

※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。

## 食品に残留する農薬等の成分である物質の 試験法開発業務報告書

### ジクロベニル及びフルオピコリド試験法(農産物)

## ジクロベニル及びフルオピコリド試験法(農産物)の検討結果

### 【緒言】

#### 1. 目的及び試験法の検討方針等

ジクロベニル及びその代謝物である 2,6-ジクロロベンズアミド(以下、BAM)並びにフルオピコリドの農産物中の分析法の開発を行った。

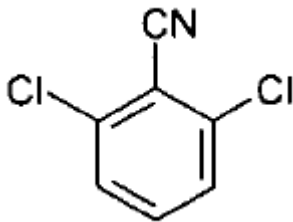
ジクロベニルは、Philips Duphar 社で合成されたニトリル系除草剤である\*<sup>1</sup>。また、フルオピコリドは、AgrEvo 社により開発されたベンズアミド骨格を有する殺菌剤である\*<sup>2</sup>。いずれも代謝物として BAM を生ずるが、ジクロベニルの基準値について、「ジクロベニルとは、農産物にあつてはジクロベニル及び代謝物 BAM をジクロベニルに換算したものの和をいい、魚介類にあつてはジクロベニルをいう。ただし、フルオピコリドが検出された場合など、BAM の残留がフルオピコリドの使用によることが明らかな場合には、フルオピコリドに定められた規格基準を適用することとし、ジクロベニルに係る規格基準によらないこと。」とされており\*<sup>3</sup>、BAMが検出された場合、ジクロベニルとフルオピコリドのどちらの基準値を適用するかのか判断が必要となる場合が想定されることから、これら 3 化合物のグループ分析法を検討した。

本検討においては、通知一斉試験法[GC/MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)]の適用も試みたが、良好な結果が得られなかったため、新たに個別試験法を開発した。

#### 2. 分析対象化合物の構造式及び物理化学的性質\*<sup>1,2</sup>

分析対象化合物:ジクロベニル (dichlobenil)

構造式:



分子式: C<sub>7</sub>H<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>N

分子量: 172.02

化学名: IUPAC 名 2,6-dichlorobenzonitrile

CAS 名(1194-65-6) 2,6-dichlorobenzonitrile

外観: 白色、固体結晶

融点: 144~145°C

沸点: 120.4°Cで昇華

蒸気圧: 0.088 Pa (20°C)

溶解度:

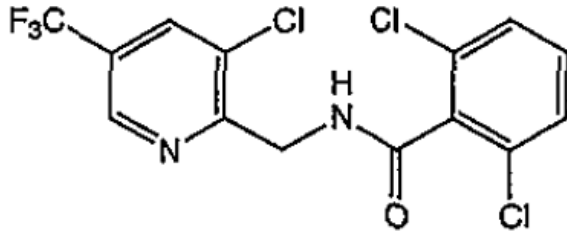
水	2.1×10 <sup>-2</sup> g/L (25°C)
シクロヘキサン	3.7 g/L (25°C)
キシレン	53 g/L (25°C)
エタノール	15 g/L (25°C)
ジクロロメタン	151 g/L (20°C)
アセトン	86 g/L (20°C)
メタノール	17.2 g/L (20°C)
酢酸エチル	59.3 g/L (20°C)

オクタノール/水分配係数: log Pow=2.70

加水分解性: pH5,7 及び 9 における半減期はいずれも 150 日以上  
熱安定性: 270°Cまで安定

分析対象化合物: フルオピコリド (fluopicolide)

構造式:



分子式: C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>3</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O

分子量: 383.6

化学名: IUPAC 名 2,6-dichloro-N-[3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2-pyridylmethyl]benzamide  
CAS 名 (239110-15-7)

2,6-dichloro-N-[[3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2-pyridinyl]methyl]benzamide

外観: ベージュ色、粉末結晶

融点: 150°C

沸点: 測定不能 320°Cで分解する(常圧)

蒸気圧: 3.03 × 10<sup>-7</sup> Pa (20°C) 8.03 × 10<sup>-7</sup> Pa (25°C)

溶解度:

水	3.02 mg/L (20°C)
n-ヘキサン	0.20 g/L (20°C)
トルエン	20.5 g/L (20°C)
ジクロロメタン	126 g/L (20°C)
酢酸エチル	37.7 g/L (20°C)
アセトン	74.7 g/L (20°C)
ジメチルスルホキシド	183 g/L (20°C)
エタノール	19.2 g/L (20°C)

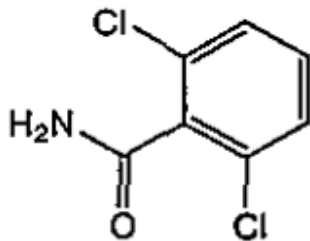
オクタノール/水分配係数: logPow=3.26 (22±1°C)

加水分解性: 半減期 pH5:365 日 pH7:330 日 pH9:365 日(25°C)

熱安定性: 320°Cで分解する(常圧)

分析対象化合物: BAM(2,6-ジクロロベンズアミド(2,6-dichlorobenzamide))

構造式:



分子式: C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>Cl<sub>2</sub>NO

分子量: 190.03

化学名: IUPAC 名 2,6-dichlorobenzamide

CAS 名 (2008-58-4)2,6-dichlorobenzamide

## 3. 基準値\*3、4

(ppm)

食品名	ジクロベニル	フルオピコリド
ばれいしよ		0.05
さといも類(やつがしらを含む)		0.02
かんしよ		0.02
やまいも(長いもをいう)		0.02
その他のいも類		0.02
だいこん類(ラディッシュを含む)の根		0.2
だいこん類(ラディッシュを含む)の葉		15
かぶ類の根		0.2
かぶ類の葉		15
西洋わさび		0.2
はくさい		5
キャベツ		5
芽キャベツ		5
カリフラワー		5
ブロッコリー		5
その他のあぶらな科野菜		5
ごぼう		0.2
サルシフィー		0.2
チコリ		15
エンダイブ		25
しゅんぎく		25
レタス(サラダ菜及びちしやを含む)		25
その他のきく科野菜		25
たまねぎ		7
ねぎ(リーキを含む)		10
にんにく		7
その他のゆり科野菜		7
パースニップ		0.2
パセリ		25
セロリ		25
その他のせり科野菜		25
トマト		2
ピーマン		2
なす		2
その他のなす科野菜		2
きゅうり(ガーキンを含む)		0.7
かぼちや(スカッシュを含む)		0.5
しろうり		0.5
メロン類果実		0.2
その他のうり科野菜		0.5
ほうれんそう		25
オクラ		1
しょうが		0.02
しいたけ		1
その他のきのこ類		1

(ppm)

食品名	ジクロベニル	フルオピコリド
その他の野菜		25
りんご	0.1	
日本なし	0.2	
西洋なし	0.2	
もも	0.1	
ぶどう		2
その他の果実		1
牛の筋肉		0.01
豚の筋肉		0.01
その他の陸棲哺乳類に属する動物の筋肉		0.01
牛の脂肪		0.01
豚の脂肪		0.01
その他の陸棲哺乳類に属する動物の脂肪		0.01
牛の肝臓		0.01
豚の肝臓		0.01
その他の陸棲哺乳類に属する動物の肝臓		0.01
牛の腎臓		0.01
豚の腎臓		0.01
その他の陸棲哺乳類に属する動物の腎臓		0.01
牛の食用部分		0.01
豚の食用部分		0.01
その他の陸棲哺乳類に属する動物の食用部分		0.01
乳		0.02
鶏の筋肉		0.01
その他の家きんの筋肉		0.01
鶏の脂肪		0.01
その他の家きんの脂肪		0.01
鶏の肝臓		0.01
その他の家きんの肝臓		0.01
鶏の腎臓		0.01
その他の家きんの腎臓		0.01
鶏の食用部分		0.01
その他の家きんの食用部分		0.01
鶏の卵		0.01
その他の家きんの卵		0.01
魚介類	0.05	
とうがらし(乾燥させたもの)		7
干しぶどう		10

[出典]

\* 1 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC) DBN(ジクロベニル)農薬抄録  
<http://www.acis.famic.go.jp/syouroku/dichlobenil/index.htm>

\* 2 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC) フルオピコリド農薬抄録

<http://www.acis.famic.go.jp/syouroku/fluopicolide/index.htm>

\* 3 平成 27 年 5 月 19 日食安発 0519 第 1 号 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知

\* 4 平成 25 年 8 月 20 日食安発 0820 第 1 号 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知

## 【実験方法】

### 1. 試料

検討に用いた試料は、新潟県内の小売店で購入した。ぶどうのみ、検討を行った時期に生鮮品の入手が困難であったため、冷凍保存品を用いた。

試料の採取方法を以下に記載した。

(1) ばれいしょ(泥を水で軽く洗い落としたもの)

試料を包丁で適当な大きさに切った後、クッキングカッターを用いて細切均一化した。

(2) キャベツ(外側変質葉及びしんを除去したもの)

試料を包丁で適当な大きさに切った後、クッキングカッターを用いて細切均一化した。

(3) ほうれんそう(赤色根部を含み、ひげ根及び変質葉を除去したもの)

試料を包丁で適当な大きさに切った後、クッキングカッターを用いて細切均一化した。

(4) りんご(果実全体)

試料を包丁で適当な大きさに切った後、クッキングカッターを用いて細切均一化した。

(5) ぶどう

果梗を除去した状態でポリ袋に密封し、-30℃で保存してあったものを、室温に放置して解凍し、クッキングカッターを用いて細切均一化した。

### 2. 試薬・試液

ジクロベニル標準品：純度 99.0% (関東化学(株)製)

2,6-ジクロロベンズアミド(以下、BAM)標準品：純度 99.0% (Dr.Ehrenstorfer GmbH 製)

フルオピコリド標準品：純度 98.5% (Dr.Ehrenstorfer GmbH 製)

アセトン、酢酸エチル、*n*-ヘキサン：残留農薬試験用 (関東化学(株)製)

アセトニトリル：残留農薬試験用 (関東化学(株)製)

メタノール：残留農薬試験用または LC/MS 用 (和光純薬工業(株)製)

ケイソウ土：セライト No.545 (和光純薬工業(株)製)

グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム：InertSep GC/PSA (500 mg / 500 mg / 6mL、ジーエルサイエンス(株)製)

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム：Bond Elut C18 (1g / 6 mL、Agilent Technologies 製)

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム：InertSep FL-PR(1,000 mg / 6 mL、ジーエルサイエンス(株)製)

シリカゲルミニカラム：InertSep SI(500 mg / 6 mL、ジーエルサイエンス(株)製)

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム：InertSep PSA (500 mg / 6 mL、ジーエルサイエンス(株)製)

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム：Supelclean ENVI-Carb/LC-NH2 (500 mg / 500 mg / 6 mL、Sigma-Aldrich 製)

その他の試薬：特級(和光純薬工業(株)製)

標準原液：各化合物の標準品 20 mg を精秤し、それぞれアセトンで溶解して 1,000 mg/L 溶液を調製した。

検量線用標準溶液：標準原液を 0.5w/v% ジエチレングリコール・アセトン溶液で適宜希釈し、0.005~0.3 mg/L の濃度の溶液を調製した。または、標準原液を水及びメタノール(1:1)混液で適宜希釈し、0.001~0.06 mg/L の濃度の溶液を調製した。

添加用標準溶液：標準原液をアセトンで希釈して 250 mg/L、100 mg/L、2 mg/L、1 mg/L、及び 0.2 mg/L 溶液を調製した。

### 3. 装置

ホモジナイザー：ULTRA-TURRAX T25 (IKA 製)

クッキングカッター：CQM-62 ((株)東芝製)

濃縮装置：ロータリーエバポレーターN1100 (東京理化工機(株)製)、

振とう器：SR-2DW (タイテック(株)製)

#### GC-MS/MS

装置	型式	会社
MS	TQ-8040	(株)島津製作所
GC	GC-2010Plus	(株)島津製作所
データ処理	GCMS Solution	(株)島津製作所

#### LC-MS/MS

装置	型式	会社
MS	XEVO-TQD	Waters
LC	Acquity I Class	Waters
データ処理	MassLynx	Waters

#### GC-ECD

装置	型式	会社
GC	GC-2010	(株)島津製作所
データ処理	GC Solution	(株)島津製作所

4. 測定条件

GC-MS(/MS)

GC 条件																									
カラム	DB-17MS (内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm : Agilent Technologies 製)																								
カラム温度(°C)	50°C(1 min)–20°C/min–300°C(12 min)																								
注入口温度(°C)	250																								
インターフェース温度(°C)	250																								
キャリアーガス	ヘリウム																								
キャリアーガス流量 (線速度 cm/sec)	45																								
注入法	スプリットレス法																								
注入量(μL)	1																								
MS 条件																									
測定モード	SIM、選択イオンモニタリング又は SRM、選択反応モニタリング (ブランクのスキャン測定範囲 70~500 amu)																								
イオン化法	EI (+)																								
イオン化エネルギー(eV)	70																								
EM 電圧(V)	オートチューニングでの設定値+0.15kV																								
イオン源温度(°C)	200																								
コリジョンガス	アルゴン (SRM の場合)																								
モニターイオン等	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>ジクロベニル</th> <th>BAM</th> <th>フルオピコリド</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>【SIM】 定量イオン (<i>m/z</i>)</td> <td>171.0</td> <td>173.0</td> <td>347.0</td> </tr> <tr> <td>【SIM】 定性イオン (<i>m/z</i>)</td> <td>173.0</td> <td>175.0</td> <td>209.0</td> </tr> <tr> <td>【SRM】 定量イオン (<i>m/z</i>)</td> <td>171.0→100.1 [CE 24 eV]</td> <td>89.0→173.0 [CE 9 eV]</td> <td>209.0→182.1 [CE 18 eV]</td> </tr> <tr> <td>【SRM】 定性イオン (<i>m/z</i>)</td> <td>171.0→136.1 [CE 15 eV]</td> <td>173.0→145.0 [CE15eV]</td> <td>347.0→172.1 [CE 27 eV]</td> </tr> <tr> <td>保持時間 (min)</td> <td>8.2</td> <td>10.8</td> <td>13.6</td> </tr> </tbody> </table> <p>CE ; コリジョンエネルギー</p>		ジクロベニル	BAM	フルオピコリド	【SIM】 定量イオン ( <i>m/z</i> )	171.0	173.0	347.0	【SIM】 定性イオン ( <i>m/z</i> )	173.0	175.0	209.0	【SRM】 定量イオン ( <i>m/z</i> )	171.0→100.1 [CE 24 eV]	89.0→173.0 [CE 9 eV]	209.0→182.1 [CE 18 eV]	【SRM】 定性イオン ( <i>m/z</i> )	171.0→136.1 [CE 15 eV]	173.0→145.0 [CE15eV]	347.0→172.1 [CE 27 eV]	保持時間 (min)	8.2	10.8	13.6
	ジクロベニル	BAM	フルオピコリド																						
【SIM】 定量イオン ( <i>m/z</i> )	171.0	173.0	347.0																						
【SIM】 定性イオン ( <i>m/z</i> )	173.0	175.0	209.0																						
【SRM】 定量イオン ( <i>m/z</i> )	171.0→100.1 [CE 24 eV]	89.0→173.0 [CE 9 eV]	209.0→182.1 [CE 18 eV]																						
【SRM】 定性イオン ( <i>m/z</i> )	171.0→136.1 [CE 15 eV]	173.0→145.0 [CE15eV]	347.0→172.1 [CE 27 eV]																						
保持時間 (min)	8.2	10.8	13.6																						



LC-MS/MS

LC 条件																					
カラム	XTerra MS C18 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3.5 μm : Waters 製)																				
移動相流速 (mL/min)	0.20																				
注入量 (μL)	5																				
カラム温度 (°C)	40																				
移動相	A 液 : 0.1 vol% ギ酸 B 液 : 5mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液																				
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間(分)</th> <th>A 液(%)</th> <th>B 液(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>14.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>19.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>19.01</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>23.0</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>			時間(分)	A 液(%)	B 液(%)	0.0	90	10	14.0	10	90	19.0	10	90	19.01	90	10	23.0	90	10
時間(分)	A 液(%)	B 液(%)																			
0.0	90	10																			
14.0	10	90																			
19.0	10	90																			
19.01	90	10																			
23.0	90	10																			
MS 条件																					
測定モード	SRM、選択反応モニタリング (ブランクのスキャン測定範囲 50~1000 amu)																				
イオン化モード	ESI (+)																				
キャピラリ電圧 (V)	1000																				
ソース温度(°C)	150																				
脱溶媒温度(°C)	300																				
コーンガス	窒素、50 L/hr																				
脱溶媒ガス	窒素、900 L/hr																				
コリジョンガス	アルゴン																				
モニターイオン等	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>ジクロベニル</th> <th>BAM</th> <th>フルオピコリド</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>【SRM】 定量イオン (m/z)</td> <td>—</td> <td>189.9→173.0 [CV 40V、 CE20 eV]</td> <td>383.0→173.1 [CV 40V、 CE 20 eV]</td> </tr> <tr> <td>【SRM】 定性イオン (m/z)</td> <td>—</td> <td>189.9→108.9 [CV 40V、 CE 35 eV]  189.9→145.0 [CV 40V、 CE 25 eV]</td> <td>385.0→174.9 [CV 40V、 CE 20 eV]  383.0→365.2 [CV 40V、 CE 15 eV]</td> </tr> <tr> <td>保持時間 (min)</td> <td>—</td> <td>6.0</td> <td>13.1</td> </tr> </tbody> </table>				ジクロベニル	BAM	フルオピコリド	【SRM】 定量イオン (m/z)	—	189.9→173.0 [CV 40V、 CE20 eV]	383.0→173.1 [CV 40V、 CE 20 eV]	【SRM】 定性イオン (m/z)	—	189.9→108.9 [CV 40V、 CE 35 eV]  189.9→145.0 [CV 40V、 CE 25 eV]	385.0→174.9 [CV 40V、 CE 20 eV]  383.0→365.2 [CV 40V、 CE 15 eV]	保持時間 (min)	—	6.0	13.1		
	ジクロベニル	BAM	フルオピコリド																		
【SRM】 定量イオン (m/z)	—	189.9→173.0 [CV 40V、 CE20 eV]	383.0→173.1 [CV 40V、 CE 20 eV]																		
【SRM】 定性イオン (m/z)	—	189.9→108.9 [CV 40V、 CE 35 eV]  189.9→145.0 [CV 40V、 CE 25 eV]	385.0→174.9 [CV 40V、 CE 20 eV]  383.0→365.2 [CV 40V、 CE 15 eV]																		
保持時間 (min)	—	6.0	13.1																		
CV ; コーン電圧、CE ; コリジョンエネルギー																					

## GC-ECD

カラム	DB-1701P(内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm: Agilent Technologies 製)
カラム温度(°C)	80°C(2 min)–20°C/min–280°C(15 min)
注入口温度(°C)	250
検出器温度(°C)	290
キャリアーガス	ヘリウム
キャリアーガス流量 (線速度 cm/sec)	37.0
メイクアップガス	窒素
メイクアップガス流量 (mL/min)	30
注入法	スプリットレス、高圧注入 200kPa
注入量(μL)	2
保持時間(min)	ジクロベニル 8.4、BAM 11.2、フルオピコリド 14.9

### 5. 定量

各化合物の標準品 20 mg を精秤し、アセトンに溶解して 1,000 mg/L 溶液(標準原液)を調製した。

標準原液を 0.5 w/v% ジエチレングリコール・アセトン溶液で希釈して、0.005、0.01、0.015、0.02、0.025、0.03 mg/L の濃度の溶液を調製した。ただし、高濃度添加時は、ばれいしよの場合 0.025~0.15 mg/L、ばれいしよ以外の場合 0.05~0.3 mg/L の濃度の溶液を調製した。この溶液 1 μL (GC-ECD の場合 2 μL、以下同様) を GC-MS(MS) または GC-ECD に注入して、得られたピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 1 μL を GC-MS(MS) または GC-ECD に注入し、検量線から絶対検量線法により各化合物の含量を算出した。

または、標準原液を水及びメタノール(1:1)混液で希釈して、0.001、0.002、0.003、0.004、0.005、0.006 mg/L の濃度の溶液を調製した。ただし、高濃度添加時は、ばれいしよの場合 0.005~0.03 mg/L、ばれいしよ以外の場合 0.01~0.06 mg/L の濃度の溶液を調製した。この溶液 5 μL を LC-MS/MS に注入して、得られたピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 5 μL を LC-MS/MS に注入し、検量線から絶対検量線法により各化合物の含量を算出した。

### 6. 添加試料の調製

低濃度(添加濃度:0.01 ppm)の場合:試料 20.0 g に添加用標準溶液(0.2 mg/L)1 mL を添加し、30 分間放置した。

高濃度(基準値濃度)の場合:試料 20.0 g に、以下のとおり添加用標準溶液を添加し、30 分間放置した。

ばれいしよ:添加用標準溶液(1 mg/L)1 mL を添加(添加濃度:0.05 ppm)

キャベツ:添加用標準溶液(100 mg/L)1 mL を添加(添加濃度:5 ppm)

ほうれんそう:添加用標準溶液(250 mg/L)2 mL を添加(添加濃度:25 ppm)

りんご:添加用標準溶液(2 mg/L)1 mL を添加(添加濃度:0.1 ppm)

ぶどう:添加用標準溶液(100 mg/L)0.4 mL を添加(添加濃度:2 ppm)

### 7. 試験溶液の調製

#### 概要

各化合物を試料からアセトンで抽出し、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン(7:3)混液に転溶する。グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製した後、GC-ECD、GC-MS または GC-MS/MS で定量及び確認した。2,6-ジクロロベンズアミド及びフルオピコリドは LC-MS/MS でも定量及び確

認した。

#### (1) 抽出

果実及び野菜の場合は試料 20.0 g にアセトン 100 mL を加え、2 分間ホモジナイズした後、ケイソウ土を約 1 cm の厚さに敷いたガラスろ過器を用いて吸引ろ過した。ろ過器上の残留物にアセトン 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に 200 mL とした。この 40 mL を採り、35°C 以下で 5~6 mL 程度に濃縮した。これに 10 w/v% 塩化ナトリウム溶液 30 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン(7:3) 混液 30 mL で 2 回振とう抽出した。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、ガラスウールを詰めたロートを用いて無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液に 2 w/v% ジエチレングリコール・アセトン溶液 0.5 mL を加えて 35°C 以下で約 1 mL まで濃縮した後、緩やかに窒素気流を吹き付けて溶媒を除去した。この残留物にアセトニトリル 2 mL を加えて溶かした。

#### (2) 精製

グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (InertSep GC/PSA (500 mg / 500 mg / 6 mL)) にアセトニトリル 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに(1)で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル 15 mL を注入し、溶出液を 35°C 以下で約 1 mL まで濃縮した後、緩やかに窒素気流を吹き付けて溶媒を除去した。この残留物にアセトン 2 mL を正確に加えて溶かしたものを GC 用試験溶液とした。GC 用試験溶液 0.2 mL をとり、水及びメタノール(1:1) 混液を加えて正確に 1 mL としたものを LC 用試験溶液とした。

[分析法フローチャート]

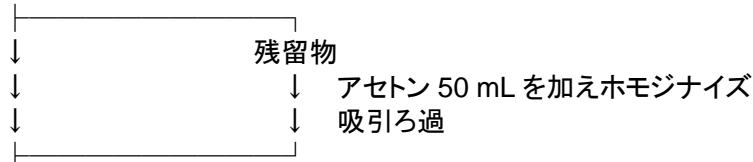
秤 取

↓ 野菜、果実: 試料 20.0 g

アセトン抽出

↓ アセトン 100 mL を加えホモジナイズ 2 分間

↓ 吸引ろ過



ろ 液

↓ 定 容 ←アセトンで 200 mL 定容

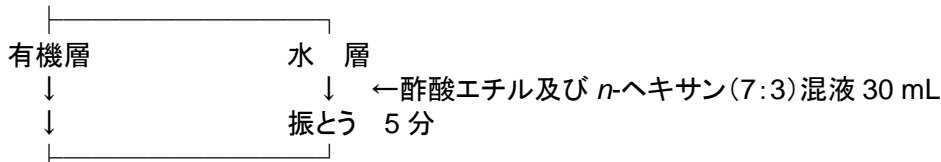
↓ 40 mL 分取

↓ 減圧濃縮 35°C以下 5~6 mL まで

↓ ←10 w/v%塩化ナトリウム溶液 30 mL

↓ ←酢酸エチル及び *n*-ヘキサン(7:3)混液 30 mL

振とう 5分



有機層

↓ 脱 水 ←無水硫酸ナトリウム

↓ ←2 w/v%ジエチレングリコール・アセトン溶液 0.5 mL

↓ 溶媒除去 減圧濃縮(35°C以下)後、緩やかに窒素気流吹きつけ

↓ ←アセトニトリル 2 mL

抽出液

グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム

↓ (InertSep GC/PSA(500 mg / 500 mg / 6 mL))

↓ ←コンディショニング:アセトニトリル 10 mL

↓ ←抽出液を負荷

↓ ←アセトニトリル 15 mL を注入(うち、2 mL×3 回濃縮容器洗い込み)

溶出液

↓ 溶媒除去 減圧濃縮(35°C以下)後、緩やかに窒素気流吹きつけ

↓ ←アセトン 2 mL

GC 用試験溶液

0.2 mL 分取

↓ ←水及びメタノール(1:1)混液で 1 mL 定容

LC 用試験溶液

8. マトリックス添加標準溶液の調製

ブランク試料の GC 用試験溶液調製において、ミニカラム精製、溶媒除去後にアセトン 2 mL を加えて溶解する操作にかえて、各検討対象食品の添加回収試験における回収率 100%相当濃度の溶媒標準溶液(アセトン

溶液)2 mL を加えて溶解したものを GC 用マトリックス添加標準溶液とした。また、GC 用マトリックス添加標準溶液 0.2 mL をとり、水及びメタノール(1:1)混液で 1 mL としたものを LC 用マトリックス添加標準溶液とした。

## 【結果及び考察】

### 1. GC-MS(/MS)測定条件の検討

#### (1)MS(/MS)条件の検討

各化合物のマススペクトル及びプロダクトイオンスペクトルを図 1 及び図 2 に示した。

図 1 から、SIM 測定では、各化合物とも最も強度の高いイオン(ジクロベニル; $m/z$  171、BAM; $m/z$  173、フルオピコリド; $m/z$  347)を定量用を選択した。定性用には、次いで強度の高いイオン(ジクロベニル; $m/z$  173、BAM; $m/z$  175、フルオピコリド; $m/z$  209)を選択した。

また、SRM 条件について、プリカーサーイオンを、ジクロベニルは  $m/z$  171 または  $m/z$  173、BAM は  $m/z$  173、 $m/z$  175 または  $m/z$  189、フルオピコリドは  $m/z$  209、 $m/z$  347 または  $m/z$  349 とし、コリジョンエネルギーを変更して検討した。各化合物とも最も強度が高い条件を定量用に、次いで強度の高い条件を定性用を選択し、それぞれ、ジクロベニルは  $m/z$  171.0→100.1 を定量用、 $m/z$  171.0→136.1 を定性用、BAM は  $m/z$  189.0→173.0 を定量用、 $m/z$  173.0→145.0 を定性用、フルオピコリドは  $m/z$  209.0→182.1 を定量用、 $m/z$  347.0→172.1 を定性用とした。

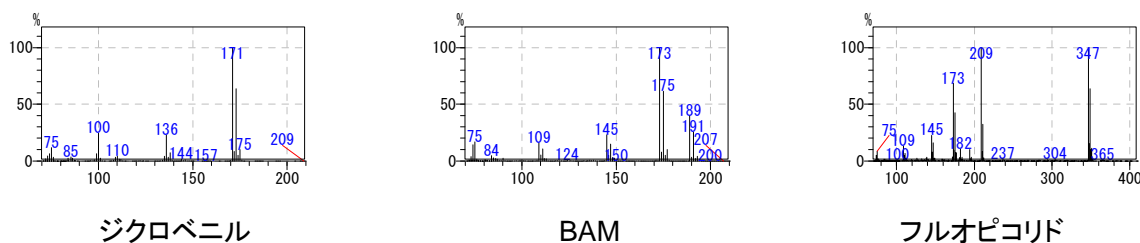


図 1 各化合物のマススペクトル スキャン範囲: 70~460 amu

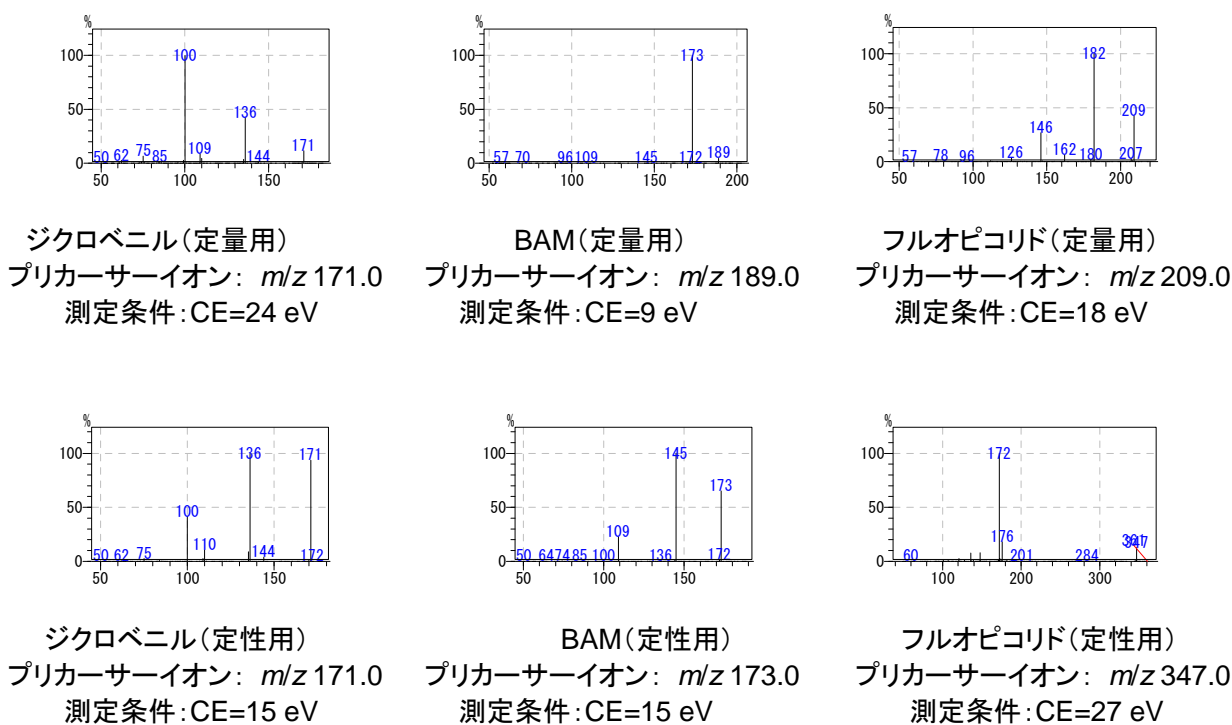


図 2 各化合物のプロダクトイオンスペクトル (CE: collision energy)

## (2) GC 条件の検討

分析カラムについて、Rxi-5Sil MS(内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ :Restek 製)を用いて検討した。ジクロベニル及びフルオピコリドについては、概ね良好なピーク形状が得られたが、BAMはピークがブロードになり、カラムへの吸着が推測された。カラムをDB-17MS(内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ :Agilent Technologies 製)にかえたところ、3 化合物とも良好なピーク形状が得られたことから、DB-17MSを用いて検討を進めることとした。

## (3) 検量線

図 3~8 に SIM 測定による各化合物の検量線の例を、図 9~14 に SRM 測定による各化合物の検量線の例をそれぞれ示した。0.005~0.03 mg/L 及び 0.05~0.3 mg/L の濃度範囲で作成した検量線の決定係数は、いずれも 0.99 以上であり良好な直線性を示した。

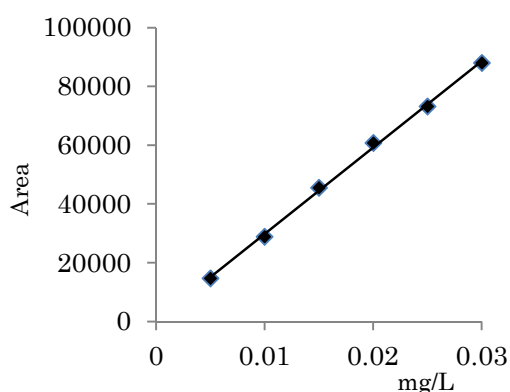


図 3 ジクロベニル検量線の例(低濃度)  
(GC-MS(SIM)測定)  
 $y = 2952255x + 504.3$   
 $r^2 = 0.9968$

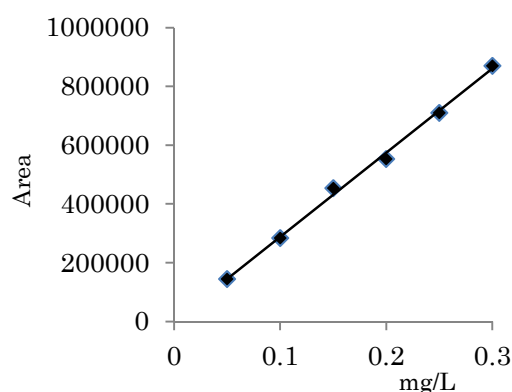


図 4 ジクロベニル検量線の例(高濃度)  
(GC-MS(SIM)測定)  
 $y = 2851120x - 20.37$   
 $r^2 = 0.9957$

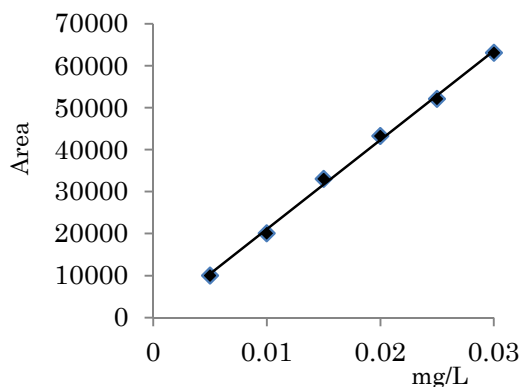


図 5 BAM 検量線の例(低濃度)  
(GC-MS(SIM)測定)  
 $y = 2132927x - 90.85$   
 $r^2 = 0.9957$

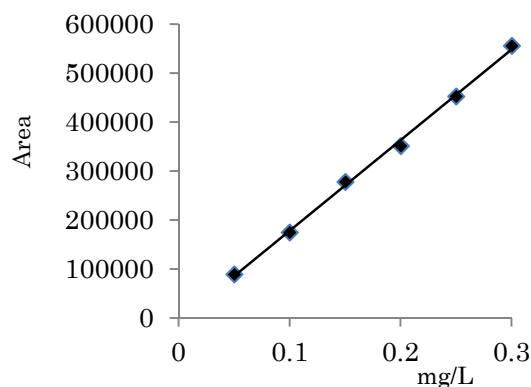


図 6 BAM 検量線の例(高濃度)  
(GC-MS(SIM)測定)  
 $y = 1844965x - 8516.8$   
 $r^2 = 0.9972$

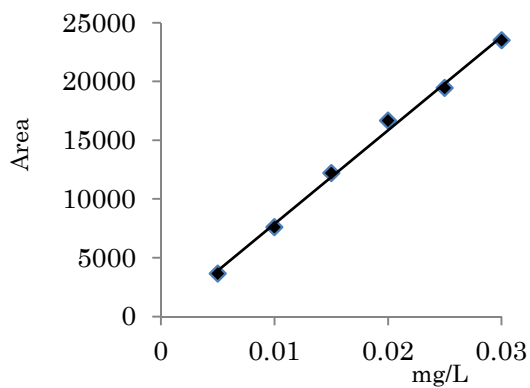


図7 フルオピコリド検量線の例(低濃度)  
(GC-MS(SIM)測定)  
 $y = 800523x - 20.90$   
 $r^2 = 0.9929$

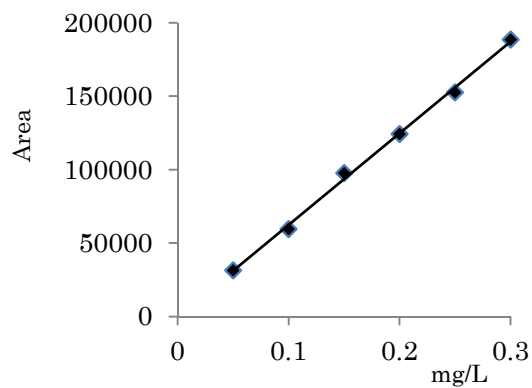


図8 フルオピコリド検量線の例(高濃度)  
(GC-MS(SIM)測定)  
 $y = 623251x - 326.8$   
 $r^2 = 0.9976$

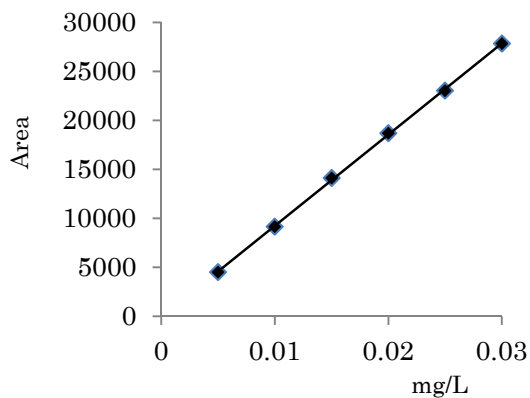


図9 ジクロベニル検量線の例(低濃度)  
(GC-MS/MS(SRM)測定)  
 $y = 934713x - 58.02$   
 $r^2 = 0.9985$

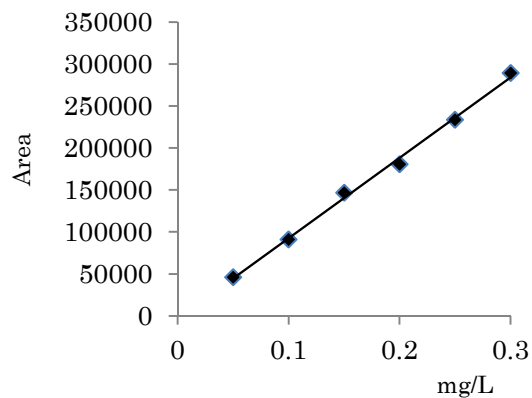


図10 ジクロベニル検量線の例(高濃度)  
(GC-MS/MS(SRM)測定)  
 $y = 954399x - 3899.4$   
 $r^2 = 0.9953$

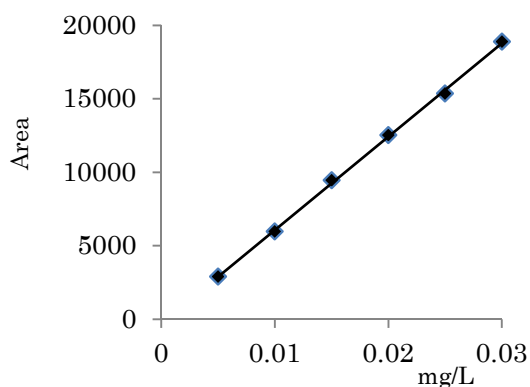


図11 BAM 検量線の例(低濃度)  
(GC-MS/MS(SRM)測定)  
 $y = 637226x - 271.0$   
 $r^2 = 0.9987$

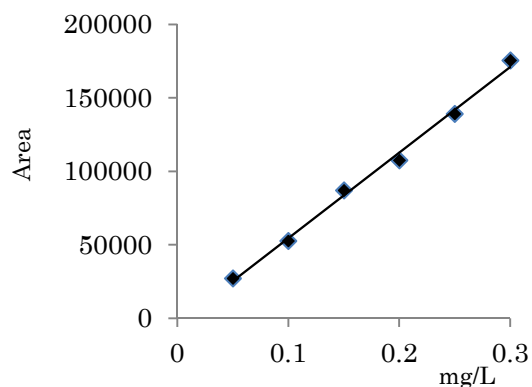


図12 BAM 検量線の例(高濃度)  
(GC-MS/MS(SRM)測定)  
 $y = 580987x - 4369.5$   
 $r^2 = 0.9935$

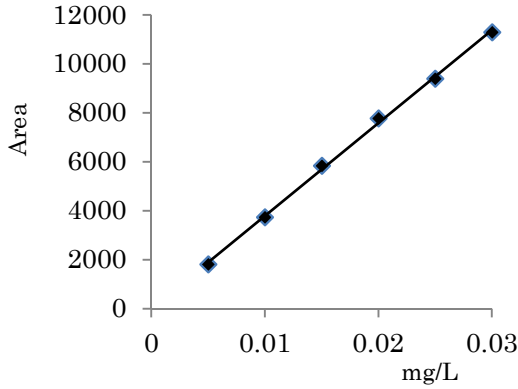


図 13 フルオピコリド検量線の例(低濃度)  
(GC-MS/MS(SRM)測定)  
 $y = 380694x + 18.76$   
 $r^2 = 0.9973$

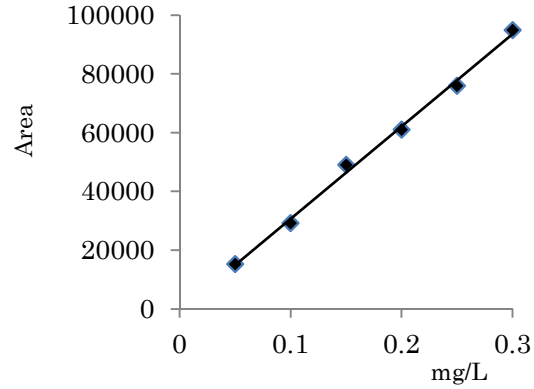


図 14 フルオピコリド検量線の例(高濃度)  
(GC-MS/MS(SRM)測定)  
 $y = 313666x - 891.0$   
 $r^2 = 0.9960$

#### (4) 定量限界

定量限界の算出結果を以下に示した。

$$0.01 \text{ mg/kg} \left[ \frac{\text{試験溶液量 (2 mL)}}{\text{試験溶液中の試料量 (2 g)}} \times \frac{\text{分析対象化合物の定量限界相当量 (0.02 ng)}}{\text{注入量 (1 } \mu\text{L)}} \right]$$

#### 2. GC-ECD 測定条件の検討

分析対象の各化合物はいずれも構造式に塩素が含まれており、ECD による検出も可能と考えられたことから、ECD による測定も試みた。分析カラムは、DB-1701P(内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ : Agilent Technologies 製)を用いた。

図 15~20 に各化合物の検量線の例を示した。0.005~0.03 mg/L 及び 0.05~0.3 mg/L の濃度範囲で作成した検量線の決定係数は、いずれも 0.99 以上であり良好な直線性を示した。

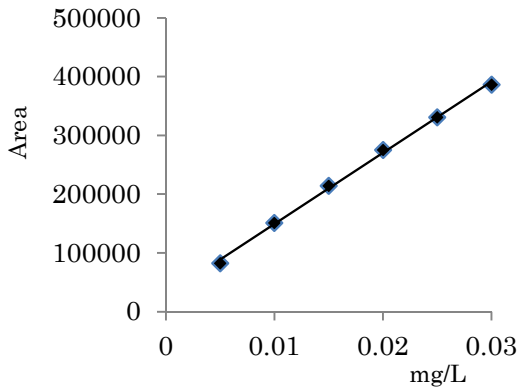


図 15 ジクロベニル検量線の例(低濃度)  
(GC-ECD 測定)  
 $y = 12285987x + 25110$   
 $r^2 = 0.9979$

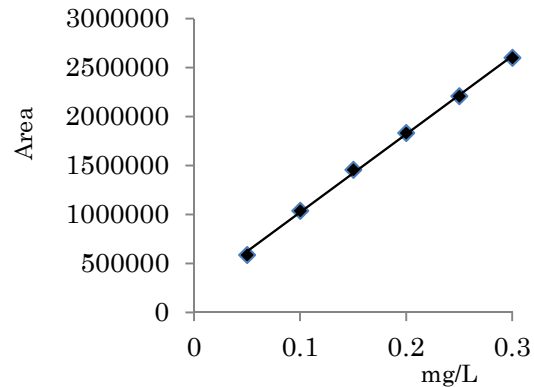


図 16 ジクロベニル検量線の例(高濃度)  
(GC-ECD 測定)  
 $y = 7989890x + 223473$   
 $r^2 = 0.9987$



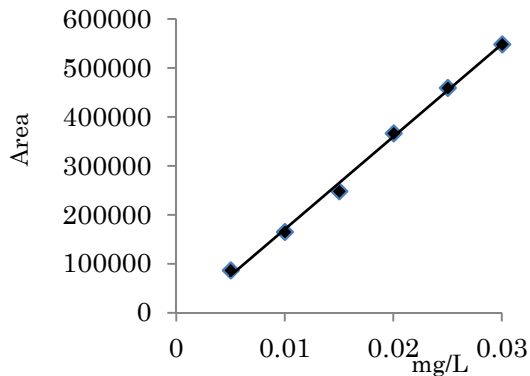


図 17 BAM 検量線の例(低濃度)  
(GC-ECD 測定)  
 $y = 1875117x - 14140$   
 $r^2 = 0.9971$

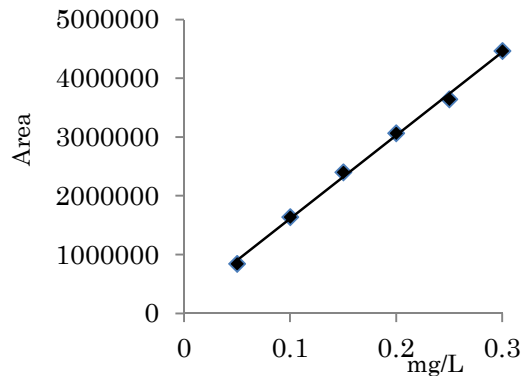


図 18 BAM 検量線の例(高濃度)  
(GC-ECD 測定)  
 $y = 14191371x + 194124$   
 $r^2 = 0.9975$

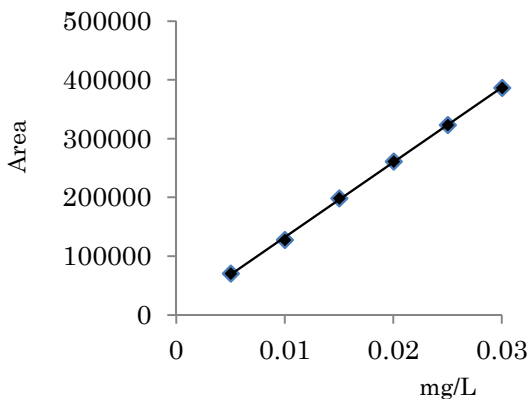


図 19 フルオピコリド検量線の例(低濃度)  
(GC-ECD 測定)  
 $y = 12706209x + 5932.4$   
 $r^2 = 0.9996$

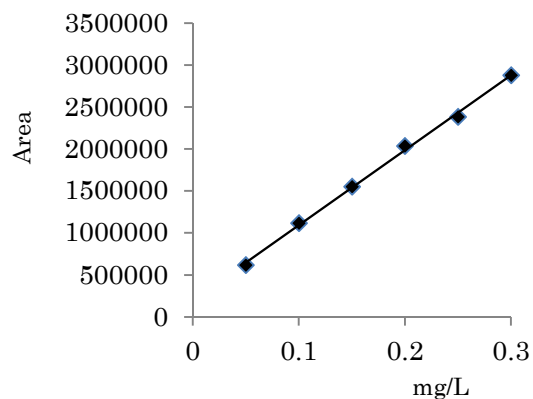


図 20 フルオピコリド検量線の例(高濃度)  
(GC-ECD 測定)  
 $y = 8957235x + 203999$   
 $r^2 = 0.9969$

GC-ECD による定量限界の算出結果を以下に示した。

$$0.01 \text{ mg/kg} \left[ \frac{\text{[試験溶液量(2 mL)]}}{\text{[試験溶液中の試料量(2 g)]}} \times \frac{\text{[分析対象化合物の定量限界相当量(0.02 ng)]}}{\text{[注入量(2 } \mu\text{L)]}} \right]$$

### 3. LC-MS/MS 測定条件の検討

#### (1) MS 条件の検討

MS 条件についてインフュージョン測定により検討した。

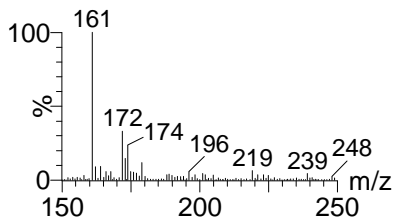
ジクロベニルは、ESI ではイオンを確認できなかった。APCI ではイオンを確認できたが、非常に感度が悪く、他の 2 物質と同時に測定するのは困難と考えられた。

BAM は、ESI(+)モードでコーン電圧 40 V とした場合に、プロトン付加分子( $m/z$  189.9  $[M+H]^+$ )を良好に検出できたため、これをプリカーサーイオンとした。

フルオピコリドは、ESI(+)モードでコーン電圧 40 V とした場合に、プロトン付加分子( $m/z$  383.0  $[M+H]^+$ )及び塩素の同位体由来するプロトン付加分子( $m/z$  385.0  $[M+H]^+$ )を良好に検出できたため、これらをプリカーサーイオンとした。

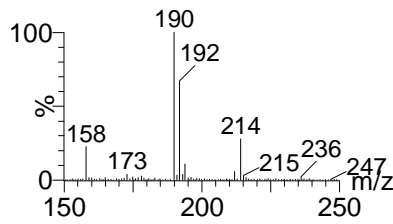
各化合物のプリカーサーイオンについて、コリジョンエネルギーを変えてプロダクトイオンを確認した。それぞれイオン強度の高いものから定量イオン、定性イオンを選択し、BAM は  $m/z$  +189.9→173.0 を定量用、 $m/z$  +189.9→108.9 及び  $m/z$  +189.9→145.0 を定性用、フルオピコリドは  $m/z$  +383.0→173.1 を定量用、 $m/z$  +383.0→365.2 及び  $m/z$  +385.0→174.9 を定性用とした。

図 21 に各化合物のマススペクトル、図 22 に各化合物のプロダクトイオンスペクトルを示した。



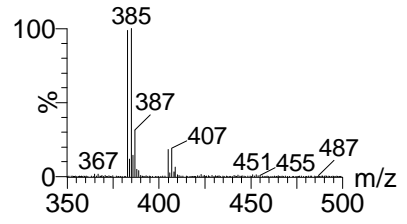
ジクロベニル

スキャン範囲: 150~250 amu  
測定条件: APCI(+), CV=70 V  
コロナ電流 0.7μA



BAM

スキャン範囲: 150~250 amu  
測定条件: ESI(+), CV=40 V

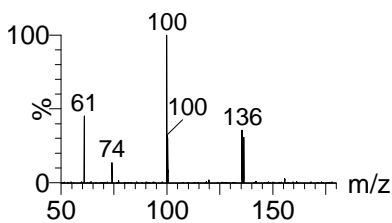


フルオピコリド

スキャン範囲: 350~500 amu  
測定条件: ESI(+), CV=40 V

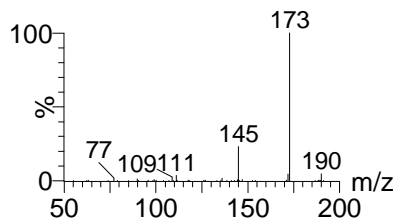
図 21 各化合物のマススペクトル

(CV: corn voltage)



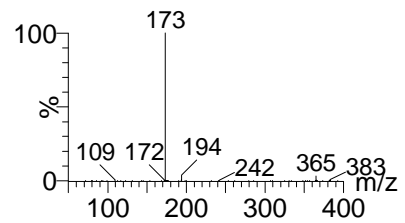
ジクロベニル

プリカーサーイオン:  $m/z$  172.0  
測定条件: APCI(+), CV=70 V  
CE=25 eV, コロナ電流 0.7μA



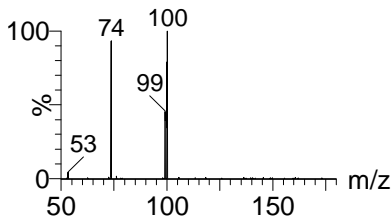
BAM

プリカーサーイオン:  $m/z$  189.9  
測定条件: ESI(+), CV=40 V  
CE=20 eV



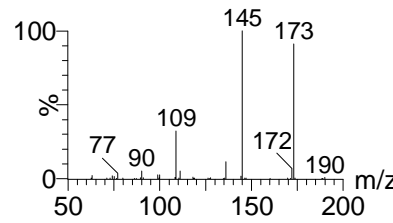
フルオピコリド

プリカーサーイオン:  $m/z$  383.0  
測定条件: ESI(+), CV=40 V  
CE=20 eV



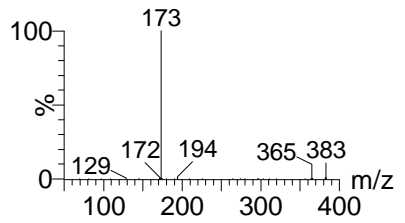
ジクロベニル

プリカーサーイオン:  $m/z$  172.0  
測定条件: APCI(+), CV=70 V  
CE=35 eV, コロナ電流 0.7μA



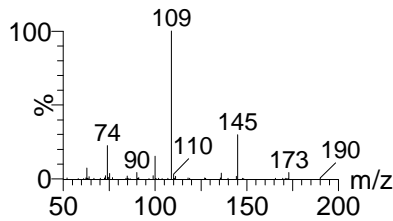
BAM

プリカーサーイオン:  $m/z$  189.9  
測定条件: ESI(+), CV=40 V  
CE=25 eV



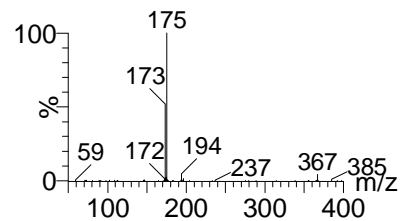
フルオピコリド

プリカーサーイオン:  $m/z$  383.0  
測定条件: ESI(+), CV=40 V  
CE=15 eV



BAM

プリカーサーイオン:  $m/z$  189.9  
測定条件: ESI(+), CV=40 V  
CE=25 eV



フルオピコリド

プリカーサーイオン:  $m/z$  385.0  
測定条件: ESI(+), CV=40 V  
CE=15 eV

図 22 各化合物のプロダクトイオンスペクトル

(CV: corn voltage, CE: collision energy)

## (2) LC 条件の検討

分析カラムについて、XTerra MS C18(内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3.5  $\mu\text{m}$ : Waters 製)を用いて検討を行った。移動相条件について、A 液に 5 mM 酢酸アンモニウム溶液または 0.1 vol%ギ酸、B 液に 5 mM 酢酸アンモニウム・メタノール溶液、5 mM ギ酸アンモニウム・メタノール溶液、0.1 vol%ギ酸・メタノール溶液、メタノールまたはアセトニトリルを用いてグラジエント条件を検討した。その結果、BAM、フルオピコリドともに、0.1 vol%ギ酸と 5 mM 酢酸アンモニウム・メタノール溶液によるグラジエント条件で最も良好なイオン強度が得られたため、この条件を採用した。この条件で、ジクロベニルは 0.5 mg/L で痕跡が確認できる程度の感度しか得られなかったため、ジクロベニルについては LC-MS/MS による測定を断念した。

なお、標準液をメタノールで調製した場合、BAM のピークにリーディングが見られたため、標準液及び試験溶液を水及びメタノール(1:1)混液で調製することとした。

## (3) 検量線

図 23~26 に BAM 及びフルオピコリドの検量線の例を示した。0.001~0.006 mg/L、0.01~0.06 mg/L の濃度範囲で作成した検量線の決定係数は、いずれも 0.99 以上であり良好な直線性を示した。

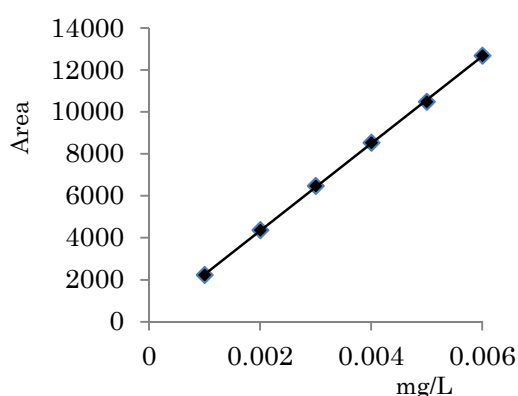


図 23 BAM 検量線の例(低濃度)  
(LC-MS/MS 測定)  
 $y = 2068543x + 163.87$   
 $r^2 = 0.9993$

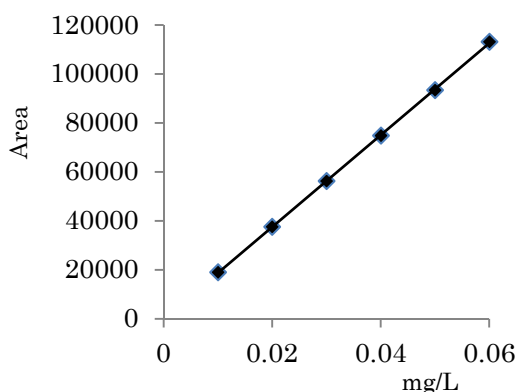


図 24 BAM 検量線の例(高濃度)  
(LC-MS/MS 測定)  
 $y = 1874390x - 143.17$   
 $r^2 = 0.9999$

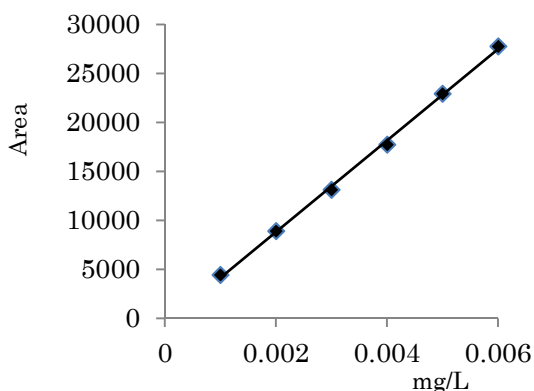


図 25 フルオピコリド検量線の例(低濃度)  
(LC-MS/MS 測定)  
 $y = 4700927x - 462.44$   
 $r^2 = 0.9966$

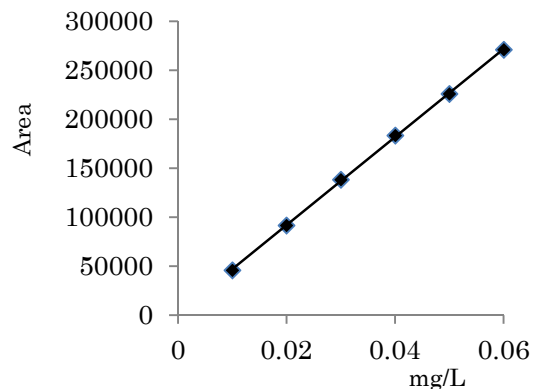


図 26 フルオピコリド検量線の例(高濃度)  
(LC-MS/MS 測定)  
 $y = 4491663x + 1630.26$   
 $r^2 = 0.9998$

## (4) 定量限界

定量限界の算出結果を以下に示した。

$$0.01 \text{ mg/kg} \left[ \left[ \frac{\text{試験溶液量}(1 \text{ mL})}{\text{試験溶液中の試料量}(0.4 \text{ g})} \right] \times \left[ \frac{\text{分析対象化合物の定量限界相当量}(0.004 \text{ ng})}{\text{注入量}(5 \text{ } \mu\text{L})} \right] \right]$$

#### 4. 試験溶液調製法の検討

##### (1) 揮散防止剤の検討

ジクロベニルは蒸気圧が高いので、濃縮時に揮散しやすい。既存のジクロベニル試験法<sup>1)</sup>では、濃縮操作の際2%ジエチレングリコール・アセトン溶液(以下、DEG 溶液)を添加している。そこで、DEG 溶液添加の効果の確認とともに、他の揮散防止剤として *n*-ノナンを添加した場合について検討した(表 1~2)。

濃縮する溶媒がアセトンや酢酸エチルの場合は、DEG 溶液添加、*n*-ノナン添加とも、ジクロベニルの揮散を防止できた。しかし、溶媒がアセトニトリルの場合は、*n*-ノナン添加ではジクロベニルの揮散防止効果は十分でなかった。このため、揮散防止剤として DEG 溶液を添加することとした。

窒素気流による溶媒除去を行った場合、DEG 存在下であっても、過剰に気流を吹き付けるとジクロベニルの回収率が低下することがあった。窒素気流による溶媒除去を行う場合は、緩やかな気流を用いて、溶媒が概ね除去できたら直ちに終了することとした。

表 1 揮散防止剤添加の効果 (1)

	溶媒: アセトン		
	揮散防止剤 無添加	DEG 溶液 0.5mL 添加	<i>n</i> -ノナン 0.2mL 添加
ジクロベニル	54 (26)	97 (2.6)	99 (2.5)
BAM	90 (1.7)	108 (1.1)	110 (2.4)
フルオピコリド	93 (6.1)	119 (4.1)	141 (2.8)

溶媒 10mL に標準 1 $\mu$ g 添加、35°C、約 12kPa で約 1mL まで減圧濃縮後、アセトン 5mL 定容  
n=3、回収率%(相対標準偏差%)

表 2 揮散防止剤添加の効果 (2)

	溶媒: 酢酸エチル			溶媒: アセトニトリル		
	揮散防止剤 無添加	DEG 溶液 0.5mL 添加	<i>n</i> -ノナン 0.2mL 添加	揮散防止剤 無添加	DEG 溶液 0.5mL 添加	<i>n</i> -ノナン 0.2mL 添加
ジクロベニル	25	94 (6.0)	122 (4.5)	13	110 (0.3)	30 (68)
BAM	120	103 (2.9)	134 (5.3)	110	119 (2.4)	118 (1.5)
フルオピコリド	120	108 (5.5)	139 (3.0)	108	134 (1.3)	139 (6.5)

溶媒 20mL に標準 0.1 $\mu$ g 添加、35°C、約 12kPa で約 1mL まで減圧濃縮後、窒素気流により溶媒除去、アセトン 1mL 定容

揮散防止剤無添加は n=1、他は n=3、回収率%(相対標準偏差%)

なお、標準 1  $\mu$ g/mL 溶液 1 mL に DEG 溶液を添加して溶媒を除去した後、*n*-ヘキサン 1 mL に再溶解する操作を試みたところ、BAM の回収率が約 5%と低い値となった。このことから、溶媒除去操作後に再溶解する場合、使用する溶媒は *n*-ヘキサンは避けるべきと考えられた。

また、GC-MS 測定、GC-MS/MS 測定において、アセトンで調製した標準液と、0.5%ジエチレングリコールを含むアセトンで調製した標準液(いずれも 0.05 mg/L)を比較したところ、前者に対する後者の面積値はジクロベニル 0.96 倍、BAM 1.2 倍、フルオピコリド 1.3 倍であった。試料液に残存するジエチレングリコールが定量値に影響を与えると考えられたため、検量線用標準液に試料液と同等の濃度となるようジエチレングリコールを添加することとした。

(2) 抽出方法の検討

抽出溶媒について、アセトン及びアセトニトリルについて検討した。ほうれんそうについて、[実験方法]7. 試験溶液の調製方法に従ってアセトン抽出した場合と、通知一斉試験法に従ってアセトニトリル抽出して塩析し、DEG 溶液を加えて濃縮した後[実験方法]7. 試験溶液の調製方法に従って精製したものを比較した。その結果、両者に明確な差は認められず、抽出溶媒はアセトン、アセトニトリルのいずれも使用可能と考えられた。しかし、ぶどうでは、アセトニトリル抽出の場合、抽出液が二層に分離することがあったため、抽出液分取の際に注意が必要であり、アセトン抽出の方がより適していると考えられた。このため抽出溶媒はアセトンを選択した。

(3) 転溶溶媒の検討

各標準1µgを10 w/v%塩化ナトリウム溶液 30 mLに添加し、*n*-ヘキサン、酢酸エチルまたはこれらの混液 30 mLでそれぞれ1回振とう抽出を行い、無水硫酸ナトリウムで脱水後、DEG 溶液 0.5mLを加えて濃縮、アセトンで5mLとして測定した(表3)。

ジクロベニル及びフルオピコリドは*n*-ヘキサンの良好に回収可能であったが、BAMは*n*-ヘキサンではほとんど回収できなかった。表3の結果から、BAMは酢酸エチル及び*n*-ヘキサン混液(7:3)を用いて2回転溶操作を行うことで、98%が回収できると推測でき、この条件を選択することとした。

表3 転溶溶媒の検討 (n=3) 回収率%(相対標準偏差%)

	<i>n</i> -ヘキサン	酢酸エチル/ <i>n</i> -ヘキサン(1:1)	酢酸エチル/ <i>n</i> -ヘキサン(7:3)	酢酸エチル
ジクロベニル	90 (0.9)	89 (3.4)	85 (2.8)	83 (4.7)
BAM	1.7 (43)	81 (3.0)	87 (2.5)	97 (1.2)
フルオピコリド	115 (3.4)	106 (5.5)	103 (2.1)	115 (1.0)

1 µg/ 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 30 mLを溶媒 30 mLで1回振とう抽出

(4) 脱脂方法の検討

今回の検討対象とした試料には脱脂操作が必要なものはないが、参考として、アセトニトリル/ヘキサン分配による脱脂方法を検討した。各化合物 1 µgを、*n*-ヘキサン 30 mLに溶解し、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mLで2回抽出を行った。このときのアセトニトリル層及び抽出後の*n*-ヘキサン層にそれぞれDEG 溶液 0.5 mLを加えて濃縮し、アセトン定容して測定した。結果を表4に示した。BAM及びフルオピコリドは、2回の抽出でほぼ回収できた。ジクロベニルは2回の合計で84%とやや低い回収率となったが、2回抽出後の*n*-ヘキサン層にジクロベニルがほとんど残存していなかったことから、濃縮時に若干損失したものと考えられ、ジクロベニルについても2回の抽出でほぼ回収可能と推測した。

表4 アセトニトリル/ヘキサン分配の検討結果(回収率(%))

	<i>n</i> -ヘキサン飽和アセトニトリル			2回抽出後の <i>n</i> -ヘキサン層
	30 mL (1回目)	30 mL (2回目)	合計	
ジクロベニル	76	7.2	84	0.7
BAM	94	0.6	95	0
フルオピコリド	90	2.1	92	0

1 µg/ *n*-ヘキサン 30 mLを振とう抽出、n=3の平均値

(5) カラム精製の検討

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム [InertSep FL-PR (1,000 mg / 6 mL)]、シリカゲルミニカラム [InertSep SI (500 mg / 6 mL)]、エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム [InertSep PSA (500 mg / 6 mL)]による精製について検討した。カラムをそれぞれ*n*-ヘキサン 10 mLで予備洗浄した後、

各化合物 10 mg/L *n*-ヘキサン溶液 0.1 mL を負荷し、*n*-ヘキサン及び含有比率の異なるアセトン及び *n*-ヘキサン混液で順次溶出したときの溶出状況を表 5~7 に示した。3 種のカラム全てで、ジクロベニル及びフルオピコリドと BAM とで溶出挙動が異なったため、3 化合物を同時に回収し、かつ十分な精製効果を得ることは難しいと考えられた。

表 5 合成ケイ酸マグネシウムミニカラムからの各化合物の溶出状況 (回収率 (%))

	<i>n</i> -ヘキサン	アセトン/ <i>n</i> -ヘキサン (1:19)		アセトン/ <i>n</i> -ヘキサン (1:9)		アセトン/ <i>n</i> -ヘキサン (1:4)		合計
	0-5 mL (負荷時含む)	0-5 mL	5-10 mL	0-5 mL	5-10 mL	0-5 mL	5-10 mL	
ジクロベニル	18	83	0.3	0	0	0	0	101
BAM	0	0	0	7.2	65	50	1.6	124
フルオピコリド	0	71	40	0.9	0	0	0	112

負荷量: 1 µg (*n*-ヘキサン 0.1 mL に溶解)

表 6 シリカゲルミニカラムからの各化合物の溶出状況 (回収率 (%))

	<i>n</i> -ヘキサン	アセトン/ <i>n</i> -ヘキサン (1:19)		アセトン/ <i>n</i> -ヘキサン (1:9)		アセトン/ <i>n</i> -ヘキサン (1:4)		合計
	0-5 mL (負荷時含む)	0-5 mL	5-10 mL	0-5 mL	5-10 mL	0-5 mL	5-10 mL	
ジクロベニル	0	93	0	0	0	0	0	93
BAM	0	0	0	0	0	49	54	103
フルオピコリド	0	0.5	95	0	0	0	0	96

負荷量: 1 µg (*n*-ヘキサン 0.1 mL に溶解)

表 7 エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムからの各化合物の溶出状況 (回収率 (%))

	<i>n</i> -ヘキサン	アセトン/ <i>n</i> -ヘキサン (1:19)		アセトン/ <i>n</i> -ヘキサン (1:9)		アセトン/ <i>n</i> -ヘキサン (1:4)		合計
	0-5 mL (負荷時含む)	0-5 mL	5-10 mL	0-5 mL	5-10 mL	0-5 mL	5-10 mL	
ジクロベニル	89	6.0	0	0	0	0	0	95
BAM	0	0	0	0	0	102	0.6	103
フルオピコリド	0	24	73	0	0	0	0	97

負荷量: 1 µg (*n*-ヘキサン 0.1 mL に溶解)

次に、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム [Supelclean ENVI-Carb/LC-NH2 (500 mg / 500 mg / 6 mL)] による精製について検討した。カラムをアセトニトリル及びトルエン (3:1) 混液 10 mL で予備洗浄した後、各化合物 10 mg/L アセトニトリル及びトルエン (3:1) 混液の溶液 0.1 mL を負荷し、アセトニトリル及びトルエン (3:1) 混液で溶出した。その結果、3 化合物ともアセトニトリル及びトルエン (3:1) 混液 5 mL で全量溶出した。

さらに、グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム [InertSep GC/PSA (500 mg / 500 mg / 6 mL)] について同様の検討を行った結果、3 化合物ともアセトニトリル及びトルエン (3:1) 混液 5 mL で全量溶出した。ほうれんそう抽出液を用いて、エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムによる精製効果を確認した結果、トルエン濃度を低くした方がより高い精製効果が得られることがわかったため、アセトニトリルのみで溶出することとした。アセトニトリル溶出とした場合、ジクロベニル及びフルオピコリドは 10 mL、BAM は 5 mL で概ね溶出した (表 8) ことから、溶出液量は 15 mL とすることとした。

なお、ほうれんそう抽出液を用いて検討した結果、試料 20 g に相当する抽出液全量をエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムに負荷すると、夾雑物を十分に保持できなかった。このため、ミニカラムへの負荷量を減らすこととし、測定機器の感度も考慮して、試料 4 g に相当する量の抽出液を精製操作に用いることとした。

表 8 グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムからの各化合物の溶出状況 (回収率(%))

	アセトニトリル				合計
	0-5 mL (負荷時含む)	5-10 mL	10-15 mL	15-20 mL	
ジクロベニル	29	56	0.7	0.1	86
BAM	101	0.2	0	0	101
フルオピコリド	18	87	0.3	0	105

負荷量: 1 µg (アセトニトリル 0.1 mL に溶解)

#### (6)ろ紙への吸着の確認

容器に精製水 20mL をとり、ジクロベニル、BAM 及びフルオピコリドの混合標準液(各 0.5 mg/L アセトニトリル溶液)0.2mL を加え、アセトン 100mL を加えて混和した。この液全量を、ろ紙 5B(90mm)を敷いた桐山ロートで吸引ろ過した。アセトン 50mL で容器を洗い、洗液を前述の桐山ロート及びろ紙で吸引ろ過した。ろ液をあわせ、約 20mL まで減圧濃縮し、アセトニトリルを加えて正確に 25mL とした(①)。①を 10mL とり、10w/v%塩化ナトリウム溶液 50mL を加えて混ぜ、*n*-ヘキサン 50mL 次いで 20mL で抽出した。*n*-ヘキサン層をあわせて無水硫酸ナトリウムで脱水後、DEG 溶液 0.5mL を添加して濃縮し、アセトンで正確に 2mL とした(②)。①を LC-MS/MS で測定し、BAM 及びフルオピコリドの回収率を算出した。また、②を GC-MS/MS で測定し、ジクロベニルの回収率を算出した。

*n*=3 併行で試験を実施した結果、ジクロベニルは回収率 101%(相対標準偏差 1.4%)、BAM は回収率 100%(相対標準偏差 1.2%)、フルオピコリドは回収率 102%(相対標準偏差 1.3%)であった。この結果から、抽出操作において 3 化合物ともろ紙への吸着はほとんどないと考えられた。

#### 5. 添加回収試験

ばれいしょ、キャベツ、ほうれんそう、りんご及びぶどうの 5 食品を試料に用いて、実験方法の 7. 試験溶液の調製に従って添加回収試験を実施した。

低濃度(0.01 ppm)添加の添加回収試験における回収率 100%相当の溶媒標準溶液、各食品のブランク試料及び添加試料の代表的なクロマトグラムを図 27~46 に示した。また、各食品のブランク試料のスキャン測定による代表的なトータルイオンクロマトグラムを図 47 及び 48 に示した。

##### (1)選択性

選択性の検討結果を表 9 に示した。GC-MS(/MS)測定、LC-MS/MS 測定とも、ブランク試料に各化合物の痕跡が認められることがあったが、選択性の評価基準に適合した。GC-ECD 測定では、キャベツのジクロベニルについて、妨害ピークのため選択性の評価基準に適合しなかった。また、GC-ECD 測定でフルオピコリドの保持時間に妨害ピークが見られたが、評価基準に適合した。

##### (2)真度、精度及び定量限界

真度及び併行精度の検討結果を表 10 に示した。

低濃度(0.01 ppm)添加では、真度は、ジクロベニルが GC-MS 測定で 71.7~82.5%、GC-MS/MS 測定で 71.1~84.0%、GC-ECD 測定で 47.5~81.5%、BAM が GC-MS 測定で 95.9~112.1%、GC-MS/MS 測定で 97.3~119.2%、GC-ECD 測定で 75.2~98.5%、LC-MS/MS 測定で 91.8~109.0%、フルオピコリドが GC-MS 測定で 116.4~122.0%、GC-MS/MS 測定で 114.7~125.9%、GC-ECD 測定で 77.1~96.0%、LC-MS/MS 測定で 91.0~104.2%であった。キャベツのフルオピコリドについて GC-MS 及び GC-MS/MS 測定で真度 120%を上回った。また、キャベツのジクロベニルについて GC-ECD 測定で真度が 70%を下回った。その他は、評価基準に適合した。

高濃度添加は、基準値濃度(一律基準適用の場合は、参考として、基準値のある化合物の濃度レベルにあ

わせて添加)で添加回収試験を実施したが、いずれの測定方法でも真度の評価基準に適合した。

併行精度は、キャベツのジクロベニルについて低濃度(0.01 ppm)添加時に GC-ECD 測定で 15.7%とやや高い値となったが、全て評価基準に適合した。

低濃度(0.01 ppm)添加時の各化合物のピークの S/N 比は、GC-MS 測定で最低 46(りんごのフルオピコリド)、GC-MS/MS 測定で最低 80(りんごのフルオピコリド)、LC-MS/MS 測定で最低 325(ほうれんそうの BAM)であり、いずれも S/N 10 以上の感度が得られた。GC-ECD 測定でも最低 11(キャベツのジクロベニル)の S/N 比が得られたが、目的の化合物に近い保持時間に妨害ピークが見られる場合があり、十分な感度とはいえなかった。



表 9 選択性の評価

No.	分析対象 化合物	食品名	定量限界 [検出限界] (mg/kg)	基準値 (ppm)	妨害一々の 許容範囲の評価			ピーク面積						選択性 の評価	備 考
					評価濃度 (ppm)	評価 基準	ブランク			マトリックス添加標準溶液			面積比 (a)/(b)		
							n=1	n=2	平均 (a)	n=1	n=2	平均 (b)			
GC-MS 測定															
1	ジクロベニル	ばれいしょ	0.01		定量限界	0.01	<0.333	292	268	280	58775	60367	59571	0.005	○
2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		定量限界	0.01	<0.333	225	258	242	61758	61001	61380	0.004	○
3	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		定量限界	0.01	<0.333	328	291	310	67921	59571	63746	0.005	○
4	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	基準値	0.1	<0.100	361	281	321	522180	522850	522515	0.001	○
5	ジクロベニル	ぶどう	0.01		定量限界	0.01	<0.333	384	352	368	61971	59212	60592	0.006	○
6	BAM	ばれいしょ	0.01		定量限界	0.01	<0.333	5200	5006	5103	48628	49321	48975	0.116	○
7	BAM	キャベツ	0.01		定量限界	0.01	<0.333	1171	1112	1142	45241	45127	45184	0.026	○
8	BAM	ほうれんそう	0.01		定量限界	0.01	<0.333	1809	1934	1872	50562	45782	48172	0.040	○
9	BAM	りんご	0.01		定量限界	0.01	<0.333	2056	2380	2218	39910	40749	40330	0.058	○
10	BAM	ぶどう	0.01		定量限界	0.01	<0.333	1190	936	1063	41568	38714	40141	0.027	○
11	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	基準値	0.05	<0.100	960	1001	981	89937	92836	91387	0.011	○
12	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	基準値	5.	<0.100								○
13	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	基準値	25.	<0.100								○
14	フルオピコリド	りんご	0.01		定量限界	0.01	<0.333								○
15	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	基準値	2.	<0.100								○
GC-MS/MS 測定															
1	ジクロベニル	ばれいしょ	0.01		定量限界	0.01	<0.333	70	76	73	17786	18522	18154	0.004	○
2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		定量限界	0.01	<0.333	69	57	63	18370	19050	18710	0.003	○
3	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		定量限界	0.01	<0.333	99	80	90	20963	19072	20018	0.004	○
4	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	基準値	0.1	<0.100	69	61	65	133418	133274	133346	0.000	○
5	ジクロベニル	ぶどう	0.01		定量限界	0.01	<0.333	80	90	85	20208	19209	19709	0.004	○
6	BAM	ばれいしょ	0.01		定量限界	0.01	<0.333	39	40	40	12908	13038	12973	0.003	○
7	BAM	キャベツ	0.01		定量限界	0.01	<0.333								○
8	BAM	ほうれんそう	0.01		定量限界	0.01	<0.333	158	180	169	14884	13365	14125	0.012	○
9	BAM	りんご	0.01		定量限界	0.01	<0.333								○
10	BAM	ぶどう	0.01		定量限界	0.01	<0.333								○
11	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	基準値	0.05	<0.100	420	437	429	41944	43197	42571	0.010	○
12	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	基準値	5.	<0.100								○
13	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	基準値	25.	<0.100								○
14	フルオピコリド	りんご	0.01		定量限界	0.01	<0.333								○
15	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	基準値	2.	<0.100								○
GC-ECD 測定															
1	ジクロベニル	ばれいしょ	0.01		定量限界	0.01	<0.333								○
2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		定量限界	0.01	<0.333	90852	82899	86876	289393	289632	289513	0.429	×
3	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		定量限界	0.01	<0.333								○
4	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	基準値	0.1	<0.100								○
5	ジクロベニル	ぶどう	0.01		定量限界	0.01	<0.333								○
6	BAM	ばれいしょ	0.01		定量限界	0.01	<0.333								○
7	BAM	キャベツ	0.01		定量限界	0.01	<0.333								○
8	BAM	ほうれんそう	0.01		定量限界	0.01	<0.333								○
9	BAM	りんご	0.01		定量限界	0.01	<0.333								○
10	BAM	ぶどう	0.01		定量限界	0.01	<0.333								○
11	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	基準値	0.05	<0.100	56711	63686	60199	1158352	1122068	1140210	0.056	○
12	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	基準値	5.	<0.100	37380	39332	38356	100572950	104383150	102478050	0.000	○ 50 倍希釈
13	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	基準値	25.	<0.100	97369	86940	92155	501884000	501159500	501521750	0.000	○ 250 倍希釈
14	フルオピコリド	りんご	0.01		定量限界	0.01	<0.333	24173	24269	24221	282906	283561	283234	0.094	○
15	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	基準値	2.	<0.100	83120	81693	82407	39670280	40992380	40331330	0.002	○ 20 倍希釈
LC-MS/MS 測定															
1	BAM	ばれいしょ	0.01		定量限界	0.01	<0.333	30		30	7167	7223	7195	0.004	○
2	BAM	キャベツ	0.01		定量限界	0.01	<0.333	85	38	61	8767	8781	8774	0.007	○
3	BAM	ほうれんそう	0.01		定量限界	0.01	<0.333	142	124	133	8546	8801	8674	0.016	○
4	BAM	りんご	0.01		定量限界	0.01	<0.333	364	340	352	8975	8517	8746	0.042	○
5	BAM	ぶどう	0.01		定量限界	0.01	<0.333								○
6	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	基準値	0.05	<0.100	123	116	120	91646	90935	91290	0.001	○
7	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	基準値	5.	<0.100	542	77	310	9819130	9860310	9839720	0.000	○ 50 倍希釈
8	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	基準値	25.	<0.100	75	72	73	45504250	44333325	44918788	0.000	○ 250 倍希釈
9	フルオピコリド	りんご	0.01		定量限界	0.01	<0.333	1035	972	1003	17948	17760	17854	0.060	○
10	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	基準値	2.	<0.100	119	109	114	3698216	3644546	3671381	0.000	○ 20 倍希釈

表 10 真度、精度及び定量限界の評価(1)

No	分析対象 化合物	食品名	定量限界 [検出限界] (mg/kg)	基準値 (ppm)	添加濃度 (ppm)	回収率(%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	S/N			備考
						n=1	n=2	n=3	n=4	n=5			Max.	Min.	平均値	
GC-MS 測定																
1	ジクロベニル	ばれいしよ	0.01		0.01	76.5	78.8	71.3	62.7	69.1	71.7	8.9	1375.1	585.8	980.4	
2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		0.01	84.2	80.4	76.9	84.0	69.8	79.0	7.6	904.9	524.4	714.6	
3	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		0.01	80.5	78.5	82.5	81.8	82.6	81.2	2.1	683.3	511.0	597.1	
4	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	0.01	74.7	79.8	75.8	76.4	87.9	78.9	6.8	577.5	534.3	555.9	
5	ジクロベニル	ぶどう	0.01		0.01	79.4	81.7	84.5	86.3	80.4	82.5	3.5	487.5	706.9	597.2	
6	BAM	ばれいしよ	0.01		0.01	96.5	96.8	98.5	95.6	92.0	95.9	2.5	52.3	58.0	55.2	
7	BAM	キャベツ	0.01		0.01	111.6	113.3	105.9	112.2	117.6	112.1	3.7	183.6	161.4	172.5	
8	BAM	ほうれんそう	0.01		0.01	94.6	91.0	100.7	99.2	99.3	97.0	4.2	156.4	190.2	173.3	
9	BAM	りんご	0.01		0.01	99.8	99.5	96.0	101.3	111.3	101.6	5.6	123.0	112.6	117.8	
10	BAM	ぶどう	0.01		0.01	113.3	107.3	108.0	112.0	106.2	109.4	2.8	123.1	107.7	115.4	
11	フルオピコリド	ばれいしよ	0.01	0.05	0.01	109.5	113.1	113.5	135.5	110.2	116.4	9.3	89.2	77.7	83.4	
12	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	0.01	126.3	121.8	114.7	119.1	128.0	122.0	4.4	113.4	160.1	136.7	
13	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	0.01	115.1	113.3	121.3	117.8	120.7	117.7	2.9	111.7	104.0	107.8	
14	フルオピコリド	りんご	0.01		0.01	114.2	116.9	111.9	121.5	124.4	117.8	4.4	70.2	46.4	58.3	
15	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	0.01	137.7	114.5	116.7	115.4	109.2	118.7	9.2	140.5	105.9	123.2	
1.2	ジクロベニル	ばれいしよ	0.01		0.05	70.5	70.7	75.4	67.6	70.4	70.9	4.0				
2.2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		5.	91.4	89.6	86.2	87.4	90.5	89.0	2.4				50倍希釈測定
3.2	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		25.	89.3	89.4	87.7	91.1	87.8	89.1	1.6				250倍希釈測定
4.2	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	0.1	75.2	83.9	83.7	71.5	74.2	77.7	7.3				
5.2	ジクロベニル	ぶどう	0.01		2.	94.0	94.7	90.1	77.7	84.6	88.2	8.1				20倍希釈測定
6.2	BAM	ばれいしよ	0.01		0.05	98.5	101.1	102.1	97.9	102.0	100.3	2.0				
7.2	BAM	キャベツ	0.01		5.	109.1	108.5	109.8	108.6	107.9	108.8	0.6				50倍希釈測定
8.2	BAM	ほうれんそう	0.01		25.	105.9	103.8	103.6	104.9	102.0	104.0	1.4				250倍希釈測定
9.2	BAM	りんご	0.01		0.1	107.4	105.4	114.6	104.6	109.1	108.2	3.6				
10.2	BAM	ぶどう	0.01		2.	117.4	117.6	117.4	106.8	116.3	115.1	4.1				20倍希釈測定
11.2	フルオピコリド	ばれいしよ	0.01	0.05	0.05	110.3	112.6	113.9	110.7	110.7	111.6	1.4				
12.2	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	5.	109.6	105.6	106.3	105.6	98.0	105.0	4.0				50倍希釈測定
13.2	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	25.	101.4	98.4	95.0	94.3	92.6	96.4	3.6				250倍希釈測定
14.2	フルオピコリド	りんご	0.01		0.1	114.6	110.5	122.6	112.1	117.1	115.4	4.1				
15.2	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	2.	111.0	110.5	110.0	95.8	104.6	106.4	6.1				20倍希釈測定
GC-MS/MS 測定																
1	ジクロベニル	ばれいしよ	0.01		0.01	74.0	78.5	70.1	62.2	70.8	71.1	8.4	1204.1	703.7	953.9	
2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		0.01	88.8	84.0	81.2	88.7	71.8	82.9	8.4	1491.8	1254.5	1373.1	
3	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		0.01	81.0	78.4	81.6	80.7	81.6	80.7	1.6	1274.8	1183.1	1228.9	
4	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	0.01	78.7	84.5	82.0	80.6	91.9	83.5	6.1	869.8	684.5	777.1	
5	ジクロベニル	ぶどう	0.01		0.01	80.9	82.6	86.7	87.7	82.1	84.0	3.6	1043.5	1379.2	1211.4	
6	BAM	ばれいしよ	0.01		0.01	97.0	99.2	101.5	97.2	101.2	99.2	2.2	700.2	690.1	695.1	
7	BAM	キャベツ	0.01		0.01	121.7	115.7	113.1	121.3	124.1	119.2	3.9	1114.0	1046.2	1080.1	
8	BAM	ほうれんそう	0.01		0.01	97.8	94.1	99.9	96.9	97.7	97.3	2.1	747.6	945.3	846.4	
9	BAM	りんご	0.01		0.01	106.8	107.8	103.8	106.0	114.0	107.7	3.6	609.0	614.2	611.6	
10	BAM	ぶどう	0.01		0.01	116.1	110.0	114.6	118.6	109.5	113.7	3.4	588.8	917.1	753.0	
11	フルオピコリド	ばれいしよ	0.01	0.05	0.01	104.4	111.1	112.2	133.6	112.3	114.7	9.6	217.6	160.8	189.2	
12	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	0.01	128.7	125.6	118.3	124.8	132.2	125.9	4.1	242.7	297.9	270.3	
13	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	0.01	116.3	114.8	119.4	116.5	120.5	117.5	2.0	265.8	298.1	282.0	
14	フルオピコリド	りんご	0.01		0.01	117.5	116.6	111.4	121.9	119.3	117.4	3.3	146.8	80.3	113.5	
15	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	0.01	139.8	119.1	123.0	120.7	113.7	123.2	8.0	279.1	244.1	261.6	
1.2	ジクロベニル	ばれいしよ	0.01		0.05	73.2	73.5	72.5	71.3	73.9	72.9	1.4				
2.2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		5.	87.3	89.2	83.9	88.5	93.5	88.5	3.9				50倍希釈測定
3.2	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		25.	90.8	93.0	84.8	88.7	85.8	88.6	3.9				250倍希釈測定
4.2	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	0.1	74.8	84.9	83.3	73.4	75.4	78.4	6.8				
5.2	ジクロベニル	ぶどう	0.01		2.	87.6	88.1	88.2	82.5	82.4	85.8	3.5				20倍希釈測定
6.2	BAM	ばれいしよ	0.01		0.05	103.5	103.8	99.3	104.1	107.1	103.6	2.7				
7.2	BAM	キャベツ	0.01		5.	103.9	105.0	104.2	104.9	108.1	105.2	1.6				50倍希釈測定
8.2	BAM	ほうれんそう	0.01		25.	109.5	110.4	103.0	107.0	106.8	107.4	2.7				250倍希釈測定
9.2	BAM	りんご	0.01		0.1	106.6	107.8	113.7	107.1	110.8	109.2	2.7				
10.2	BAM	ぶどう	0.01		2.	108.4	108.6	114.6	107.0	106.3	109.0	3.0				20倍希釈測定
11.2	フルオピコリド	ばれいしよ	0.01	0.05	0.05	114.0	116.4	109.9	117.1	118.9	115.2	3.0				
12.2	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	5.	106.8	101.5	101.5	102.1	100.7	102.5	2.4				50倍希釈測定
13.2	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	25.	110.4	104.7	97.9	97.6	96.3	101.4	5.9				250倍希釈測定
14.2	フルオピコリド	りんご	0.01		0.1	113.9	112.7	121.2	113.4	114.8	115.2	3.0				
15.2	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	2.	107.6	105.4	114.3	104.7	105.6	107.5	3.7				20倍希釈測定

表 10 真度、精度及び定量限界の評価(2)

No	分析対象 化合物	食品名	定量限界 [検出限界] (mg/kg)	基準値 (ppm)	添加濃度 (ppm)	回収率(%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	S/N			備考
						n=1	n=2	n=3	n=4	n=5			Max.	Min.	平均値	
GC-ECD 測定																
1	ジクロベニル	ばれいしょ	0.01		0.01	77.2	83.7	75.3	69.8	75.8	76.4	6.5	53.4	54.6	54.0	
2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		0.01	53.4	52.2	43.6	52.2	36.1	47.5	15.7	16.0	11.2	13.6	
3	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		0.01	81.5	80.0	82.5	83.2	80.3	81.5	1.7	66.8	46.9	56.9	
4	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	0.01	73.0	76.7	76.5	72.8	77.4	75.3	2.9	40.2	39.1	39.7	
5	ジクロベニル	ぶどう	0.01		0.01	80.0	81.2	82.4	83.1	78.2	81.0	2.4	44.6	52.9	48.7	
6	BAM	ばれいしょ	0.01		0.01	73.0	77.8	76.0	70.8	78.3	75.2	4.3	102.2	31.5	66.8	
7	BAM	キャベツ	0.01		0.01	91.5	92.3	87.2	91.1	92.9	91.0	2.5	31.6	21.3	26.4	
8	BAM	ほうれんそう	0.01		0.01	93.3	91.0	97.8	95.3	93.5	94.2	2.7	53.7	131.0	92.3	
9	BAM	りんご	0.01		0.01	89.0	89.8	90.5	85.4	92.0	89.4	2.8	28.2	11.7	19.9	
10	BAM	ぶどう	0.01		0.01	97.2	96.4	100.1	99.9	98.7	98.5	1.7	46.6	60.6	53.6	
11	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	0.01	80.0	88.8	87.9	101.5	91.5	90.0	8.6	98.3	76.2	87.2	
12	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	0.01	88.2	88.7	80.1	86.0	80.0	84.6	5.1	80.1	86.0	83.0	
13	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	0.01	78.2	74.8	75.7	83.9	73.0	77.1	5.5	56.9	58.7	57.8	
14	フルオピコリド	りんご	0.01		0.01	97.3	94.7	94.1	97.8	96.0	96.0	1.7	88.7	100.3	94.5	
15	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	0.01	87.1	86.0	87.7	87.0	102.0	90.0	7.5	92.2	205.1	148.7	
1.2	ジクロベニル	ばれいしょ	0.01		0.05	73.7	71.0	76.8	70.7	70.7	72.6	3.7				
2.2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		5.	91.9	93.2	89.0	88.9	91.6	90.9	2.1				50 倍希釈測定
3.2	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		25.	84.9	90.1	87.6	90.7	91.1	88.9	2.9				250 倍希釈測定
4.2	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	0.1	72.1	76.8	77.7	70.4	70.0	73.4	4.9				
5.2	ジクロベニル	ぶどう	0.01		2.	88.5	90.8	86.0	80.7	85.1	86.2	4.4				20 倍希釈測定
6.2	BAM	ばれいしょ	0.01		0.05	88.1	85.7	86.4	86.2	84.3	86.1	1.6				
7.2	BAM	キャベツ	0.01		5.	96.2	107.0	99.6	107.6	101.0	102.3	4.8				50 倍希釈測定
8.2	BAM	ほうれんそう	0.01		25.	95.3	100.1	102.2	101.7	104.4	100.8	3.4				250 倍希釈測定
9.2	BAM	りんご	0.01		0.1	91.5	88.9	89.5	89.4	90.2	89.9	1.1				
10.2	BAM	ぶどう	0.01		2.	104.9	107.2	114.0	108.7	111.5	109.3	3.3				20 倍希釈測定
11.2	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	0.05	97.1	94.8	93.9	95.9	92.2	94.8	2.0				
12.2	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	5.	94.7	105.2	98.6	108.9	97.0	100.9	5.9				50 倍希釈測定
13.2	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	25.	96.7	103.5	104.7	102.6	104.8	102.4	3.2				250 倍希釈測定
14.2	フルオピコリド	りんご	0.01		0.1	93.9	91.5	98.3	91.7	95.5	94.2	3.0				
15.2	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	2.	108.8	110.7	114.9	104.2	106.5	109.0	3.7				20 倍希釈測定
LC-MS/MS 測定																
1	BAM	ばれいしょ	0.01		0.01	98.6	94.8	95.8	94.0	95.6	95.8	1.8	497.7	577.8	537.8	
2	BAM	キャベツ	0.01		0.01	92.0	94.6	90.0	93.3	89.2	91.8	2.4	579.4	658.7	619.0	
3	BAM	ほうれんそう	0.01		0.01	104.2	103.3	97.8	102.1	103.7	102.2	2.5	487.3	325.2	406.3	
4	BAM	りんご	0.01		0.01	97.4	98.1	98.8	97.6	96.2	97.6	1.0	447.6	567.9	507.7	
5	BAM	ぶどう	0.01		0.01	109.3	110.2	107.9	109.5	108.2	109.0	0.9	525.0	772.0	648.5	
6	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	0.01	100.7	99.9	98.1	99.8	101.8	100.1	1.4	987.5	1185.0	1086.3	
7	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	0.01	90.2	90.7	90.9	92.2	90.9	91.0	0.8	1019.1	1337.0	1178.0	
8	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	0.01	98.7	99.6	94.6	99.2	100.6	98.5	2.4	1285.4	1478.5	1381.9	
9	フルオピコリド	りんご	0.01		0.01	95.8	94.5	98.8	97.3	96.0	96.5	1.7	1060.5	860.6	960.5	
10	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	0.01	105.8	100.1	105.9	103.3	106.1	104.2	2.5	990.5	997.4	993.9	
1.2	BAM	ばれいしょ	0.01		0.05	97.0	96.1	98.2	95.3	96.6	96.6	1.1				
2.2	BAM	キャベツ	0.01		5.	95.6	94.3	93.3	96.5	95.1	95.0	1.3				50 倍希釈測定
3.2	BAM	ほうれんそう	0.01		25.	102.5	100.6	101.5	103.9	102.7	102.2	1.2				250 倍希釈測定
4.2	BAM	りんご	0.01		0.1	99.5	100.9	104.0	101.9	102.4	101.7	1.7				
5.2	BAM	ぶどう	0.01		2.	102.3	103.4	106.9	100.5	104.1	103.5	2.3				20 倍希釈測定
6.2	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	0.05	100.0	100.6	103.6	102.1	101.3	101.5	1.4				
7.2	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	5.	94.1	93.4	93.9	95.9	94.4	94.3	1.0				50 倍希釈測定
8.2	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	25.	104.9	102.3	101.8	103.6	102.6	103.1	1.2				250 倍希釈測定
9.2	フルオピコリド	りんご	0.01		0.1	101.6	102.5	105.2	101.6	104.3	103.0	1.6				
10.2	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	2.	104.2	102.6	104.6	99.5	104.1	103.0	2.1				20 倍希釈測定

(3) 試料マトリックスの測定への影響

試料マトリックスの測定への影響について検討した結果を表 11 に示した。添加回収試験における回収率 100%相当濃度になるように調製したマトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積比を求めた。面積比は 0.74~1.31 であった。添加回収試験における真度を表 11 で求めたピーク面積比で除して補正真度を求め、表 12 に示した。補正真度は 64.5~115.7% であり、ばれいしょのジクロベニルでやや低い値となった。

表 11 試料マトリックスの測定への影響(1)

No.	分析対象 化合物	食品名	定量限界 [検出限界] (mg/kg)	基準値 (ppm)	添加濃度 (ppm)	標準溶液 濃度 (mg/L)	ピーク面積						備考		
							ブランク	マトリックス添加標準溶液			溶媒標準溶液			ピーク 面積比	
								n=1	n=2	平均	n=1	n=2			平均
GC-MS 測定															
1	ジクロベニル	ばれいしょ	0.01		0.01	0.02	280	58775	60367	59291	56061	56605	56333	1.05	
2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		0.01	0.02	242	61758	61001	61138	58137	56193	57165	1.07	
3	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		0.01	0.02	310	67921	59571	63437	60684	61985	61335	1.03	
4	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	0.01	0.02	321	51941	52098	51699	48460	49287	48874	1.06	
5	ジクロベニル	ぶどう	0.01		0.01	0.02	368	61971	59212	60224	55411	57487	56449	1.07	
6	BAM	ばれいしょ	0.01		0.01	0.02	5103	48628	49321	43872	38788	38748	38768	1.13	
7	BAM	キャベツ	0.01		0.01	0.02	1142	45241	45127	44043	36920	34816	35868	1.23	
8	BAM	ほうれんそう	0.01		0.01	0.02	1872	50562	45782	46301	43277	44393	43835	1.06	
9	BAM	りんご	0.01		0.01	0.02	2218	39910	40749	38112	34905	35333	35119	1.09	
10	BAM	ぶどう	0.01		0.01	0.02	1063	41568	38714	39078	33823	35162	34493	1.13	
11	フルオビコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	0.01	0.02	981	17553	17668	16630	13183	13174	13179	1.26	
12	フルオビコリド	キャベツ	0.01	5.	0.01	0.02	17089	17158	17124	13911	12326	13119	1.31		
13	フルオビコリド	ほうれんそう	0.01	25.	0.01	0.02	21997	19014	20506	16682	16830	16756	1.22		
14	フルオビコリド	りんご	0.01		0.01	0.02	13964	14316	14140	11560	11553	11557	1.22		
15	フルオビコリド	ぶどう	0.01	2.	0.01	0.02	14737	14031	14384	11593	12420	12007	1.20		
1.2	ジクロベニル	ばれいしょ	0.01		0.05	0.1	280	295626	305824	300445	287538	294165	290852	1.03	
2.2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		5.	0.2	279	551049	547697	549095	564206	556222	560214	0.98	50倍希釈
3.2	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		25.	0.2	542107	556723	549415	551584	552371	551978	1.00	250倍希釈	
4.2	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	0.1	0.2	321	522180	522850	522194	487729	488053	487891	1.07	
5.2	ジクロベニル	ぶどう	0.01		2.	0.2	213	577263	572057	574447	565056	600758	582907	0.99	20倍希釈
6.2	BAM	ばれいしょ	0.01		0.05	0.1	5103	227540	233792	225563	202948	202848	202898	1.11	
7.2	BAM	キャベツ	0.01		5.	0.2	310	351997	353612	352495	356490	351708	354099	1.00	50倍希釈
8.2	BAM	ほうれんそう	0.01		25.	0.2	342268	357311	349790	349739	350455	350097	1.00	250倍希釈	
9.2	BAM	りんご	0.01		0.1	0.2	2218	412602	410686	409426	354995	358954	356975	1.15	
10.2	BAM	ぶどう	0.01		2.	0.2	450	360058	367868	363513	353671	376985	365328	1.00	20倍希釈
11.2	フルオビコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	0.05	0.1	981	89937	92836	90406	73571	74139	73855	1.22	
12.2	フルオビコリド	キャベツ	0.01	5.	5.	0.2	723	120202	122434	120596	122414	117988	120201	1.00	50倍希釈
13.2	フルオビコリド	ほうれんそう	0.01	25.	25.	0.2	122409	126339	124374	122888	124276	123582	1.01	250倍希釈	
14.2	フルオビコリド	りんご	0.01		0.1	0.2	152768	153177	152973	123775	126783	125279	1.22		
15.2	フルオビコリド	ぶどう	0.01	2.	2.	0.2	761	127769	121295	123771	122370	124894	123632	1.00	20倍希釈
GC-MS/MS 測定															
1	ジクロベニル	ばれいしょ	0.01		0.01	0.02	73	17786	18522	18081	17421	17368	17395	1.04	
2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		0.01	0.02	63	18370	19050	18647	17288	17319	17304	1.08	
3	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		0.01	0.02	90	20963	19072	19928	18654	19269	18962	1.05	
4	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	0.01	0.02	65	12587	12960	12709	11933	11307	11620	1.09	
5	ジクロベニル	ぶどう	0.01		0.01	0.02	85	20208	19209	19624	17771	18312	18042	1.09	
6	BAM	ばれいしょ	0.01		0.01	0.02	40	12908	13038	12934	11192	11167	11180	1.16	
7	BAM	キャベツ	0.01		0.01	0.02	12239	12802	12521	10669	10067	10368	1.21		
8	BAM	ほうれんそう	0.01		0.01	0.02	169	14884	13365	13956	12511	12764	12638	1.10	
9	BAM	りんご	0.01		0.01	0.02	8931	9095	9013	7792	7443	7618	1.18		
10	BAM	ぶどう	0.01		0.01	0.02	12406	11796	12101	10054	10574	10314	1.17		
11	フルオビコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	0.01	0.02	429	8383	8210	7868	6302	6282	6292	1.25	
12	フルオビコリド	キャベツ	0.01	5.	0.01	0.02	7684	8021	7853	6281	5984	6133	1.28		
13	フルオビコリド	ほうれんそう	0.01	25.	0.01	0.02	10294	9351	9823	7766	7908	7837	1.25		
14	フルオビコリド	りんご	0.01		0.01	0.02	5504	5828	5666	4640	4349	4495	1.26		
15	フルオビコリド	ぶどう	0.01	2.	0.01	0.02	7125	6868	6997	5694	5876	5785	1.21		
1.2	ジクロベニル	ばれいしょ	0.01		0.05	0.1	73	91669	94480	93002	90929	91496	91213	1.02	
2.2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		5.	0.2	180608	181753	181181	183545	181176	182653	0.99	50倍希釈	
3.2	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		25.	0.2	177533	181760	179647	179930	180568	180249	1.00	250倍希釈	
4.2	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	0.1	0.2	65	133418	133274	133281	123026	125008	124017	1.07	
5.2	ジクロベニル	ぶどう	0.01		2.	0.2	188864	186557	187711	185255	181949	183602	1.02	20倍希釈	
6.2	BAM	ばれいしょ	0.01		0.05	0.1	40	65872	66858	66326	59148	59885	59517	1.11	
7.2	BAM	キャベツ	0.01		5.	0.2	73	109069	109120	109022	110756	108670	109713	0.99	50倍希釈
8.2	BAM	ほうれんそう	0.01		25.	0.2	107236	110471	108854	107172	107466	107319	1.01	250倍希釈	
9.2	BAM	りんご	0.01		0.1	0.2	95596	94887	95242	83485	83269	83377	1.14		
10.2	BAM	ぶどう	0.01		2.	0.2	62	113041	109641	111280	108149	107366	107758	1.03	20倍希釈
11.2	フルオビコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	0.05	0.1	429	41944	43197	42142	35018	34932	34975	1.20	
12.2	フルオビコリド	キャベツ	0.01	5.	5.	0.2	360	60391	61238	60455	60725	58684	59705	1.01	50倍希釈
13.2	フルオビコリド	ほうれんそう	0.01	25.	25.	0.2	60857	62145	61501	61068	60501	60785	1.01	250倍希釈	
14.2	フルオビコリド	りんご	0.01		0.1	0.2	61810	61698	61754	50321	50788	50555	1.22		
15.2	フルオビコリド	ぶどう	0.01	2.	2.	0.2	284	60726	58920	59540	60256	58127	59192	1.01	20倍希釈

表 11 試料マトリックスの測定への影響(2)

分析対象 化合物	食品名	定量限界 [検出限界] (mg/kg)	基準値 (ppm)	添加濃度 (ppm)	標準溶液 濃度 (mg/L)	ピーク面積							備 考		
						ブランク	マトリックス添加標準溶液			溶媒標準溶液				ピーク 面積比	
							n=1	n=2	平均	n=1	n=2	平均			
GC-ECD 測定															
1	ジクロベニル	ばれいしょ	0.01		0.01	0.02	293451	289675	291563	286362	286525	286444	1.02		
2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		0.01	0.02	86876	289393	289632	202637	275184	274853	275019	0.74	
3	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		0.01	0.02	281492	279916	280704	276415	275356	275886	1.02		
4	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	0.01	0.02	269712	269008	269360	272501	273900	273201	0.99		
5	ジクロベニル	ぶどう	0.01		0.01	0.02	279235	283665	281450	273506	271678	272592	1.03		
6	BAM	ばれいしょ	0.01		0.01	0.02	281255	294570	287913	344379	343187	343783	0.84		
7	BAM	キャベツ	0.01		0.01	0.02	350748	354891	352820	378385	374084	376235	0.94		
8	BAM	ほうれんそう	0.01		0.01	0.02	357739	359302	358521	366212	367137	366675	0.98		
9	BAM	りんご	0.01		0.01	0.02	315252	316985	316119	336845	345470	341157	0.93		
10	BAM	ぶどう	0.01		0.01	0.02	374016	375094	374555	365234	363853	364544	1.03		
11	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	0.01	0.02	60199	295748	310283	242817	233565	249370	241468	1.01	
12	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	0.01	0.02	38356	280609	285767	244832	284002	280842	282422	0.87	
13	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	0.01	0.02	92155	346039	343152	252441	260994	262234	261614	0.96	
14	フルオピコリド	りんご	0.01		0.01	0.02	24221	282906	283561	259012	243451	248483	245967	1.05	
15	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	0.01	0.02	82407	346849	350862	266449	289041	284698	286870	0.93	
1.2	ジクロベニル	ばれいしょ	0.01		0.05	0.1	1130205	1111634	1120920	1087379	1096212	1091796	1.03		
2.2	ジクロベニル	キャベツ	0.01		5.	0.2	1846148	1845944	1846046	1824315	1829954	1827135	1.01	50 倍希釈	
3.2	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01		25.	0.2	1835894	1832109	1834002	1837288	1831495	1834392	1.00	250 倍希釈	
4.2	ジクロベニル	りんご	0.01	0.1	0.1	0.2	1905589	1894569	1900079	1876616	1886615	1881616	1.01		
5.2	ジクロベニル	ぶどう	0.01		2.	0.2	1828205	1842541	1835373	1787400	1788824	1788112	1.03	20 倍希釈	
6.2	BAM	ばれいしょ	0.01		0.05	0.1	1608407	1562181	1585294	1636925	1624160	1630543	0.97		
7.2	BAM	キャベツ	0.01		5.	0.2	2975982	3063327	3019655	3046590	3039033	3042812	0.99	50 倍希釈	
8.2	BAM	ほうれんそう	0.01		25.	0.2	2998550	3049063	3023807	3062793	3062177	3062485	0.99	250 倍希釈	
9.2	BAM	りんご	0.01		0.1	0.2	2893267	3016419	2954843	3146640	3062276	3104458	0.95		
10.2	BAM	ぶどう	0.01		2.	0.2	3010417	3032197	3021307	2887973	2888751	2888362	1.05	20 倍希釈	
11.2	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	0.05	0.1	60199	1158352	1122068	1080012	1052940	1034855	1043898	1.03	
12.2	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	5.	0.2	23269	2011459	2087663	2026293	2044040	2041747	2042894	0.99	50 倍希釈
13.2	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	25.	0.2	2007536	2004638	2006087	2034182	2058547	2046365	0.98	250 倍希釈	
14.2	フルオピコリド	りんご	0.01		0.1	0.2	24221	2069086	2050169	2035406	2079179	1957031	2018105	1.01	
15.2	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	2.	0.2	26049	1983514	2049619	1990518	1917739	1919071	1918405	1.04	20 倍希釈
LC-MS/MS 測定															
1	BAM	ばれいしょ	0.01		0.01	0.004	15	7167	7223	7180	7180	7164	7172	1.00	
2	BAM	キャベツ	0.01		0.01	0.004	61	8767	8781	8712	8278	8311	8295	1.05	
3	BAM	ほうれんそう	0.01		0.01	0.004	133	8546	8801	8541	8311	8322	8316	1.03	
4	BAM	りんご	0.01		0.01	0.004	352	8975	8517	8394	8355	8286	8321	1.01	
5	BAM	ぶどう	0.01		0.01	0.004	62	7894	7766	7830	7134	7262	7198	1.09	
6	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	0.01	0.004	62	18822	18805	18752	17814	18403	18108	1.04	
7	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	0.01	0.004	310	22690	22719	22395	20722	20597	20660	1.08	
8	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	0.01	0.004	73	18822	18621	18649	18725	19047	18886	0.99	
9	フルオピコリド	りんご	0.01		0.01	0.004	1003	17948	17760	16851	16533	16488	16510	1.02	
10	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	0.01	0.004	114	19303	18927	19001	18273	18144	18209	1.04	
1.2	BAM	ばれいしょ	0.01		0.05	0.02	37789	37630	37709	36190	36873	36531	1.03		
2.2	BAM	キャベツ	0.01		5.	0.04	80092	80282	80187	82321	82270	82295	0.97	50 倍希釈	
3.2	BAM	ほうれんそう	0.01		25.	0.04	72939	73031	72985	74305	74742	74524	0.98	250 倍希釈	
4.2	BAM	りんご	0.01		0.1	0.04	343	78831	78197	78172	79114	76781	77947	1.00	
5.2	BAM	ぶどう	0.01		2.	0.04	73278	72494	72886	72571	72777	72674	1.00	20 倍希釈	
6.2	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	0.05	0.05	0.02	120	91646	90935	91171	90482	90025	90254	1.01	
7.2	フルオピコリド	キャベツ	0.01	5.	5.	0.04	196383	197206	196794	199802	197160	198481	0.99	50 倍希釈	
8.2	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	25.	25.	0.04	182017	177333	179675	180881	180683	180782	0.99	250 倍希釈	
9.2	フルオピコリド	りんご	0.01		0.1	0.04	1080	171682	172501	171011	171411	171826	171619	1.00	
10.2	フルオピコリド	ぶどう	0.01	2.	2.	0.04	71	184911	182227	183498	183690	183171	183431	1.00	20 倍希釈

表 12 補正真度(1)

No.	分析対象化合物	食品名	添加濃度 (ppm)	真度 (%)	ピーク 面積比	補正真度 (%)
GC-MS 測定						
1	ジクロベニル	ばれいしょ	0.01	71.7	1.05	68.1
2	ジクロベニル	キャベツ	0.01	79.0	1.07	73.9
3	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01	81.2	1.03	78.5
4	ジクロベニル	りんご	0.01	78.9	1.06	74.6
5	ジクロベニル	ぶどう	0.01	82.5	1.07	77.3
6	BAM	ばれいしょ	0.01	95.9	1.13	84.7
7	BAM	キャベツ	0.01	112.1	1.23	91.3
8	BAM	ほうれんそう	0.01	97.0	1.06	91.8
9	BAM	りんご	0.01	101.6	1.09	93.6
10	BAM	ぶどう	0.01	109.4	1.13	96.5
11	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	116.4	1.26	92.2
12	フルオピコリド	キャベツ	0.01	122.0	1.31	93.5
13	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	117.7	1.22	96.1
14	フルオピコリド	りんご	0.01	117.8	1.22	96.3
15	フルオピコリド	ぶどう	0.01	118.7	1.20	99.1
1.2	ジクロベニル	ばれいしょ	0.05	70.9	1.03	68.6
2.2	ジクロベニル	キャベツ	5.	89.0	0.98	90.8
3.2	ジクロベニル	ほうれんそう	25.	89.1	1.00	89.5
4.2	ジクロベニル	りんご	0.1	77.7	1.07	72.6
5.2	ジクロベニル	ぶどう	2.	88.2	0.99	89.5
6.2	BAM	ばれいしょ	0.05	100.3	1.11	90.2
7.2	BAM	キャベツ	5.	108.8	1.00	109.3
8.2	BAM	ほうれんそう	25.	104.0	1.00	104.1
9.2	BAM	りんご	0.1	108.2	1.15	94.4
10.2	BAM	ぶどう	2.	115.1	1.00	115.7
11.2	フルオピコリド	ばれいしょ	0.05	111.6	1.22	91.2
12.2	フルオピコリド	キャベツ	5.	105.0	1.00	104.7
13.2	フルオピコリド	ほうれんそう	25.	96.4	1.01	95.7
14.2	フルオピコリド	りんご	0.1	115.4	1.22	94.5
15.2	フルオピコリド	ぶどう	2.	106.4	1.00	106.3
GC-MS/MS 測定						
1	ジクロベニル	ばれいしょ	0.01	71.1	1.04	68.4
2	ジクロベニル	キャベツ	0.01	82.9	1.08	76.9
3	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01	80.7	1.05	76.7
4	ジクロベニル	りんご	0.01	83.5	1.09	76.4
5	ジクロベニル	ぶどう	0.01	84.0	1.09	77.2
6	BAM	ばれいしょ	0.01	99.2	1.16	85.7
7	BAM	キャベツ	0.01	119.2	1.21	98.7
8	BAM	ほうれんそう	0.01	97.3	1.10	88.1
9	BAM	りんご	0.01	107.7	1.18	91.0
10	BAM	ぶどう	0.01	113.7	1.17	96.9
11	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	114.7	1.25	91.7
12	フルオピコリド	キャベツ	0.01	125.9	1.28	98.4
13	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	117.5	1.25	93.7
14	フルオピコリド	りんご	0.01	117.4	1.26	93.1
15	フルオピコリド	ぶどう	0.01	123.2	1.21	101.9
1.2	ジクロベニル	ばれいしょ	0.05	72.9	1.02	71.5
2.2	ジクロベニル	キャベツ	5.	88.5	0.99	89.2
3.2	ジクロベニル	ほうれんそう	25.	88.6	1.00	88.9
4.2	ジクロベニル	りんご	0.1	78.4	1.07	72.9
5.2	ジクロベニル	ぶどう	2.	85.8	1.02	83.9
6.2	BAM	ばれいしょ	0.05	103.6	1.11	92.9
7.2	BAM	キャベツ	5.	105.2	0.99	105.9
8.2	BAM	ほうれんそう	25.	107.4	1.01	105.8
9.2	BAM	りんご	0.1	109.2	1.14	95.6
10.2	BAM	ぶどう	2.	109.0	1.03	105.5
11.2	フルオピコリド	ばれいしょ	0.05	115.2	1.20	95.6
12.2	フルオピコリド	キャベツ	5.	102.5	1.01	101.2
13.2	フルオピコリド	ほうれんそう	25.	101.4	1.01	100.2
14.2	フルオピコリド	りんご	0.1	115.2	1.22	94.3
15.2	フルオピコリド	ぶどう	2.	107.5	1.01	106.9

表 12 補正真度(2)

No.	分析対象化合物	食品名	添加濃度 (ppm)	真度 (%)	ピーク 面積比	補正真度 (%)
GC-ECD 測定						
1	ジクロベニル	ばれいしょ	0.01	76.4	1.02	75.0
2	ジクロベニル	キャベツ	0.01	47.5	0.74	64.5
3	ジクロベニル	ほうれんそう	0.01	81.5	1.02	80.1
4	ジクロベニル	りんご	0.01	75.3	0.99	76.4
5	ジクロベニル	ぶどう	0.01	81.0	1.03	78.4
6	BAM	ばれいしょ	0.01	75.2	0.84	89.8
7	BAM	キャベツ	0.01	91.0	0.94	97.1
8	BAM	ほうれんそう	0.01	94.2	0.98	96.3
9	BAM	りんご	0.01	89.4	0.93	96.4
10	BAM	ぶどう	0.01	98.5	1.03	95.8
11	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	90.0	1.01	89.5
12	フルオピコリド	キャベツ	0.01	84.6	0.87	97.6
13	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	77.1	0.96	79.9
14	フルオピコリド	りんご	0.01	96.0	1.05	91.2
15	フルオピコリド	ぶどう	0.01	90.0	0.93	96.8
1.2	ジクロベニル	ばれいしょ	0.05	72.6	1.03	70.7
2.2	ジクロベニル	キャベツ	5.	90.9	1.01	90.0
3.2	ジクロベニル	ほうれんそう	25.	88.9	1.00	88.9
4.2	ジクロベニル	りんご	0.1	73.4	1.01	72.7
5.2	ジクロベニル	ぶどう	2.	86.2	1.03	84.0
6.2	BAM	ばれいしょ	0.05	86.1	0.97	88.6
7.2	BAM	キャベツ	5.	102.3	0.99	103.1
8.2	BAM	ほうれんそう	25.	100.8	0.99	102.0
9.2	BAM	りんご	0.1	89.9	0.95	94.5
10.2	BAM	ぶどう	2.	109.3	1.05	104.5
11.2	フルオピコリド	ばれいしょ	0.05	94.8	1.03	91.6
12.2	フルオピコリド	キャベツ	5.	100.9	0.99	101.7
13.2	フルオピコリド	ほうれんそう	25.	102.4	0.98	104.5
14.2	フルオピコリド	りんご	0.1	94.2	1.01	93.4
15.2	フルオピコリド	ぶどう	2.	109.0	1.04	105.1
LC-MS/MS 測定						
1	BAM	ばれいしょ	0.01	95.8	1.00	95.7
2	BAM	キャベツ	0.01	91.8	1.05	87.4
3	BAM	ほうれんそう	0.01	102.2	1.03	99.5
4	BAM	りんご	0.01	97.6	1.01	96.8
5	BAM	ぶどう	0.01	109.0	1.09	100.2
6	フルオピコリド	ばれいしょ	0.01	100.1	1.04	96.6
7	フルオピコリド	キャベツ	0.01	91.0	1.08	84.0
8	フルオピコリド	ほうれんそう	0.01	98.5	0.99	99.8
9	フルオピコリド	りんご	0.01	96.5	1.02	94.5
10	フルオピコリド	ぶどう	0.01	104.2	1.04	99.9
1.2	BAM	ばれいしょ	0.05	96.6	1.03	93.6
2.2	BAM	キャベツ	5.	95.0	0.97	97.5
3.2	BAM	ほうれんそう	25.	102.2	0.98	104.4
4.2	BAM	りんご	0.1	101.7	1.00	101.4
5.2	BAM	ぶどう	2.	103.5	1.00	103.2
6.2	フルオピコリド	ばれいしょ	0.05	101.5	1.01	100.5
7.2	フルオピコリド	キャベツ	5.	94.3	0.99	95.2
8.2	フルオピコリド	ほうれんそう	25.	103.1	0.99	103.7
9.2	フルオピコリド	りんご	0.1	103.0	1.00	103.4
10.2	フルオピコリド	ぶどう	2.	103.0	1.00	103.0

ピーク面積比 = マトリックス添加標準溶液のピーク面積 / 溶媒標準溶液のピーク面積

補正真度 = 真度 / ピーク面積比

## 6. 考察

マトリックス添加標準溶液の測定結果から、GC-MS(/MS)測定では、特にフルオピコリドで試料マトリックスの影響を受けやすく、測定値が高めとなると考えられた。LC-MS/MS 測定では GC-MS(/MS)測定に比べ試料マトリックスの影響が小さかったことから、フルオピコリドについては LC-MS/MS 測定を採用した方が良いと考えられた。

GC-MS(/MS)測定より試料マトリックスの影響が小さい可能性を期待して、GC-ECD による測定も試みたが、キャベツのジクロベニルについて妨害ピークのため選択性の評価基準に適合しなかった上、0.01 ppm 添加では真度も評価基準に適合しなかった。キャベツ以外の農産物については、3 化合物とも概ね良好な結果が得られており、GC-ECD による測定も有用と考えられた。

ジクロベニルについては、GC-MS(/MS)測定で真度 71～89%となり、真度の評価基準に適合してはいるが、やや低い値となった。特にばれいしょで真度が低めであったが、ばれいしょのアセトン抽出液を濃縮した際、液量が 3～4 mL となっており、過剰に濃縮してしまったことが一因ではないかと考えている。ジクロベニルについては、今回検討した方法では揮散防止効果は完全ではなく、濃縮操作に十分注意して試験を行う必要があると考えられた。

各化合物の定量限界については、0.01 ppm 添加時の真度、併行精度が評価基準に適合し、かつ S/N 比 10 以上が得られたことから、0.01 ppm を定量限界として設定可能と判断した。

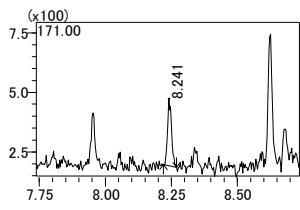
## 【結論】

農産物中のジクロベニル、BAM 及びフルオピコリドのグループ分析法として、各化合物を試料からアセトンで抽出し、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン(7:3)混液に転溶、グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製した後、ジクロベニル及び BAM は GC-MS または GC-MS/MS で定量及び確認し、フルオピコリドは LC-MS/MS で定量及び確認する方法を開発した。開発した試験法をばれいしょ、キャベツ、ほうれんそう、りんご及びぶどうの 5 食品に適用した結果、ジクロベニルの真度は 71～89%、併行精度は 1.4～8.9%、BAM の真度は 96～119%、併行精度は 0.6～5.6%、フルオピコリドの真度は 91～104%、併行精度は 0.8～2.5%、と概ね良好な結果が得られた。ただし、ジクロベニルについては、揮散しやすいため濃縮操作に十分注意する必要があるがあった。BAM については、LC-MS/MS による定量でも真度 92～109%、併行精度 0.9～2.5%の良好な結果が得られた。また、定量限界として、0.01 ppm を設定可能であることが確認された。

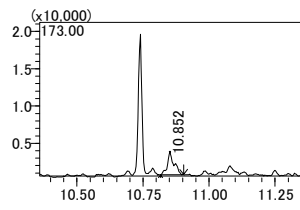
## 【参考文献】

1) 農薬残留分析法研究班編「最新 農薬の残留分析法(改訂版)」ジクロベニル、p.278-280、中央法規出版(2006)

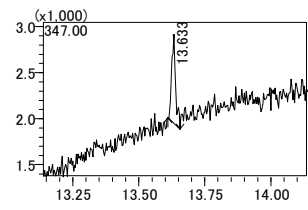




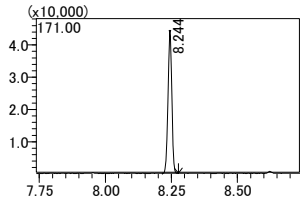
ブランク試料



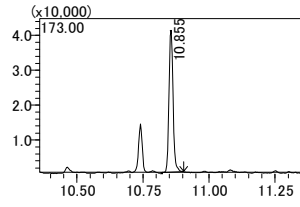
ブランク試料



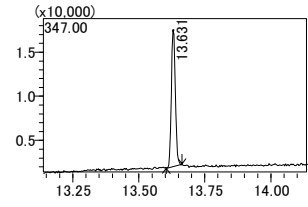
ブランク試料



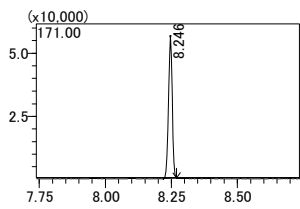
添加試料



添加試料

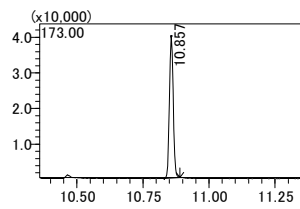


添加試料



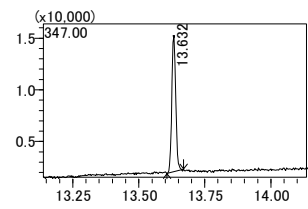
標準溶液

ジクロベニル(m/z171)



標準溶液

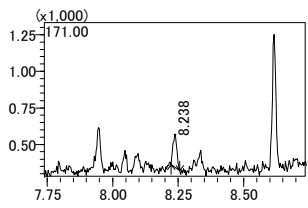
BAM(m/z173)



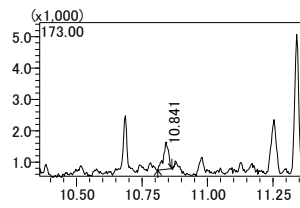
標準溶液

フルオピコリド(m/z347)

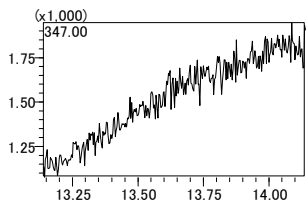
図 27 ばれいしょのクロマトグラム(GC-MS(SIM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当



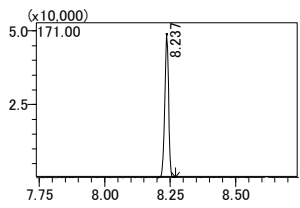
ブランク試料



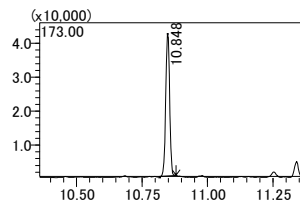
ブランク試料



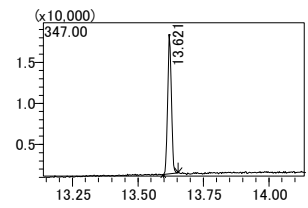
ブランク試料



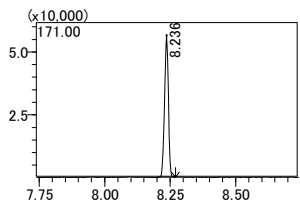
添加試料



添加試料

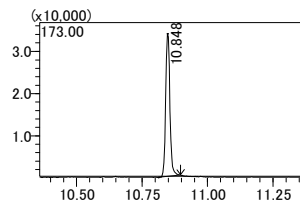


添加試料



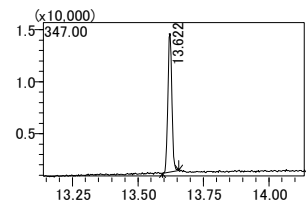
標準溶液

ジクロベニル(m/z171)



標準溶液

BAM(m/z173)



標準溶液

フルオピコリド(m/z347)

図 28 キャベツのクロマトグラム(GC-MS(SIM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当

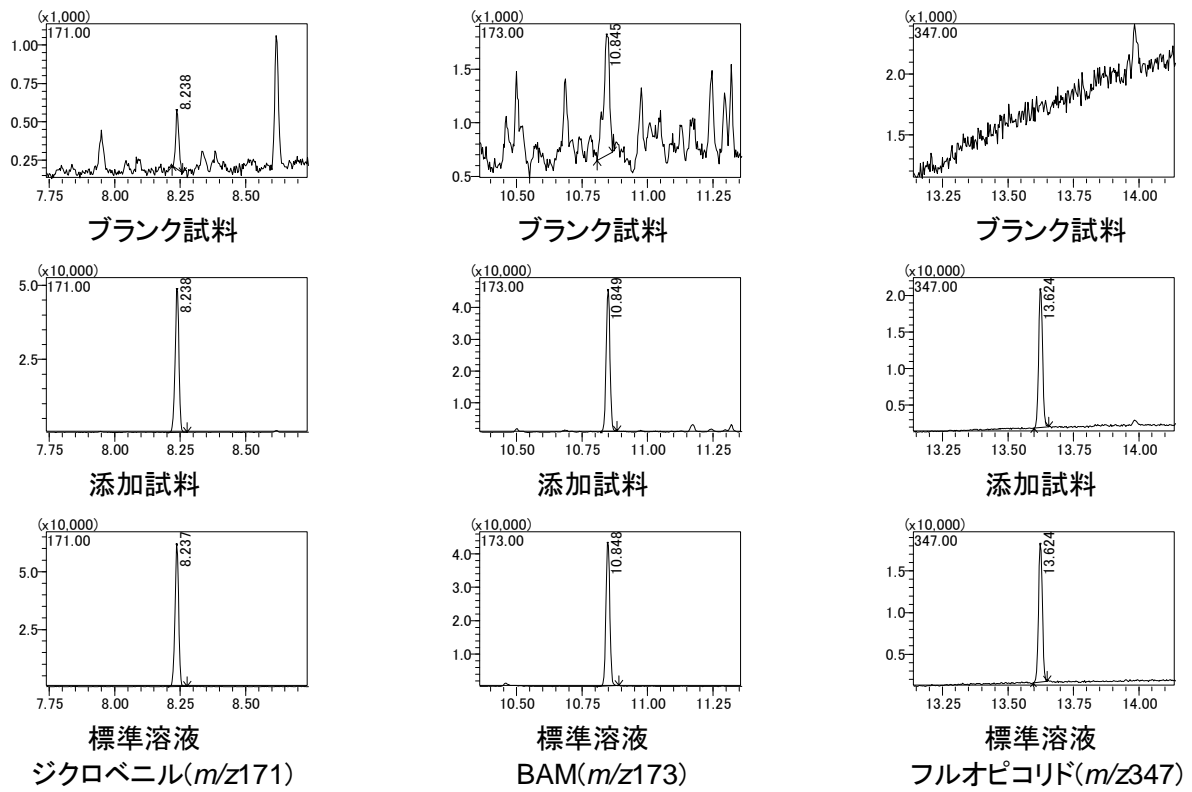


図 29 ほうれんそうのクロマトグラム(GC-MS(SIM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当

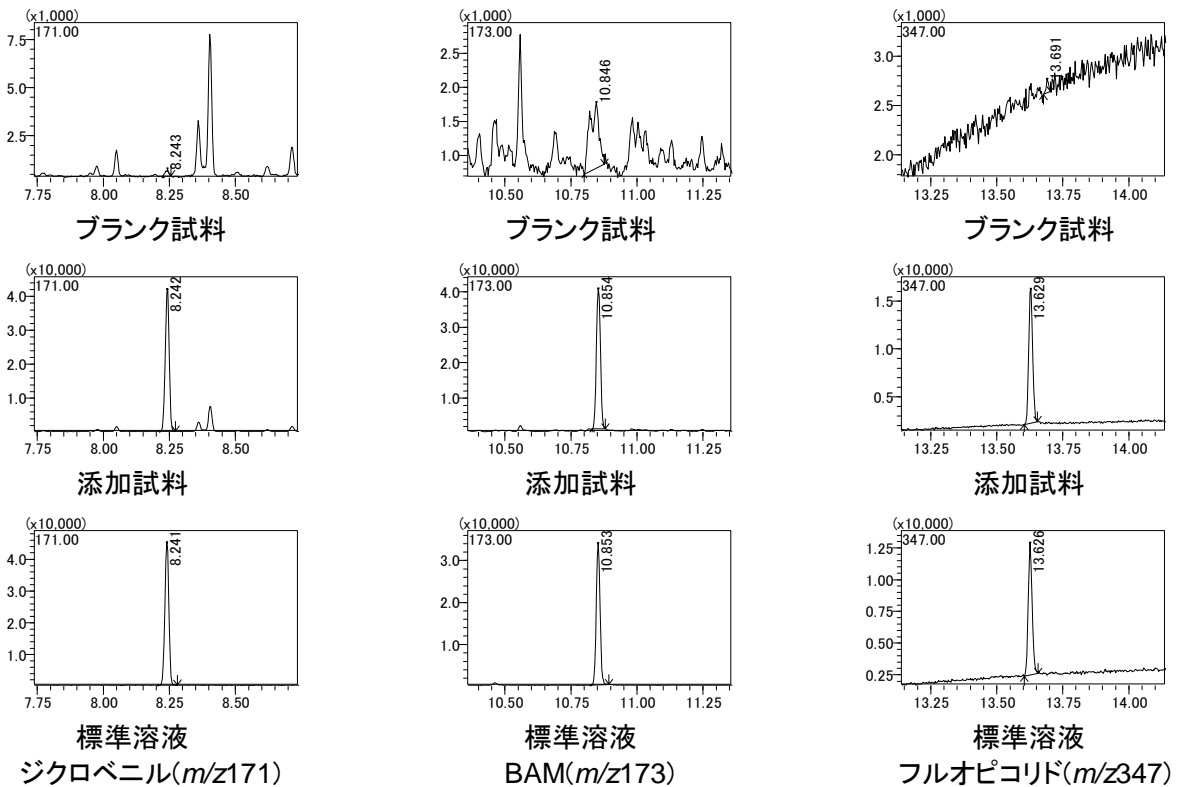


図 30 りんごのクロマトグラム(GC-MS(SIM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当

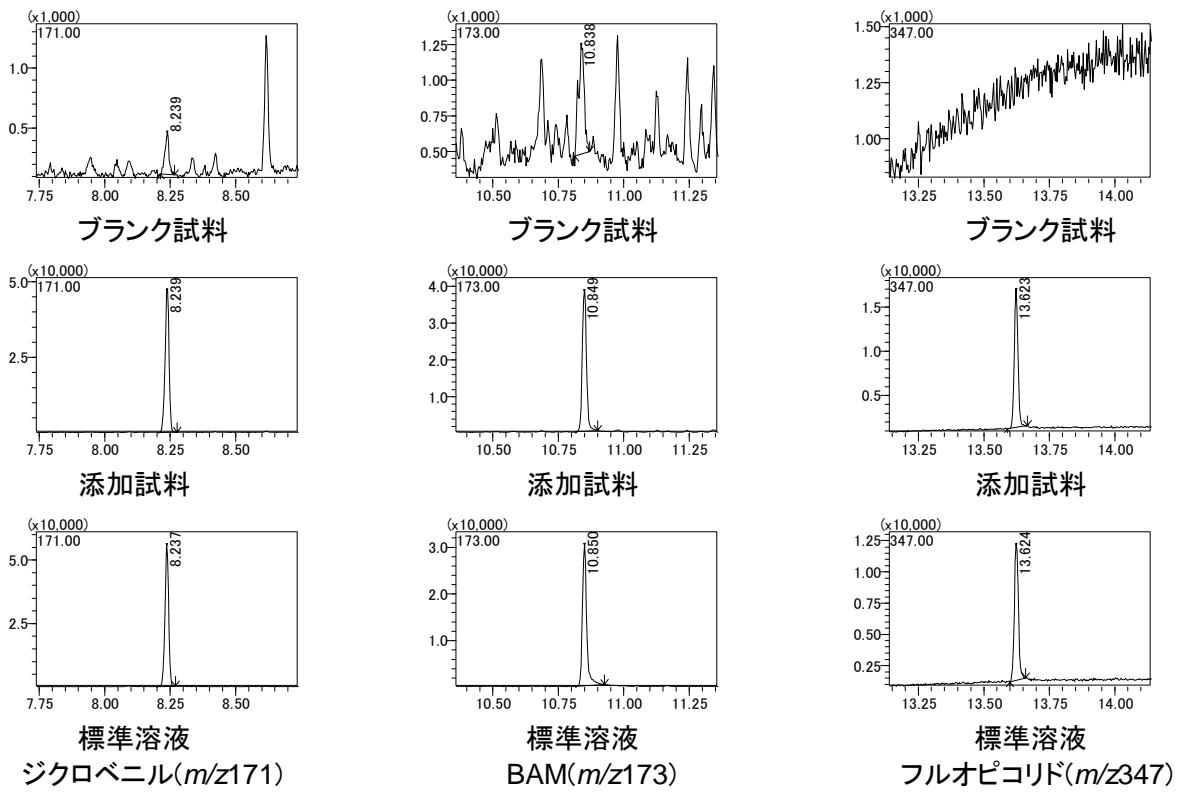


図 31 ぶどうのクロマトグラム(GC-MS(SIM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当

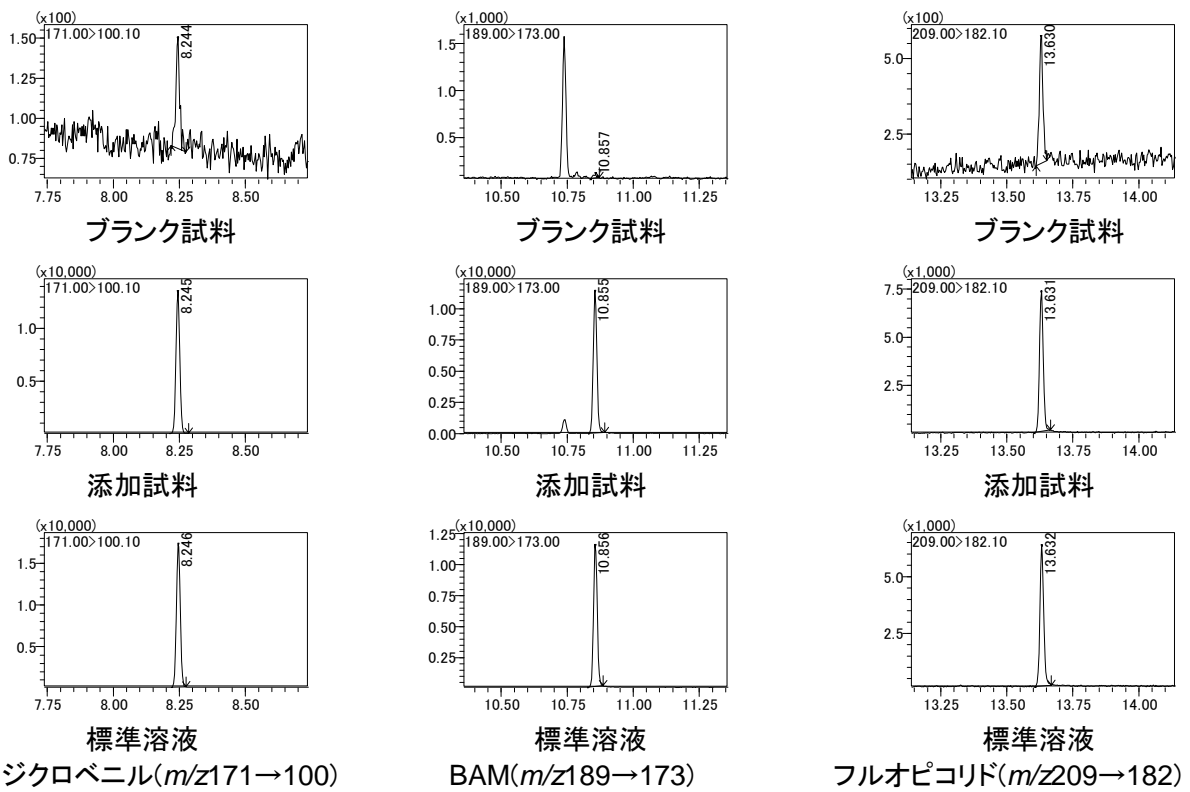
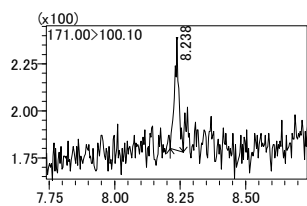
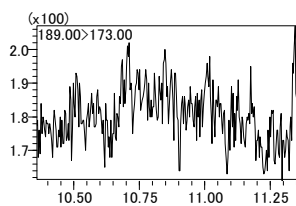


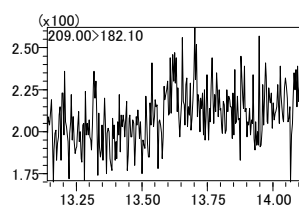
図 32 ばれいしょのクロマトグラム(GC-MS/MS(SRM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当



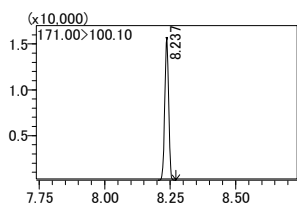
ブランク試料



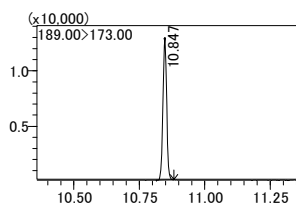
ブランク試料



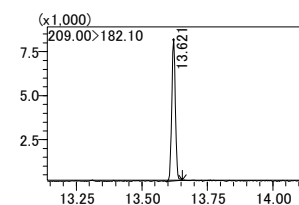
ブランク試料



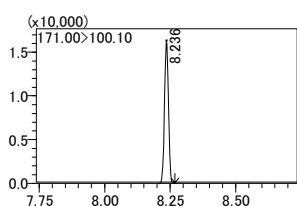
添加試料



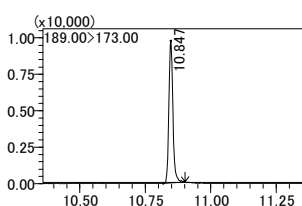
添加試料



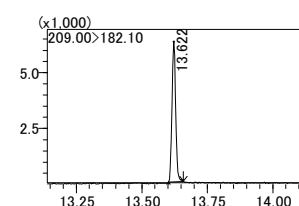
添加試料



標準溶液



標準溶液



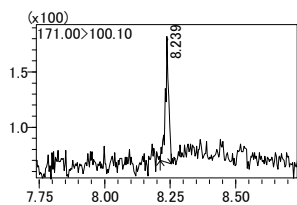
標準溶液

ジクロベニル( $m/z$ 171→100)

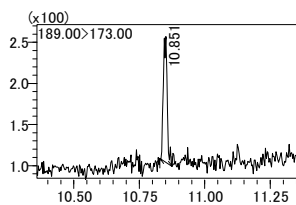
BAM( $m/z$ 189→173)

フルオピコリド( $m/z$ 209→182)

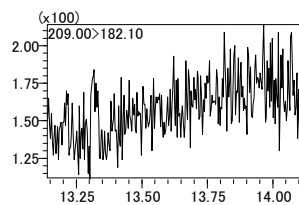
図 33 キャベツのクロマトグラム(GC-MS/MS(SRM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当



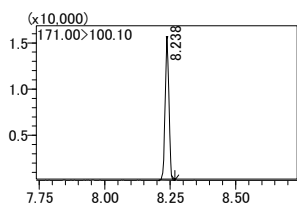
ブランク試料



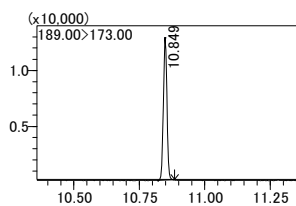
ブランク試料



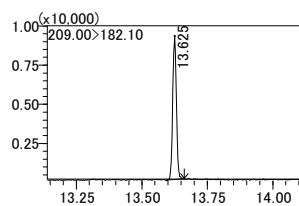
ブランク試料



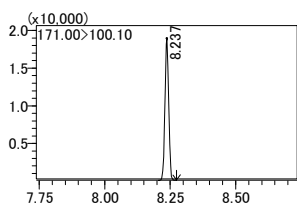
添加試料



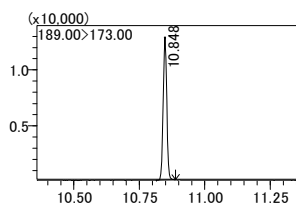
添加試料



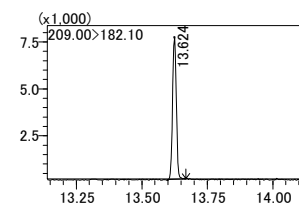
添加試料



標準溶液



標準溶液



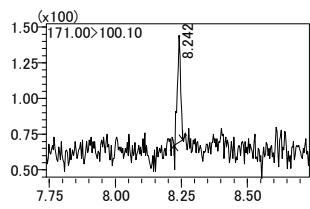
標準溶液

ジクロベニル( $m/z$ 171→100)

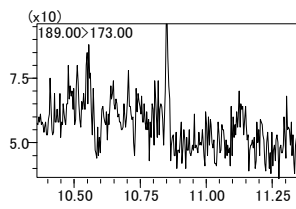
BAM( $m/z$ 189→173)

フルオピコリド( $m/z$ 209→182)

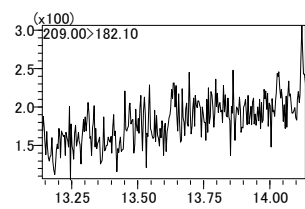
図 34 ほうれんそうのクロマトグラム(GC-MS/MS(SRM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当



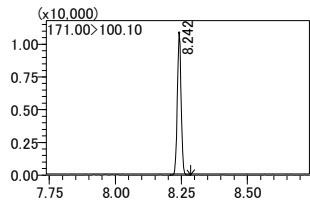
ブランク試料



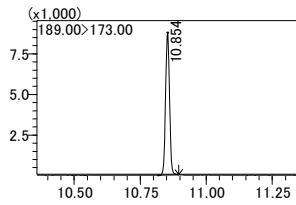
ブランク試料



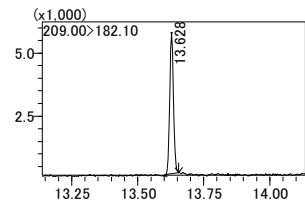
ブランク試料



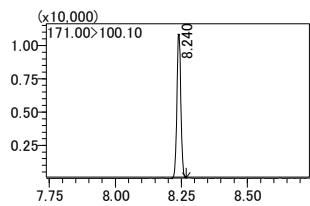
添加試料



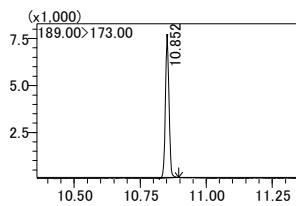
添加試料



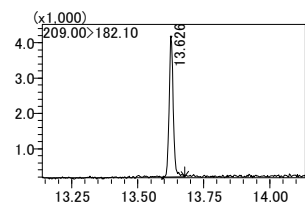
添加試料



標準溶液



標準溶液



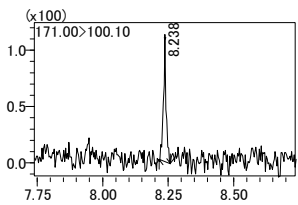
標準溶液

ジクロベニル( $m/z$ 171→100)

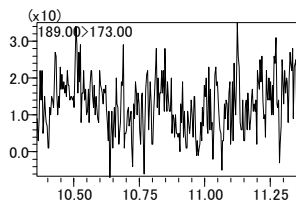
BAM( $m/z$ 189→173)

フルオピコリド( $m/z$ 209→182)

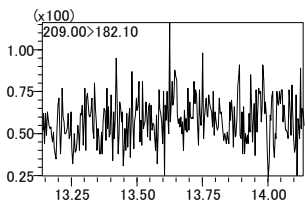
図 35 りんごのクロマトグラム(GC-MS/MS(SRM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当



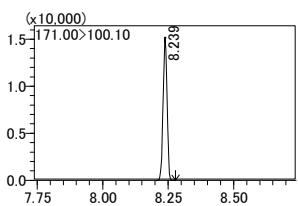
ブランク試料



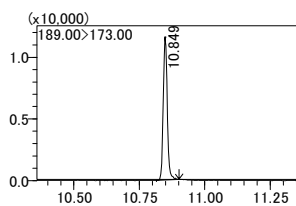
ブランク試料



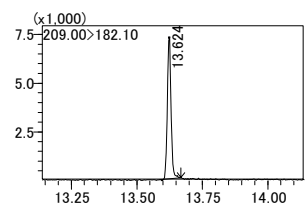
ブランク試料



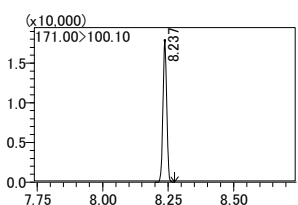
添加試料



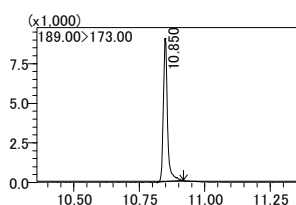
添加試料



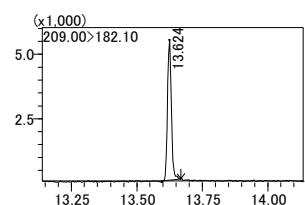
添加試料



標準溶液



標準溶液



標準溶液

ジクロベニル( $m/z$ 171→100)

BAM( $m/z$ 189→173)

フルオピコリド( $m/z$ 209→182)

図 36 ぶどうのクロマトグラム(GC-MS/MS(SRM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当

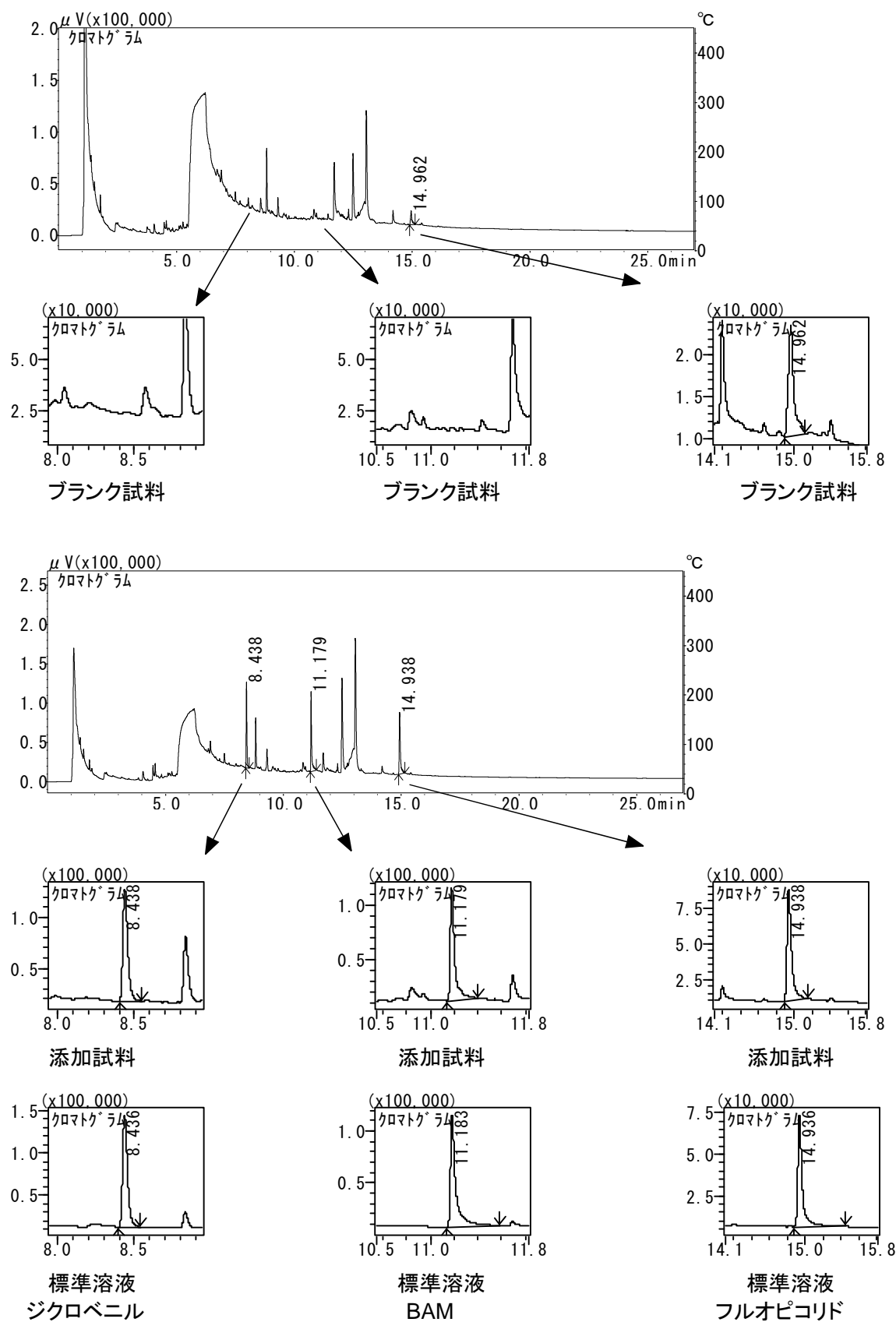


図 37 ばれいしょのクロマトグラム(GC-ECD 測定) 試料中 0.01 ppm 相当

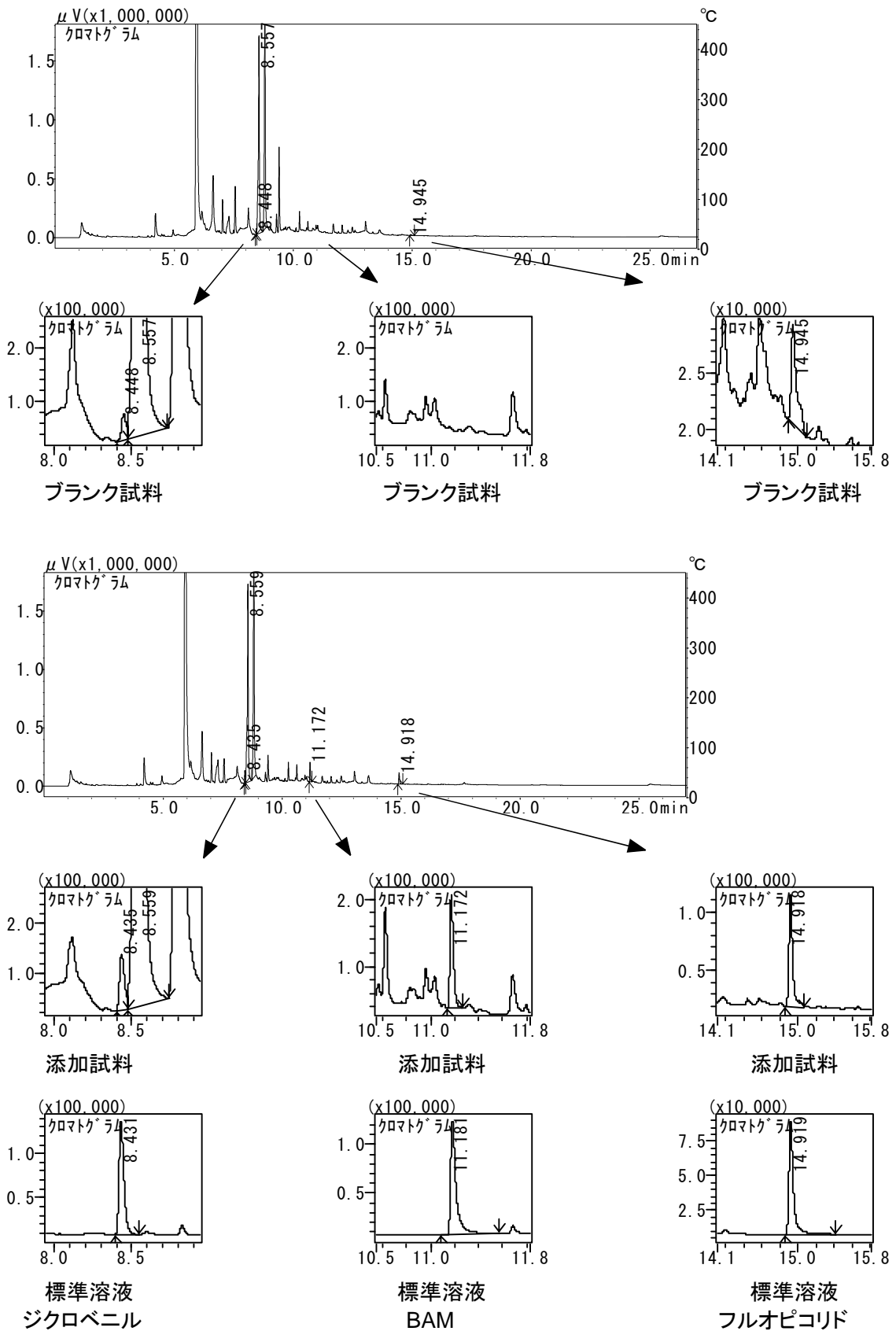


図 38 キャベツのクロマトグラム(GC-ECD 測定) 試料中 0.01 ppm 相当

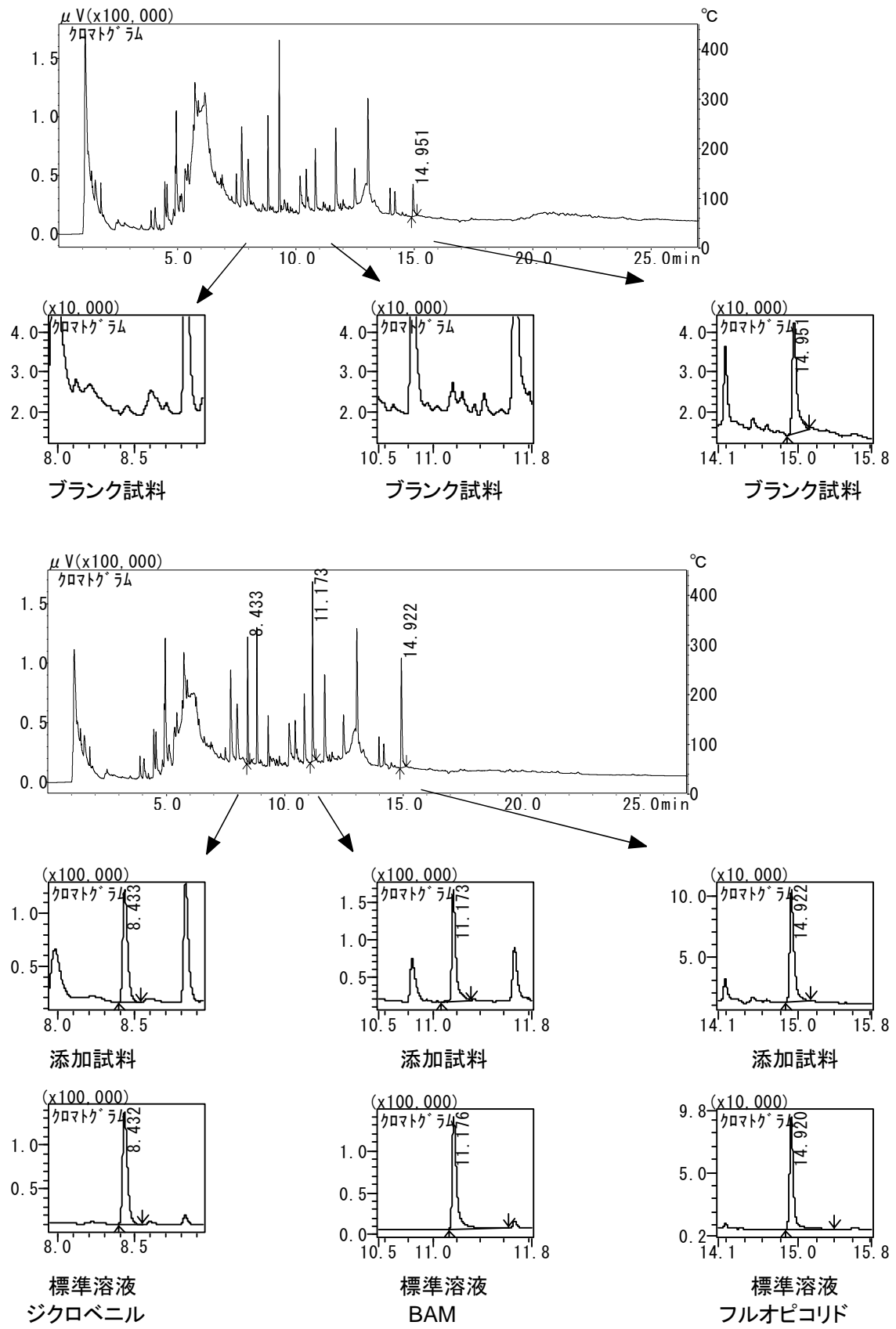


図 39 ほうれんそうのクロマトグラム(GC-ECD 測定) 試料中 0.01 ppm 相当



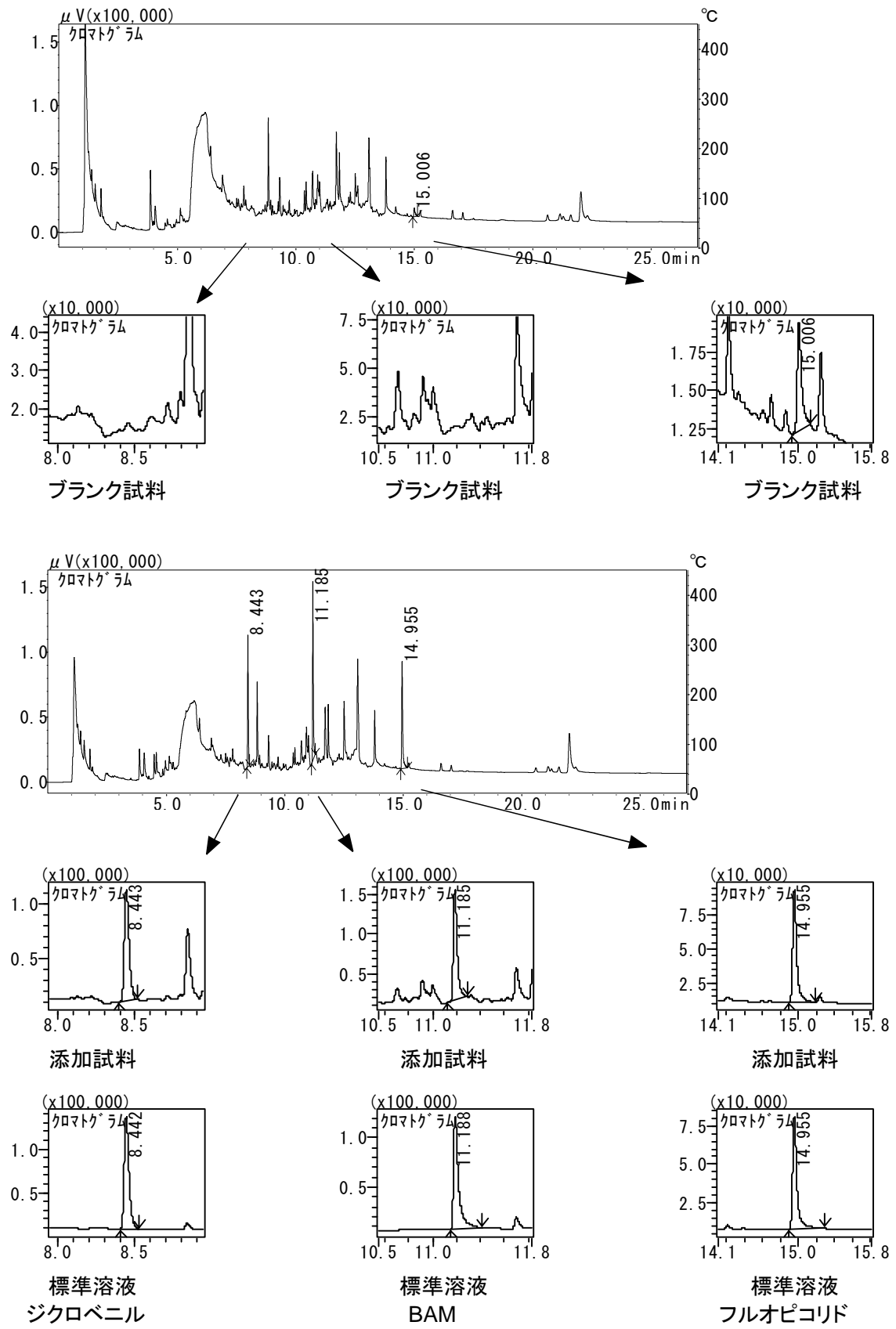


図 40 りんごのクロマトグラム(GC-ECD 測定) 試料中 0.01 ppm 相当

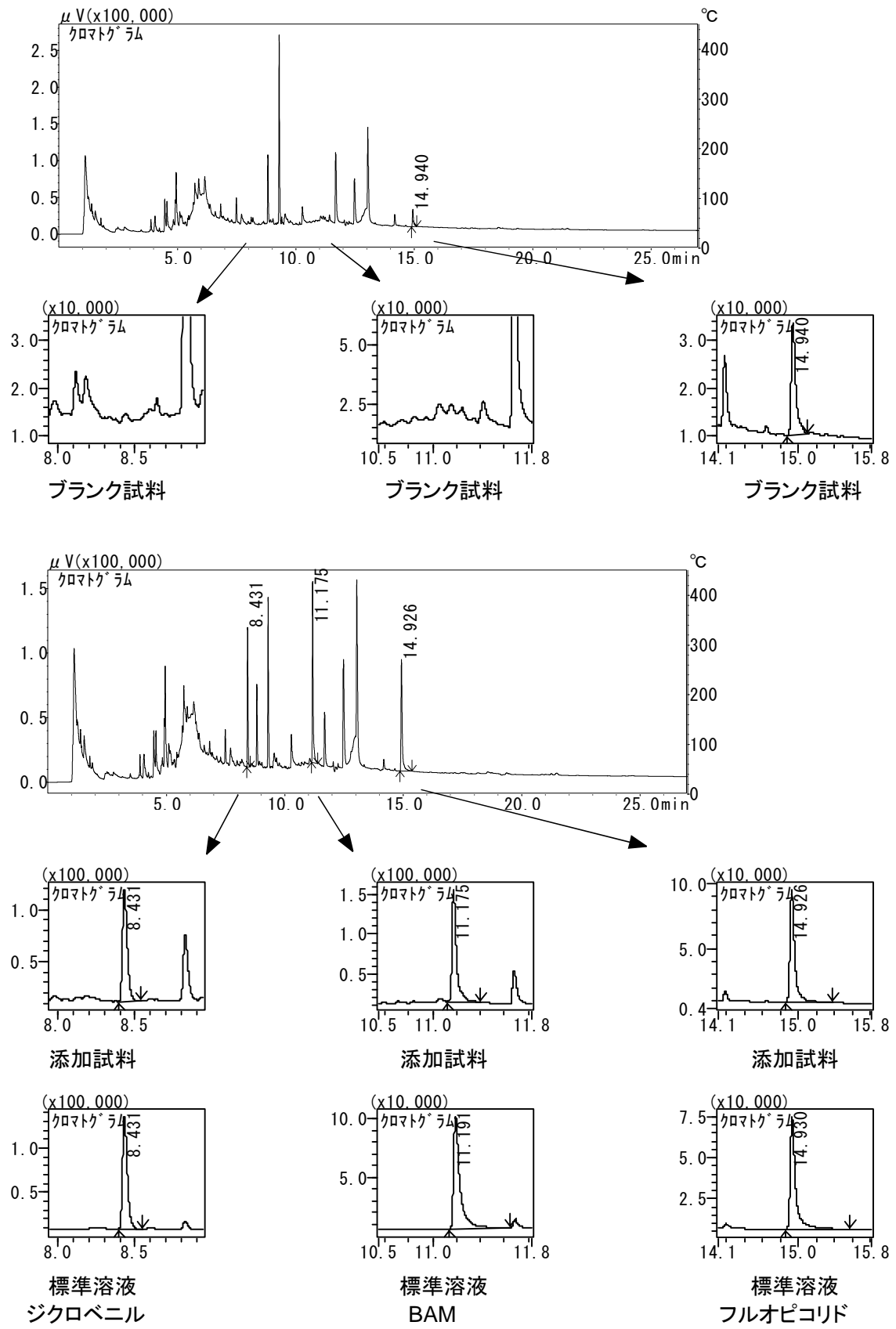
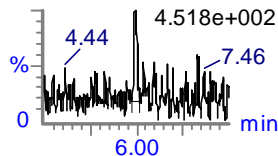


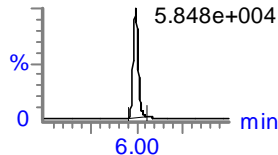
図 41 ぶどうのクロマトグラム(GC-ECD 測定) 試料中 0.01 ppm 相当

F1:MRM of 3 channels,ES+  
189.93 > 172.99



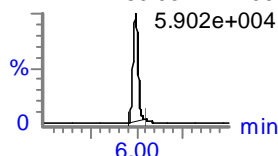
6.00  
ブランク試料

F1:MRM of 3 channels,ES+  
189.93 > 172.99



6.00  
添加試料

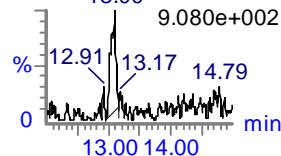
F1:MRM of 3 channels,ES+  
189.93 > 172.99



6.00  
標準溶液

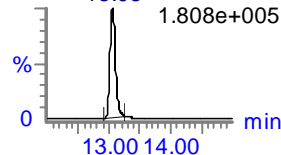
BAM( $m/z$ 190→173)

F2:MRM of 4 channels,ES+  
383 > 173.08



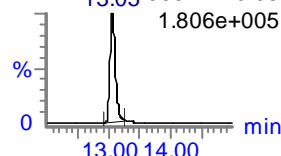
13.00 14.00  
ブランク試料

F2:MRM of 4 channels,ES+  
383 > 173.08



13.00 14.00  
添加試料

F2:MRM of 4 channels,ES+  
383 > 173.08

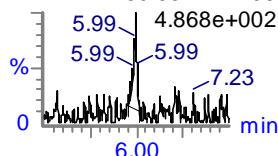


13.00 14.00  
標準溶液

フルオピコリド( $m/z$ 383→173)

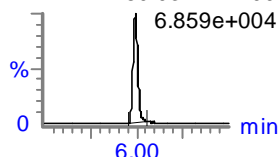
図 42 ばれいしょのクロマトグラム(LC-MS/MS(SRM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当

F1:MRM of 3 channels,ES+  
189.93 > 172.99



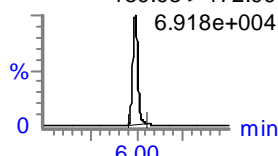
6.00  
ブランク試料

F1:MRM of 3 channels,ES+  
189.93 > 172.99



6.00  
添加試料

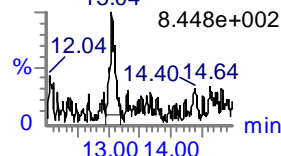
F1:MRM of 3 channels,ES+  
189.93 > 172.99



6.00  
標準溶液

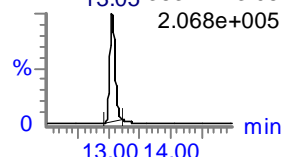
BAM( $m/z$ 190→173)

F2:MRM of 4 channels,ES+  
383 > 173.08



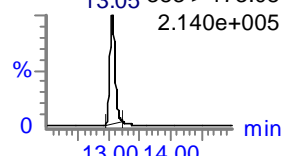
13.00 14.00  
ブランク試料

F2:MRM of 4 channels,ES+  
383 > 173.08



13.00 14.00  
添加試料

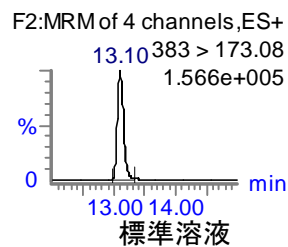
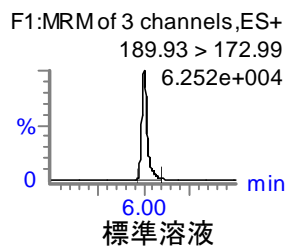
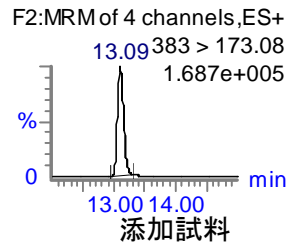
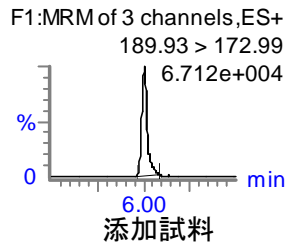
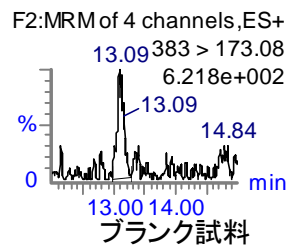
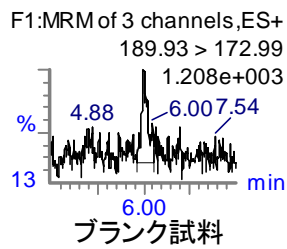
F2:MRM of 4 channels,ES+  
383 > 173.08



13.00 14.00  
標準溶液

フルオピコリド( $m/z$ 383→173)

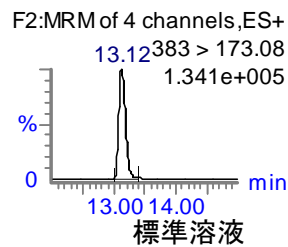
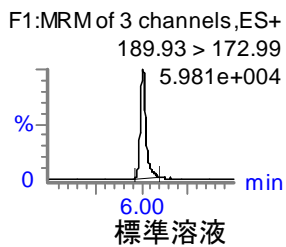
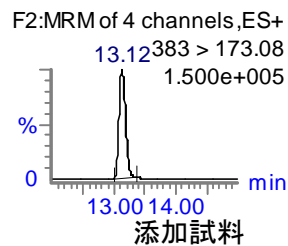
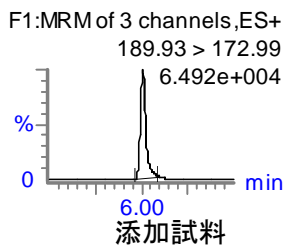
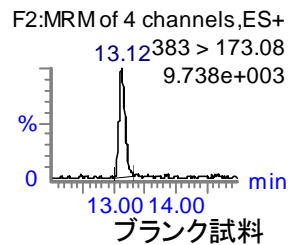
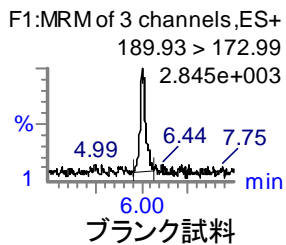
図 43 キャベツのクロマトグラム(LC-MS/MS(SRM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当



BAM( $m/z$ 190→173)

フルオピコリド( $m/z$ 383→173)

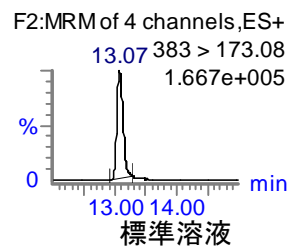
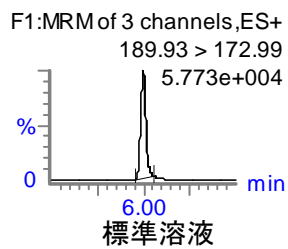
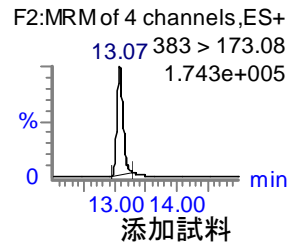
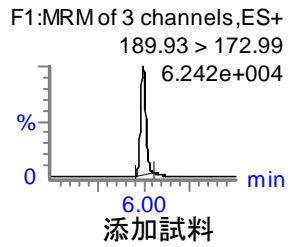
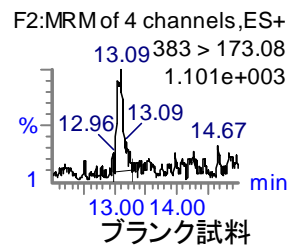
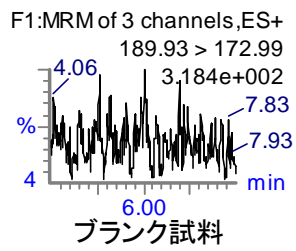
図 44 ほうれんそうのクロマトグラム(LC-MS/MS(SRM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当



BAM( $m/z$ 190→173)

フルオピコリド( $m/z$ 383→173)

図 45 りんごのクロマトグラム(LC-MS/MS(SRM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当



BAM( $m/z$ 190→173)

フルオピコリド( $m/z$ 383→173)

図 46 ぶどうのクロマトグラム(LC-MS/MS(SRM)測定) 試料中 0.01 ppm 相当

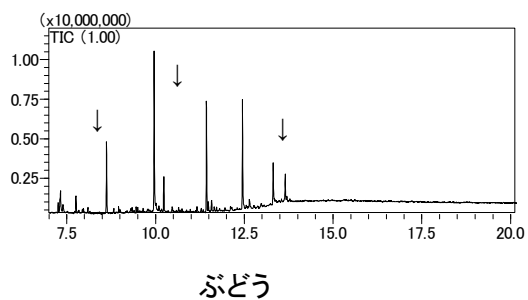
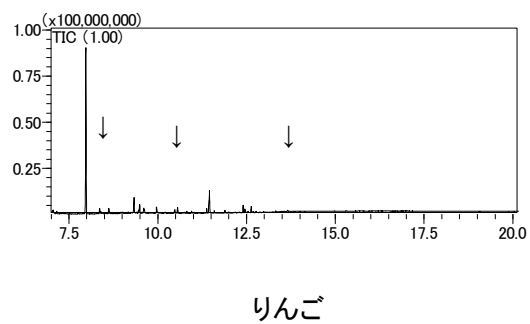
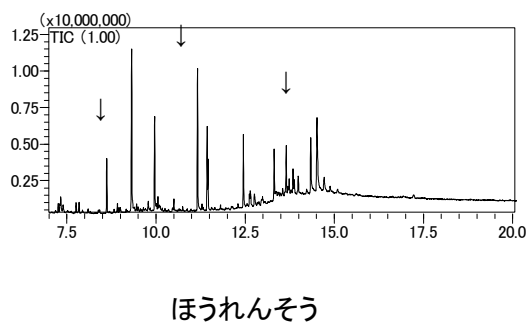
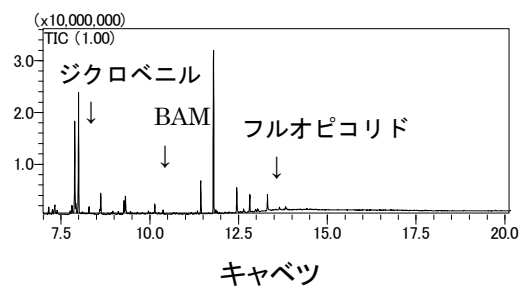
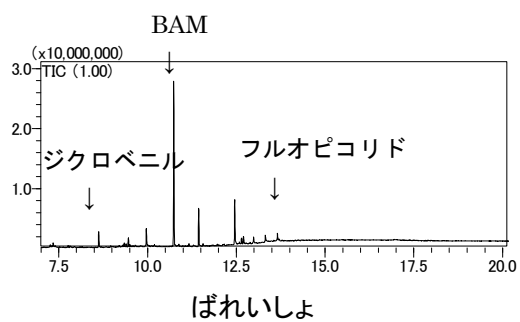


図 47 ブランク試料のトータルイオンクロマトグラム (GC-MS)  
(スキャン範囲: 70~500 amu)

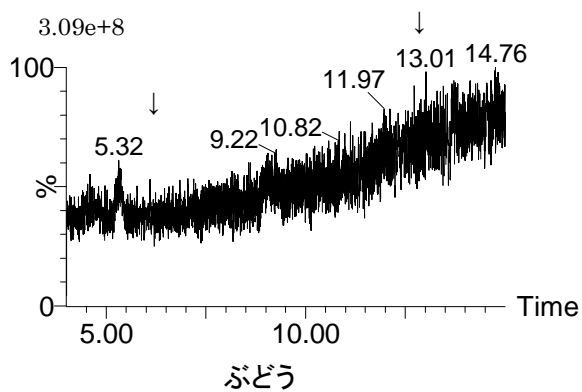
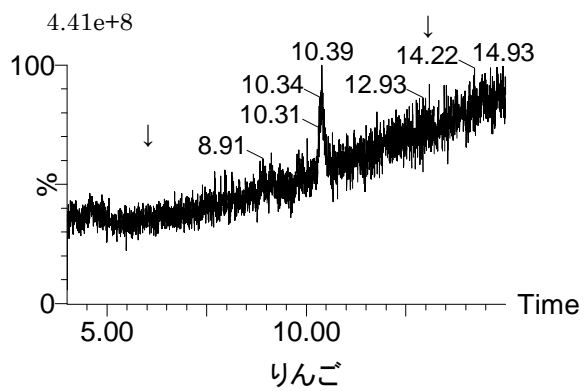
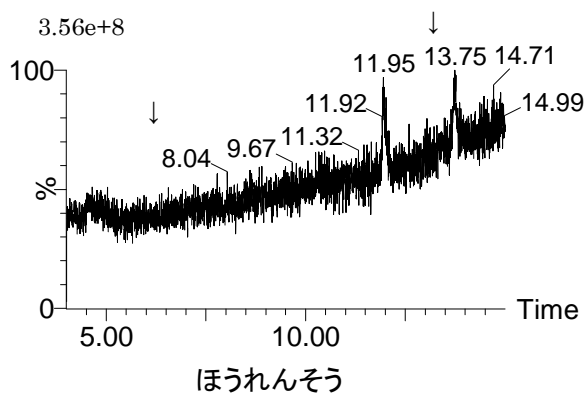
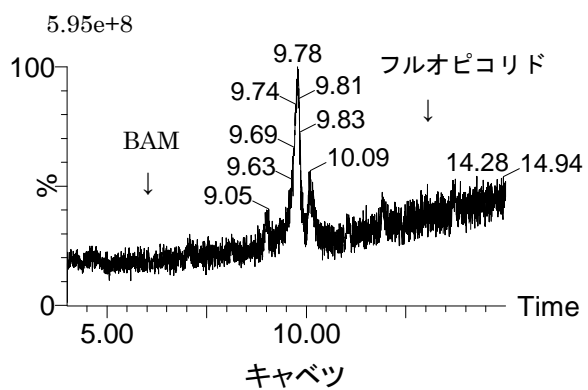
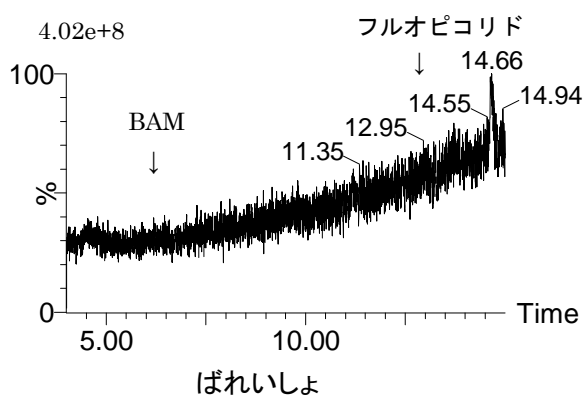


図 48 ブランク試料のトータルイオンクロマトグラム (LC-MS)  
(スキャン範囲: 50~1000 amu, CV=10 V)