

技術レポート

8 飼料中のカルタップ、チオシクラム及びベンスルタップの液体クロマトグラフ質量分析計による定量法の添加回収試験

牧野 大作*, 吉村 正寿*

1 緒 言

平成 18 年 5 月 29 日付けで飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令(昭和 51 年農林省令第 35 号)の一部が改正され, 飼料中の残留農薬(60 種類)の基準値が設定された¹⁾.

カルタップ, チオシクラム及びベンスルタップについても, それらをカルタップに換算したものの総和として基準値が設定されており, その基準値はえん麦, 大麦, 小麦, とうもろこし, マイロ及びライ麦については 0.2 mg/kg, 牧草については 0.7 mg/kg となっている.

飼料分析基準²⁾のカルタップ, チオシクラム及びベンスルタップの分析法は, 財団法人日本食品分析センターが検討した分析法³⁾について, 独立行政法人肥飼料検査所(現(独)農林水産消費安全技術センター)において各種妥当性確認を実施した上で, 平成 18 年 12 月 18 日に収載されたものである.

筆者らは, 本法について添加回収試験, 繰返し精度, 定量下限及び検出下限にかかる検討を行ったので報告する.

2 実験方法

2.1 試 料

市販の飼料原料(とうもろこし)及び乾牧草(ライグラス)をそれぞれ 1 mm の網ふるいを通過するまで粉碎し, 供試試料とした.

2.2 定量方法

飼料分析基準 6.200 によった.

2.3 装置及び器具

- 1) 液体クロマトグラフ: 島津製作所製 Prominence
- 2) 質量分析計: 島津製作所製 LCMS-2010EV
- 3) 振とう機: 宮本理研工業製 理研式小型シェーカー MW-DR 型
- 4) 遠心分離器: 久保田商事製 KS-3000P
- 5) 高速遠心分離器: 日立製作所製 SCT15B
- 6) ロータリーエバポレーター: 東京理化機械製 N-1N 型
- 7) 多孔性ケイソウ土カートリッジ: Varian 製 Chem Elut CE2050 (50 mL 容)

3 結果及び考察

3.1 添加回収試験

本法による回収率及び繰返し精度を確認するために添加回収試験を実施した.

* 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター大阪事務所

カルタップとして、とうもろこしに 20 及び 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当量、ライグラスに 40 及び 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当量を添加した試料について、本法に従って 3 回分析を行い、その回収率及び繰返し精度を求めた。

その結果、Table 1 のとおり、カルタップの平均回収率は 67.7~90.4%，その繰返し精度は相対標準偏差 (RSD) として 5.1%以下であった。

次に、チオシクラムとして、とうもろこしに 20 及び 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当量、ライグラスに 40 及び 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当量を添加した試料について、本法に従って 3 回分析を行い、その回収率及び繰返し精度を求めた。その結果、Table 1 のとおり、チオシクラムの平均回収率は 80.1~92.4%，その繰返し精度は RSD として 9.4%以下であった。

更に、ベンスルタップとして、とうもろこしに 60 及び 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当量、ライグラスに 120 及び 900 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相当量を添加した試料について、本法に従って 3 回分析を行い、その回収率及び繰返し精度を求めた。その際、標準液の一定量を添加して、よく混合した後、一夜放置して溶媒を揮散させ、その後、分析操作をおこなったが、ベンスルタップは 20~40%程度の回収率しか得られなかった。

そこで、ベンスルタップは酸性条件下で安定であること³⁾及び抽出溶媒として L-システイン塩酸溶液を使用していることなどを考慮して、標準液添加後、速やかに分析操作を行った。すると、回収率は改善され、その結果は、Table 1 のとおり、ベンスルタップの平均回収率は 57.5~64.8%，その繰返し精度は RSD として 6.5%以下であった。

このことから、ベンスルタップは抽出溶媒が存在しない状態で標準液を添加すると分解されて回収率が低下することがあると考えられた。

なお、添加回収試験で得られた SIM クロマトグラムの一例を Fig. 1 に示した。

Table 1 Recoveries of cartap, thiocyclam and bensultap from 2 kinds of feed

(%)				
Kind of pesticide	Kind of feed	Spiked level ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Mean recovery ^{a)}	RSD ^{b)}
Cartap	Corn	20	90.4	4.0
		200	84.6	4.3
	Ryegrass	40	86.5	5.1
		600	67.7	0.55
Thiocyclam	Corn	20	88.2	4.7
		200	80.1	5.8
	Ryegrass	40	92.4	9.4
		600	85.1	4.9
Bensultap	Corn	60	61.2	1.3
		300	64.8	6.5
	Ryegrass	120	57.5	2.8
		900	57.5	3.1

a) $n=3$

b) Relative standard deviation of repeatability

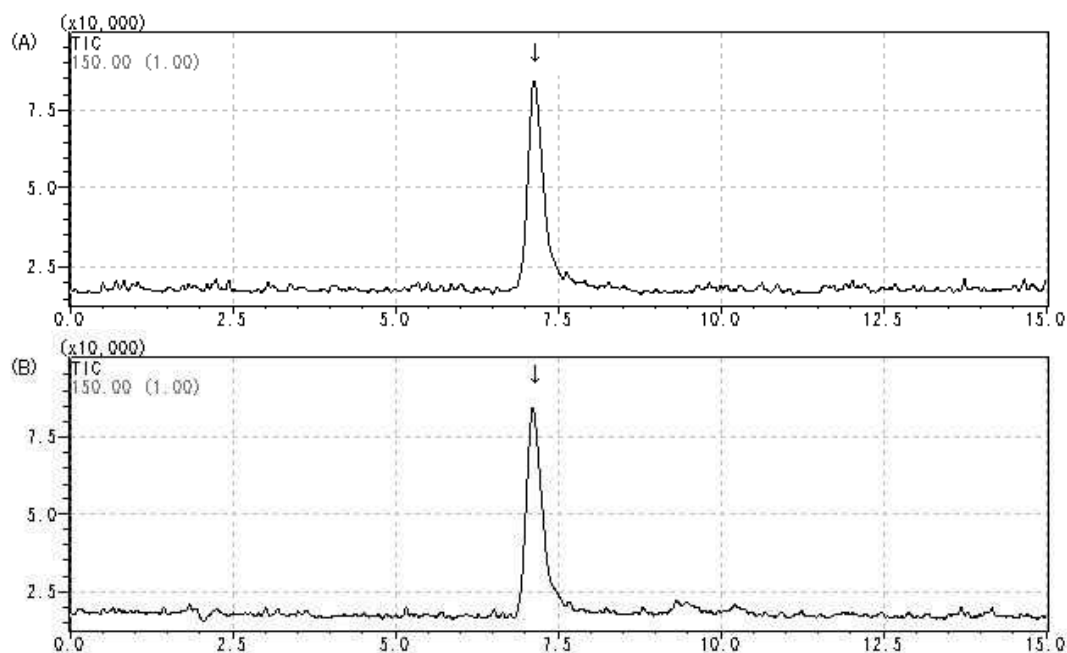


Fig. 1 SIM chromatograms of standard solution and sample solution

(A) Standard solution (The amount is 0.1 ng as nereistoxin.)

(B) Sample solution of corn (spiked with cartap at 200 µg/kg)

(Peak assignments: Nereistoxin)

3.2 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、とうもろこし及びライグラスにカルタップ、チオシクロラム及びベンスルタップそれぞれを添加した試料について本法に従って3点分析を行い、得られたピークのSN比を求めた。

カルタップでは、得られたピークのSN比が10となる濃度は、とうもろこし及びライグラスにおいて、それぞれ20及び40 µg/kgであった。このことからカルタップの本法の定量下限は飼料中及び乾牧草中でそれぞれ20及び40 µg/kgと考えられた。なお、その平均回収率は90.4及び86.5%、繰返し精度は相対標準偏差(RSD)として4.0及び5.1%であった。

また、検出下限はSN比が3となる濃度から、飼料中及び乾牧草中でそれぞれ6及び12 µg/kgと見積もられた。

チオシクロラムでは、得られたピークのSN比が10となる濃度は、とうもろこし及びライグラスにおいて、20及び40 µg/kgであった。このことからチオシクロラムの本法の定量下限は飼料中及び乾牧草中でそれぞれ20及び40 µg/kgと考えられた。なお、その平均回収率は88.2及び92.4%、繰返し精度はRSDとして4.7及び9.4%であった。

また、検出下限はSN比が3となる濃度から、飼料中及び乾牧草中でそれぞれ6及び12 µg/kgと見積もられた。

ベンスルタップでは、得られたピークのSN比が10となる濃度は、とうもろこし及びライグラスにおいて、60及び120 µg/kgであった。このことからベンスルタップの本法の定量下限は飼料中及び乾牧草中でそれぞれ60及び120 µg/kgと考えられた。なお、その平均回収率は61.2及び57.5%、繰返し精度はRSDとして1.3及び2.8%であった。

また、検出下限はSN比が3となる濃度から、飼料中及び乾牧草中でそれぞれ18及び36 µg/kg

と見積もられた。

4 まとめ

各種妥当性確認を実施した上で飼料分析基準²⁾に記載された、飼料中のカルタップ、チオシクロラム及びベンズルタップの液体クロマトグラフ質量分析計による定量法について添加回収試験、繰返し精度、定量下限及び検出下限にかかる検討を行ったところ次の結果を得た。

- 1) カルタップとして、とうもろこしに 20 及び 200 µg/kg 相当量、ライグラスに 40 及び 600 µg/kg 相当量を添加し、本法に従って添加回収試験を実施した結果、その平均回収率は 67.7~90.4%、その繰返し精度は相対標準偏差 (RSD) として 5.1%以下であった。
- 2) チオシクロラムとして、とうもろこしに 20 及び 200 µg/kg 相当量、ライグラスに 40 及び 600 µg/kg 相当量を添加し、本法に従って添加回収試験を実施した結果、その平均回収率は 80.1~92.4%、その繰返し精度は RSD として 9.4%以下であった。
- 3) ベンズルタップとして、とうもろこしに 60 及び 300 µg/kg 相当量、ライグラスに 120 及び 900 µg/kg 相当量を添加し、本法に従って添加回収試験を実施した結果、その平均回収率は 57.5~64.8%、その繰返し精度は RSD として 6.5%以下であった。
- 4) 抽出溶媒を加える前に標準液を添加して、添加回収試験等を実施すると、ベンズルタップは分解し、その回収率が低下することがあると考えられた。
- 5) 本法によるカルタップ及びチオシクロラムの定量下限は飼料中及び乾牧草中でそれぞれ 20 及び 40 µg/kg、検出下限は試料中及び乾牧草中でそれぞれ 6 及び 12 µg/kg と見積もられた。
- 6) 本法によるベンズルタップの定量下限は試料中及び乾牧草中でそれぞれ 60 及び 120 µg/kg、検出下限は飼料中及び乾牧草中でそれぞれ 18 及び 36 µg/kg と見積もられた。

文 献

- 1) 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，昭和 51 年農林省令第 35 号 (1976)。
- 2) 農林水産省畜産局長通知：“飼料分析基準の制定について”，平成 7 年 11 月 15 日，7 畜 B 第 1660 号 (1995)。
- 3) (財) 日本食品分析センター：平成 17 年度飼料の有害物質等残留基準設定等委託事業（分析法の開発）飼料中の有害物質等の分析法の開発 (2006)。