

**技術レポート**

## 4 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法の妥当性確認 ～ブロモブチド代謝物への適用～

榑原 良成\*, 若宮 洋市\*

### Validation Study on Analyte Expansion to the Simultaneous Determination Method of Pesticides in Feed by GC-MS for Debromo Metabolite of Bromobutide

Yoshinari SAKAKIBARA\* and Youichi WAKAMIYA\*

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

An analyte expansion to the simultaneous analysis method of pesticides in feed using a gas chromatograph-mass spectrometer (GC-MS), which had been listed in analytical standards of feeds, was studied for debromo metabolite of bromobutide (deBr-bromobutide).

After adding water to the sample, deBr-bromobutide was extracted with acetonitrile and the extracted solution was filtered. The filtrate was purified with a SPE column (Chem Elut, 20 mL, Agilent Technologies Inc.; Santa Clara, CA, USA), gel permeation chromatography (GPC) and two other types of SPE columns (ENVI-Carb/LC-NH, Sigma-Aldrich Co. LLC.; St. Louis, MO, USA and Sep-Pak Plus Silica cartridge, Waters Co.; Milford, MA, USA), and injected into the GC-MS to determine the level of deBr-bromobutide. The GC separation was carried out on a fused silica capillary column (DB-5MS, 0.25 mm i.d. × 30 m, film thickness 0.25 μm from Agilent Technologies Inc.). The mass spectrometer was operated in electron ionization (EI) mode.

Spike tests were conducted on formula feed for layer, corn, Sudan grass hay, rice straw and whole-crop rice silage (WCRS). DeBr-bromobutide was spiked at the levels of 0.05 and 0.5 mg/kg for formula feed for layer, corn and Sudan grass hay, 0.05 and 1.5 mg/kg for rice straw, 0.02 and 0.4 mg/kg air-dry matter for WCRS, respectively. The mean recoveries of deBr-bromobutide ranged from 87.6 % to 154 %, and the relative standard deviations (RSD<sub>r</sub>) were not more than 11 %.

A collaborative study was conducted in six laboratories using formula feed for layer and corn spiked with 1.0 mg/kg, rice straw spiked with 1.5 mg/kg of deBr-bromobutide, respectively. The mean recovery, RSD<sub>r</sub>, the reproducibility in terms of relative standard deviations RSD<sub>R</sub> and HorRat, respectively, were 107 %, 8.7 %, 12 % and 0.77 for formula feed for layer, 113 %, 7.5 %, 13 % and 0.84 for corn, and 129 %, 7.9 %, 10 % and 0.66 for rice straw.

The simultaneous analysis method of pesticides in feed was validated for analysis of deBr-bromobutide in feed.

Key words: feed; bromobutide; debromo metabolite of bromobutide; gas chromatograph-mass spectrometer (GC-MS); electron ionization (EI); collaborative study

キーワード：飼料；ブロモブチド；ブロモブチド代謝物（脱臭素体）；ガスクロマトグラフ質量分析計；電子イオン化法；共同試験

\* 独立行政法人農林水産消費安全技術センター福岡センター

## 1 緒 言

ブロモブチドは、アミド系除草剤であり、植物の細胞分裂の阻害によって根部あるいは茎葉部の伸長を阻害し、雑草を枯死させるものと考えられている<sup>1)</sup>。日本国内では水稲に対して適用があり、米及び魚介類について食品衛生法に基づく残留基準値が設定されている。この基準値は、農産物（米）については、ブロモブチド及び *N*-( $\alpha,\alpha$ -ジメチルベンジル)-3,3-ジメチルブチルアミド（以下「deBr-ブロモブチド」いう。）をブロモブチド含量に換算した和とされている<sup>2)</sup>。

一方、飼料中のブロモブチドについては、飼料の有害物質の指導基準及び管理基準<sup>3)</sup>において、稲わら中で 2 mg/kg、稲発酵粗飼料（以下「WCRS」という。）中で 0.5 mg/kg の管理基準値が規定されている。

飼料中のブロモブチドの定量法として、飼料分析基準<sup>4)</sup>に農薬のガスクロマトグラフ質量分析計（以下「GC-MS」という。）による一斉分析法（以下「本法」という。）が規定されている。しかしながら、合わせて定量する必要のある deBr-ブロモブチドの分析法が飼料分析基準に記載されていないことから、分析法の確立が急務となっている。

今回、本法の分析対象化合物に deBr-ブロモブチドを追加するための妥当性確認を行ったのでその概要を報告する。

参考にブロモブチド及び deBr-ブロモブチドの化学構造式等を Fig. 1 に示した。

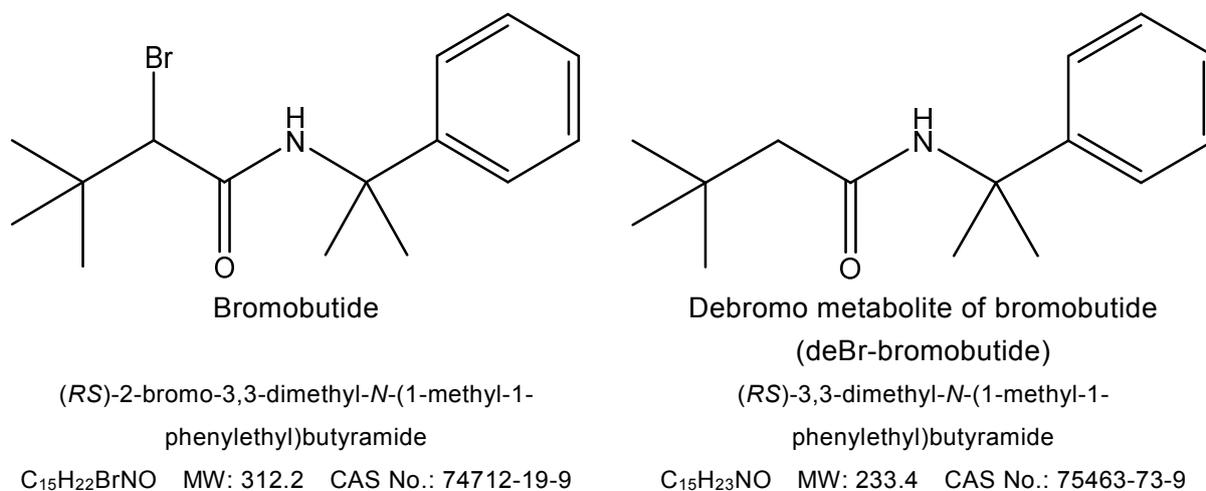


Fig. 1 Chemical structures of bromobutide and deBr-bromobutide

## 2 実験方法

### 2.1 試 料

配合飼料（ブロイラー肥育後期用、肉豚肥育用及び肉用牛肥育用）、とうもろこし、大麦、小麦、マイロ、乾牧草（アルファルファ乾草及びスーダングラス乾草）、稲わら及び粃米はそれぞれ 1 mm のスクリーンを装着した粉碎機で粉碎した。WCRS は 60 °C で 6 時間乾燥後、更に室内に静置して風乾した後、同様に粉碎した。

なお、検討に用いた配合飼料の配合割合を Table 1 に示した。

Table 1 Compositions of the formula feeds

Formula feed types	Ingredient types	Proportion (%)	Ingredients
For finishing broiler	Grains	63	Corn, polished rice
	Oil seed meal	27	Soybean meal, rapeseed meal
	Animal by-products	1	Meat and bone meal (derived from pork and chicken), poultry by-product meal
	Others	9	Animal fat, calcium carbonate, calcium phosphate, salt, feed additives
For fattening pigs	Grains	83	Corn, wheat, polished rice, brown rice, milo
	Oil seed meal	15	Soybean meal
	Others	2	Calcium carbonate, calcium phosphate, animal fat, salt, feed additives
For beef cattle	Grains	43	Milo, corn
	Brans	36	Wheat bran
	Oil seed meal	16	Rapeseed meal, soybean meal
	Others	5	Calcium carbonate, molasses, salt, feed additives

## 2.2 試薬

1) アセトニトリル, 酢酸エチル, ヘキサン, アセトン, シクロヘキサンは残留農薬・PCB 試験用を用いた. 2,2,4-トリメチルペンタンは液体クロマトグラフ用を用いた. ジエチレングリコールは鹿 1 級 (99.0 %以上, 関東化学製) を用いた. 水は RFU354BA (東洋製作所製) 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) deBr-ブロモブチド標準原液

deBr-ブロモブチド標準品 (純度 98.0 %, 和光純薬工業製) 25 mg を正確に量って 50 mL の全量フラスコに入れ, アセトンを加えて溶かし, 更に標線まで同溶媒を加えて deBr-ブロモブチド標準原液を調製した (この液 1 mL は, deBr-ブロモブチドとして 0.5 mg を含有する. ).

### 3) deBr-ブロモブチド標準原液

使用に際して, deBr-ブロモブチド標準原液 5 mL を 50 mL の全量フラスコに正確に入れ, 更に標線まで 2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン (4+1) を加えて, 1 mL 中に deBr-ブロモブチドとして 50 µg を含有する液を調製した. この液の一定量を, 2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン (4+1) で正確に希釈し, 1 mL 中に deBr-ブロモブチドとして 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 及び 0.5 µg を含有する標準液を調製した.

## 2.3 装置及び器具

### 1) 粉砕機 :

粉砕機 1 (粉砕機 2 以外の試料用) : ZM-200 Retsch 製 (1 mm スクリーン, 使用時回転数 14000 rpm)

粉砕機 2 (稲わら及び WCRS 用) : SM-100 Retsch 製 (1 mm スクリーン, 回転数 (仕様) 1690 rpm)

### 2) 振とう機 : レシプロシェーカー SR-2W タイテック製 (使用時振とう数 280 rpm)

### 3) 遠心分離器 : テーブルトップ遠心機 4000 久保田製作所製

- 4) 多孔性ケイソウ土カラム (20 mL 保持用) : Chem Elut, 20 mL Agilent Technologies 製
- 5) 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 : ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub> (500 mg/500 mg) Sigma-Aldrich 製
- 6) 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム : Sep-Pak Plus Florisil cartridge (充てん剤量 910 mg) Waters 製にリザーバーを連結したもの
- 7) メンブランフィルター : DISMIC-25HP (孔径 0.45 μm, 直径 25 mm, PTFE) 東洋濾紙製
- 8) ゲル浸透クロマトグラフ : GPC システム 日本分光製
- 9) GC-MS :
  - GC 部 : 7890A Agilent Technologies 製
  - MS 部 : 5975C Agilent Technologies 製

#### 2.4 定量方法

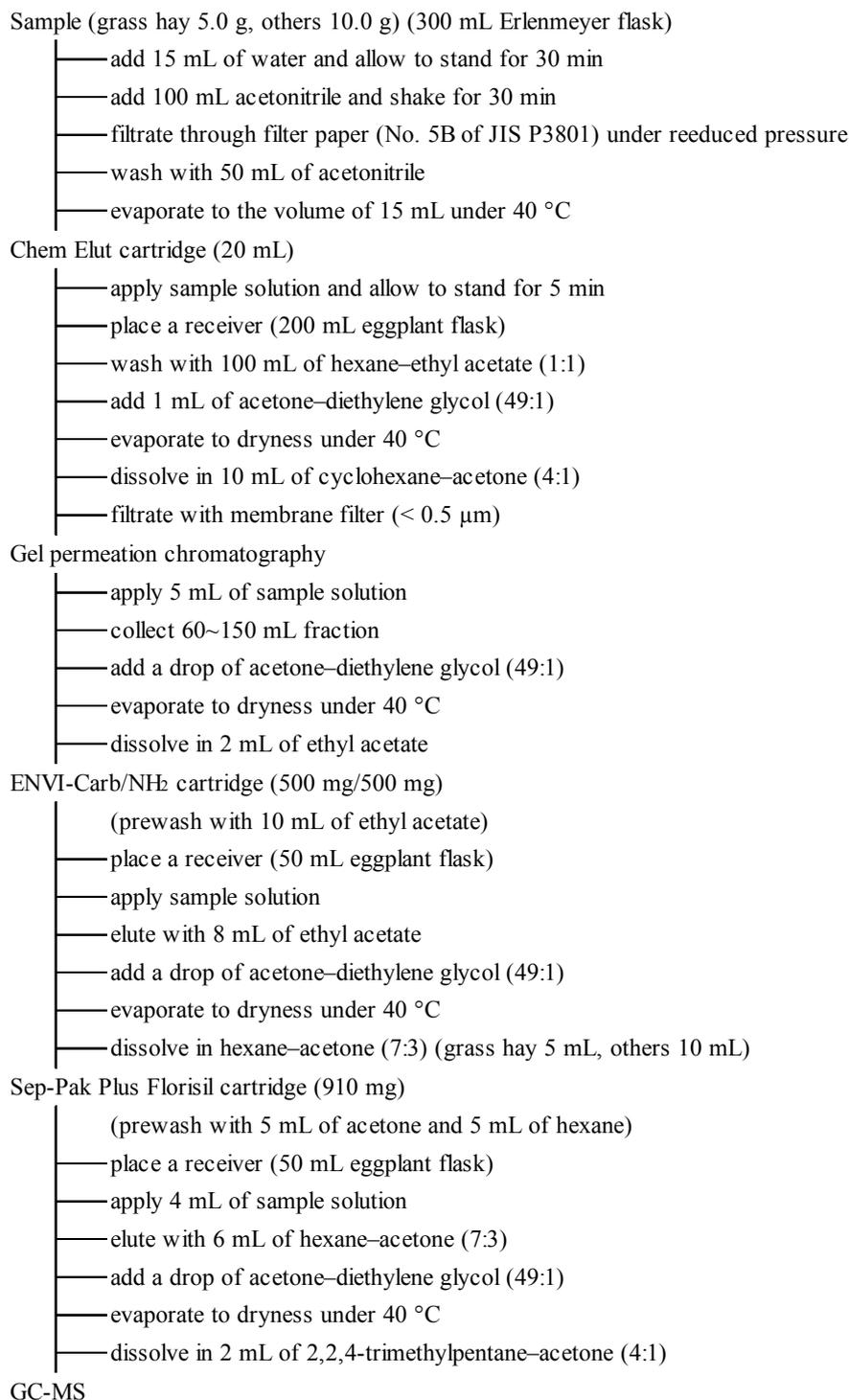
飼料分析基準第 6 章第 3 節 1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法に従って定量した。GC-MS におけるモニターイオンは、定量イオンは  $m/z$  119, 確認イオンは  $m/z$  233 とした。ゲル浸透クロマトグラフ及び GC-MS の測定条件を Table 2 及び Table 3 に示した。

**Table 2** Operating conditions of gel permeation chromatography (GPC)

Column	Shodex CLNpak EV-2000 AC (20 mm i.d.×300 mm, 15 μm), Showa Denko
Guard column	Shodex CLNpak EV-G AC (20 mm i.d.×100 mm, 15 μm), Showa Denko
Eluent	Cyclohexane-acetone (4:1)
Flow rate	5 mL/min
Fraction volume	60~150 mL

**Table 3** Operating conditions of gas chromatograph-mass spectrometer (GC-MS)

Column	DB-5MS+DG (0.25 mm i.d ×30 m+10 m guard column, 0.25 μm film thickness), Agilent Technologies
Column temperature	70 °C (hold for 1 min) → ramp 25 °C/min → 150 °C → ramp 3 °C/min → 200 °C → ramp 8 °C/min → 280 °C (hold for 10 min)
Injection mode	Splitless (60 s)
Injection port temperature	280 °C
Carrier gas	He 1.0 mL/min
Transferline temperature	250 °C
Ion source temperature	230 °C
Ionization	Electron ionization (EI)
Ionization energy	70 eV
Monitor ion	$m/z$ 119 (for quantification), 233 (for confirmation)



Scheme 1 Analytical procedure for simultaneous determination of pesticides in feeds by GC-MS

### 3 結果及び考察

#### 3.1 モニターイオンの設定

deBr-ブロモブチドのマススペクトル (Fig. 2) より, 定量イオンには  $m/z$  119 (2-フェニルプロピルラジカルカチオンと推察された.) を, 確認イオンには  $m/z$  233 (分子イオン) をそれぞれ

設定した。

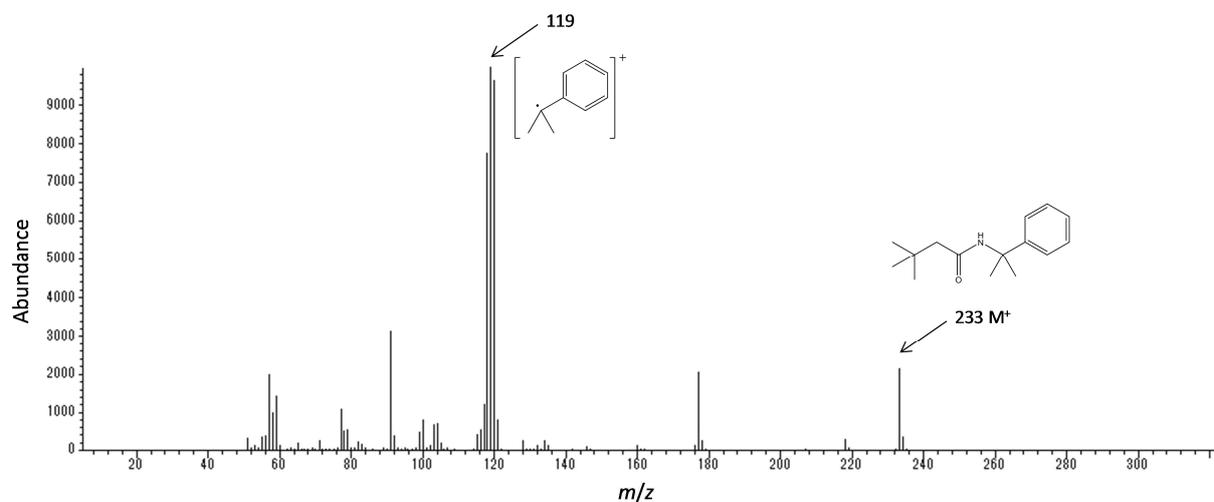


Fig. 2 Mass spectrum of deBr-bromobutide

### 3.2 検量線

2.2 の 3)に従って調製した deBr-ブロモブチド標準液各 1  $\mu\text{L}$  を GC-MS に注入し、得られた選択イオン検出（以下「SIM」という。）クロマトグラムからピーク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. 3 のとおりであり、deBr-ブロモブチドは 0.02~0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ （注入量として 0.02~0.5 ng 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、deBr-ブロモブチドを 0.02~0.5 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 deBr-ブロモブチド濃度範囲に相当する。

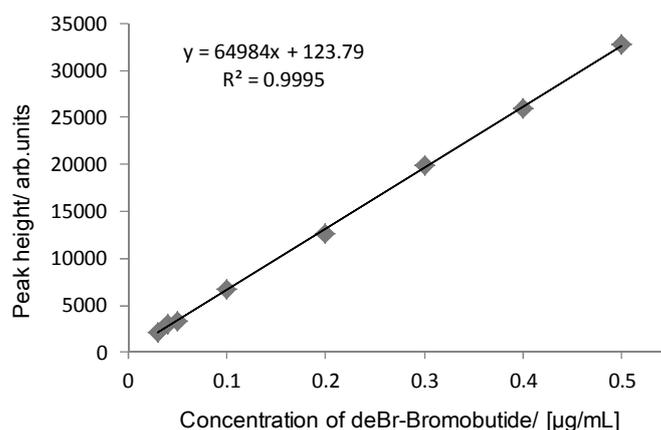


Fig. 3 Calibration curve of deBr-bromobutide by peak height

### 3.3 妨害物質の検討

配合飼料（ブロイラー肥育後期用，肉豚肥育用及び肉用牛肥育用），大麦，小麦，とうもろこし，マイロ，乾牧草（アルファルファ乾草及びスーダングラス乾草），稲わら，WCRS 及び粃米各 1 検体を試料として，本法により調製した試料溶液を GC-MS に注入し，得られた SIM 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 deBr-ブロモブチドの定量を妨げるピーク

クは認められなかった。

なお、得られたSIMクロマトグラムの一例を Fig.4 に示した。

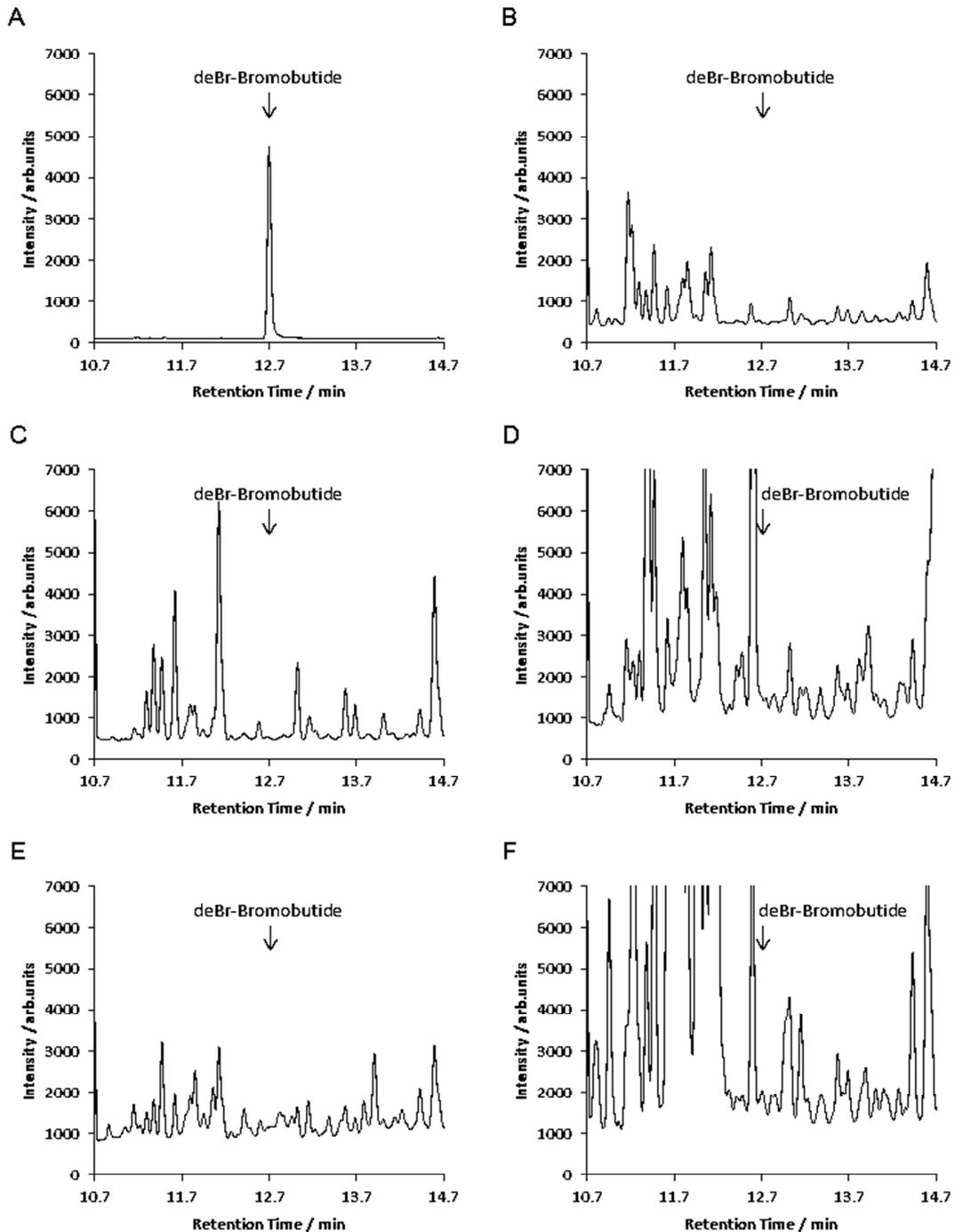


Fig. 4 Selected ion monitoring chromatograms of standard solution and sample solutions (blank) (GC-MS conditions are shown in Tables 2 and 3. Arrows indicate the retention time of deBr-bromobutide.)

A: Standard solution (0.05  $\mu\text{g/mL}$ : 0.05 ng as deBr-bromobutide)

B~F: Blank samples (B: formula feed for layer, C: corn, D: Sudangrass hay, E: rice straw, F: whole-crop rice silage (WCRS))

### 3.4 マトリックス効果の確認

本法により調製したブロイラー肥育後期用配合飼料，とうもろこし，スーダングラス乾草，稲わら及び WCRS のブランク試料溶液に deBr-プロモブチドとして 0.5 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で 0.5 µg/mL 相当量）をそれぞれ添加した各マトリックス標準液について，同濃度の deBr-プロモブチド標準液に対するピーク高さ比を確認したところ，ピーク高さ比は Table 4 のとおり 112~164 %であり，試料マトリックスによるイオン化促進がみられた．なお，試料マトリックスによるピーク形状の変化は認められなかった．

Table 4 Matrix effect of feeds

Feed types of matrix	Concentration of deBr-bromobutide		Matrix effect <sup>b)</sup> (%)
	in matrix standard solution (µg/mL)	in sample <sup>a)</sup> (mg/kg)	
Formula feed for layer	0.5	0.5	145
Corn	0.5	0.5	156
Sudangrass hay	0.5	0.5	112
Rice straw	0.5	0.5	164
WCRS	0.5	0.5 <sup>c)</sup>	133

$n = 1$

a) Converted from the concentration in the matrix standard solution

b) Ratio of peak height of deBr-bromobutide in the presence of matrix to that in the absence of matrix

c) mg/kg air-dry matter

### 3.5 添加回収試験

2.2 の 2)の deBr-プロモブチド標準原液を 2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン (4+1) で正確に希釈し添加に用いた．

deBr-プロモブチドについて，ブロイラー肥育後期用配合飼料，とうもろこし及びスーダングラス乾草にそれぞれ 0.05 及び 0.5 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で 0.05 及び 0.10 µg/mL になるよう希釈），稲わらに 0.05 及び 1.5 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で 0.05 及び 0.15 µg/mL になるよう希釈），WCRS に原物換算して 0.02 及び 0.4 mg/kg 相当量（最終試料溶液中で 0.05 及び 0.10 µg/mL になるよう希釈）になるようにそれぞれ添加後よく混合し，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 deBr-プロモブチドとして 0.05 及び 1 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 87.6~154 %，その繰返し精度は相対標準偏差 (RSD<sub>r</sub>) として 11 %以下の成績が得られ，本法が策定された当時目安としていた回収率及び繰返し精度の範囲（それぞれ 50~200 %及び 20 %以下）内であった．

なお，得られた SIM クロマトグラムの一例を Fig. 5 に示した．

Table 5 Recoveries for deBr-Bromobutide

Spiked level (mg/kg original matter)	Feed types									
	Formula feed for layer		Corn		Sudangrass hay		Rice straw		WCRS <sup>c)</sup>	
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)								
0.02 <sup>d)</sup>	—	—	—	—	—	—	—	—	135	2.6
0.05	131	7.7	142	4.1	114	8.1	154	11	—	—
0.4 <sup>d)</sup>	—	—	—	—	—	—	—	—	121	3.8
0.5	87.6	8.8	121	2.6	99.2	8.9	—	—	—	—
1.5	—	—	—	—	—	—	124	8.1	—	—

— : Not tested

a) Mean ( $n = 5$ )

b) Relative standard deviation of repeatability

c) deBr-bromobutide was spiked to air-dried WCRS samples one night prior to extraction.

d) The spiked levels were 0.05 and 1 mg/kg air-dry matter. The levels of deBr-bromobutide 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 deBr-bromobutide in original matter (moisture 60 %)

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

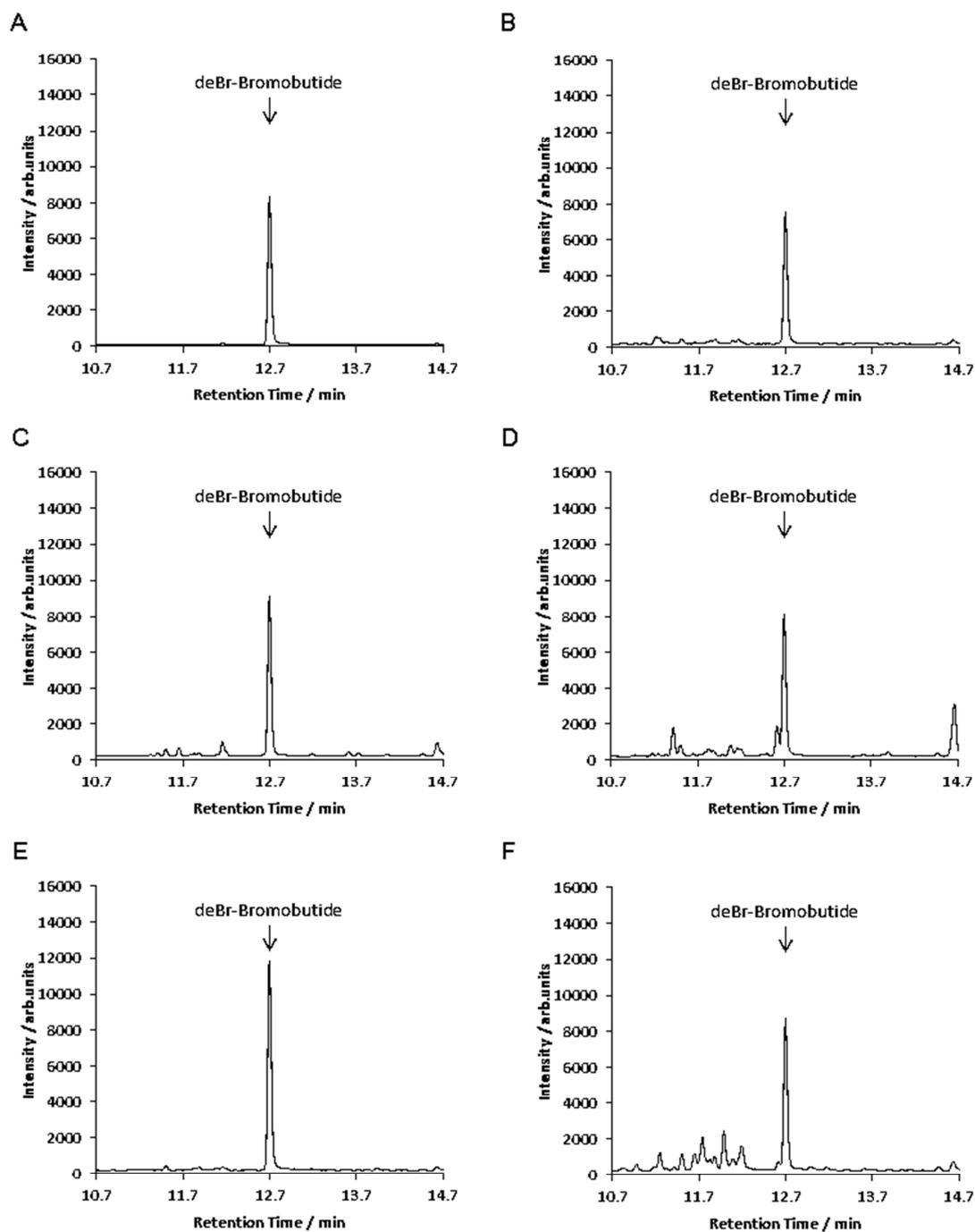


Fig. 5 Selected ion monitoring chromatograms of standard solution and spiked samples (GC-MS conditions are shown in Tables 2 and 3. Arrows indicate the peak of deBr-bromobutide.)  
A: Standard solution of deBr-bromobutide (0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ : 0.1 ng as deBr-bromobutide)  
B: Formula feed for layer spiked at 0.5 mg/kg of deBr-bromobutide (0.1 ng as deBr-bromobutide)  
C: Corn spiked at 0.5 mg/kg of deBr-bromobutide (0.1 ng as deBr-bromobutide)  
D: Sudangrass hay spiked at 0.5 mg/kg of deBr-bromobutide (0.1 ng as deBr-bromobutide)  
E: Rice straw spiked at 1.5 mg/kg of deBr-bromobutide (0.15 ng as deBr-bromobutide)  
F: WCRS spiked at 0.4 mg/kg of deBr-bromobutide (0.1 ng as deBr-bromobutide)

### 3.6 定量下限及び検出下限

本法の定量下限及び検出下限を確認するため、ブロイラー肥育後期用配合飼料、とうもろこし及び稲わらに deBr-ブロモブチドを添加し、添加回収試験により得られるピークの SN 比が 10 及び 3 となる濃度を求めた。

WCRS 及びスーダングラス乾草については、ピーク前方に大きなノイズがあることから標準偏差の 10 倍及び 4.26 倍（自由度 4 の  $t$  分布の 0.95 分位点の 2 倍）を定量下限及び検出下限として計算した。

その結果、SN 比が 10 及び 3 となる濃度は、0.05 mg/kg 及び 0.02 mg/kg であり、WCRS 及びスーダングラス乾草の計算結果もこの値を満たしていたことから、ブロモブチドと同様、試料（WCRS は風乾物）中の定量下限は 0.05 mg/kg、検出下限は 0.02 mg/kg とした。設定した定量下限及び検出下限濃度は、ブロモブチドの管理基準の最小濃度を deBr-ブロモブチドに換算した濃度 0.8 mg/kg に対して 1/16 及び 1/40 であり、飼料分析基準の妥当性確認法ガイドライン<sup>4)</sup>（以下「妥当性確認法ガイドライン」という。）に定めら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。

### 3.7 共同試験

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

共通試料としては、ブロイラー肥育後期用配合飼料及びとうもろこしに deBr-ブロモブチドとして 1 mg/kg 相当量（分析用試料 10 g に対して 1 mL 中に 10  $\mu$ g を含有する標準液 1 mL）、稲わらには 1.5 mg/kg 相当量（分析用試料 5 g に対して 1 mL 中に 7.5  $\mu$ g を含有する標準液 1 mL）を、各試験室にて分析開始の前日に添加して調製した試料を用いた。参加試験室は、独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部、同札幌センター、同仙台センター、同名古屋センター、同神戸センター及び同福岡センター（計 6 試験室）であった。

結果の解析については、国際的にハーモナイズされた共同試験に関する手順<sup>5), 6)</sup>を参考に、Cochran 検定、外れ値 1 個の Grubbs 検定及び外れ値 2 個の Grubbs 検定を行い、外れ値の有無を確認した上で平均回収率、繰返し精度 ( $RSD_r$ ) 及び室間再現精度 ( $RSD_R$ ) を算出し、得られた  $RSD_R$  から、修正 Horwitz 式<sup>7)</sup>を用いて HorRat を求めた。

結果は Table 6 のとおりである。ブロイラー肥育後期用配合飼料、とうもろこし及び稲わらについて、deBr-ブロモブチドの平均回収率は 107, 113 及び 129 %,  $RSD_r$  は 8.7, 7.5 及び 7.9 %,  $RSD_R$  は 12, 13 及び 10 %, HorRat は 0.77, 0.84 及び 0.66 であり、妥当性確認法ガイドラインに定められた室間再現精度の目標を満たしていた。

参考のため、各試験室で使用したガスクロマトグラフ質量分析計の機種等を Table 7 に示した。

Table 6 Collaborative study for deBr-bromobutide

Lab. No.	Feed types					
	Formula feed for layer (mg/kg)		Corn (mg/kg)		Rice straw (mg/kg)	
1	1.22	1.10	1.24	1.19	1.72	1.96
2	0.966	1.12	0.966	1.04	2.03	2.27
3	1.16	1.16	1.26	1.27	1.82	1.99
4	1.11	1.02	1.16	1.28	1.95	2.25
5	1.01	1.25	1.02	1.26	1.76	1.98
6	0.882	0.848	0.957	0.885	1.77	1.79
Spiked level (mg/kg)	1		1		1.5	
Mean value <sup>a)</sup> (mg/kg)	1.07		1.13		1.94	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	107		113		129	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	8.7		7.5		7.9	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	12		13		10	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	16		16		14	
HorRat	0.77		0.84		0.66	

a)  $n = 12$ 

b) Relative standard deviation of repeatability within laboratory

c) Relative standard deviation of reproducibility between laboratories

d) Predicted relative standard deviation of reproducibility between laboratories calculated from the modified Horwitz equation

Table 7 Instruments used in the collaborative study

Lab.No.	GC-MS	GC column (i.d. × length, film thickness)
1	GC: 7890A, Agilent Technologies MS: 5975C, Agilent Technologies	DB-5MS+DG, Agilent Technologies (0.25 mm i.d. × 30 m, 0.25 μm, Duraguard 10 m)
2	GC: 7890A, Agilent Technologies MS: 5975C, Agilent Technologies	DB-5MS+DG, Agilent Technologies (0.25 mm i.d. × 30 m, 0.25 μm, Duraguard 10 m)
3	GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu	Rtx-5MS, Restek (0.25 mm i.d. × 30 m, 0.25 μm)
4	GCMS-QP2010 Ultra, Shimadzu	Rtx-5MS, Restek (0.25 mm i.d. × 30 m, 0.25 μm)
5	GC: 7890A, Agilent Technologies MS: 5975C, Agilent Technologies	DB-5MS, Agilent Technologies (0.25 mm i.d. × 30 m, 0.25 μm)
6	GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu	Rtx-5MS, Restek (0.25 mm i.d. × 30 m, 0.25 μm)

#### 4 まとめ

飼料中の deBr-プロモブチドについて、飼料分析基準に記載の農薬の GC-MS による一斉分析法を基に、妥当性を確認したところ、以下の結果が得られ、適用が可能であると考えられた。

1) 検量線は、0.02~0.5 μg/mL (注入量として 0.02~0.5 ng 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、deBr-ブロモブチドを 0.02~0.5 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 deBr-ブロモブチド濃度範囲に相当する。

- 2) 本法に従って得られた SIM クロマトグラムでは、3 種類の配合飼料及び 9 種類の飼料原料において定量を妨げるピークは認められなかった。
- 3) 本法に従い得られる試料溶液についてマトリックス効果を確認した結果、deBr-ブロモブチドは試料マトリックスによるイオン化促進がみられた。
- 4) ブロイラー肥育後期用配合飼料、とうもろこし及びスーダングラス乾草にそれぞれ 0.05 mg/kg 及び 0.5 mg/kg 相当量、稲わらに 0.05 mg/kg 及び 1.5 mg/kg 相当量、WCRS に 0.02 mg/kg 及び 0.4 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、本法が策定された当時目安としていた回収率及び繰返し精度の範囲（それぞれ 50~200 % 及び 20 % 以下）内であった。
- 5) 本法の deBr-ブロモブチドの定量下限は試料（WCRS は風乾物）中で 0.05 mg/kg、検出下限は 0.02 mg/kg であった。設定した定量下限及び検出下限濃度は、妥当性確認法ガイドラインに定められた目標を満たしていた。
- 6) ブロイラー肥育後期用配合飼料及びとうもろこしに deBr-ブロモブチドとして 1 mg/kg 相当量、稲わらに 1.5 mg/kg 相当量を添加した試料を用いて 6 試験室において本法に従い共同試験を実施したところ、妥当性確認法ガイドラインに定められた室間再現精度の目標を満たしていた。

## 文 献

- 1) 食品安全委員会：農薬評価書 ブロモブチド，平成 20 年 1 月 (2008)。
- 2) 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)。
- 3) 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)。
- 4) 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)。
- 5) William Horwitz: Protocol for design, conduct and interpretation of method-performance studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67**(2), 331-343 (1995)。
- 6) George W. Latimer, Jr.: Official methods of analysis of AOAC INTERNATIONAL 20th edition, Appendix D, Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis. Gaithersburg, MD, USA (2016) (ISBN: 978-0-935584-87-5)。
- 7) Michael Thompson: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385-386 (2000)。