

## 6 稲発酵粗飼料及び粃米中のクロロタロニルのガスクロマトグラフ質量分析計による定量法

桑原 正良\*

Determination of Chlorothalonil in Whole-crop Rice Silage and Paddy Rice for Feed by GC-MS

Masayoshi KUWABARA\*

(\* Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fukuoka Regional Center  
(Now Kobe Regional Center))

An analytical method was developed to determine level of chlorothalonil in whole-crop rice silage and paddy rice for feed using gas chromatograph-mass spectrometer (GC-MS).

After adding phosphoric acid solution (1:11) to the samples, chlorothalonil was extracted with acetone. The extract was purified with InertSep K-solute (GL Sciences Inc.; Tokyo, Japan) and gel permeation chromatography. Resulting solution of whole-crop rice silage was further purified with Sep-Pak Plus Florisil (Waters; Milford, MA, USA). The resulting solution was injected into the GC-MS for determination of chlorothalonil level. The GC separation was carried out on fused silica capillary column (HP-5MS; 0.25 mm i.d. × 30 m, film thickness 0.25 μm from Agilent Technologies Inc.; Santa Clara, CA, USA). The mass spectrometer was operated in electron ionization (EI) mode.

Spike tests were conducted on whole-crop rice silage spiked with 0.089 and 0.0044 mg/kg and paddy rice spiked with 0.2 and 0.01 mg/kg of chlorothalonil respectively. The resulting mean recoveries ranged from 88.5 % to 110 %, and the relative standard deviations (RSD<sub>r</sub>) were not more than 8.0 %.

A collaborative study was conducted in nine laboratories using whole-crop rice silage and paddy rice spiked with 0.089 mg/kg and 0.1 mg/kg of chlorothalonil respectively. The mean recovery, the repeatability and reproducibility in terms of relative standard deviations (RSD<sub>r</sub> and RSD<sub>R</sub>) and HorRat, respectively, were 85.3 %, 4.9 %, 8.7 % and 0.40 for whole-crop rice silage, 93.0 %, 8.6 %, 8.5 % and 0.39 for paddy rice.

This method was validated and established for use in the inspection of chlorothalonil in whole-crop rice silage and paddy rice for feed.

Key words: whole-crop rice silage; paddy rice; chlorothalonil; gas chromatograph-mass spectrometer (GC-MS); electron ionization (EI); collaborative study

キーワード：稲発酵粗飼料；粃米；クロロタロニル；ガスクロマトグラフ質量分析計；電子イオン化法；共同試験

### 1 緒 言

クロロタロニルはアメリカのダイアモンド・アルカリ社によって開発された殺菌剤であり、1965年に登録された。園芸作物のほか稲などにも適用があり、有機硫黄殺菌剤や銅殺菌剤に似た効果がある。

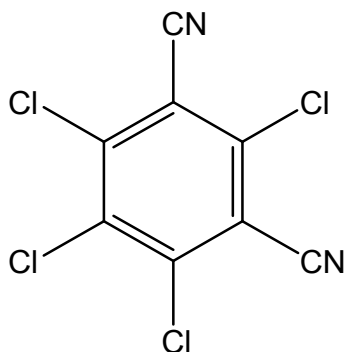
飼料の有害物質の指導基準値<sup>1)</sup>は稲わらで 0.2 mg/kg、稲発酵粗飼料（以下「WCS」という。）

\* 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター，現 神戸センター

で 0.1 mg/kg, 食品, 添加物等の規格基準における残留農薬基準値<sup>2)</sup>は米(玄米), 小麦, 大麦及びライ麦で 0.1 ppm, とうもろこし及び綿実で 0.01 ppm と定められている. 厚生労働省通知試験法<sup>3)</sup>としてクロロタロニルの個別試験法が定められている.

飼料中の分析法は, 一般財団法人日本食品分析センターが平成 21 年度飼料中の有害物質等分析法開発委託事業において開発した方法<sup>4)</sup>(以下「JFRL 法」という.)がある. この JFRL 法を基に飼料分析基準<sup>5)</sup>への適用の可否について検討したのでその概要を報告する.

参考に, クロロタロニルの構造式等を Fig. 1 に示した.



2,4,5,6-tetrachloro-1,3-benzenedicarbonitrile

$C_8Cl_4N_2$  MW: 265.9

CAS No.: 1897-45-6

Fig. 1 Chemical structure of chlorothalonil

## 2 実験方法

### 2.1 試料

稲わら及び籾米は, 1 mm の網ふるいを通過するまで粉砕した. WCS は, 60 °C で 10 時間乾燥し, 更に室内に静置して風乾した後, 1 mm の網ふるいを通過するまで粉砕した.

### 2.2 試薬

1) アセトン, 酢酸エチル, ジエチルエーテル, シクロヘキサン, ヘキサンは残留農薬試験用を用いた. 水は液体クロマトグラフ用を, ポリエチレングリコール(以下「PEG」という.)は平均分子量 300 のものを, リン酸は特級を用いた.

#### 2) 希釈溶媒

PEG 1 mL にアセトンを加えて 100 mL とし, 更にこの溶液 1 mL にヘキサンを加えて 200 mL とし, 希釈溶媒を調製した.

#### 3) クロロタロニル標準原液

クロロタロニル標準品(関東化学製, 純度 99.6 %) 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, 更に標線まで同溶媒を加えてクロロタロニル標準原液を調製した(この液 1 mL は, クロロタロニルとして 0.5 mg ( $f=0.996$ ) を含有する.).

#### 4) クロロタロニル標準液

使用に際して, クロロタロニル標準原液の一定量を, 希釈溶媒で正確に希釈し, 1 mL 中にクロロタロニルとして 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 及び 0.2 µg を含有する各クロロタロ

ニル標準液を調製した。

### 2.3 装置及び器具

- 1) 粉碎機：ZM-100 Retsch 製（1 mm スクリーン，回転数 14000 rpm）
- 2) 乾牧草用粉碎機：SM-100 Retsch 製（1mm スクリーン，回転数 1690 rpm）
- 3) 多孔性ケイソウ土カラム：InertSep K-solute（10 mL 保持用） ジーエルサイエンス製
- 4) メンブランフィルター：DISMIC-25HP（孔径 0.45  $\mu\text{m}$ ，直径 25 mm，PTFE） 東洋濾紙製
- 5) ゲル浸透クロマトグラフ（以下「GPC」という。）：GPC システム 島津製作所製
- 6) 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム：Sep-Pak Plus Florisil Cartridge（充てん剤量 910 mL）  
Waters 製にリザーバー（20 mL）を連結したもの
- 7) ガスクロマトグラフ質量分析計（以下「GC-MS」という。）  
ガスクロマトグラフ部：7890A Agilent Technologies 製  
質量分析計部：5975C Agilent Technologies 製

### 2.4 定量方法

#### 1) 抽出

分析試料 10.0 g を量って 300 mL の共栓三角フラスコに入れ，リン酸（1+11）30 mL（粃米は 20 mL）を加え，30 分間静置した後，更にアセトン 120 mL（粃米は 100 mL）を加え，30 分間振り混ぜて（250 rpm）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順次アセトン 50 mL で洗浄し，同様に吸引ろ過した。更に全量フラスコの標線までアセトンを加えた。この液 40 mL を 200 mL のなす形フラスコに正確に入れ，40 °C 以下の水浴で約 5 mL 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

試料溶液にリン酸（1+11）5 mL を加えた後，多孔性ケイソウ土カラムに入れ，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，先のなす形フラスコをヘキサン 5 mL ずつで 2 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させてクロロタロニルを溶出させた。更にヘキサン 70 mL をカラムに加えて同様に溶出させ，溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後，窒素ガスを送って乾固した。

シクロヘキサン-アセトン（4+1）10 mL を正確に加えて残留物を溶かし，メンブランフィルターでろ過し，ゲル浸透クロマトグラフィーに供する試料溶液とした。

#### 3) ゲル浸透クロマトグラフィー

試料溶液 5.0 mL を GPC に注入し，クロロタロニルが溶出する画分を 100 mL のなす形フラスコに分取し，40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後，窒素ガスを送って乾固した。なお，GPC の条件を Table 1 に示した。

WCS については，ヘキサノ-ジエチルエーテル（4+1）6 mL を加えて残留物を溶かし，カラム処理 II に供する試料溶液とした。

粃米については，希釈溶媒 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし，GC-MS による測定に供する試料溶液とした。

Table 1 Operating conditions of GPC

Column	Shodex CLNpak EV-2000 AC (20 mm i.d.×300 mm, 15 μm), Showa Denko
Guard column	Shodex CLNpak EV-G AC (20 mm i.d.×100 mm, 15 μm), Showa Denko
Eluent	Cyclohexane - acetone (4:1)
Flow rate	5 mL/min
Fraction Volume	110~140 mL

## 4) カラム処理 II (WCS)

合成ケイ酸マグネシウムミニカラムをヘキサン 5 mL で洗浄した（吸引マニホールドを使用し、流速 1~2 mL/min とした．以下同じ．）．試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた．

試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサソージエチルエーテル (4+1) 2 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、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ミニカラムの下に置き、ヘキサソ-酢酸エチル (9+1) 20 mL をミニカラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下してクロロタロニルを溶出させた．溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固した．

希釈溶媒 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、GC-MS による測定に供する試料溶液とした．

## 5) GC-MS による測定

試料溶液及び各クロロタロニル標準液各 2 μL を GC-MS に注入し、選択イオン検出 (SIM) クロマトグラムを得た．

GC-MS の測定条件を Table 2 に示した．

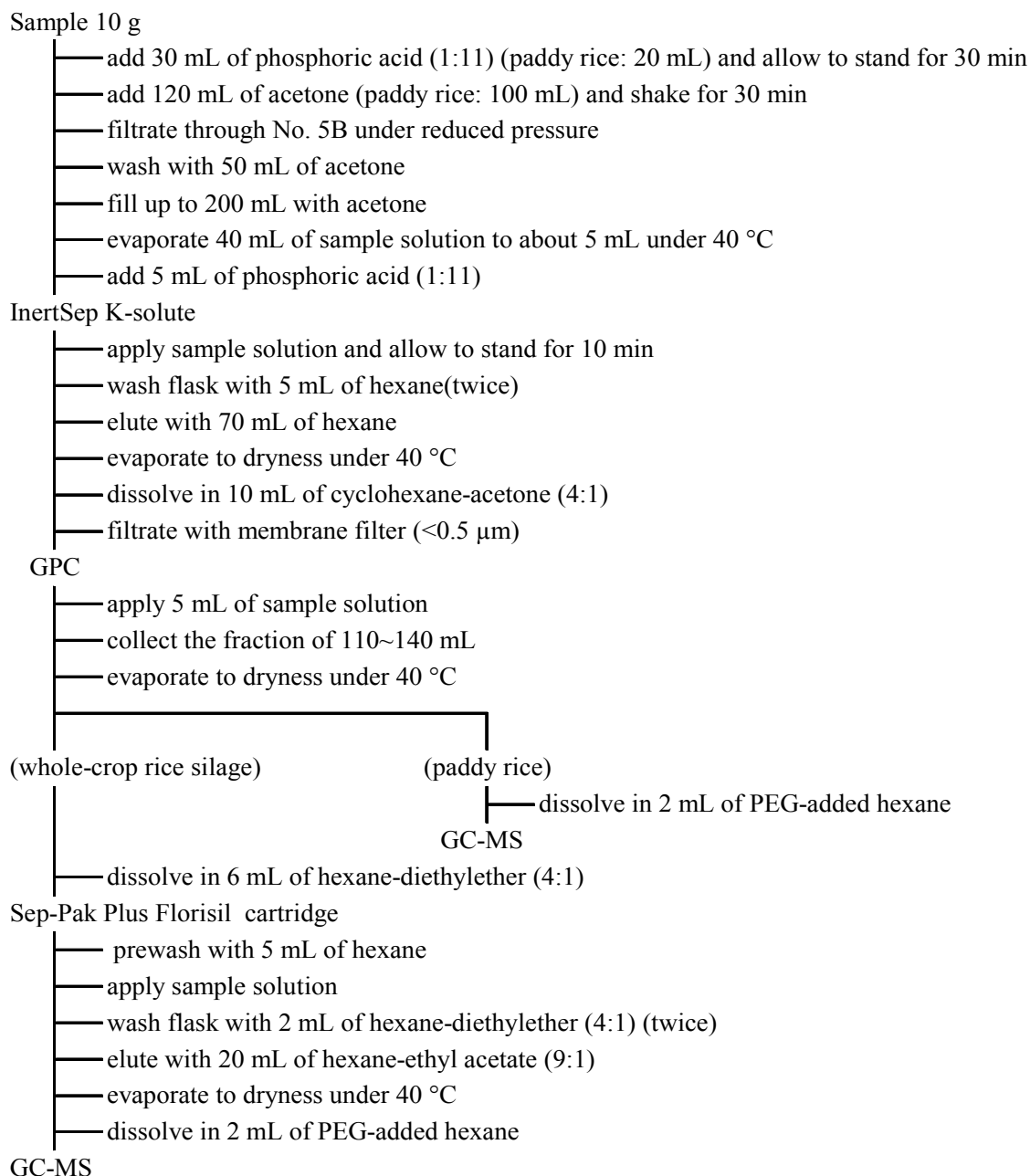
Table 2 Operating conditions of GC-MS

Column	HP-5MS (0.25 mm i.d.×30 m, 0.25 μm film thickness), Agilent Technologies
Column temperature	80 °C (hold for 1 min) → 20 °C/min → 280 °C (hold for 10 min)
Injection mode	Splitless (60 s)
Injection port temperature	250 °C
Carrier gas	He 1.0 mL/min
Transferline temperature	280 °C
Ion source temperature	230 °C
Ionization	Electron ionization
Ionization energy	70 eV
Monitor ion	<i>m/z</i> 264 (for quantification), 266 (for confirmation)

## 6) 計 算

得られた SIM クロマトグラムからピーク面積及び高さを求めて検量線を作成し、試料中のクロロタロニル量を算出した．

定量法の概要を Scheme 1 に示した．



Scheme 1 Analytical procedure for chlorothalonil in whole-crop rice silage and paddy rice for feed

### 3 結果及び考察

#### 3.1 検量線

JFRL 法に従い、アセトンを用いて調製したクロロタロニル標準液 (0.1 µg/mL) を GC-MS に注入し、注入再現性を確認したところ、注入毎にレスポンスの著しい減衰がみられた。また、希釈溶媒としてヘキサンを用いて調製した標準液 (0.1 µg/mL) を GC-MS に注入し、注入再現性を求めたところ、相対標準偏差が 10 % ( $n=10$ ) とピーク高さ及び面積にばらつきが認められた。このばらつきを解消するためにヘキサンの PEG を 0.005 v/v% 添加したところ、相対標準偏差が 4 % ( $n=10$ ) に改善が認められた。よって、以後は、GC-MS による測定に供する標準液及び試料溶液の調製には、PEG を 0.005 v/v% 添加したヘキサンを用いることとした。

2.2 の 4) に従って調製した各クロロタロニル標準液各 2  $\mu\text{L}$  を GC-MS に注入し、得られた SIM クロマトグラムから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、Fig. 2 のとおり、検量線はクロロタロニルとして、それぞれ 0.002~0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (注入量として 0.004~0.4 ng 相当量) の範囲で直線性を示した。

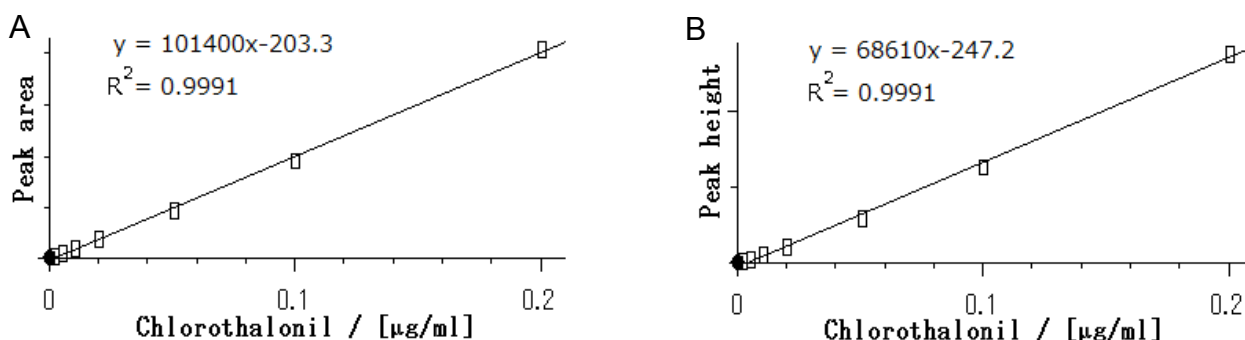


Fig. 2 Calibration curves of chlorothalonil (A: peak area, B: peak height)

### 3.2 多孔性ケイソウ土カラムの溶出画分の確認

粃米を用い、2.4 の 1) に従って調製した試料溶液にクロロタロニルとして 0.2 mg/kg 相当量を添加し、多孔性ケイソウ土カラムからの溶出画分を確認した。多孔性ケイソウ土カラムからの溶出液はいずれも 2.4 の 2) 及び 3) の操作を行った。その結果は、Table 3 のとおり、クロロタロニルは 0~80 mL の画分に溶出し、80~120 mL の画分には溶出しなかった。以上の結果から、本カラムによる溶出液量はヘキサン 80 mL とした。

Table 3 Elution pattern of chlorothalonil from InertSep K-solute

Spiked level (mg/kg)	Hexane				Total
	0-60 mL	60-80 mL	80-100 mL	100-120 mL	
	Recovery <sup>a)</sup> (%)				
0.2	95	1	0	0	96

a) Mean ( $n=3$ )

### 3.3 ゲル浸透クロマトグラフィーの溶出画分の確認

粃米を用い、2.4 の 1) 及び 2) に従って調製した試料溶液にクロロタロニルとして 0.2 mg/kg 相当量を添加し、GPC の溶出画分を確認した。その結果は、Table 4 のとおり、クロロタロニルは 110~140 mL の画分に溶出し、100~110 mL 及び 140~150 mL の画分には溶出しなかった。以上の結果から、GPC の分取画分は 110~140 mL とした。

なお、GPC として日本分光製ポンプ：PU-2080、日本分光製オートサンプラー：AS-2058、東洋製作所製フラクションコネクター：CHF122SC を用いた場合の分取画分は 100~130 mL であり、飼料分析基準にはこの値が掲載された。

Table 4 Elution pattern of chlorothalonil from GPC

Spiked level (mg/kg)	Cyclohexane-acetone (4:1)					Total
	100-110 mL	110-120 mL	120-130 mL	130-140 mL	140-150 mL	
0.2	0	16	80	4	0	100

a) Mean (n=3)

### 3.4 合成ケイ酸マグネシウムミニカラムの溶出画分の確認

予備試験として WCS を用い、クロロタロニルとして原物換算して 0.089 mg/kg 相当量（最終試料溶液中に 0.1 mg/mL 相当量）を添加し、2.4 の 1)~3)に従って定量したところ、回収率は 123 %と高くなった。この原因は夾雑成分によるものと推定し、JFRL 法と同様<sup>4)</sup>、合成ケイ酸マグネシウムミニカラムによる精製を追加検討したところ、回収率の改善がみられた。

そこで、WCS を用い、2.4 の 1)~3)に従って調製した試料溶液にクロロタロニルとして原物換算して 0.089 mg/kg 相当量を添加し、合成ケイ酸マグネシウムミニカラムからの溶出画分を確認した。その結果は、Table 5 のとおり、クロロタロニルはヘキサノージエチルエーテル (4+1) 0~20 mL の画分では溶出せず、ヘキサノー酢酸エチル (9+1) 0~20 mL の画分に溶出し、20~30 mL の画分には溶出しなかった。以上の結果から、本ミニカラムによる溶出液量をヘキサノー酢酸エチル (9+1) 20 mL とした。

Table 5 Elution pattern of chlorothalonil from Sep-Pak Plus Florisil cartridge

Spiked level (mg/kg)	Hexane-diethylether (4:1)	Hexane-ethyl acetate (9:1)			Total
	0-20 mL	0-10 mL	10-20 mL	20-30 mL	
0.089	0	107	1	0	108

a) Mean (n=3)

### 3.5 妨害物質の検討

WCS (2 検体) 及び粳米 (3 検体) を用い、本法により調製した試料溶液を GC-MS に注入し、定量を妨げるピークの有無を確認したところ、WCS についてはクロロタロニルの定量を妨害するピークは認められなかった。粳米についてはクロロタロニルのリテンションタイム付近に微小のピークが確認されたが、そのピークは定量下限相当のピークの 1/3 以下であったため、定量には影響しないと考えられた。

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. 3 に示した。

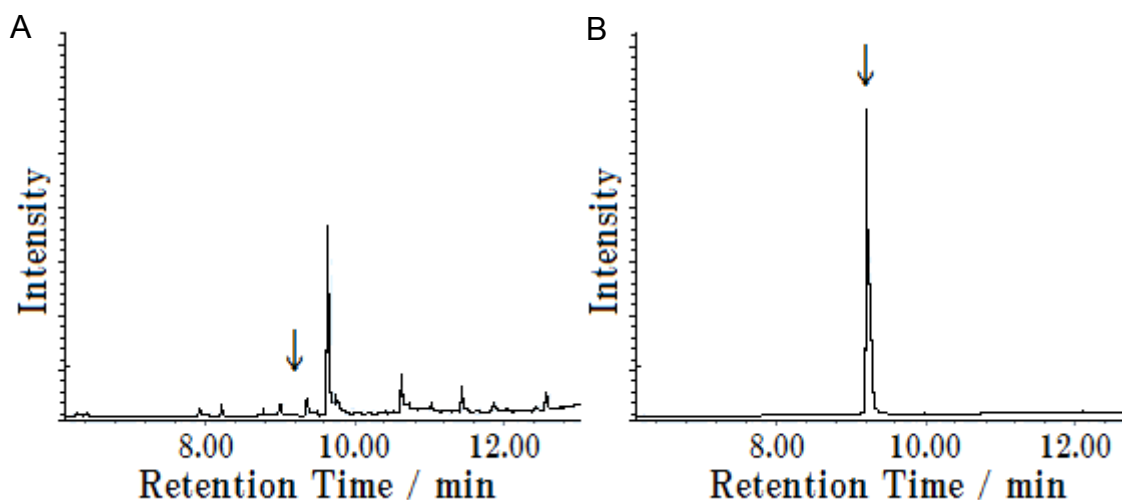


Fig. 3 SIM chromatograms of paddy rice (blank) and standard solution  
(Arrows indicate the retention time or peak of chlorothalonil.)

A: Paddy rice

B: Standard solution (0.002  $\mu\text{g/mL}$ : 4 pg)

### 3.6 稲わらにおける検討

稲わら (4 検体) にクロロタロニルを 0.2 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中に 0.1 mg/mL 相当量) を添加した試料を用い, 本法 (2.4 の 4) は行わず) により 3 点併行で定量し, 回収率及び繰返し精度を検討した。

その結果は, Table 6 のとおり, 試料により回収率にばらつきがみられ, 稲わらに対して更なる検討が必要であると考えられたため, 本法の適用範囲から除外することとした。

Table 6 Recoveries of chlorothalonil in rice straw

Spiked level (mg/kg)	Sample A		Sample B		Sample C		Sample D	
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)
0.2	99.4	5.7	125	2.5	90.7	2.7	68.5	1.5

a) Mean ( $n=3$ )

b) Relative standard deviation of repeatability

### 3.7 添加回収試験

2.1 により調製した試料について, クロロタロニルとして WCS に原物換算して 0.089 及び 0.0044 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中に 0.1 及び 0.005 mg/mL 相当量), 粳米に 0.2 及び 0.01 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中に 0.1 及び 0.005 mg/mL 相当量) を添加し, 本法に従って添加回収試験を実施し, 平均回収率及び繰返し精度を求めた。

なお, WCS については原物の水分含有量を 60 % と想定し, 原物中濃度への換算は, 原物 (水分含有量 60 %) 中濃度 = 風乾物 (水分含有量 10 %) 中濃度 / 2.25 の式から求めた。



その結果は、Table 7 のとおり、WCS では、クロロタロニルの平均回収率は 103~110 %、その繰返し精度は相対標準偏差 ( $RSD_r$ ) として 8.0 %以下、同様に粳米では、88.5~104 %及び 4.3 %以下の成績が得られた。

なお、得られた SIM クロマトグラムの一例を Fig. 4 に示した。

Spiked level (mg/kg)	Whole-crop rice silage		Paddy rice	
	Recovery <sup>a)</sup>	$RSD_r$ <sup>b)</sup>	Recovery <sup>a)</sup>	$RSD_r$ <sup>b)</sup>
	(%)	(%)	(%)	(%)
0.2	—	—	104	4.3
0.089	110	6.5	—	—
0.01	—	—	88.5	4.0
0.0044	103	8.0	—	—

a) Mean ( $n=3$ )

b) Relative standard deviation of repeatability

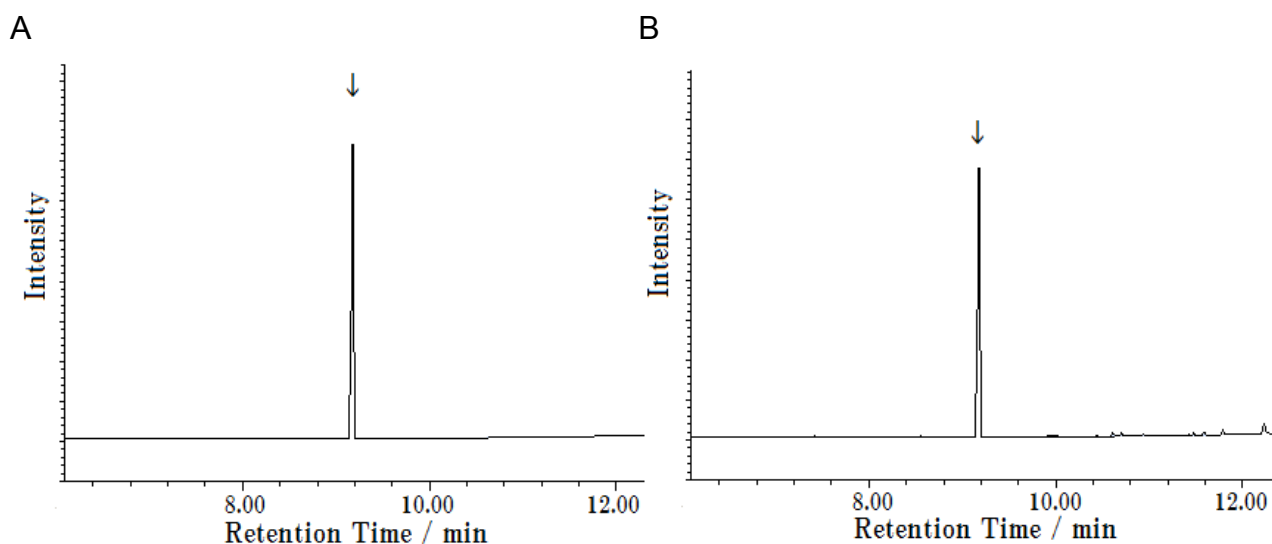


Fig. 4 SIM chromatograms

(Arrows indicate the peaks of chlorothalonil.)

A: Standard solution (The concentration is 0.1 mg/kg as chlorothalonil.)

B: Sample solution of whole-crop silage (spiked at 0.089 mg/kg of chlorothalonil)

### 3.8 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、WCS 及び粳米にクロロタロニルを添加した添加回収試験により得られたピークの  $SN$  比が 10 及び 3 となる濃度を求めた。

その結果、 $SN$  比が 10 及び 3 となる濃度は、0.01 mg/kg 相当量 (WCS は風乾物) 及び 0.003 mg/kg (WCS は風乾物) であったことから、本法の WCS (風乾物) 及び粳米中の定量下限は 0.01 mg/kg、検出下限は 0.003 mg/kg であった。

なお、Table 7 に示したとおり、当該濃度付近における添加回収試験の結果は良好であった。

### 3.9 共同試験

本法の室間再現精度を確認するため、濃度非通知、かつ非明示の2点反復で共通試料による共同試験を実施した。

共通試料としては、WCSにクロロタロニルとして原物換算して0.089 mg/kg相当量（分析用試料10 gに対し1 mL中に2 µgを含有するクロロタロニル標準液1 mL添加）及び粳米にクロロタロニルとして0.1 mg/kg相当量（分析用試料10 gに対し1 mL中に1 µgを含有するクロロタロニル標準液1 mL添加）を、各試験室にて分析開始の前日に添加して調製した試料を用いた。

参加試験室は、一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所、一般財団法人食品環境検査協会東京事業所、JA 東日本くみあい飼料株式会社本社品質安全部、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、同仙台センター、同名古屋センター、同神戸センター及び同福岡センター（計9試験室）であった。結果の解析については国際的にハーモナイズされた共同試験に関する手順<sup>6), 7)</sup>を参考に、Cochran検定、外れ値1個のGrubbs検定及び外れ値2個のGrubbs検定を行い、外れ値の有無を確認した上で平均回収率、繰返し精度（RSD<sub>t</sub>）及び室間再現精度（RSD<sub>R</sub>）を算出し、得られたRSD<sub>R</sub>から、修正Horwitz式<sup>8)</sup>を用いてHorRatを求めた。

結果はTable 8のとおりであった。

WCS及び粳米について、平均回収率は85.3及び93.0%，RSD<sub>t</sub>は4.9及び8.6%，RSD<sub>R</sub>は8.7及び8.5%，HorRatは0.40及び0.39であった。なお、いずれもHorRatの値が0.5を下回ったが、原因の1つとして、本分析法が既存の農薬のGC-MSによる一斉分析法<sup>5)</sup>を更に簡略にしたものであり、各試験室が分析操作に習熟していたことが考えられた。

参考のため、各試験室で使用したGC-MSの機種等をTable 9に示した。

Table 8 Collaborative study results of chlorothalonil

Lab. No.	Feed types			
	Whole-crop rice silage		Paddy rice	
	(mg/kg)		(mg/kg)	
1	0.0756	0.0827	0.0960	0.105
2	0.0809	0.0853	0.0803	0.105
3	0.0809	0.0738	0.0906	0.0828
4	0.0831	0.0853	0.0968	0.0976
5	0.0751	0.0747	0.0988	0.103
6	0.0800	0.0751	0.0889	0.0978
7	0.0667	0.0707	0.0875	0.0849
8	0.0702	0.0627	0.0825	0.0981
9	0.0747	0.0693	0.0855	0.0924
Spiked level (mg/kg)	0.089		0.1	
Mean value <sup>a)</sup> (mg/kg)	0.0759		0.0930	
Recovery <sup>b)</sup> (%)	85.3		93.0	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	4.9		8.6	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	8.7		8.5	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22	
HorRat	0.40		0.39	

- a)  $n=18$
- b) Relative standard deviation of repeatability within laboratory
- c) Relative standard deviation of reproducibility between laboratories
- d) Predicted relative standard deviation of reproducibility between laboratories calculated from the modified Horwitz equation

Table 9 Instruments used in the collaborative study

Lab. No.	GC-MS	GC colume
		(i.d.×length, film thickness)
1	GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu	Rtx-5MS, Restek (0.25 mm×30 m, 0.25 μm)
2	FOCUS GC/POLARIS Q, Thermo Electron	DB-5MS + DG, Agilent Technologies (0.25 mm×30 m, 0.25 μm, Duraguard 10 m)
3	GCMS-QP2010, Shimadzu	Rtx-5MS, Restek (0.25 mm×30 m, 0.25 μm)
4	FOCUS GC/POLARIS Q, Thermo Electron	TR-5MS, Thermo Scientific (0.25 mm×30 m, 0.25 μm)
5	GC: 7890A, Agilent Technologies MS: 5975C, Agilent Technologies	Rtx-5MS, Restek (0.25 mm×30 m, 0.25 μm)
6	GC: 6890N, Agilent Technologies MS: 5973N, Agilent Technologies	DB-5MS + DG, Agilent Technologies (0.25 mm×30 m, 0.25 μm, Duraguard 10 m)
7	GC: 6890A, Agilent Technologies MS: 5973, Agilent Technologies	HP-5MS, Agilent Technologies (0.25 mm×30 m, 0.25 μm)
8	GC: 6890A, Agilent Technologies MS: 5973 inertMSD, Agilent Technologies	HP-5MS, Agilent Technologies (0.25 mm×30 m, 0.25 μm)
9	GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu	DB-5MS + DG, Agilent Technologies (0.25 mm×30 m, 0.25 μm, Duraguard 10 m)

#### 4 まとめ

WCS 及び粃米中に残留するクロロタロニルについて、JFRL 法を基に GC-MS を用いた定量法の飼料分析基準への適用の可否について検討したところ、GC-MS 測定時の希釈溶媒をアセトンから PEG を 0.005 v/v% 添加したヘキサンとし、WCS には GPC による精製の後に合成ケイ酸マグネシウムミニカラムによる精製を追加することで、以下の結果が得られ、適用が可能であると考えられた。

- 1) 検量線は 0.002~0.2 μg/mL 相当量（注入量として 0.004~0.4 ng 相当量）の範囲で直線性を示した。なお、当該検量線における各マトリックスの添加回収試験の設定濃度は、0.1 及び 0.005 μg/mL 相当濃度とした。
- 2) 今回、検討に用いた WCS 及び粃米において定量を妨げるピークは認められなかった。
- 3) クロロタロニルとして WCS に原物換算して 0.089 及び 0.0044 mg/kg 相当量並びに粃米に 0.2 及び 0.01 mg/kg 相当量を添加した試料を用い、本法による回収率及び繰返し精度を求めたところ、良好な結果が得られた。
- 4) 本法による定量下限は試料（WCS は風乾物）中で 0.01 mg/kg、検出下限は 0.003 mg/kg であった。
- 5) クロロタロニルとして WCS に原物換算して 0.089 mg/kg 相当量及び粃米に 0.1 mg/kg 相当量を添加した試料を用いて、9 試験室において本法に従い共同試験を実施したところ良好な結果を得た。

## 謝 辞

共同試験に参加していただいた一般財団法人日本食品分析センター 多摩研究所，一般財団法人食品環境検査協会東京事業所，JA東日本くみあい飼料株式会社本社品質安全部における関係者各位に感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 農林水産省畜産局長通知：飼料の有害物質の指導基準の制定について，昭和 63 年 10 月 14 日，63 畜 B 第 2050 号 (1988).
- 2) 厚生省告示：食品，添加物等の基準規格，昭和 34 年 12 月 28 日，告示第 370 号(1959).
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：食品に残留する農薬，飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について，平成 17 年 1 月 24 日，食安発第 0124001 号 (2005).
- 4) 財団法人日本食品分析センター：平成 21 年度飼料中の有害物質等分析法開発事業 (2009).
- 5) 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).
- 6) Horwitz, W., Protocol for Design, Conduct and Interpretation of Method - Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67**(2), 331-343 (1995).
- 7) AOAC Int. (2012) Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures to Validate Characteristics of a Method of Analysis. In *Official Methods of Analysis of AOAC Int.* 19 ed. volume II, Gaithersburg, MD, USA.
- 8) Thompson, M., Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385-386 (2000).