

5 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計(LC-MS/MS)による

液状肥料中の6種農薬の同時測定

— 共同試験成績 —

八木寿治¹, 山西正将², 白井裕治¹, 柴田政人¹

キーワード 農薬, 家庭園芸用複合肥料, 液状複合肥料, 一斉分析法,
液体クロマトグラフタンデム型質量分析計, 共同試験

1. はじめに

肥料取締法¹⁾第 25 条に異物混入の禁止規定があるが, 液状の家庭園芸用複合肥料において, 混入が認められていない農薬成分が確認される事例が頻発している. 過去に混入が認められた事例から, 混入危険性の高い農薬成分として, アバメクチン, イベルメクチン, エプリノメクチン, ピレトリン, ロテノン及びピペロニルブトキシドの 6 種類が挙げられるが, 肥料の品質を保全し, その公正な取引と安全な施用の確保を担保するには, 当該農薬の検査・確認分析法の開発は急務である. このため, 先般, 当該農薬一斉試験法が新規開発され, 液状複合肥料にも適用範囲を拡大し, 併行精度, 定量下限等の検討を行い, ISO/IEC 17025²⁾で要求されている試験室内における試験方法の妥当性確認がなされたところである³⁾.

今般, 更に同基準の要求事項である試験所間の比較試験について, IUPAC の共同試験プロトコル⁴⁾を参考に, 共通試料(液状の家庭園芸用複合肥料及び液状複合肥料)を用いて, 肥料中の 6 種農薬一斉試験法の共同試験を実施し, 試験室間再現精度を確認したので, その概要を報告する.

2. 材料及び方法

1) 試験対象成分

本共同試験の農薬分析対象成分としては Table 1 のとおりとした.

6 種農薬 7 種分析対象成分

2) 共同試験用試料の調製

試験対象成分の農薬を含有していない市販の液状の家庭園芸用複合肥料 3 銘柄, 液状複合肥料 2 銘柄(計 5 銘柄)を試験品として収集し, 冷蔵保管した. それぞれ試験品を容器内でよく混合した後, 約 7 mL をポリ容器に入れ, 密栓し試験用試料とした. 一対のブラインド試料を提供するため, それぞれの試験用試料の容器にランダムに番号のラベルを付けた. 試験用試料(10 点)を参加試験室に送付した.

¹ 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

² 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 (現) 神戸センター

Table 1 The ingredient for analysis in this collaborative study

Kind of pesticide	Measuring ingredient	Molecular formula	MW	CAS No.
Abamectin	Abamectin B1a	C ₄₈ H ₇₂ O ₁₄	873.1	65195-55-3
Ivermectin	Ivermectin B1a	C ₄₈ H ₇₄ O ₁₄	875.1	70161-11-4
Eprinomectin	Eprinomectin B1a	C ₅₀ H ₇₅ NO ₁₄	914.1	133305-88-1
Rotenone	Rotenone	C ₂₃ H ₂₂ O ₆	394.4	83-79-4
Piperonylbutoxide	Piperonylbutoxide	C ₁₉ H ₃₀ O ₅	338.4	51-03-6
Pyrethrin	Pyrethrin I	C ₂₁ H ₂₈ O ₃	328.5	121-21-1
	Pyrethrin II	C ₂₂ H ₂₈ O ₅	372.5	121-29-9

3) 添加用混合標準液の調製

市販されている試験対象成分の各農薬をアセトニトリルに溶解し添加用混合標準液を調製した。液状の家庭園芸用複合肥料 3 銘柄に添加するための添加用混合標準液を 3 濃度、液状複合肥料 2 銘柄に添加するための添加用混合標準液を 2 濃度用意した。添加用混合標準液約 1.8 mL をガラス容器に入れ、密栓し試験用試料に添加するための添加用混合標準液とした。一対のブラインドの添加用混合標準液を提供するため、それぞれの添加用混合標準液の容器にランダムに番号のラベルを付けた。添加用混合標準液(10 点)を参加試験室に送付した。なお、各試料への添加濃度は Table 4 に示した。

4) 器具及び装置

試料溶液調製時の精製には多孔性けいそう土カートリッジカラム(Varian Chem Elut (5 mL 容))及びグラファイトカーボン-NH₂ 積層カートリッジカラム(Supelco Envi-carb/LC-NH₂ (500 mg/500 mg, 6 mL 容))を、超音波処理装置、ロータリーエバポレーター及び液体クロマトグラフタンデム型質量分析計(LC-MS/MS)は各試験室に設置しているものを使用した。

5) 試料溶液の調製及び測定

(1) 抽出

分析試料 5 mL を全量フラスコ 10 mL に入れ、添加用混合標準液 1 mL (溶媒はアセトニトリル)を正確にとり同全量フラスコに加えた(添加の方法は次のとおり。試験用試料に振られている番号と同じ番号の添加用混合標準液を添加するものとした。例:試験用試料番号 3 の試料には添加用混合標準液番号 3 のものを添加。)。アセトニトリル 2 mL を正確にとり同全量フラスコに加え、標線まで水を加えてよく振り混ぜた。その後、超音波処理装置を用いて 5 分間超音波処理をし、抽出液とした。

(2) 精製1

抽出液 5 mL を正確にとり、多孔性けいそう土カートリッジカラムに入れ、5 分間保持させた。なすフラスコ 100 mL を同カートリッジカラムの下に置き、酢酸エチル約 5 mL を 4 回、順次同カートリッジカラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで溶出させた。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固し、アセトニトリル-トルエン(3+1)2 mL を加えて残留物を溶かした。

(3) 精製2

グラファイトカーボン-NH₂ 積層カートリッジカラムを、予めアセトニトリル-トルエン(3+1)約 5 mL で 2 回洗浄した。なすフラスコ 100 mL を同カートリッジカラムの下に置き、先の溶解液を同カートリッジカラムに入れ、液面が

充てん剤の上端に達するまで流出させた。容器をアセトニトリル-トルエン(3+1)約 5 mL で 5 回洗浄し、洗液を順次同カートリッジカラムに加え流出させた。流出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固し、メタノール 5 mL を全量ピペットで正確に加えて残留物を溶かした。溶解液の 4 mL を正確にとり、20 mL 全量フラスコに入れ、メタノールで定容した。当該溶液を測定に供する試料溶液とした。

(4) 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定

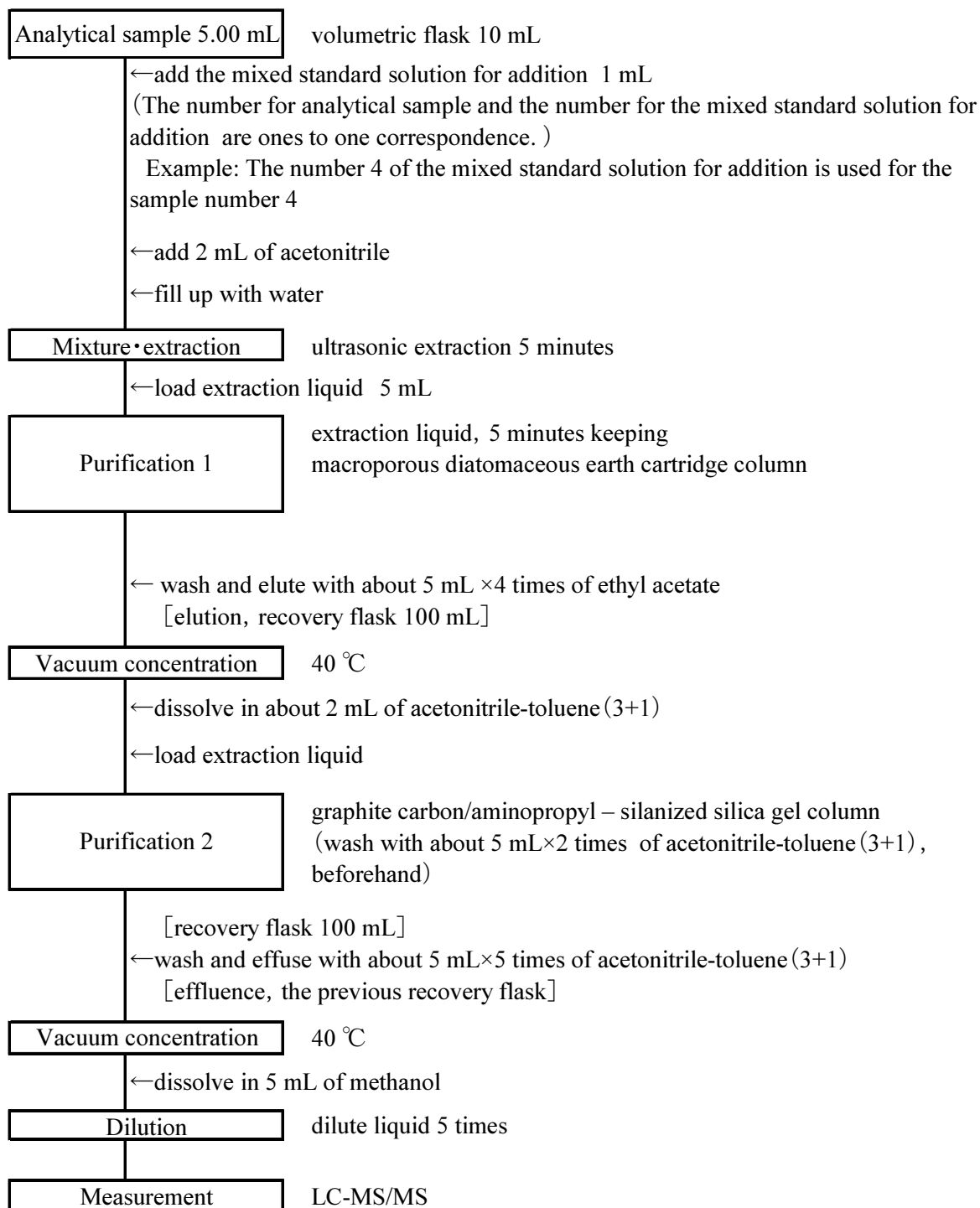
試料溶液及び検量線作成用混合標準液を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、選択反応検出クロマトグラムを得た。得られた選択反応検出クロマトグラムから各農薬のピーク面積又は高さを求めて検量線を作成し、試料溶液中の各農薬量を求め、分析試料中の各農薬濃度を算出した。なお、測定にあたっては、肥料等試験法 (2011) (現在は肥料等試験法 (2012) に更新されている。) ¹⁰⁾ 8.3.a 項を参照し各試験室の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計の操作方法に従い、測定値を求め、比重(密度)を用いた単位質量あたりの各農薬濃度の算出は実施主体で一括して行った。

定量法の概要を Scheme 1 に示した。

6) 共同試験

次の 8 試験室において、送付した試験用試料 10 点を 2.5) に従って共同試験を実施した。

- ・ 株式会社島津製作所
 - ・ 財団法人日本食品分析センター
 - ・ ジーエルサイエンス株式会社
 - ・ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 札幌センター, 仙台センター, 名古屋センター, 福岡センター, 本部
- (50 音順)



Scheme 1 Collaborative testing operating procedure for simultaneous determination

3. 結果及び考察

1) 共同試験成績

各試験室から報告された共同試験成績を Table 2 に示した. 各系列の分析試料の試験結果を IUPAC の共同試験プロトコル^{4, 5)}に従って統計処理した. なお, 解析に用いる試験室数は 8 試験室以上が推奨されているため試験成績の外れ値の検定は行わなかった.

参考のため, 共同試験で使用された液体クロマトグラフタンデム型質量分析計の機種等を Table 3 に示した.

2) 併行精度及び室間再現精度

試験成績より算出した平均値, 併行精度(相対標準偏差(RSD_r))及びその HorRat 値($HorRat_r$)並びに室間再現精度(相対標準偏差(RSD_R))及びその HorRat 値($HorRat_R$)を Table 4 に示した. HorRat 値は分析方法の精度の評価をするために用いられており, 現在のところ肥料に使用している事例は少ないが参考に記載した. $HorRat_r$ は $RSD_r/PRSD_r$ 及び $HorRat_R$ は $RSD_R/PRSD_R$ により求められる. なお, $PRSD_R$ は平均定量値から Horwitz 修正式⁶⁾より求め, $PRSD_r$ は Horwitz 修正式に係数(5/8)を乗じて求めた^{7, 8)}.

アバメクチン B1a の平均回収率は 81.1~86.6 %であり, それらの RSD_r 及び RSD_R は 13.4 %以下及び 14.8 %以下であった. また, RSD_r 及び RSD_R の評価に用いる $HorRat_r$ 及び $HorRat_R$ は 1.15 以下及び 0.79 以下であり, いずれも 2 以下であった⁹⁾.

イベルメクチン B1a の平均回収率は 81.0~91.8 %であり, それらの RSD_r 及び RSD_R は 14.9 %以下及び 19.3 %以下であった. また, RSD_r 及び RSD_R の評価に用いる $HorRat_r$ 及び $HorRat_R$ は 1.24 以下及び 1.04 以下であり, いずれも 2 以下であった⁹⁾.

エプリノメクチン B1a の平均回収率は 79.6~88.1 %であり, それらの RSD_r 及び RSD_R は 9.2 %以下及び 14.3 %以下であった. また, RSD_r 及び RSD_R の評価に用いる $HorRat_r$ 及び $HorRat_R$ は 0.79 以下及び 0.77 以下であり, いずれも 2 以下であった⁹⁾.

ロテノンの平均回収率は 77.0~85.3 %であり, それらの RSD_r 及び RSD_R は 11.0 %以下及び 12.5 %以下であった. また, RSD_r 及び RSD_R の評価に用いる $HorRat_r$ 及び $HorRat_R$ は 0.90 以下及び 0.67 以下であり, いずれも 2 以下であった⁹⁾.

ピペロニルブトキシドの平均回収率は 87.2~95.5 %であり, それらの RSD_r 及び RSD_R は 8.4 %以下及び 13.6 %以下であった. また, RSD_r 及び RSD_R の評価に用いる $HorRat_r$ 及び $HorRat_R$ は 0.73 以下及び 0.74 以下であり, いずれも 2 以下であった⁹⁾.

ピレトリン I の平均回収率は 80.0~87.0 %であり, それらの RSD_r 及び RSD_R は 12.6 %以下及び 12.8 %以下であった. また, RSD_r 及び RSD_R の評価に用いる $HorRat_r$ 及び $HorRat_R$ は 0.99 以下及び 0.63 以下であり, いずれも 2 以下であった⁹⁾.

ピレトリン II の平均回収率は 81.5~89.0 %であり, それらの RSD_r 及び RSD_R は 10.8 %以下及び 13.6 %以下であった. また, RSD_r 及び RSD_R の評価に用いる $HorRat_r$ 及び $HorRat_R$ は 0.82 以下及び 0.65 以下であり, いずれも 2 以下であった⁹⁾.

Table 2-1 Collaborative study results of abamectin B1a (µg/kg)

Lab. ¹⁾	Home garden-use mixed fertilizer 1		Home garden-use mixed fertilizer 2		Home garden-use mixed fertilizer 3	
A	255.4	249.7	312.9	390.4	429.0	424.0
B	315.1	269.2	408.4	341.7	470.7	460.4
C	255.3	304.4	330.1	292.6	411.9	399.2
D	286.8	266.3	309.8	316.1	380.8	433.5
E	258.3	276.2	371.6	349.4	416.4	383.7
F	290.5	419.4	382.8	498.7	438.6	545.1
G	302.3	299.3	329.0	413.8	436.6	464.1
H	289.6	251.6	378.5	316.5	395.6	323.6
Lab.	Fluid mixed fertilizer 1		Fluid mixed fertilizer 2			
A	256.0	274.8	403.7	439.0		
B	294.4	276.5	450.3	393.6		
C	311.2	290.3	396.7	398.3		
D	284.7	280.6	445.9	428.8		
E	274.2	259.3	412.2	391.3		
F	302.0	353.0	377.5	433.6		
G	262.7	314.8	422.2	352.5		
H	296.9	286.7	370.1	372.6		

1) The code of laboratory which participated in the collaborative study

Table 2-2 Collaborative study results of ivermectin B1a (µg/kg)

Lab. ¹⁾	Home garden-use mixed fertilizer 1		Home garden-use mixed fertilizer 2		Home garden-use mixed fertilizer 3	
A	251.8	269.6	323.3	335.7	381.6	391.3
B	322.3	288.0	390.0	369.8	424.6	459.5
C	237.1	310.8	337.4	297.0	412.2	434.4
D	278.8	273.5	313.3	323.6	412.6	401.6
E	257.2	300.8	364.4	356.3	430.6	385.7
F	291.4	415.8	410.7	520.4	415.3	561.0
G	333.3	294.1	382.5	448.1	460.7	499.0
H	367.8	290.4	557.0	390.8	436.0	391.1
Lab.	Fluid mixed fertilizer 1		Fluid mixed fertilizer 2			
A	259.2	259.3	390.8	392.6		
B	303.1	283.1	426.2	440.6		
C	322.8	302.4	405.6	416.7		
D	276.5	259.8	424.6	437.5		
E	277.0	255.5	422.3	410.4		
F	298.1	368.8	364.5	392.3		
G	275.8	360.3	406.1	371.1		
H	323.9	355.3	408.3	373.5		

1) Refer to the footnote 1 of Table 2-1

Table 2-3 Collaborative study results of eprinomectin B1a (µg/kg)

Lab. ¹⁾	Home garden-use mixed fertilizer 1		Home garden-use mixed fertilizer 2		Home garden-use mixed fertilizer 3	
A	264.0	303.9	332.2	365.8	405.1	433.2
B	309.7	283.1	404.6	321.5	433.4	458.6
C	264.3	298.4	343.9	291.8	411.2	414.7
D	292.8	282.4	293.4	317.2	391.9	419.4
E	251.6	249.0	355.8	313.6	399.7	352.8
F	313.8	366.6	415.0	481.8	428.5	522.9
G	325.1	314.6	382.4	391.5	486.6	463.5
H	296.6	279.8	397.0	383.2	399.6	384.3
Lab.	Fluid mixed fertilizer 1		Fluid mixed fertilizer 2			
A	281.3	270.6	423.8	434.3		
B	300.9	227.6	491.7	408.0		
C	310.3	288.8	395.2	401.0		
D	273.0	260.4	425.0	432.2		
E	232.7	225.0	340.3	335.5		
F	295.7	330.9	416.0	431.1		
G	310.5	304.2	403.6	327.7		
H	237.3	288.3	370.1	336.4		

1) Refer to the footnote 1 of Table 2-1

Table 2-4 Collaborative study results of rotenone (µg/kg)

Lab. ¹⁾	Home garden-use mixed fertilizer 1		Home garden-use mixed fertilizer 2		Home garden-use mixed fertilizer 3	
A	266.1	248.8	330.8	341.5	375.7	438.3
B	270.2	252.7	359.2	331.4	420.9	442.3
C	293.6	280.1	363.9	309.2	452.6	463.3
D	265.4	281.8	317.5	300.8	390.7	412.6
E	260.2	249.1	353.7	285.4	425.7	366.3
F	319.9	294.9	406.8	413.8	453.7	462.3
G	304.4	279.1	338.4	402.0	493.6	437.8
H	301.0	261.8	440.0	361.9	410.6	379.2
Lab.	Fluid mixed fertilizer 1		Fluid mixed fertilizer 2			
A	242.9	233.6	311.7	355.5		
B	296.2	239.9	414.9	411.5		
C	302.2	273.4	399.5	431.7		
D	268.6	244.1	414.1	397.4		
E	258.7	227.8	368.0	351.0		
F	297.3	309.1	475.8	441.2		
G	318.3	238.4	375.7	322.2		
H	214.7	251.2	350.4	342.2		

1) Refer to the footnote 1 of Table 2-1

Table 2-5 Collaborative study results of piperonylbutoxide (µg/kg)

Lab. ¹⁾	Home garden-use mixed fertilizer 1		Home garden-use mixed fertilizer 2		Home garden-use mixed fertilizer 3	
A	260.9	269.5	321.4	355.7	367.1	415.5
B	334.4	309.6	420.1	380.4	472.7	492.8
C	319.6	318.8	398.8	336.9	469.5	487.4
D	296.3	308.5	348.7	354.2	423.3	450.5
E	271.9	285.1	372.7	360.9	436.1	396.3
F	317.9	334.7	431.0	445.8	461.7	491.9
G	340.3	352.3	390.5	452.1	506.2	495.0
H	433.6	337.4	521.8	438.7	410.0	428.8
Lab.	Fluid mixed fertilizer 1		Fluid mixed fertilizer 2			
A	237.8	265.3	370.3	420.4		
B	328.8	287.3	490.6	444.8		
C	335.0	317.3	428.4	469.5		
D	285.9	275.6	456.8	446.3		
E	278.3	262.2	421.4	408.6		
F	311.4	318.8	464.1	469.2		
G	324.8	342.9	444.1	385.5		
H	279.3	344.8	420.5	433.1		

1) Refer to the footnote 1 of Table 2-1

Table 2-6 Collaborative study results of pyrethrin I (µg/kg)

Lab. ¹⁾	Home garden-use mixed fertilizer 1		Home garden-use mixed fertilizer 2		Home garden-use mixed fertilizer 3	
A	141.8	156.3	173.9	215.6	204.0	231.1
B	167.1	165.6	232.0	198.5	249.5	260.3
C	149.3	162.8	193.7	166.8	229.8	236.3
D	159.3	193.3	188.3	181.6	234.3	237.0
E	147.6	147.2	204.3	179.1	232.2	198.4
F	175.3	168.8	215.8	231.4	244.1	255.7
G	124.2	148.3	162.9	229.5	226.4	213.9
H	200.9	163.2	249.6	212.5	196.3	207.8
Lab.	Fluid mixed fertilizer 1		Fluid mixed fertilizer 2			
A	137.3	154.7	196.7	240.6		
B	178.0	155.5	258.8	230.6		
C	178.0	163.2	214.4	234.7		
D	154.5	155.7	231.0	239.9		
E	149.7	141.6	224.8	224.7		
F	184.1	165.4	247.8	211.7		
G	170.2	172.1	228.7	196.1		
H	125.9	145.4	201.6	187.7		

1) Refer to the footnote 1 of Table 2-1

Table 2-7 Collaborative study results of pyrethrin II (µg/kg)

Lab. ¹⁾	Home garden-use mixed fertilizer 1		Home garden-use mixed fertilizer 2		Home garden-use mixed fertilizer 3	
A	111.6	123.5	135.8	166.7	163.5	182.6
B	131.5	135.1	186.6	156.3	200.1	214.3
C	132.1	139.4	159.8	134.7	186.3	197.9
D	136.3	135.6	149.7	146.7	179.6	186.3
E	117.0	117.1	161.1	144.9	181.7	158.5
F	137.0	143.1	186.0	190.3	186.3	202.3
G	115.2	127.8	141.4	167.3	173.0	169.3
H	161.7	134.3	211.6	173.2	165.3	165.9
Lab.	Fluid mixed fertilizer 1		Fluid mixed fertilizer 2			
A	116.8	122.2	163.1	182.3		
B	136.8	118.7	200.3	187.7		
C	138.1	121.3	178.1	189.8		
D	125.8	114.0	171.5	192.6		
E	118.1	112.7	178.5	177.3		
F	140.1	131.5	191.2	195.4		
G	159.2	141.5	196.9	168.9		
H	101.7	120.8	161.3	148.1		

1) Refer to the footnote 1 of Table 2-1

Table 3 Instruments used in the collaborative study

Lab. ¹⁾	LC	MS/MS	LC column (i.d.×length, particle size)
1	Waters ACQUITY UPLC System	Waters Quattro Premier XE	Waters ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm ×50 mm, 1.7 µm)
2	Waters Alliance2695	Waters Micromass Quattro micro API	Waters Atlantis dC18 (2.1 mm ×100 mm, 3 µm)
3	Waters ACQUITY UPLC System	Waters ACQUITY TQ Detector	KANTO Chemical Mightysil RP-18GP (2.0 mm ×150 mm, 3 µm)
4	Waters ACQUITY Ultra Performance LC	Waters Xevo TQ MS	Waters ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm ×100 mm, 1.7 µm)
5	Shimadzu LCMS-8030 System	Shimadzu LCMS-8030	Shimadzu Shim-Pak XR-ODS II (2.0 mm ×100 mm, 2.2 µm)
6	Waters ACQUITY UPLC System	Waters Quattro Premier XE	Waters ACQUITY UPLC HSS C18 (2.1 mm ×100 mm, 1.8 µm)
7	Waters ACQUITY UPLC System	Waters ACQUITY TQ Detector	Waters ACQUITY UPLC HSS C18 (2.1 mm ×100 mm, 1.8 µm)
8	GL Sciences LC800	AB SCIEX API4001Q trap	GL Sciences InertSustain C18 (2.1 mm ×100 mm, 2 µm)

1) The number of laboratory which participated in the collaborative study

Table 4 The analysis results of collaborative study results

Agricultural chemical	Sample	Lab. number ¹⁾	Average ²⁾ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Spiked level ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Recovery (%)	RSD _r ³⁾ (%)	RSD _R ⁴⁾ (%)	HorRat _r ⁵⁾	HorRat _R ⁶⁾
Abamectin B1a	Home garden-use mixed fertilizer 1	8	286.8	333.3	86.1	13.3	14.4	1.10	0.75
	Home garden-use mixed fertilizer 2	8	358.9	416.7	86.1	13.4	14.8	1.15	0.79
	Home garden-use mixed fertilizer 3	8	425.8	500.0	85.2	8.6	11.6	0.76	0.64
	Fluid mixed fertilizer 1	8	288.6	333.3	86.6	7.1	8.5	0.59	0.44
	Fluid mixed fertilizer 2	8	405.5	500.0	81.1	7.1	7.2	0.62	0.39
Ivermectin B1a	Home garden-use mixed fertilizer 1	8	298.9	333.3	89.7	14.9	15.0	1.24	0.78
	Home garden-use mixed fertilizer 2	8	382.5	416.7	91.8	14.1	19.3	1.22	1.04
	Home garden-use mixed fertilizer 3	8	431.1	500.0	86.2	9.8	10.9	0.87	0.60
	Fluid mixed fertilizer 1	8	298.8	333.3	89.6	10.1	12.8	0.85	0.67
	Fluid mixed fertilizer 2	8	405.2	500.0	81.0	3.8	5.8	0.33	0.32
Eprinomectin B1a	Home garden-use mixed fertilizer 1	8	293.5	333.3	88.1	7.0	10.4	0.58	0.54
	Home garden-use mixed fertilizer 2	8	361.9	416.7	86.9	9.2	14.3	0.79	0.77
	Home garden-use mixed fertilizer 3	8	425.3	500.0	85.1	7.0	10.0	0.61	0.55
	Fluid mixed fertilizer 1	8	277.3	333.3	83.2	9.0	12.0	0.75	0.62
	Fluid mixed fertilizer 2	8	398.2	500.0	79.6	7.5	11.6	0.65	0.63
Rotenone	Home garden-use mixed fertilizer 1	8	276.8	333.3	83.1	5.7	7.8	0.47	0.40
	Home garden-use mixed fertilizer 2	8	353.5	416.7	84.8	9.8	12.5	0.83	0.67
	Home garden-use mixed fertilizer 3	8	426.6	500.0	85.3	6.6	8.5	0.58	0.47
	Fluid mixed fertilizer 1	8	263.5	333.3	79.1	11.0	12.3	0.90	0.63
	Fluid mixed fertilizer 2	8	385.2	500.0	77.0	5.7	12.1	0.49	0.66
Piperonylbutoxide	Home garden-use mixed fertilizer 1	8	318.2	333.3	95.5	8.1	13.2	0.68	0.70
	Home garden-use mixed fertilizer 2	8	395.6	416.7	94.9	8.4	13.6	0.73	0.74
	Home garden-use mixed fertilizer 3	8	450.3	500.0	90.1	4.6	9.3	0.41	0.52
	Fluid mixed fertilizer 1	8	299.7	333.3	89.9	7.4	11.0	0.62	0.57
	Fluid mixed fertilizer 2	8	435.8	500.0	87.2	5.8	7.4	0.51	0.41
Pyrethrin I	Home garden-use mixed fertilizer 1	8	160.7	186.0	86.4	9.3	11.9	0.71	0.57
	Home garden-use mixed fertilizer 2	8	202.2	232.5	87.0	12.6	12.8	0.99	0.63
	Home garden-use mixed fertilizer 3	8	228.6	279.0	81.9	5.4	8.8	0.43	0.44
	Fluid mixed fertilizer 1	8	158.2	186.0	85.1	6.8	10.4	0.51	0.49
	Fluid mixed fertilizer 2	8	223.1	279.0	80.0	8.5	9.1	0.68	0.45
Pyrethrin II	Home garden-use mixed fertilizer 1	8	131.1	147.3	89.0	6.5	9.7	0.48	0.45
	Home garden-use mixed fertilizer 2	8	163.2	184.2	88.6	10.8	13.6	0.82	0.65
	Home garden-use mixed fertilizer 3	8	182.0	221.0	82.4	5.4	8.9	0.42	0.43
	Fluid mixed fertilizer 1	8	126.2	147.3	85.7	7.8	11.4	0.57	0.52
	Fluid mixed fertilizer 2	8	180.2	221.0	81.5	6.3	8.3	0.49	0.40

1) The number of collaborative laboratories used for analysis

2) Total average ($n = \text{lab. number} \times \text{repetitions number} (2)$)

3) Repeatability (relative standard deviation)

4) Reproducibility (relative standard deviation)

5) Repetition HorRat

6) Interlaboratory reproduction HorRat

4. まとめ

8 試験室において5 銘柄(液状の家庭園芸用複合肥料3 銘柄, 液状複合肥料2 銘柄)の肥料を用い, Table 4 に示した濃度相当量を添加して 6 種農薬の共同試験を実施し, 本分析法の評価を行った. その結果, アバメクチン B1a の平均回収率は 81.1 %~86.6 %であり, 室間再現精度(相対標準偏差)が 14.8 %以下, その評価に用いる HorRat_r 値は 0.79 以下, イベルメクチン B1a の平均回収率は 81.0 %~91.8 %であり, 室間再現精度(相対標準偏差)が 19.3 %以下, その評価に用いる HorRat_r 値は 1.04 以下, エプリノメクチン B1a の平均回収率は

79.6%~88.1%であり、室間再現精度(相対標準偏差)が14.3%以下、その評価に用いるHorRat_R値は0.77以下、ロテノンの平均回収率は77.0%~85.3%であり、室間再現精度(相対標準偏差)が12.5%以下、その評価に用いるHorRat_R値は0.67以下、ピペロニルブトキシドの平均回収率は87.2%~95.5%であり、室間再現精度(相対標準偏差)が13.6%以下、その評価に用いるHorRat_R値は0.74以下、ピレトリンIの平均回収率は80.0%~87.0%であり、室間再現精度(相対標準偏差)が12.8%以下、その評価に用いるHorRat_R値は0.63以下、ピレトリンIIの平均回収率は81.5%~89.0%であり、室間再現精度(相対標準偏差)が13.6%以下、その評価に用いるHorRat_R値は0.65以下であり、いずれも2を下回った。このことから、試験所間の比較による本分析法の室間再現精度は満足する成績であった。

既報により併行精度、検量線の直線性範囲及び定量下限等の検討がなされており、本試験法は液状の家庭園芸用複合肥料及び液状複合肥料中の6種農薬の同時測定に用いることができる十分な性能を有することが確認された。このことから、2011年度肥料等技術検討会の審議を受け、本試験法の妥当性確認の事項は肥料等試験法(2012)に記載された¹⁰⁾。

謝 辞

共同試験にご協力頂いた株式会社島津製作所、財団法人日本食品分析センター及びジーエルサイエンス株式会社の各位に謝意を表します。

文 献

- 1) 肥料取締法:昭和25年5月1日、法律第127号、最終改正平成23年8月30日、法律第105号(2011)
- 2) ISO/IEC 17025: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. (1999)
- 3) 八木寿治, 山西正将, 白井裕治:液体クロマトグラフタンデム型質量分析計(LC/MS/MS)による液状肥料中の農薬の同時測定, 肥料研究報告, **4**, 36~48 (2011)
- 4) Horwitz, W.: Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method-Performance Studies, *Pure & Appl. Chem.*, **67** (2), 331~343 (1995)
- 5) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix D: Guideline for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2005)
- 6) Thompson, M.: Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing, *Analyst*, **125**, 385~386 (2000)
- 7) AOAC OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS Appendix E: Laboratory Quality Assurance, AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg (2005)
- 8) Horwitz, W., Kamps, L.R., Boyer, K.W.: Quality control. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, *J. AOAC Int.*, **63** (6), 1344~1354 (1980)
- 9) Codex Alimentarius: CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION PROCEDURAL MANUAL Twentieth edition, p.66 (2011)
- 10) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター(FAMIC):肥料等試験法(2012)
< <http://www.famic.go.jp/ffis/fert/sub9.html> >

Simultaneous Determination of Six Kinds of Agricultural Chemicals in Fluid Fertilizer by Liquid Chromatograph-Tandem Mass Spectrometer (LC-MS/MS) : A Collaborative Study

Toshiharu YAGI¹, Masayuki YAMANISHI², Yuji SHIRAI¹ and Masato SHIBATA¹

¹ Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department
(Now) Kobe Regional Center

A collaborative study was conducted to evaluate analysis by liquid chromatograph-electrospray ionization-tandem mass spectrometer (LC-ESI-MS/MS) for simultaneous determination of agricultural chemicals (abamectin, ivermectin, eprinomectin, rotenone, piperonylbutoxide and pyrethrin) in fluid fertilizers (fluid home garden-use mixed fertilizer and fluid mixed fertilizer). The fluid fertilizer that contains agricultural chemicals was purified with macroporous diatomaceous earth cartridge column and graphite carbon/aminopropyl – silanized silica gel column, and analyzed by LC-ESI-MS/MS. The LC separation was carried out on a C18 column using solvent gradient with formic acid ammonium solution (0.1 mmol/L) – formic acid solution (0.1 v/v%)[1+1] and formic acid acetonitrile solution (0.1 v/v%) as a mobile phase. The determination was performed in selected reaction monitoring (SRM) mode.

The samples of 5 kinds of fluid fertilizers and standard solutions for addition were sent to 8 collaborators. After standard solutions for addition were added to the samples, the samples were analyzed as blind duplicates. The means recovery, the repeatability relative standard deviation (RSD_t), the reproducibility relative standard deviation (RSD_R) and the HorRat values (RSD_R/predicted RSD_R) of determination of abamectin(ingredient : abamectin B1a) were reported range from 81.1 % to 86.6 %, 7.1 % to 13.4 %, 7.2 % to 14.8 % and 0.39 to 0.79, respectively. Those of determination of ivermectin (ingredient : ivermectin B1a) were reported range from 81.0 % to 91.8 %, 3.8 % to 14.9 %, 5.8 % to 19.3 % and 0.32 to 1.04, respectively. Those of determination of eprinomectin (ingredient : eprinomectin B1a) were reported range from 79.6 % to 88.1 %, 7.0 % to 9.2 %, 10.0 % to 14.3 % and 0.54 to 0.77, respectively. Those of determination of rotenone were reported range from 77.0 % to 85.3 %, 5.7 % to 11.0 %, 7.8 % to 12.5 % and 0.40 to 0.67, respectively. Those of determination of piperonylbutoxide were reported range from 87.2 % to 95.5 %, 5.8 % to 8.4 %, 7.4 % to 13.6 % and 0.41 to 0.74, respectively. Those of determination of pyrethrin (ingredient : pyrethrin I) were reported range from 80.0 % to 87.0 %, 5.4 % to 12.6 %, 8.8 % to 12.8 % and 0.44 to 0.63, respectively. Those of determination of pyrethrin (ingredient : pyrethrin II) were reported range from 81.5 % to 89.0 %, 5.4 % to 10.8 %, 8.3 % to 13.6 % and 0.40 to 0.65, respectively. These results indicated that this method has acceptable precision.

Key words agricultural chemicals, fluid home garden-use mixed fertilizer, fluid mixed fertilizer, simultaneous determination, liquid chromatograph-tandem mass spectrometer (LC-MS/MS), collaborative study

(Research Report of Fertilizer, 5, 48~59, 2012)