

3 飼料中のアメトリン, シアナジン及びプロメトリンの液体クロマトグラフ質量分析計による定量法

野崎 友春^{*1}, 山多 利秋^{*2}

Determination of Ametryn, Cyanazine and Prometryn in Feeds by LC-MS

Tomoharu NOZAKI^{*1} and Toshiaki YAMATA^{*2}

(^{*1} Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now Nagoya Regional Center),

^{*2} Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department)

An analytical method for determination of ametryn, cyanazine and prometryn in feeds using a liquid chromatography-mass spectrometer (LC-MS) was developed. Ametryn, cyanazine and prometryn were extracted with acetone-water and filtered. The filtrates were re-extracted with acetonitrile (saturated with hexane), and purified by graphitized carbon black/ aminopropyl column chromatography and Florisil column chromatography, and subjected to LC-MS for determination of ametryn, cyanazine and prometryn. A recovery test was conducted using formula feed for starting broiler chicks and sudangrass hay spiked with ametryn, cyanazine and prometryn at 10 and 100 µg/kg. The mean recoveries of ametryn were in the range of 80.4~93.5% with the relative standard deviation of within 5.9%. These values were 74.7~95.7% and 5.4% for cyanazine, 73.8~87.3% and 4.0% for prometryn respectively. A recovery test to identify the limit of detection and limit of quantification was conducted using formula feed for starting broiler chicks and sudangrass hay spiked with ametryn, cyanazine and prometryn at 2 µg/kg. The mean recoveries of ametryn, cyanazine and prometryn were 77.2~82.9%, 79.2~89.5% and 87.2~94.5% and the RSD were 1.8~4.4%, 5.4~9.4% and 3.1~6.6% respectively. A collaborative study was conducted in nine laboratories using formula feed for starting broiler chick and sudangrass hay spiked with ametryn, cyanazine and prometryn at 10 µg/kg respectively. The mean recovery of ametryn in formula feed was 98.4%, repeatability and reproducibility in terms of the relative standard deviations (RSD_I and RSD_R) were 4.3% and 6.2% respectively, and HorRat was 0.28. The mean recovery of cyanazine was 98.9% with RSD_I of 6.6%, RSD_R of 9.4% and HorRat of 0.43 respectively. The mean recovery of prometryn was 93.6% with RSD_I of 2.7%, RSD_R of 6.1% and HorRat of 0.28 respectively. For sudangrass hay, these values were 92.2%, 4.2%, 15% and 0.66 for ametryn, 94.4%, 4.1%, 17% and 0.76 for cyanazine and 89.6%, 3.2%, 11% and 0.52 for prometryn respectively.

Key words: 残留農薬 pesticide residue ; トリアジン系除草剤 triazine herbicide ; アメトリン ametryn ; シアナジン cyanazine ; プロメトリン prometryn ; 残留農薬 pesticide residue ; 液体クロマトグラフ質量分析計 liquid chromatography-mass spectrometer (LC-MS) ; 飼料 feed ; 穀類 grain ; 乾牧草 grass hay ; 共同試験 collaborative study

^{*1} 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部, 現 同名古屋センター

^{*2} (独) 農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

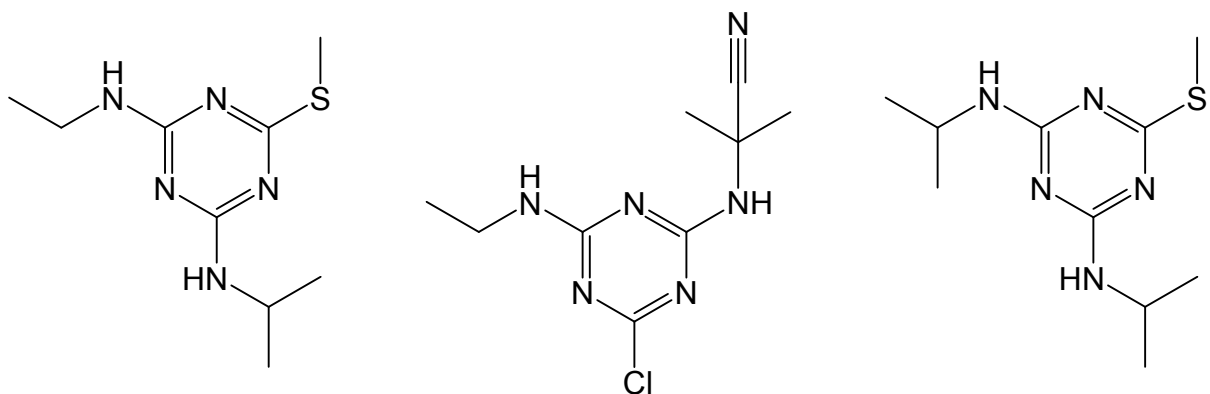
1 緒 言

食品衛生法に基づく残留農薬のポジティブリスト制度の導入に伴い、飼料及び飼料添加物についても平成 18 年 5 月 29 日付けで飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）の一部が改正され、飼料中の残留農薬（60 種類）の基準値が設定された。

シアナジンは、Shell Chemical 社によって開発されたトリアジン系除草剤であり、日本では、ばれいしょ等に使用されている。米国ではとうもろこしに使用されている。先の飼料中の残留農薬の基準において、シアナジンの基準値については、小麦及びとうもろこしで 0.1 mg/kg、大麦で 0.05 mg/kg、ライ麦、えん麦、マイロ及び乾牧草で 0.01 mg/kg と設定されたが、平成 16 年に通知された分析方法¹⁾では、乾牧草中の分析法について検討がなされていないこと及び定量下限（0.01 mg/kg）が基準値と同レベルであること並びに平成 16 年度に財団法人日本食品分析センターが検討したガスクロマトグラフ質量分析計を用いた飼料中の残留農薬一斉分析²⁾ではシアナジンの回収率が低かったことから、今回、平成 18 年度に（財）日本食品分析センターが再度検討した液体クロマトグラフ質量分析計によるアメトリン、シアナジン及びプロメトリンの残留分析法（以下「センター法」という。）³⁾を基に、低濃度での添加回収試験及び定量下限の検討を行った。

なお、アメトリンは、Ciba Geigy 社（現 Syngenta AG 社）によって開発されたトリアジン系除草剤であり、米国ではサトウキビ、とうもろこし及びパイナップルに使用されている。日本では現在農薬として登録されていない（2005 年に失効）。日本国内での飼料中の残留基準値は設定されていない。

また、プロメトリンは、Geigy 社（現 Syngenta AG 社）により開発されたメチルチオトリアジン系除草剤であり、日本では、豆類、麦類及びとうもろこし等を対象として登録されている。また、米国等でも使用されている。日本国内での飼料中の残留基準値は設定されていない。



Ametryn (2-Ethylamino-4-isopropylamino-6-methylthio-s-triazine)

CAS No.: 834-12-8
C₉H₁₇N₅S, MW: 227.3

Cyanazine (2-Chloro-4-((1-cyano-1-methylethyl)amino)-6-(ethylamino)-s-triazine)

CAS No.: 21725-46-2
C₉H₁₃ClN₆, MW: 240.7

Prometryn (Bis(isopropylamino)-6-(methylthio)-s-triazine)

CAS No.: 7287-19-6
C₁₀H₁₉N₅S, MW: 241.4

Fig. 1 Chemical structures of ametryn, cyanazine and prometryn

2 分析方法

2.1 試料

ブロイラー肥育前期用配合飼料，乾牧草（スーダングラスヘイ）をそれぞれ 1 mm の網ふるいを通過するまで粉碎して用いた。

なお，検討に用いた配合飼料の配合割合を Table 1 に示した。

Table 1 Composition of the formula feed used in this study

Kind of formula feed	Group of ingredients	Ratio (%)	Ingredients
For starting broiler chick	Grains	57	Corn
	Oil meals	26	Soybean meal
	Animal by-product	10	Fish meal
	Others	7	Animal fat, Alfalfa meal, Calcium carbonate, Calcium phosphate, Salt

2.2 試薬

1) シアナジン標準原液

シアナジン [$C_9H_{13}ClN_6$]（関東化学製，純度 98.9%）25 mg を正確に量って 50 mL の全量フラスコに入れ，アセトンを加えて溶かし，更に標線までアセトンを加えてシアナジン標準原液を調製した（この液 1 mL は，シアナジンとして 0.5 mg を含有する．）。

2) アメトリン標準原液

アメトリン [$C_9H_{17}N_5S$]（和光純薬工業製，純度 100.0%）25 mg を正確に量って 50 mL の全量フラスコに入れ，アセトンを加えて溶かし，更に標線までアセトンを加えてアメトリン標準原液を調製した（この液 1 mL は，アメトリンとして 0.5 mg を含有する．）。

3) プロメトリン標準原液

プロメトリン [$C_{10}H_{19}N_5S$]（和光純薬工業製，純度 98.9%）25 mg を正確に量って 50 mL の全量フラスコに入れ，アセトンを加えて溶かし，更に標線までアセトンを加えてプロメトリン標準原液を調製した（この液 1 mL は，プロメトリンとして 0.5 mg を含有する．）。

4) 農薬混合標準液

使用に際して，アメトリン標準原液，シアナジン標準原液及びプロメトリン標準原液の一定量を混合し，アセトンで正確に希釈し，1 mL 中に各農薬としてそれぞれ 0.5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 及び 100 ng を含有する各農薬混合標準液を調製した。

5) アセトン，ヘキサン，酢酸エチル及びアセトニトリルは残留農薬分析用試薬を用いた。特記している以外の試薬については特級を用いた。

6) ヘキサン飽和アセトニトリル

500 mL の分液漏斗にアセトニトリル 300 mL を入れ，更にヘキサン 50 mL を加えた。5 分間振り混ぜた後静置し，アセトニトリル層（下層）を分取した。

2.3 装置及び器具

1) 液体クロマトグラフ質量分析計：Agilent Technologies 製 1100 Series

- 2) 振とう機：タイテック製 レシプロシェーカー SR-2DW
- 3) エバポレーター：BÜCHI 製 R-200
- 4) 高速遠心分離機：久保田製作所製 KM-15200
- 5) 多孔性ケイソウ土カラム：Varian 製 Chem Elut (20 mL 容)
- 6) 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：Supelco 製 Envi-Carb/LC-NH₂ (500 mg/500 mg)
- 7) 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム：Waters 製 Sep-Pak Plus Florisil

2.4 定量方法

1) 抽出

分析試料 10.0 g を量って 200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 20 mL (乾牧草は 30 mL) を加えた後 30 分間静置し、アセトン 100 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出した。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙 (5 種 B) で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さをアセトン 50 mL で洗浄し、洗液をろ液に合わせた。更に全量フラスコの標線までアセトンを加えた。試料溶液 10 mL を 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、40°C 以下の水浴で約 2 mL まで減圧濃縮してカラム処理 I に供する試料溶液とした。

2) カラム処理 I

多孔性ケイソウ土カラムに試料溶液を負荷し、容器を水 5 mL で洗浄し、洗液をあわせて負荷し、5 分間静置した。200 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、ヘキサン-酢酸エチル (17+3) 10 mL で容器を洗浄し、同様に負荷した。更に同様に 2 回繰り返した。ヘキサン-酢酸エチル (17+3) 50 mL をカラムに負荷し、各農薬を溶出させ、液液分配 (配合飼料以外は、液液分配を省略し、カラム処理 II) に供する試料溶液とした。

3) 液液分配

試料溶液を 40°C 以下の水浴でほぼ乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固させた。ヘキサン 30 mL を加えて残さを溶解し、この液を 100 mL の分液漏斗に入れた。ヘキサン 2 mL で容器を洗浄し、洗液を分液漏斗に合わせ、同様に 1 回繰り返した。

分液漏斗にヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、5 分間振とうした。アセトニトリル層 (下層) を 200 mL のなす形フラスコに入れ、ヘキサン層にヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、同様に操作した。アセトニトリル層を先のなす形フラスコに合わせ、カラム処理 II に供する試料溶液とした。

4) カラム処理 II

試料溶液を 40°C 以下の水浴でほぼ乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固させた。ヘキサン 5 mL を加えて残さを溶解した。

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を酢酸エチル 5 mL 及びヘキサン 10 mL で洗浄した。

試料溶液をミニカラムに負荷し、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた。ヘキサン 5 mL で容器を洗浄し、同様に負荷した。更に同様に 1 回繰り返した。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、ヘキサン-酢酸エチル (1+1) 5 mL で容器を洗浄し、洗液をカラムに負荷し、液面が充てん剤の上端に達するまで流下させ各農薬を溶出させた。更に同様に 1

回繰り返した。ヘキサン-酢酸エチル (1+1) 10 mL をミニカラムに加え、同様に溶出させた。試料溶液を 40°C 以下の水浴でほぼ乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固させた。ヘキサン 3 mL をなす形フラスコに加え、残さを溶解し、カラム処理 III に供する試料溶液とした。

5) カラム処理 III

合成ケイ酸マグネシウムミニカラムをリザーバーに連結しヘキサン 5 mL で洗浄した。試料溶液をリザーバーに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた。ヘキサン 3 mL で容器を洗浄し、同様に負荷した。更に同様に 1 回繰り返した。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、ヘキサン-アセトン (17+3) 5 mL で容器を洗浄し、洗液をカラムに負荷し、液面が充てん剤の上端に達するまで流下させ各農薬を溶出させた。更に同様に 1 回繰り返した。ヘキサン-アセトン (17+3) 10 mL をミニカラムに加え、同様に溶出させた。試料溶液を 40°C 以下の水浴でほぼ乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固させた。アセトニトリル 1 mL をなす形フラスコに加え、残さを溶解し、液体クロマトグラフ質量分析計による測定に供する試料溶液とした。

6) 液体クロマトグラフ質量分析計による測定

試料溶液及び各混合標準液各 4 μ L を液体クロマトグラフ質量分析計に注入し、Table 2 の測定条件に従い選択イオン検出 (SIM) クロマトグラムを得た。

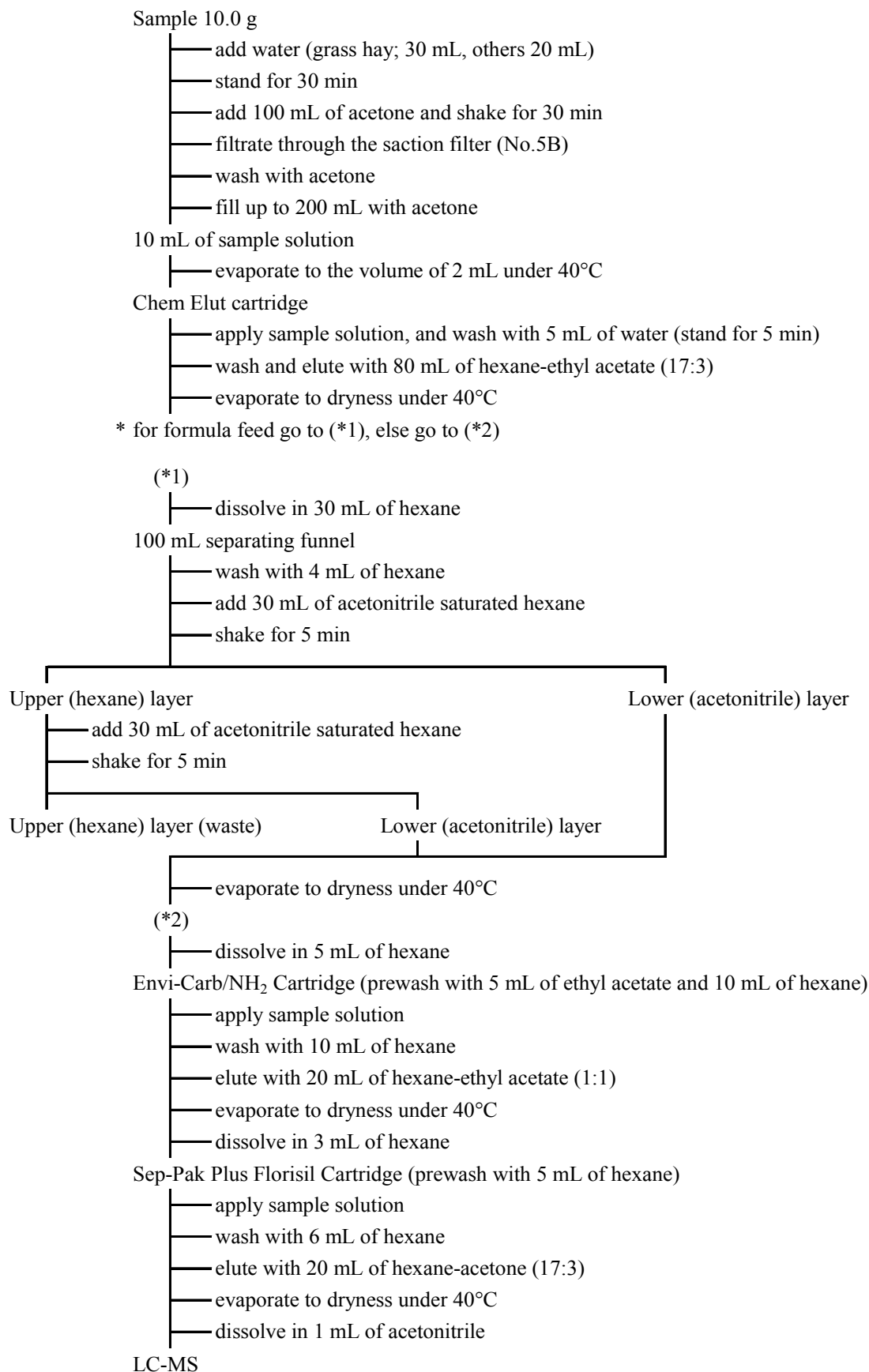
Table 2 Operating conditions for LC-MS

Column	GL Sciences Intersil ODS-SP (2.1 mm i.d.×150 mm, 5 μ m)
Mobile phase	A: 0.01% formic acid solution B: acetonitrile B(%) 25% (5 min)→2 min→60% (3 min)→2 min→90% (8 min)
Flow rate	0.2 mL/min
Column temp.	40°C
Ionization	Electrospray ionization (ESI)
Mode	Positive
Fragmentor	120 V
Nebulizer	N ₂ (340 kPa)
Drying gas	N ₂ (10 L/min, 350°C)
Capillary voltage	4,000 V
Monitor ion	<i>m/z</i> 228 (ametryn), 241 (cyanazine), 242 (prometryn)

7) 計 算

得られた SIM クロマトグラムからピーク面積又は高さを求めて検量線を作成し、試料中のシアナジン量、アメトリン量及びプロメトリン量を算出した。

なお、定量法の概要を Scheme 1 に示した。



Scheme 1 Analytical procedure for ametryn, cyanazine and prometryn

3 結果及び考察

3.1 液体クロマトグラフ条件の検討

100 ng/mL の農薬混合標準液 4 μ L をセンター法のとおり液体クロマトグラフ質量分析計で測定したところ、ピークが検出されなかった。溶離液のうち、アセトニトリルの割合を増やしたところ、ピークが検出されたので、最適な溶出条件となるようグラジェントの設定をした。また、目的の農薬が溶出した後にも妨害物質のピークが見られたことから、アセトニトリルの割合が多い部分での洗浄時間を取った。

3.2 検量線

農薬混合標準液を使用して各農薬の検量線を作成した。すべての農薬で 0.5~100 ng/mL の濃度（絶対量として 2~400 pg）で直線性を示した。各農薬の検量線例を Fig. 2-1 から Fig. 2-3 に示した。

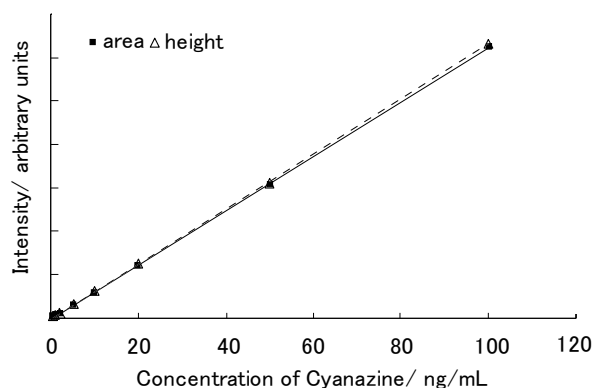


Fig. 2-1 Calibration curve of ametryn

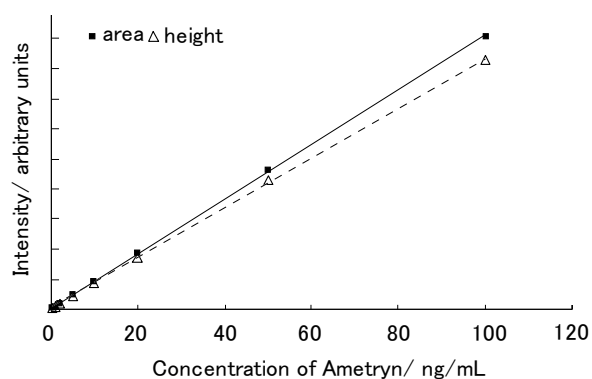


Fig. 2-2 Calibration curve of cyanazine

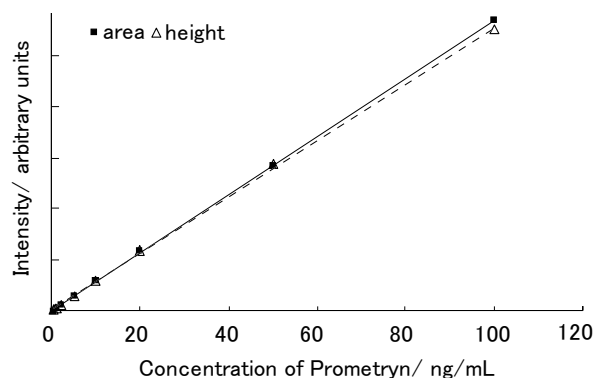


Fig. 2-3 Calibration curve of prometryn

3.3 添加回収試験

ブロイラー肥育前期用配合飼料及び乾牧草（スーダングラスヘイ）にアメトリン、シアナジン及びプロメトリンとして 10 μ g/kg 及び 100 μ g/kg 相当量を添加した試料を用いて回収率及び繰返し精度を検討した。その結果、Table 3 のとおりシアナジンで平均回収率 74.7~95.7%，繰返し精度は相対標準偏差（RSD）として 5.4%以下，アメトリンで平均回収率 80.4~93.5%，繰返し精度は RSD として 5.9%以下，プロメトリンで平均回収率 73.8~87.3%，繰返し精度は RSD として 4.0%以下であった。

なお、添加回収試験で得られたクロマトグラムの一例を Fig. 3 に示した。

Table 3 Recovery test of ametryn, cyanazine and prometryn (%)

Pesticide name	Spiked level ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Formula feed for starting broiler chick		Sudangrass hay	
		Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}
Ametryn	10	81.1	(4.7)	80.4	(5.9)
	100	93.5	(0.76)	80.6	(0.53)
Cyanazine	10	95.7	(2.9)	74.7	(5.4)
	100	93.6	(0.72)	85.7	(2.4)
Prometryn	10	85.5	(2.9)	73.8	(4.0)
	100	87.3	(1.2)	77.1	(1.0)

a) Mean recovery ($n=3$)

b) Relative standard deviation (RSD)

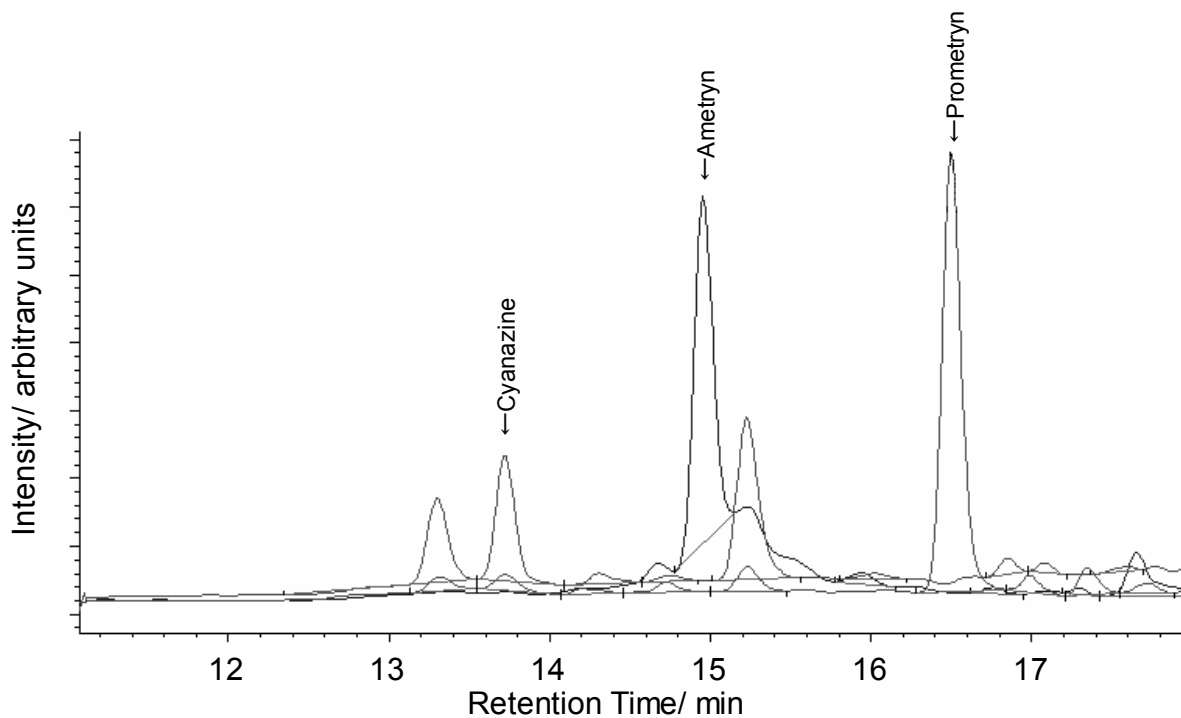


Fig. 3 SIM chromatogram of ametryn, cyanazine and prometryn

Sample solution of formula feed for starting broiler chick spiked each pesticide at $10 \mu\text{g}/\text{kg}$

3.4 定量下限及び検出下限

本法の定量下限を確認するために、ブロイラー肥育前期用配合飼料及び乾牧草（スーダングラスヘイ）にアメトリン、シアナジン及びプロメトリンをそれぞれ $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 相当量添加した試料について、本法に従って分析し、得られたピークの SN 比を求めた。

その結果、いずれの試料においても、アメトリン、シアナジン及びプロメトリンの3成分すべてについて SN 比が 10 となる濃度はそれぞれ $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 相当量であった。

定量下限を確認するために、ブロイラー前期肥育用配合飼料及び乾牧草（スーダングラス

へイ) にシアナジン, アメトリン及びプロメトリンとして 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当量を添加した試料を用いて回収率及び分析精度を検討した. その結果, Table 4 のとおり平均回収率 77.2~94.5%, 繰返し精度は相対標準偏差 (RSD) として 9.4%以下であった.

このため, 本法の定量下限は 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と見積もられた. また, 検出下限は, SN 比が 3 となる濃度から各成分について 0.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と見積もられた.

なお, 定量下限の確認は, ピーク面積及びピーク高さの両方で計算を行ったが, ピーク面積では良好な結果が得られなかった.

Table 4 Recovery test of ametryn, cyanazine and prometryn (low concentration)
(%)

Pesticide name	Spiked level ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Formula feed for starting broiler chick		Sudangrass hay	
		Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}
Ametryn	2	82.9	(1.8)	77.2	(4.4)
Cyanazine	2	89.5	(9.4)	79.2	(5.4)
Prometryn	2	94.5	(6.6)	87.2	(3.1)

a) Mean recovery ($n=3$)

b) Relative standard deviation (RSD)

3.5 共同試験

本法の再現精度を調査するため, 共通試料による共同試験を実施した.

配合飼料 (ブロイラー肥育前期用) 及び乾牧草 (スーダングラスヘイ) にアメトリン, シアナジン及びプロメトリンとしてそれぞれ 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当量を添加した共通試料を用いて, アジレント・テクノロジー株式会社アプリケーションセンター, 株式会社島津製作所東京アプリケーション開発センター, 財団法人日本食品分析センター多摩研究所, 社団法人日本科学飼料協会科学飼料研究センター, 全国酪農業協同組合連合会分析センター, 独立行政法人農林水産消費安全技術センター規格検査部, 同肥飼料安全検査部, 同神戸センター消費技術部及び同神戸センター大阪事務所 (9 試験室) において本法に従って共同試験を実施した.

アメトリンの結果は Table 5 のとおり, 配合飼料中のアメトリンの平均回収率は 98.4%, その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ相対標準偏差 (RSD_f 及び RSD_R) として 4.3%及び 6.2%であり, HorRat は 0.28 であった.

また, 乾牧草中のアメトリンの平均回収率は 92.2%, その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD_f 及び RSD_R として 4.2%及び 15%であり, HorRat は 0.66 であった.

シアナジンの結果は Table 6 のとおり, 配合飼料中のシアナジンの平均回収率は 98.9%, その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ相対標準偏差 (RSD_f 及び RSD_R) として 6.6%及び 9.4%であり, HorRat は 0.43 であった.

また, 乾牧草中のシアナジンの平均回収率は 94.4%, その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD_f 及び RSD_R として 4.1%及び 17%であり, HorRat は 0.76 であった.

プロメトリンの結果は Table 7 のとおり, 配合飼料中のプロメトリンの平均回収率は 93.6%, その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ相対標準偏差 (RSD_f 及び RSD_R) として 2.7%

及び 6.1%であり、HorRat は 0.28 であった。

また、乾牧草中のプロメトリンの平均回収率は 89.6%、その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD_r 及び RSD_R として 3.2%及び 11%であり、HorRat は 0.52 であった。

いずれの試料及び分析成分においても HorRat が比較的 low であり、特に配合飼料では 0.5 を下回っていたが、特に本分析法の手順及び共同試験の要領に異常があったとは考えられなかった。

参考のため、各試験室で使用した液体クロマトグラフ質量分析計の機種等を Table 8 に示した。

Table 5 Collaborative study results of ametryn

Lab. No.	(µg/kg)			
	Sample			
	Formula feed		Sudangrass hay	
1	9.70	9.59	8.79	8.01
2	9.00	9.44	9.16	9.72
3	9.89	9.58	8.94	9.13
4	10.7	10.3	9.54	9.84
5	10.4	10.4	9.89	9.73
6	10.6	9.51	7.24	8.51
7	9.82	9.57	9.17	9.35
8	8.78	9.15	7.46	7.52
9	9.70	10.9	12.0	12.0
Spiked level	10.0		10.0	
Determined value ^{a)}	9.84		9.22	
Recovery (%)	98.4		92.2	
RSD_r ^{b)} (%)	4.3		4.2	
RSD_R ^{c)} (%)	6.2		15	
HorRat	0.28		0.66	

a) Mean value ($n=18$)

b) Repeatability relative standard deviation within same laboratory

c) Reproducibility relative standard deviation

Table 6 Collaborative study results of cyanazine

Lab. No.	Sample (µg/kg)			
	Formula feed		Sudangrass hay	
	1	10.1	9.09	8.30
2	8.60	9.28	7.60	7.56
3	9.45	9.06	8.50	8.04
4	10.8	10.7	9.67	10.1
5	9.46	9.84	8.31	7.83
6	9.57	8.56	9.66	9.12
7	10.9	10.3	10.7	11.0
8	10.5	9.22	11.9	11.2
9	10.4	12.1	11.8	11.0
Spiked level	10.0		10.0	
Determined value ^{a)}	9.89		9.44	
Recovery (%)	98.9		94.4	
RSD _r ^{b)} (%)	6.6		4.1	
RSD _R ^{c)} (%)	9.4		17	
HorRat	0.43		0.76	

a) Mean value ($n=18$)

b) Repeatability relative standard deviation within same laboratory

c) Reproducibility relative standard deviation

Table 7 Collaborative study results of prometryn

Lab. No.	Sample (µg/kg)			
	Formula feed		Sudangrass hay	
	1	9.43	9.31	8.97
2	9.00	9.52	8.80	9.16
3	10.2	9.64	8.73	9.15
4	10.1	10.2	10.1	10.2
5	9.58	9.32	9.08	9.11
6	8.84	8.30	7.52	7.36
7	9.37	9.36	9.20	9.26
8	8.73	8.35	7.38	8.02
9	9.49	9.77	10.4	10.7
Spiked level	10.0		10.0	
Determined value ^{a)}	9.36		8.96	
Recovery (%)	93.6		89.6	
RSD _r ^{b)} (%)	2.7		3.2	
RSD _R ^{c)} (%)	6.1		11	
HorRat	0.28		0.52	

a) Mean value ($n=18$)

b) Repeatability relative standard deviation within same laboratory

c) Reproducibility relative standard deviation

Table 8 Instruments used in the collaborative study

Lab. No.	LC-MS	LC column (i.d.×length, particle size)
1	Agilent Technologies Agilent 1100 Series LC MSD	GL Sciences Inertsil ODS-SP (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
2	LC: Agilent Technologies Agilent 1200 Series MS: Agilent Technologies Agilent 6410 QQQ	GL Sciences Inertsil ODS-SP (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
3	Shimadzu LCMS-2010EV	GL Sciences Inertsil ODS-SP (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
4	LC: Waters alliance 2695 MS: Waters micromass Quattro micro	GL Sciences Inertsil ODS-SP (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
5	Shimadzu LCMS-2010EV	GL Sciences Inertsil ODS-SP (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
6	Agilent Technologies Agilent 6410	GL Sciences Inertsil ODS-SP (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
7	Shimadzu LCMS-2010EV	Shimadzu Shim-pack XR-ODS (2.0 mm×100 mm, 2.2 μm)
8	Agilent Technologies 1100 Series MSD VL	Kanto Chemical Mightysil RP-18GP (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
9	LC: Waters 2795 MS: Waters Quattro Premier XE	GL Sciences Inertsil ODS-SP (2.1 mm×150 mm, 5 μm)

4 まとめ

財団法人日本食品分析センターが開発した液体クロマトグラフ質量分析計によるアメトリン、シアナジン及びプロメトリンの残留分析法を検討した。

- 1) センター法での液体クロマトグラフのグラジェント条件では、ピークが認められなかったことから、グラジェントの設定を変更した。
- 2) 各農薬の検量線を作成したところ、すべての農薬で 0.5~100 ng/mL の濃度（絶対量として 2~400 pg）で直線性を示した。
- 3) シアナジン、アメトリン及びプロメトリンをブロイラー肥育前期用配合飼料及び乾牧草（スーダングラス）に 10 μg/kg 相当量及び 100 μg/kg 相当量添加し、添加回収試験を実施した結果、アメトリンで平均回収率 80.4~93.5%、繰返し精度は相対標準偏差（RSD）として 5.9%以下、シアナジンで平均回収率 74.7~95.7%、繰返し精度は RSD として 5.4%以下、プロメトリンで平均回収率 73.8~87.3%、繰返し精度は RSD として 4.0%以下の成績が得られた。
- 4) 本法の定量下限等を確認するため、シアナジン、アメトリン及びプロメトリンをブロイラー肥育前期用配合飼料及び乾牧草（スーダングラスヘイ）にそれぞれ 2 μg/kg 相当量添加し、添加回収試験を実施した結果、平均回収率は 77.2~94.5%、繰返し精度は相対標準偏差（RSD）として 9.4%以下の成績が得られた。本法の定量下限は各農薬として 2 μg/kg、検出下限は各農薬として 0.7 μg/kg と見積もられた。
- 5) 配合飼料（ブロイラー肥育前期用）及び乾牧草（スーダングラスヘイ）にアメトリン、シアナジン及びプロメトリンとしてそれぞれ 10 μg/kg 相当量を添加した共通試料を用いて、9 試験室において本法に従って共同試験を実施した。

その結果、配合飼料中のアメトリンの平均回収率は 98.4%，その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ相対標準偏差 (RSD_r 及び RSD_R) として 4.3%及び 6.2%であり、HorRat は 0.28 であった。また、乾牧草中のアメトリンの平均回収率は 92.2%，その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD_r 及び RSD_R として 4.2%及び 15%であり、HorRat は 0.66 であった。

配合飼料中のシアナジンの平均回収率は 98.9%，その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ相対標準偏差 (RSD_r 及び RSD_R) として 6.6%及び 9.4%であり、HorRat は 0.43 であった。また、乾牧草中のシアナジンの平均回収率は 94.4%，その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD_r 及び RSD_R として 4.1%及び 17%であり、HorRat は 0.76 であった。

配合飼料中のプロメトリンの平均回収率は 93.6%，その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ相対標準偏差 (RSD_r 及び RSD_R) として 2.7%及び 6.1%であり、HorRat は 0.28 であった。また、乾牧草中のプロメトリンの平均回収率は 89.6%，その室内繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ RSD_r 及び RSD_R として 3.2%及び 11%であり、HorRat は 0.52 であった。

謝 辞

共同試験に参加していただいたアジレント・テクノロジー株式会社アプリケーションセンター、株式会社島津製作所東京アプリケーション開発センター、財団法人日本食品分析センター多摩研究所、社団法人日本科学飼料協会科学飼料研究センター、全国酪農業協同組合連合会分析センターの試験室の各位に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 農林水産省消費・安全局長通知：“飼料分析法の一部改正について”，平成 16 年 11 月 26 日，16 消安第 5298 号 (2004).
- 2) 財団法人日本食品分析センター：平成 16 年度 飼料の有害物質等残留基準設定等委託事業（分析法の開発） 飼料中の有害物質等の分析法の開発 (2005).
- 3) 財団法人日本食品分析センター：平成 18 年度 飼料の有害物質等残留基準設定等委託事業（分析法の開発） 飼料中の有害物質等の分析法の開発 (2007).