

※本報告書は、試験法開発における検討結果をまとめたものであり、試験法の実施に際して参考として下さい。なお、報告書の内容と通知または告示試験法との間に齟齬がある場合には、通知または告示試験法が優先することをご留意ください。

平成 20 年度

食品に残留する農薬等の成分である物質
(アセタミプリド)の試験法開発業務

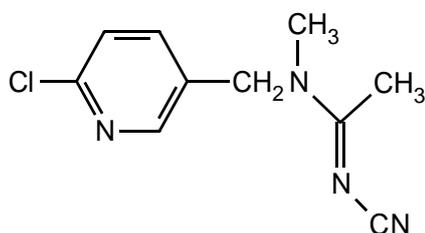
アセタミプリド (acetamiprid) 試験法 (畜水産物) の検討結果

[緒言]

厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第 0810 第 1 号 (平成 22 年 8 月 10 日) により、今回基準値を設定するアセタミプリドとは、畜産物にあつては、アセタミプリド及び代謝物 IM-2-1 (*N*-[(6-クロロ-3-ピリジル)メチル]-*N*²-シアノアセトアミジン) をアセタミプリドに換算した和をいい、その他の食品にあつては、アセタミプリドのみをいうこととされた。そのため、畜水産食品では、畜産物にあつてはアセタミプリド及び代謝物 IM-2-1 が、水産物にあつてはアセタミプリドが分析対象化合物となるが、試験法開発にあつては、水産物においても代謝物 IM-2-1 について検討した。なお、報告書では代謝物 IM-2-1 を脱メチル体と記載した。

1 構造式等

アセタミプリド



化学式: $C_{10}H_{11}ClN_4$

分子量: 222.67

化学名(IUPAC): (*E*)-*N*¹-[(6-chloro-3-pyridyl)methyl]-*N*²-cyano-*N*¹-methylacetamidine

外 観: 無色結晶

融 点: 98.9 °C

蒸気圧: $< 1 \times 10^{-3}$ mPa (25 °C)

溶解性: 水 4250 mg/L (25 °C)

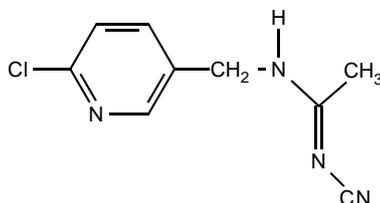
アセトン、メタノール、エタノール、ジクロロメタン、クロロホルム、アセトニトリル、テトラヒドロフランに可溶。

1-オクタノール/水分配係数: $\log P_{OW} = 0.8$ (25 °C)

安定性: pH4、5、7 で安定、pH9 及び 45 °C で徐々に分解。太陽光下で安定。

(出典: The e-Pesticide Manual 14th ed., ver.4.2 より転記)

脱メチル体



別 名: IM-2-1

化学式: $C_9H_9ClN_4$

分子量: 208.65

化学名: *N*¹-[(6-chloro-3-pyridyl)methyl]-*N*²-cyano-acetamidine

(出典: 日曹分析センター提供資料より転記)

2 基準値（案）

畜産物はアセタミプリド及び脱メチル体をアセタミプリドに換算したものの和をいう、その他の食品についてはアセタミプリドのみを対象とする。

食品名	基準値案（ppm）
筋肉（牛、豚、その他の陸棲哺乳類に属する動物）	0.1
脂肪（牛、豚、その他の陸棲哺乳類に属する動物）	0.1
肝臓（牛、豚、その他の陸棲哺乳類に属する動物）	0.2
腎臓（牛、豚、その他の陸棲哺乳類に属する動物）	0.2
食用部分（牛、豚、その他の陸棲哺乳類に属する動物）	0.2
乳	0.1
筋肉（鶏、その他の家きん）	0.01
脂肪（鶏、その他の家きん）	0.01
肝臓（鶏、その他の家きん）	0.05
腎臓（鶏、その他の家きん）	0.05
食用部分（鶏、その他の家きん）	0.05
卵（鶏、その他の家きん）	0.01

3 分析対象成分

アセタミプリド及び脱メチル体

4 試験法の組み立て

アセタミプリドはネオニコチノイド系の殺虫剤で、畜水産物の試験法では GC-MS による農薬等の一斉試験法（畜水産物）「乳、卵、及びはちみつの場合（抽出溶媒；アセトニトリル）」で親化合物のみが測定対象となっており、「筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類の場合（抽出溶媒；アセトン及び *n*-ヘキサン（1：2）混液）」では適用が無かった。また、個別試験法（農産物）^{*1}が設定されている。

今回、畜産物移行性試験において、主要代謝物として脱メチル体がアセタミプリドを上回る濃度で検出されることが確認され、畜水産物の規制対象はアセタミプリド及び代謝物脱メチル体となった。このため、両化合物を対象とする試験法を設定することとなった。

個別試験法（農作物）^{*1}を参考に、抽出溶媒としてアセトンを用い、アセタミプリド及び脱メチル体を同時に分析することを考慮して検討を行った。また、測定機器は定量性に優れた LC-MS 及び LC-MS/MS を選択した。精製については個別試験法（農作物）を参考に、酢酸エチルに転溶、合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィーでの精製を採用し、畜水産物であることを考慮して酢酸エチルに転溶する前に、*n*-ヘキサン洗浄による脱脂操作を追加した。また、作物残留試験分析法^{*2}で用いた逆相系でのグラファイトカーボンクロマトグラフィーでの精製を追加することにより、10 品目について精製効果の高い試験法とすることができた。

*1 個別試験法（農作物）（概要）：アセトン抽出、酢酸エチル転溶、合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー精製、GC-FID 又は NPD 定量。

*2 作物残留試験分析法（概要）：アセトン抽出、グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー精製、HPLC-UV 定量。

5 試験法（案）の分析操作

概要：アセトン抽出、*n*-ヘキサンで洗浄し酢酸エチルに転溶。合成ケイ酸マグネシウムミニカラム及びグラファイトカーボンミニカラムで精製した後、LC-MS 又は LC-MS/MS で定量、確認する。

[実験方法]

1 試料

1) 試料

牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、鶏卵、牛乳、はちみつ（百花蜜）、サケ、うなぎ、しじみ、えび

2) 試料の採取方法

- ① 牛の筋肉は脂肪層を除き、細切均一化した。
- ② 牛の脂肪は筋肉部を除き、細切均一化した。
- ③ 牛の肝臓は、全体を細切均一化した。
- ④ 鶏卵は、殻を除き卵白と卵黄を合わせてよく混合し均一化した。
- ⑤ 牛乳は全体をよく混合して均一化した。
- ⑥ はちみつはよく混合して均一化した。
- ⑦ サケは可食部を細切均一化した。
- ⑧ うなぎは、活鰻を使用し、頭部を除いた可食部（内臓、骨及び皮を含む）を細切均一化した。
- ⑨ しじみは、貝殻を除き細切均一化した。
- ⑩ えびは、全体を細切均一化した。

2 試薬・試液

1) 標準品及び試薬

アセトニトリル、アセトン、酢酸エチル、*n*-ヘキサン、無水硫酸ナトリウム、メタノール（残留農薬試験用）

アセトン、塩化ナトリウム、ギ酸（特級）

ケイソウ土（セライト545、関東化学製）

アセタミプリド標準品（和光純薬工業製、純度 98.4%）

脱メチル体標準品（提供品、純度 99.7%）

グラファイトカーボンミニカラム（ジーエルサイエンス製、InertSep GC、充てん量 250 mg）

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

2) 標準溶液の調製方法

アセタミプリド標準品を25 mg精密に量り、アセトンに溶解した後、50 mLに定容し500 mg/Lの標準原液を調製した。脱メチル体標準品を25 mg精密に量り、アセトニトリルに溶解した後、50 mLに定容し500 mg/Lの標準原液を調製した。アセタミプリド標準原液はアセトンで希釈し、脱メチル体標準原液はアセトニトリルで希釈し、それぞれ40 mg/Lの標準溶液を調製した。両溶液を5:4の割合で混合した後、アセトニトリル及び水（1:4）混液で混合希釈し、アセタミプリドについては0.0005~0.01 mg/L、脱メチル体については0.0004~0.008 mg/Lを含む混合標準溶液を調製した。

3 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC-MS）又は液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

4 測定条件

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒子径 5 μm）、内径 2mm、長さ 150 mm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び 0.01 vol%ギ酸溶液の混液（1:4）から（4:1）までの濃度勾配を 10 分間で行い、（9:1）で 5 分間保持する。

イオン化モード：アセタミプリド ESI (+)、脱メチル体 ESI (+)

主なイオン (m/z) :

1) LC-MS の場合 (定量用)

アセタミプリド 223、脱メチル体 209

2) LC-MS/MS の場合

アセタミプリド：プリカーサーイオン 223、プロダクトイオン 126

プリカーサーイオン 225、プロダクトイオン 128

脱メチル体：プリカーサーイオン 209、プロダクトイオン 126

プリカーサーイオン 211、プロダクトイオン 128

注入量：4 μ L

保持時間：アセタミプリド 7.7 分 (LC-MS)、6.0 分 (LC-MS/MS)

脱メチル体 6.9 分 (LC-MS)、5.2 分 (LC-MS/MS)

5 検量線の作成

アセタミプリド標準品及び脱メチル体標準品について、アセタミプリドはアセトン溶液を、脱メチル体はアセトニトリル溶液を調製する。両溶液を 5 : 4 の割合で混合した後、アセタミプリドについては 0.0005~0.01 mg/L、脱メチル体については 0.0004~0.008 mg/L を含むアセトニトリル及び水 (1 : 4) 混液の混合標準溶液を数点調製する。それぞれ 4 μ L を LC-MS 又は LC-MS/MS に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6 定量

試験溶液 4 μ L を LC-MS 又は LC-MS/MS に注入し、5 の検量線でアセタミプリド及び脱メチル体の含量を求める。なお、次に示す換算係数を乗じ脱メチル体をアセタミプリドに換算する。

換算係数 = アセタミプリド分子量 / 脱メチル体分子量 = 222.67 / 208.65 = 1.067

7 試験溶液の調製法

1) 分析法フローシート

秤 取

↓ 試料 10.0 g (脂肪は 5.00 g)

アセトン抽出

①筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類の場合

| アセトン 100 mL を加え、ホモジナイズ、抽出後・ろ過
| 残留物をアセトン 50 mL で同様に抽出・ろ過
↓ ろ液を合わせ、約 20 mL まで減圧濃縮 (40°C以下)

②乳、卵及びはちみつの場合

| アセトン 100 mL (はちみつの場合は水 20 mL 加えて溶解後) を加え
| ホモジナイズ、抽出・遠心分離 (3000 r/min、5 分間)
| 残留物にアセトン 50 mL (はちみつ：水 20 mL 及びアセトン 50 mL) を加え
| ホモジナイズ、抽出・遠心分離 (3000 r/min、5 分間)
↓ アセトン層を合わせ、約 20 mL (はちみつ：約 50 mL) まで減圧濃縮 (40°C以下)

n-ヘキサン洗浄、酢酸エチル転溶

| 10%塩化ナトリウム溶液 100 mL、*n*-ヘキサン 50 mL を加え、5 分間振とう
| 水層分取
| 水層に酢酸エチル 100 mL を加え、5 分間振とう、酢酸エチル層分取
| 水層に酢酸エチル 50 mL を加え、5 分間振とう、酢酸エチル層分取
| 酢酸エチル層を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過、酢酸エチル層分取
| 酢酸エチルで正確に 200 mL とする
| 4 mL (脂肪は 8 mL) 分取、減圧濃縮 (40°C以下)、窒素乾固
↓ アセトン及び *n*-ヘキサン (3 : 17) 混液 5 mL に溶解

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム精製 (Sep-Pak Plus Florisil (910 mg))

| ミニカラム (アセトン及び *n*-ヘキサン各 5 mL で洗浄済) に注入
| アセトン及び *n*-ヘキサン (3 : 17) 混液 5 mL で 3 回洗浄
| アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 10 mL で洗浄
| アセトン及び *n*-ヘキサン (2 : 3) 混液 20 mL で溶出
| 減圧濃縮 (40°C以下)、窒素乾固
↓ 水及びメタノール (2 : 3) 混液 5 mL に溶解

グラファイトカーボンミニカラム精製 (InertSep GC (250 mg))

| ミニカラム (メタノール、水各 5 mL で洗浄済) に注入
| 水及びメタノール (2 : 3) 混液 5 mL で洗浄
↓ メタノール 10 mL で溶出、減圧濃縮 (40°C以下)、窒素乾固

LC-MS 又は LC-MS/MS 定量

アセトニトリル及び水 (1 : 4) 混液で正確に 4 mL とし、試験溶液とする

2) 定量限界

[残留基準値 (案) 0.01~0.2 ppm]

アセタミプリド 0.01 mg/kg [(4 mL/0.2 g) × (0.002 ng/4 μL)]

脱メチル体 0.008 mg/kg [(4 mL/0.2 g) × (0.0016 ng/4 μL)]

8 マトリックス添加標準溶液の調製法

7で調製した無添加試料の試験溶液 1 mL を試験管にとり、窒素を吹き付けて溶媒を除去した後、残留物にアセタミプリド 0.005 mg/L、脱メチル体 0.004 mg/L を含む標準溶液を 1 mL 加えて溶解し、マトリックス添加標準溶液（アセタミプリド 0.005 mg/L、脱メチル体 0.004 mg/L 相当）とする。

[検討、結果及び考察]

1 測定条件の検討

1) 測定液体クロマトグラフ・質量分析計 (LC-MS)

① MS スペクトル (図 1、6)

アセタミプリドは ESI (+) で $m/z=223$ 、脱メチル体は ESI (+) で $m/z=209$ が基準ピークとして検出された。

② 測定条件

機種：Agilent1100 シリーズ LC/MSD SL (Agilent Technologies 製)

検出器：質量分析計

カラム：YMC-Pack Pro C18 RS (ワイエムシィ製、シリカ ODS)

内径 2 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μ m

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び 0.01 vol%ギ酸溶液の混液 (1 : 4) から (4 : 1) までの濃度勾配を 10 分間で行い、(9 : 1) で 5 分間保持する。

移動相流量：0.2 mL/分

イオン化モード：ESI (+)

ドラインガス：窒素 (10 L/分、350°C)

ネブライザーガス：窒素 (30 psig)

フラグメンター電圧：120 V

キャピラリー電圧：3,500 V

主なイオン (m/z)：アセタミプリド 223、脱メチル体 209

注入量：4 μ L

保持時間：アセタミプリド 7.7 分、脱メチル体 6.9 分

③ 検量線の直線性

以下の 5 段階濃度に調製した標準溶液を注入し、作成した検量線を図 2、7 に示した。この濃度範囲で良好な直線性を確認した。

アセタミプリド 0.00025 mg/L (0.001 ng) ~ 0.01 mg/L (0.04 ng)

脱メチル体 0.0002 mg/L (0.0008 ng) ~ 0.008 mg/L (0.032 ng)

④ 検出感度

LC-MS の検出感度から定量限界相当の検出量をアセタミプリド 0.002 ng、脱メチル体 0.0016 ng に設定した。そのクロマトグラムを図 3、8 に示した。

定量限界相当の検出量：アセタミプリド 0.002 ng (0.0005 mg/L \times 4 μ L)

脱メチル体 0.0016 ng (0.0004 mg/L \times 4 μ L)

⑤ 定量限界

アセタミプリド標準品 0.002 ng、脱メチル体標準品 0.0016 ng のクロマトグラム及び無添加試料の各クロマトグラム (図 3~5、8~10) から判断し、定量限界相当量に試料の濃縮率を乗じた定量限界はアセタミプリド 0.01 mg/kg、脱メチル体 0.008 mg/kg であった。

アセタミプリド 0.01 mg/kg [(4 mL/0.2 g) \times (0.002 ng/4 μ L)]

脱メチル体 0.008 mg/kg [(4 mL/0.2 g) \times (0.0016 ng/4 μ L)]

2) 液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計 (LC-MS/MS)

① MS 及び MS/MS スペクトル (図 11、16、21、26)

アセタミプリドは ESI (+) でプリカーサーイオン $m/z=223$ からプロダクトイオン

$m/z=126$ (定量用) が、プリカーサーイオン $m/z=225$ からプロダクトイオン $m/z=128$ (確認用) が基準ピークとして検出された。

脱メチル体は ESI (+) でプリカーサーイオン $m/z=209$ からプロダクトイオン $m/z=126$ (定量用) が、プリカーサーイオン $m/z=211$ からプロダクトイオン $m/z=128$ (確認用) が基準ピークとして検出された。

② 測定条件

機種：LC-20AD シリーズ (島津製作所製) + API 4000 (Applied Biosystems 製)

検出器：タンデム型質量分析計

カラム：YMC-Pack Pro C18 RS (ワイエムシィ製、シリカ ODS)

内径 2 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μ m

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び 0.01 vol% ギ酸溶液の混液 (1 : 4) から (4 : 1) までの濃度

勾配を 10 分間で行い、(9 : 1) で 5 分間保持*する。

移動相流量：0.2 mL/分

イオン化モード：ESI (+)

イオン化温度：400°C

イオンスプレー電圧：5,500 V

主なイオン (m/z):

アセタミプリド；プリカーサーイオン 223、プロダクトイオン 126

プリカーサーイオン 225、プロダクトイオン 128

脱メチル体；プリカーサーイオン 209、プロダクトイオン 126

プリカーサーイオン 211、プロダクトイオン 128

注入量：4 μ L

保持時間：アセタミプリド 6.0 分、脱メチル体 5.2 分

* 夾雑成分をカラムから溶出させるため

③ 検量線の直線性

以下の 5 段階濃度に調製した標準溶液を注入し、作成した検量線を図 12、17、22、27 に示した。この濃度範囲で良好な直線性を確認した。

アセタミプリド 0.00025 mg/L (0.001 ng) ~ 0.01 mg/L (0.04 ng)

脱メチル体 0.0002 mg/L (0.0008 ng) ~ 0.008 mg/L (0.032 ng)

④ 検出感度

LC-MS/MS の検出感度から定量限界相当の検出量をアセタミプリド 0.002 ng、脱メチル体 0.0016 ng に設定した。そのクロマトグラムを図 13、18、23、28 に示した。

定量限界相当の検出量：アセタミプリド 0.002 ng (0.0005 mg/L \times 4 μ L)

脱メチル体 0.0016 ng (0.0004 mg/L \times 4 μ L)

⑤ 定量限界

アセタミプリド標準品 0.002 ng、脱メチル体標準品 0.0016 ng のクロマトグラム及び無添加試料の各クロマトグラム (図 13~15、18~20、23~25、28~30) から判断し、定量限界相当量に試料の濃縮率を乗じた定量限界はアセタミプリド 0.01 mg/kg、脱メチル体 0.008 mg/kg であった。

アセタミプリド 0.01 mg/kg [(4 mL/0.2 g) \times (0.002 ng/4 μ L)]

脱メチル体 0.008 mg/kg [(4 mL/0.2 g) \times (0.0016 ng/4 μ L)]

2 試験溶液調製法の検討

1) 抽出方法の検討

アセタミプリド及び脱メチル体が対象であることと、畜水産物試料との混和性を考慮し、また個別試験法 (農作物) を参考に、抽出溶媒にはアセトンを採用した。

乳試料のアセトン抽出液では、時間経過とともに浮遊物が生じた。このため、抽出液で

の定容分取の操作はせず、液々分配後に行うこととした。なお、抽出液を減圧濃縮する際、突沸が起こる場合があり、注意が必要である。

2) *n*-ヘキサン、酢酸エチルへの転溶率について

水層（10%塩化ナトリウム溶液100 mL+アセトン10 mL+水10 mL）から、*n*-ヘキサン及び酢酸エチルへの転溶率をTable 1に示した。

Table 1 *n*-ヘキサン及び酢酸エチルへの転溶率（%）

転溶溶媒	<i>n</i> -ヘキサン		酢酸エチル		合計
	50 mL	1回目100 mL	2回目50 mL	3回目50 mL	
アセタミプリド	0	82	7	0	89
脱メチル体	0	90	10	0	100

アセタミプリド添加量：0.02 μg、脱メチル体添加量：0.02 μg

3) 精製方法の検討

① 合成ケイ酸マグネシウムミニカラムからの溶出状況

合成ケイ酸マグネシウムミニカラムからの溶出状況を Table 2 に示した。なお、肝臓及びしじみ以外の試料についてはアセトン及び *n*-ヘキサン（1：4）10 mL による洗浄が省略可能であった。

Table 2 合成ケイ酸マグネシウムミニカラムからの溶出状況（%）

溶出溶媒	アセトン及び <i>n</i> -ヘキサン				合計
	(3：17)		(1：4)		
	20 mL	10 mL	0-20 mL	20-30 mL	
アセタミプリド	0	0	94	1	95
脱メチル体	0	0	91	1	92

Sep-Pak Plus Florisil（910 mg）使用

アセトン及び *n*-ヘキサン各 5 mL で予備洗浄

アセタミプリド添加量：0.02 μg、脱メチル体添加量：0.02 μg

② グラファイトカーボンミニカラムからの溶出状況

肝臓では脱メチル体で、しじみではアセタミプリドでクロマトグラム上に妨害ピークがみられたためグラファイトカーボンミニカラムによる精製を追加した。肝臓及びしじみ以外の試料についてはグラファイトカーボンミニカラムによる精製を省略することが可能であった。グラファイトカーボンミニカラムからの溶出状況を Table 3 に示した。

Table 3 グラファイトカーボンミニカラムからの溶出状況（%）

溶出溶媒	水及びメタノール		メタノール		合計
	(2：3)	10 mL	0-10 mL	10-20 mL	
アセタミプリド	0	0	95	0	95
脱メチル体	0	0	96	0	96

Inertsep GC（250 mg）使用

メタノール及び水各 5 mL で予備洗浄

アセタミプリド添加量：0.04 μg、脱メチル体添加量：0.04 μg

3 添加回収試験

1) 結果

① LC-MS による添加回収試験結果

アセタミプリド及び脱メチル体の回収試験の結果を Table 4、5 に、クロマトグラムを図 4～5、9～10 に示した。アセタミプリド及び脱メチル体の 10 品目における回収試験の結果は良好であった。

Table 4 アセタミプリド添加回収結果

試料	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)
牛の筋肉	0.1	76、86、94、79、83	84	8.3
牛の脂肪	0.1	89、82、88、91、94	89	5.0
牛の肝臓	0.2	83、87、77、77、84	82	5.4
鶏卵	0.01	77、75、79、76、74	76	2.5
牛乳	0.1	92、84、74、80、83	83	7.9
はちみつ	0.01	84、72、76、88、75	79	8.5
サケ	0.01	75、77、79、83、90	81	7.3
うなぎ	0.01	89、92、90、83、87	88	3.9
しじみ	0.01	78、77、87、87、83	82	5.8
えび	0.01	88、83、73、73、89	81	9.7

Table 5 脱メチル体添加回収結果

試料	添加濃度* (ppm)	回収率 (%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)
牛の筋肉	0.08 (0.0854)	77、85、94、79、85	84	7.9
牛の脂肪	0.08 (0.0854)	90、81、86、93、94	89	6.0
牛の肝臓	0.16 (0.170)	81、88、76、78、90	83	7.4
鶏卵	0.008 (0.00854)	80、85、82、81、80	82	2.5
牛乳	0.08 (0.0854)	94、85、77、80、90	85	8.2
はちみつ	0.008 (0.00854)	83、76、85、94、73	82	10.0
サケ	0.008 (0.00854)	77、76、78、86、90	81	7.7
うなぎ	0.008 (0.00854)	90、93、94、90、91	92	2.0
しじみ	0.008 (0.00854)	87、87、88、98、89	90	5.2
えび	0.008 (0.00854)	84、79、77、72、94	81	10.3

*添加濃度下段 () の数字はアセタミプリド換算濃度

②LC-MS/MS による添加回収試験結果

アセタミプリド及び脱メチル体の回収試験の結果を Table 6~7、8~9 に、クロマトグラムを図 14~15、19~20、24~25、29~30 に示した。アセタミプリド及び脱メチル体の 10 品目における回収試験の結果は良好であった。

Table 6 アセタミプリド添加回収結果 測定イオン 223/126

試料	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)
牛の筋肉	0.1	79、87、90、80、84	84	5.5
牛の脂肪	0.1	88、81、84、87、90	86	4.1
牛の肝臓	0.2	83、88、81、78、84	83	4.5
鶏卵	0.01	84、85、82、81、83	83	1.9
牛乳	0.1	95、94、78、79、92	88	9.5
はちみつ	0.01	89、71、83、76、92	82	10.7
サケ	0.01	77、74、77、82、92	80	8.9
うなぎ	0.01	90、88、97、86、88	90	4.7
しじみ	0.01	85、81、86、89、85	85	3.4
えび	0.01	91、82、72、74、88	81	10.3

Table 7 アセタミプリド添加回収結果 測定イオン 225/128

試料	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)
牛の筋肉	0.1	78、88、94、80、85	85	7.5
牛の脂肪	0.1	87、80、84、89、91	86	5.0
牛の肝臓	0.2	85、89、82、78、88	84	5.4
鶏卵	0.01	83、81、82、77、78	80	3.2
牛乳	0.1	98、93、81、83、95	90	8.4
はちみつ	0.01	86、78、85、82、92	85	6.1
サケ	0.01	74、77、72、89、87	80	9.7
うなぎ	0.01	92、82、96、83、91	89	6.8
しじみ	0.01	80、78、90、93、82	85	7.7
えび	0.01	85、84、76、78、89	82	6.5

Table 8 脱メチル体添加回収結果 測定イオン 209/126

試料	添加濃度* (ppm)	回収率 (%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)
牛の筋肉	0.08 (0.0854)	79、85、93、81、89	85	6.7
牛の脂肪	0.08 (0.0854)	88、82、86、93、90	88	4.7
牛の肝臓	0.16 (0.170)	82、89、78、77、93	84	8.3
鶏卵	0.008 (0.00854)	82、85、79、78、85	82	4.0
牛乳	0.08 (0.0854)	95、89、80、84、97	89	8.1
はちみつ	0.008 (0.00854)	83、75、86、77、92	83	8.3
サケ	0.008 (0.00854)	78、78、78、90、92	83	8.6
うなぎ	0.008 (0.00854)	97、97、94、90、93	94	3.1
しじみ	0.008 (0.00854)	86、86、95、94、87	90	5.0
えび	0.008 (0.00854)	94、81、73、82、92	84	10.3

*添加濃度下段 () の数字はアセタミプリド換算濃度

Table 9 脱メチル体添加回収結果 測定イオン 211/128

試料	添加濃度* (ppm)	回収率 (%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)
牛の筋肉	0.08 (0.0854)	79、88、94、83、89	87	6.6
牛の脂肪	0.08 (0.0854)	90、82、85、94、93	89	5.8
牛の肝臓	0.16 (0.170)	84、91、80、80、95	86	7.8
鶏卵	0.008 (0.00854)	90、87、89、80、89	87	4.7
牛乳	0.08 (0.0854)	94、89、82、86、100	90	7.8
はちみつ	0.008 (0.00854)	90、86、83、82、92	87	5.0
サケ	0.008 (0.00854)	74、81、89、87、94	85	9.1
うなぎ	0.008 (0.00854)	87、92、90、90、97	91	4.1
しじみ	0.008 (0.00854)	90、83、92、92、91	90	4.2
えび	0.008 (0.00854)	91、80、83、80、94	86	7.6

*添加濃度下段 () の数字はアセタミプリド換算濃度

2) 無添加試料の妨害状況

10 品目の無添加試料では、LC-MS 及び LC-MS/MS の測定において妨害ピークは認められなかった。LC-MS のクロマトグラムを図 4~5、9~10 に、LC-MS/MS のクロマトグラムを図 14~15、19~20、24~25、29~30 に示した。

4 マトリックスによる測定値への影響

試料由来の夾雑物によるイオン化抑制等の影響を把握するために、[実験方法] 8 に示した方法でマトリックス添加標準溶液（アセタミプリド 0.1 ppm 相当、脱メチル体 0.08 ppm 相当）を調製し、各測定条件で標準溶液と比較した。結果を Table10 に示した。10 品目について、マトリックスによる影響はほとんど認められなかった。

Table 10 アセタミプリドのマトリックスによる測定値への影響

試料	LC-MS	LC-MS/MS(223/126)	LC-MS/MS(225/128)
牛の筋肉	102	105	99
牛の脂肪	103	105	100
牛の肝臓	102	106	105
鶏卵	102	107	102
牛乳	103	105	103
はちみつ	102	107	112
サケ	103	103	103
うなぎ	101	102	100
しじみ	101	98	99
えび	100	104	104

数値：(マトリックス添加標準溶液のレスポンス/標準溶液のレスポンス) ×100
なお、レスポンスには、LC-MS はピーク高さ、LC-MS/MS はピーク面積を用いた。

Table 11 脱メチル体のマトリックスによる測定値への影響

試料	LC-MS	LC-MS/MS(209/126)	LC-MS/MS(211/128)
牛の筋肉	103	107	105
牛の脂肪	103	102	103
牛の肝臓	103	104	110
鶏卵	104	107	105
牛乳	104	108	113
はちみつ	101	105	106
サケ	103	108	109
うなぎ	101	106	102
しじみ	102	106	104
えび	101	103	101

数値：(マトリックス添加標準溶液のレスポンス/標準溶液のレスポンス) ×100

5 考察

本試験法は、残留基準値の設定が予定されている食品（牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳、鶏卵）及び、一律基準の対象となる食品（サケ、うなぎ、しじみ、はちみつ及びえび）の 10 品目の試料に適用可能であることが確認された。肝臓としじみ以外の試料は、グラファイトカーボンミニカラム精製を省略しても測定可能であった。

[結論]

アセタミプリド及び脱メチル体について個別試験法を検討した。アセトンで抽出し、*n*-ヘキサンで脱脂した後、酢酸エチルに転溶する。次いで合成ケイ酸マグネシウムミニカラム及びグラファイトカーボンミニカラムで精製した後、LC-MS 又は LC-MS/MS で定量、確認する方法を提案する。

この試験法を牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、鶏卵、牛乳、はちみつ、サケ、うなぎ、しじみ及びえびの 10 品目の試料に適用した場合、真度はアセタミプリドで 76~90%、脱メチル体で 81~94%、併行精度はアセタミプリドで 1.9~10.7 %、脱メチル体で 2.5~10.3 %であり、定量限界はアセタミプリド 0.01 mg/kg、脱メチル体は 0.008 mg/kg（アセタミプリドとして 0.009 mg/kg）が可能であることが確認された。

[参考文献]

なし

図 1. アセタミプリドのLC-MSスペクトル

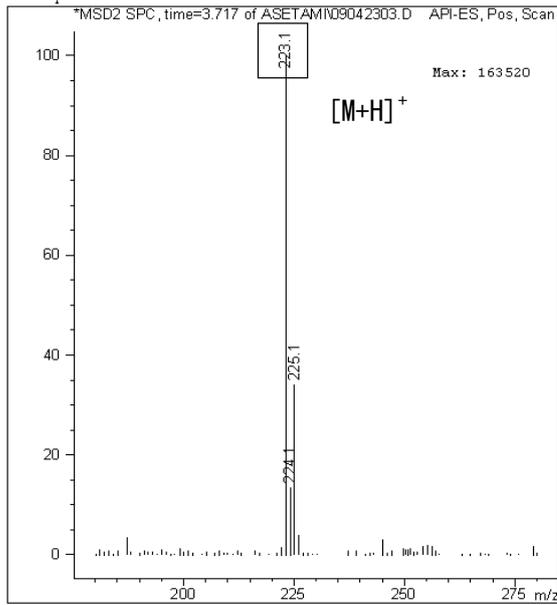
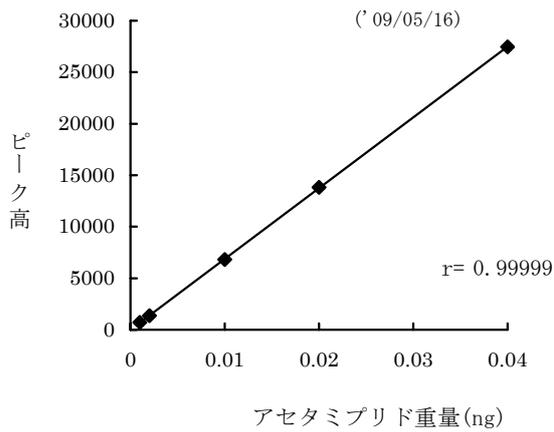


図 2. アセタミプリド検量線の一部

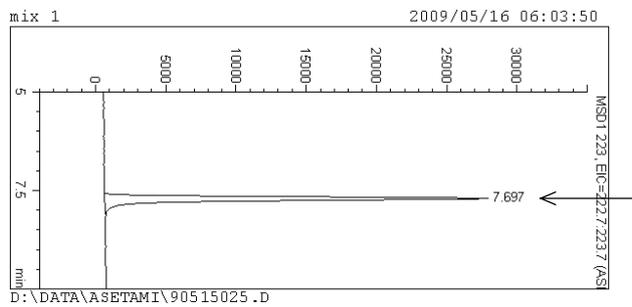


データ処理装置設定条件の一例

機種 (メーカー)	キヤメーション (Agilent Technologies製)
ピークの定量方法	ピーク高法
検量線の種類	最小二乗法
検量線基準ピークの重量	0.001 ng ~ 0.04 ng
検量線傾き (a)	a = 6.86996E+05
検量線切片 (b)	b = 8.86182

図 3. アセタミプリド標準溶液のLC-MSクロマトグラム (一例)

標準品 0.04 ng



標準品 0.002 ng (定量限界相当量)

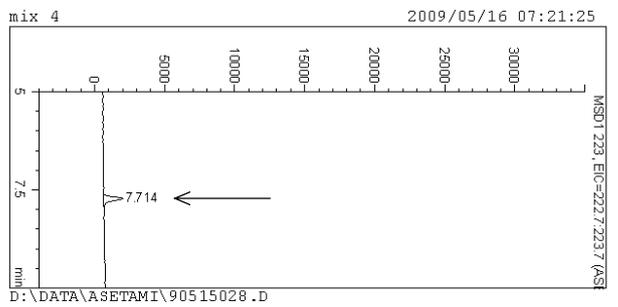
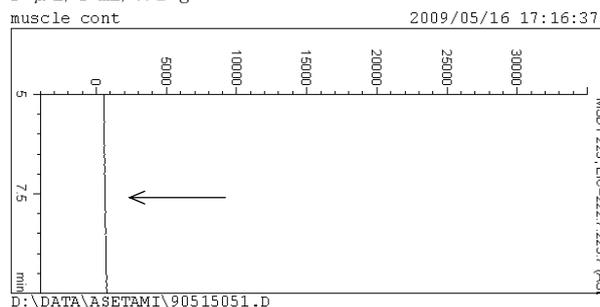
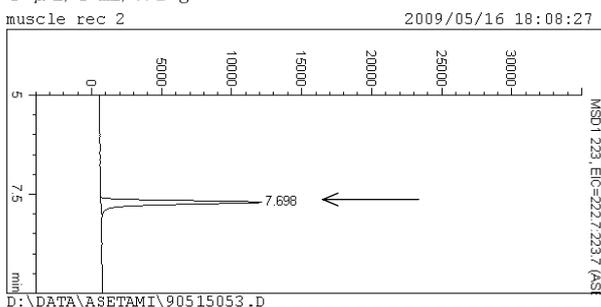


図 4. 試料のアセタミプリドLC-MSクロマトグラム

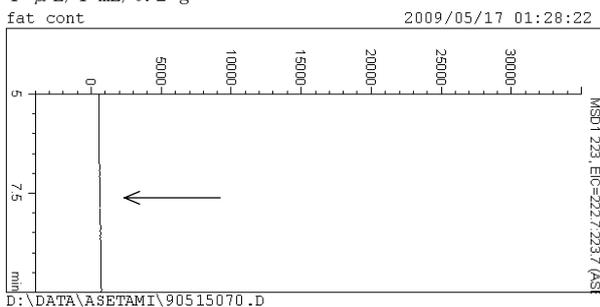
牛の筋肉 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



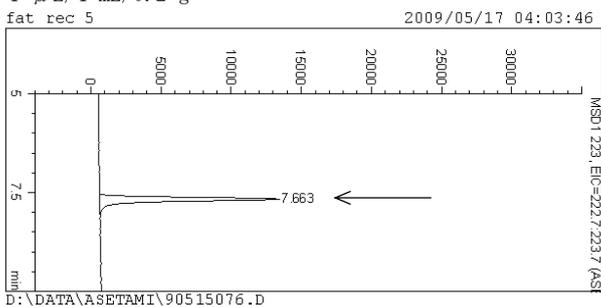
牛の筋肉 0.1 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



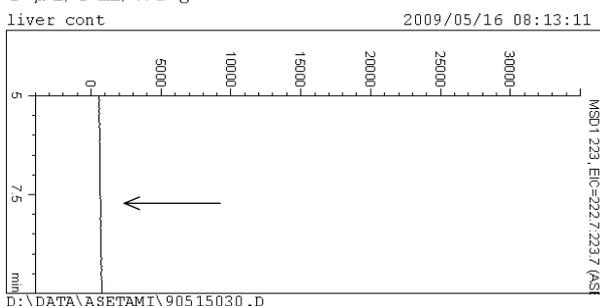
牛の脂肪 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



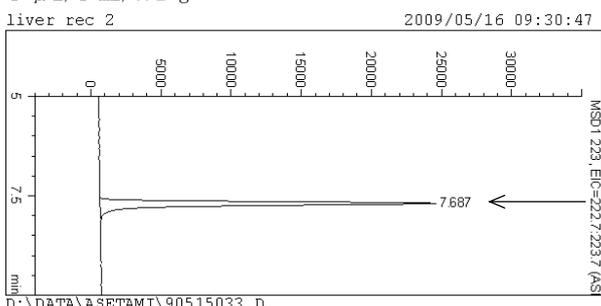
牛の脂肪 0.1 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



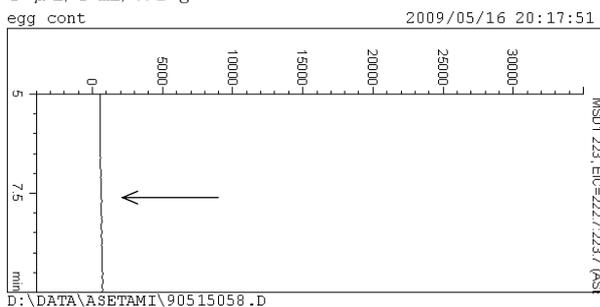
牛の肝臓 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



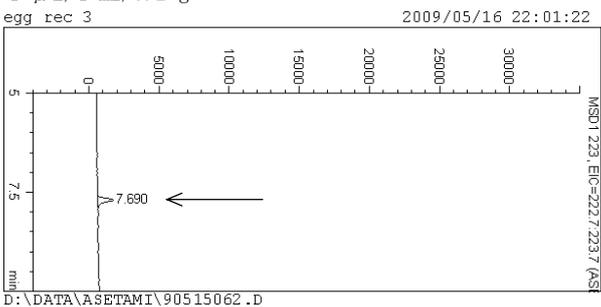
牛の肝臓 0.2 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



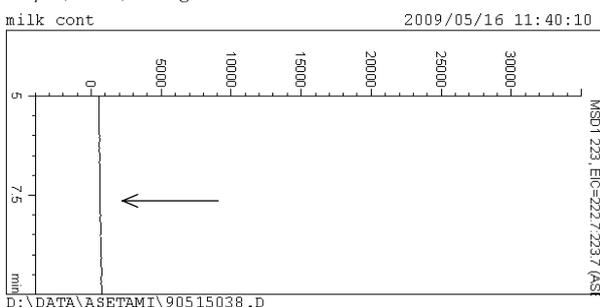
鶏卵 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



鶏卵 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



牛乳 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



牛乳 0.1 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

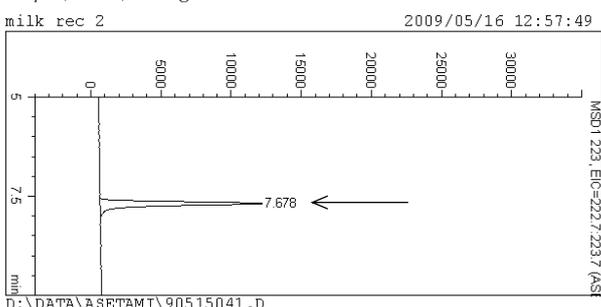
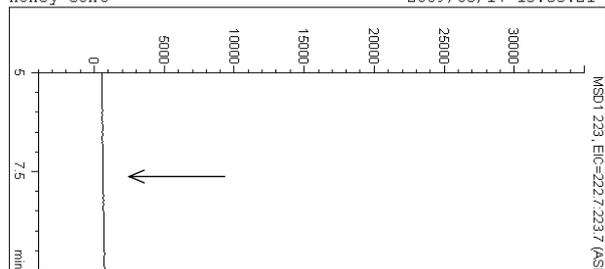


図 5. 試料のアセタミプリドLC-MSクロマトグラム

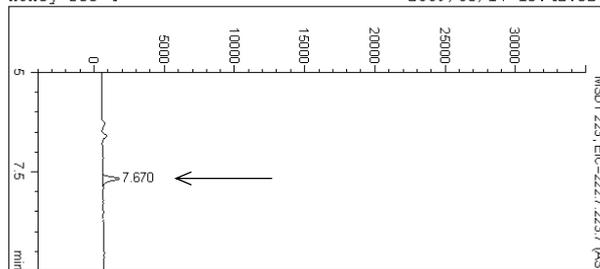
はちみつ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

honey cont 2009/05/17 13:33:21



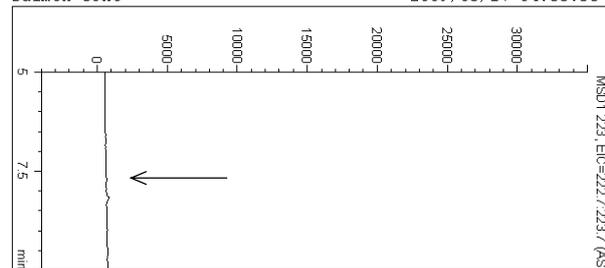
はちみつ 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

honey rec 4 2009/05/17 15:42:52



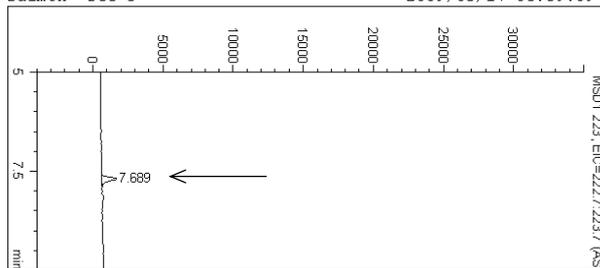
サケ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

salmon cont 2009/05/17 04:55:36



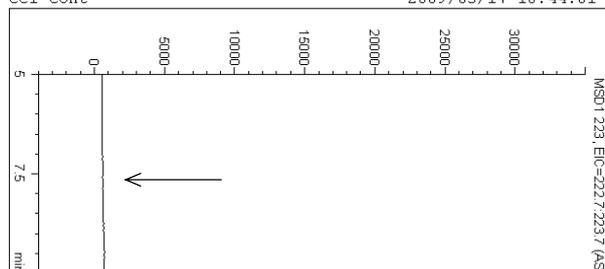
サケ 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

salmon rec 3 2009/05/17 06:39:09



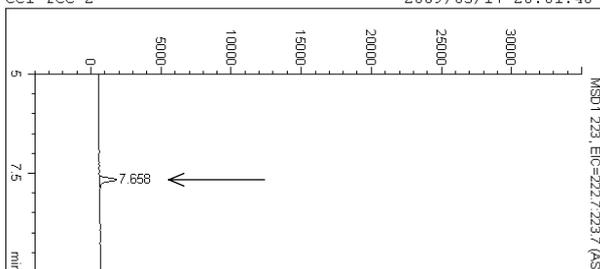
うなぎ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

eel cont 2009/05/17 18:44:01



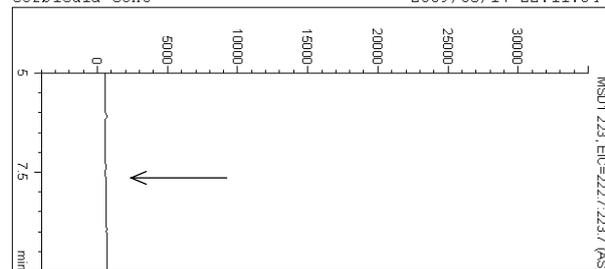
うなぎ 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

eel rec 2 2009/05/17 20:01:40



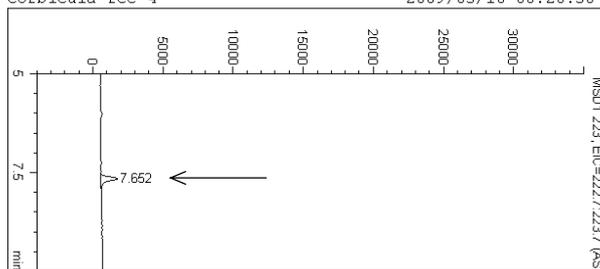
しじみ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

corbicula cont 2009/05/17 22:11:04



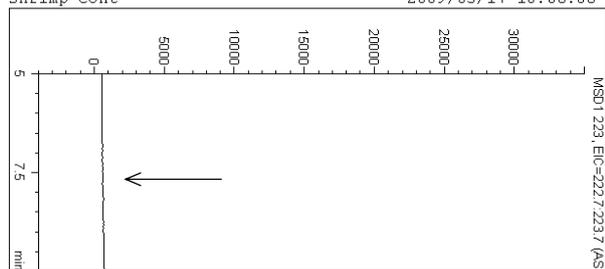
しじみ 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

corbicula rec 4 2009/05/18 00:20:30



えび 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

shrimp cont 2009/05/17 10:06:06



えび 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

shrimp rec 2 2009/05/17 11:23:45

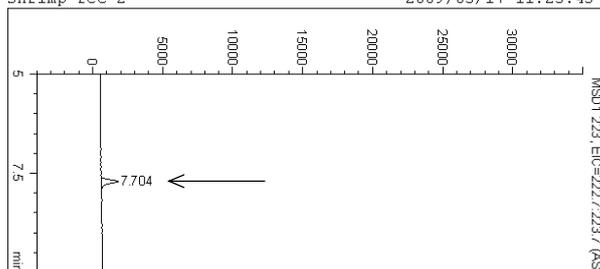


図 6. 脱メチル体のMSスペクトル

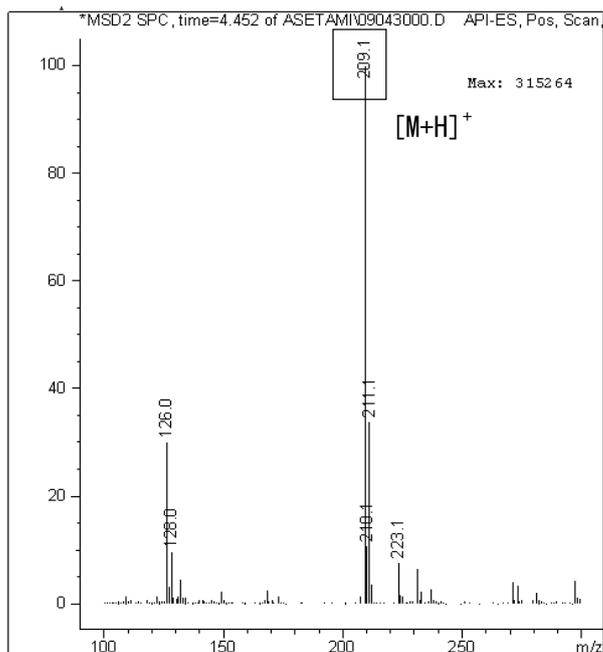
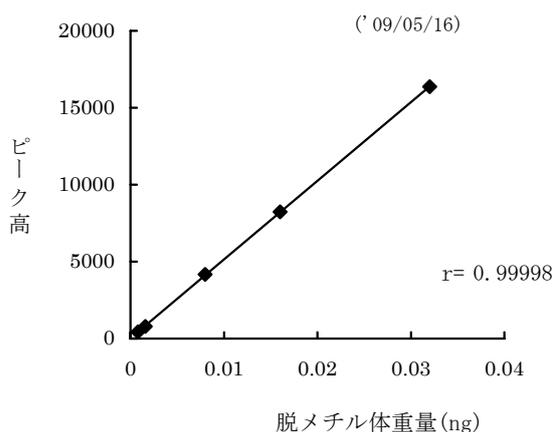


図 7. 脱メチル体検量線の一例

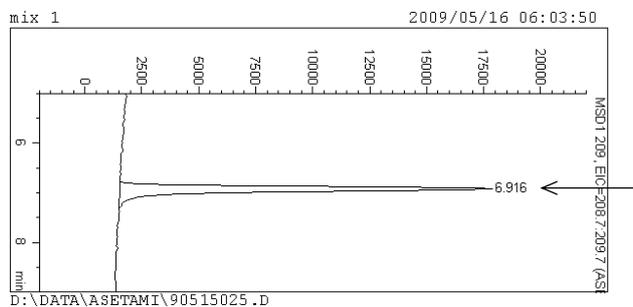


データ処理装置設定条件の一例

機種 (メーカー)	キヤノン (Agilent Technologies製)
ピークの定量方法	ピーク高法
検量線の種類	最小二乗法
検量線基準ピークの重量	0.0008 ng ~ 0.032 ng
検量線傾き (a)	$a = 5.11387E+05$
検量線切片 (b)	$b = 27.20400$

図 8. 脱メチル体標準溶液のLC-MSクロマトグラム (一例)

標準品 0.032 ng



標準品 0.0016 ng (定量限界相当量)

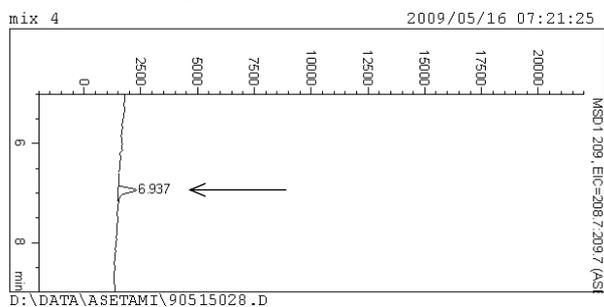
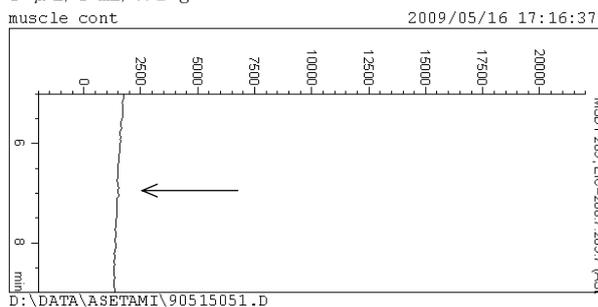
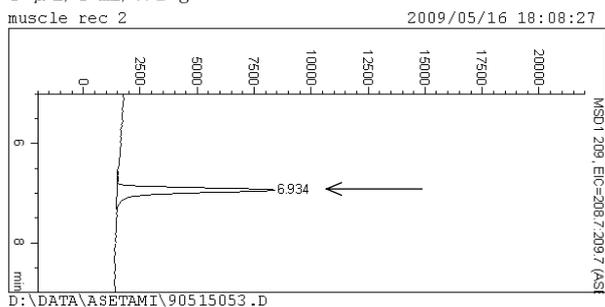


図 9. 試料の脱メチル体LC-MSクロマトグラム

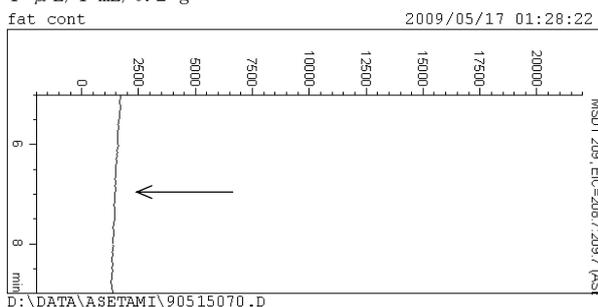
牛の筋肉 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



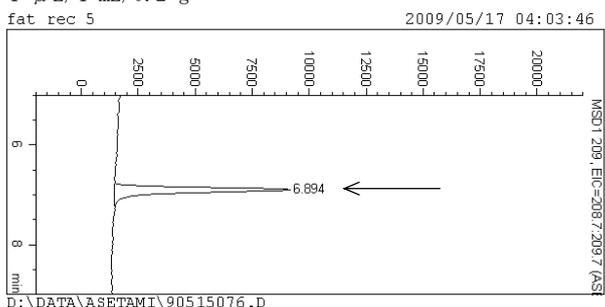
牛の筋肉 0.08 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



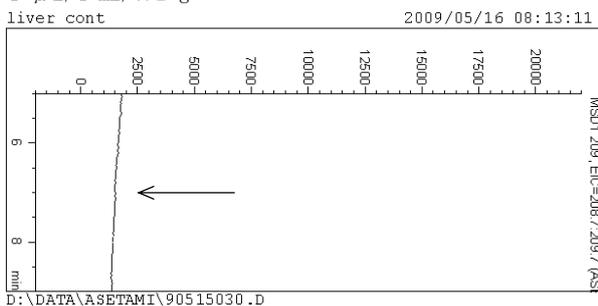
牛の脂肪 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



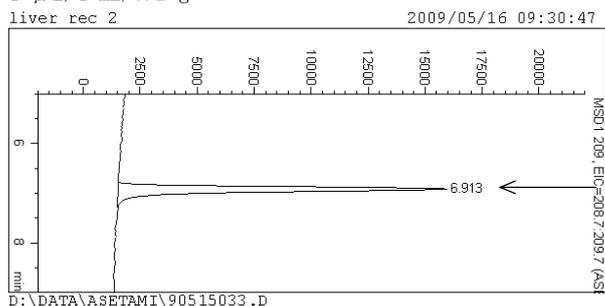
牛の脂肪 0.08 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



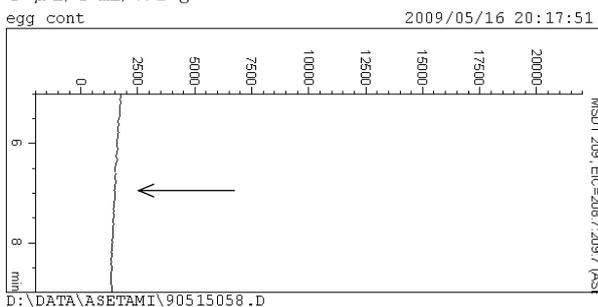
牛の肝臓 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



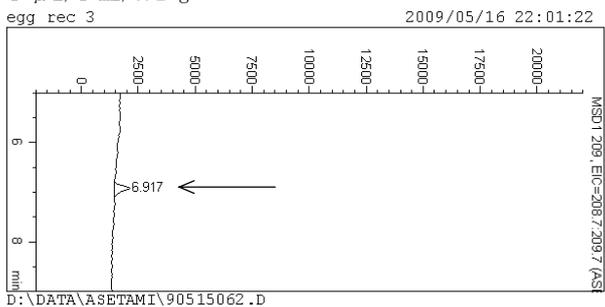
牛の肝臓 0.16 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



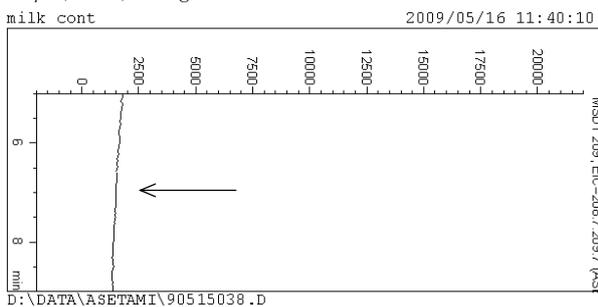
鶏卵 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



鶏卵 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



牛乳 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



牛乳 0.08 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

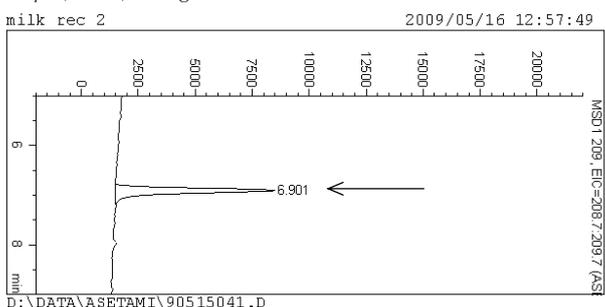
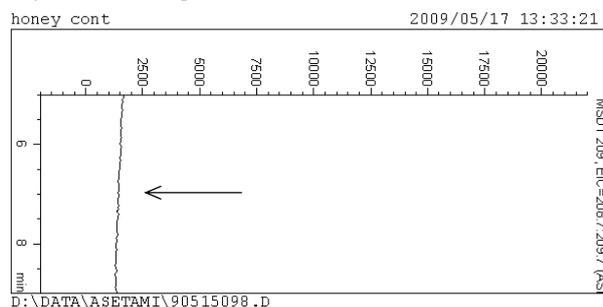
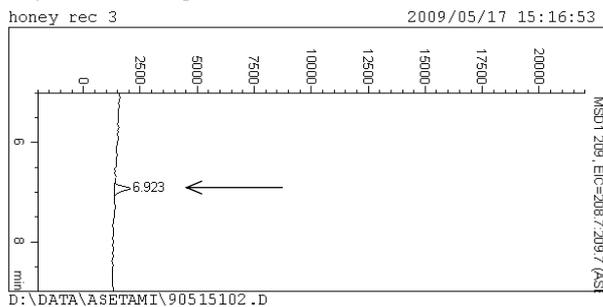


図 10. 試料の脱メチル体LC-MSクロマトグラム

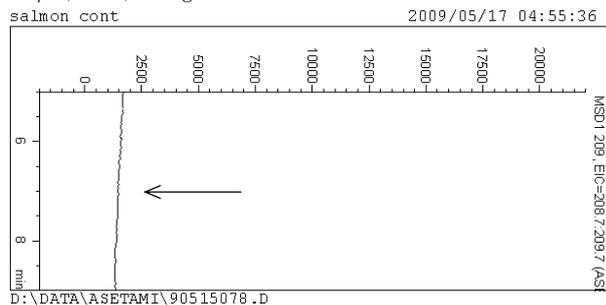
はちみつ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



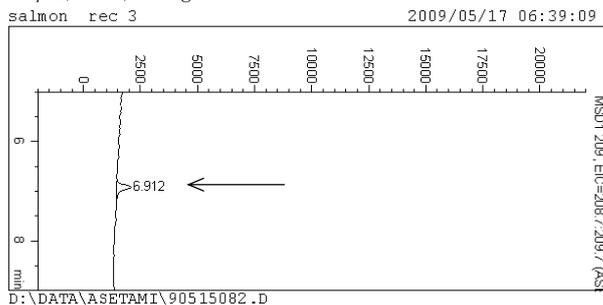
はちみつ 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



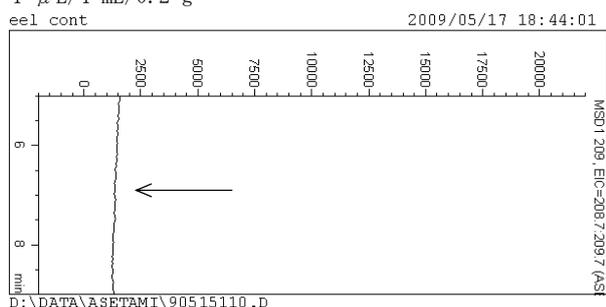
サケ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



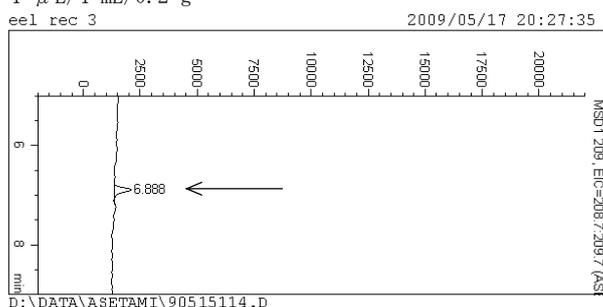
サケ 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



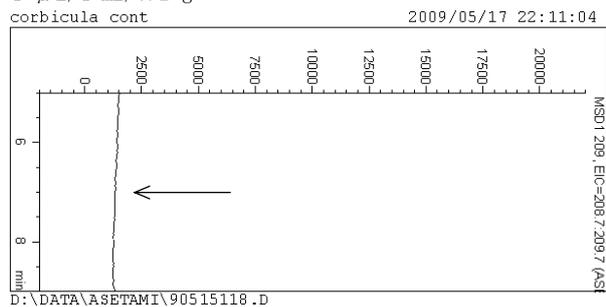
うなぎ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



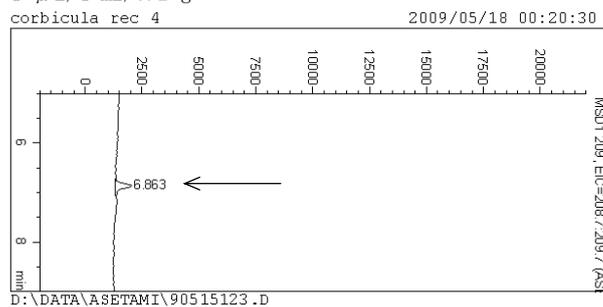
うなぎ 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



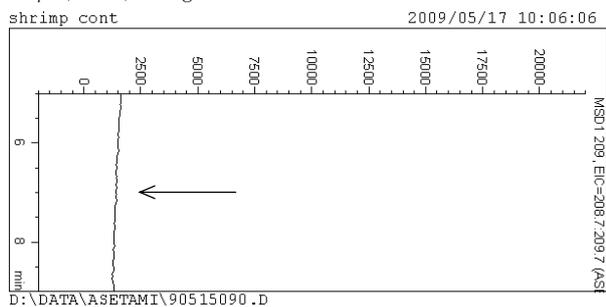
しじみ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



しじみ 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



えび 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



えび 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

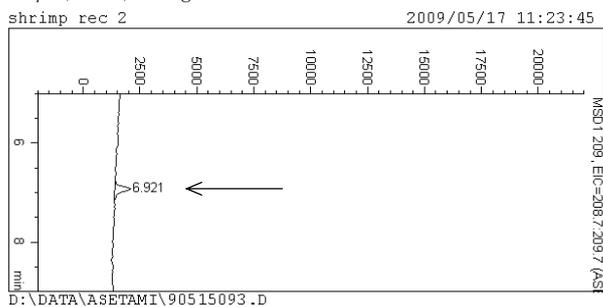
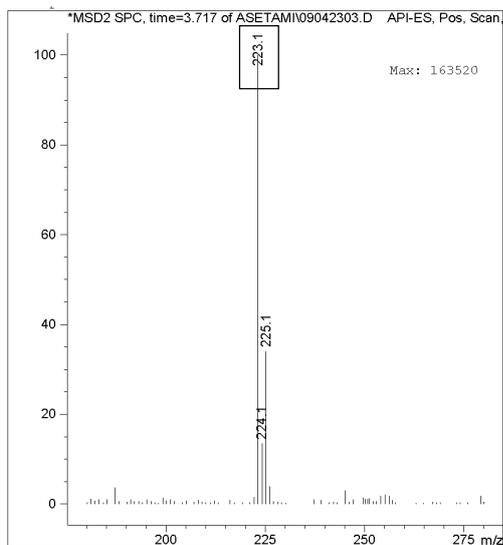


図 11. アセタミプリドのLC-MS及びMS/MSスペクトル

1) MSスペクトル: ESI (+)



2) 分子イオン (m/z : 223) 由来のMS/MSスペクトル

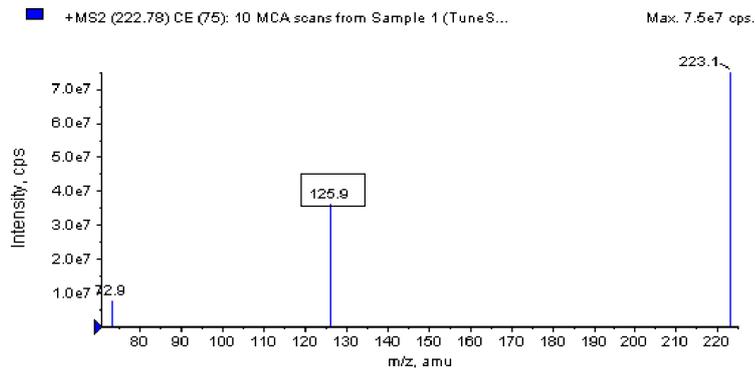
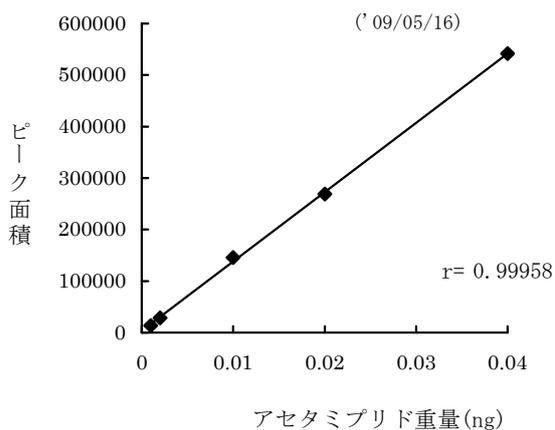


図 12. アセタミプリド検量線の一例 (m/z : 126)

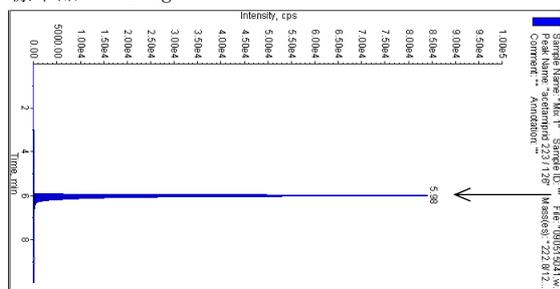


データ処理装置設定条件の一例

機種 (メーカー)	Analyst (Applied Biosystems製)
ピークの定量方法	ピーク面積法
検量線の種類	最小二乗法
検量線基準ピークの重量	0.001 ng ~ 0.04 ng
検量線傾き (a)	$a = 1.36276E+07$
検量線切片 (b)	$b = 738.30866$

図 13. アセタミプリド標準溶液のLC-MS/MSクロマトグラム (一例) (m/z : 126)

標準品 0.04 ng



標準品 0.002 ng (定量限界相当量)

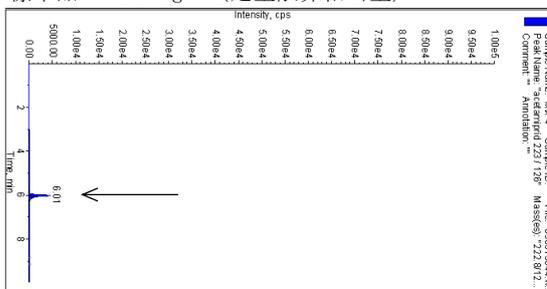
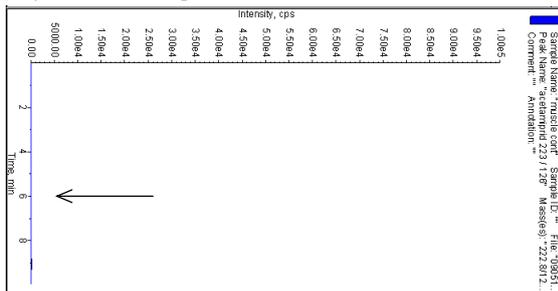
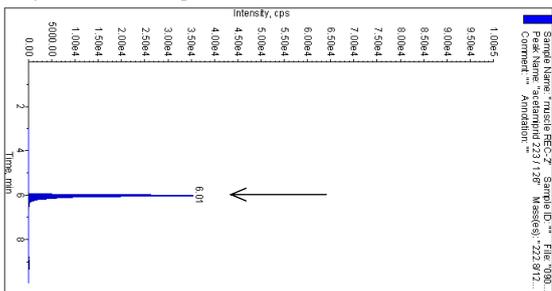


図 14. 試料のアセタミプリドLC-MS/MSクロマトグラム(m/z : 126)

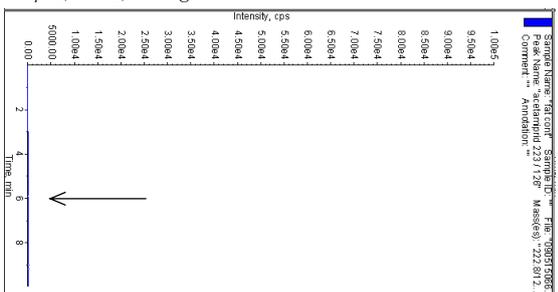
牛の筋肉 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



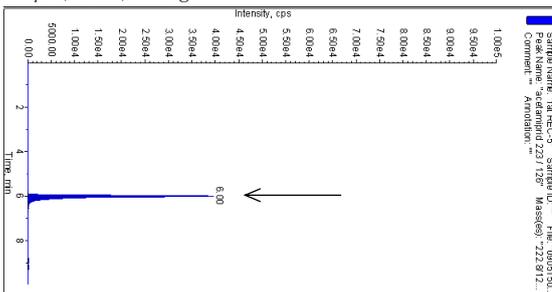
牛の筋肉 0.1 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



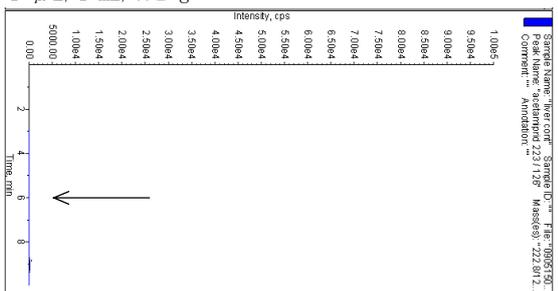
牛の脂肪 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



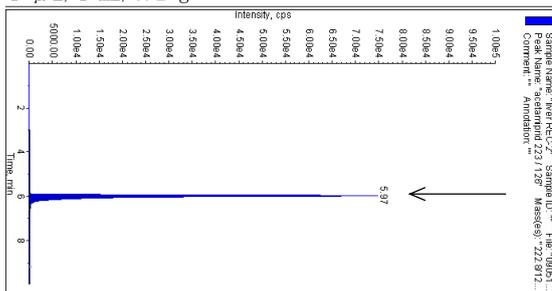
牛の脂肪 0.1 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



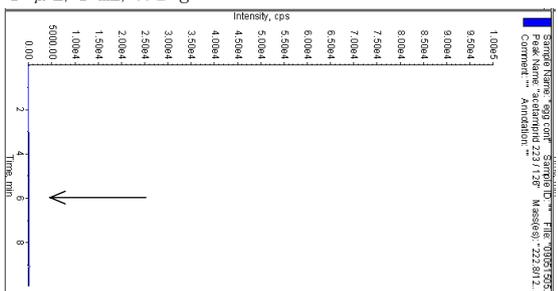
牛の肝臓 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



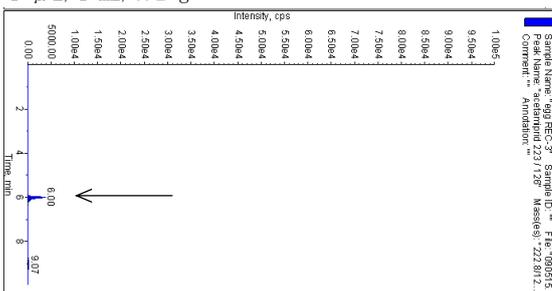
牛の肝臓 0.2 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



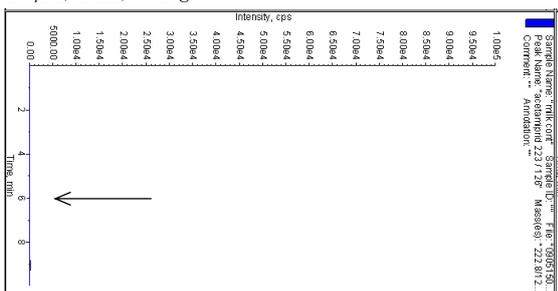
鶏卵 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



鶏卵 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



牛乳 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



牛乳 0.1 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

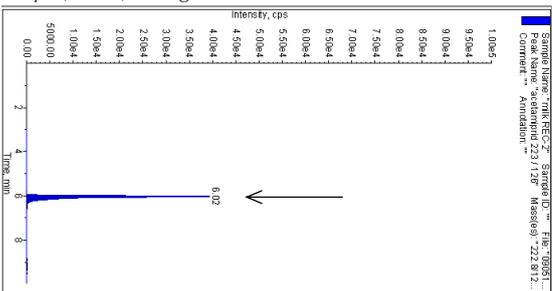
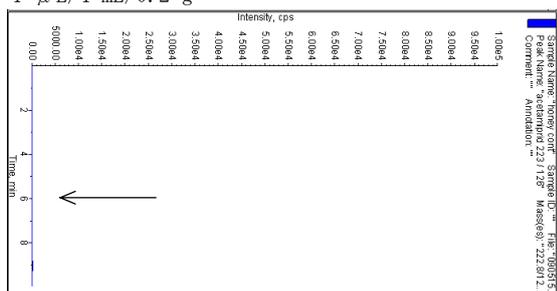
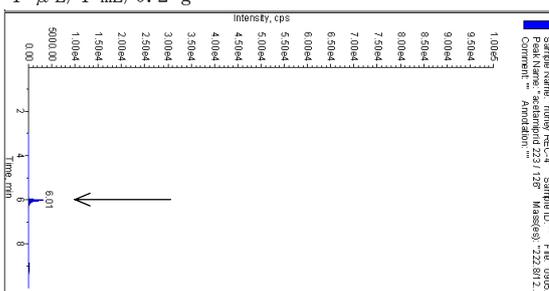


図 15. 試料のアセタミプリドLC-MS/MSクロマトグラム(m/z :126)

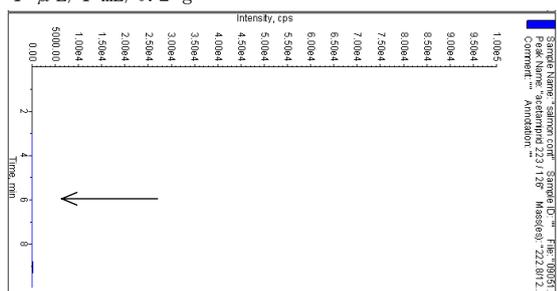
はちみつ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



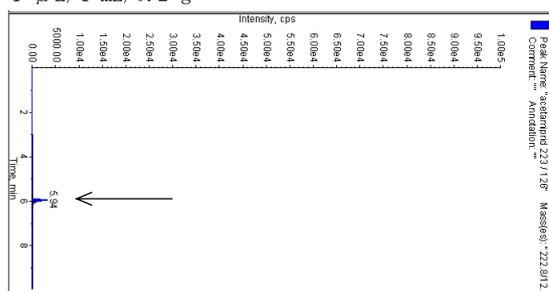
はちみつ 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



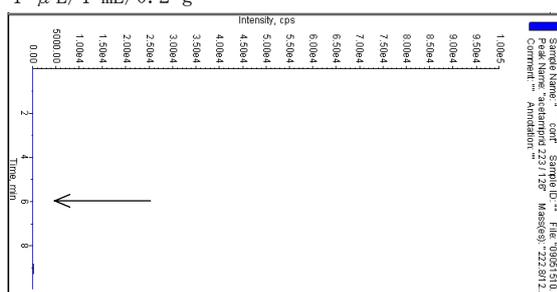
サケ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



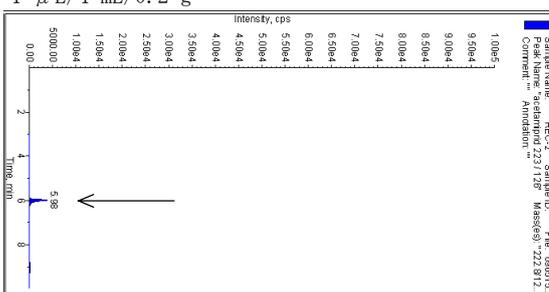
サケ 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



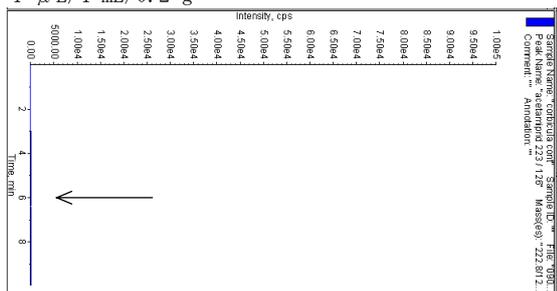
うなぎ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



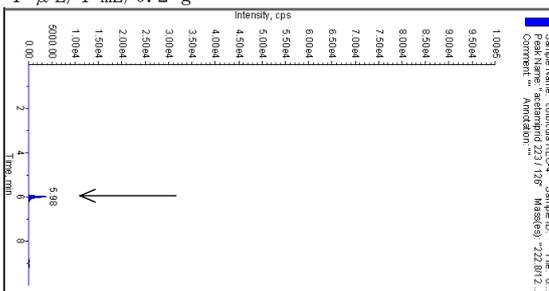
うなぎ 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



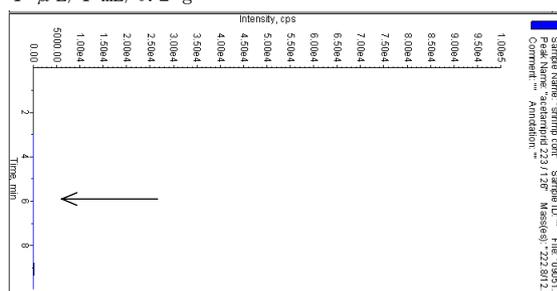
しじみ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



しじみ 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



えび 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



えび 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

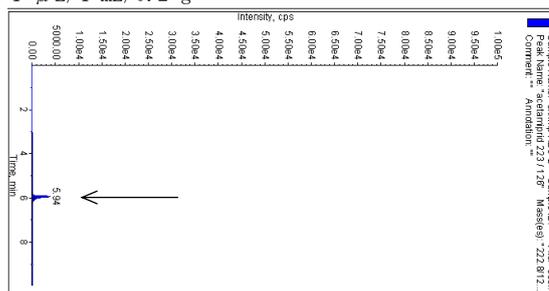
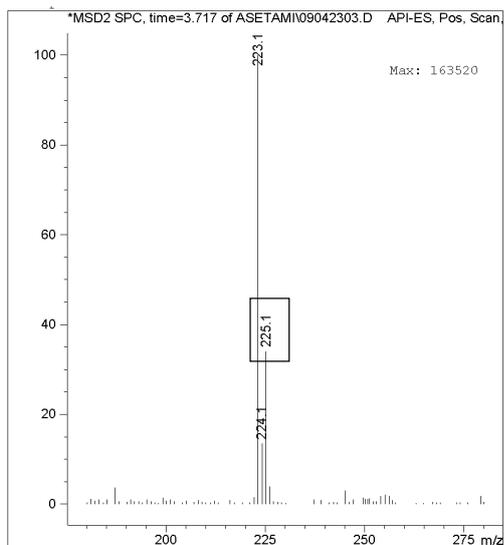


図 16. アセタミプリドのLC-MS及びMS/MSスペクトル

1) MSスペクトル: ESI (+)



2) 分子イオン(m/z : 225)由来のMS/MSスペクトル

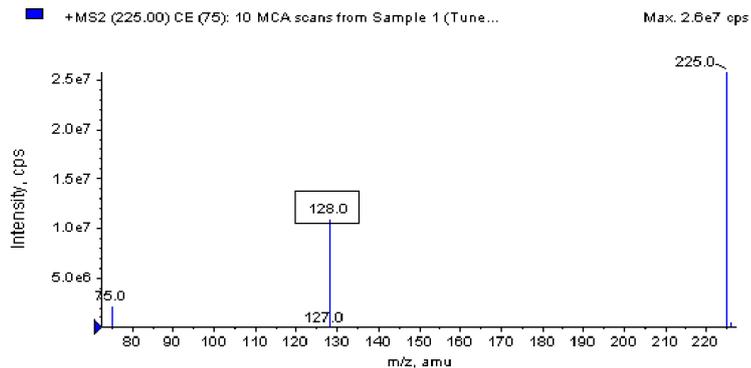
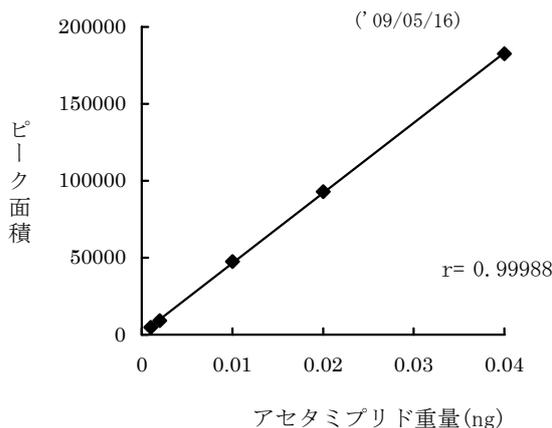


図 17. アセタミプリド検量線の一例(m/z : 128)



データ処理装置設定条件の一例

機種 (メーカー)	Analyst (Applied Biosystems製)
ピークの定量方法	ピーク面積法
検量線の種類	最小二乗法
検量線基準ピークの重量	0.001 ng~0.04 ng
検量線傾き (a)	$a=4.60465E+06$
検量線切片 (b)	$b=184.69931$

図 18. アセタミプリド標準溶液のLC-MS/MSクロマトグラム(一例)(m/z : 128)

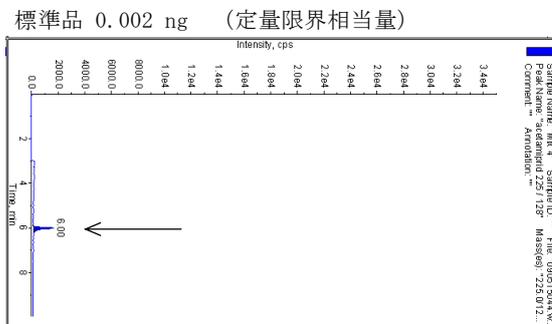
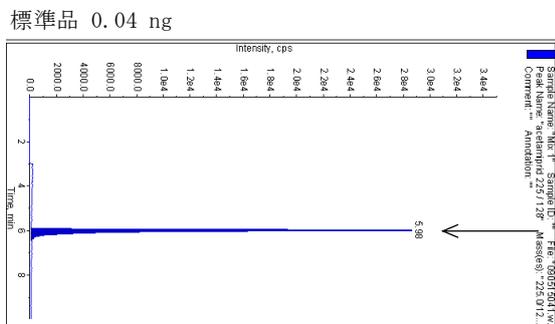
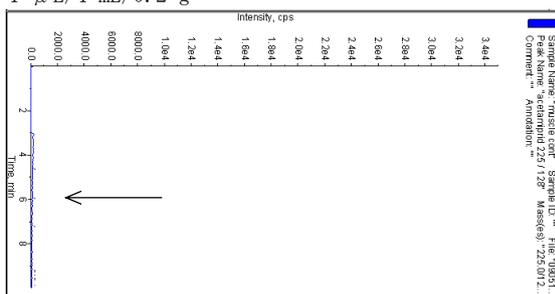
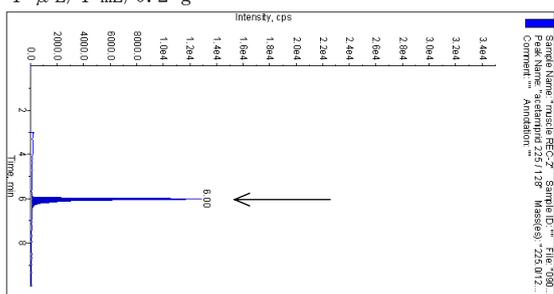


図 19. 試料のアセタミプリドLC-MS/MSクロマトグラム(m/z : 128)

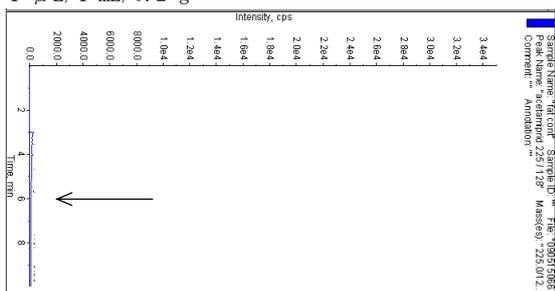
牛の筋肉 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



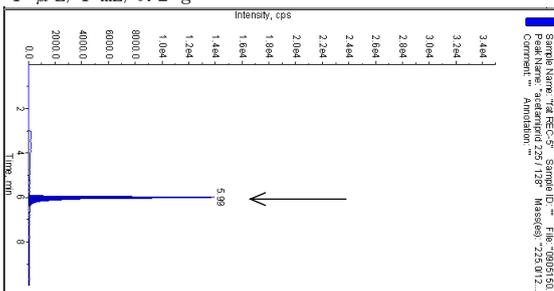
牛の筋肉 0.1 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



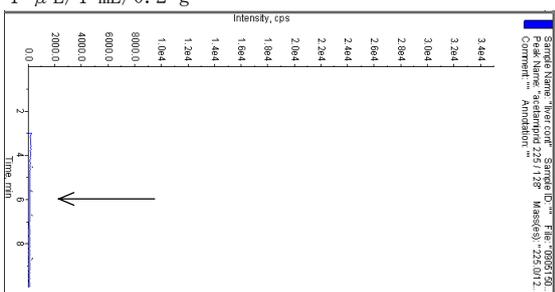
牛の脂肪 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



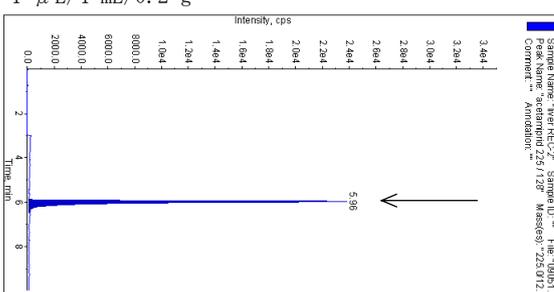
牛の脂肪 0.1 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



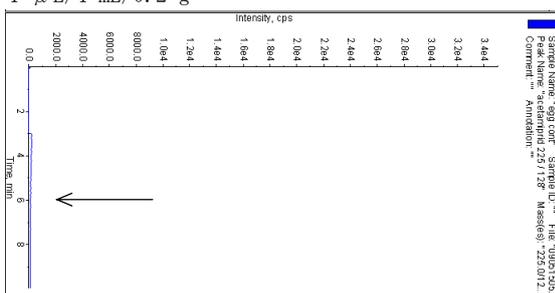
牛の肝臓 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



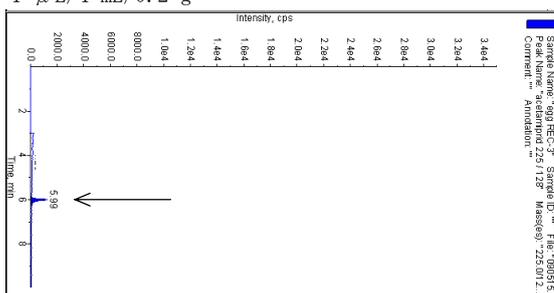
牛の肝臓 0.2 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



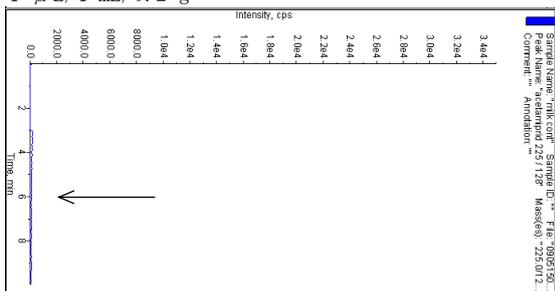
鶏卵 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



鶏卵 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



牛乳 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



牛乳 0.1 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

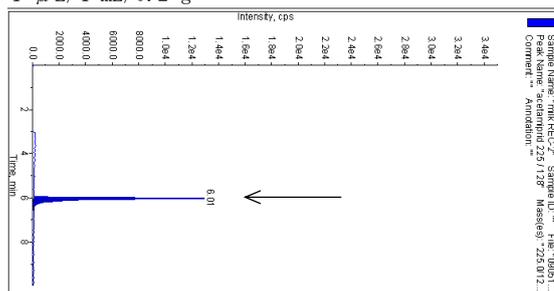
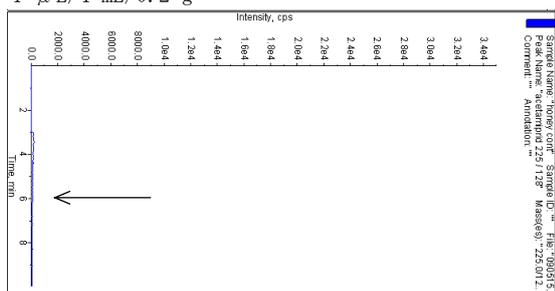
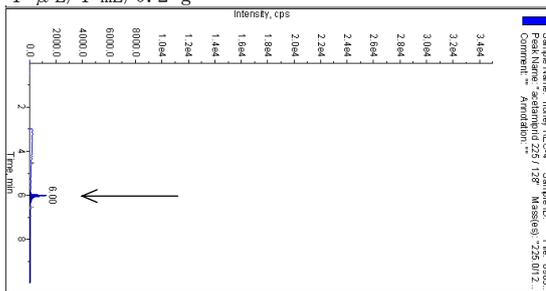


図 20. 試料のアセタミプリドLC-MS/MSクロマトグラム(m/z :128)

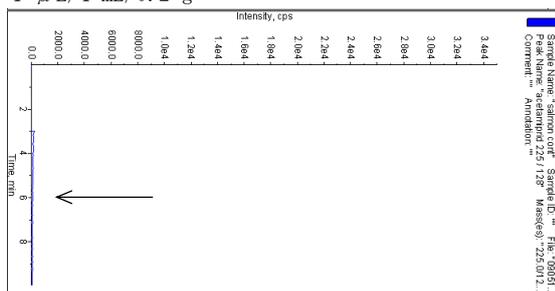
はちみつ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



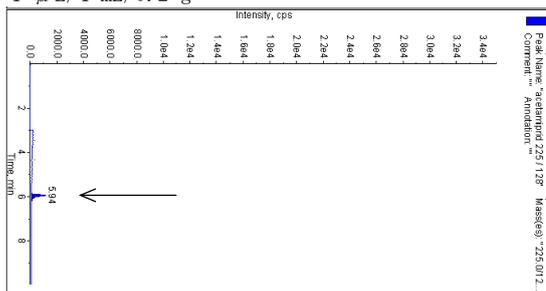
はちみつ 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



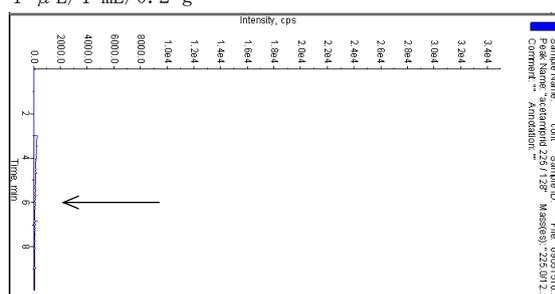
サケ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



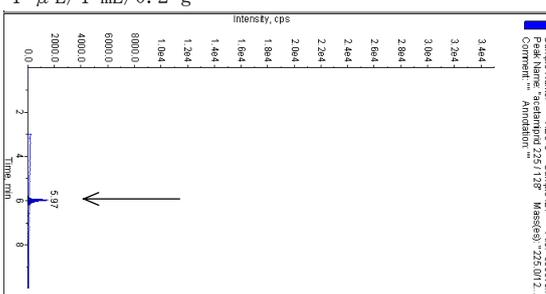
サケ 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



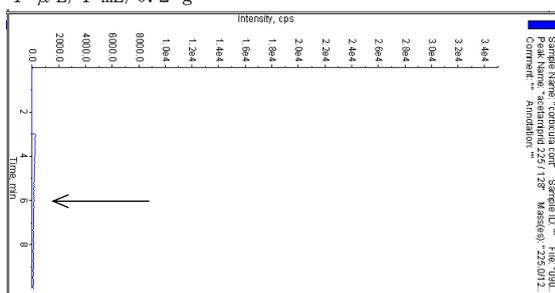
うなぎ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



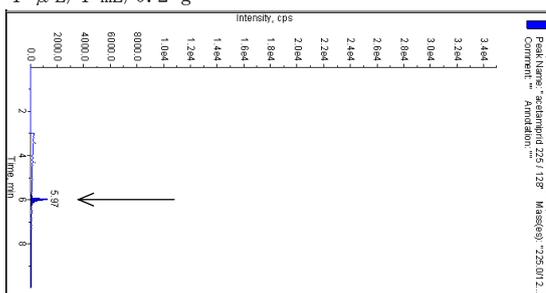
うなぎ 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



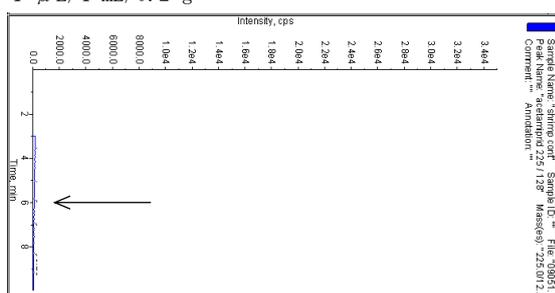
しじみ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



しじみ 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



えび 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



えび 0.01 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

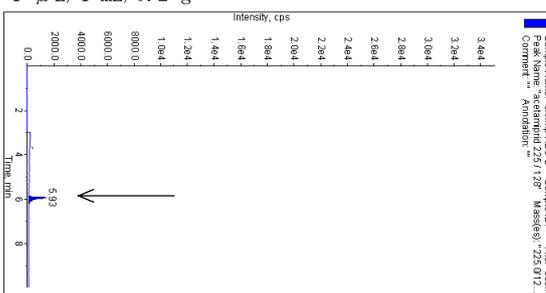
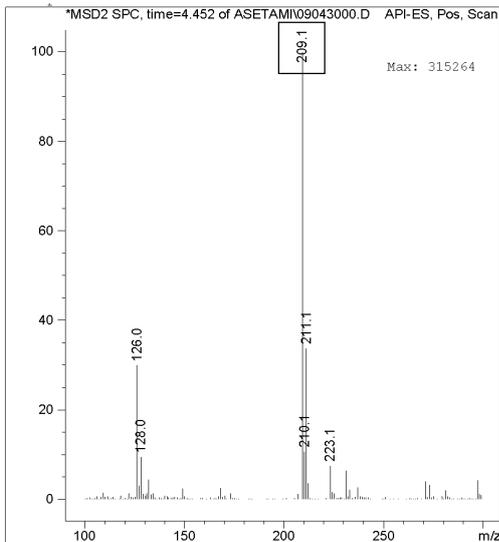


図 21. 脱メチル体のLC-MS及びMS/MSスペクトル

1) MSスペクトル: ESI (+)



2) 分子イオン(m/z : 209)由来のMS/MSスペクトル

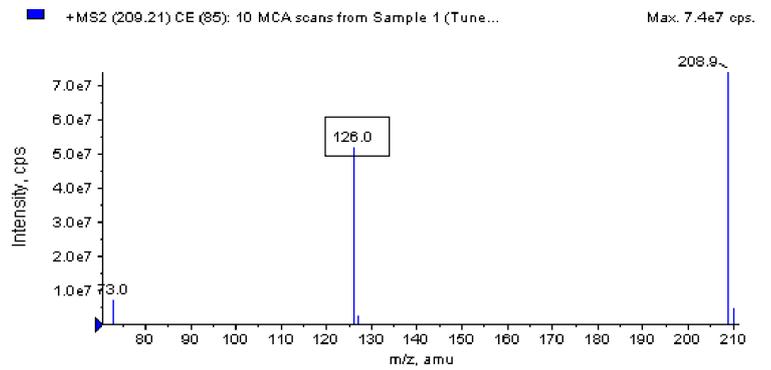
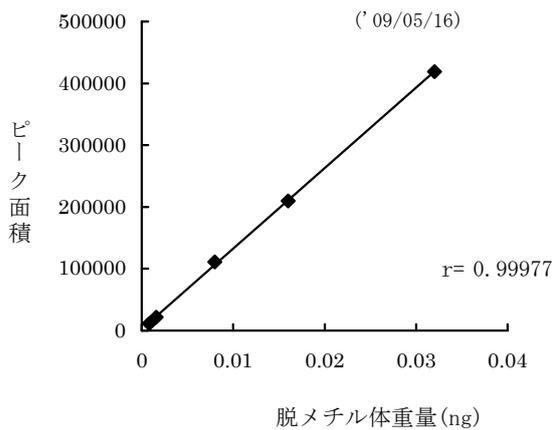


図 22. 脱メチル体検量線の一部 (m/z : 126)

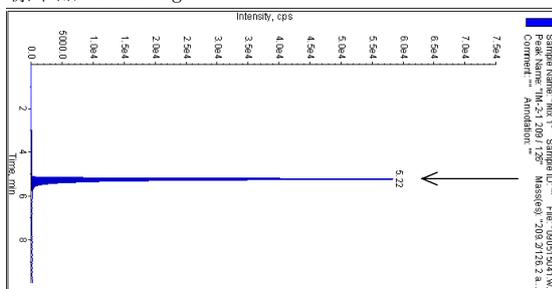


データ処理装置設定条件の一例

機種 (メーカー)	Analyst (Applied Biosystems製)
ピークの定量方法	ピーク面積法
検量線の種類	最小二乗法
検量線基準ピークの重量	0.0008~0.032 ng
検量線傾き (a)	a=1.31477E+07
検量線切片 (b)	b=1064.02596

図 23. 脱メチル体標準溶液のLC-MS/MSクロマトグラム (一例) (m/z : 126)

標準品 0.032 ng



標準品 0.0016 ng (定量限界相当量)

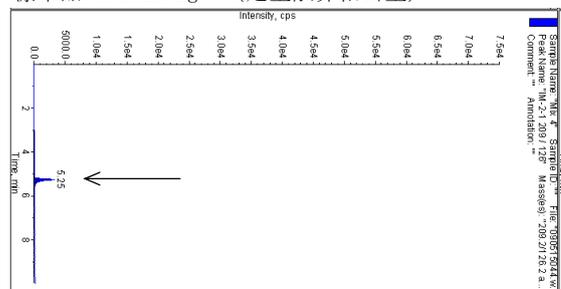
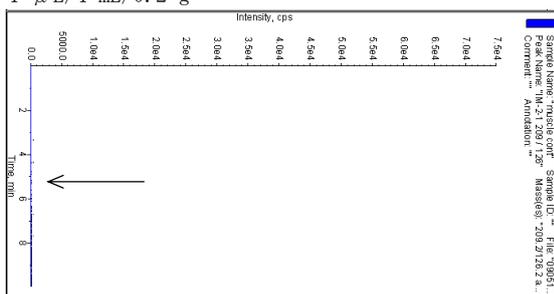
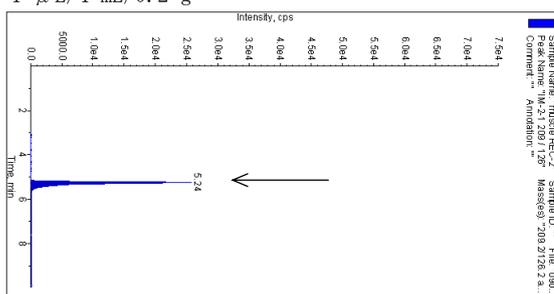


図 24. 試料の脱メチル体LC-MS/MSクロマトグラム(m/z : 126)

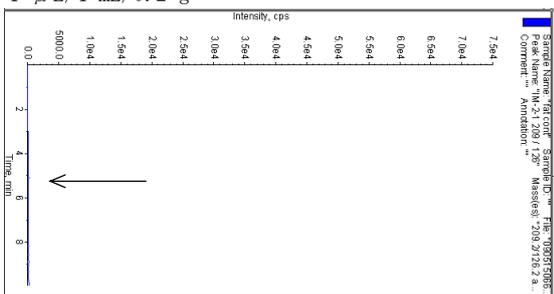
牛の筋肉 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



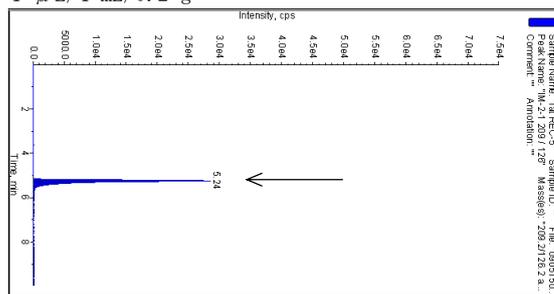
牛の筋肉 0.08 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



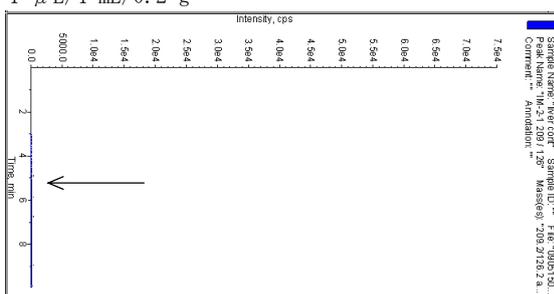
牛の脂肪 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



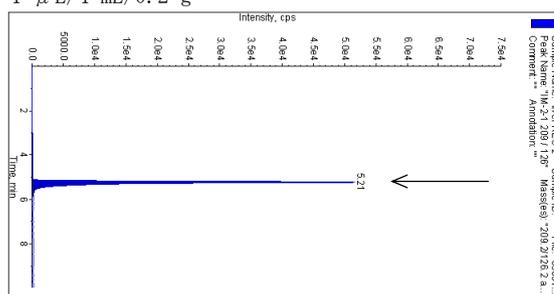
牛の脂肪 0.08 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



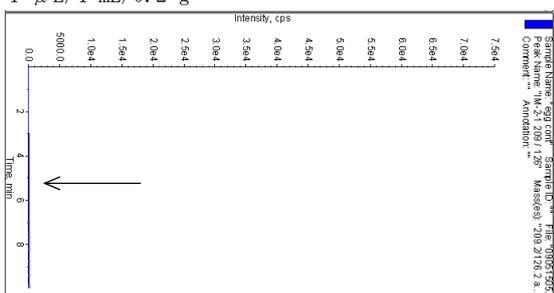
牛の肝臓 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



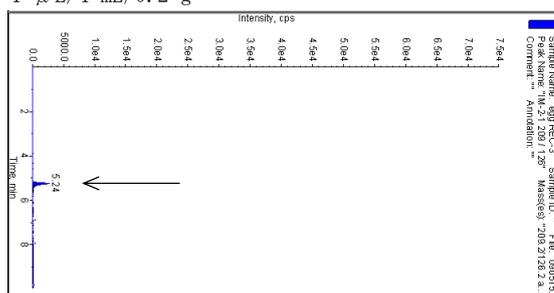
牛の肝臓 0.16 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



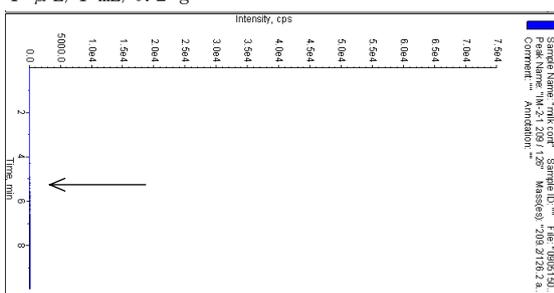
鶏卵 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



鶏卵 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



牛乳 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



牛乳 0.08 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

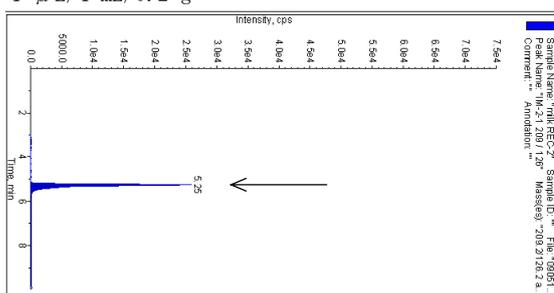
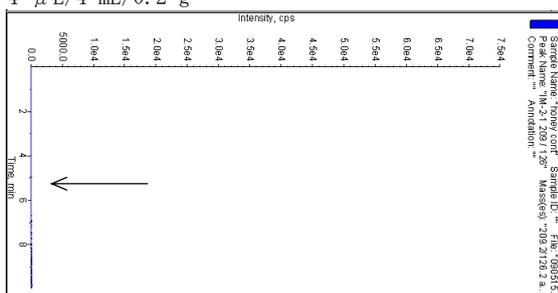
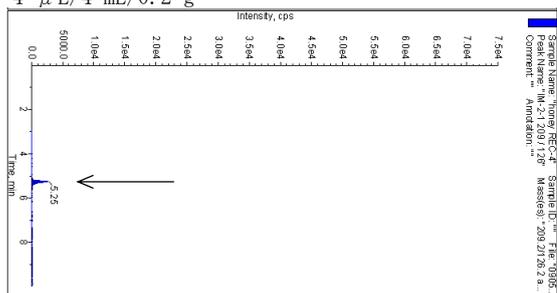


図 25. 試料の脱メチル体LC-MS/MSクロマトグラム(m/z : 126)

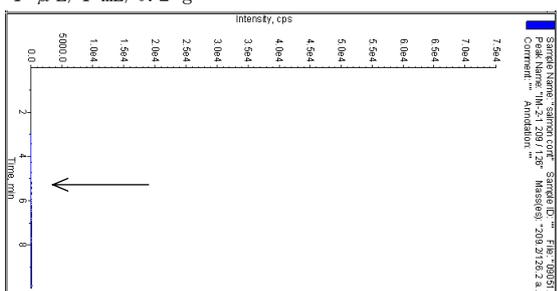
はちみつ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



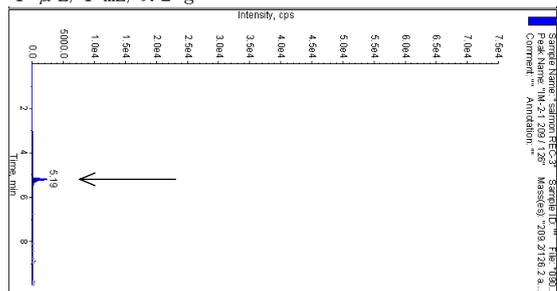
はちみつ 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



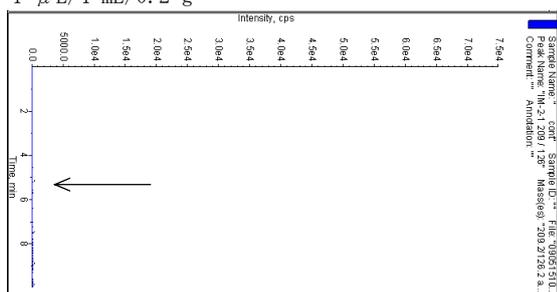
サケ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



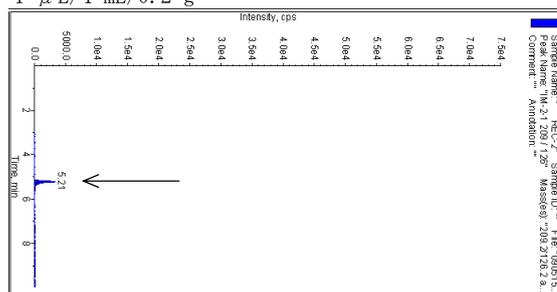
サケ 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



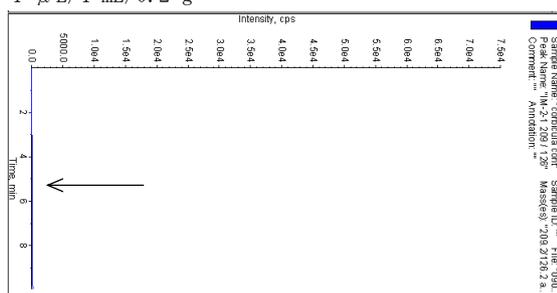
うなぎ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



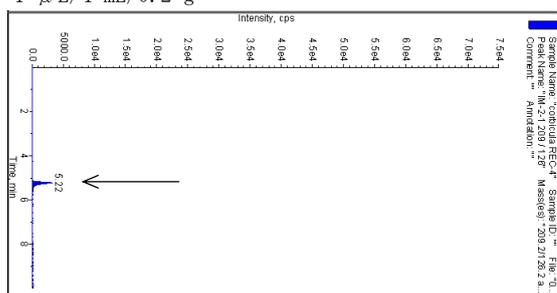
うなぎ 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



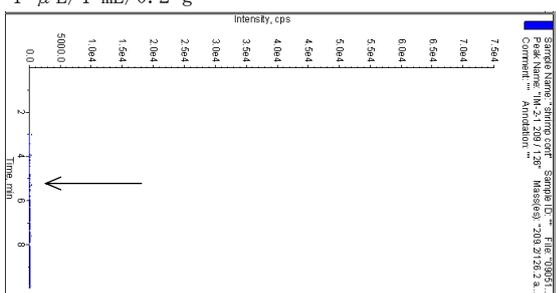
しじみ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



しじみ 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



えび 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



えび 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

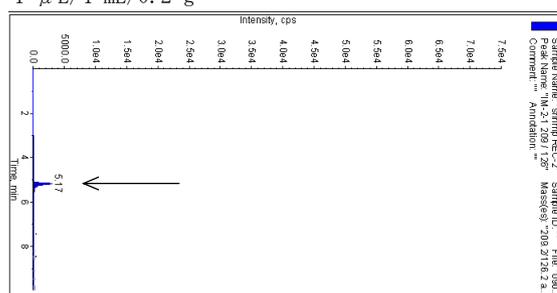
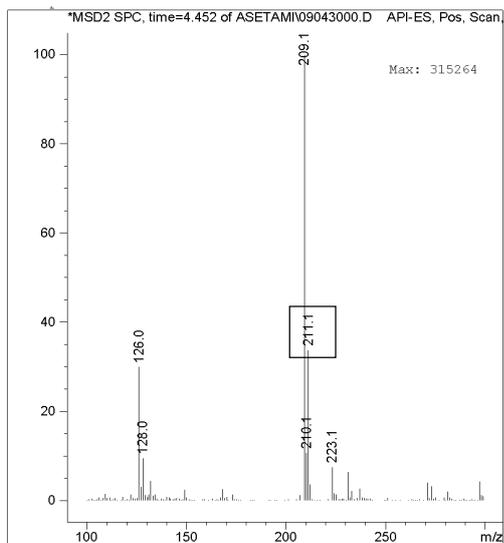


図 26. 脱メチル体のLC-MS及びMS/MSスペクトル

1) MSスペクトル: ESI (+)



2) 分子イオン(m/z : 211)由来のMS/MSスペクトル

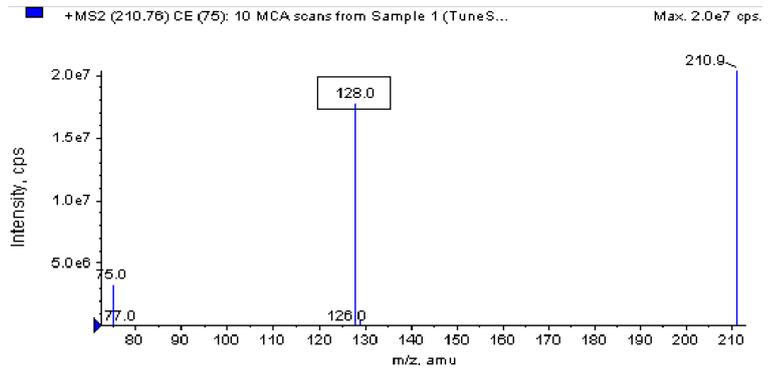
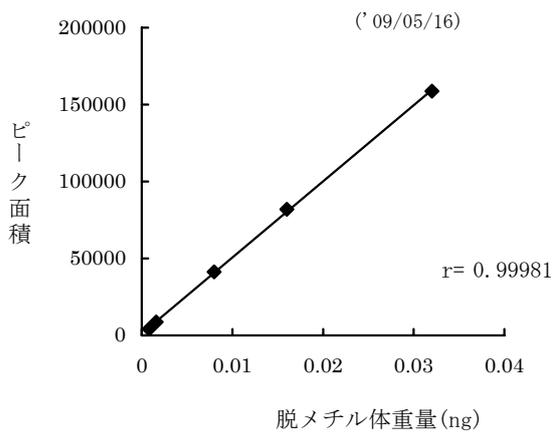


図 27. 脱メチル体検量線の一例 (m/z : 128)

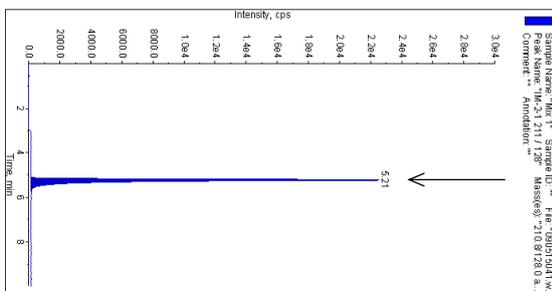


データ処理装置設定条件の一例

機種 (メーカー)	Analyst (Applied Biosystems製)
ピークの定量方法	ピーク面積法
検量線の種類	最小二乗法
検量線基準ピークの重量	0.0008 ng ~ 0.032 ng
検量線傾き (a)	$a = 5.00963E+06$
検量線切片 (b)	$b = 437.89257$

図 28. 脱メチル体標準溶液のLC-MS/MSクロマトグラム (一例) (m/z : 128)

標準品 0.032 ng



標準品 0.0016 ng (定量限界相当量)

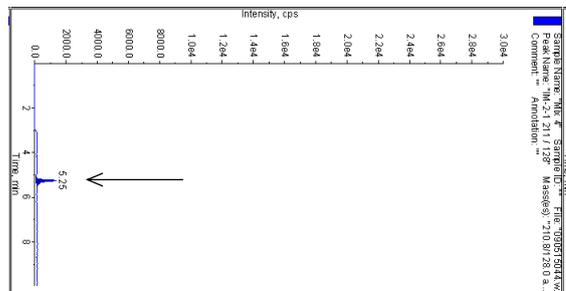
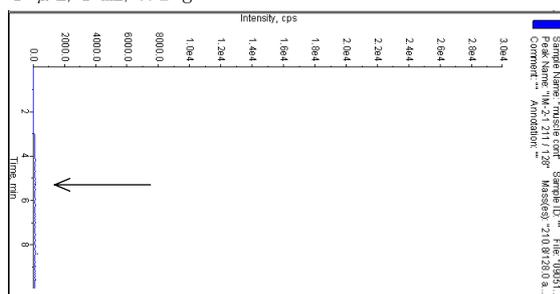
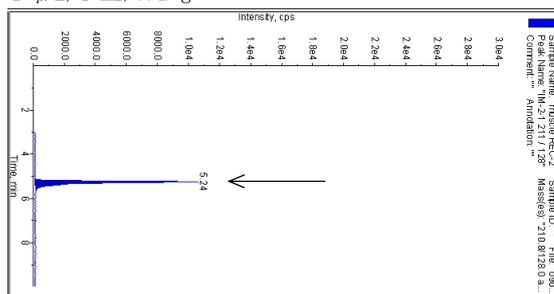


図 29. 試料の脱メチル体LC-MS/MSクロマトグラム(m/z : 128)

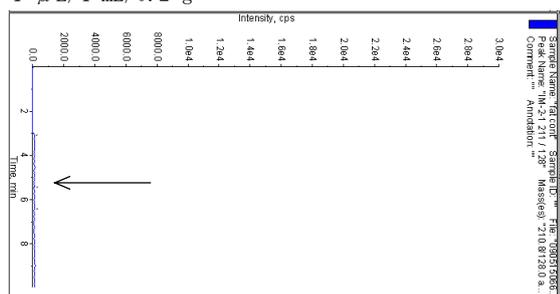
牛の筋肉 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



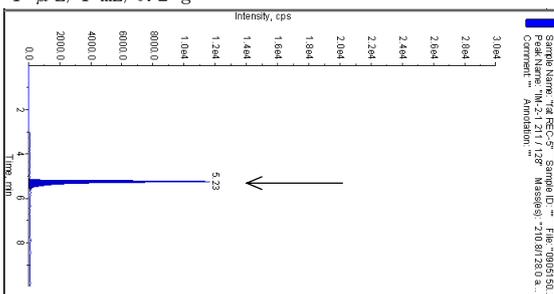
牛の筋肉 0.08 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



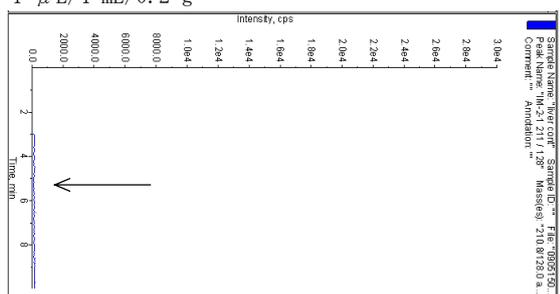
牛の脂肪 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



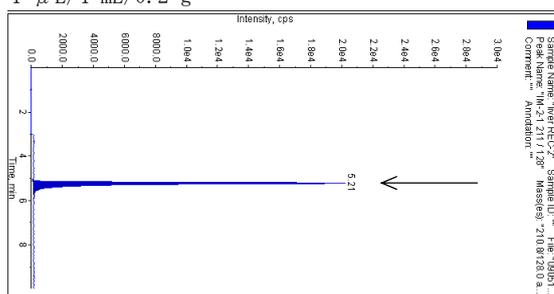
牛の脂肪 0.08 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



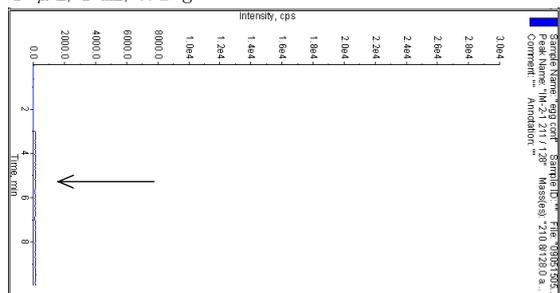
牛の肝臓 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



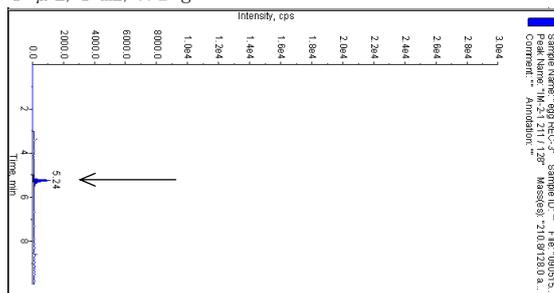
牛の肝臓 0.16 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



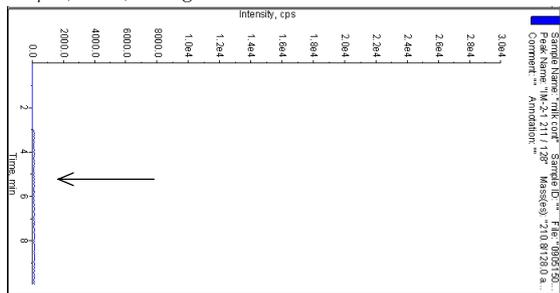
鶏卵 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



鶏卵 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



牛乳 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



牛乳 0.08 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

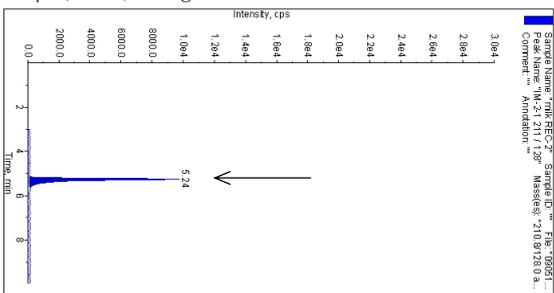
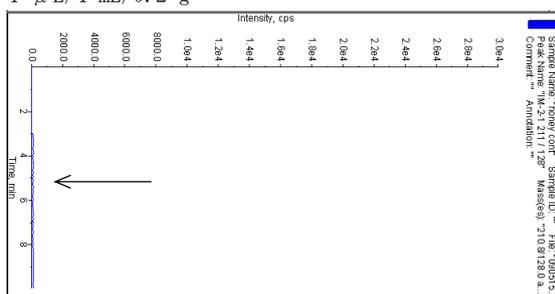
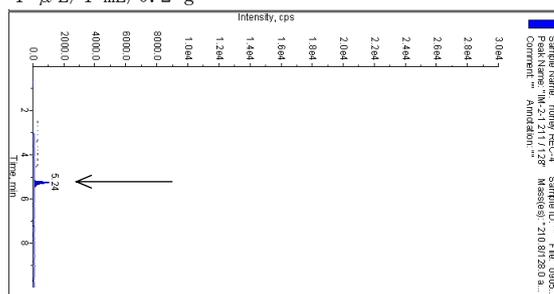


図 30. 試料の脱メチル体LC-MS/MSクロマトグラム(m/z : 128)

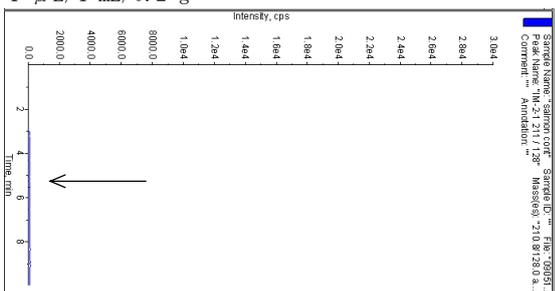
はちみつ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



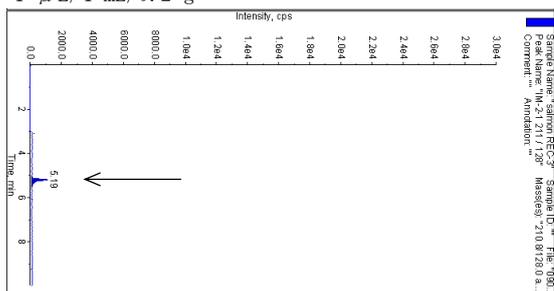
はちみつ 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



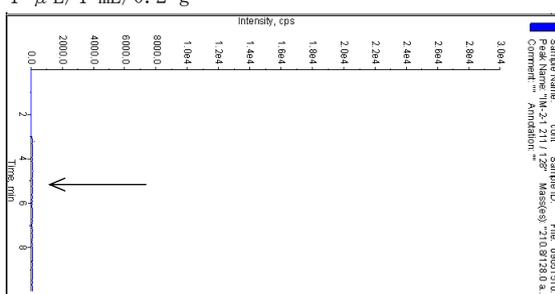
サケ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



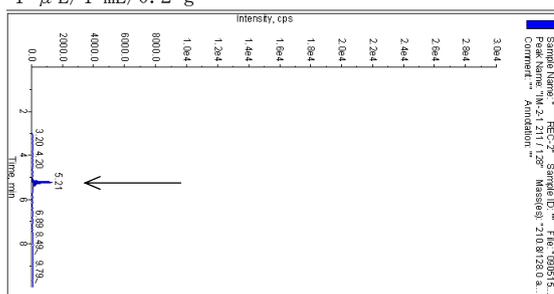
サケ 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



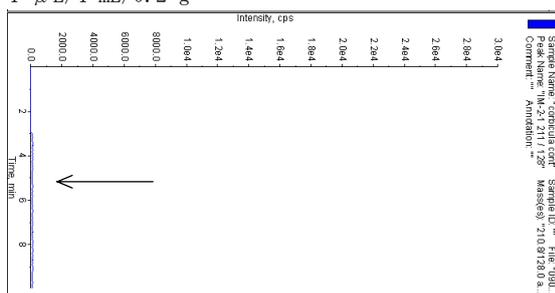
うなぎ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



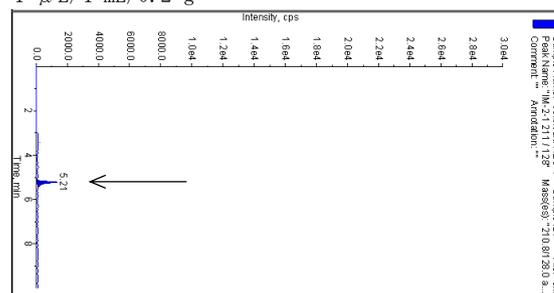
うなぎ 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



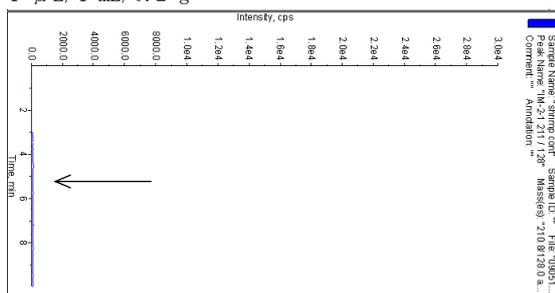
しじみ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



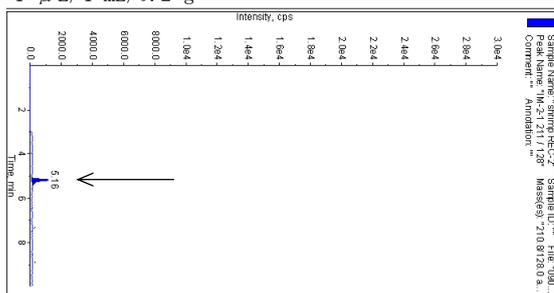
しじみ 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



えび 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



えび 0.008 ppm添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

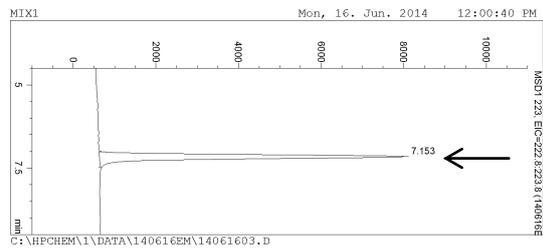


[追加検討事項]

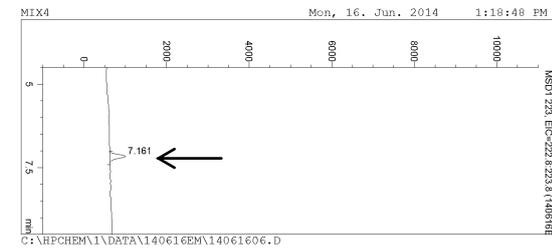
当時の検討では、乳、卵及びはちみつ試料について抽出の際、遠心分離を行って残さを除く方法を採用したが、筋肉等の試料の抽出法と同様に吸引ろ過（ケイソウ土使用）でも回収率、選択性に問題ないか検討した。乳、卵及びはちみつ試料について筋肉等の場合と同様の手順で抽出操作を行い（ろ過の際にはケイソウ土を使用）、抽出以降は同様の操作で添加回収試験を行い、LC-MS で測定した。その結果、アセタミプリドの添加回収率は乳で 97、97%、卵で 94、88%、はちみつで 76、80%、IM-2-1 の添加回収率は 乳で 99、100%、卵で 83、79%、はちみつで 76、72%と当時の検討結果と同等程度の結果が得られた。また、選択性についても定量を妨げるようなピークもなく、問題ないことが確認できた。このことから通知法としてはすべての試料について、抽出の際の残さの除去はケイソウ土を用いた吸引ろ過の方法を採用した。

アセタミプリドの LC-MS クロマトグラム（一例）

標準品 0.04 ng

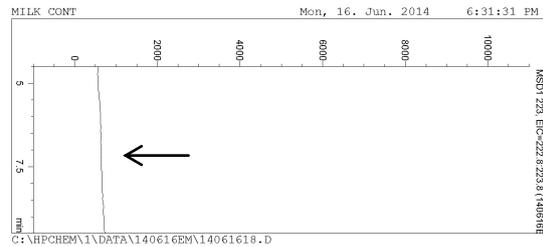


標準品 0.002 ng (定量限界相当量)



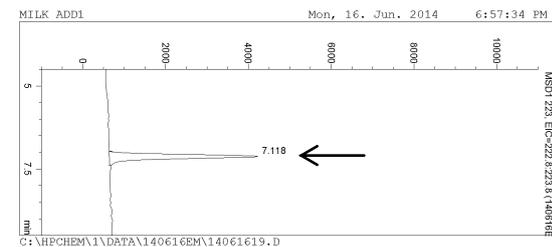
乳 無添加

4 μL/4 mL/0.2 g



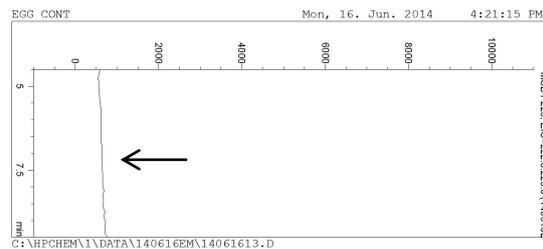
乳 0.1 ppm 添加

4 μL/4 mL/0.2 g



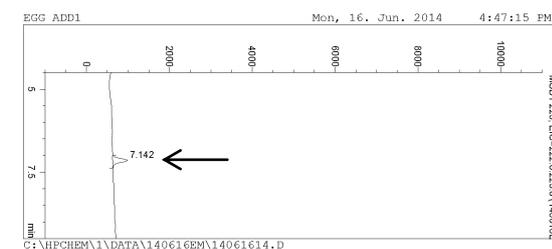
鶏卵 無添加

4 μL/4 mL/0.2 g



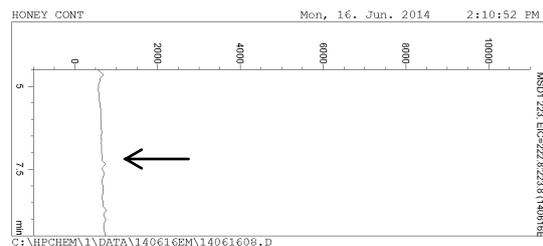
鶏卵 0.01 ppm 添加

4 μL/4 mL/0.2 g



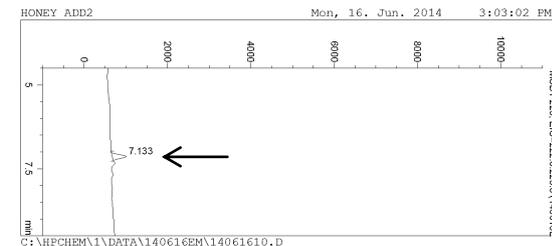
はちみつ 無添加

4 μL/4 mL/0.2 g



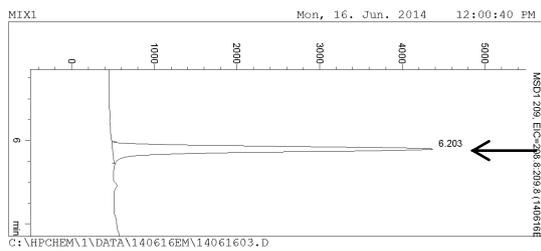
はちみつ 0.01 ppm 添加

4 μL/4 mL/0.2 g

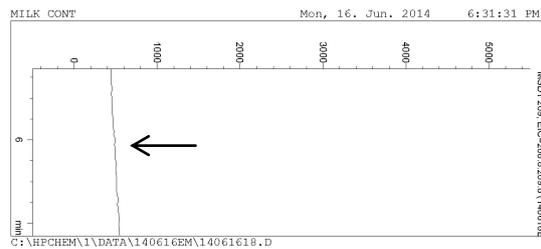


IM-2-1 の LC-MS クロマトグラム (一例)

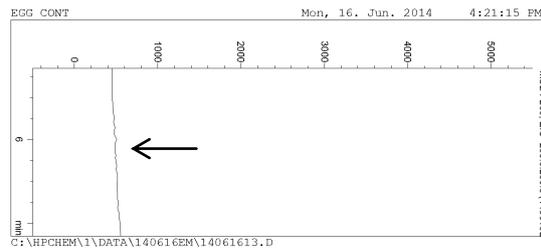
標準品 0.032 ng



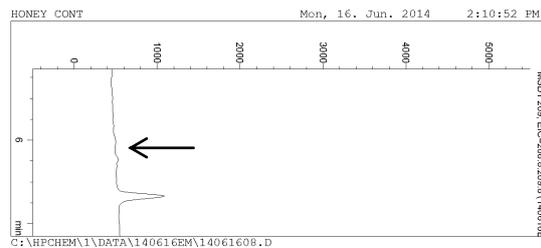
乳 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



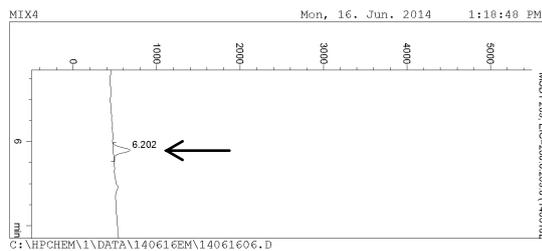
鶏卵 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



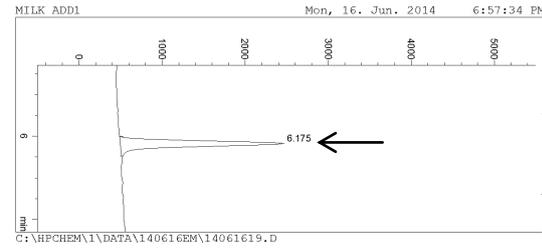
はちみつ 無添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



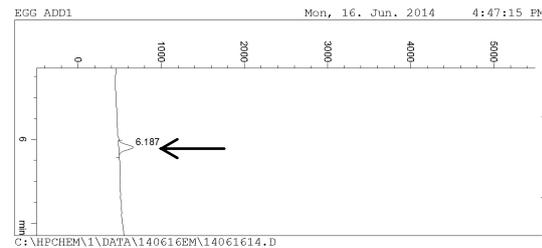
標準品 0.0016 ng (定量限界相当量)



乳 0.08 ppm 添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



鶏卵 0.008 ppm 添加
4 μ L/4 mL/0.2 g



はちみつ 0.008 ppm 添加
4 μ L/4 mL/0.2 g

