

技術レポート**2 飼料中の 3-OH カルボフランの液体クロマトグラフトンデム型質量分析計による定量法の開発**

保田 伊世*, 長久保 眞平*

Development of Determination Method of 3-Hydroxycarbofuran in Feed by LC-MS/MS

Iyo YASUDA* and Shinpei NAGAKUBO*

(* Fertilizer and Feed Inspection Department, Food and Agricultural Materials Inspection Center)

An analytical method was developed to determine the level of 3-hydroxycarbofuran in feed using liquid chromatograph-electrospray ionization-tandem mass spectrometer (LC-ESI-MS/MS).

3-Hydroxycarbofuran was extracted by boiling hydrochloric acid (1:29) and the extracted solution was filtered. The filtrate was diluted with hydrochloric acid (1:29) to a volume of 200 mL. The sample solution was purified with two other types of SPE columns (InertSep K-solute, GL Sciences Inc.; Tokyo, Japan and Sep-Pak Plus Silica cartridge, Waters Co.; Milford, MA, USA), and injected into the LC-MS/MS to determine the level of 3-hydroxycarbofuran. LC separation was carried out on an ODS column (Mightysil RP-18 GP, 2.0 mm i.d. × 150 mm, 5 μm from Kanto Chemical Co., Inc.; Tokyo, Japan) using a gradient with 2 mmol/L ammonium acetate solution and acetonitrile as a mobile phase. In the MS/MS analysis, positive mode electrospray ionization (ESI+) was used.

Spike tests were conducted on formula feeds (for growing pigs and for dairy cattle), wheat, corn, alfalfa hay, rice straw and whole-crop rice silage. 3-Hydroxycarbofuran was spiked at the levels of 0.01 or 0.05 mg/kg for formula feeds and corn, 0.01 or 0.1 mg/kg for wheat, 0.01 or 13 mg/kg for alfalfa hay, 0.01 or 0.4 mg/kg for rice straw, and 0.004 or 0.6 mg/kg air-dry matter for whole-crop rice silage, respectively. The mean recoveries of 3-hydroxycarbofuran ranged from 82.2 to 91.3 %. The relative standard deviations of repeatability (RSD_r) were not more than 6.1 %.

Key words: 3-hydroxycarbofuran; liquid chromatograph-tandem mass spectrometer (LC-MS/MS); electrospray ionization (ESI); feed

キーワード: 3-OH カルボフラン; 液体クロマトグラフトンデム型質量分析計; エレクトロスプレーイオン化法; 飼料

1 緒 言

3-OH カルボフラン (3-ヒドロキシカルボフラン) は, カーバメート系殺虫剤であるカルボフラン誘導体のカルボスルファン, フラチオカルブ及びベンフラカルブの代謝体である^{1), 2)}. カルボスルファンは米国 FMC 社, フラチオカルブは Ciba-Geigy 社 (現: Syngenta 社), ベンフラカルブは大塚化学株式会社 (現: OAT アグリオ株式会社) によって開発された²⁾. カルボフランも FMC 社によって開発された農薬であるが, 日本での登録はない. また, フラチオカルブは 2006 年 1 月に国内での登録が失効している³⁾.

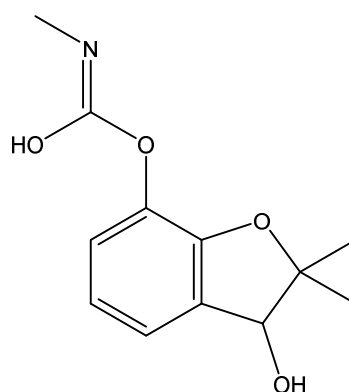
* 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

我が国における飼料中の残留農薬に係る省令基準値⁴⁾は、上記 4 成分のうち、カルボフランについて設定されている。カルボフランの残留農薬基準値は、カルボフラン及び 3-OH カルボフランをカルボフラン含量に換算したものの和と規定され⁵⁾、牧草で 13 mg/kg、大麦及び小麦で 0.2 mg/kg、えん麦、マイロ及びライ麦で 0.1 mg/kg、とうもろこしで 0.05 mg/kg となっている。また、飼料中の管理基準値⁶⁾は、上記農薬 4 成分のうち、カルボスルファンについて設定されており、稲わらで 0.7 mg/kg、稲発酵粗飼料（以下「WCRS」という。）で 1 mg/kg となっている。更に、カルボスルファン及びカルボフランに対する厚生労働省の規格基準における残留農薬基準値⁷⁾は、カルボスルファンが検出された場合に限り、カルボスルファン（カルボフラン及び 3-OH カルボフランをカルボスルファン含量に換算したものを含む。）として、玄米で 0.2 mg/kg となっている。また、カルボフラン又は 3-OH カルボフランが検出され、加えてカルボスルファン、フラチオカルブ又はベンフラカルブが検出されなかった場合に限り、カルボフラン及び 3-OH カルボフランをカルボフラン含量に換算したものの和として、玄米で 0.1 mg/kg となっている。

3-OH カルボフランは植物体中に一部配糖体として存在し、有機溶媒では完全に抽出することができない。そのため、塩酸を添加して加熱することで配糖体を加水分解し、抽出する方法が採用されており⁸⁾⁻¹²⁾、飼料分析基準には既に、ポストカラム蛍光誘導体化液体クロマトグラフで定量する方法が収載されている¹²⁾。しかし、飼料分析基準に収載されている方法は、開発当時、飼料用イネを検討対象としていなかった。また、測定機器についても、より汎用性のあるものが望ましい。

今回、財団法人日本食品分析センターが平成 21 年度飼料中の有害物質等分析法開発事業において開発した、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計（以下「LC-MS/MS」という。）を用いた定量法¹³⁾（以下「JFRL 法」という。）を基に、飼料分析基準への収載を目途とした分析法の開発等について検討したので、その概要を報告する。

参考に 3-OH カルボフランの構造式等を Fig. 1 に示した。



2,3-dihydro-3-hydroxy-2,2-dimethylbenzofuran-7-yl
methylcarbamate

C₁₂H₁₅NO₄ MW: 237.3 CAS No.: 16655-82-6

Fig. 1 Chemical structure of 3-hydroxycarbofuran

2 実験方法

2.1 試料

配合飼料（肉豚肥育用及び乳用牛飼育用）、小麦、とうもろこし、乾牧草（アルファルファ乾

草、スーダングラス乾草及びチモシー乾草) 及び稲わらはそれぞれ 1 mm のスクリーンを装着した粉砕機で粉砕した。WCRS は 60 °C で 10 時間乾燥後、更に室内に静置して風乾した後、同様に粉砕した。

なお、検討に用いた配合飼料の例を Table 1 に示した。

Table 1 Compositions of the formula feeds

Formula feed types	Ingredient types	Proportion (%)	Ingredients
For growing pigs	Grains	77	Corn, milo, wheat flour, wheat, barley
	Oil seed meal	21	Soybean meal, rapeseed meal
	Animal by-products	1	Fish meal
	Others	1	Animal fat, calcium carbonate, salt, calcium phosphate, feed additives
For dairy cattle	Grains	48	Heat-treated corn, wheat flour, corn, milo
	Brans	24	Wheat bran, corn gluten feed, rice bran
	Oil seed meal	23	Soybean meal, rapeseed meal
	Others	5	Molasses, calcium carbonate, salt, feed additives

2.2 試薬

1) アセトニトリル及びメタノールは LC-MS 用を用いた。アセトン、酢酸エチル及びヘキサンは残留農薬・PCB 試験用を用いた。酢酸アンモニウムは高速液体クロマトグラフ用 (1 mol/L 水溶液, 関東化学製及び和光純薬工業製) を用いた。塩酸は試薬特級を用いた。沸騰石は化学用 (和光純薬工業製) を用いた。シリコン油は SRX310 (東レ・ダウコーニング製) を用いた。水は Milli-Q Integral 5 (Millipore 製) により精製した超純水 (JIS K0211 の 5218 に定義された超純水) を用いた。

2) 3-OH カルボフラン標準液

3-OH カルボフラン標準品 (純度 99.0 %, 和光純薬工業製) 10 mg を正確に量って 100 mL の全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加えて 3-OH カルボフラン標準原液を調製した (この液 1 mL は、3-OH カルボフランとして 0.1 mg を含有する。)

使用に際して、3-OH カルボフラン標準原液 4 mL を 20 mL の全量フラスコに正確に入れ、更に標線までメタノールを加えて、1 mL 中に 3-OH カルボフランとして 20 µg を含有する液を調製した。この液の一定量を、アセトニトリルで正確に希釈し、1 mL 中に 3-OH カルボフランとして 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15 及び 20 ng を含有する各標準液を調製した。

2.3 装置及び器具

1) 粉砕機 :

粉砕機 1 (配合飼料, 小麦及びとうもろこし用) : ZM-200 Retsch 製 (1 mm スクリーン, 使用時回転数 14000 rpm)

粉砕機 2 (乾牧草, 稲わら及び WCRS 用) : SM-100 Retsch 製 (1 mm スクリーン, 回転数 (仕様) 1500 rpm)

- 2) ガラス繊維ろ紙：GFP-95 桐山製作所製
- 3) 多孔性ケイソウ土カラム：InertSep K-solute (5 mL 保持用) ジーエルサイエンス製
- 4) シリカゲルミニカラム：Sep-Pak Plus Silica (充てん剤量 690 mg) Waters 製にリザーバーを連結したもの
- 5) LC-MS/MS：
LC 部：ACQUITY UPLC System Waters 製
MS/MS 部：Xevo TQD Waters 製

2.4 定量方法

1) 抽出

分析試料 5 g を正確に量って 500 mL のなす形フラスコに入れ、塩酸 (1+29) 130 mL, 沸騰石 3~4 粒及びシリコン油約 1 mL を加え、還流冷却器に接続し、1 時間加熱抽出した。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をガラス繊維ろ紙で吸引ろ過した後、先のなす形フラスコ及び残さを順次塩酸 (1+29) - アセトン (5+2) 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過した。更に全量フラスコの標線まで塩酸 (1+29) を加えた。この液 2 mL を 10 mL の試験管に正確に入れ、塩酸 (1+29) 2 mL を加えて、カラム処理 I に供する試料溶液とした。

2) カラム処理 I

試料溶液を多孔性ケイソウ土カラムに入れ、10 分間静置した。100 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていた試験管をヘキサン-酢酸エチル (1+1) 5 mL ずつで 4 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下して 3-OH カルボフランを溶出させた。更に同溶媒 20 mL をカラムに加えて同様に溶出させ、溶出液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固した。

酢酸エチル 1 mL を加えて残留物を溶かした後、ヘキサン 9 mL を加えて、カラム処理 II に供する試料溶液とした。

3) カラム処理 II

シリカゲルミニカラムを酢酸エチル 5 mL 及びヘキサン 5 mL で順次洗浄した (必要に応じ、流速が 1 mL/min 程度になるよう吸引した。以下同様。)

試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン-酢酸エチル (3+2) 5 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下して 3-OH カルボフランを溶出させた。更に同溶媒 5 mL をミニカラムに加えて同様に溶出させ、溶出液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固した。アセトニトリル 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、LC-MS/MS による測定に供する試料溶液とした。

4) LC-MS/MS による測定

試料溶液及び各 3-OH カルボフラン標準液各 2 µL を LC-MS/MS に注入し、選択反応検出 (以下「SRM」という。) クロマトグラムを得た。測定条件を Table 2 及び 3 に示した。

なお、多孔性ケイソウ土カラムからの溶出画分の確認を行った場合及び WCRS に原物換算して 0.6 mg/kg 相当量の 3-OH カルボフランを添加した場合は、上記 3) で流出液に窒素ガスを送って乾固した後、アセトニトリル 20 mL を正確に加えて残留物を溶かし、LC-MS/MS によ

る測定に供する試料溶液とした（以下「10 倍希釈試料溶液」という．）．また、アルファルファ乾草に 13 mg/kg 相当量の 3-OH カルボフランを添加した場合は、上記 3) で得られた試料溶液の一部を更にアセトニトリルで正確に 100 倍希釈し、LC-MS/MS による測定に供する試料溶液とした（以下「100 倍希釈試料溶液」という．）．

Table 2 Operating conditions of LC-MS/MS

Column	Mightysil RP-18 GP (2.0 mm i.d. × 150 mm, 5 μm), Kanto Chemical
Mobile phase	2 mmol/L ammonium acetate solution – acetonitrile (95:5) → 10 min → (10:90) (hold for 5 min)
Flow rate	0.2 mL/min
Column temperature	40 °C
Ionization	Electrospray ionization (ESI)
Mode	Positive
Source temperature	150 °C
Desolvation gas	N ₂ (1000 L/h, 500 °C)
Capillary voltage	3.1 kV
Cone gas	N ₂ (50 L/h)
Collision gas	Ar (0.4 Pa)

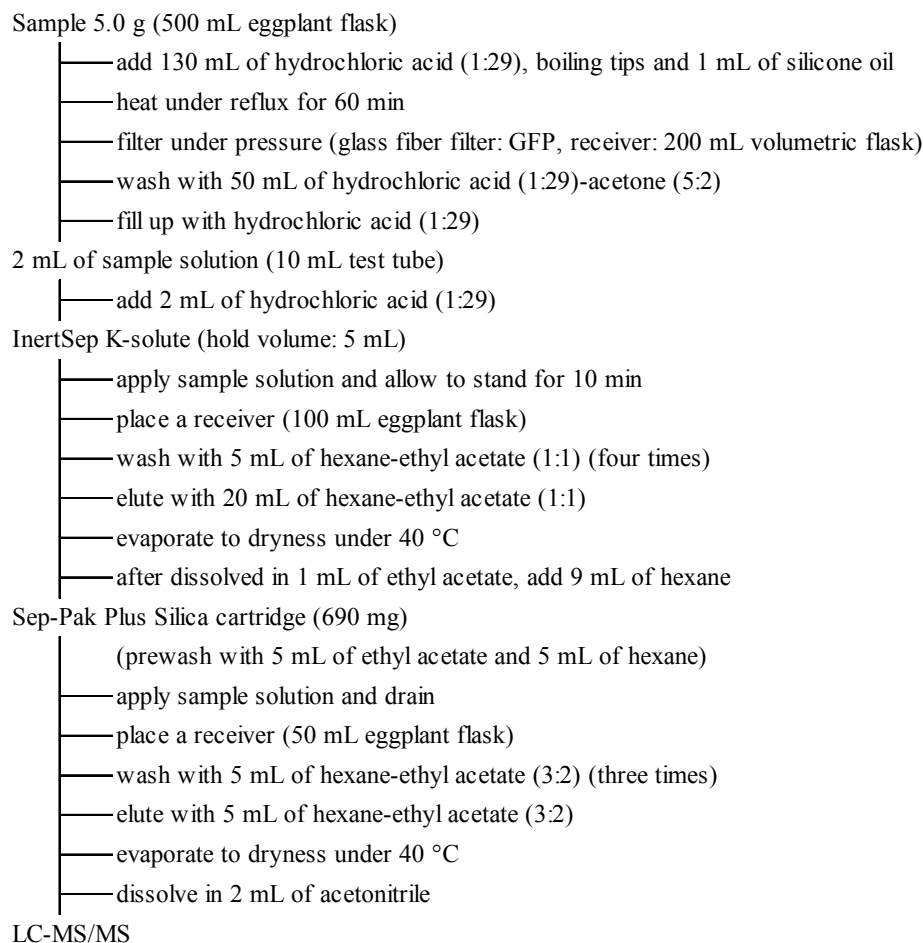
Table 3 MS/MS parameters

Target	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Product ion		Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
		Quantifer (<i>m/z</i>)	Qualifier (<i>m/z</i>)		
3-Hydroxycarbofuran	238	163	—	28	14
		—	181	28	10

5) 計 算

得られた SRM クロマトグラムからピーク面積及び高さを求めて検量線を作成し、試料中の 3-OH カルボフラン量を算出した。

なお、定量法の概要を Scheme 1 に示した。



Scheme 1 Analytical procedure for 3-hydroxycarbofuran in feed

3 結果及び考察

3.1 検量線

2.2 の 2)に従って調製した各 3-OH カルボフラン標準液 2 μL を LC-MS/MS に注入し、得られた SRM クロマトグラムからピーク面積及び高さを用いて検量線を作成した。得られた検量線の一例は、Fig. 2 のとおりであり、3-OH カルボフランは各 0.1~20 ng/mL (注入量として 0.2~40 pg 相当量) の範囲で直線性を示した。

なお、当該検量線の濃度範囲は、3-OH カルボフランを 0.004~0.8 mg/kg 含有する分析用試料を本法に従い調製した最終試料溶液中の 3-OH カルボフラン濃度範囲に相当する。

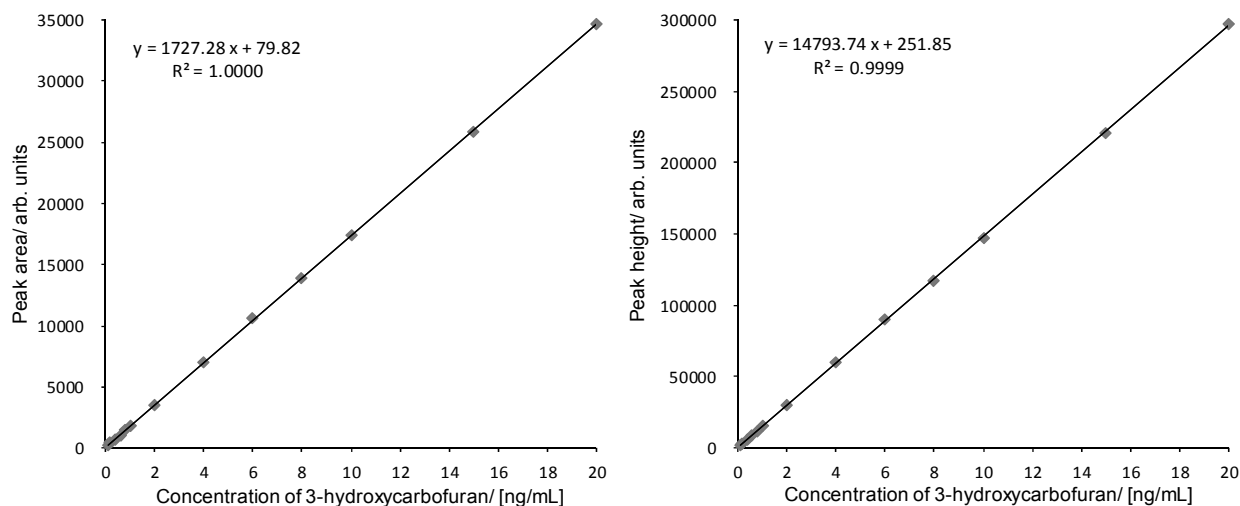


Fig. 2 Calibration curves of 3-hydroxycarbofuran by peak area (left) and peak height (right)

3.2 妨害物質の検討

配合飼料（肉豚肥育用及び乳用牛飼育用），小麦，とうもろこし，アルファルファ乾草，稲わら及び WCRS 各 1 検体を試料として，2.4 により調製した試料溶液を LC-MS/MS に注入し，得られた SRM クロマトグラムを確認したところ，いずれの試料においても 3-OH カルボフランの定量を妨げるピークは認められなかった。

なお，得られた SRM クロマトグラムの一例を Fig. 3 に示した。

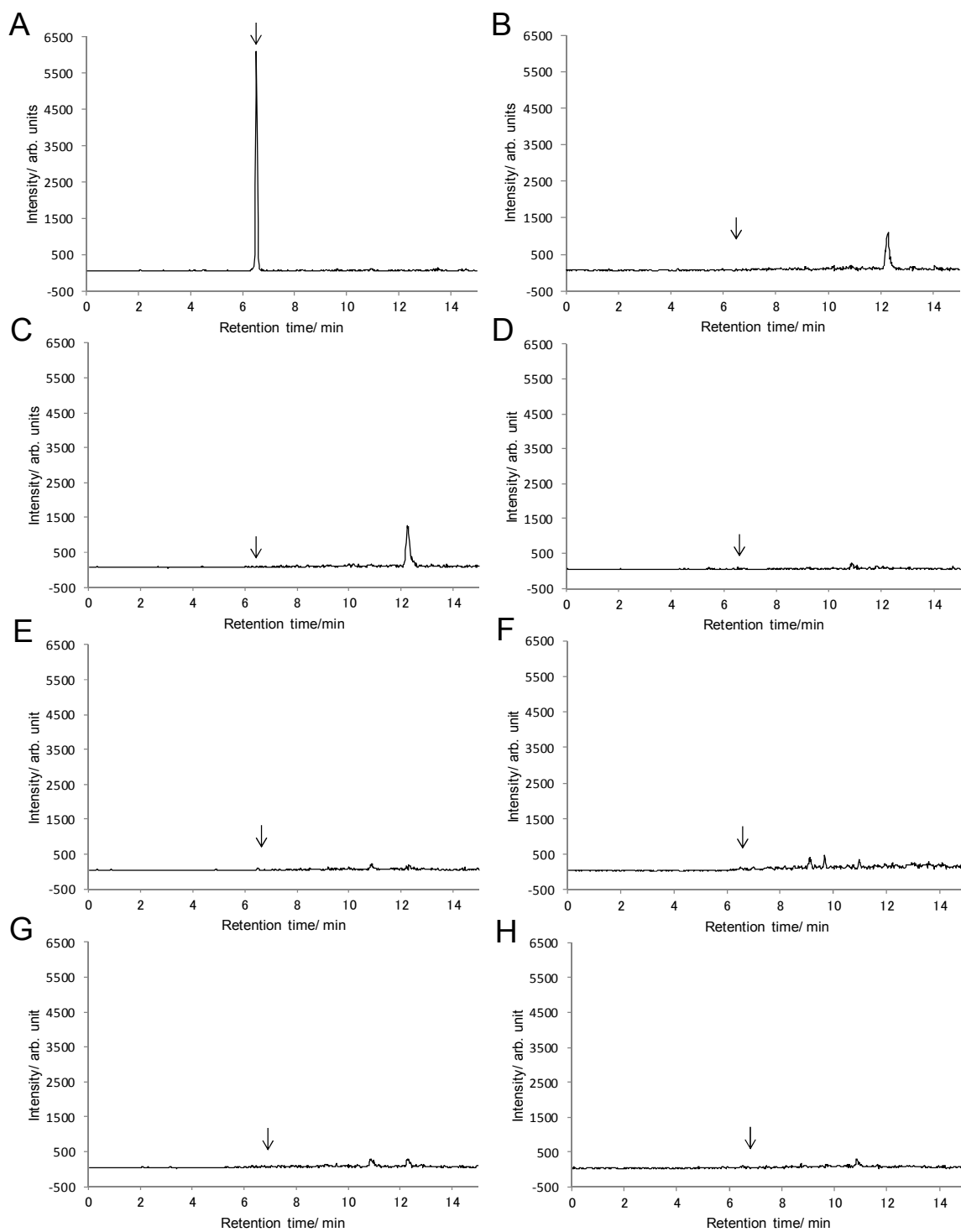


Fig. 3 Selected reaction monitoring (SRM) chromatograms of standard and blank sample solutions

(LC-MS/MS conditions are shown in Tables 2 and 3. Arrows indicate the retention time of 3-hydroxycarbofuran.)

A: Standard solution (0.25 ng/mL: 0.5 pg as 3-hydroxycarbofuran)

B~H: Sample solution (blank) (B: formula feed for growing pigs, C: formula feed for dairy cattle, D: wheat, E: corn, F: alfalfa hay, G: rice straw, H: whole-crop rice silage (WCRS))

3.3 マトリックス効果の確認

2.4 の 1), 2)及び 3)により調製した配合飼料, 小麦, とうもろこし, アルファルファ乾草, 稲わら及び WCRS の各ブランク試料溶液各 1 mL をそれぞれ 50 mL のなす形フラスコに入れ, 窒素ガスを送って乾固した. 2.2 の 2)に 従って調製した 1 mL 中に 3-OH カルボフランとして 1 ng を含有する標準液 1 mL で残留物を溶かし, マトリックス標準液 (各試料に対して 0.04 mg/kg 添加相当量) を調製した. 各マトリックス標準液について, 2.2 の 2)に従って調製した同濃度の 3-OH カルボフラン標準液に対するピーク面積比を確認したところ, ピーク面積比は Table 4 のとおり, 100~108 %であり, 3-OH カルボフランは試料マトリックスによる大きな影響を受けることなく測定可能であった.

Table 4 Matrix effect of feeds

Feed types of matrix	Concentration of 3-hydroxycarbofuran		Matrix effect ^{b)} (%)
	in matrix standard solution (ng/mL)	in sample ^{a)} (mg/kg)	
Formula feed for growing pigs	1	0.04	100
Formula feed for dairy cattle	1	0.04	104
Wheat	1	0.04	108
Corn	1	0.04	100
Alfalfa hay	1	0.04	103
Rice straw	1	0.04	103
WCRS	1	0.04 ^{c)}	102

$n = 3$

a) Converted from the concentration in the matrix standard solution

b) Ratio of peak area of 3-hydroxycarbofuran in the presence of matrix to that in the absence of matrix

c) mg/kg air-dry matter

3.4 添加回収試験

2.2 の 2)の 3-OH カルボフラン標準原液をメタノール及びアセトニトリルで正確に希釈し添加に用いた.

3-OH カルボフランとして, 配合飼料 2 種類 (肉豚肥育用及び乳用牛飼育用) 及びとうもろこしに 0.01 及び 0.05 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 0.25 及び 1.25 ng/mL), 小麦に 0.01 及び 0.1 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 0.25 及び 2.5 ng/mL), アルファルファ乾草に 0.01 及び 13 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 0.25 及び 3.25 ng/mL), 稲わらに 0.01 及び 0.4 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 0.25 及び 10 ng/mL), WCRS に原物換算で 0.004 及び 0.6 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 0.25 及び 3.5 ng/mL) になるようにそれぞれ添加してよく混合し, 一夜静置した後に本法に従って定量し, 平均回収率及び繰返し精度を求めた.

なお, WCRS に対する添加は風乾物試料に対して 3-OH カルボフランとして 0.02 及び 0.4 mg/kg 相当量になるよう行い, 原物中濃度への換算は, 原物中及び風乾物中の水分含有量を 60 %及び 10 %と仮定して, 原物 (水分含有量 60 %) 中濃度 = 風乾物 (水分含有量 10 %) 中濃度 / 2.25 の式により行った.

その結果は Table 5 のとおり，平均回収率は 82.2~91.3 %，その繰返し精度は相対標準偏差 (RSD_r) として 6.1 %以下の成績が得られ，飼料分析基準の妥当性確認法ガイドライン¹²⁾ (以下「妥当性確認法ガイドライン」という。) に規定された真度及び併行精度の目標値を満たしていた。

なお，得られた SRM クロマトグラムの一例を Fig. 4 に示した。

Table 5 Recoveries for 3-hydroxycarbofuran

Spiked level (mg/kg original matter)	Feed types							
	Formula feed for growing pigs		Formula feed for dairy cattle		Wheat		Corn	
	Recovery ^{a)} (%)	RSD _r ^{b)} (%)	Recovery ^{a)} (%)	RSD _r ^{b)} (%)	Recovery ^{a)} (%)	RSD _r ^{b)} (%)	Recovery ^{a)} (%)	RSD _r ^{b)} (%)
0.01	87.4	4.8	83.0	4.0	85.8	2.8	88.6	1.3
0.05	84.8	2.3	82.2	2.3	—	—	88.1	2.3
0.1	—	—	—	—	91.3	4.2	—	—

Spiked level (mg/kg original matter)	Feed types					
	Alfalfa hay		Rice straw		WCRS ^{c)}	
	Recovery ^{a)} (%)	RSD _r ^{b)} (%)	Recovery ^{a)} (%)	RSD _r ^{b)} (%)	Recovery ^{a)} (%)	RSD _r ^{b)} (%)
0.004 ^{d)}	—	—	—	—	83.7	6.1
0.01	86.2	4.3	88.2	6.1	—	—
0.4	—	—	84.7	1.4	—	—
0.6 ^{d)}	—	—	—	—	83.4	1.3
13	83.3	1.1	—	—	—	—

—: Not tested

a) Mean ($n = 5$)

b) Relative standard deviation of repeatability

c) 3-Hydroxycarbofuran was spiked to air-dried WCRS samples one night prior to extraction.

d) The spiked levels were 0.01 and 1.4 mg/kg air-dry matter. The levels of pesticides in original matter were calculated with following equation on the assumption that the moisture content of WCRS samples was 60 % for original matter and 10 % for air-dry matter.

The levels of 3-hydroxycarbofuran in original matter (moisture 60 %)

= the levels of 3-hydroxycarbofuran in air-dry matter (moisture 10 %) / 2.25

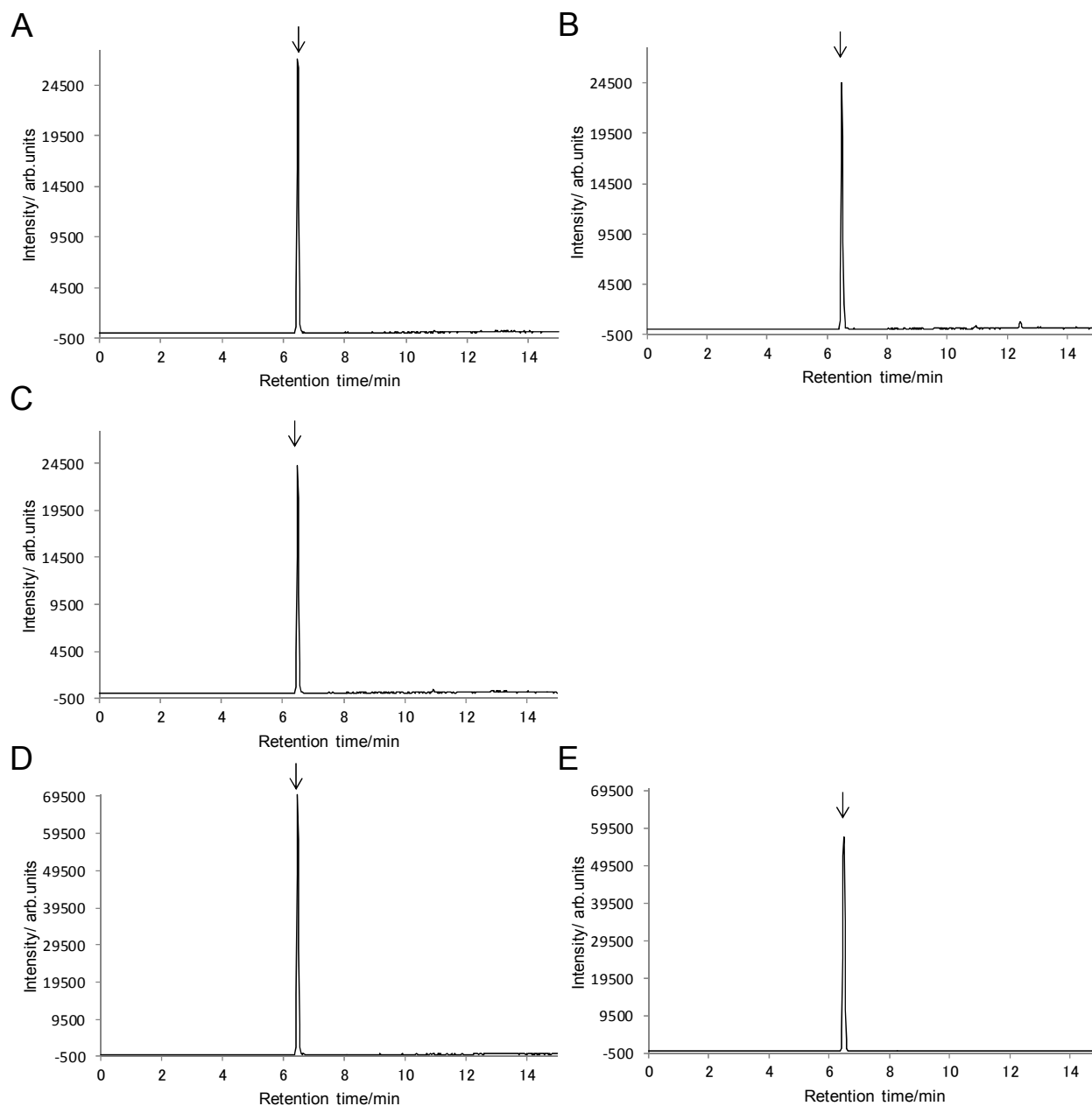


Fig. 4 SRM chromatograms of standard solutions and spiked samples

(LC-MS/MS conditions are shown in Tables 2 and 3.

Arrows indicate the peak of 3-hydroxycarbofuran.)

A: Standard solution (The concentration is 1.25 ng/mL for 3-hydroxycarbofuran.)

B: Sample solution of formula feed for growing pigs spiked at 0.05 mg/kg of 3-hydroxycarbofuran (corresponding to 1.25 ng/mL as 3-hydroxycarbofuran)

C: Sample solution of corn spiked at 0.05 mg/kg of 3-hydroxycarbofuran (corresponding to 1.25 ng/mL as 3-hydroxycarbofuran)

D: Standard solution (corresponding to is 3.25 ng/mL as 3-hydroxycarbofuran)

E: Sample solution of alfalfa hay spiked at 13 mg/kg of 3-hydroxycarbofuran (corresponding to 3.25 ng/mL as 3-hydroxycarbofuran)

3.5 定量下限及び検出下限

直線性を示すことを確認した検量線の濃度範囲 0.1~20 ng/mL の下端付近濃度 (0.25 ng/mL (試料中で 0.01 mg/kg 相当量)) での添加回収試験の結果, 得られたピークの SN 比が 10 を超えていたため, 本法の定量下限は 0.01 mg/kg とした. 設定した定量下限濃度は, 飼料中のカルボフランの有害物質の省令基準における残留農薬基準値の最小濃度 0.05 mg/kg を 3-OH カルボフラン換算した値に対して 1/5 及びカルボスルファンの飼料中の管理基準値の最小濃度 0.7 mg/kg を 3-OH カルボフラン換算した値に対して 1/44 であり, 妥当性確認法ガイドラインに規定された目標を満たしていた.

また, 添加回収試験より得られたピークから SN 比が 3 となる濃度を算出した結果, 試料 (WCRS は風乾物) 中の検出下限は 0.002 mg/kg であり, 同様に妥当性確認法ガイドラインに規定された目標を満たしていた.

なお, Table 5 に示したとおり, 当該定量下限濃度における添加回収試験結果は良好であった.

4 まとめ

飼料中に残留する 3-OH カルボフランについて, JFRL 法を基に, LC-MS/MS を用いた定量法の開発等について検討したところ, JFRL 法と同様の方法で以下の結果が得られた.

1) 検量線は, 0.1~20 ng/mL (注入量として 0.2~40 pg) の範囲で直線性を示した.

なお, 当該検量線の濃度範囲は, 3-OH カルボフランを 0.004~0.8 mg/kg 含有する分析用試料を, 本法に従い調製した最終試料溶液中の 3-OH カルボフラン濃度範囲に相当する.

2) 配合飼料 2 種類 (肉豚肥育用及び乳用牛飼育用), 小麦, とうもろこし, アルファルファ乾草, 稲わら及び WCRS について, 本法に従って得られたクロマトグラムには, 定量を妨げるピークは認められなかった.

3) 本法に従い得られた試料溶液についてマトリックス効果を確認した結果, 3-OH カルボフランは試料マトリックスによる大きな影響を受けることなく測定可能であった.

4) 飼料中に 3-OH カルボフランとして, 配合飼料 (肉豚肥育用及び乳用牛飼育用) 及びとうもろこしに 0.01 及び 0.05 mg/kg 相当量, 小麦に 0.01 及び 0.1 mg/kg 相当量, アルファルファ乾草に 0.01 及び 13 mg/kg 相当量, 稲わらに 0.01 及び 0.4 mg/kg 相当量, WCRS に原物換算して 0.004 及び 0.6 mg/kg 相当量を添加し, 本法に従って 5 点併行分析を実施し, 回収率及び繰返し精度を求めたところ, 妥当性確認法ガイドラインに規定された目標値を満たす良好な結果が得られた.

5) 本法の 3-OH カルボフランの定量下限は試料中 (WCRS は風乾物) で 0.01 mg/kg, 検出下限は 0.002 mg/kg であった. 設定した定量下限及び検出下限は, 妥当性確認法ガイドラインに規定された目標を満たしていた.

文 献

- 1) 内閣府食品安全委員会: 共通代謝物を有する農薬の評価方法について (案), <http://www.fsc.go.jp/fsciis/meetingMaterial/show/kai20060719no1>, cited 21 Dec. 2016.
- 2) 農薬ハンドブック 2005 年版編集委員会: 農薬ハンドブック 2005 年版, 東京, 日本植物防疫協会, 51-56 (2005) (ISBN: 978-4889260991).

- 3) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター：登録失効有効成分，
<http://www.acis.famic.go.jp/toroku/sikkouseibun.htm>, cited 21 Dec. 2016.
- 4) 農林省令：飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令，昭和 51 年 7 月 24 日，農林省令第 35 号 (1976).
- 5) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令の施行について，平成 18 年 5 月 26 日，18 消安第 2321 号 (2006).
- 6) 農林水産省畜産局長通知：飼料の有害物質の指導基準及び管理基準について，昭和 63 年 10 月 14 日，63 畜 B 第 2050 号 (1988).
- 7) 厚生省告示：食品，添加物等の規格基準，昭和 34 年 12 月 28 日，厚生省告示第 370 号 (1959).
- 8) 上路 雅子，小林 裕子，中村 幸二：残留農薬分析法，東京，ソフトサイエンス社，90-94 (2001) (ISBN 4-8817-1097-4).
- 9) 農薬残留分析法研究班編：最新農薬の残留分析法，東京，中央法規出版，110-112 (1995) (ISBN 4-8058-1321-0).
- 10) 後藤 真康，加藤 誠哉：増補 残留農薬分析法，東京，ソフトサイエンス社，32-35 (1987).
- 11) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：食品に残留する農薬，飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について，平成 17 年 1 月 24 日，食安発 0124001 号 (2005).
- 12) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について，平成 20 年 4 月 1 日，19 消安第 14729 号 (2008).
- 13) 財団法人日本食品分析センター：平成 21 年度飼料中の有害物質等分析法開発事業 (2010).