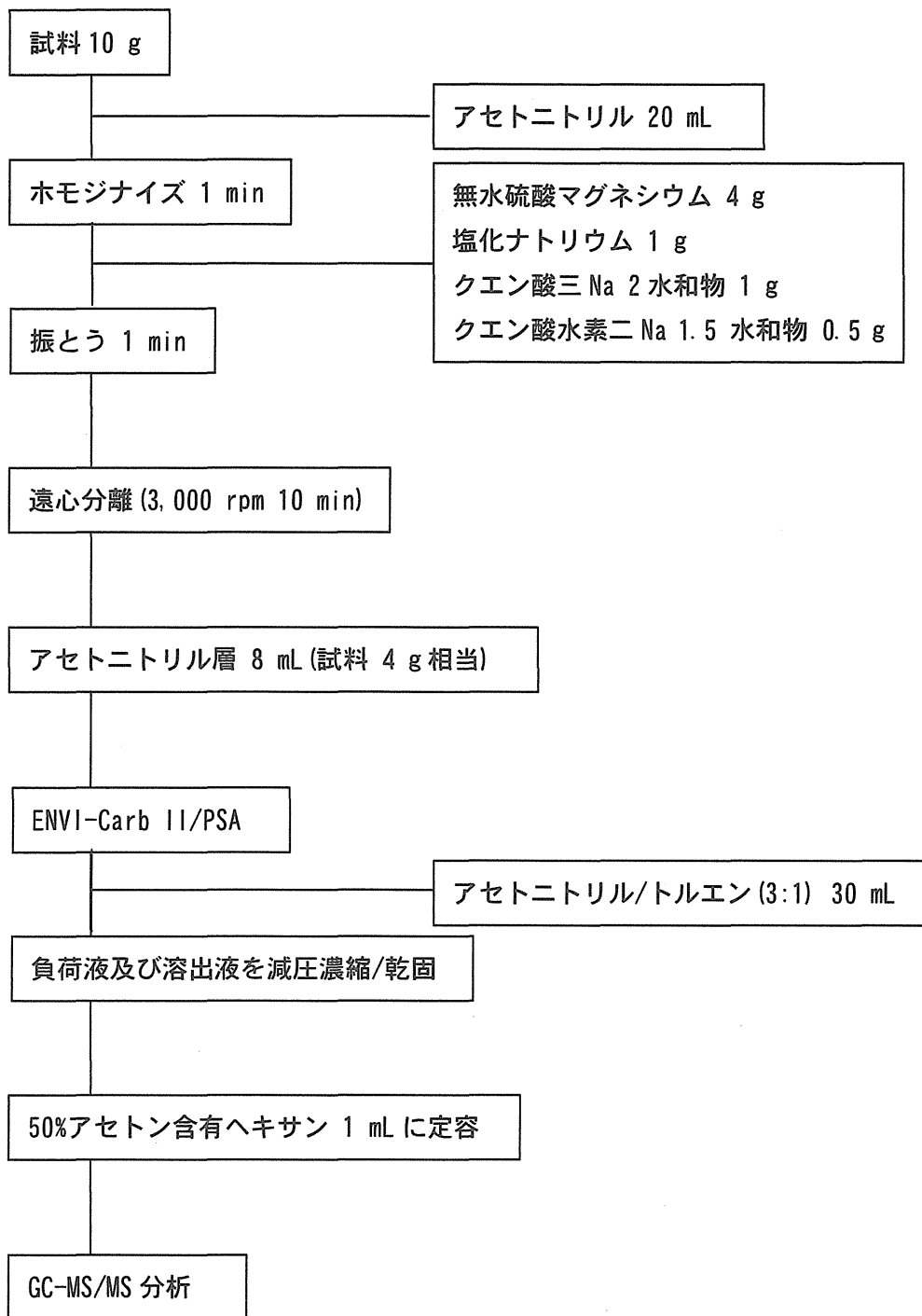


図1 大阪府の試験液調製方法 (追加精製なし)

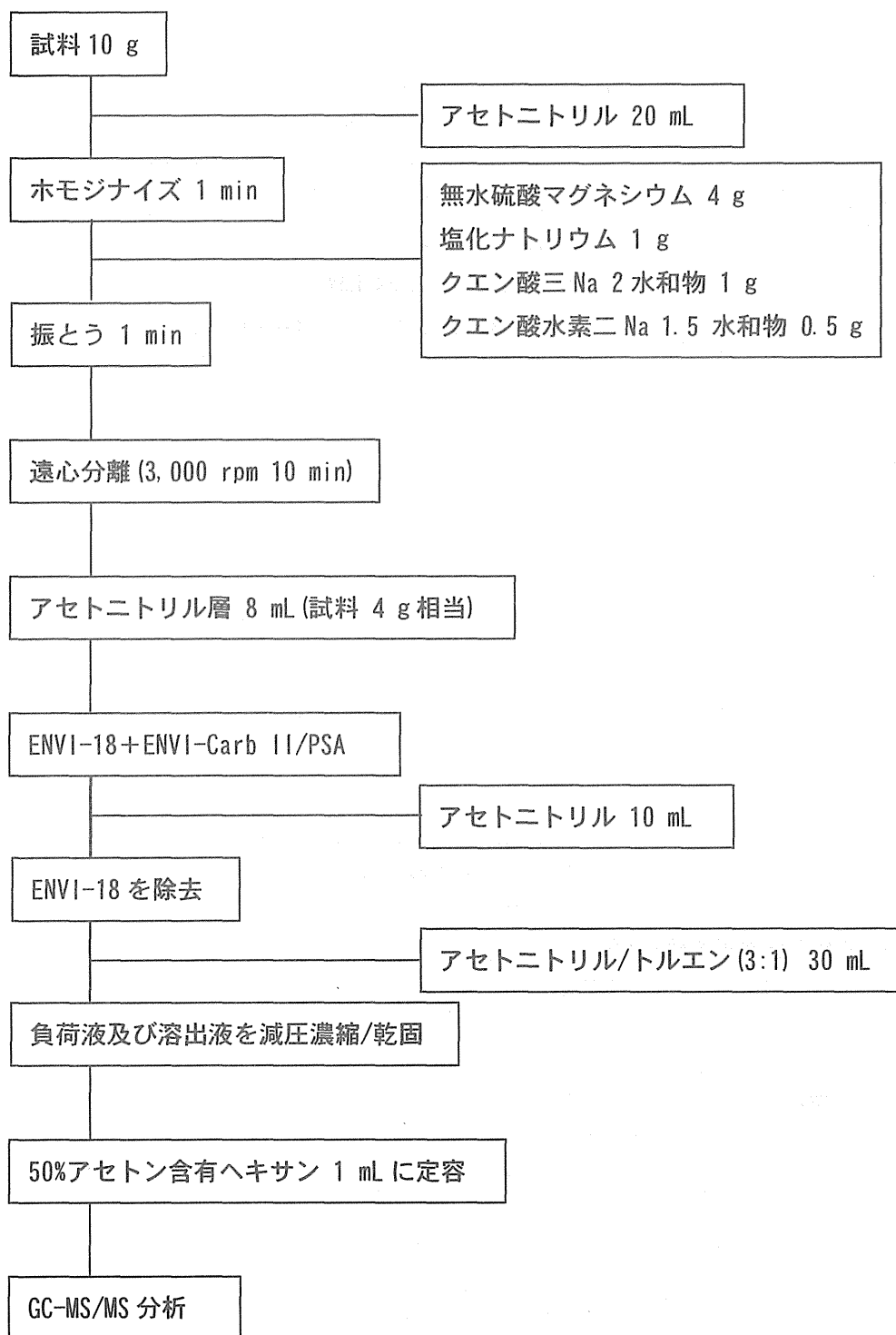


図2 大阪府の試験液調製方法 (追加精製あり)



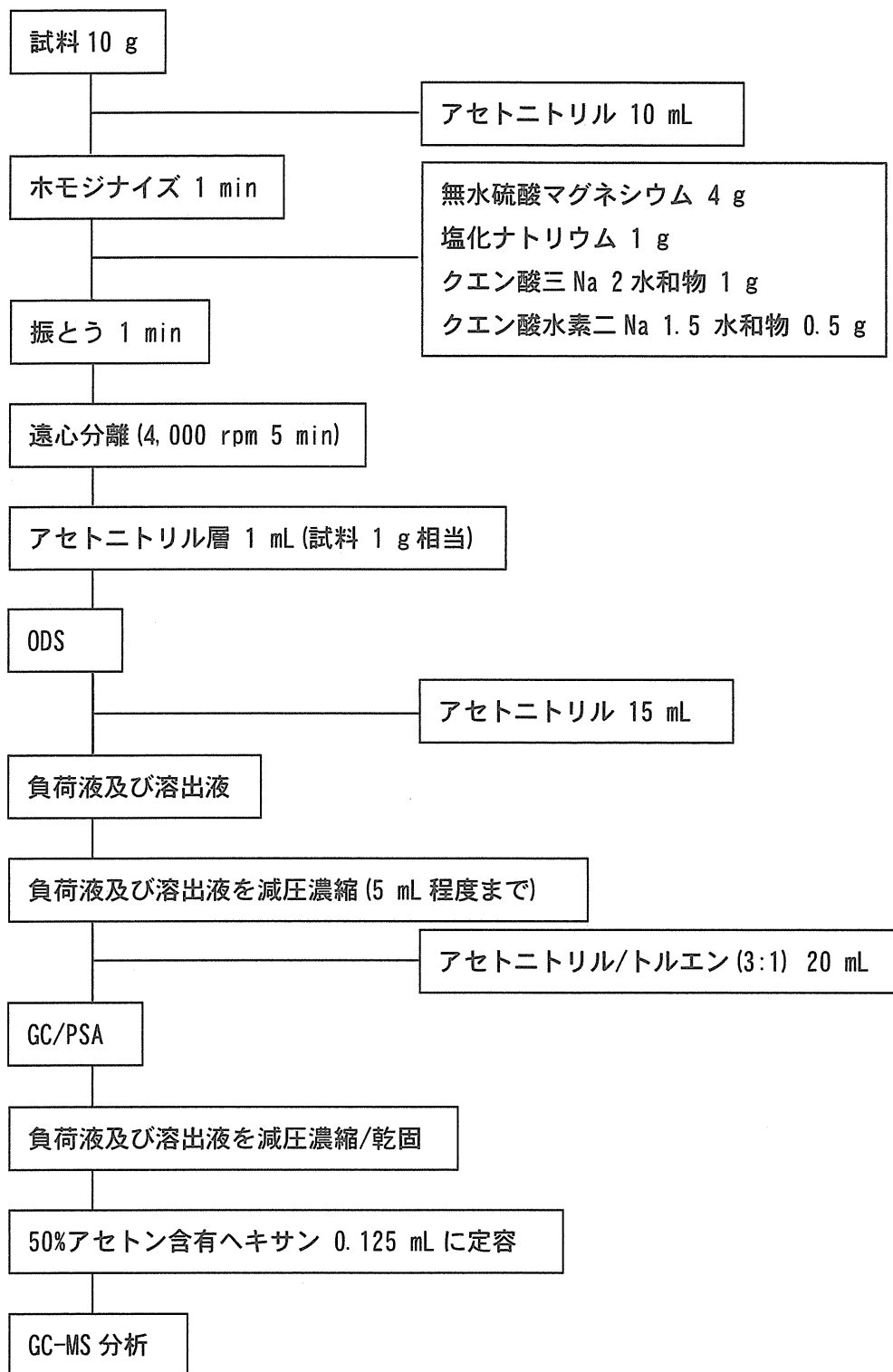


図 3 機関 a の試験液調製方法

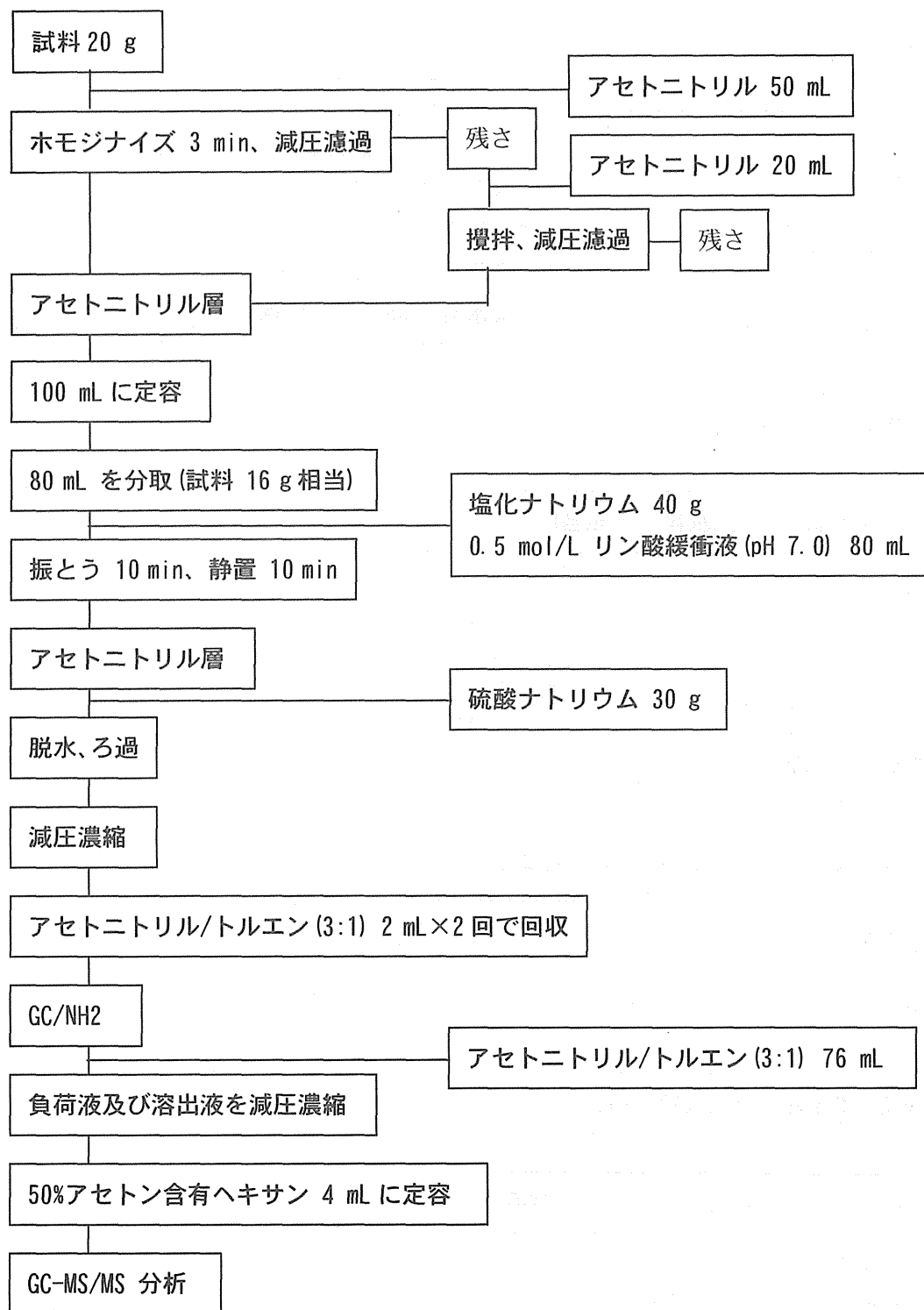


図 4 機関 b の試験液調製方法

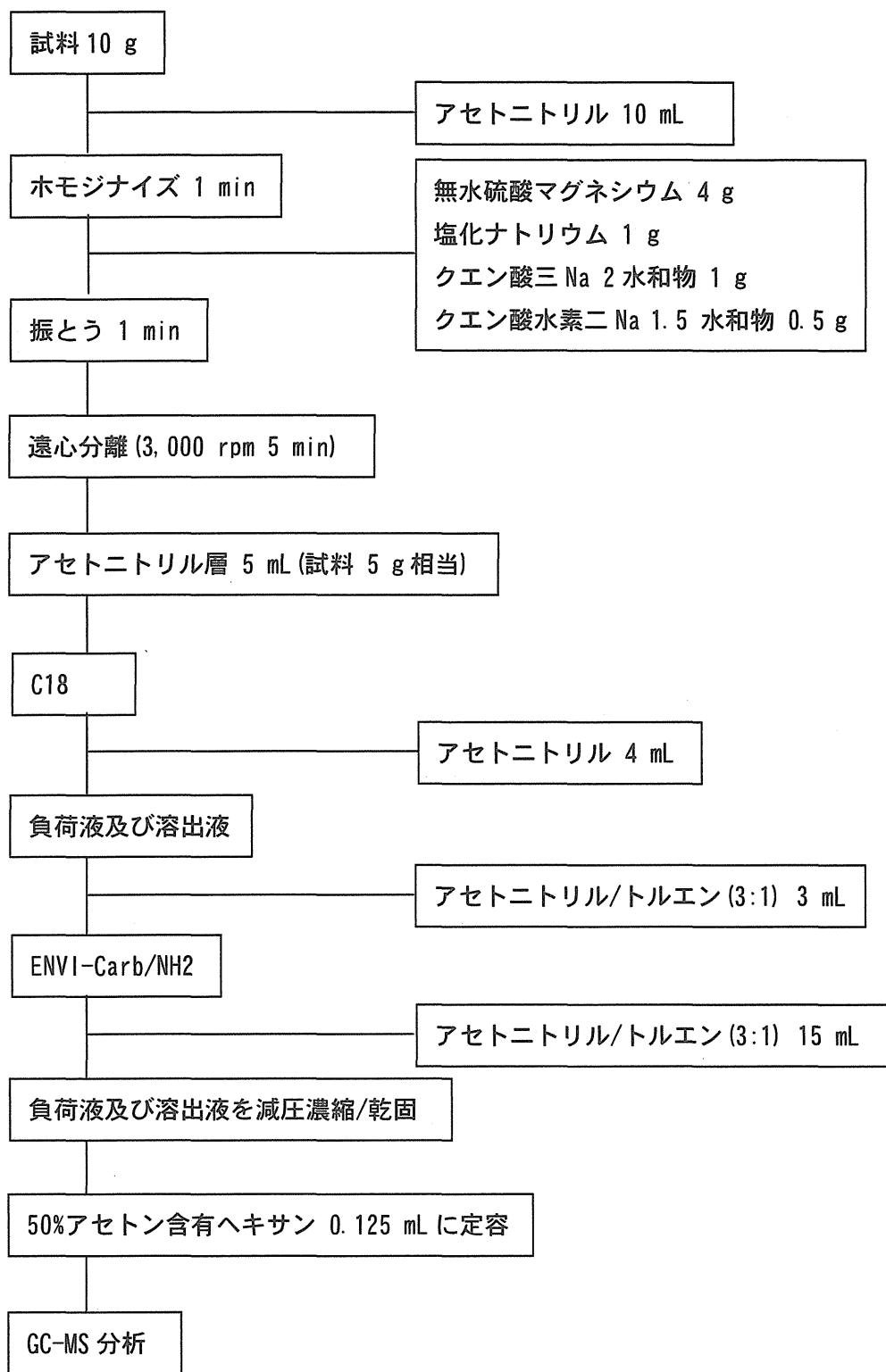


図 5 機関 c の試験液調製方法

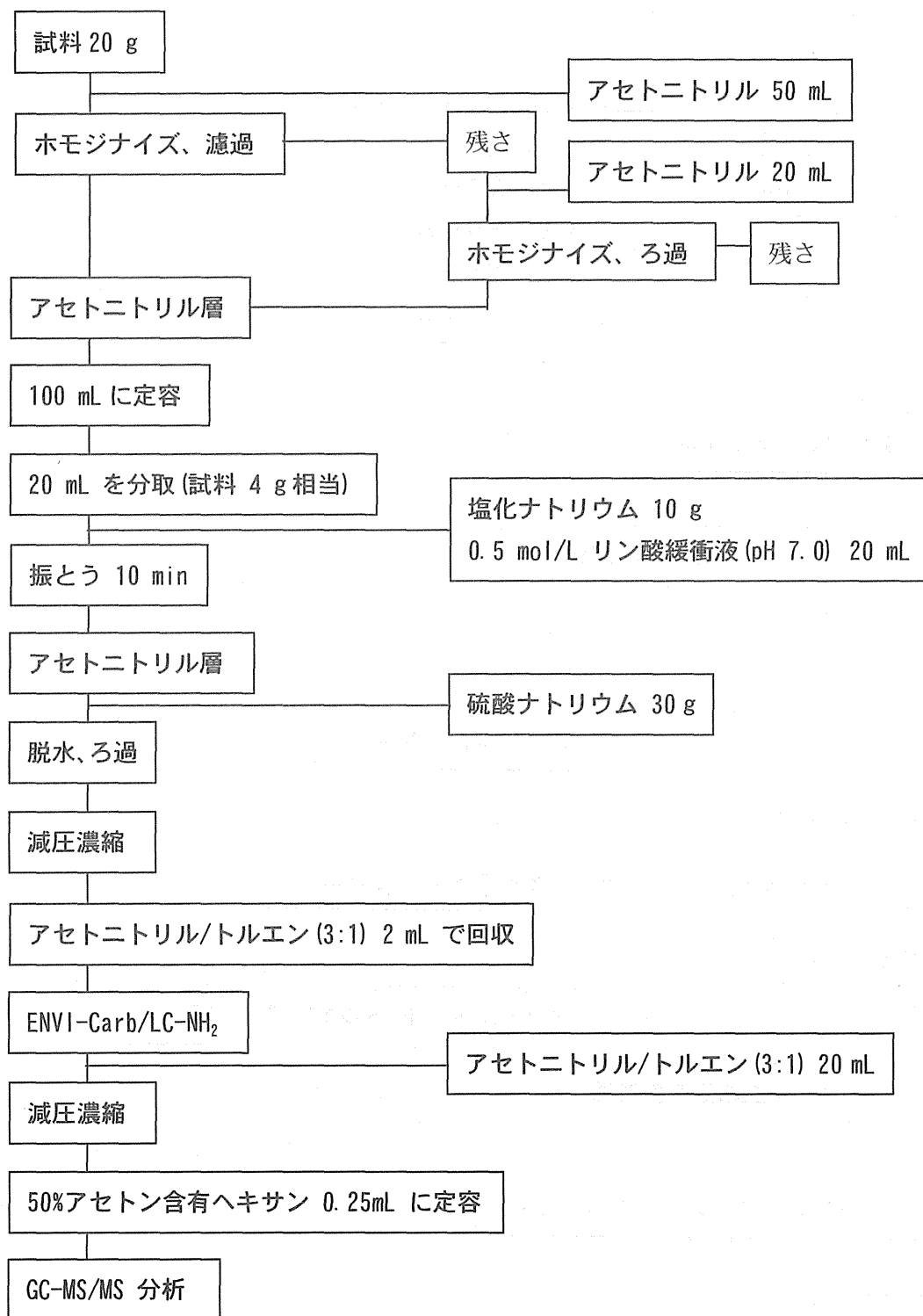


図 6 機関 d の試験液調製方法