

Ⅱ. 分担研究報告

1. 動物性食品中の残留物質及び汚染物質の分析法の確立と 妥当性評価

研究分担者 志田(齊藤) 静夏

動物性食品輸出の規制対策のための研究

動物性食品中の残留物質及び汚染物質の分析法の確立と妥当性評価

研究分担者 志田(齊藤)静夏 国立医薬品食品衛生研究所 食品部 主任研究官

研究要旨

EU へ動物性食品を輸出する際は、残留物質モニタリング計画に基づき、A 物質（スチルベン類等）及び B 物質（抗菌性物質等）のモニタリング検査を行う必要がある。モニタリング検査において A 物質が検出された場合は、原因等を調査して必要な措置をとるまでの間、EU へ輸出することはできない。一方、B 物質がモニタリング部位（肝臓、腎臓等）から検出された場合は筋肉（可食部位）での検査を行い、基準値を超過した場合に原因等の調査が求められる。したがって、B 物質はモニタリング部位に加えて筋肉を対象とした分析法が必要であるが、一部の物質については筋肉を対象とした分析法が整備されていない。本研究では B 物質のうち、牛及び鶏においてモニタリング部位が肝臓または腎臓の物質について筋肉を対象とした分析法を確立し、妥当性を評価することを目的とした。本年度は、鶏の筋肉を対象として 14 分析法（ドラメクチン分析法、レバミゾール分析法、トリクラベンダゾール分析法、ピペラジン分析法、アンプロリウム分析法、エトパベート分析法、ナイカルバジン及びハロフジノン分析法、モネンシン、ラサロシド、ナラシン及びサリノマイシン分析法、カルバルル分析法、ペルメリン分析法、シフルトリン及びフルメリン分析法、フルニキシン分析法、DDT、アルドリン及びディルドリン、エンドリン、ヘプタクロル及びヘプタクロルエポキシド、 α -HCH、 β -HCH 並びに γ -HCH 分析法、PCB 分析法; 27 化合物)を確立し、これらの分析法の妥当性評価試験を実施した。その結果、真度 73.4~109.7%、併行精度 1.3~11.7%、室内精度 3.4~19.9%となり、良好な結果が得られた。いずれも定量を妨害するピークは認められず、選択性に問題はなかった。これらの結果から、14 分析法は鶏の筋肉を対象とした分析法として妥当であることが示された。本研究で確立した分析法を用いることにより、B 物質が鶏のモニタリング部位から検出された場合にも速やかに鶏の筋肉の検査を実施することができ、EU へ動物性食品を輸出する際に求められる検査を円滑に進めることが可能と考えられる。

研究協力機関

(一財) 日本食品分析センター

A. 研究目的

EU に動物性食品を輸出するためには、欧州理事会指令 96/23/EC および規則(EU)2017/625 に従って作成した残留物質モニタリング計画に基づき、A 物質(スチルベン類、抗甲状腺薬、ステロイド

類、レゾルシン酸ラクトン類、 β -作動薬、Council Regulation (EEC) 2377/90 AnnexIV に掲げられた禁止物質(クロラムフェニコール、ニトロフラン類、ニトロイミダゾール等))及び B 物質(抗菌性物質、駆虫剤、抗コクシジウム剤、非ステロイド性抗炎症薬、カルバメート系農薬、ピレスロイド系農薬、有機塩素系農薬、PCB、有機リン系農薬、重金属・有害元素、マイコトキシン)のモニタリング検査を行う必

要がある。モニタリング検査において A 物質がモニタリング部位から検出された場合は、原因等を調査して必要な措置をとるまでの間、EU へ輸出することはできない。一方、B 物質がモニタリング部位(肝臓、腎臓等)から検出された場合は筋肉(可食部位)の検査を行い、基準値を超過した場合に原因等の調査が求められる。このため、B 物質についてはモニタリング部位を対象とした分析法に加え、筋肉を対象とした分析法も必要となる。しかしながら、B 物質の筋肉を対象とした分析法は整備されていない。本研究では、B 物質のうち、牛及び鶏においてモニタリング部位が肝臓又は腎臓となっている物質について、筋肉を対象とした分析法を開発し、確立した分析法について妥当性評価を実施することにより、モニタリング検査で検出された場合に輸出再開に向けた迅速な対応が取れる体制を整備することを目的とした。令和 4 年度(3 年目)は、抗菌性物質以外の B 物質のうち、鶏においてモニタリング対象部位が肝臓又は腎臓の物質(ドラメクチン等の 27 化合物)について、鶏の筋肉を対象とした分析法を確立し、妥当性評価を実施した。

B. 研究方法

試料： 鶏の筋肉は、インターネット経由で岩手県産(ピペラジン分析法は神奈川県川崎市のスーパーで四国産、PCB 分析法はインターネット経由で青森県産)を購入した。可能な限り脂肪層を除き、ロボクープブrikサーを用いて細切均一化した。

1. ドラメクチン分析法

① 試薬・試液

ドラメクチン標準品:純度 98.7%(Sigma-Aldrich 製)
酢酸エチル:残留農薬試験用(関東化学製)

メタノール、アセトニトリル:HPLC 用(関東化学製)
ギ酸、酢酸アンモニウム、メタノール:特級(関東化学製)

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカ
ゲル積層ミニカラム:InertSep GC/NH2

(500 mg/500 mg/20 mL、ジーエルサイエンス製)

酢酸エチル及びギ酸の混液(100:1):酢酸エチル
100 mL 及びギ酸 1 mL を混合した。

1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液:酢酸アンモニウム
15.4 g を量り、水を加えて溶かし正確に 200 mL とした。

2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液:1 mol/L 酢酸アン
モニウム溶液 2 mL 及び水 1000 mL を混合した。

標準原液:ドラメクチン標準品約 10 mg を精秤し、
メタノール(HPLC 用)で溶解して 100 mg/L 溶液を
調製した。

添加用標準溶液:ドラメクチン標準原液をメタノ
ール(HPLC 用)で希釈して 0.5 mg/L 溶液を調製した。

② 装置

ホモジナイザー:T 25 digital ULTRA-
TURRAX(IKA ジャパン製)

ロータリーエバポレーター:N-1300(東京理化学
器械製)

LC-MS/MS (測定条件:表 1-1)

装置	型式	メーカー
MS	Triple Quad 5500+ QTRAP	SCIEX
LC	ExionLC AD	SCIEX
データ処理	Analyst	SCIEX

③ 定量

ドラメクチン標準原液をメタノール(HPLC
用)で希釈して 0.25、0.5、1、2.5 及び 5 µg/L の
標準溶液を調製した。この溶液 2 µL を LC-
MS/MS に注入して、得られたピーク面積を用
いて検量線を作成した。試験溶液 2 µL を LC-

MS/MS に注入し、検量線から絶対検量線法によりドラメクチンの含量を算出した。

④ 添加試料の調製

試料 10 g に添加用標準溶液(0.5 mg/L)0.1 mL[メタノール溶液]を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

⑤ 試験溶液の調製

概要 (図 1-1)

ドラメクチンを試料からメタノールで抽出し、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製した後、LC-MS/MS で定量及び確認した。

a. 抽出

試料 10 g を 250 mL 容広口ポリ瓶に量り採り、メタノール (特級) 100 mL を加えた。ホモジナイザーで 1 分間攪拌した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙(直径 60 mm、No. 4、桐山製作所製)を用いて吸引ろ過した。ろ紙上の残留物をメタノール (特級) 50 mL で洗浄し、ろ液を 200 mL 容全量フラスコに合わせて、メタノール (特級) で定容した。

b. 精製

抽出液 4 mL(試料 0.2 g 相当)をグラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム [InertSep GC/NH₂(500 mg/500 mg/20 mL)] (あらかじめメタノール (HPLC 用) 10 mL で洗浄したもの)に負荷した後、酢酸エチル及びギ酸の混液(100 : 1)20 mL で溶出し、溶出液を遠心管に受けた。溶出液をロータリーエバポレーター(40°C)で濃縮乾固し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。残留物をメタノール (HPLC 用) 2 mL に溶解したものを試験溶液とした。

⑥ 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に定量限界濃度(5 µg/kg)で妥当性評価試験を実施した。妥当性評価ガイドラインに従い、1 日 1 回(2 併行)、5 日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。

2. レバミゾール分析法

① 試薬・試液

レバミゾール塩酸塩標準品：純度 100%(富士フィルム和光純薬製)

アセトニトリル、ヘキサン：残留農薬試験用(関東化学製)

アセトニトリル、メタノール：HPLC 用(関東化学製)

ギ酸：特級(関東化学製)

無水硫酸ナトリウム：PCB 分析用(関東化学製)

メンブランフィルター：PTFE シリンジフィルター(0.22 µm、中部科学機器製)

アセトニトリル飽和ヘキサン：ヘキサン 500 mL とアセトニトリル(残留農薬試験用)100 mL を混合し、5 分間振とう後静置してヘキサン層を分取した。

水及びアセトニトリルの混液(3 : 2)：水 120 mL 及びアセトニトリル(HPLC 用)80 mL を混合した。

水及びギ酸の混液(1000 : 1)：水 1000 mL 及びギ酸 1 mL を混合した。

標準原液：レバミゾール塩酸塩標準品をレバミゾールとして約 25 mg を精秤し、メタノールで溶解して 500 mg/L 溶液を調製した。

添加用標準溶液：レバミゾール標準原液をメタノールで希釈して 1 mg/L 溶液を調製した。

② 装置

ホモジナイザー：T 25 digital ULTRA-TURRAX(IKA ジャパン製)

遠心分離機：H-107DF 及び H-80Rα (コクサン製)

振とう機：EL(スギヤマゲン製)

ロータリーエバポレーター：N-1300(東京理化学器械製)

LC-MS/MS (測定条件：表 1-2)

装置	型式	メーカー
MS	Triple Quad 5500	SCIEX
LC	ExionLC AD	SCIEX
データ処理	Analyst	SCIEX

③ 定量

レバミゾール標準原液を水及びアセトニトリルの混液(3 : 2)で希釈して 0.125、0.25、0.5、1、2.5 及び 5 µg/L の標準溶液を調製した。この溶液 5 µL を LC-MS/MS に注入して、得られたピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 5 µL を LC-MS/MS に注入し、検量線から絶対検量線法によりレバミゾールの含量を算出した。

④ 添加試料の調製

試料 10 g に添加用標準溶液(1 mg/L)100 µL[メタノール溶液]を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

⑤ 試験溶液の調製

概要 (図 1-2)

レバミゾールを試料からアセトニトリルで抽出し、ヘキサンで洗浄した後、LC-MS/MS で定量及び確認した。

a. 抽出

試料 10 g を 250 mL 容広口ポリ瓶に量り取り、

アセトニトリル(残留農薬試験用)60 mL 及び無水硫酸ナトリウム 20 g を加えた後、ホモジナイザーで 1 分間攪拌した。3000 r/min で 5 分間遠心分離した後、アセトニトリル層を綿栓ろ過した。残留物にアセトニトリル(残留農薬試験用)40 mL を加え 5 分間振とうし、3000 r/min で 5 分間遠心分離した後、アセトニトリル層を綿栓ろ過した。

b. 精製

a. で得られたろ液を合わせ、アセトニトリル飽和ヘキサン 100 mL を加え 5 分間振とう後、アセトニトリル層を 200 mL 容全量フラスコにとり、アセトニトリル(残留農薬試験用)で定容した。抽出液 1 mL(試料 0.05 g 相当)を遠沈管に分取し、ロータリーエバポレーター(40 °C)で濃縮乾固し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。残留物を水及びアセトニトリルの混液(3 : 2)1 mL に溶解し、メンブランフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

⑥ 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に基準値濃度(10 µg/kg)で妥当性評価試験を実施した。妥当性評価ガイドラインに従い、1 日 1 回(2 併行)、5 日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。

3. トリクラベンダゾール分析法

① 試薬・試液

トリクラベンダゾール標準品：純度 99.9%(富士フィルム和光純薬製)

トリクラベンダゾールオキシソン標準品：純度 98.4%(富士フィルム和光純薬製)

メタノール、アセトニトリル、酢酸エチル、酢酸、水酸化ナトリウム、塩酸、酢酸アンモ

ニウム：特級(富士フィルム和光純薬製)
 エタノール：特級(キシダ化学製)
 メタノール：LC-MS用(富士フィルム和光純薬製)
 30%過酸化水素水：精密分析用(富士フィルム和光純薬製)
 スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム：Oasis MCX(500 mg/6 mL、Waters 製)
 メンブランフィルター：Millex-LG(0.2 μm、MILLIPORE 製)
 5 mol/L 水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム 200 g を量り、水を加えて溶かし 1000 mL とした。
 5 mol/L 塩酸：塩酸 450 mL に水を加えて 1000 mL とした。
 エタノール及び酢酸の混液(1：1)：エタノール 50 mL 及び酢酸 50 mL を混合した(用時調製)。
 メタノール及び水の混液(7：3)：メタノール 700 mL 及び水 300 mL を混合した。
 アセトニトリル及び水の混液(1：1)：アセトニトリル 1000 mL 及び水 1000 mL を混合した。
 1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液：酢酸アンモニウム 38.54 g を量り、水を加えて溶かし 500 mL とした。
 0.5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液：水 1000 mL 及び 1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 0.5 mL を混合した。
 ケト-トリクラベンダゾール標準原液：トリクラベンダゾールオキシソン標準品約 10 mg を精秤し、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。
 添加用標準原液：トリクラベンダゾール標準品約 10 mg を精秤し、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。
 添加用標準溶液：添加用標準原液をメタノール

ルで希釈して 2 mg/L 溶液を調製した。

② 装置

ロータリーエバポレーター：N-1000(東京理化学器械製)

遠心分離機：H-1000FR(コクサン製)

振とう機：EL(スギヤマゲン製)

ブロックヒーター：MG-3200(東京理化学器械製)

LC-MS/MS (測定条件：表 1-3)

装置	型式	メーカー
MS	Triple Quad 5500	SCIEX
LC	Nexera X2	島津製作所
データ処理	Analyst	SCIEX

③ 定量

ケト-トリクラベンダゾール標準原液をメタノール(特級)で希釈して 5 mg/L 溶液を調製し、さらに、アセトニトリル及び水の混液(1：1)で希釈して 0.05、0.1、0.2、0.5 及び 1 μg/L の標準溶液を調製した。この溶液 5 μL を LC-MS/MS に注入して、得られたピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 5 μL を LC-MS/MS に注入し、検量線から絶対検量線法によりケト-トリクラベンダゾールの含量を算出した。換算係数 1.091* を乗じてトリクラベンダゾールの含量を算出した。

$$* 1.091 = \frac{\text{トリクラベンダゾールの分子量} \quad 359.66}{\text{ケト-トリクラベンダゾールの分子量} \quad 329.57}$$

④ 添加試料の調製

試料 10 g に添加用標準溶液(2 mg/L)0.05 mL[メタノール溶液]を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

⑤ 試験溶液の調製

概要 (図 1-3)

試料をアルカリ加水分解した後、塩酸で酸性としてトリクラベンダゾール及び酸性条件下でケト-トリクラベンダゾールに変換される代謝物を酢酸エチルで抽出した。エタノール及び酢酸混液の溶液とした後、過酸化水素を加え酸化反応でトリクラベンダゾール及びその代謝物をケト-トリクラベンダゾールに酸化した。酸化反応後、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製した後、LC-MS/MS で定量及び確認した。

a. 加水分解

試料 10 g を 50 mL 容分解容器(ポリプロピレン製)に量り取り、5 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 10 mL を加え、密栓して 100°C で 3 時間加熱した。

b. 抽出

放冷後、内容物を 250 mL 容広口ポリ瓶に移し、先の分解容器内をメタノール 5 mL で洗浄し、洗液を内容物と合わせた。5 mol/L 塩酸 12 mL 及び酢酸エチル 40 mL を加え、10 分間振とうした。3500 r/min で 5 分間遠心分離した後、酢酸エチル層を分取した。次いで水層に酢酸エチル 40 mL を加え、5 分間振とうした。

3500 r/min で 5 分間遠心分離した後、酢酸エチル層を分取した。酢酸エチル層を 100 mL 容全量フラスコに合わせ、酢酸エチルで定容した。

抽出液 0.5 mL(試料 0.05 g 相当)をねじ口試験管に分取して、室温で窒素ガスを通じ溶媒を

除去した。

c. 酸化反応

残留物をエタノール及び酢酸の混液(1 : 1)5 mL に溶解し、過酸化水素水 25 µL を加えて密栓をし、90°C で 16 時間加熱した。

d. 精製

試験管を放冷した後、反応物をメタノール 10 mL を用いてなす形フラスコに移し、ロータリーエバポレーター(40°C)で濃縮乾固し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。

残留物をメタノール及び水の混液(7 : 3)5 mL に溶解し、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム [Oasis MCX(500 mg/6 mL)] (あらかじめメタノール 5 mL、メタノール及び水の混液(7 : 3) 5 mL で洗浄したもの)に負荷した。なす形フラスコ内を同混液 5 mL で洗い、洗液をカラムに負荷、洗浄した。

メタノール 20 mL で溶出し、なす型フラスコに受けた。溶出液をロータリーエバポレーター(40°C)で濃縮乾固し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。

残留物をアセトニトリル及び水の混液(1 : 1)4 mL に溶解し、メンブランフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

⑥ 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に定量限界濃度(10 µg/kg)で妥当性評価試験を実施した。妥当性評価ガイドラインに従い、1 日 1 回(2 併行)、5 日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。

4. ピペラジン分析法

① 試薬・試液

ピペラジン標準品:純度 98.0%(Dr.Ehrenstorfer 製)
酢酸エチル、ヘキサン:残留農薬試験用(関東化学製)

メタノール:HPLC 用(富士フィルム和光純薬製)

トリクロロ酢酸:生化学用(富士フィルム和光純薬製)

25%アンモニア水:試薬特級(富士フィルム和光純薬製)

酢酸アンモニウム:試薬特級(関東化学製)

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム:Oasis MCX(500 mg/6 cc、Waters 製)

メンブランフィルター(0.2 μm)付きバイアル:(ジューエルサイエンス製)

10%トリクロロ酢酸:トリクロロ酢酸 50 g を超純水に溶解し、500 mL に定容した。

メタノール及び 25%アンモニア水の混液(95:5):メタノール 190 mL と 25%アンモニア水 10 mL を混合した。

1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液:酢酸アンモニウム 15.41 g に超純水を 200 mL 加え溶解した。

10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液:1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 10 mL と超純水 990 mL を混合した。

標準原液:ピペラジン標準品約 2.5 mg を精秤し、メタノールで溶解して 100 mg/L 溶液を調製した。

② 装置

ホモジナイザー: NS-52 PHYSCOTRON(マイクロテック・ニチオン製)

遠心分離機: H-80F(コクサン製)

LC-MS/MS (測定条件: 表 1-4)

装置	型式	メーカー
MS	Triple Quad 4500	SCIEX
LC	Nexera X2	島津製作所
データ処理	Analyst	SCIEX

③ 定量

ピペラジン標準原液をメタノール及び 25%アンモニア水の混液(95:5)で希釈して 0.5、1、5、10 及び 20 μg/L の標準溶液を調製した。この溶液 5 μL を LC-MS/MS に注入して、得られたピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 5 μL を LC-MS/MS に注入し、検量線から絶対検量線法によりピペラジンの含量を算出した。

④ 添加試料の調製

試料 5 g に添加用標準溶液(1 mg/L)0.05 mL[メタノール及び 25%アンモニア水の混液(95:5)]を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

⑤ 試験溶液の調製

概要 (図 1-4)

ピペラジンを試料から 10%トリクロロ酢酸で抽出と同時にヘキサン及び酢酸エチルで洗浄し、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製した後、LC-MS/MS で定量した。

a. 抽出

試料 5 g を 50 mL 容ポリプロピレン製試験管に量り取り、10%トリクロロ酢酸 30 mL、ヘキサン 5 mL 及び酢酸エチル 5 mL を加えた後、ホモジナイザーで 1 分間攪拌した。2500 r/min で 5 分間遠心分離した後、10%トリクロロ酢酸層を綿栓ろ過した。残留物に 10%トリクロロ酢酸 15 mL、ヘキサン 2 mL 及び酢酸エチル 2 mL を加えた後、ホモジナイザーで 1 分間攪拌した。2500 r/min で 5 分間遠心分離した後、10%トリクロロ酢酸層を綿栓ろ過した。ろ液を 50 mL 容全量フラスコに入れ、10%トリクロロ酢酸で定容した。

b. 精製

抽出液をスルホン酸塩修飾ジビニルベンゼ

ン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム [Oasis MCX(500 mg/6 cc)] (あらかじめメタノール及び 25%アンモニア水の混液(95:5)10 mL、メタノール 5 mL、水 5 mL 及び 10%トリクロロ酢酸 10 mL で洗浄したものに)抽出液 10 mL(試料 1 g 相当)を負荷した。メタノール及び 25%アンモニア水の混液 7.5 mL で溶出し、15 mL 容ポリプロピレン製試験管に受けた。溶出液をメタノール及び 25%アンモニア水の混液で 10 mL に定容し、メンブランフィルター付きバイアルでろ過したものを試験溶液とした。

⑥ 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に定量限界濃度 (10 µg/kg)で妥当性評価試験を実施した。妥当性評価ガイドラインに従い、1日1回(2併行)、5日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。

5. アンプロロリウム分析法

① 試薬・試液

アンプロロリウム塩酸塩標準品:純度 99.3%(富士フイルム和光純薬製)

アセトニトリル:残留農薬試験用(関東化学製)

アセトニトリル、メタノール:HPLC用(関東化学製)

ギ酸:特級(関東化学製)

ギ酸アンモニウム:特級(関東化学製)

カルボキシジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム:Oasis WCX(150 mg/6 mL、Waters 製)

50 mmol/L ギ酸アンモニウム溶液(pH 4.5):ギ酸アンモニウム 3.15 g を超純水 990 mL に加えて溶解し、ギ酸で pH4.5 に調整した後、超純水で 1000 mL とした。

水、アセトニトリル及びギ酸の混液(90:10:2):超純水 900 mL、アセトニトリル(HPLC用)100 mL 及びギ酸 20 mL を混合した。

標準原液:アンプロロリウム塩酸塩標準品約 29 mg(アンプロロリウム 25 mg 相当)を精秤し、メタノールで溶解して 500 mg/L 溶液を調製した。

添加用標準溶液:アンプロロリウム標準原液をメタノールで希釈して 1 mg/L 溶液を調製した。

② 装置

ホモジナイザー: T 25 digital ULTRA-TURRAX (IKA ジャパン製)

遠心分離機: H-80Ra(コクサン製)

振とう機: EL(スギヤマゲン製)

pH 計: D-13(堀場製作所製)

LC-MS/MS (測定条件:表 1-5)

装置	型式	メーカー
MS	Triple Quad 6500+	AB SCIEX
LC	ExionLC AD	AB SCIEX
データ処理	Analyst	SCIEX

③ 定量

アンプロロリウム標準原液を水、アセトニトリル及びギ酸の混液(90:10:2)で希釈して 0.5、1、2.5、5 及び 10 µg/L の標準溶液を調製した。この溶液 2 µL を LC-MS/MS に注入して、得られたピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 2 µL を LC-MS/MS に注入し、検量線から絶対検量線法によりアンプロロリウムの含量を算出した。

④ 添加試料の調製

試料 10 g に添加用標準溶液(1 mg/L)100 µL[メタノール溶液]を添加した。

⑤ 試験溶液の調製

概要 (図 1-5)

アンプロリウムを試料からアセトニトリルで抽出し、カルボキシジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製した後、LC-MS/MSで定量及び確認した。

a. 抽出

試料 10 g を 250 mL 容広口ポリ瓶に量り取り、アセトニトリル（残留農薬試験用）50 mL を加えた後、ホモジナイザーで 1 分間攪拌した。3000 r/min で 10 分間遠心分離した後、上清を綿栓ろ過した。残留物にアセトニトリル（残留農薬試験用）20 mL を加え 5 分間振とうし、3000 r/min で 10 分間遠心分離した後、上清を綿栓ろ過した。ろ液を 100 mL 容全量フラスコに入れ、アセトニトリル（残留農薬試験用）で定容した。

b. 精製

抽出液 10 mL をカルボキシジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム [Oasis WCX(150 mg/6 mL)] (あらかじめアセトニトリル（残留農薬試験用）10 mL で洗浄したもの)に負荷した。カラムをアセトニトリル（残留農薬試験用）5 mL で洗浄した後、水、アセトニトリル及びギ酸の混液(90 : 10 : 2) 10 mL で溶出し、10 mL 容全量フラスコに受けた。同混液で定容したものを試験溶液とした。

⑥ 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に定量限界濃度(10 µg/kg)で妥当性評価試験を実施した。妥当性評価ガイドラインに従い、1日1回(2併行)、5日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。

6. エトパペート分析法

① 試薬・試液

エトパペート標準品:純度 99.4%(富士フィルム和光純薬製)

アセトニトリル、ヘキサン:残留農薬試験用(関東化学製)

アセトニトリル、メタノール:HPLC用(関東化学製)
ギ酸:特級(関東化学製)

無水硫酸ナトリウム:PCB分析用(関東化学製)

メンブランフィルター:PTFE シリンジフィルター (0.22 µm、中部科学機器製)

アセトニトリル飽和ヘキサン:ヘキサン 500 mL とアセトニトリル(残留農薬試験用)100 mL を混合し、5分間振とう後静置してヘキサン層を分取した。

水及びアセトニトリルの混液(3:2):水 120 mL 及びアセトニトリル(HPLC用)80 mL を混合した。

水及びギ酸の混液(1000:1):水 1000 mL 及びギ酸 1 mL を混合した。

標準原液:エトパペート標準品約 25 mg を精秤し、メタノールで溶解して 500 mg/L 溶液を調製した。

添加用標準溶液:エトパペート標準原液をアセトニトリル(HPLC用)で希釈して 0.1 mg/L 溶液を調製した。

② 装置

ホモジナイザー:T 25 digital ULTRA-TURRAX(IKA ジャパン製)

遠心分離機:H-107DF 及び H-80Rα (コクサン製)

振とう機:EL(スギヤマゲン製)

ロータリーエバポレーター:N-1300(東京理化学器械製)

LC-MS/MS (測定条件:表 1-6)

装置	型式	メーカー
MS	Triple Quad 6500+	SCIEX
LC	ExionLC AD	SCIEX
データ処理	Analyst	SCIEX

③ 定量

エトパベート標準原液を水及びアセトニトリルの混液(3:2)で希釈して 0.1、0.2、0.5、1 及び 2 µg/L の標準溶液を調製した。この溶液 2 µL を LC-MS/MS に注入して、得られたピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 2 µL を LC-MS/MS に注入し、検量線から絶対検量線法によりエトパベートの含量を算出した。

④ 添加試料の調製

試料 10 g に添加用標準溶液(0.1 mg/L)1 mL[アセトニトリル溶液]を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

⑤ 試験溶液の調製

概要 (図 1-6)

エトパベートを試料からアセトニトリルで抽出と同時にヘキサンで洗浄した後、LC-MS/MS で定量及び確認した。

a. 抽出

試料 10 g を 250 mL 容広口ポリ瓶に量り取り、アセトニトリル(残留農薬試験用) 60 mL、アセトニトリル飽和ヘキサン 40 mL 及び無水硫酸ナトリウム 20 g を加えた後、ホモジナイザーで 1 分間攪拌した。3000 r/min で 5 分間遠心分離した後、液層を綿栓ろ過し、アセトニトリル層を分取した。残留物及びヘキサン層にアセトニトリル(残留農薬試験用) 40 mL を加え 5 分間振とうし、3000 r/min で 5 分間遠心分離した後、液層を綿栓ろ過し、アセトニトリル層を分取した。アセトニトリル層を 200 mL 容量フラスコに合わせて、アセトニトリル(残留農薬試験用) で定容した。抽出液 4 mL(試料 0.2 g 相当)を遠沈管に分取し、ロータリーエバポレーター(40 °C)で濃縮乾固し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。残留

物を水及びアセトニトリルの混液(3:2)10 mL に溶解し、メンブランフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

⑥ 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に定量限界濃度(10 µg/kg)で妥当性評価試験を実施した。妥当性評価ガイドラインに従い、1 日 1 回(2 併行)、5 日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。

7. ナイカルバジン及びハロフジノン分析法

① 試薬・試液

ナイカルバジン標準品:純度 99.7%(富士フィルム和光純薬製)

ハロフジノン臭化水素酸標準品:純度 98.5%(SIGMA-ALDRICH 製)

アセトニトリル、ヘキサン:残留農薬試験用(関東化学製)

アセトニトリル、メタノール:HPLC 用(関東化学製)

ギ酸:特級(関東化学製)

無水硫酸ナトリウム:PCB 分析用(関東化学製)

メンブランフィルター:PTFE シリンジフィルター(0.22 µm、中部科学機器製)

アセトニトリル飽和ヘキサン:ヘキサン 500 mL とアセトニトリル(残留農薬試験用)100 mL を混合し、5 分間振とう後静置してヘキサン層を分取した。

水及びアセトニトリルの混液(3:2):水 120 mL 及びアセトニトリル(HPLC 用)80 mL を混合した。

水及びギ酸の混液(1000:1):水 1000 mL 及びギ酸 1 mL を混合した。

標準原液:ナイカルバジン標準品を 4,4'-ジニトロカルバニリドとして約 12.5 mg を精秤し、N,N-ジメチルホルムアミドを加えて溶解した後アセトニトリル(HPLC 用)で 250 mg/L 溶液を調製した。ハロフジノン臭化水素酸標準品をハロフジノンとして約 10.0

mgを精秤し、メタノールで溶解して500 mg/L溶液を調製した。

添加用標準溶液:4,4'-ジニトロカルバニリド標準原液をアセトニトリル(HPLC用)で希釈して1 mg/L溶液を調製した。ハロフジノン標準原液をメタノールで希釈して1 mg/L溶液を調製した。

② 装置

ホモジナイザー : T 25 digital ULTRA-TURRAX(IKA ジャパン製)

遠心分離機 : H-107DF 及び H-80Rα(コクサン製)

振とう機 : EL(スギヤマゲン製)

ロータリーエバポレーター : N-1300(東京理化学器械製)

LC-MS/MS (測定条件 : 表 1-7)

装置	型式	メーカー
MS	Triple Quad 5500	SCIEX
LC	ExionLC AD	SCIEX
データ処理	Analyst	SCIEX

③ 定量

4,4'-ジニトロカルバニリド標準原液及びハロフジノン標準原液を水及びアセトニトリルの混液(3 : 2)で希釈して0.125、0.25、0.5、1、2.5及び5 µg/Lの標準溶液を調製した。この溶液5 µLをLC-MS/MSに注入して、得られたピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液5 µLをLC-MS/MSに注入し、検量線から絶対検量線法により4,4'-ジニトロカルバニリド及びハロフジノンの含量を算出した。

④ 添加試料の調製

試料10 gに4,4'-ジニトロカルバニリド添加用標準溶液(1 mg/L)100 µL[アセトニトリル溶液]及びハロフジノン添加用標準溶液(1 mg/L)100 µL[メタノール溶液]を添加し、よく混合した後、

30分間放置した。

⑤ 試験溶液の調製

概要 (図 1-7)

4,4'-ジニトロカルバニリド及びハロフジノンを試料からアセトニトリルで抽出し、ヘキサンで洗浄した後、LC-MS/MSで定量及び確認した。

a. 抽出

試料10 gを250 mL容広口ポリ瓶に量り取り、アセトニトリル(残留農薬試験用)60 mL及び無水硫酸ナトリウム20 gを加えた後、ホモジナイザーで1分間攪拌した。3000 r/minで5分間遠心分離した後、アセトニトリル層を綿栓ろ過した。残留物にアセトニトリル(残留農薬試験用)40 mLを加え5分間振とうし、3000 r/minで5分間遠心分離した後、アセトニトリル層を綿栓ろ過した。

b. 精製

a.で得られたろ液を合わせ、アセトニトリル飽和ヘキサン100 mLを加え5分間振とう後、アセトニトリル層を200 mL容全量フラスコにとり、アセトニトリル(残留農薬試験用)で定容した。抽出液1 mL(試料0.05 g相当)を遠沈管に分取し、ロータリーエバポレーター(40 °C)で濃縮乾固し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。残留物を水及びアセトニトリルの混液(3 : 2)1 mLに溶解し、メンブランフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

⑥ 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に定量限界濃度(10 µg/kg)で妥当性評価試験を実施した。妥当性評価ガイドラインに従い、1日1回(2併行)、5日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価

した。

8. モネンシン、ラサロシド、ナラシン及びサリノマイシン分析法

① 試薬・試液

モネンシンナトリウム水和物標準品：純度 98.7% (Dr.Ehrenstorfer 製)

ラサロシド A ナトリウム塩標準液(100 mg/L)：純度 100%(Dr.Ehrenstorfer 製)

ナラシン A 標準品：純度 86.1%(Sigma Aldrich 製)

サリノマイシンナトリウム塩標準品：純度 79.6% (Dr.Ehrenstorfer 製)

アセトニトリル：残留農薬試験用(関東化学製)

メタノール：HPLC 用(関東化学製)

酢酸アンモニウム：特級(関東化学製)

ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム：Oasis HLB(200 mg/6 mL、Waters 製)

アセトニトリル及び水の混液(9:1)：アセトニトリル 900 mL 及び水 100 mL を混合した。

水及びメタノールの混液(1:1)：水 100 mL 及びメタノール 100 mL を混合した。

1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液：酢酸アンモニウム 15.4 g を量り、水を加えて溶かし正確に 200 mL とした。

2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液：1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 2 mL 及び水 1000 mL を混合した。

標準原液：モネンシンナトリウム水和物標準品を約 21.0 mg(モネンシン 20 mg 相当)を精秤し、メタノールで溶解して 1000 mg/L 溶液を調製した。ラサロシド標準原液は市販の 100 mg/L 溶液を使用した。ナラシン A 標準品約 29.1 mg(ナラシン A 25 mg 相当)を精秤し、メタノールで溶解して 500 mg/L 溶液を調製した。

サリノマイシンナトリウム塩標準品約 32.3 mg(サリノマイシン 25 mg 相当)を精秤し、メタノールで溶解し

て 500 mg/L 溶液を調製した。

添加用標準溶液：モネンシン標準原液、ラサロシド標準原液、ナラシン標準原液及びサリノマイシン標準原液をメタノールで希釈して 0.1 mg/L 混合溶液を調製した。

② 装置

ホモジナイザー：T 25 digital ULTRA-TURRAX(IKA ジャパン製)

LC-MS/MS (測定条件：表 1-8)

装置	型式	メーカー
MS	Triple Quad 5500+ QTRAP	SCIEX
LC	ExionLC AD	SCIEX
データ処理	Analyst	SCIEX

③ 定量

モネンシン標準原液、ナラシン標準原液、サリノマイシン標準原液及びラサロシド標準原液をメタノールで希釈して、モネンシン、ナラシン及びラサロシドについては 0.1、0.25、0.5、1 及び 2.5 µg/L、サリノマイシンについては 0.05、0.1、0.25、0.5 及び 1 µg/L の混合標準溶液を調製した。この溶液 4 µL を LC-MS/MS に注入して、得られたピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 4 µL を LC-MS/MS に注入し、検量線から絶対検量線法によりモネンシン、ナラシン、サリノマイシン及びラサロシドの含量を算出した。

④ 添加試料の調製

モネンシン、ナラシン及びラサロシドについては、試料 10 g に添加用標準溶液 (0.1 mg/L) 0.5 mL[メタノール溶液]を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。サリノマイシンについては、試料 10 g に添加用標準溶液 (0.1 mg/L) 0.2 mL[メタノール溶液]を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

⑤ 試験溶液の調製

概要 (図 1-8)

モネンシン、ナラシン、サリノマイシン及びビラサロシドを試料からアセトニトリル及び水の混液(9 : 1)で抽出し、ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムで精製した後、LC-MS/MS で定量及び確認した。

a. 抽出

試料 10 g を 250 mL 容広口ポリ瓶に量り取り、アセトニトリル及び水の混液(9 : 1)60 mL を加えた後、ホモジナイザーで 30 秒間攪拌した。ろ紙(直径 60 mm、GFP、桐山製作所製)を用いて吸引ろ過した。ろ紙上の残留物をアセトニトリル及び水の混液(9 : 1)60 mL で洗浄し、ろ液を 200 mL 容全量フラスコに合わせて、アセトニトリル及び水の混液(9 : 1)で定容した。

b. 精製

抽出液 10 mL(試料 0.5 g 相当)に水 15 mL 加え、ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム [Oasis HLB(200 mg/6 mL)] (あらかじめアセトニトリル 5 mL 及び水 5 mL で洗浄したものに)に負荷した。水及びメタノールの混液(1 : 1)10 mL で洗浄した後、メタノール 10 mL で溶出した。溶出液を 10 mL 容全量フラスコに採り、メタノールで定容したものを試験溶液とした。

⑥ 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に、定量限界濃度 (モネンシン、ナラシン及びビラサロシドについては 5 µg/kg、サリノマイシンについては 2 µg/kg) で妥当性評価試験を実施した。妥当性評価ガイドラインに従い、1 日 1 回 (2 併行)、5 日間の

枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。

9. カルバリル分析法

① 試薬・試液

カルバリル標準品:純度 99.4%(関東化学製)

アセトン:残留農薬試験用(関東化学製)

メタノール:HPLC 用(関東化学製)

酢酸アンモニウム:特級(関東化学製)

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム: InertSep C18(1000 mg/6 mL、ジールサイエンス製)

水及びメタノールの混液(8:2):水 800 mL 及びメタノール 200 mL を混合した。

メタノール及び水の混液(8:2):メタノール 800 mL 及び水 200 mL を混合した。

1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液:酢酸アンモニウム 15.4 g を量り、水を加えて溶かし正確に 200 mL とした。

2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液:1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 2 mL 及び水 1000 mL を混合した。

標準原液:カルバリル標準品約 25 mg を精秤し、アセトンで溶解して 500 mg/L 溶液を調製した。

添加用標準溶液:カルバリル標準原液をアセトンで希釈して 0.2 mg/L 溶液を調製した。

② 装置

ホモジナイザー : T 25 digital ULTRA-TURRAX(IKA ジャパン製)

ロータリーエバポレーター : N-1300(東京理化学器械製)

LC-MS/MS (測定条件 : 表 1-9)

装置	型式	メーカー
MS	Triple Quad 6500+	SCIEX
LC	ExionLC AD	SCIEX

データ処理	Analyst	SCIEX
-------	---------	-------

③ 定量

カルバリル標準原液をメタノール及び水の混液(8:2)で希釈して0.5、1、2、5及び10 µg/Lの標準溶液を調製した。この溶液 4 µL を LC-MS/MS に注入して、得られたピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 4 µL を LC-MS/MS に注入し、検量線から絶対検量線法によりカルバリルの含量を算出した。

④ 添加試料の調製

試料 10 g に添加用標準溶液(1 mg/L)0.5 mL[アセトン溶液]を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

⑤ 試験溶液の調製

概要 (図 1-9)

カルバリルを試料からアセトンで抽出し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、LC-MS/MS で定量及び確認した。

a. 抽出

試料 10 g を 250 mL 容の広口ポリ瓶に量り取り、アセトン 100 mL を加えた。ホモジナイザーで 1 分間攪拌した後、ろ紙(直径 60 mm、No. 4、桐山製作所製)を用いて吸引ろ過した。ろ紙上の残留物をアセトン 50 mL で洗浄し、ろ液を 200 mL 容全量フラスコに合わせて、アセトンで定容した。抽出液 10 mL(試料 0.5 g 相当)をなす形フラスコに分取し、ロータリーエバポレーター(40°C)で約 1 mL まで濃縮した。

b. 精製

濃縮液に水 20 mL を加え、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム [InertSep C18(1000 mg/6 mL)] (あらかじめメタノール 5 mL 及び水 5 mL で洗浄したもの)に負荷した。水及びメタ

ノールの混液(8:2)10 mL で洗浄した後、メタノール及び水の混液(8:2)10 mL で溶出した。溶出液を 10 mL 容全量フラスコに採り、メタノール及び水の混液(8:2)で定容したものを試験溶液とした。

⑥ 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に基準値濃度(50 µg/kg)で妥当性評価試験を実施した。妥当性評価ガイドラインに従い、1日1回(2併行)、5日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。

10. ペルメトリン分析法

① 試薬・試液

cis-ペルメトリン標準品:純度 99.8%(富士フィルム和光純薬工業製)

trans-ペルメトリン標準品:純度 98.3%(富士フィルム和光純薬工業製)

アセトニトリル、アセトン、ジエチルエーテル、ヘキサン:残留農薬試験用(関東化学製)

塩化ナトリウム:特級(関東化学製)

無水硫酸ナトリウム:PCB 分析用(関東化学製)

カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム(粒径 150~250 µm):Florisol PR(残留農薬試験用、富士フィルム和光純薬製)

ヘキサン飽和アセトニトリル:アセトニトリル 500 mL とヘキサン 100 mL を混合し、5 分間振とう後静置してアセトニトリル層を分取した。

ヘキサン及びジエチルエーテルの混液(85:15):ヘキサン 850 mL 及びジエチルエーテル 150 mL を混合した。

標準原液:cis-ペルメトリン標準品約 25 mg を精秤し、アセトンで溶解して 500 mg/L 溶液を調製した。trans-ペルメトリン標準品約 25 mg を精秤し、アセト

ンで溶解して 500 mg/L 溶液を調製した。

添加用標準溶液： cis-ペルメトリン標準原液及び trans -ペルメトリン標準原液を1:1で混合、アセトンで希釈してペルメトリンとして0.5 mg/L混合溶液を調製した。

② 装置

ホモジナイザー： T 25 digital ULTRA-TURRAX(IKA ジャパン製)

遠心分離機： H-80Rα(コクサン製)

振とう機： EL(スギヤマゲン製)

ロータリーエバポレーター： N-1300(東京理化学器械製)

GC (測定条件：表 1-10)

装置	型式	メーカー
GC	Agilent 6890N	Agilent Technologies
データ処理	ChemStation	Agilent Technologies

③ 定量

cis-ペルメトリン標準原液及び trans -ペルメトリン標準原液を 1 : 1 で混合、ヘキサンで希釈してペルメトリンとして 5、10、20、40 及び 60 μ/L の混合標準溶液を調製した。この溶液 1 μL を GC - ECD に注入して、得られた cis-ペルメトリン及び trans -ペルメトリンのピーク面積の含量を用いて検量線を作成した。試験溶液 1 μL を GC - ECD に注入し、検量線から絶対検量線法によりペルメトリンの含量を算出した。

④ 添加試料の調製

試料 5 g に添加用標準溶液 (ペルメトリンとして 0.5 mg/L) 0.5 mL [アセトン溶液] を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

⑤ 試験溶液の調製

概要 (図 1-10)

ペルメトリンを試料からアセトンで抽出し、ヘキサンで転溶した。ヘキサン/アセトニトリル分配で脱脂し、合成ケイ酸マグネシウムカラムで精製した後、GC - ECD で定量した。

a. 抽出

試料 5 g を 250 mL 容広口ポリ瓶に量り取り、アセトン 100 mL を加えた後、ホモジナイザーで 1 分間攪拌した。2500 r/min で 5 分間遠心分離した後、上清を綿栓ろ過した。残留物にアセトン 50 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間振とうし、2500 r/min で 5 分間遠心分離した後、上清を綿栓ろ過した。ろ液を 200 mL 容全量フラスコに合わせて、アセトンで定容した。抽出液 20 mL (試料 0.5 g 相当) を分液漏斗に分取し、塩化ナトリウム 10 g、水 200 mL 及びヘキサン 100 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間振とうした。暫時放置後、ヘキサン層を分取した。水層にはヘキサン 50 mL を加え、同様に振とうし、ヘキサン層を分取する操作を繰り返した。全ヘキサン層を無水硫酸ナトリウム約 50 g をのせたらろ過器を用いて脱水ろ過し、ろ過器上をヘキサン 20 mL で洗浄した。全ろ液をなす形フラスコに合わせ、ロータリーエバポレーター(40°C)で約 5 mL まで濃縮した。この溶液を分液漏斗に移した後、ヘキサン 25 mL 及びヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間振とうした。暫時放置後、アセトニトリル層をなす形フラスコに分取した。ヘキサン層にはヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、同様に振とうし、アセトニトリル層を分取する操作を繰り返した。アセトニトリル層を先のなす形フラスコに合わせ、ロータリーエバポレーター(40°C)で濃縮

乾固し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。残留物をヘキサン 5 mL に溶解した。

b. 精製

a. 得られた溶液をカラムクロマトグラフィ用合成ケイ酸マグネシウムカラム(あらかじめ内径 1.5 cm のクロマトグラム管に Florisil PR 5 g をヘキサンに懸濁させて充填し、上部に無水硫酸ナトリウム約 1 g を積層したもの)に負荷した後、ヘキサン及びジエチルエーテルの混液(85:15)70 mL で溶出し、全溶出液をなす形フラスコに採った。ロータリーエバポレーター(40°C)で濃縮乾固し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。残留物をヘキサン 2.5 mL に溶解したものを試験溶液とした。

⑥ 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に基準値濃度(50 µg/kg)で妥当性評価試験を実施した。妥当性評価ガイドラインに従い、1日1回(2併行)、5日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。

11. シフルトリン及びフルメトリン分析法

① 試薬・試液

シフルトリン標準品:純度 99%(富士フイルム和光純薬工業製)

フルメトリン標準品:純度 98.5%(Dr.Ehrenstorfer 製)

アセトン、ヘキサン、ジエチルエーテル:残留農薬試験用(関東化学製)

アセトニトリル、メタノール:HPLC 用(関東化学製)

アセトニトリル及び水の混液(1:1):水 500 mL 及びアセトニトリル 500 mL を混合した。

ヘキサン及びジエチルエーテルの混液(96:4):ヘキサン 960 mL 及びジエチルエーテル 40 mL を混

合した。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム: InertSep C18(1000 mg/6mL、ジーエルサイエンス製)

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム: Sep-Pak Plus florisil(910 mg、Waters 製)

1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液:酢酸アンモニウム 15.4 g を量り、水を加えて溶かし正確に 200 mL とした。

2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液:1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 2 mL 及び水 1000 mL を混合した。

標準原液:シフルトリン標準品約 25 mg を精秤し、アセトンで溶解して 500 mg/L 溶液を調製した。フルメトリン標準品約 10 mg を精秤し、アセトンで溶解して 200 mg/L 溶液を調製した。

添加用標準溶液:シフルトリン標準原液及びフルメトリン標準原液をアセトンで希釈して 0.05 mg/L 混合溶液を調製した。

② 装置

ホモジナイザー: T 25 digital ULTRA-TURRAX(IKA ジャパン製)

振とう機: EL(スギヤマゲン製)

ロータリーエバポレーター: N-1300(東京理化学器械製)

LC-MS/MS (測定条件:表 1-11)

装置	型式	メーカー
MS	Triple Quad 6500+	SCIEX
LC	ExionLC AD	SCIEX
データ処理	Analyst	SCIEX

③ 定量

シフルトリン標準原液及びフルメトリン標準原液をアセトニトリルで希釈して、0.25、0.5、1、2.5 及び 5 µg/L の混合標準溶液を調製

した。この溶液 5 μ L を LC-MS/MS に注入して、得られたピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 5 μ L を LC-MS/MS に注入し、検量線から絶対検量線法によりシフルトリン及びフルメトリンの含量を算出した。

④ 添加試料の調製

試料 5 g に添加用標準溶液(0.05 mg/L)1 mL[アセトン溶液]を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

⑤ 試験溶液の調製

概要 (図 1-11)

シフルトリン及びフルメトリンを試料からアセトンで抽出し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及び合成ケイ酸マグネシウムミニカラムで精製した後、LC-MS/MS で定量及び確認した。

a. 抽出

試料 5 g を 250 mL 容広口ポリ瓶に量り取り、アセトン 100 mL を加えた後、ホモジナイザーで 1 分間攪拌した。2500 r/min で 5 分間遠心分離した後、上清を綿栓ろ過した。残留物にアセトン 50 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間振とうし、2500 r/min で 5 分間遠心分離した後、上清を綿栓ろ過した。ろ液を 200 mL 容全量フラスコに合わせて、アセトンで定容した。抽出液 2 mL(試料 0.05 g 相当)を遠心管に分取し、ロータリーエバポレーター(40 $^{\circ}$ C)で濃縮乾固し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。残留物をアセトニトリル及び水の混液(1 : 1)5 mL に溶解した。

b. 精製

a. で得られた溶液をオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム [InertSep C18(1000 mg/6 mL)] (あらかじめアセトニトリル 5 mL、アセ

トニトリル及び水の混液(1 : 1)5 mL で洗浄したものに負荷した。遠心管内をアセトニトリル及び水の混液(1 : 1)5 mL で洗い、洗液をカラムに負荷した。アセトニトリル 15 mL で溶出し、遠心管に受けた。溶出液をロータリーエバポレーター(40 $^{\circ}$ C)で濃縮乾固し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。残留物をヘキサン及びジエチルエーテルの混液(96:4)10 mL に溶解し、合成ケイ酸マグネシウムミニカラム [Sep-Pak Plus florisil(910 mg) (あらかじめヘキサン 10 mL で洗浄したものに負荷した後、ヘキサン及びジエチルエーテルの混液(96:4)20 mL で溶出し、溶出液を遠心管に受けた。溶出液をロータリーエバポレーター(40 $^{\circ}$ C)で濃縮乾固し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。残留物をアセトニトリル 1 mL に溶解したものを試験溶液とした。

⑥ 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に基準値濃度(10 μ g/kg)で妥当性評価試験を実施した。妥当性評価ガイドラインに従い、1 日 1 回(2 併行)、5 日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。

12. フルニキシシン分析法

① 試薬・試液

フルニキシシンメグルミン標準品:純度 100%(富士フイルム和光純薬製)

アセトニトリル、ヘキサン、メタノール:残留農薬試験用(関東化学製)

アセトニトリル:HPLC 用(関東化学製)

ギ酸:特級(関東化学製)

無水硫酸ナトリウム:PCB 分析用(関東化学製)

メンブランフィルター :Millex-LG(0.2 μm、MILLIPORE 製)

アセトニトリル飽和ヘキサン:ヘキサン 200 mL とアセトニトリル(残留農薬試験用)40 mL を混合し、5 分間振とう後静置してヘキサン層を分取した。

メタノール及びアセトニトリルの混液(3:2):メタノール 120 mL 及びアセトニトリル(残留農薬試験用)80 mL を混合した。

水及びギ酸の混液(1000:1):水 1000 mL 及びギ酸 1 mL を混合した。

標準原液:フルニキシンメグルミン標準品約 21 mg(フルニキシン 12.5 mg 相当)を精秤し、メタノールで溶解して 500 mg/L 溶液を調製した。

添加用標準溶液:フルニキシン標準原液をメタノール及びアセトニトリルの混液(3:2)で希釈して 1 mg/L 溶液を調製した。

② 装置

ホモジナイザー : ULTRA-TURRAX T25 basic (IKA ジャパン製)

遠心分離機 : H-80 α (コクサン製)

振とう機 : EL (スギヤマゲン製)

LC-MS/MS (測定条件 : 表 1-12)

装置	型式	メーカー
MS	LCMS8050	島津製作所
LC	Nexera X2	島津製作所
データ処理	LabSolutions LCMS	島津製作所

③ 定量

フルニキシン標準原液をメタノール及びアセトニトリルの混液(3:2)で希釈して 0.1、0.2、0.5、1 及び 2 μg/L の標準溶液を調製した。この溶液 5 μL を LC-MS/MS に注入して、得られたピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 5 μL を LC-MS/MS に注入し、検量線から

絶対検量線法によりフルニキシンの含量を算出した。

④ 添加試料の調製

試料 5 g に添加用標準溶液(1 mg/L) 50 μL[メタノール及びアセトニトリルの混液(3:2)溶液]を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

⑤ 試験溶液の調製

概要 (図 1-12)

フルニキシンを試料からアセトニトリルで抽出と同時にヘキサンで洗浄した後、LC-MS/MS で定量及び確認した。

a. 抽出

試料 5 g を 250 mL 容広口ポリ瓶に量り取り、アセトニトリル (残留農薬試験用) 30 mL、アセトニトリル飽和ヘキサン 20 mL 及び無水硫酸ナトリウム 10 g を加えた後、ホモジナイザーで 1 分間攪拌した。3000 r/min で 5 分間遠心分離した後、液層を綿栓ろ過し、アセトニトリル層を分取した。残留物及びヘキサン層にアセトニトリル (残留農薬試験用) 20 mL を加え 5 分間振とうし、3000 r/min で 5 分間遠心分離した後、液層を綿栓ろ過し、アセトニトリル層を分取した。ろ液を 100 mL 容全量フラスコに合わせて、アセトニトリル (残留農薬試験用) で定容した。抽出液 4 mL(試料 0.2 g 相当)を 10 mL 容全量フラスコに採り、メタノールで定容し、メンブランフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

⑥ 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に定量限界濃度 10 μg/kg で妥当性評価試験を実施した。妥当性評価ガイドラインに従い、1 日 1 回(2 併行)、5 日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。

13. DDT、アルドリン及びディルドリン、エンドリン、ヘプタクロル及びヘプタクロルエポキシド、 α -HCH、 β -HCH 並びに γ -HCH 分析法

① 試薬・試液

o,p'-DDT 標準品:純度 97.6%(Dr.Ehrenstorfer 製)

p,p'-DDE 標準品:純度 99.9%(富士フィルム和光純薬製)

p,p'-DDD 標準品:純度 99.5%(富士フィルム和光純薬製)

p,p'-DDT 標準品:純度 99.4%(Dr.Ehrenstorfer 製)

アルドリン標準品:純度 98.0%(Dr.Ehrenstorfer 製)

ディルドリン標準品:純度 99.9%(Dr.Ehrenstorfer 製)

エンドリン標準品:純度 96.5%(Dr.Ehrenstorfer 製)

ヘプタクロル標準品:純度 99.3%(Dr.Ehrenstorfer 製)

cis-ヘプタクロルエポキシド標準品:純度 100%(AccuStandard 製)

trans-ヘプタクロルエポキシド標準品:純度 99.1%(Dr.Ehrenstorfer 製)

α -HCH 標準品:純度 98.6%(Dr.Ehrenstorfer 製)

β -HCH 標準品:純度 97.7%(Dr.Ehrenstorfer 製)

γ -HCH 標準品:純度 98.8%(Dr.Ehrenstorfer 製)

アセトニトリル、アセトン、ジエチルエーテル、ヘキサン:残留農薬試験用(関東化学製)

塩化ナトリウム:特級(関東化学製)

無水硫酸ナトリウム:PCB 分析用(関東化学製)

カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム(粒径 150~250 μ m):Florisil PR(残留農薬試験用、富士フィルム和光純薬製)

ヘキサン飽和アセトニトリル:アセトニトリル 500 mL とヘキサン 100 mL を混合し、5 分間振とう後静置してアセトニトリル層を分取した。

ヘキサン及びジエチルエーテルの混液(85:15):ヘキサン 850 mL 及びジエチルエーテル 150 mL を混合した。

標準原液:o,p'-DDT 約 25 mg を精秤し、アセトンで溶解して 500 mg/L 溶液を調製した。同様に p,p'-DDE 標準品、p,p'-DDD 標準品、p,p'-DDT 標準品、アルドリン標準品、ディルドリン標準品、エンドリン標準品、ヘプタクロル標準品、 β -HCH 標準品及び γ -HCH 標準品約 25 mg を精秤し、アセトンで溶解して 500 mg/L 溶液を調製した。cis-ヘプタクロルエポキシド標準品、trans-ヘプタクロルエポキシド標準品及び α -HCH 標準品約 10 mg を精秤し、アセトンで溶解して 200 mg/L 溶液を調製した。

添加用標準溶液:o,p'-DDT 標準原液、p,p'-DDE 標準原液、p,p'-DDD 標準原液、p,p'-DDT 標準原液、アルドリン標準原液、ディルドリン標準原液、エンドリン標準原液、ヘプタクロル標準原液、cis-ヘプタクロルエポキシド標準原液、trans-ヘプタクロルエポキシド標準原液、 α -HCH 標準原液、 β -HCH 標準原液及び γ -HCH 標準原液をアセトンで希釈して 1 mg/L 混合溶液を調製した。

② 装置

ホモジナイザー: T 25 digital ULTRA-TURRAX(IKA ジャパン製)

遠心分離機: H-80R α (コクサン製)

振とう機: EL(スギヤマゲン製)

ロータリーエバポレーター: N-1300(東京理化学器械製)

GC (測定条件: 表 1-13)

装置	型式	メーカー
GC	Agilent 6890N	Agilent Technologies
データ処理	ChemStation	Agilent Technologies

③ 定量

o,p'-DDT 標準原液、p,p'-DDE 標準原液、p,p'-DDD 標準原液、p,p'-DDT 標準原液、アルドリン標準原液、ディルドリン標準原液、エンドリン標準原液、ヘプタクロル標準原液、cis-ヘプタクロルエポキシド標準原液、trans-ヘプタクロルエポキシド標準原液、 α -HCH 標準原液、 β -HCH 標準原液及び γ -HCH 標準原液を混合、ヘキサンで希釈して 0.25、0.5、1、2.5 及び 5 $\mu\text{g/L}$ の混合標準溶液を調製した。この溶液 2 μL を GC - ECD に注入して、得られたピーク高さを用いて検量線を作成した。試験溶液 2 μL を GC - ECD に注入し、検量線から絶対検量線法により o,p'-DDT、p,p'-DDE、p,p'-DDD、p,p'-DDT、アルドリン、ディルドリン、エンドリン、ヘプタクロル、cis-ヘプタクロルエポキシド、trans-ヘプタクロルエポキシド、 α -HCH、 β -HCH 及び γ -HCH の含量を算出した。

④ 添加試料の調製

試料 5 g に添加用標準溶液(1 mg/L)50 μL [アセトン溶液]を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

⑤ 試験溶液の調製

概要 (図 1-13)

o,p'-DDT、p,p'-DDE、p,p'-DDD、p,p'-DDT、アルドリン、ディルドリン、エンドリン、ヘプタクロル、cis-ヘプタクロルエポキシド、trans-ヘプタクロルエポキシド、 α -HCH、 β -HCH 及び γ -HCH を試料からアセトンで抽出、ヘキサンに転溶した。ヘキサン/アセトニトリル分配で脱脂し、合成ケイ酸マグネシウムカラムで精製した後、GC - ECD で定量した。

a. 抽出

試料 5 g を 250 mL 容広口ポリ瓶に量り取り、

アセトン 100 mL を加えた後、ホモジナイザーで 1 分間攪拌した。2500 r/min で 5 分間遠心分離した後、上清を綿栓ろ過した。残留物にアセトン 50 mL を加え 5 分間振とうし、2500 r/min で 5 分間遠心分離した後、上清を綿栓ろ過した。ろ液を 200 mL 容全量フラスコに合わせて、アセトンで定容した。抽出液 20 mL(試料 0.5 g 相当)を分液漏斗に分取し、塩化ナトリウム 10 g、水 200 mL 及びヘキサン 100 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間振とうした。暫時放置後、ヘキサン層を分取した。水層にはヘキサン 50 mL を加え、同様に振とうし、ヘキサン層を分取する操作を繰り返した。全ヘキサン層を無水硫酸ナトリウム約 50 g をのせたろ過器を用いて脱水ろ過し、ろ過器上をヘキサン 20 mL で洗浄した。全ろ液をなす形フラスコに受け、ロータリーエバポレーター(40°C)で約 5 mL まで濃縮した。この溶液を分液漏斗に移した後、ヘキサン 15 mL 及びヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間振とうした。暫時放置後、アセトニトリル層をなす形フラスコに分取した。ヘキサン層にはヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、同様に振とうし、アセトニトリル層を分取する操作を 2 回繰り返した。アセトニトリル層を先のなす形フラスコに合わせ、ロータリーエバポレーター(40°C)で約 1 mL まで濃縮し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。残留物をヘキサン 5 mL に溶解した。

b. 精製

a. 得られた溶液をカラムクロマトグラフィ用合成ケイ酸マグネシウムカラム(あらかじめ内径 1.5 cm のクロマトグラム管に Florisil PR 5 g をヘキサンに懸濁させて充填し、上部に無

水硫酸ナトリウム約1gを積層したものに負荷した後、ヘキサン及びジエチルエーテルの混液(85:15)70 mLで溶出し、全溶出液をなす形フラスコに採った。ロータリーエバポレーター(40°C)で約1 mLまで濃縮し、室温で窒素ガスを通じ残存溶媒を除去した。残留物をヘキサン10 mLに溶解したものを試験溶液とした。

⑥ 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に定量限界相当(10 µg/kg)で妥当性評価試験を実施した。妥当性評価ガイドラインに従い、1日1回(2併行)、5日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。

14. PCB分析法

① 試薬・試液

BP-D7 標準溶液(PCB28、PCB52、PCB101、PCB138、PCB153 及び PCB180 各 10 µg/mL、WELLINGTON LABORATORIES 製)

MBP-D7 標準溶液([¹³C¹²]PCB28、[¹³C¹²]PCB52、[¹³C¹²]PCB101、[¹³C¹²]PCB138、[¹³C¹²]PCB153 及び [¹³C¹²]PCB180 各 5 µg/mL、WELLINGTON LABORATORIES 製)

MBP-19 標準溶液(50 µg/mL、WELLINGTON LABORATORIES 製)

MBP-70 標準溶液(50 µg/mL、WELLINGTON LABORATORIES 製)

MBP-111 標準溶液(50 µg/mL、WELLINGTON LABORATORIES 製)

MBP-159 標準溶液(50 µg/mL、WELLINGTON LABORATORIES 製)

MBP-170 標準溶液(50 µg/mL、WELLINGTON

LABORATORIES 製)

エタノール、ヘキサン:ダイオキシン類分析用(富士フィルム和光純薬製)

デカン:鹿特級(関東化学製)

水酸化カリウム:特級(関東化学製)

無水硫酸ナトリウム:PCB分析用(関東化学製)

カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム(粒径 150~250 µm):Florisil PR(残留農薬試験用、富士フィルム和光純薬製)

1mol/L水酸化カリウムのエタノール溶液:水酸化カリウム 56.11 gを量り、エタノールを加えて溶かし正確に 1000 mLとした。

標準原液:BP-D7 標準溶液 1 mLを量り取り、デカンで溶解して 500 µg/L 溶液を調製した。

内標準原液:MBP-D7 標準溶液 1 mLを量り取り、デカンで溶解して 500 µg/L 溶液を調製した。

内標準(シリンジスパイク)原液:MBP-19標準溶液 1 mLを量り取り、デカンで溶解して 500 µg/L 溶液を調製した。MBP-70、MBP-111、MBP-159 及び MBP-170についても同様に 500 µg/L 溶液を調製した。

添加用標準溶液:BP-D7標準原液をデカンで希釈して 1 µg/L 溶液及び 10 µg/L 溶液を調製した。

添加用内標準溶液:MBP-D7 標準原液をデカンで希釈して 10 µg/L 溶液を調製した。

添加用内標準(シリンジスパイク)溶液:MBP-19 標準原液、MBP-70 標準原液、MBP-111 標準原液、MBP-159 標準原液及び MBP-170 標準原液をデカンで希釈して 10 µg/L 混合溶液を調製した。

② 装置

還流装置:GA-13S(いすゞ製作所製)

振とう機:EL(スギヤマゲン製)

ロータリーエバポレーター:R-200(柴田科学製)

GC-MS (測定条件：表 1-14)

装置	型式	メーカー
MS	Agilent 5977A	Agilent Technologies
GC	Agilent 7890B	Agilent Technologies
データ処理	GC/MSD ChemStation	Agilent Technologies

③ 定量

BP-D7 標準原液、MBP-D7 内標準原液、MBP-19 内標準(シリンジスパイク)原液、MBP-70 内標準(シリンジスパイク)原液、MBP-111 内標準(シリンジスパイク)原液、MBP-159 内標準(シリンジスパイク)原液及び MBP-170 内標準(シリンジスパイク)原液をデカンで希釈し、0、2、10、20 及び 50 µg/L [内標準溶液濃度及び内標準(シリンジスパイク)溶液濃度 10 µg/L]内標準混合標準溶液を調製した。この溶液 1 µL を GC-MS に注入して、得られた内標準のピーク面積に対する対象物質のピーク面積の比を用いて検量線を作成した。試験溶液 1 µL を GC-MS に注入し、検量線から内部標準法により PCB28、PCB52、PCB101、PCB138、PCB153 及び PCB180 の含量を算出した。各対象物質に対応する内標準物質は表の通り。

対象物質	内標準物質
PCB28	[¹³ C ₁₂]PCB28
PCB52	[¹³ C ₁₂]PCB52
PCB101	[¹³ C ₁₂]PCB101
PCB138	[¹³ C ₁₂]PCB138
PCB153	[¹³ C ₁₂]PCB153
PCB180	[¹³ C ₁₂]PCB180

④ 添加試料の調製

0.07 µg/kg 添加：試料 1 g に添加用標準溶液(1 µg/L) 70 µL [デカン溶液]を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

0.13 µg/kg 添加：試料 1 g に添加用標準溶液(1

µg/L) 130 µL [デカン溶液]を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

0.2 µg/kg 添加：試料 1 g に添加用標準溶液(10 µg/L) 20 µL [デカン溶液]を添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

⑤ 試験溶液の調製

概要 (図 1-14)

試料を 1mol/L 水酸化カリウムのエタノール溶液でけん化した後、PCB28、PCB52、PCB101、PCB138、PCB153 及び PCB180 をヘキサンで抽出し、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム(粒径 150~250 µm)で精製し、GC-MS で定量及び確認した。

a. 抽出

試料 1 g を 300 mL 容のなす形フラスコに量り取り、10 µg/L 内標準溶液を 50 µL 添加(最終濃度 10 µg/L)した後、1mol/L 水酸化カリウムのエタノール溶液 100 mL を加え、約 90 °C の水浴で 1 時間加熱還流した。なす形フラスコを室温に戻した後、ヘキサン 100 mL を加えた。綿栓ろ過をしてあらかじめ精製水 100 mL を入れた 500 mL 分液漏斗に移し、振とう機で 10 分間振とうした。ヘキサン層を分取した後軽く水洗浄し、無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過した。ろ液をロータリーエバポレーター(40 °C)で約 5 mL まで減圧濃縮した。

b. 精製

濃縮液をカラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウムカラム(あらかじめ内径 2.0 cm のクロマトグラム管に Florisil PR 20 g をヘキサンで湿式充填したもの)に負荷した。なす形フラスコ内をヘキサン約 2 mL で 3 回洗い、洗液をカラムに負荷した。ヘキサン 200 mL で溶出し、なす形フラスコに受けた。溶出液をロ

ーターエバポレーター(40℃)で約5 mLまで減圧濃縮した。あらかじめ10 µg/L内標準(シリジスパイク)混合溶液50 µLを入れたスピッツ管に濃縮液を移した。なす形フラスコ内をヘキサン約1 mLで3回洗い、洗液をスピッツ管に合わせ、室温で窒素ガスを通じて50 µLまで濃縮し、試験溶液とした。

⑥ 妥当性評価試験

鶏の筋肉を対象に基準値の0.5倍、1倍及び1.5倍相当(各0.07、0.13及び0.2 µg/kg)で妥当性評価試験を実施した。1日1回(6併行)、3日間の枝分かれ実験を行い、各性能パラメータを評価した。なお、脂質をソックスレー抽出法により測定したところ、1.3 g/100gであった。

C. 結果及び考察

1. ドラメクチン分析法

① 選択性

ブランク試料を本分析法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されなかった(図2-1)。

② 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表2-1に示した。真度の目標値(70~120%)及び精度の目標値(併行精度25%未満、室内精度30%未満)を満たした。

③ 検量線の直線性

0.25~5 µg/Lの範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.997$ となり、良好な直線性が得られた。

④ 定量限界

定量限界濃度を添加した添加試料から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

2. レバミゾール分析法

① 選択性

ブランク試料を本分析法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されなかった(図2-2)。

② 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表2-2に示した。真度の目標値(70~120%)及び精度の目標値(併行精度25%未満、室内精度30%未満)を満たした。

③ 検量線の直線性

0.125~5 µg/Lの範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.999$ となり、良好な直線性が得られた。

④ 定量限界

定量限界濃度のマトリックス添加標準溶液から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

3. トリクラベンダゾール分析法

① 選択性

ブランク試料を本分析法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されなかった(図2-3)。

② 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表2-3に示した。真度の目標値(70~120%)及び精度の目標値(併行精度25%未満、室内精度30%未満)を満たした。

③ 検量線の直線性

0.05~1 µg/Lの範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.999$ となり、良好な直線性が得られた。

④ 定量限界

定量限界濃度を添加した添加試料から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

4. ピペラジン分析法

① 選択性

ブランク試料を本分析法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されなかった (図 2-4)。

② 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表 2-4 に示した。真度の目標値(70~120%)及び精度の目標値(併行精度 25%未満、室内精度 30%未満)を満たした。

③ 検量線の直線性

0.5~20 $\mu\text{g/L}$ の範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.999$ となり、良好な直線性が得られた。

④ 定量限界

定量限界濃度を添加した添加試料から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

5. アンプロリウム分析法

① 選択性

ブランク試料を本分析法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されなかった (図 2-5)。

② 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表 2-5 に示した。真度の目標値(70~120%)及び精度の目標値(併行精度 25%未満、室内精度 30%未満)を満たした。

③ 検量線の直線性

0.5~10 $\mu\text{g/L}$ の範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.997$ となり、良好な直線性が得られた。

④ 定量限界

定量限界濃度のマトリックス添加標準溶液

6. エトパペート分析法

① 選択性

ブランク試料を本分析法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されなかった (図 2-6)。

② 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表 2-6 に示した。真度の目標値(70~120%)及び精度の目標値(併行精度 25%未満、室内精度 30%未満)を満たした。

③ 検量線の直線性

0.1~2 $\mu\text{g/L}$ の範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.999$ となり、良好な直線性が得られた。

④ 定量限界

定量限界濃度を添加した添加試料から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

7. ナイカルバジン及びハロフジノン分析法

① 選択性

ブランク試料を本分析法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されなかった (図 2-7-1、2-7-2)。

② 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表 2-7-1、2-7-2 に示した。真度の目標値(70~120%)及び精度の目標値(併行精度 25%未満、室内精度 30%未満)を満たした。

③ 検量線の直線性

0.125~5 $\mu\text{g/L}$ の範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.998$ となり、良好な直線性が得られた。

④ 定量限界

定量限界濃度を添加した添加試料から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

8. モネンシン、ラサロシド、ナラシン及びサリノマイシン分析法

① 選択性

ブランク試料を本分析法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されなかった (図 2-8-1~2-8-4)。

② 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表 2-8-1~2-8-4 に示した。真度の目標値 (70~120%) 及び精度の目標値 (併行精度 25%未満、室内精度 30%未満) を満たした。

③ 検量線の直線性

モネンシン、ナラシン及びラサロシドについては $0.1 \sim 2.5 \mu\text{g/L}$ の範囲で、サリノマイシンについては $0.05 \sim 1 \mu\text{g/L}$ の範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.999$ となり、良好な直線性が得られた。

④ 定量限界

定量限界濃度を添加した添加試料から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

9. カルバリル分析法

① 選択性

ブランク試料を本分析法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されなかった (図 2-9)。

② 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表 2-9 に示した。真度の目標値 (70~120%) 及び精度の目標値 (併行精度 15%未満、室内精度 20%未満) を満たした。

③ 検量線の直線性

$0.5 \sim 10 \mu\text{g/L}$ の範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.998$ となり、良好な直線性が得られた。

④ 定量限界

定量限界濃度のマトリックス添加標準溶液から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

10. ペルメトリン分析法

① 選択性

ブランク試料を本分析法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されなかった (図 2-10)。

② 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表 2-10 に示した。真度の目標値 (70~120%) 及び精度の目標値 (併行精度 15%未満、室内精度 20%未満) を満たした。

③ 検量線の直線性

$5 \sim 60 \mu\text{g/L}$ の範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.994$ となり、良好な直線性が得られた。

④ 定量限界

定量限界濃度を添加した添加試料から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

11. シフルトリン及びフルメトリン分析法

① 選択性

ブランク試料を本分析法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されない、又は許容範囲内であった (図 2-11-1、2-11-2)。

② 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表 2-11-1、2-11-2 に示した。真度の目標値 (70~120%) 及び精度の目標値 (併行精度 25%未満、室内精度 30%未満) を満たした。

③ 検量線の直線性

0.25～5 µg/L の範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.9953$ となり、良好な直線性が得られた。

④ 定量限界

定量限界濃度を添加した添加試料から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

12. フルニキシン分析法

① 選択性

ブランク試料を本分析法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されなかった（図 2-12）。

② 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表 2-12 に示した。真度の目標値(70～120%)及び精度の目標値(併行精度 25%未満、室内精度 30%未満)を満たした。

③ 検量線の直線性

0.1～2 µg/L の範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.998$ となり、良好な直線性が得られた。

④ 定量限界

定量限界濃度を添加した添加試料から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

13. DDT、アルドリン及びディルドリン、エンドリン、ヘプタクロル及びヘプタクロルエポキシド、 α -HCH、 β -HCH 並びに γ -HCH 分析法

① 選択性

ブランク試料を本分析法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されない又は許容範囲内であった（図 2-13-1～2-13-13）。

② 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表 2-13-1～2-13-13 に示した。真度の目標値(70～120%)及び精度の目標値(併行精度 25%未満、室内精度 30%未満)を満たした。

③ 検量線の直線性

0.25～5 µg/L の範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.994$ となり、良好な直線性が得られた。

④ 定量限界

定量限界濃度を添加した添加試料から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

14. PCB 分析法

① 選択性

ブランク試料を本分析法に従って分析したところ、クロマトグラム上に定量を妨害するピークは検出されなかった（図 2-14-1～2-14-5）。

② 真度、併行精度及び室内精度

真度、併行精度及び室内精度の結果を表 2-14-1～2-14-6 に示した。真度の目標値(70～120%)及び精度の目標値(併行精度 30%未満、室内精度 35%未満)を満たした。

また、内標準物質として用いた [13C12]PCB28、[13C12]PCB52、[13C12]PCB101、[13C12]PCB138、[13C12]PCB153 及び [13C12]PCB180 の回収率はいずれも 50%以上 120%未満であった。

③ 検量線の直線性

0～50 µg/L の範囲で検量線を作成した。決定係数 $r^2 > 0.999$ となり、良好な直線性が得られた。

④ 定量限界

定量限界濃度のマトリックス添加標準溶液から得られたピークは $S/N \geq 10$ であった。

D. 結論

鶏の筋肉を対象として B 物質 27 化合物の分析法 (14 分析法) を確立し、妥当性評価試験を実施した。その結果、いずれの分析法も良好な結果 (真度、併行精度、室内精度及び選択性) が得られ、鶏の筋肉を対象とした分析法として妥当であることが示された。本研究で確立した分析法を用いることにより、B 物質が鶏のモニタリング部位から検出された場合にも速やかに鶏の筋肉 (可食部位) の検査を実施することができ、EU へ動物

性食品を輸出する際に求められる検査を円滑に進めることが可能と考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

F. 知的財産権の出願・登録状況 なし

表 1-1 測定条件（ドラメクチン分析法）

LC 条件																											
カラム	InertSustain C18 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μm : ジーエルサイエンス製)																										
移動相流速 (mL/min)	0.3																										
注入量 (μL)	2																										
カラム温度 (°C)	40																										
移動相	A液 : 2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 B液 : アセトニトリル																										
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間(分)</th> <th>A 液 (%)</th> <th>B 液 (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.00</td> <td>30</td> <td>70</td> </tr> <tr> <td>1.00</td> <td>20</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>10.00</td> <td>20</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>10.01</td> <td>2</td> <td>98</td> </tr> <tr> <td>20.00</td> <td>2</td> <td>98</td> </tr> <tr> <td>20.01</td> <td>30</td> <td>70</td> </tr> <tr> <td>25.00</td> <td>30</td> <td>70</td> </tr> </tbody> </table>			時間(分)	A 液 (%)	B 液 (%)	0.00	30	70	1.00	20	80	10.00	20	80	10.01	2	98	20.00	2	98	20.01	30	70	25.00	30	70
時間(分)	A 液 (%)	B 液 (%)																									
0.00	30	70																									
1.00	20	80																									
10.00	20	80																									
10.01	2	98																									
20.00	2	98																									
20.01	30	70																									
25.00	30	70																									
MS 条件																											
測定モード	MS/MS、選択イオン検出																										
イオン化モード	ESI(+)																										
イオンスプレー電圧 (V)	5500																										
ヒーター温度 (°C)	400																										
ネブライザーガス	空気、60 psi																										
ターボガス	空気、60 psi																										
コリジョンガス	窒素																										
定量イオン (m/z)	916.4→331.2[DP:111 (V)、コリジョンエネルギー:33 (eV)]																										
定性イオン (m/z)	916.4→593.3[DP:111 (V)、コリジョンエネルギー:21 (eV)]																										
保持時間 (min)	ドラメクチン 6.1																										

秤 取

↓ 試料 10 g

抽出

↓ メタノール 100 mL を加え 1 分間ホモジナイズ

↓ 吸引ろ過

↓ 残留物をメタノール 50 mL で洗浄

↓ ろ液を合わせ、メタノールで 200 mL に定容

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム [InertSep GC/NH₂(500 mg/500 mg/20 mL)]

↓ メタノール 10 mL でコンディショニング

↓ 抽出液 4 mL 注入

↓ 酢酸エチル及びギ酸の混液(100:1)20 mL で溶出(全溶出液を採る)

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物をメタノール 2 mL に溶解

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 1-1 ドラメクチン分析法の分析法フローチャート

表 1-2 測定条件 (レバミゾール分析法)

LC 条件																					
カラム	InertSustain C18 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μ m : ジーエルサイエンス製)																				
移動相流速 (mL/min)	0.2																				
注入量 (μ L)	5																				
カラム温度 ($^{\circ}$ C)	40																				
移動相	A液 : 水及びギ酸の混液(1000:1) B液 : アセトニトリル(HPLC用)																				
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間(分)</th> <th>A液(%)</th> <th>B液(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>15.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>18.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>18.1</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>23.0</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>			時間(分)	A液(%)	B液(%)	0.0	90	10	15.0	10	90	18.0	10	90	18.1	90	10	23.0	90	10
時間(分)	A液(%)	B液(%)																			
0.0	90	10																			
15.0	10	90																			
18.0	10	90																			
18.1	90	10																			
23.0	90	10																			
MS 条件																					
測定モード	MS/MS、選択イオン検出																				
イオン化モード	ESI(+)																				
bb イオンスプレー電圧 (V)	5500																				
ヒーター温度 ($^{\circ}$ C)	700																				
ネブライザーガス	空気、60 psi																				
ターボガス	空気、60 psi																				
コリジョンガス	窒素																				
定量イオン(m/z)	205.0 \rightarrow 178.0[DP:91 (V)、コリジョンエネルギー:31 (eV)]																				
定性イオン(m/z)	205.0 \rightarrow 91.0[DP:91 (V)、コリジョンエネルギー:55 (eV)]																				
保持時間 (min)	4.7																				

秤 取

↓ 試料 10 g

抽 出

↓ アセトニトリル 60 mL 及び無水硫酸ナトリウム 20 g を加え

↓ 1 分間ホモジナイズ

↓ 3000 r/min で 5 分間遠心分離

↓ 綿栓ろ過、アセトニトリル層を採る

↓ 残留物にアセトニトリル 40 mL を加え 5 分間振とう

↓ 3000 r/min で 5 分間遠心分離

↓ 綿栓ろ過、アセトニトリル層を採る

↓ ろ液を合わせる

ヘキサン洗浄

↓ アセトニトリル飽和ヘキサン 100 mL を加え 5 分間振とう

↓ アセトニトリル層を採りアセトニトリルで 200 mL 定容

↓ 抽出液 1 mL 分取

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物を水及びアセトニトリルの混液(3:2)1 mL に溶解

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 1-2 レバミゾール分析法の分析法フローチャート

表 1-3 測定条件 (トリクラベンダゾール分析法)

LC 条件																					
カラム	ACQUITY UPLC BEH C18 (内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 1.7 μ m : Waters 製)																				
移動相流速 (mL/min)	0.35																				
注入量 (μ L)	5																				
カラム温度 ($^{\circ}$ C)	40																				
移動相	A液 : 0.5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 B液 : メタノール																				
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間(分)</th> <th>A 液(%)</th> <th>B 液(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>6.0</td> <td>5</td> <td>95</td> </tr> <tr> <td>13.50</td> <td>5</td> <td>95</td> </tr> <tr> <td>13.51</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>16.50</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> </tbody> </table>			時間(分)	A 液(%)	B 液(%)	0.0	70	30	6.0	5	95	13.50	5	95	13.51	70	30	16.50	70	30
時間(分)	A 液(%)	B 液(%)																			
0.0	70	30																			
6.0	5	95																			
13.50	5	95																			
13.51	70	30																			
16.50	70	30																			
MS 条件																					
測定モード	MS/MS、選択イオン検出																				
イオン化モード	ESI(-)																				
イオンスプレー電圧 (V)	-4500																				
ヒーター温度 ($^{\circ}$ C)	650																				
ネブライザーガス	空気、30 psi																				
ターボガス	空気、70 psi																				
コリジョンガス	窒素																				
定量イオン(m/z)	326.9 \rightarrow 181.9[DP:-95(V)、コリジョンエネルギー:-30(eV)]																				
定性イオン(m/z)	326.9 \rightarrow 145.9[DP:-95(V)、コリジョンエネルギー:-42(eV)]																				
保持時間 (min)	5.6																				

秤 取

↓ 試料 10 g

加水分解

↓ 5 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 10 mL を加え、100°C で 3 時間加熱

抽 出

↓ メタノール 5 mL、5 mol/L 塩酸 12 mL 及び酢酸エチル 40 mL を加え、10 分間振とう

↓ 3500 r/min で 5 分間遠心分離、酢酸エチル層を採る

↓ 水層に酢酸エチル 40 mL を加え 5 分間振とう

↓ 3500 r/min で 5 分間遠心分離、酢酸エチル層を採る

↓ 酢酸エチル層を合わせ、酢酸エチルで 100 mL に定容

↓ 抽出液 0.5 mL 分取

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物をエタノール及び酢酸の混液(1:1)5 mL に溶解

酸化反応

↓ 過酸化水素水 25 μ L を加え 90°C で 16 時間加熱

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物をメタノール及び水の混液(7:3)5 mL に溶解

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム[Oasis MCX(500 mg/6 mL)]

↓ メタノール 5 mL、メタノール及び水の混液(7:3)5 mL でコンディショニング

↓ 上記で得られた溶液を注入

↓ メタノール及び水の混液(7:3)5 mL で洗浄

↓ メタノール 20 mL で溶出(全溶出液を採る)

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物をアセトニトリル及び水の混液(1:1)4 mL に溶解

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 1-3 トリクラベンダゾール分析法の分析法フローチャート

表 1-4 測定条件 (ピペラジン分析法)

LC 条件																											
カラム	TSKgel VMPak-25 (内径 2.0 mm、長さ 150 mm、粒子径 7 μ m :東ソー製)																										
移動相流速 (mL/min)	0.3																										
注入量 (μ L)	5																										
カラム温度 ($^{\circ}$ C)	40																										
移動相	A液 : 10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 B液 : アセトニトリル																										
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間(分)</th> <th>A 液(%)</th> <th>B 液(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1.40</td> <td>15</td> <td>85</td> </tr> <tr> <td>2.70</td> <td>35</td> <td>65</td> </tr> <tr> <td>11.50</td> <td>35</td> <td>65</td> </tr> <tr> <td>11.51</td> <td>95</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>17.50</td> <td>95</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>17.51</td> <td>15</td> <td>85</td> </tr> <tr> <td>22.50</td> <td>5</td> <td>85</td> </tr> </tbody> </table>			時間(分)	A 液(%)	B 液(%)	1.40	15	85	2.70	35	65	11.50	35	65	11.51	95	5	17.50	95	5	17.51	15	85	22.50	5	85
時間(分)	A 液(%)	B 液(%)																									
1.40	15	85																									
2.70	35	65																									
11.50	35	65																									
11.51	95	5																									
17.50	95	5																									
17.51	15	85																									
22.50	5	85																									
MS 条件																											
測定モード	MS/MS、選択イオン検出																										
イオン化モード	ESI(+)																										
イオンスプレー電圧 (V)	5500																										
ヒーター温度 ($^{\circ}$ C)	700																										
ネブライザーガス	空気、80 psi																										
ターボガス	空気、80 psi																										
コリジョンガス	窒素																										
定量イオン (m/z)	86.9 \rightarrow 44.1 [DP:86(V)、コリジョンエネルギー:86(eV)]																										
定性イオン (m/z)	設定せず																										
保持時間 (min)	7.1																										

秤 取

↓ 試料 5 g

抽出

- ↓ 10%トリクロロ酢酸 30 mL、ヘキサン 3 mL 及び酢酸エチル 3 mL を加えホモジナイズ
- ↓ 2500 r/min で 5 分間遠心分離
- ↓ ヘキサン層及び酢酸エチル層を廃棄
- ↓ 10%トリクロロ酢酸層を分取
- ↓ 綿栓ろ過
- ↓ 10%トリクロロ酢酸 15 mL、ヘキサン 2 mL 及び酢酸エチル 2 mL を加えホモジナイズ
- ↓ 2500 r/min で 5 分間遠心分離
- ↓ 10%トリクロロ酢酸層を分取
- ↓ 綿栓ろ過
- ↓ ろ液を合わせて 10%トリクロロ酢酸で 50 mL に定容

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム [Oasis MCX(500 mg/6 cc)]

- ↓ メタノール及び 25%アンモニア水の混液(95:5)10 mL、メタノール 5 mL、
- ↓ 超純水 5 mL 及び 10%トリクロロ酢酸 10 mL でコンディショニング
- ↓ 抽出液 10 mL を注入
- ↓ 水 5 mL を 2 回及びメタノール 10 mL で洗浄
- ↓ メタノール及び 25%アンモニア水の混液(95:5)7.5 mL で溶出(全溶出液を採取)

定容

- ↓ メタノール及び 25%アンモニア水の混液(95:5)で 10 mL に定容

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 1-4 ピペラジン分析法の分析法フローチャート

表 1-5 測定条件 (アンプロリウム分析法)

LC 条件																					
カラム	XBridge BEH C18 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μ m : Waters 製)																				
移動相流速 (mL/min)	0.2																				
注入量 (μ L)	2																				
カラム温度 ($^{\circ}$ C)	40																				
移動相	A液 : 50 mmol/Lギ酸アンモニウム溶液(pH 4.5) B液 : メタノール																				
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間(分)</th> <th>A液(%)</th> <th>B液(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>7.0</td> <td>40</td> <td>60</td> </tr> <tr> <td>12.0</td> <td>40</td> <td>60</td> </tr> <tr> <td>12.1</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>20.0</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>			時間(分)	A液(%)	B液(%)	0.0	90	10	7.0	40	60	12.0	40	60	12.1	90	10	20.0	90	10
時間(分)	A液(%)	B液(%)																			
0.0	90	10																			
7.0	40	60																			
12.0	40	60																			
12.1	90	10																			
20.0	90	10																			
MS 条件																					
測定モード	MS/MS、選択イオン検出																				
イオン化モード	ESI(+)																				
イオンスプレー電圧 (V)	4000																				
ヒーター温度 ($^{\circ}$ C)	400																				
ネブライザーガス	空気、70 psi																				
ターボガス	空気、70 psi																				
コリジョンガス	窒素																				
定量イオン (m/z)	243.0 \rightarrow 150.0 [DP: 16(V)、コリジョンエネルギー: 15(eV)]																				
定性イオン (m/z)	243.0 \rightarrow 94.0 [DP: 16(V)、コリジョンエネルギー: 17(eV)]																				
保持時間 (min)	4.4																				

秤 取

↓ 試料 10 g

抽出

- ↓ アセトニトリル 50 mL を加えホモジナイズ
- ↓ 3000 r/min で 10 分間遠心分離
- ↓ 綿栓ろ過
- ↓ アセトニトリル 20 mL を加え 10 分間振とう
- ↓ 3000 r/min で 10 分間遠心分離
- ↓ 綿栓ろ過
- ↓ ろ液を合わせてアセトニトリルで 100 mL に定容

カルボキシジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム [Oasis WCX(150 mg/6 mL)]

- ↓ アセトニトリル 10 mL でコンディショニング
- ↓ 抽出液 10 mL を注入
- ↓ アセトニトリル 5 mL で洗浄
- ↓ 水、アセトニトリル及びギ酸の混液(90:10:2)10 mL で溶出(全溶出液を採る)
- ↓ 水、アセトニトリル及びギ酸の混液(90:10:2)で 10 mL に定容

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 1-5 アンプロリウム分析法の分析法フローチャート

表 1-6 測定条件 (エトパペート分析法)

LC 条件																					
カラム	InertSustain C18 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μm :ジューエルサイエンス製)																				
移動相流速 (mL/min)	0.2																				
注入量 (μL)	2																				
カラム温度 (°C)	40																				
移動相	A液 : 水及びギ酸の混液(1000 : 1) B液 : アセトニトリル (HPLC用)																				
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間(分)</th> <th>A 液(%)</th> <th>B 液(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>10.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>15.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>15.01</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>20.0</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> </tbody> </table>			時間(分)	A 液(%)	B 液(%)	0.0	80	20	10.0	10	90	15.0	10	90	15.01	80	20	20.0	80	20
時間(分)	A 液(%)	B 液(%)																			
0.0	80	20																			
10.0	10	90																			
15.0	10	90																			
15.01	80	20																			
20.0	80	20																			
MS 条件																					
測定モード	MS/MS、選択イオン検出																				
イオン化モード	ESI(+)																				
イオンスプレー電圧 (V)	5500																				
ヒーター温度 (°C)	450																				
ネブライザーガス	空気、60 psi																				
ターボガス	空気、60 psi																				
コリジョンガス	窒素																				
定量イオン (m/z)	238.0→206.0[DP:11 (V)、コリジョンエネルギー:17 (eV)]																				
定性イオン (m/z)	238.0→136.0[DP:11 (V)、コリジョンエネルギー:37 (eV)]																				
保持時間 (min)	6.0																				

秤 取

↓ 試料 10 g

抽出

↓ アセトニトリル 60 mL、アセトニトリル飽和ヘキサン 40 mL 及び無水硫酸ナトリウム 20 g を加え

↓ 1 分間ホモジナイズ

↓ 3000 r/min で 5 分間遠心分離

↓ 綿栓ろ過、アセトニトリル層を採る

↓ 残留物及びヘキサン層にアセトニトリル 40 mL を加え 5 分間振とう

↓ 3000 r/min で 5 分間遠心分離

↓ 綿栓ろ過、アセトニトリル層を採る

↓ ろ液を合わせてアセトニトリルで 200 mL に定容

↓ 抽出液 4 mL 分取

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物を水及びアセトニトリルの混液(3:2)10 mL に溶解

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 1-6 エトパペート分析法の分析法フローチャート

表 1-7 測定条件 (ナイカルバジン及びハロフジノン分析法)

LC 条件																			
カラム	InertSustain C18 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μm :ジールサイエンス製)																		
移動相流速 (mL/min)	0.2																		
注入量 (μL)	5																		
カラム温度 (°C)	40																		
移動相	A液 : 水及びギ酸の混液(1000:1) B液 : アセトニトリル(HPLC用)																		
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間(分)</th> <th>A 液(%)</th> <th>B 液(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>15.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>18.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>18.1</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>23.0</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>	時間(分)	A 液(%)	B 液(%)	0.0	90	10	15.0	10	90	18.0	10	90	18.1	90	10	23.0	90	10
時間(分)	A 液(%)	B 液(%)																	
0.0	90	10																	
15.0	10	90																	
18.0	10	90																	
18.1	90	10																	
23.0	90	10																	
MS 条件																			
測定モード	MS/MS、選択イオン検出																		
イオン化モード	ESI(-)、ESI(+)																		
イオンスプレー電圧 (V)	-4500、5500																		
ヒーター温度 (°C)	700																		
ネブライザーガス	空気、60 psi																		
ターボガス	空気、60 psi																		
コリジョンガス	窒素																		
定量イオン(m/z)、定性イオン(m/z)																			
	プリカー サー イオン	DP (V)	プロダクトイオン① (定量用)		プロダクトイオン② (定性用)														
			(m/z)	コリジョン エネルギー (eV)	(m/z)	コリジョン エネルギー (eV)													
4,4'-ジニトロカルバニリド	301.1	-14	137.1	-18	107.0	-44													
ハロフジノン	415.0	88	100.0	37	121.0	30													
保持時間 (min)	4,4'-ジニトロカルバニリド 12.3、ハロフジノン 6.9																		

秤 取

↓ 試料 10 g

抽出

↓ アセトニトリル 60 mL 及び無水硫酸ナトリウム 20 g を加え

↓ 1 分間ホモジナイズ

↓ 3000 r/min で 5 分間遠心分離

↓ 綿栓ろ過、アセトニトリル層を採る

↓ 残留物にアセトニトリル 40 mL を加え 5 分間振とう

↓ 3000 r/min で 5 分間遠心分離

↓ 綿栓ろ過、アセトニトリル層を採る

↓ ろ液を合わせる

ヘキサン洗浄

↓ アセトニトリル飽和ヘキサン 100 mL を加え 5 分間振とう

↓ アセトニトリル層を採りアセトニトリルで 200 mL 定容

↓ 抽出液 1 mL 分取

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物を水及びアセトニトリルの混液(3:2)1 mL に溶解

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 1-7 ナイカルバジン及びハロフジノン分析法の分析法フローチャート

表 1-8 測定条件 (モネンシン、ラサロシド、ナラシン及びサリノマイシン分析法)

LC 条件																																																			
カラム	InertSustain C18 PEEK (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 μ m :ジールサイエンス製)																																																		
移動相流速 (mL/min)	0.2																																																		
注入量 (μ L)	4																																																		
カラム温度 ($^{\circ}$ C)	40																																																		
移動相	A液 : 2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 B液 : メタノール																																																		
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間(分)</th> <th>A 液(%)</th> <th>B 液(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.00</td> <td>40</td> <td>60</td> </tr> <tr> <td>6.00</td> <td>5</td> <td>95</td> </tr> <tr> <td>12.00</td> <td>5</td> <td>95</td> </tr> <tr> <td>12.01</td> <td>40</td> <td>60</td> </tr> <tr> <td>15.00</td> <td>40</td> <td>60</td> </tr> </tbody> </table>	時間(分)	A 液(%)	B 液(%)	0.00	40	60	6.00	5	95	12.00	5	95	12.01	40	60	15.00	40	60																																
時間(分)	A 液(%)	B 液(%)																																																	
0.00	40	60																																																	
6.00	5	95																																																	
12.00	5	95																																																	
12.01	40	60																																																	
15.00	40	60																																																	
MS 条件																																																			
測定モード	MS/MS、選択イオン検出																																																		
イオン化モード	ESI(+又は-)																																																		
イオンスプレー電圧 (V)	4500																																																		
ヒーター温度 ($^{\circ}$ C)	500																																																		
ネブライザーガス	空気、60 psi																																																		
ターボガス	空気、60 psi																																																		
コリジョンガス	窒素																																																		
定量イオン(m/z)、定性イオン(m/z)																																																			
	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th></th> <th>プリカーサー イオン(m/z)</th> <th>プロダクト イオン(m/z)</th> <th>DP (V)</th> <th>コリジョンエ ネルギー (eV)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">モネンシン</td> <td>(定量用)</td> <td>688.3</td> <td>635.5</td> <td>1</td> <td>27</td> </tr> <tr> <td>(定性用)</td> <td>693.3</td> <td>675.3</td> <td>1</td> <td>51</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">ラサロシド</td> <td>(定量用)</td> <td>589.3</td> <td>235.1</td> <td>-1</td> <td>-46</td> </tr> <tr> <td>(定性用)</td> <td>589.3</td> <td>173.1</td> <td>-1</td> <td>-58</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">ナラシン</td> <td>(定量用)</td> <td>782.4</td> <td>747.0</td> <td>1</td> <td>29</td> </tr> <tr> <td>(定性用)</td> <td>787.4</td> <td>431.3</td> <td>1</td> <td>69</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">サリノマイシン</td> <td>(定量用)</td> <td>768.3</td> <td>733.4</td> <td>1</td> <td>27</td> </tr> <tr> <td>(定性用)</td> <td>773.3</td> <td>431.3</td> <td>1</td> <td>67</td> </tr> </tbody> </table>			プリカーサー イオン(m/z)	プロダクト イオン(m/z)	DP (V)	コリジョンエ ネルギー (eV)	モネンシン	(定量用)	688.3	635.5	1	27	(定性用)	693.3	675.3	1	51	ラサロシド	(定量用)	589.3	235.1	-1	-46	(定性用)	589.3	173.1	-1	-58	ナラシン	(定量用)	782.4	747.0	1	29	(定性用)	787.4	431.3	1	69	サリノマイシン	(定量用)	768.3	733.4	1	27	(定性用)	773.3	431.3	1	67
		プリカーサー イオン(m/z)	プロダクト イオン(m/z)	DP (V)	コリジョンエ ネルギー (eV)																																														
モネンシン	(定量用)	688.3	635.5	1	27																																														
	(定性用)	693.3	675.3	1	51																																														
ラサロシド	(定量用)	589.3	235.1	-1	-46																																														
	(定性用)	589.3	173.1	-1	-58																																														
ナラシン	(定量用)	782.4	747.0	1	29																																														
	(定性用)	787.4	431.3	1	69																																														
サリノマイシン	(定量用)	768.3	733.4	1	27																																														
	(定性用)	773.3	431.3	1	67																																														
保持時間 (min)	モネンシン 9.0、ナラシン 9.9、サリノマイシン 9.3、ラサロシド 7.5																																																		

秤 取

↓ 試料 10 g

抽出

↓ アセトニトリル及び水の混液(9:1)60 mL を加え 30 秒間ホモジナイズ

↓ 吸引ろ過

↓ 残留物をアセトニトリル及び水の混液(9:1)60 mL で洗浄

↓ ろ液を合わせ、アセトニトリル及び水の混液(9:1)で 200 mL に定容

ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム[Oasis HLB(200 mg/6 mL)]

↓ アセトニトリル及び水各 5 mL でコンディショニング

↓ 抽出液 10 mL に水 15 mL を加えて注入

↓ 水及びメタノールの混液(1:1)10 mL で洗浄

↓ メタノール 10 mL で溶出(全溶出液を採る)

↓ メタノールで 10 mL に定容

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 1-8 モネンシン、ラサロシド、ナラシン及びサリノマイシン分析法の分析法フローチャート

表 1-9 測定条件 (カルバリル分析法)

LC 条件																					
カラム	InertSustain C18 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μ m :ジールサイエンス製)																				
移動相流速 (mL/min)	0.2																				
注入量 (μ L)	4																				
カラム温度 ($^{\circ}$ C)	40																				
移動相	A液 : 2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 B液 : メタノール																				
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間(分)</th> <th>A 液(%)</th> <th>B 液(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.00</td> <td>60</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>10.00</td> <td>20</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>15.00</td> <td>20</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>15.01</td> <td>60</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>20.00</td> <td>60</td> <td>40</td> </tr> </tbody> </table>			時間(分)	A 液(%)	B 液(%)	0.00	60	40	10.00	20	80	15.00	20	80	15.01	60	40	20.00	60	40
時間(分)	A 液(%)	B 液(%)																			
0.00	60	40																			
10.00	20	80																			
15.00	20	80																			
15.01	60	40																			
20.00	60	40																			
MS 条件																					
測定モード	MS/MS、選択イオン検出																				
イオン化モード	ESI(+)																				
イオンスプレー電圧 (V)	5500																				
ヒーター温度 ($^{\circ}$ C)	450																				
ネブライザーガス	空気、60 psi																				
ターボガス	空気、60 psi																				
コリジョンガス	窒素																				
定量イオン (m/z)	202.1 \rightarrow 145.1[DP:66(V)、コリジョンエネルギー:16(eV)]																				
定性イオン (m/z)	202.1 \rightarrow 127.1[DP:66(V)、コリジョンエネルギー:39(eV)]																				
保持時間 (min)	8.3																				

秤 取

↓ 試料 10 g

抽出

↓ アセトン 100 mL を加え 1 分間ホモジナイズ

↓ 吸引ろ過

↓ 残留物をアセトン 50 mL で洗浄

↓ ろ液を合わせ、アセトンで 200 mL に定容

↓ 抽出液 10 mL 分取

濃縮

↓ 約 1 mL まで濃縮

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム [InertSep C18(1000 mg/6 mL)]

↓ メタノール及び水各 5 mL でコンディショニング

↓ 濃縮液に水 20 mL を加えて注入

↓ 水及びメタノールの混液(8:2)10 mL で洗浄

↓ メタノール及び水の混液(8:2)10 mL で溶出(全溶出液を採る)

↓ メタノール及び水の混液(8:2)で 10 mL に定容

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 1-9 カルバリル分析法の分析法フローチャート

表 1-10 測定条件 (ペルメトリン分析法)

GC 条件	
検出器	ECD
カラム	DB-1701 (内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μ m: Agilent Technologies 製)
カラム温度($^{\circ}$ C)	80 $^{\circ}$ C (2 min) – 30 $^{\circ}$ C/min – 190 $^{\circ}$ C – 2 $^{\circ}$ C/min – 280 $^{\circ}$ C (5 min)
注入口温度($^{\circ}$ C)	250
検出器温度($^{\circ}$ C)	300
キャリアーガス	ヘリウム
キャリアーガス流量(mL/min)	2.5
注入法	スプリットレス法
注入量(μ L)	1
保持時間(min)	<i>cis</i> -ペルメトリン 29.6、 <i>trans</i> -ペルメトリン 30.6

秤 取

↓ 試料 5 g

アセトン抽出

- ↓ アセトン 100 mL を加え 1 分間ホモジナイズ
- ↓ 2500 r/min で 5 分間遠心分離
- ↓ 綿栓ろ過
- ↓ 残留物にアセトン 50 mL を加え 5 分間振とう
- ↓ 2500 r/min で 5 分間遠心分離
- ↓ 綿栓ろ過
- ↓ ろ液を合わせてアセトンで 200 mL に定容
- ↓ 抽出液 20 mL 分取

ヘキサン転溶

- ↓ 塩化ナトリウム 10 g、水 200 mL 及びヘキサン 100 mL を加え 5 分間振とう
- ↓ ヘキサン層を採る
- ↓ ヘキサン 50 mL 加え 5 分間振とう
- ↓ ヘキサン層を採る
- ↓ ヘキサン層を合わせて無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過

濃縮

↓ 約 5 mL まで濃縮

ヘキサン/アセトニトリル分配

- ↓ ヘキサン 25 mL
- ↓ ヘキサン飽和アセトニトリルを 30 mL 加え 5 分間振とう
- ↓ アセトニトリル層を採る
- ↓ ヘキサン飽和アセトニトリルを 30 mL 加え 5 分間振とう
- ↓ アセトニトリル層を採り、先のアセトニトリル層と合わせる

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物をヘキサン 5 mL に溶解

合成ケイ酸マグネシウムカラム

- ↓ [Florisil PR(粒径 150~250 μ m)、
- ↓ 5 g をヘキサンで湿式充填、上部に無水硫酸ナトリウム約 1 g 積層、内径 1.5 cm]
- ↓ 溶解液を注入
- ↓ ヘキサン及びジエチルエーテルの混液(85:15)70 mL で溶出(全溶出液を採る)

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物をヘキサン 2.5 mL に溶解

試験溶液

↓

GC-ECD

図 1-10 ペルメトリン分析法の分析法フローチャート

表 1-11 測定条件 (シフルトリン及びフルメトリン分析法)

LC 条件																										
カラム	InertSustain C18 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μ m :ジューエルサイエンス製)																									
移動相流速(mL/min)	0.2																									
注入量(μ L)	5																									
カラム温度($^{\circ}$ C)	40																									
移動相	シフルトリン: A液:2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液 B液:メタノール フルメトリン: A液:2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液 B液:アセトニトリル																									
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間(分)</th> <th>A 液(%)</th> <th>B 液(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>8.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> </tbody> </table>	時間(分)	A 液(%)	B 液(%)	0.0	10	90	8.0	10	90																
時間(分)	A 液(%)	B 液(%)																								
0.0	10	90																								
8.0	10	90																								
MS 条件																										
測定モード	MS/MS、選択イオン検出																									
イオン化モード	ESI(+)																									
イオンスプレー電圧(V)	5500																									
ヒーター温度($^{\circ}$ C)	150																									
ネブライザーガス	空気、60 psi																									
ターボガス	空気、60 psi																									
コリジョンガス	窒素																									
定量イオン(m/z)、定性イオン(m/z)																										
	<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th rowspan="2">プリカーサー イオン</th> <th rowspan="2">DP (V)</th> <th colspan="2">プロダクトイオン① (定量用)</th> <th colspan="2">プロダクトイオン② (定性用)</th> </tr> <tr> <th>(m/z)</th> <th>コリジョン エネルギー(eV)</th> <th>(m/z)</th> <th>コリジョン エネルギー(eV)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>シフルトリン</td> <td>451.0</td> <td>31</td> <td>191.0</td> <td>21</td> <td>434.0</td> <td>13</td> </tr> <tr> <td>フルメトリン</td> <td>527.0</td> <td>31</td> <td>267.0</td> <td>21</td> <td>239.0</td> <td>33</td> </tr> </tbody> </table>		プリカーサー イオン	DP (V)	プロダクトイオン① (定量用)		プロダクトイオン② (定性用)		(m/z)	コリジョン エネルギー(eV)	(m/z)	コリジョン エネルギー(eV)	シフルトリン	451.0	31	191.0	21	434.0	13	フルメトリン	527.0	31	267.0	21	239.0	33
	プリカーサー イオン				DP (V)	プロダクトイオン① (定量用)		プロダクトイオン② (定性用)																		
		(m/z)	コリジョン エネルギー(eV)	(m/z)		コリジョン エネルギー(eV)																				
シフルトリン	451.0	31	191.0	21	434.0	13																				
フルメトリン	527.0	31	267.0	21	239.0	33																				
保持時間(min)	シフルトリン 3.9、フルメトリン 4.3																									

秤 取

↓ 試料 5 g

アセトン抽出

- ↓ アセトン 100 mL を加え 1 分間ホモジナイズ
- ↓ 2500 r/min で 5 分間遠心分離
- ↓ 綿栓ろ過
- ↓ 残留物にアセトン 50 mL を加え 5 分間振とう
- ↓ 2500 r/min で 5 分間遠心分離
- ↓ 綿栓ろ過
- ↓ ろ液を合わせてアセトンで 200 mL に定容
- ↓ 抽出液 2 mL 分取

濃縮(溶媒除去)

- ↓ 残留物をアセトニトリル及び水の混液(1:1)5 mL に溶解

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム [InertSep C18(1000 mg/6 mL)]

- ↓ アセトニトリル 5 mL、アセトニトリル及び水(1:1)5 mL でコンディショニング
- ↓ 溶解液を注入
- ↓ アセトニトリル及び水の混液(1:1)5 mL で洗浄
- ↓ アセトニトリル 15 mL で溶出(全溶出液を採る)

濃縮(溶媒除去)

- ↓ 残留物をヘキサン及びジエチルエーテルの混液(96:4)10 mL に溶解

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム [Sep-Pak Plus florisil(910 mg)]

- ↓ ヘキサン 10 mL でコンディショニング
- ↓ 溶解液を注入
- ↓ ヘキサン及びジエチルエーテルの混液(96:4)20 mL で溶出(全溶出液を採る)

濃縮(溶媒除去)

- ↓ 残留物をアセトニトリル 1 mL に溶解

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 1-11 シフルトリン及びフルメトリン分析法の分析法フローチャート

表 1-12 測定条件 (フルニキシン分析法)

LC 条件																					
カラム	InertSustain C18 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μm :ジューエルサイエンス製)																				
移動相流速 (mL/min)	0.2																				
注入量 (μL)	5																				
カラム温度 (°C)	40																				
移動相	A液 : 水及びギ酸の混液(1000 : 1) B液 : アセトニトリル (HPLC用)																				
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間(分)</th> <th>A 液(%)</th> <th>B 液(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>50</td> <td>50</td> </tr> <tr> <td>8.0</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>13.0</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>13.01</td> <td>50</td> <td>50</td> </tr> <tr> <td>18.0</td> <td>50</td> <td>50</td> </tr> </tbody> </table>			時間(分)	A 液(%)	B 液(%)	0.0	50	50	8.0	0	100	13.0	0	100	13.01	50	50	18.0	50	50
時間(分)	A 液(%)	B 液(%)																			
0.0	50	50																			
8.0	0	100																			
13.0	0	100																			
13.01	50	50																			
18.0	50	50																			
MS 条件																					
測定モード	MS/MS、選択イオン検出																				
イオン化モード	ESI(+)																				
インターフェイス電圧(kV)	4.0																				
インターフェイス温度(°C)	300																				
脱溶媒管温度(°C)	250																				
ヒートブロック温度(°C)	400																				
ネブライザーガス	窒素、3.00 L/min																				
ドライイングガス	窒素、10.00 L/min																				
ヒーティングガス	空気、10.00 L/min																				
コリジョンガス	アルゴン																				
定量イオン(m/z)	297.1→279.2[コリジョンエネルギー:22(eV)]																				
定性イオン(m/z)	297.1→264.2[コリジョンエネルギー:35(eV)]																				
保持時間(min)	5.1																				

秤 取

↓ 試料 5 g

抽出

↓ アセトニトリル 30 mL、アセトニトリル飽和ヘキサン 20 mL 及び無水硫酸ナトリウム 10g を加え

↓ 1 分間ホモジナイズ

↓ 3000 r/min で 5 分間遠心分離

↓ 綿栓ろ過、アセトニトリル層を採る

↓ 残留物及びヘキサン層にアセトニトリル 20 mL を加え 5 分間振とう

↓ 3000 r/min で 5 分間遠心分離

↓ 綿栓ろ過、アセトニトリル層を採る

↓ ろ液を合わせてアセトニトリルで 100 mL に定容

↓ 抽出液 4 mL 分取、メタノールで 10 mL に定容

試験溶液

↓

LC-MS/MS

図 1-12 フルニキシン分析法の分析法フローチャート

表 1-13 測定条件 (DDT、アルドリン及びディルドリン、エンドリン、ヘプタクロル及びヘプタクロルエポキシド、 α -HCH、 β -HCH並びに γ -HCH分析法)

検出器	ECD
カラム	DB-1701 (内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μ m : Agilent Technologies 製)
カラム温度($^{\circ}$ C)	80 $^{\circ}$ C(2 min)–30 $^{\circ}$ C/min–190 $^{\circ}$ C–3.6 $^{\circ}$ C/min–280 $^{\circ}$ C(5 min)
注入口温度($^{\circ}$ C)	250
検出器温度($^{\circ}$ C)	300
キャリアーガス	ヘリウム
キャリアーガス流量 (mL/min)	2.5
注入法	スプリットレス法
注入量(μ L)	2
保持時間(min)	7.9(α -HCH) 8.7(γ -HCH) 9.1(ヘプタクロル) 9.7(アルドリン) 10.4(β -HCH) 11.5(<i>cis</i> -ヘプタクロルエポキシド) 11.6(<i>trans</i> -ヘプタクロルエポキシド) 13.0(<i>p,p'</i> -DDE) 13.5(ディルドリン) 14.2(エンドリン) 14.5(<i>o,p'</i> -DDT) 15.8(<i>p,p'</i> -DDD) 16.4(<i>p,p'</i> -DDT)

秤 取

↓ 試料 5 g

アセトン抽出

↓ アセトン 100 mL を加え 1 分間ホモジナイズ

↓ 2500 r/min で 5 分間遠心分離

↓ 綿栓ろ過

↓ 残留物にアセトン 50 mL を加え振とう

↓ 2500 r/min で 5 分間遠心分離

↓ 綿栓ろ過

↓ ろ液を合わせてアセトンで 200 mL に定容

↓ 抽出液 20 mL 分取

ヘキサン転溶

↓ 塩化ナトリウム 10 g、水 200 mL 及びヘキサン 100 mL を加え 5 分間振とう

↓ ヘキサン層を採る

↓ ヘキサン 50 mL 加え 5 分間振とう

↓ ヘキサン層を採る

↓ ヘキサン層を合わせて無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過

濃 縮

↓ 約 5 mL まで濃縮

ヘキサン/アセトニトリル分配

↓ ヘキサン 15 mL

↓ ヘキサン飽和アセトニトリルを 30 mL 加え 5 分間振とう

↓ アセトニトリル層を採る

↓ ヘキサン飽和アセトニトリルを 30 mL 加え 5 分間振とう

↓ アセトニトリル層を採る

↓ ヘキサン飽和アセトニトリルを 30 mL 加え 5 分間振とう

↓ アセトニトリル層を採り、先のアセトニトリル層と合わせる

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物をヘキサン 5 mL に溶解

合成ケイ酸マグネシウムカラム

↓ [Florasil PR(粒径 150~250 μ m)、

↓ 5 g をヘキサンで湿式充填、上部に無水硫酸ナトリウム約 1 g 積層、内径 1.5 cm]

↓ 溶解液を注入

↓ ヘキサン及びジエチルエーテルの混液(85:15)70 mL で溶出(全溶出液を採る)

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物をヘキサン 10 mL に溶解

試験溶液

↓

GC-ECD

図 1-13 DDT、アルドリン及びディルドリン、エンドリン、ヘプタクロル及びヘプタクロルエポキシド、 α -HCH、 β -HCH 並びに γ -HCH 分析法の分析法フローチャート

表 1-14 測定条件 (PCB 分析法)

GC 条件																																																	
カラム	Fused Silica HT8-PCB (内径 0.25 mm、長さ 60 m: 関東化学製)																																																
カラム温度(°C)	100°C(1 min)–20°C/min–180°C(0 min)–5°C/min–300°C(0 min)																																																
注入口温度(°C)	250																																																
インターフェース温度(°C)	300																																																
キャリアーガス	ヘリウム																																																
キャリアーガス流量(mL/min)	1																																																
注入法	スプリットレス法																																																
注入量(μL)	1																																																
MS 条件																																																	
測定モード	MS、選択イオン検出																																																
イオン化法	EI(+)																																																
イオン化エネルギー(eV)	70																																																
EM 電圧(V)	オートチューニングでの設定値																																																
イオン源温度(°C)	230																																																
四重極温度(°C)	150																																																
定量イオン(m/z)、定性イオン(m/z)																																																	
	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>定量イオン (m/z)</th> <th>定性イオン (m/z)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PCB28</td> <td>256.0</td> <td>258.0</td> </tr> <tr> <td>[¹³C₁₂]PCB28</td> <td>268.0</td> <td>270.0</td> </tr> <tr> <td>MBP-19</td> <td>268.0</td> <td>270.0</td> </tr> <tr> <td>PCB52</td> <td>289.9</td> <td>291.9</td> </tr> <tr> <td>[¹³C₁₂]PCB52</td> <td>302.0</td> <td>304.0</td> </tr> <tr> <td>MBP-70</td> <td>302.0</td> <td>304.0</td> </tr> <tr> <td>PCB101</td> <td>325.9</td> <td>327.9</td> </tr> <tr> <td>[¹³C₁₂]PCB101</td> <td>337.9</td> <td>339.9</td> </tr> <tr> <td>MBP-111</td> <td>337.9</td> <td>339.9</td> </tr> <tr> <td>PCB138 及び PCB153</td> <td>359.8</td> <td>361.8</td> </tr> <tr> <td>[¹³C₁₂] PCB138 及び [¹³C₁₂] PCB153</td> <td>371.9</td> <td>373.9</td> </tr> <tr> <td>MBP-159</td> <td>371.9</td> <td>373.9</td> </tr> <tr> <td>PCB180</td> <td>395.8</td> <td>393.8</td> </tr> <tr> <td>[¹³C₁₂]PCB180</td> <td>407.8</td> <td>405.8</td> </tr> <tr> <td>MBP-170</td> <td>407.8</td> <td>405.8</td> </tr> </tbody> </table>		定量イオン (m/z)	定性イオン (m/z)	PCB28	256.0	258.0	[¹³ C ₁₂]PCB28	268.0	270.0	MBP-19	268.0	270.0	PCB52	289.9	291.9	[¹³ C ₁₂]PCB52	302.0	304.0	MBP-70	302.0	304.0	PCB101	325.9	327.9	[¹³ C ₁₂]PCB101	337.9	339.9	MBP-111	337.9	339.9	PCB138 及び PCB153	359.8	361.8	[¹³ C ₁₂] PCB138 及び [¹³ C ₁₂] PCB153	371.9	373.9	MBP-159	371.9	373.9	PCB180	395.8	393.8	[¹³ C ₁₂]PCB180	407.8	405.8	MBP-170	407.8	405.8
	定量イオン (m/z)	定性イオン (m/z)																																															
PCB28	256.0	258.0																																															
[¹³ C ₁₂]PCB28	268.0	270.0																																															
MBP-19	268.0	270.0																																															
PCB52	289.9	291.9																																															
[¹³ C ₁₂]PCB52	302.0	304.0																																															
MBP-70	302.0	304.0																																															
PCB101	325.9	327.9																																															
[¹³ C ₁₂]PCB101	337.9	339.9																																															
MBP-111	337.9	339.9																																															
PCB138 及び PCB153	359.8	361.8																																															
[¹³ C ₁₂] PCB138 及び [¹³ C ₁₂] PCB153	371.9	373.9																																															
MBP-159	371.9	373.9																																															
PCB180	395.8	393.8																																															
[¹³ C ₁₂]PCB180	407.8	405.8																																															
MBP-170	407.8	405.8																																															
保持時間(min)	PCB28 16.3、PCB52 17.2、PCB101 20.4、PCB138 24.9、PCB153 23.8、PCB180 27.4																																																

秤 取

- ↓ 試料 1 g
- ↓ 10 µg/L 内標準溶液を 50 µL 添加

抽 出

- ↓ 1mol/L 水酸化カリウムのエタノール溶液 100 mL を加え、約 90 °C の水浴で 1 時間加熱還流
- ↓ ヘキサン 100 mL を加え、綿栓ろ過をしてあらかじめ精製水 100 mL を入れた 500 mL 分液漏斗に移す
- ↓ 10 分間振とう
- ↓ ヘキサン層を分取した後軽く水洗浄
- ↓ 無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過

濃 縮

- ↓ 約 5 mL まで濃縮

合成ケイ酸マグネシウムカラム

- ↓ [Florisil PR (粒径 150~250 µm) 、
- ↓ 20 g をヘキサンで湿式充填、内径 2.0 cm]
- ↓ 濃縮液を負荷
- ↓ ヘキサン約 2 mL でなす形フラスコ内を 3 回洗い、洗液をカラムに負荷
- ↓ ヘキサン 200 mL で溶出(全溶出液を採取)

濃 縮

- ↓ 約 5 mL まで濃縮
- ↓ 10 µg/L 内標準(シリンジスパイク)混合溶液 50 µL を入れたスピッツ管に濃縮液を移す
- ↓ ヘキサン約 1 mL でなす形フラスコ内を 3 回洗い、洗液をスピッツ管に合わせる
- ↓ 窒素ガスを通じて 50 µL まで濃縮

試験溶液

- ↓

GC-MS

図 1-14 PCB 分析法の分析法フローチャート

(1) ドラメクチン分析法

表2-1 ドラメクチンの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
5	1回目	5.79	5.36	4.76	5.30	4.36	5.02	100.3	7.4	11.3
	2回目	4.89	5.36	5.34	5.07	3.94				

(2) レバミゾール分析法

表2-2 レバミゾールの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	9.5	9.8	9.9	9.1	9.7	9.6	95.9	2.1	3.4
	2回目	9.4	9.3	9.9	9.3	10.0				

(3) トリクラベンダゾール分析法

表2-3 トリクラベンダゾールの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	8.1	9.1	7.7	8.0	8.9	8.2	81.8	6.2	8.2
	2回目	7.1	9.0	8.0	8.3	7.7				

(4) ピペラジン分析法

表2-4 ピペラジンの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	7.4	11.3	7.9	8.3	9.3	8.8	87.8	10.3	19.9
	2回目	7.1	11.3	7.3	10.4	7.5				

(5) アンプロリウム分析法

表2-5 アンプロリウムの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値($\mu\text{g/kg}$)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	日目			
10	1回目	10.2	9.4	9.4	10	10.2	10.2	101.5	5.7	6.4
	2回目	11.2	10.5	9.9	9.6	11.2				

(6) エトパベート分析法

表2-6 エトパベートの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値($\mu\text{g/kg}$)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	9.5	9.9	10.1	10.0	10.3	9.9	99.0	3.5	4.2
	2回目	9.4	9.9	9.3	10.7	10.0				

(7) エトパベート分析法

表2-7-1 4,4'-ジニトロカルバニリドの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値($\mu\text{g/kg}$)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	7.2	8.7	9.2	9.8	8.0	8.7	86.8	5.7	10.0
	2回目	7.7	8.4	9.1	9.3	9.4				

表2-7-2 ハロフジノンの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値($\mu\text{g/kg}$)							平均回収率 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	8.7	8.1	8.0	9.3	7.1	8.0	80.0	11.7	11.7
	2回目	7.1	7.5	9.5	7.4	7.2				

(8) モネンシン、ラサロシド、ナラシン及びサリノマイシン分析法

表2-8-1 モネンシンの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
5	1回目	4.17	3.66	4.20	4.20	4.77	4.19	83.7	2.6	8.4
	2回目	4.27	3.77	4.26	3.98	4.57				

表2-8-2 ナラシンの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
5	1回目	3.83	4.41	4.96	4.57	5.16	4.73	94.6	4.8	11.0
	2回目	4.18	4.64	5.04	5.07	5.44				

表2-8-3 サリノマイシンの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
2	1回目	1.76	1.51	2.03	1.84	1.57	1.77	88.6	5.4	12.0
	2回目	1.73	1.48	1.97	2.02	1.80				

表2-8-4 ラサロシドの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
5	1回目	4.40	4.11	4.33	4.43	4.01	4.23	84.6	3.9	6.0
	2回目	4.03	3.85	4.57	4.51	4.06				

(9) カルバリル分析法

表2-9 カルバリルの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
50	1回目	47.0	48.0	51.0	48.9	46.9	49.0	98.0	2.6	4.2
	2回目	50.1	47.4	52.8	50.4	47.7				

(10) ペルメトリン分析法

表2-10 ペルメトリンの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
50	1回目	45.0	54.5	41.0	52.6	53.9	49.4	98.9	9.3	15.0
	2回目	57.1	52.8	35.0	47.5	55.0				

(11) シフルトリン及びフルメトリン分析法

表2-11-1 シフルトリンの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	9.9	9.7	10.9	8.8	10.2	10.0	99.7	3.6	6.8
	2回目	9.5	10.0	10.5	9.4	10.8				

表2-11-2 フルメトリンの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	9.1	11.1	12.0	10.1	10.8	11.0	109.7	5.1	9.5
	2回目	10.1	12.0	12.0	10.6	11.9				

(12) フルニキシン分析法

表2-12 フルニキシンの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	9.3	8.9	8.8	10.0	9.0	9.1	91.3	1.3	5.4
	2回目	9.3	8.7	8.7	9.8	8.8				

(13) DDT、アルドリン及びディルドリン、エンドリン、ヘプタクロル及びヘプタクロルエポキシド、 α -HCH、 β -HCH並びに γ -HCH分析法

表 2-13-1 o,p' -DDT の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	10.5	9.2	9.3	8.2	8.9	9.5	95.0	4.8	9.3
	2回目	10.8	10.2	10.0	8.8	9.0				

表 2-13-2 p,p' -DDE の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	8.8	8.5	8.4	7.6	7.8	8.3	83.2	2.3	7.2
	2回目	9.3	8.7	8.7	7.7	7.8				

表 2-13-3 p,p' -DDD の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	9.9	9.9	9.2	8.5	8.4	9.3	93.5	3.0	8.3
	2回目	10.5	10.0	9.6	9.1	8.4				

表 2-13-4 p,p' -DDT の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	測定値 ($\mu\text{g/kg}$)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	10.3	9.6	9.2	8.1	8.1	9.4	93.7	6.1	12.6
	2回目	11.6	9.9	9.8	9.2	7.9				

表 2-13-5 アルドリンの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	7.7	7.3	6.9	6.7	7.8	7.3	73.4	2.6	6.0
	2回目	7.4	7.7	7.0	7.1	7.9				

表 2-13-6 ディルドリンの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	9.4	9.7	8.8	8.6	7.9	9.0	90.4	3.2	8.6
	2回目	9.9	10.0	9.4	8.7	8.1				

表 2-13-7 エンドリンの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	9.5	9.7	8.8	9.2	7.1	8.9	89.2	3.8	13.0
	2回目	10.3	9.6	9.4	8.7	6.9				

表 2-13-8 ヘプタクロルの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	8.6	7.9	7.9	7.2	6.6	7.9	79.1	5.6	10.4
	2回目	8.9	8.4	8.7	8.0	7.0				

表 2-13-9 *cis*-ヘプタクロルエポキシドの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	9.5	10.4	9.2	9.1	9.9	10.0	100.0	6.1	6.1
	2回目	10.7	10.8	10.2	10.1	10.1				

表 2-13-10 *trans*-ヘプタクロルエポキシドの真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	8.7	9.2	8.3	7.9	7.3	8.6	86.2	6.5	8.5
	2回目	9.7	9.2	9.0	8.7	8.2				

表 2-13-11 α -HCH の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	8.9	9.1	8.5	8.3	7.9	8.8	87.9	4.2	6.2
	2回目	9.6	9.3	9.1	8.7	8.5				

表 2-13-12 β -HCH の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	9.3	9.8	8.8	9.0	7.9	9.1	91.5	3.7	7.8
	2回目	10.0	9.7	9.2	9.6	8.2				

表 2-13-13 γ -HCH の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 (μ g/kg)	測定値 (μ g/kg)							平均 回収率 (%)	併行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目	全平均			
10	1回目	9.2	9.0	8.5	8.3	9.3	8.7	87.4	6.8	6.9
	2回目	9.4	8.9	9.1	8.2	7.5				

(14) PCB分析法

表2-14-1 PCB28の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)								平均 回収率 (%)	並行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目	全平均			
0.07	1日目	0.0610	0.0728	0.0691	0.0688	0.0596	0.0659	0.0692	98.9	7.4	7.9
	2日目	0.0744	0.0693	0.0750	0.0637	0.0739	0.0728				
	3日目	0.0722	0.0607	0.0763	0.0713	0.0648	0.0741				
0.13	1日目	0.1396	0.1270	0.1313	0.1379	0.1392	0.1321	0.1338	102.9	7.4	7.4
	2日目	0.1350	0.1242	0.1322	0.1413	0.1399	0.1415				
	3日目	0.1422	0.1278	0.1053	0.1423	0.1438	0.1250				
0.2	1日目	0.190	0.217	0.199	0.192	0.210	0.204	0.207	103.4	3.8	4.1
	2日目	0.204	0.219	0.214	0.197	0.204	0.212				
	3日目	0.212	0.215	0.207	0.204	0.211	0.214				

表2-14-2 PCB52の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)								平均 回収率 (%)	並行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目	全平均			
0.07	1日目	0.0718	0.0747	0.0641	0.0616	0.0610	0.0667	0.0700	100.0	6.0	7.1
	2日目	0.0727	0.0750	0.0757	0.0703	0.0716	0.0714				
	3日目	0.0680	0.0744	0.0707	0.0739	0.0734	0.0636				
0.13	1日目	0.1423	0.1421	0.1243	0.1345	0.1417	0.1298	0.1351	103.9	4.0	4.0
	2日目	0.1407	0.1323	0.1322	0.1363	0.1357	0.1362				
	3日目	0.1276	0.1345	0.1385	0.1341	0.1383	0.1298				
0.2	1日目	0.196	0.202	0.195	0.215	0.198	0.196	0.203	101.5	3.7	3.7
	2日目	0.208	0.207	0.210	0.204	0.200	0.209				
	3日目	0.205	0.190	0.199	0.193	0.209	0.217				

表 2-14-3 PCB101 の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)								平均 回収率 (%)	並行 精度 (%)	室内 精度 (%)
	試行	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目	全平均			
0.07	1日目	0.0698	0.0725	0.0693	0.0746	0.0710	0.0661	0.0721	103.0	3.8	4.5
	2日目	0.0728	0.0675	0.0755	0.0718	0.0713	0.0689				
	3日目	0.0723	0.0751	0.0755	0.0784	0.0723	0.0731				
0.13	1日目	0.1326	0.1319	0.1396	0.1224	0.1419	0.1282	0.1324	101.8	5.7	5.7
	2日目	0.1185	0.1289	0.1372	0.1312	0.1386	0.1324				
	3日目	0.1356	0.1179	0.1398	0.1394	0.1360	0.1307				
0.2	1日目	0.206	0.214	0.210	0.198	0.198	0.213	0.205	102.5	3.8	3.8
	2日目	0.204	0.210	0.195	0.215	0.195	0.194				
	3日目	0.201	0.207	0.212	0.217	0.203	0.198				

表2-14-4 PCB138の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)								平均回収率 (%)	並行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目	全平均			
0.07	1日目	0.0607	0.0744	0.0743	0.0664	0.0709	0.0637	0.0698	99.7	6.8	6.8
	2日目	0.0737	0.0709	0.0659	0.0738	0.0766	0.0702				
	3日目	0.0693	0.0711	0.0626	0.0708	0.0651	0.0752				
0.13	1日目	0.1112	0.1231	0.1263	0.1355	0.1320	0.1221	0.1288	99.1	5.3	5.6
	2日目	0.1365	0.1236	0.1315	0.1285	0.1395	0.1323				
	3日目	0.1272	0.1375	0.1335	0.1228	0.1326	0.1224				
0.2	1日目	0.208	0.202	0.207	0.208	0.219	0.192	0.207	103.3	4.6	4.6
	2日目	0.218	0.216	0.208	0.210	0.210	0.205				
	3日目	0.191	0.213	0.187	0.214	0.215	0.196				

表2-14-5 PCB153の真度、併行精度及び室内精度

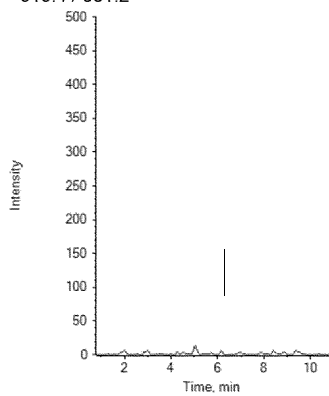
添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)								平均回収率 (%)	並行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目	全平均			
0.07	1日目	0.0607	0.0749	0.0579	0.0605	0.0674	0.0743	0.0708	101.1	6.8	8.6
	2日目	0.0681	0.0747	0.0728	0.0742	0.0758	0.0740				
	3日目	0.0734	0.0762	0.0733	0.0734	0.0679	0.0747				
0.13	1日目	0.1325	0.1311	0.1319	0.1334	0.1231	0.1282	0.1345	103.4	3.5	4.3
	2日目	0.1295	0.1424	0.1388	0.1289	0.1370	0.1419				
	3日目	0.1422	0.1347	0.1405	0.1317	0.1360	0.1366				
0.2	1日目	0.193	0.204	0.219	0.211	0.201	0.217	0.203	101.5	4.0	4.2
	2日目	0.202	0.194	0.205	0.212	0.189	0.211				
	3日目	0.200	0.204	0.204	0.198	0.194	0.196				

表 2-14-6 PCB180 の真度、併行精度及び室内精度

添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	測定値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)								平均回収率 (%)	並行精度 (%)	室内精度 (%)
	試行	1回目	2回目	3回目	4回目	5回目	6回目	全平均			
0.07	1日目	0.0702	0.0650	0.0734	0.0670	0.0659	0.0701	0.0673	96.2	8.2	8.2
	2日目	0.0711	0.0627	0.0701	0.0639	0.0624	0.0742				
	3日目	0.0745	0.0761	0.0606	0.0645	0.0587	0.0618				
0.13	1日目	0.1338	0.1353	0.1303	0.1204	0.1203	0.1269	0.1277	98.3	4.7	4.7
	2日目	0.1252	0.1238	0.1343	0.1276	0.1209	0.1181				
	3日目	0.1361	0.1315	0.1322	0.1195	0.1309	0.1318				
0.2	1日目	0.194	0.207	0.206	0.208	0.201	0.211	0.199	99.7	5.3	5.4
	2日目	0.204	0.211	0.179	0.205	0.189	0.183				
	3日目	0.190	0.196	0.212	0.209	0.200	0.183				

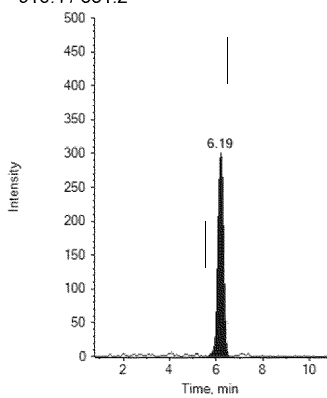
ブランク試料

7/22/2022 9:18:31 PM
916.4 / 331.2



添加試料

7/22/2022 9:44:06 PM
916.4 / 331.2



標準溶液 (0.5 µg/L)

7/22/2022 8:52:58 PM
916.4 / 331.2

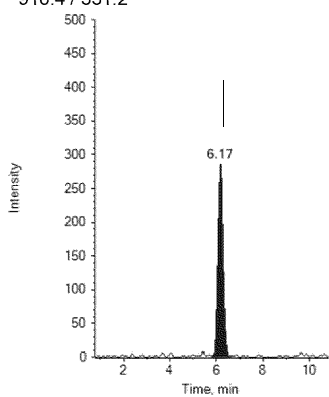
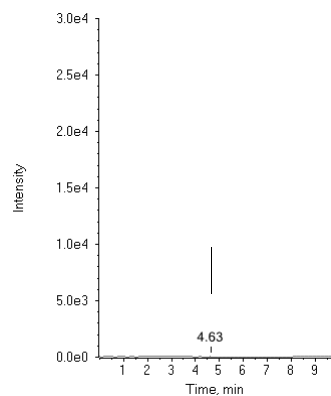


図 2-1 ドラメクチンの SRM クロマトグラム

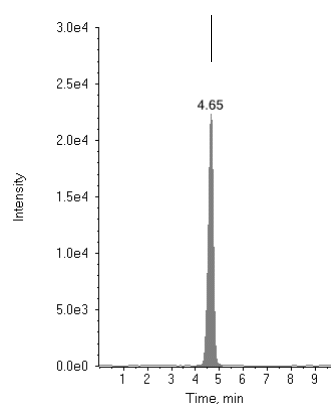
(m/z 916.4→331.2)

添加濃度 : 5 µg/kg

ブランク試料



添加試料



標準溶液(0.5 μ g/L)

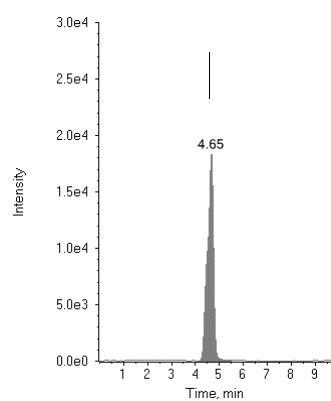
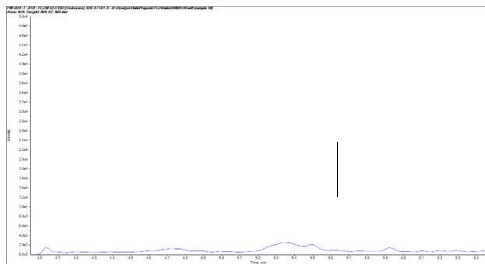
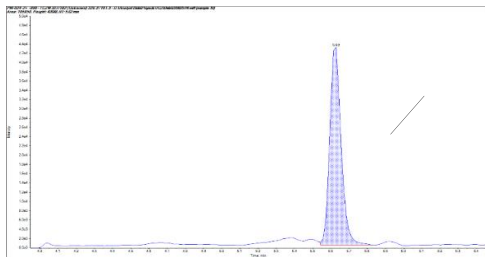


図 2-2 レバミゾールの SRM クロマトグラム
(m/z 205.0→178.0)
添加濃度 : 10 μ g/kg

ブランク試料



添加試料



標準溶液(0.1 µg/L)

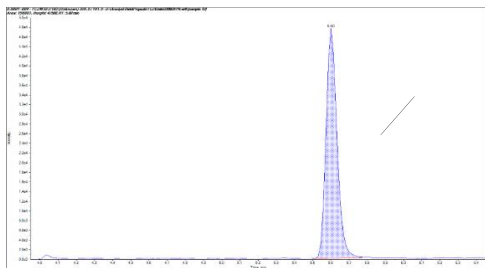
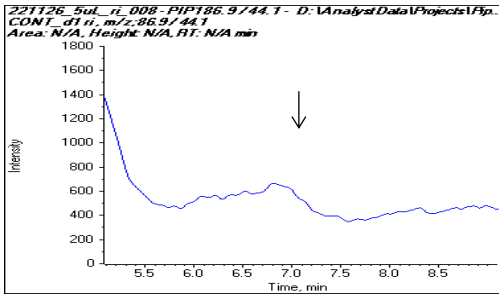


図 2-3 ケト-トリクラベンダゾールの SRM クロマトグラム

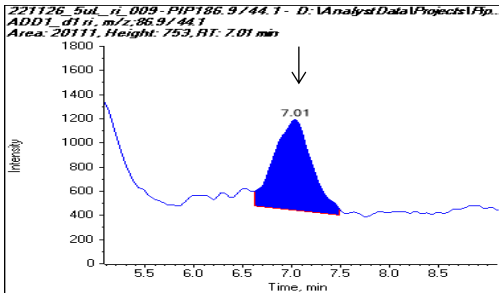
(m/z 326.9→181.9)

添加濃度 : 10 µg/kg

ブランク試料



添加試料



標準溶液 (1 $\mu\text{g/L}$)

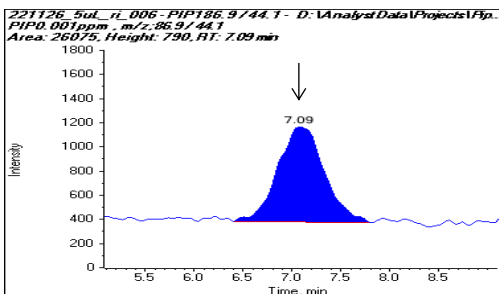
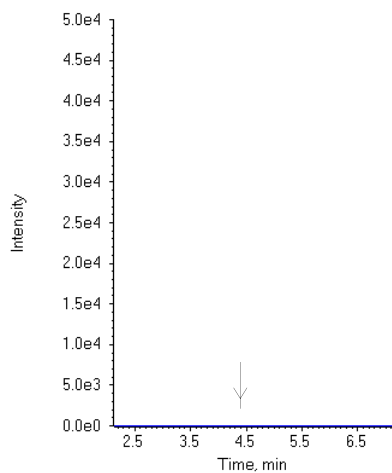
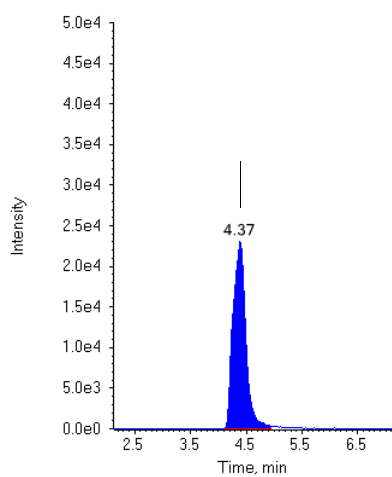


図 2-4 ピペラジンの SRM クロマトグラム
(m/z 86.9→44.1)
添加濃度 : 10 $\mu\text{g/k g}$

ブランク試料



添加試料



標準溶液 (1 µg/L)

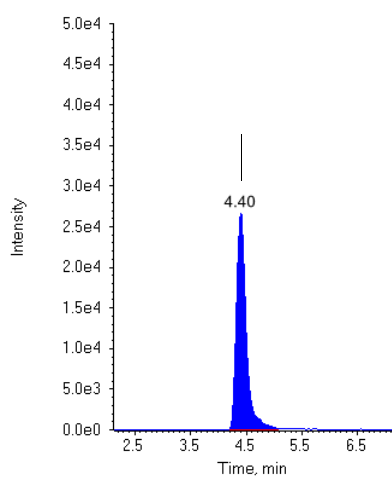


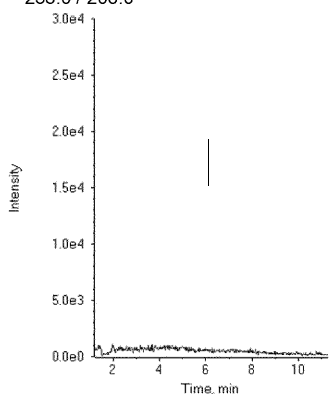
図 2-5 アンプロリウムの SRM クロマトグラム

(m/z 243.0.→150.0)

添加濃度 : 10 µg/k g

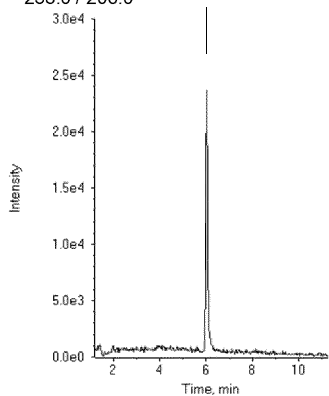
ブランク試料

8/8/2022 3:28:45 PM
238.0 / 206.0



添加試料

8/8/2022 3:49:18 PM
238.0 / 206.0



標準溶液 (0.2 µg/L)

8/8/2022 2:47:39 PM
238.0 / 206.0

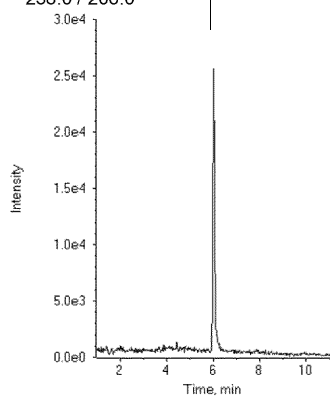
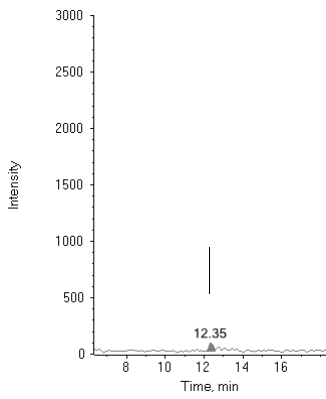
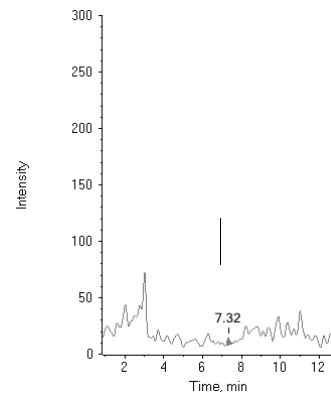


図 2-6 エトパペートの SRM クロマトグラム
(m/z 238.0→206.0)
添加濃度 : 10 µg/kg

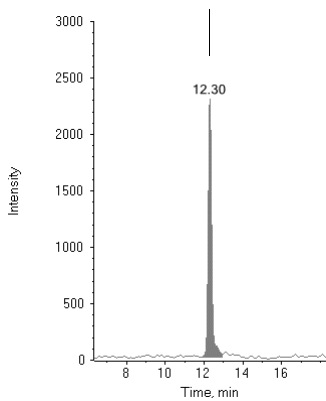
ブランク試料



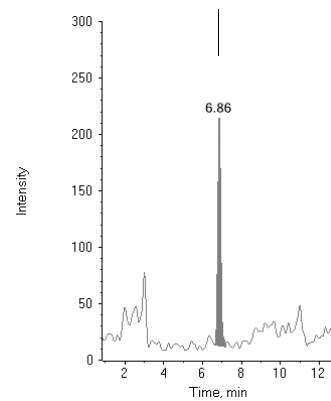
ブランク試料



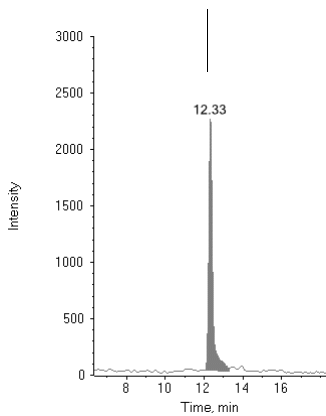
添加試料



添加試料



標準溶液(0.5 µg/L)



標準溶液(0.5 µg/L)

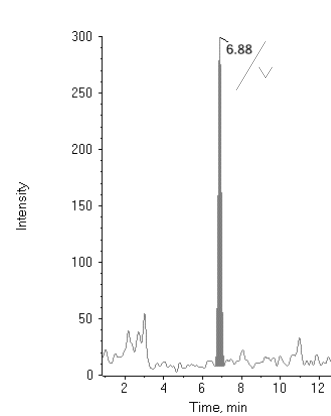
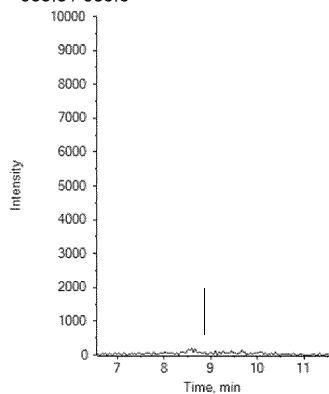


図 2-7-1 4,4'-ジニトロカルバニリドの
SRM クロマトグラム
(m/z 301.1→137.1)
添加濃度: 10 µg/kg

図 2-7-2 ハロフジノンの SRM クロマトグラム
(m/z 415.0→100.0)
添加濃度: 10 µg/kg

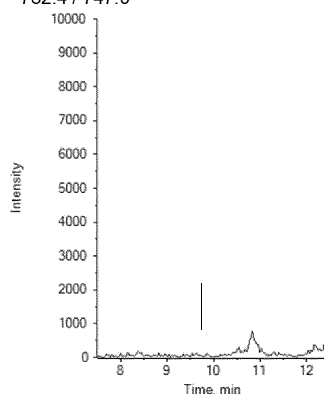
ブランク試料

8/12/2022 1:02:51 AM
688.3 / 635.5



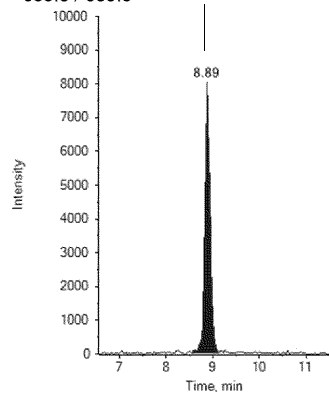
ブランク試料

8/12/2022 1:02:51 AM
782.4 / 747.0



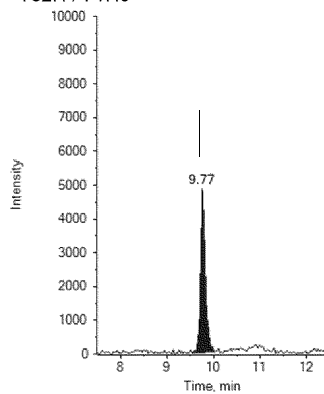
添加試料

8/12/2022 1:18:24 AM
688.3 / 635.5



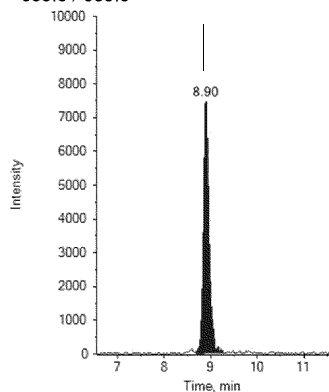
添加試料

8/12/2022 1:33:58 AM
782.4 / 747.0



標準溶液(0.25 µg/L)

8/11/2022 11:29:22 PM
688.3 / 635.5



標準溶液(0.25 µg/L)

8/11/2022 11:29:22 PM
782.4 / 747.0

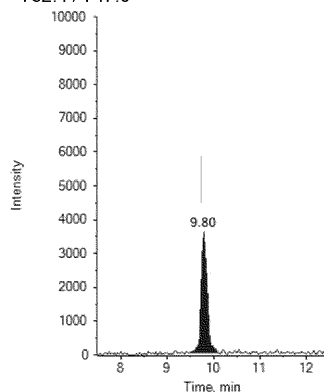


図 2-8-1 モネンシンの SRM クロマトグラム
(m/z 688.3→635.5)

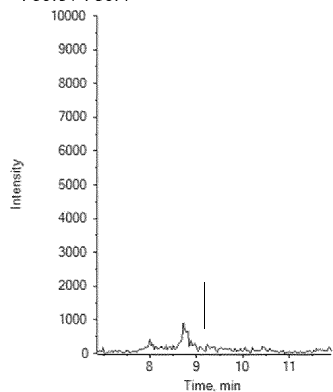
添加濃度:5 µg/kg

図 2-8-2 ナラシンの SRM クロマトグラム
(m/z 782.4→747.0)

添加濃度:5 µg/kg

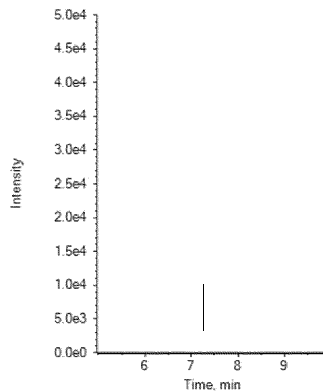
ブランク試料

8/12/2022 1:02:51 AM
768.3 / 733.4



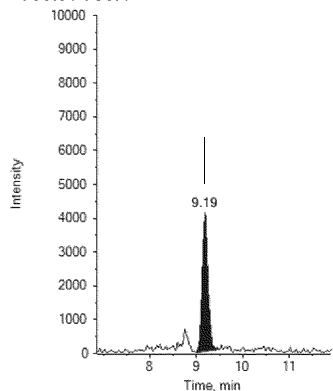
ブランク試料

8/12/2022 1:02:51 AM
589.3 / 235.1



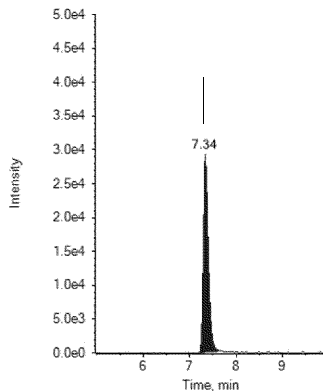
添加試料

8/12/2022 1:33:58 AM
768.3 / 733.4



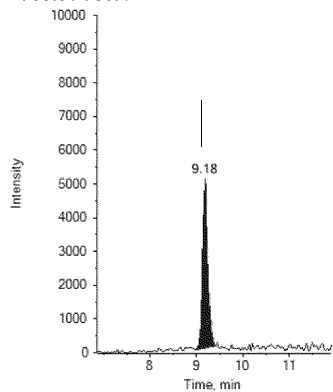
添加試料

8/12/2022 1:18:24 AM
589.3 / 235.1



標準溶液(0.1 µg/L)

8/11/2022 11:44:55 PM
768.3 / 733.4



標準溶液(0.25 µg/L)

8/11/2022 11:29:22 PM
589.3 / 235.1

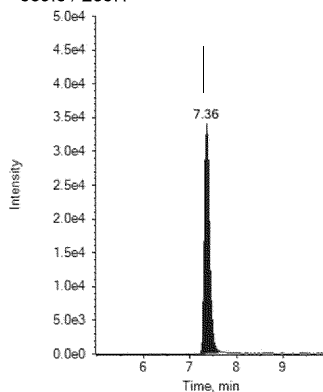


図 2-8-3 サリノマイシンの SRM クロマトグラム

(m/z 768.3→733.4)

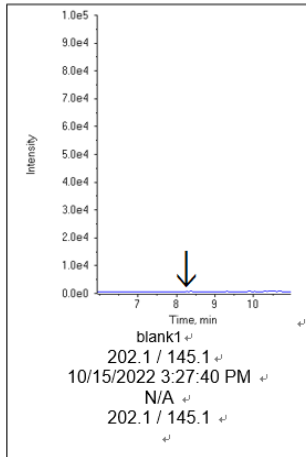
添加濃度: 2 µg/kg

図 2-8-4 ラサロシドの SRM クロマトグラム

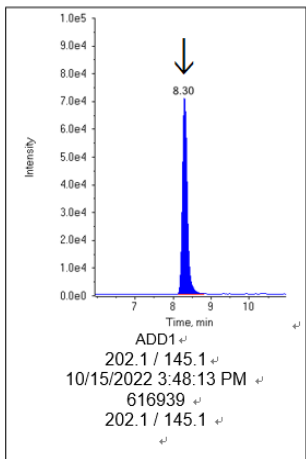
(m/z 589.3→235.1)

添加濃度: 5 µg/kg

ブランク試料



添加試料



標準溶液(2 µg/L)

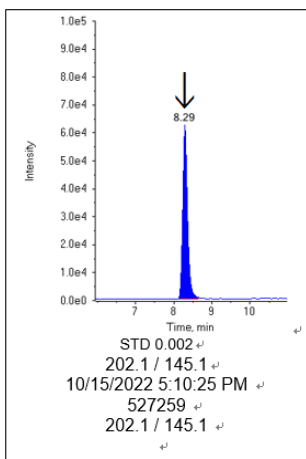
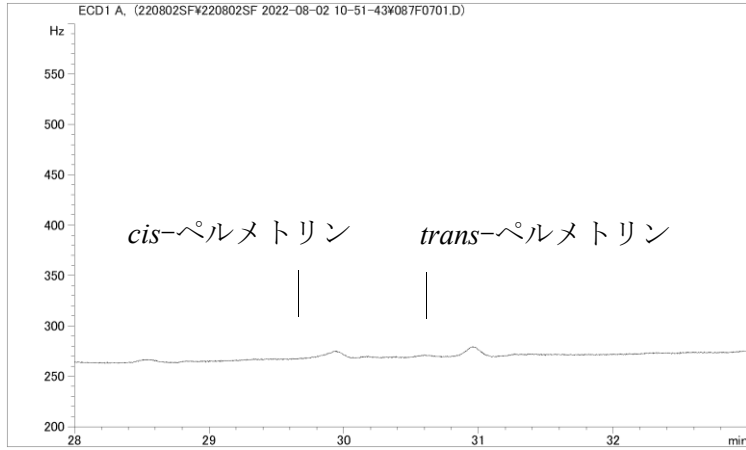
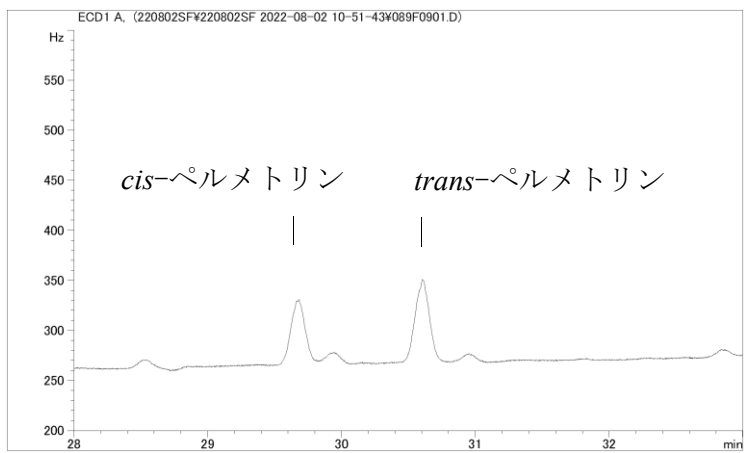


図 2-9 カルバリルの SRM クロマトグラム
(m/z 202.1→145.1)
添加濃度: 50 µg/kg

ブランク試料



添加試料



標準溶液(10 µg/L)

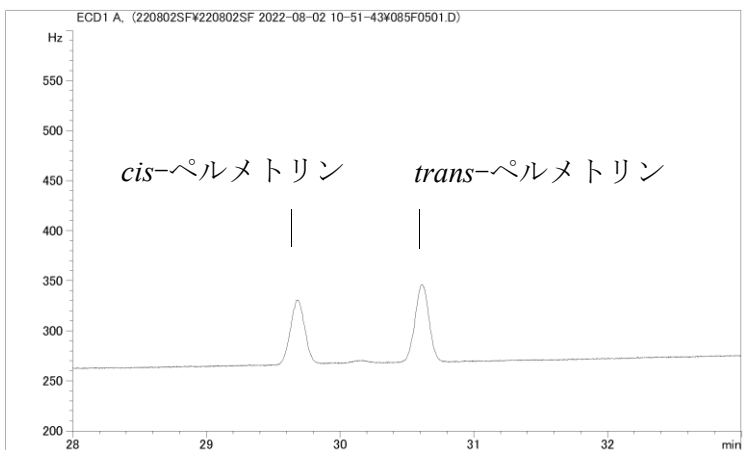
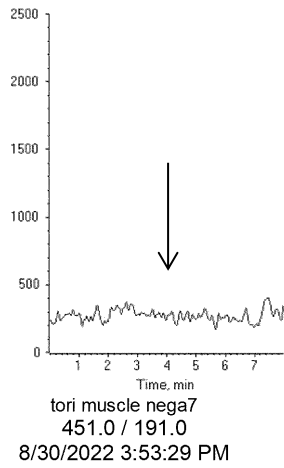
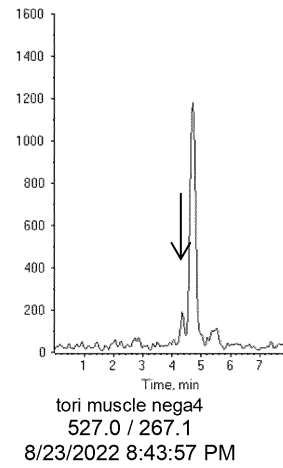


図 2-10 *cis*-ペルメトリン及び *trans*-ペルメトリンのクロマトグラム
添加濃度: 50 µg/kg

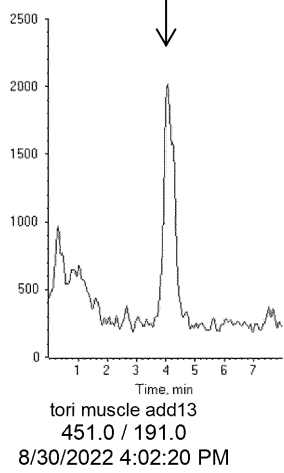
ブランク試料



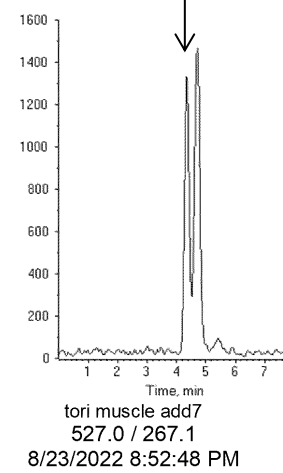
ブランク試料



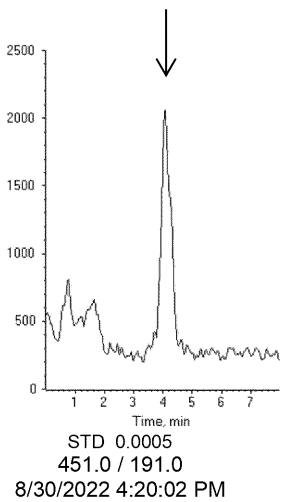
添加試料



添加試料



標準溶液(0.5 µg/L)



標準溶液(0.5 µg/L)

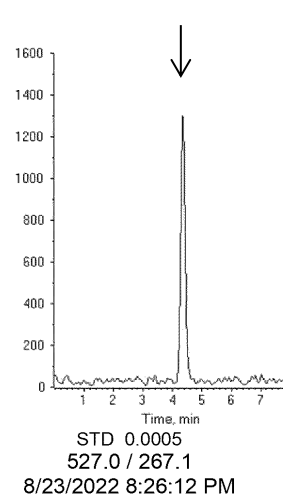


図 2-11-1 シフルトリンの SRM クロマトグラム

(m/z 451.0→191.0)

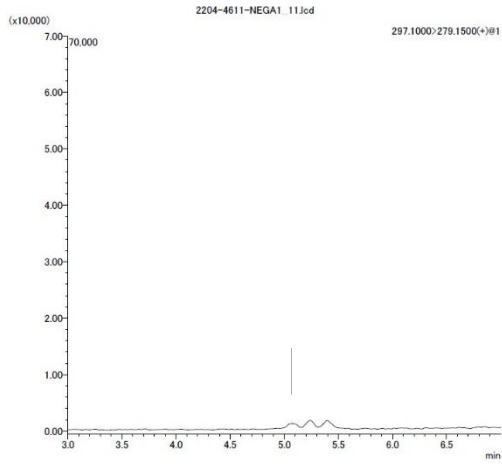
添加濃度: 10 µg/kg

図 2-11-2 フルトリンの SRM クロマトグラム

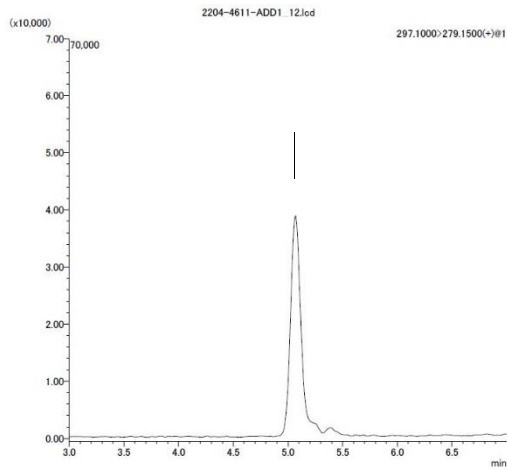
(m/z 527.0→267.0)

添加濃度: 10 µg/kg

ブランク試料



添加試料



標準溶液(0.2 µg/L)

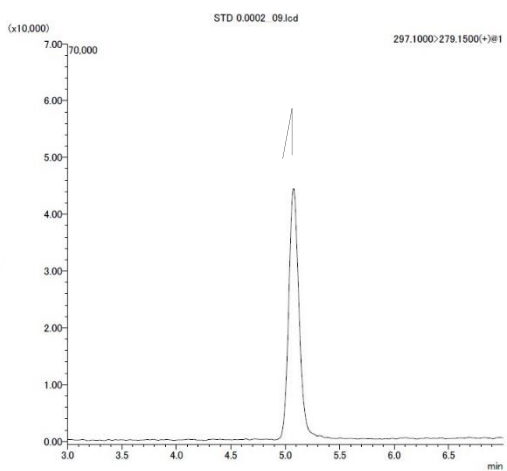
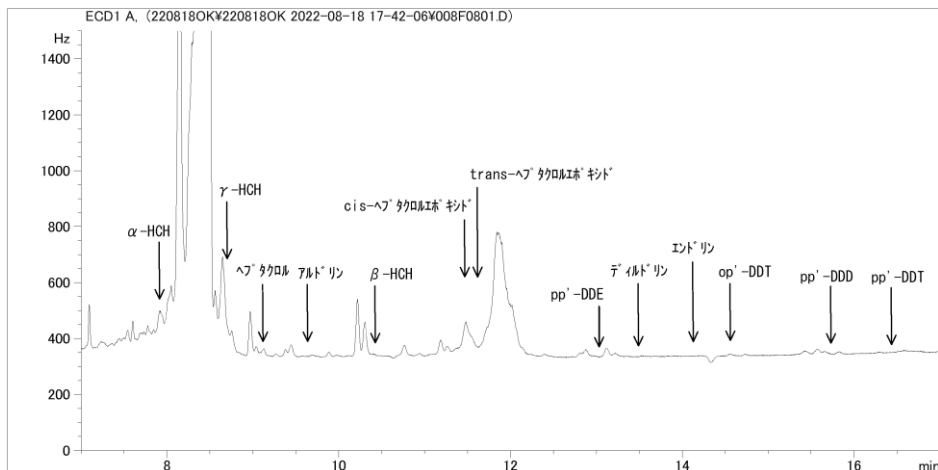


図 2-12 フルニキシンの SRM クロマトグラム

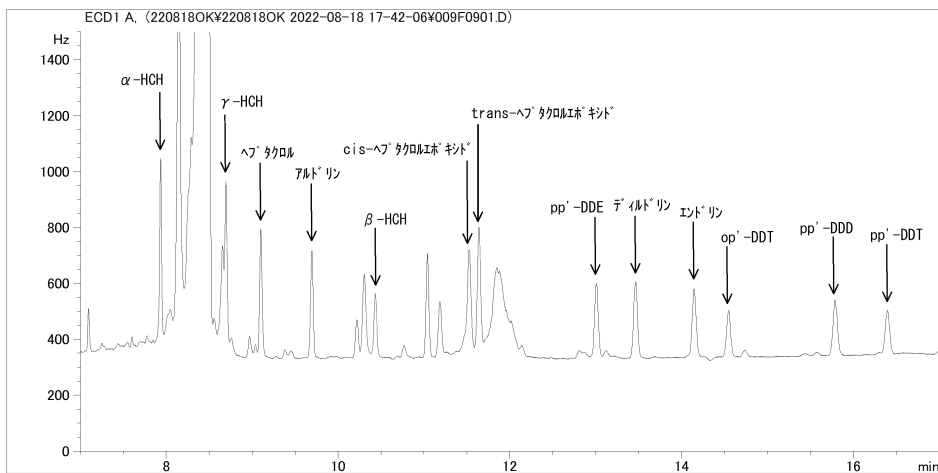
(m/z 297.1→279.2)

添加濃度: 10 µg/kg

ブランク試料



添加試料



標準溶液(0.5 μg/L)

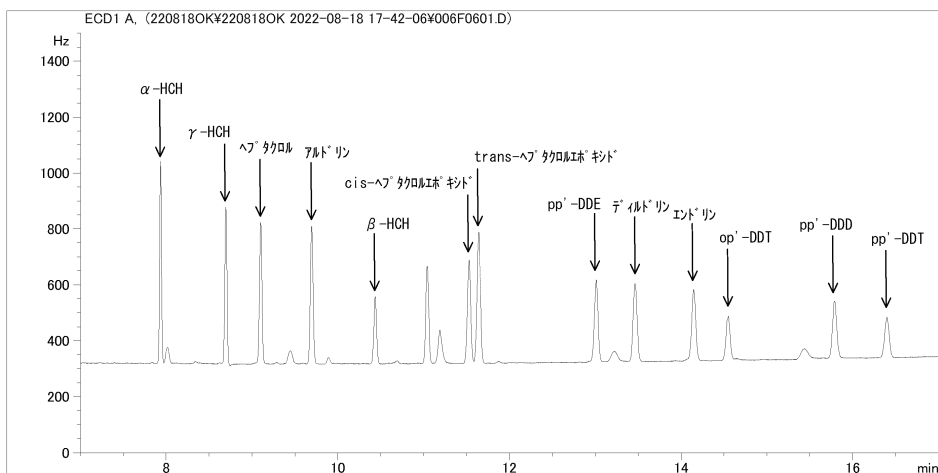
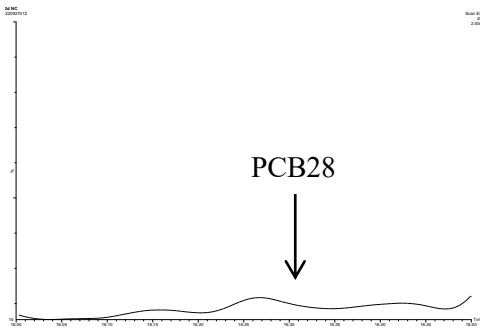
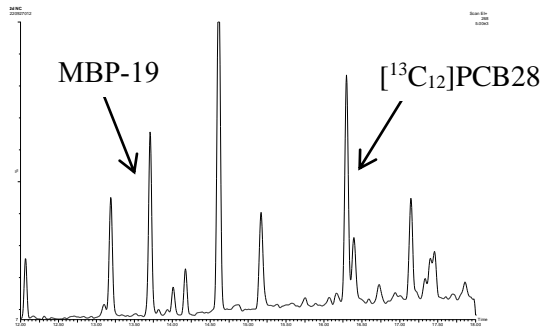


図 2-13 *o,p'*-DDT、*p,p'*-DDE、*p,p'*-DDD、*p,p'*-DDT、アルドリン、デイルドリン、エンドリン、ヘプタクロル、*cis*-ヘプタクロルエポキシド、*trans*-ヘプタクロルエポキシド、 α -HCH、 β -HCH 及び γ -HCH のクロマトグラム
 添加濃度: 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$

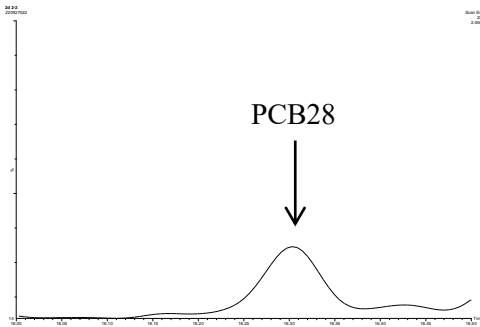
ブランク試料



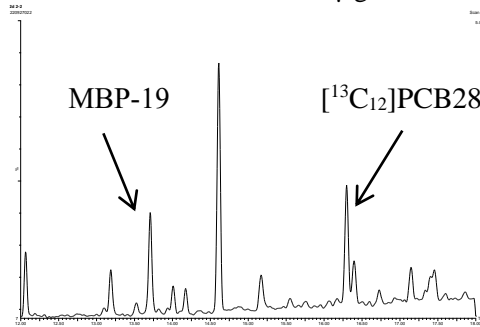
ブランク試料の内標準物質(10 µg/L)



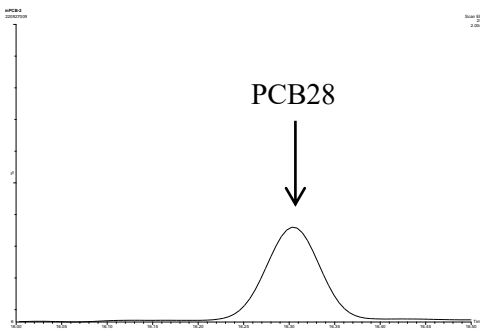
添加試料



添加試料の内標準物質(10 µg/L)



標準溶液(2 µg/L)



標準溶液(2 µg/L)の内標準物質(10 µg/L)

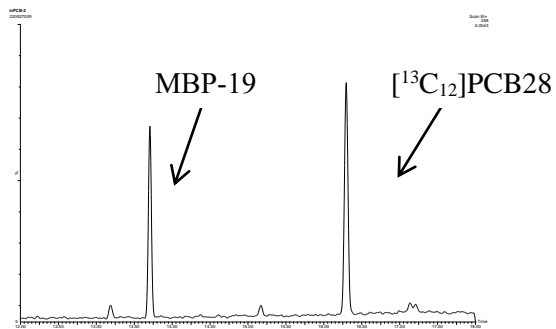
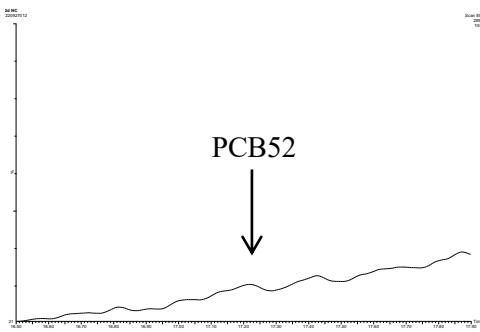


図 2-14-1 PCB28 の SIM クロマトグラム

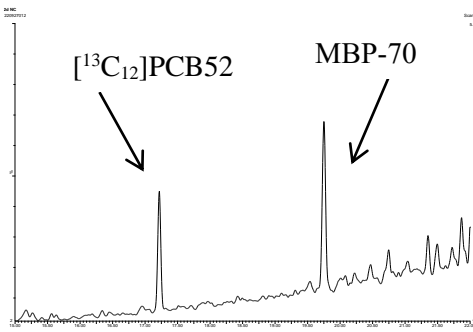
(m/z 256.0)

添加濃度: 0.13 µg/kg

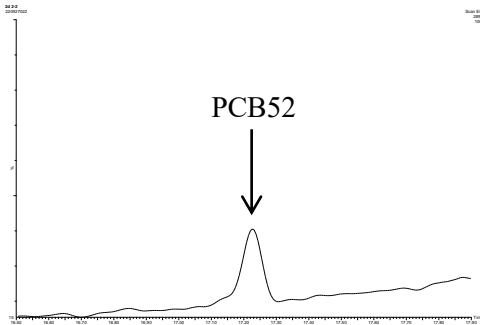
ブランク試料



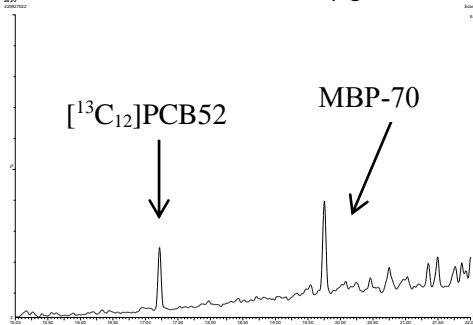
ブランク試料の内標準物質(10 $\mu\text{g/L}$)



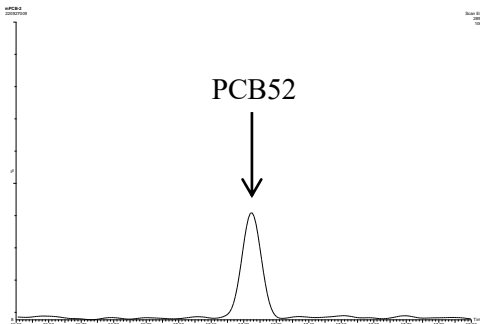
添加試料



添加試料の内標準物質(10 $\mu\text{g/L}$)



標準溶液(2 $\mu\text{g/L}$)



標準溶液(2 $\mu\text{g/L}$)の内標準物質(10 $\mu\text{g/L}$)

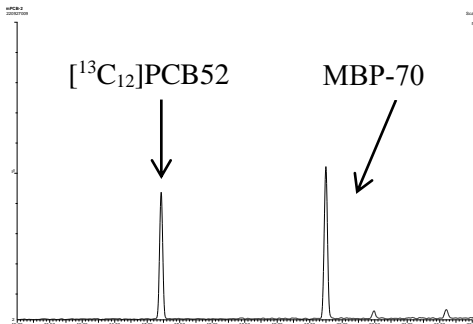
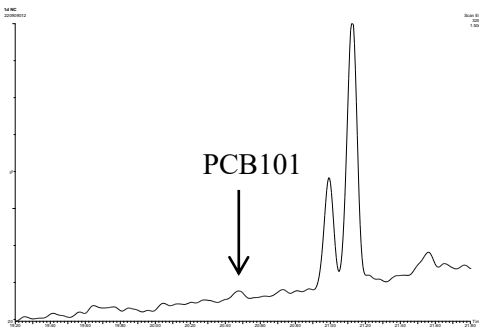


図 2-14-2 PCB52 の SIM クロマトグラム

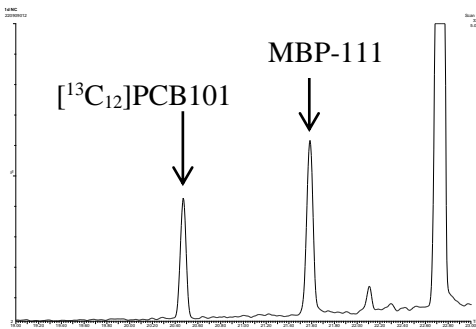
(m/z 289.9)

添加濃度: 0.13 $\mu\text{g/kg}$

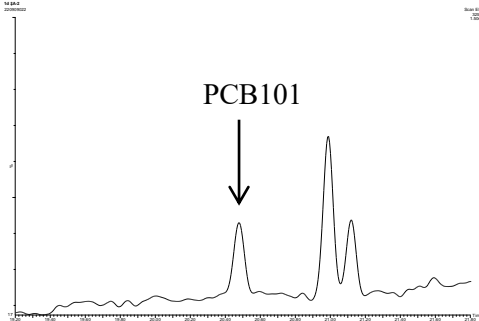
ブランク試料



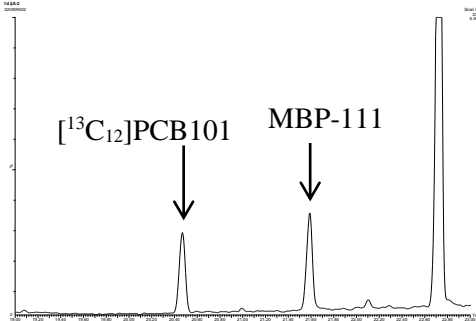
ブランク試料の内標準物質(10 μg/L)



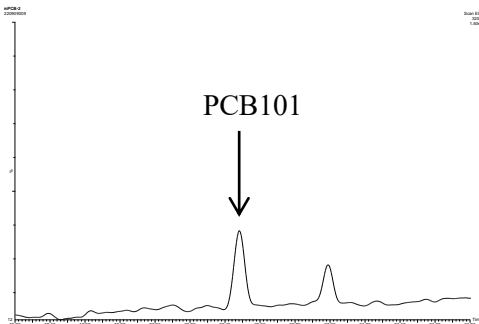
添加試料



添加試料の内標準物質(10 μg/L)



標準溶液(2 μg/L)



標準溶液(2 μg/L)の内標準物質(10 μg/L)

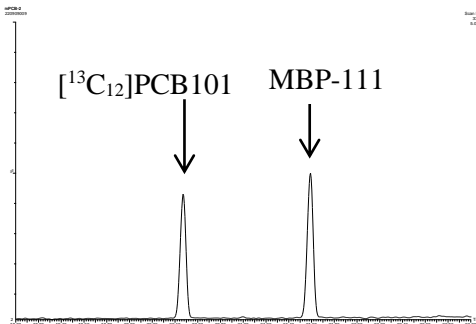
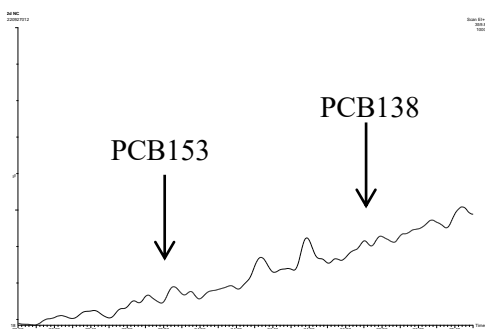


図 2-14-3 PCB101 の SIM クロマトグラム

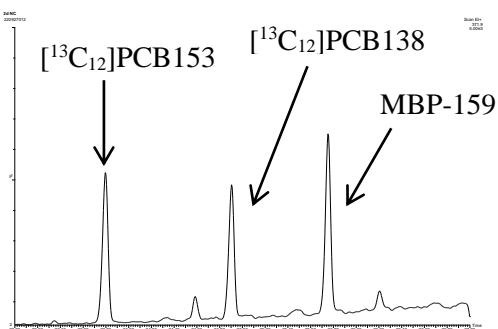
(m/z 325.9)

添加濃度: 0.13 μg/kg

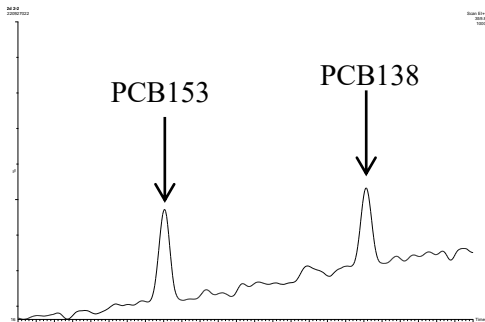
ブランク試料



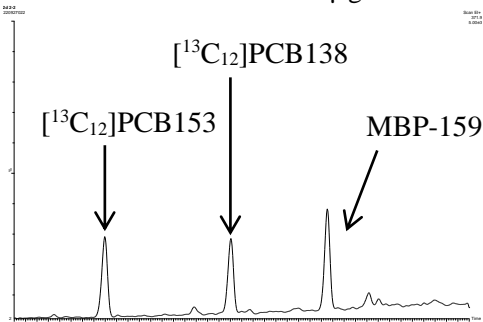
ブランク試料の内標準物質(10 $\mu\text{g/L}$)



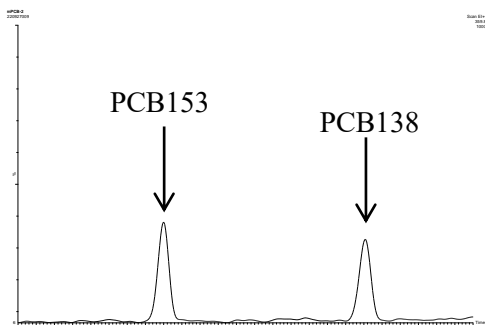
添加試料



添加試料の内標準物質(10 $\mu\text{g/L}$)



標準溶液(2 $\mu\text{g/L}$)



標準溶液(2 $\mu\text{g/L}$)の内標準物質(10 $\mu\text{g/L}$)

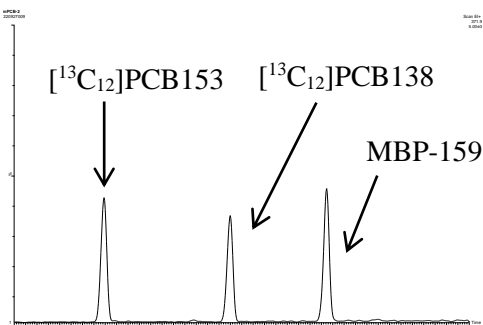
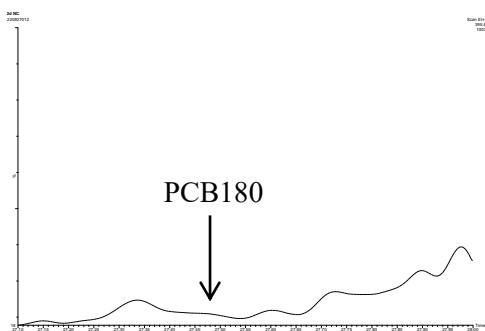


図 2-14-4 PCB138 及び PCB153 の SIM クロマトグラム

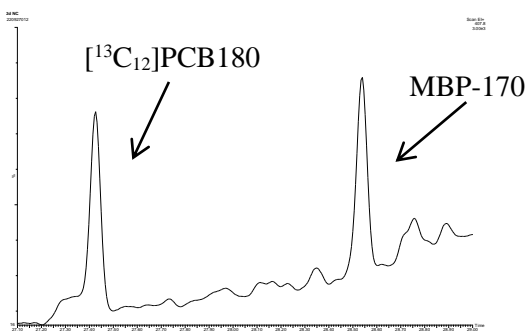
(m/z 359.8)

添加濃度: 0.13 $\mu\text{g/kg}$

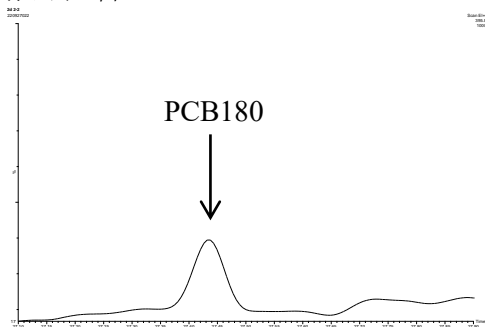
ブランク試料



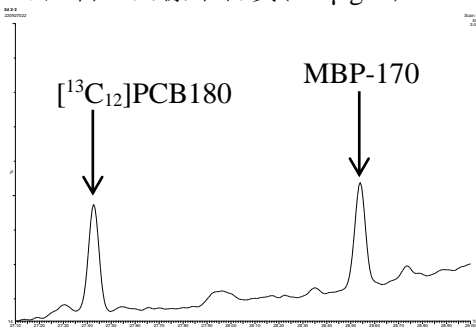
ブランク試料の内標準物質(10 $\mu\text{g/L}$)



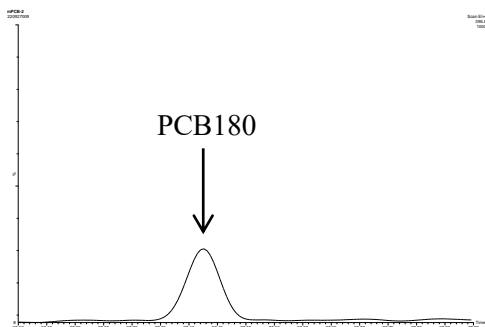
添加試料



添加試料の内標準物質(10 $\mu\text{g/L}$)



標準溶液(2 $\mu\text{g/L}$)



標準溶液(2 $\mu\text{g/L}$)の内標準物質(10 $\mu\text{g/L}$)

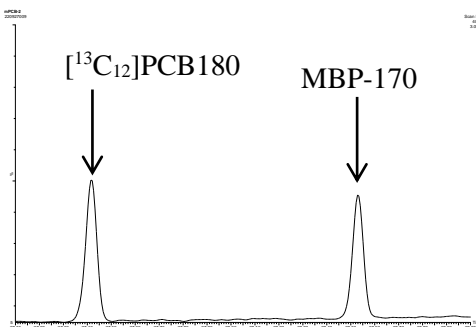


図 2-14-5 PCB180 の SIM クロマトグラム

(m/z 395.8)

添加濃度: 0.13 $\mu\text{g/kg}$