

4 飼料中のジクロロボス及びナレドのガスクロマトグラフ質量分析計による定量法

杉本 泰俊^{*1}, 八木 寿治^{*2}, 加藤 隆久^{*2}, 伊藤 潤^{*2}, 三井 由紀子^{*2}, 白井 小枝^{*2}

Determination of Dichlorvos and Naled in Feeds by GC-MS

Yasutoshi SUGIMOTO^{*1}, Toshiharu YAGI^{*2}, Takahisa KATOU^{*2}, Jun ITOU^{*2},
Yukiko MITSUI^{*2} and Sae SHIRAI^{*2}

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

^{*2} Food and Agricultural Materials Inspection Center, Nagoya Regional Center)

An analytical method for determination of dichlorvos and naled in feeds using gas chromatograph-mass spectrometer (GC-MS) was developed. This analysis was conducted under shaded conditions. After the addition of 15 mL of 1 mol/L hydrochloric acid, the samples were left still for 15 minutes. Dichlorvos and naled were extracted with 50 mL (150 mL for grass hay) of acetone and filtered. The extracts were filled up to 150 mL (200 mL for grass hay). 20 mL (4 mL for grass hay) of the sample solution was condensed and purified by Chem Elut cartridge with 80 mL of hexane and condensed again. Naled was converted into dichlorvos, by adding 30 mL of phosphoric acid buffer, 4 mL of cysteine solution and 5 g of sodium chloride into the condensed solution and shaking them together for five minutes. This solution was subjected to the same operation again, and dehydrated with Na₂SO₄ anhydrate and dried after filtration through filter paper (No.5B) and dissolved in 5 mL of hexane-diethyl ether (17:3), and purified with Sep-Pak Plus Silica cartridge and eluted with 20 mL of hexane-acetone (19:1), and dried again. The residue was dissolved in 2 mL of acetone, 1 ml of which was injected to GC-MS on capillary column (TR-5MS; 5% Phenyl (equiv) polysilphenylene-siloxane, 0.25 mm i.d.×30 m, film thickness: 0.25 μm) for determination of dichlorvos. A recovery test was conducted using two kinds of formula feed, corn and bermuda grass hay spiked with 10,000, 1,000, 200 and 40 μg/kg of dichlorvos and naled. The mean recoveries of dichlorvos and naled were 73.2%~102% and 73.5%~93.2%, and the relative standard deviations (RSD) were within 17% and 14% respectively. A collaborative study was conducted in ten laboratories using corn and alfalfa hay spiked with naled at 200 and 10,000 μg/kg. The mean quantitative value of corn was 108 μg/kg (92.7%), repeatability and reproducibility as the relative standard deviations (RSD_r and RSD_R) were 4.3% and 12% respectively, and HorRat was 0.54. As for alfalfa hay, these values were 4,820 μg/kg (83.1%), 4.1%, 12% and 0.96, respectively.

Key words: 残留農薬 pesticide residue ; 有機リン系殺虫剤 organophosphorus insecticide ;
ジクロロボス dichlorvos ; ナレド naled ; ガスクロマトグラフ質量分析計 gas
chromatograph-mass spectrometer (GC-MS) ; 飼料 feed; 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名古屋センター, 現 同福岡センター

^{*2} (独) 農林水産消費安全技術センター名古屋センター

1 緒 言

ジクロロボス (Fig. 1) は Bayer 社が開発した有機リン系殺虫剤で、トリクロロホン (DEP) 剤中の共存物として発見され、DEP が脱塩酸してジクロロボスとなる。残効性が短く、収穫間近まで使用できる長所があり、生食用野菜、茶、クワ等の害虫防除に使用される。なお、その作用機構はコリンエステラーゼ阻害である¹⁾。

ナレド (Fig. 1) は Chevron Chemical 社が開発した臭素と塩素を含む有機リン系殺虫剤である。ジクロロボスと同様に残効性が短く、生食用野菜等に使用されるが、その活性は Fig. 1 に示すとおり、ナレドから臭素原子が脱離したジクロロボスによるものである¹⁾。

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) が平成 18 年 5 月 29 日付けで改正され、ジクロロボス及びナレドの総和で残留基準値 (えん麦, 大麦, 小麦, とうもろこし, マイロ及びライ麦で 0.2 ppm, 牧草で 10 ppm) が設定された。

現在、飼料分析基準²⁾には、ナレドの定量法は収載されておらず、定量法の確立が急務となっている。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ィーによるジクロロボス及びナレドの飼料中の残留農薬分析法¹⁾の前処理操作を参考に、測定方法としてガスクロマトグラフ質量分析計を用いた定量法を検討したところ、良好な成績が得られたので報告する。

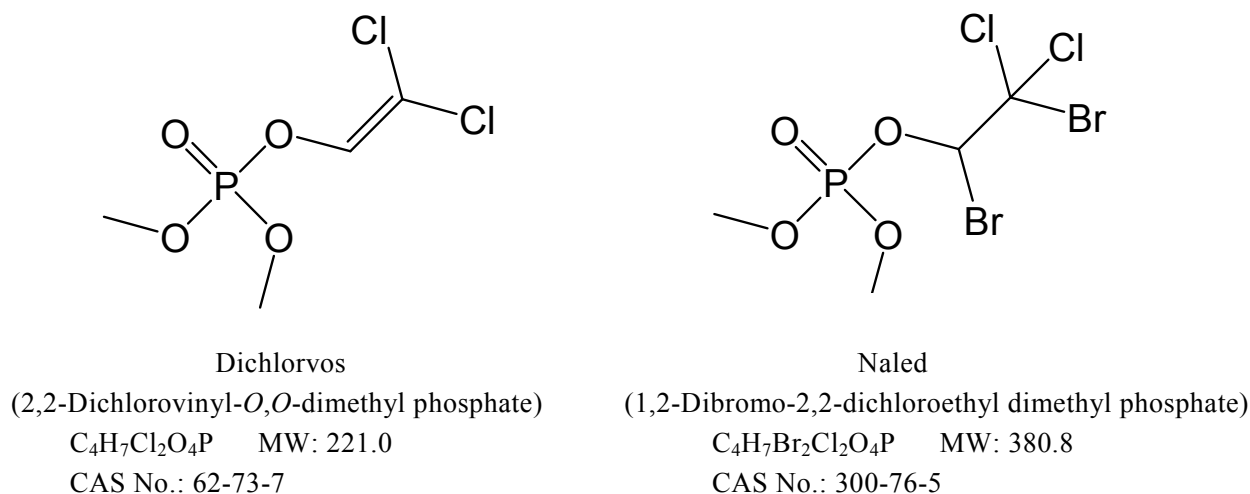


Fig. 1 Chemical structures of dichlorvos and naled

2 実験方法

2.1 試 料

市販の配合飼料 (成鶏飼育用, 肉豚肥育用, 肉用牛肥育用), 飼料原料 (とうもろこし, 大麦, マイロ), 乾牧草 (スーダングラスヘイ, パミューダグラスヘイ, アルファルファヘイ, チモシーヘイ) をそれぞれ 1 mm の網ふるいを通過するまで粉碎し, 供試試料とした。

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 Compositions of the formula feeds used in this study

Kind of formula feed	Group of ingredients	Ratio (%)	Ingredients
For layer	Grains	54	Corn, Polished rice
	Oil meals	20	Soybean meal, Corn germ meal Rapeseed meal, Corn gluten meal
	Brans	11	Corn gluten feed, Wheat bran Corn dried distillers grains with solubles
	Animal by-products	3	Fish meal, Meat and bone meal (derived from pork and poultry)
	Others	12	Calcium carbonate, Animal fat, Salt Paprika extract, Silicic anhydride, Feed additive
For growing pig	Grains	74	Corn, Milo, Wheat flour, Bread crumbs, Dextrin
	Oil meals	15	Soybean meal, Rapeseed meal, Corn germ meal
	Brans	5	Corn gluten feed, Rice bran
	Animal by-products	2	Fish meal
	Others	4	Animal fat, Calcium carbonate, Salt, Yucca extract, Quillaia extract, Betaine, Vermiculite, Vegetable Oil, Silicic acid, Corn steep liquor, Glucose, Dextran fermentation by-production concentrated liquid, Calcium phosphate, Feed additive
For finishing beef cattle	Grains	69	Corn, Barley, Wheat
	Brans	23	Wheat bran, Soybean hulls
	Oil meals	7	Soybean meal
	Others	1	Molasses, Salt, Calcium carbonate

2.2 試 薬

1) ジクロロボス標準液

ジクロロボス [C₄H₇Cl₂O₄P] 標準品 (関東化学製, 純度 99.0%) 25 mg を正確に量って 50 mL の褐色全量フラスコに入れ, アセトンを加えて溶かし, 更に標線まで同溶媒を加えてジクロロボス標準原液を調製した (この液 1 mL はジクロロボス 0.5 mg を含有する.) .

使用に際して, ジクロロボス標準原液の一定量をアセトンで正確に希釈し, 1 mL 中にジクロロボスとしてそれぞれ 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.3, 0.5, 1 及び 2 µg を含有する各ジクロロボス標準液を調製した.

2) ナレド標準液

ナレド [C₄H₇Br₂Cl₂O₄P] 標準品 (和光純薬工業製, 純度 99.1%) 25 mg を正確に量って 50 mL の褐色全量フラスコに入れ, アセトンを加えて溶かし, 更に標線まで同溶媒を加えてナレド標準原液を調製した (この液 1 mL はナレド 0.5 mg を含有する.) .

使用に際して, ナレド標準原液の一定量をアセトンで正確に希釈し, 1 mL 中にナレドとしてそれぞれ 2, 4, 20 及び 50 µg を含有する各ナレド標準液を調製した.

3) リン酸緩衝液

リン酸二水素ナトリウム二水和物 7.8 g を水 500 mL に溶かした溶液 230 mL に, リン酸水素二ナトリウム・12 水 17.9 g を水 500 mL に溶かした溶液を加え, 2 mol/L 水酸化ナトリウム溶

液で pH 7.2 に調整した。

4) システイン溶液

L-システイン塩酸塩一水和物 4 g を水 50 mL に溶かし、2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で pH 7.0 に調整した。

5) アセトン，ヘキサン，ジエチルエーテル及び硫酸ナトリウム（無水）は，残留農薬分析用を用いた。その他の試薬については特級を用いた。

2.3 装置及び器具

1) ガスクロマトグラフ：Thermo Electron 製 FOCUS GC

2) 質量分析計：Thermo Electron 製 POLARIS Q

3) 振とう機：タイテック製 SR-2w

4) エバポレーター：東京理化学器械製 N-1000

5) 多孔性ケイソウ土カラム：Varian 製 EXTUBE Extraction Columns Chem Elut CE 1020 (20 mL 容)

6) シリカゲルカートリッジ：Waters 製 Sep-Pak Plus Silica Cartridge (充てん剤量 690 mg)

2.4 定量方法

本法は遮光した状態で行った。

1) 抽出

試料 10.0 g を量って 200 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、1 mol/L 塩酸 15 mL を加え 15 分間静置した。アセトンを 50 mL（乾牧草は 150 mL）加え、30 分間振り混ぜて抽出した。100 mL の褐色全量フラスコ（乾牧草は 200 mL の褐色全量フラスコ）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、容器及び残さをアセトン 30 mL で洗浄し、吸引ろ過し、褐色全量フラスコの標線までアセトンを加えた。定容した抽出液 20 mL（乾牧草は 4 mL）を 100 mL のなす形フラスコに正確に入れ、40°C 以下の水浴で 2 mL 以下まで減圧濃縮し、カラム処理 I に供する試料溶液とした。

2) カラム処理 I

試料溶液を多孔性ケイソウ土カラムに入れ、容器を水 5 mL で洗浄し、洗液をカラムに加え、10 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、試料溶液を入れた容器をヘキサン 10 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下し、ジクロロボス及びナレドを溶出させた。ヘキサン 50 mL をカラムに加えて同様に溶出させ、溶出液を 40°C 以下の水浴で 40 mL 以下まで減圧濃縮し、ジクロロボスへの変換に供する試料溶液とした。

3) ジクロロボスへの変換

試料溶液を 200 mL の分液漏斗 A に入れ、容器をリン酸緩衝液 30 mL で洗浄し分液漏斗 A に合わせた。システイン溶液 4 mL 及び塩化ナトリウム 5 g を分液漏斗 A に加え、5 分間振とうし、ナレドをジクロロボスに変換した。水層（下層）を 200 mL の分液漏斗 B に入れ、ヘキサン層を 200 mL の三角フラスコに分取した。分液漏斗 B にヘキサン 40 mL を加え、同様に操作し、水層を捨て、ヘキサン層を三角フラスコに合わせた。三角フラスコに硫酸ナトリウム（無水）適量を加えヘキサン層を脱水した後、200 mL のなす形フラスコにろ紙（5 種 B）でろ過した。先の三角フラスコを少量のヘキサンで洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせた。アセトン-ジエチレングリコール (49+1) 0.5 mL を加え、40°C 以下の水浴で 1 mL 以

下まで減圧濃縮し，窒素ガスを送って乾固した．ヘキサンジエチルエーテル (17+3) 5 mL を加え，カラム処理 II に供する試料溶液とした．

4) カラム処理 II

シリカゲルカートリッジを注射筒に連結し，ヘキサンジエチルエーテル (17+3) 5 mL で洗浄した．試料溶液を注射筒に入れ，液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた．ヘキサンジエチルエーテル (17+3) 5 mL ずつで 3 回容器を洗浄し，洗液を順次カラムに加え，液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた．50 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き，ヘキサノンアセトン (19+1) 20 mL をカラムに加えてジクロロボスを溶出させた．

溶出液にアセトンジエチレングリコール (49+1) 0.5 mL を加え，40°C 以下の水浴で 1 mL 以下まで減圧濃縮した後，窒素ガスを送って乾固した．

アセトン 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし，ガス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．

5) ガスクロマトグラフ質量分析計による測定

試料溶液及び各ジクロロボス標準液各 1 μ L をガスクロマトグラフ質量分析計に注入し，選択イオン検出 (SIM) クロマトグラムを得た．

6) 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，試料中のジクロロボス (ナレドをジクロロボスに変換したものを含む．) の量を算出した．なお，ナレド量に換算する場合は，測定されたジクロロボス量に係数 1.72 (ナレド分子量 : 380.8 / ジクロロボス分子量 : 221.0) を乗じて求めた．

なお，定量法の概要を Scheme 1 に，ガスクロマトグラフ質量分析計の測定条件を Table 2 に示した．

Under the shaded light condition

Sample 10 g (brown erlenmeyer flask of 200 mL)

- add 15 mL of 1 mol/L HCl solution
- allow to stand for 15 min
- add 50 mL of acetone (grass hay: 150 mL)
- shake for 30 min
- filtrate under suction filter (No. 5B)
- wash with 30 mL of acetone
- fill up to 100 mL (grass hay: 200 mL)

20 mL of sample solution (grass hay: 4 mL)

- evaporate to the volume of 2 mL under 40°C

Chem Elut cartridge

- apply sample solution and wash with 5 mL of water
- allow to stand for 10 min
- wash and elute with 10 mL of hexane (three times)
- elute with 50 mL of hexane
- evaporate to the volume of 40 mL under 40°C

200mL separating funnel A

- wash with 30 mL of phosphoric buffer solution
- add 4 mL of cysteine solution and 5 g of NaCl
- shake for 30 minutes and convert naled into dichlorvos

Hexane layer (upper layer)

Water layer (lower layer)

- 200 mL separating funnel B
- add 40 mL of hexane
- shake for 5 min

Hexane layer (upper layer)

Water layer (lower layer) (waste)

- dehydrate with Na_2SO_4 anhydride
- filtrate through filter paper (No. 5B)
- add 0.5 mL of diethylene glycol-acetone (1:49)
- evaporate to dryness under 40°C
- dissolve in 5 mL of hexane-diethyl ether (17:3)

Sep-Pak Plus Silica (prewash with 5 mL of hexane-diethyl ether (17:3))

- apply sample solution
- wash with 5 mL of hexane-diethyl ether (17:3) (three times)
- elute with 20 mL of hexane-acetone (19:1)
- add 0.5 mL of diethylene glycol-acetone (1:49)
- evaporate to dryness under 40°C
- dissolve in 2 mL of acetone

GC-MS 1 μL

Scheme 1 Analytical procedure for dichlorvos and naled in feeds by using GC-MS

Table 2 Operating conditions for GC-MS

Column	TR-5MS (0.25 mm i.d.×30 m; 0.25 µm film thickness)
Column temp.	60°C (1 min)→15°C/min→280°C (5 min)
Injection mode	Splitless
Injector temp.	250°C
Carrier gas	He 1.0 mL/min
Transferline temp.	280°C
Ion source temp.	230°C
Ionization	Electron impact
Ionization energy	70 eV
Monitor ion	<i>m/z</i> 185 (quantitation), 109 (confirmation)

3 結果及び考察

3.1 安定性

ナレドは光分解を受けやすいとの知見が得られている³⁾ことから、本法は遮光条件で実施することとした。

3.2 検量線

ジクロールボスとして 1 mL 中に 10~2,000 ng を含む各標準液を調製し、各 1 µL をガスクロマトグラフ質量分析計に注入し、得られた SIM クロマトグラムピーク面積及び高さを求めて検量線を作成した。その結果、検量線はジクロールボスとして 0.01~2 ng の範囲で直線性を示した。

3.3 妨害物質の検討

3 種類の配合飼料（成鶏飼育用，肉豚肥育用，肉用牛肥育用），4 種類の乾牧草（スーダングラスヘイ，バミューダグラスヘイ，アルファルファヘイ，チモシーヘイ）及び 3 種類の穀類（とうもろこし，大麦，マイロ）について、本法に従って SIM クロマトグラムを作成し、ジクロールボスの定量を妨害するピークの有無を検討した。その結果、ジクロールボスの定量を妨害するピークは認められなかった。

なお、妨害物質の検討で得られた SIM クロマトグラムの一例を Fig. 2 に示した。

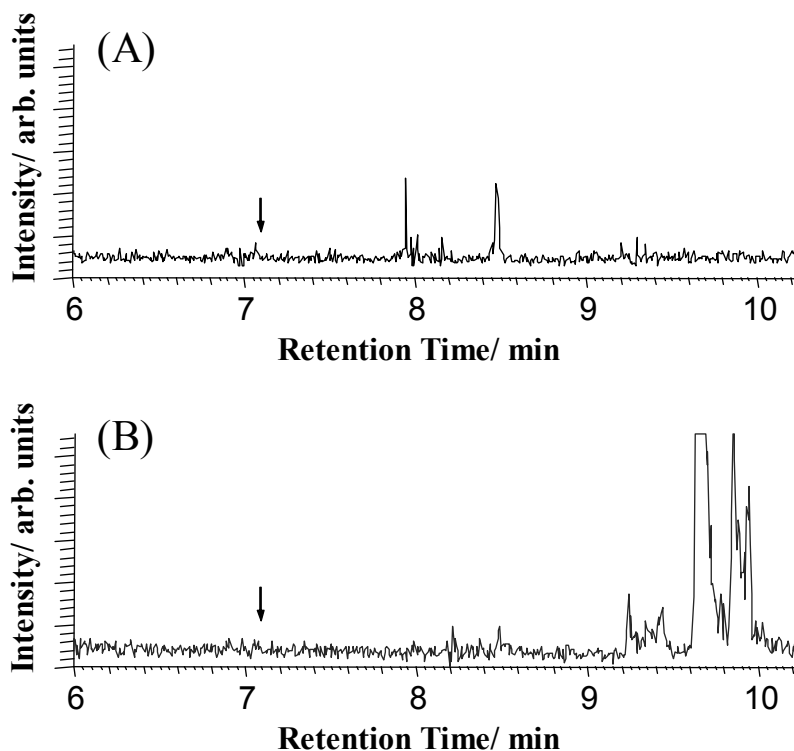


Fig. 2 SIM Chromatograms of each sample solution

(A) Sample solution of formula feed for layer

(B) Sample solution of corn

(↓: Retention time of dichlorvos)

3.4 添加回収試験

本法による回収率及び繰返し精度を確認するために添加回収試験を実施した。

Table 1 の成鶏飼育用配合飼料，肉用牛肥育用配合飼料及びとうもろこしにジクロロボス又はナレドとしてそれぞれ 200 及び 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当量添加した試料並びにバミューダグラスヘイにジクロロボス又はナレドとしてそれぞれ 10,000 及び 1,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当量添加した試料を用いて，本法に従って 3 回併行分析を行い，その回収率及び繰返し精度を求めた。

その結果，Table 3 及び 4 のとおり，ジクロロボスの平均回収率は 73.2%~102%，その繰返し精度は相対標準偏差 (RSD) として 17%以下，ナレドの平均回収率は 73.5%~93.2%，その繰返し精度は RSD として 14%以下であった。

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

Table 3 Results of recovery test for dichlorvos

Spiked level ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Formula feed for layer		Formula feed for beef cattle		Corn		Bermudagrass hay	
	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}
10,000	---		---		---		84.1	(1.1)
1,000	---		---		---		73.2	(2.3)
200	99.1	(4.3)	94.1	(2.5)	96.7	(17)	---	
40	85.4	(11)	102	(16)	93.4	(11)	---	

a) Mean recovery ($n=3$)

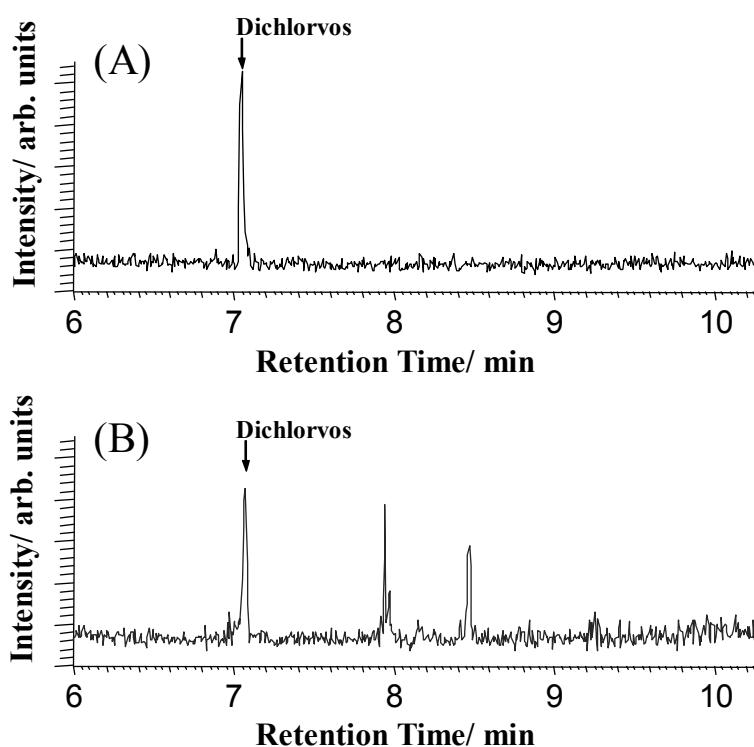
b) Relative standard deviation (RSD)

Table 4 Results of recovery test for naled

Spiked level ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Formula feed for layer		Formula feed for beef cattle		Corn		Bermudagrass hay	
	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}
10,000	---		---		---		76.3	(2.8)
1,000	---		---		---		77.2	(6.7)
200	73.5	(3.2)	86.7	(3.2)	75.7	(3.4)	---	
40	83.6	(12)	93.2	(12)	87.9	(14)	---	

a) Mean recovery ($n=3$)

b) Relative standard deviation (RSD)

**Fig. 3 SIM chromatograms of standard solution and sample solution**

(A) Dichlorvos standard solution (100 ng/mL)

(B) Sample solution of formula feed for layer (spiked with naled at 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

3.5 定量下限及び検出下限

本法の定量下限及び検出下限を確認するため、成鶏飼育用配合飼料及びとうもろこしにジクロロボスを添加した試料のSIMクロマトグラムについて得られたピークのSN比を求めた。ジクロロボスのピークのSN比が10になる濃度を定量下限、ピークのSN比が3になる濃度を検出下限としたところ、両試料とも、本法の定量下限は20 µg/kg（ナレドに由来する場合は、ナレドに換算して40 µg/kg相当量）、検出下限は7 µg/kg（同10 µg/kg相当量）程度と推定された。

参考までに、成鶏飼育用配合飼料及びとうもろこしにジクロロボス及びナレドとしてそれぞれ40及び20 µg/kg相当量添加した試料について3点併行分析を実施したところ、その平均回収率及び繰返し精度はTable 5及び6のとおりであった。

Table 5 Results of recovery test at the concentration of determination limit for dichlorvos

Spiked level (µg/kg)	Formula feed for layer		Corn	
	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}
40	85.4	(11)	93.4	(11)
20	114	(24)	70.2	(23)

a) Mean recovery ($n=3$)

b) Relative standard deviation (RSD)

Table 6 Results of recovery test at the concentration of determination limit for naled

Spiked level (µg/kg)	Formula feed for layer		Corn	
	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}
40	83.6	(12)	87.9	(14)
20	130	(14)	95.2	(21)

a) Mean recovery ($n=3$)

b) Relative standard deviation (RSD)

3.6 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。

とうもろこしにナレドとして200 µg/kg相当量（ジクロロボスとして116 µg/kg相当量）、アルファルファヘイにナレドとして10,000 µg/kg相当量（ジクロロボスとして5,800 µg/kg相当量）を添加した試料を用い、財団法人日本食品分析センター多摩研究所、財団法人マイコトキシン検査協会、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、アジレント・テクノロジー株式会社八王子事業所、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、同札幌センター、同名古屋センター、同神戸センター大阪事務所及び同福岡センターの10試験室で共同分析を実施した。

その結果はTable 7のとおり、とうもろこしの平均回収率は92.7%、その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12%であり、HorRatは0.54であった。

また、アルファルファヘイの平均回収率は 83.1%，その繰返し精度及び室間再現精度は相対標準偏差 (RSD_r 及び RSD_R) として 4.1% 及び 12% であり，HorRat は 0.96 であった。

なお，参考のため，各試験室で使用した GC-MS の機種等を Table 8 に示した。

Table 7 Collaborative study results of naled

Lab. No.	Sample (µg/kg as dichlorvos)			
	Corn		Alfalfa hay	
1	108	99	5,040	5,010
2	122	128	5,520	5,810
3	100	108	4,630	5,240
4	106	111	4,330	4,060
5	133 ^{d)}	91 ^{d)}	4,520 ^{e)}	2,850 ^{e)}
6	88	85	3,930	4,180
7	107	109	4,440	4,150
8	104	102	5,450	5,380
9	122	133	5,140	5,190
10	99	105	4,560	4,610
Spiked level	116		5,800	
Mean value ^{a)}	108		4,820	
Recovery (%)	92.7		83.1	
RSD_r ^{b)} (%)	4.3		4.1	
RSD_R ^{c)} (%)	12		12	
HorRat	0.54		0.96	

a) $n=18$ (without Lab. No. 5)

b) Relative standard deviation of repeatability within same laboratory

c) Relative standard deviation of reproducibility between laboratories

d) Excluded by the Cochran Test

e) Excluded by the single Grubbs Test

Table 8 Instruments used in the collaborative study

Lab. No.	GC-MS	Column (i.d.×length, film thickness)
1	GC: Agilent Technologies 6890 MS: Agilent Technologies 5973	Agilent Technologies DB-5MS (0.25mm i.d.×30 mm, 0.25 μm)
2	GC: Agilent Technologies 6890N MS: Agilent Technologies 5973	Agilent Technologies HP-5MS (0.25mm i.d.×30 mm, 0.25 μm)
3	GC: Agilent Technologies 6890N MS: Agilent Technologies 5973inert	Agilent Technologies HP-5MSI (0.25mm i.d.×30 mm, 0.25 μm)
4	GC: Agilent Technologies 6890N MS: Agilent Technologies 5975B	Agilent Technologies DB-5MS (0.25mm i.d.×30 mm, 0.25 μm)
5	GC: Agilent Technologies 7890 MS: Agilent Technologies 5975	Agilent Technologies DB-5MS (0.25mm i.d.×30 mm, 0.25 μm)
6	Shimadzu GCMS-QP2010 Plus	Restek RTX-5MS (0.25mm i.d.×30 mm, 0.25 μm)
7	Shimadzu GCMS-QP2010	Restek RTX-5MS (0.25mm i.d.×30 mm, 0.25 μm)
8	GC: Thermo Electron FOCUS GC MS: Thermo Electron POLARIS-Q	Thermo Electron TR-5MS (0.25mm i.d.×30 mm, 0.25 μm)
9	Shimadzu GCMS-QP2010	Restek RTX-5MS (0.25mm i.d.×30 mm, 0.25 μm)
10	Shimadzu GCMS-QP2010	Agilent Technologies HP-5MS (0.25mm i.d.×30 mm, 0.25 μm)

4 まとめ

飼料中のジクロロボス及びナレドのガスクロマトグラフ質量分析計による定量法について検討したところ、次の結果を得た。

- 1) 検量線は 0.01~2 ng の範囲で直線性を示した。
- 2) 3 種類の配合飼料, 4 種類の乾牧草及び 3 種類の穀類について, 本法に従って SIM クロマトグラムを作成したところ, ジクロロボスの定量を妨害するピークは認められなかった。
- 3) 2 種類の配合飼料及び 2 種類の飼料原料にジクロロボス及びナレドをそれぞれ 10,000, 1,000, 200 及び 40 μg/kg 相当量を添加し, 本法に従って添加回収試験を実施した結果, ジクロロボスの平均回収率は 73.2%~102%, その繰返し精度は相対標準偏差 (RSD) として 17%以下, ナレドの平均回収率は 73.5%~93.2%, その繰返し精度は RSD として 14%以下であった。
- 4) 本法によるジクロロボスの定量下限は試料中で 20 μg/kg (ナレドに由来する場合は, ナレドに換算して 40 μg/kg 相当量), 検出下限は 7 μg/kg (同 10 μg/kg 相当量) と推定された。
- 5) とうもろこし及びアルファルファヘイにナレドとしてそれぞれ 10,000 μg/kg 及び 200 μg/kg 相当量を添加した試料を用いて, 10 試験室で本法による共同試験を実施した。その結果, とうもろこしの平均回収率は 92.7%, その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 12%であり, HorRat は 0.54 であった。また, アルファルファヘイの平均回収率は 83.1%, その繰返し精度及び室間再現精度は RSD_f 及び RSD_R として 4.1%及び 12%であり, HorRat は 0.96 であった。

謝 辞

共同試験にご協力をいただいた財団法人日本食品分析センター，財団法人マイコトキシン検査協会，社団法人日本科学飼料協会，全国酪農業協同組合連合会及びアジレント・テクノロジー株式会社の試験室の各位に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 財団法人日本食品分析センター：平成 17 年度の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（2006）.
- 2) 農林水産省消費・安全局長通知：“飼料分析基準の制定について”，平成20年4月1日，19消安第14729号（2008）.
- 3) 上路雅子，小林裕子，中村幸二編著：残留農薬分析法 2002 年度版（ソフトサイエンス社）.