

**技術レポート****4 飼料中のカルバリル, カルボフラン及びフェノブカルブの液体クロマトグラフトンデム型質量分析計による同時定量法の共同試験**

田中 里美\*, 桑原 正良\*

**Collaborative Study on Simultaneous Determination Method of Carbaryl, Carbofuran and Fenobucarb in Feed by LC-MS/MS**

Satomi TANAKA\* and Masayoshi KUWABARA\*

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

For validating the simultaneous determination method of carbaryl, carbofuran and fenobucarb in feed using a liquid chromatograph-electrospray ionization-tandem mass spectrometer (LC-ESI-MS/MS), a collaborative study was conducted.

After adding water to a sample, carbaryl, carbofuran and fenobucarb were extracted with acetone, and the solution was filtered. The filtrate was then diluted with acetone to a volume of 200 mL. The sample solution was purified with a SPE column (InertSep Slim-J C18-B, GL Sciences Inc.; Tokyo, Japan), and injected into a LC-MS/MS to determine the concentration of carbaryl, carbofuran and fenobucarb. LC separation was carried out on an ODS column (ZORBAX Eclipse XDB-C18, 2.1 mm i.d. × 150 mm, 5 µm from Agilent Technologies Inc.; Santa Clara, CA, USA) with a gradient of 2 mmol/L ammonium acetate solution and acetonitrile as a mobile phase. In the MS/MS analysis, positive mode electrospray ionization (ESI+) was used.

A collaborative study was conducted by eleven laboratories using formula feed for finishing beef cattle, wheat, corn, milo and oats hay. Formula feed for finishing beef cattle was added with 0.1 mg/kg of carbaryl and carbofuran, and 0.3 mg/kg of fenobucarb. Wheat was added with 2 mg/kg of carbaryl, 0.2 mg/kg of carbofuran and 0.3 mg/kg of fenobucarb. Corn was added with 0.1 mg/kg of carbaryl, 0.05 mg/kg of carbofuran and 0.3 mg/kg of fenobucarb. Milo was added with 10 mg/kg of carbaryl, 0.1 mg/kg of carbofuran and 0.3 mg/kg of fenobucarb. Oats hay was added with 10 mg/kg of carbaryl, carbofuran and fenobucarb. The resulting mean recoveries, repeatability and reproducibility in the form of relative standard deviation (RSD<sub>f</sub> and RSD<sub>R</sub>), and HorRat, were 94.9 % to 99.4 %, less than 7.2 % and less than 16 %, and less than 0.96 for carbaryl, 94.0 % to 98.7 %, less than 5.6 % and less than 9.9 %, and less than 0.54 for carbofuran, and 92.5 % to 97.8 %, less than 6.0 % and less than 8.3 %, and less than 0.61 for fenobucarb respectively.

This method was thus validated as useful for inspection of carbaryl, carbofuran and fenobucarb in feed.

Key words: carbaryl; carbofuran; fenobucarb; liquid chromatograph-tandem mass spectrometer (LC-MS/MS); electrospray ionization (ESI); feed; collaborative study

キーワード：カルバリル；カルボフラン；フェノブカルブ；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；共同試験

\* 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

## 1 緒 言

カルバリルは、米国 Union Carbide 社が開発したカーバメート系の殺虫剤であり、我が国では 1959 年に登録されている<sup>1)</sup>。カルボフランは米国 FMC 社が導入したカーバメート系の殺虫剤であり、国内登録はされておらず、米国でも使用が中止されている<sup>2)</sup>。フェノブカルブはクミアイ化学が開発したカーバメート系の殺虫剤であり、1968 年に国内登録されている<sup>1),3)</sup>。

これらの農薬の我が国における飼料中の残留基準としては、飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令<sup>4)</sup>において、カルバリルはえん麦及びマイロで 10 mg/kg、大麦及びライ麦で 5 mg/kg、小麦で 2 mg/kg、とうもろこしで 0.1 mg/kg 及び牧草で 250 mg/kg、カルボフランは、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<sup>5)</sup>、えん麦、マイロ及びライ麦で 0.1 mg/kg、大麦及び小麦で 0.2 mg/kg、とうもろこしで 0.05 mg/kg 及び牧草で 13 mg/kg、フェノブカルブはえん麦、大麦、小麦、とうもろこし、マイロ及びライ麦ともに 0.3 mg/kg の基準値が設定されている。また、フェノブカルブは、飼料の有害物質の指導基準及び管理基準<sup>6)</sup>において飼料用イネ（稲わら、稲発酵粗飼料及び粃米）の管理基準値が設定されている。

飼料（飼料用イネを除く。）中の当該 3 成分を含むカーバメート系農薬の同時定量法としては、飼料分析基準<sup>7)</sup>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分析法が記載されている。しかし、この方法は上記基準値を念頭に置いた妥当性確認が実施されていない。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。

そのため、当センターにおいて、飼料（飼料用イネを除く。）中のカルバリル、カルボフラン及びフェノブカルブの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<sup>8)</sup>を開発したところであるが、更に今回、共通試料を用いた共同試験を行ったので、その結果を報告する。

## 2 試験方法

### 2.1 試料

カルバリル、カルボフラン及びフェノブカルブが残留していないことを確認した肉用牛肥育用配合飼料、小麦、とうもろこし、マイロ及びオーツ乾草をそれぞれ目開き 1 mm のスクリーンを装着した粉砕機で粉砕した。これらについて約 12 g ずつ小分けしたもの（試料名は非明示）各 2 袋を試験用試料として計 10 袋を各試験室に配付した。

なお、試験に用いた肉用牛肥育用配合飼料の配合割合を Table 1 に示した。

Table 1 Compositions of the formula feed

Formula feed types	Ingredient types	Proportion (%)	Ingredients
For finishing beef cattle	Grains	56	Barley, corn, corn starch, potato starch
	Oil seed meal	5	Soybean meal
	Brans	38	Wheat bran, hominy feed, soybean hulls, corn gluten feed, rice bran, brewers grains
	Others	1	Molasses, calcium carbonate, salt, lactic acid bacteria, brewers yeast, butyric acid bacteria, saccharification bacteria, natural aluminum silicate, light silicic acid, galacto-oligosaccharide, glucose, zeolite, calcium propionate

## 2.2 試薬

- 1) アセトニトリル (LC-MS/MS 測定時の溶離液のみ LC-MS 用 (和光純薬工業製) ), アセトンは残留農薬・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 溶液, 和光純薬工業製) を用いた. 水は DIRECT-Q UV 3 (Merck 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) カルバリル標準原液  
カルバリル標準品 (関東化学製, 純度 99.8 %) 50 mg を正確に量って 100 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カルバリル標準原液を調製した (この液 1 mL は, カルバリルとして 0.5 mg を含有する. ) .
- 3) カルボフラン標準原液  
カルボフラン標準品 (関東化学製, 純度 99.8 %) 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カルボフラン標準原液を調製した (この液 1 mL は, カルボフランとして 0.5 mg を含有する. ) .
- 4) フェノブカルブ標準原液  
フェノブカルブ標準品 (関東化学製, 純度 98.4 %) 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フェノブカルブ標準原液を調製した (この液 1 mL は, フェノブカルブとして 0.5 mg を含有する. ) .
- 5) 各農薬標準液  
2), 3)及び 4)で調製したカルバリル, カルボフラン及びフェノブカルブ各標準原液の一定量をそれぞれアセトンで正確に 10 倍希釈し, 1 mL 中にカルバリル, カルボフラン及びフェノブカルブとしてそれぞれ 50 µg を含有する各農薬標準液を調製した.
- 6) 検量線作成用標準原液  
各農薬標準液各 5 mL を 250 mL の全量フラスコに入れて混合し, 更に標線までアセトンを加えて, 検量線作成用標準原液を調製した (この液 1 mL は, カルバリル, カルボフラン及びフェノブカルブとして各 1 µg を含有する. ) .
- 7) 肉用牛肥育用配合飼料添加用標準液  
5)で調製したカルバリル標準液及びカルボフラン標準液 4 mL 並びにフェノブカルブ標準液 12 mL を 200 mL の全量フラスコに入れ, 更に標線までアセトンを加え, 1 mL 中にカルバリル

及びカルボフランとしてそれぞれ 1 µg 並びにフェノブカルブとして 3 µg を含有する肉用牛肥育用配合飼料添加用標準液を調製した。

#### 8) 小麦添加用標準液

2)で調製したカルバリル標準原液 8 mL, 5)で調製したカルボフラン標準液 8 mL 及びフェノブカルブ標準液 12 mL を 200 mL の全量フラスコに入れ, 更に標線までアセトンを加え, 1 mL 中にカルバリルとして 20 µg, カルボフランとして 2 µg 及びフェノブカルブとして 3 µg を含有する小麦添加用標準液を調製した。

#### 9) とうもろこし添加用標準液

5)で調製したカルバリル標準液 4 mL, カルボフラン標準液 2 mL 及びフェノブカルブ標準液 12 mL を 200 mL の全量フラスコに入れ, 更に標線までアセトンを加え, 1 mL 中にカルバリルとして 1 µg, カルボフランとして 0.5 µg 及びフェノブカルブとして 3 µg を含有するとうもろこし添加用標準液を調製した。

#### 10) マイロ添加用標準液

2)で調製したカルバリル標準原液 40 mL, 5)で調製したカルボフラン標準液 4 mL 及びフェノブカルブ標準液 12 mL を 200 mL の全量フラスコに入れ, 更に標線までアセトンを加え, 1 mL 中にカルバリルとして 100 µg, カルボフランとして 1 µg 及びフェノブカルブとして 3 µg を含有するマイロ添加用標準液を調製した。

#### 11) オーツ乾草添加用標準液

2), 3)及び 4)で調製したカルバリル, カルボフラン及びフェノブカルブ各標準原液各 40 mL を 200 mL の全量フラスコに入れ, 更に標線までアセトンを加え, 1 mL 中にカルバリル, カルボフラン及びフェノブカルブとしてそれぞれ 100 µg を含有するオーツ乾草添加用標準液を調製した。

6)の検量線作成用標準原液及び 7)~11)の各添加用標準液 (各 2 本, 濃度は非通知) を 2.1 の試験用試料と併せて各試験室に配付した。

### 2.3 定量方法

田中らの方法<sup>8)</sup>によった。

### 2.4 分析試料

非明示の 2 点反復で, 2.1 の試験用試料を用いた。分析試料としては, 肉用牛肥育用配合飼料にカルバリル及びカルボフランとしてそれぞれ 0.1 mg/kg 相当量並びにフェノブカルブとして 0.3 mg/kg 相当量 (試験用試料 10 g に対して 1 mL 中にカルバリル及びカルボフランとしてそれぞれ 1 µg 並びにフェノブカルブとして 3 µg を含有する肉用牛肥育用配合飼料添加用標準液 1 mL 添加) を, 小麦にカルバリルとして 2 mg/kg 相当量, カルボフランとして 0.2 mg/kg 相当量及びフェノブカルブとして 0.3 mg/kg 相当量 (試験用試料 10 g に対して 1 mL 中にカルバリルとして 20 µg, カルボフランとして 2 µg 及びフェノブカルブとして 3 µg を含有する小麦添加用標準液 1 mL 添加) を, とうもろこしにカルバリルとして 0.1 mg/kg 相当量, カルボフランとして 0.05 mg/kg 相当量及びフェノブカルブとして 0.3 mg/kg 相当量 (試験用試料 10 g に対して 1 mL 中にカルバリルとして 1 µg, カルボフランとして 0.5 µg 及びフェノブカルブとして 3 µg を含有するとうもろこし添加用標準液 1 mL 添加) を, マイロにカルバリルとして 10 mg/kg 相当量, カルボフランとして 0.1 mg/kg 相当量及びフェノブカルブとして 0.3 mg/kg 相当量 (試験用試料 10

g に対して 1 mL 中にカルバリルとして 100  $\mu\text{g}$ 、カルボフランとして 1  $\mu\text{g}$  及びフェノブカルブとして 3  $\mu\text{g}$  を含有するマイロ添加用標準液 1 mL 添加) を、オーツ乾草にカルバリル、カルボフラン及びフェノブカルブとしてそれぞれ 10 mg/kg 相当量 (試験用試料 10 g に対して 1 mL 中にカルバリル、カルボフラン及びフェノブカルブとしてそれぞれ 100  $\mu\text{g}$  を含有するオーツ乾草添加用標準液 1 mL 添加) 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。

## 2.5 報告方法

2.1 の分析試料 10 点の分析値は、分析試料中濃度 (mg/kg) で表し、4 桁目を四捨五入して有効桁数 3 桁まで報告させることとした。

## 2.6 分析実施期間

平成 29 年 6 月 5 日から平成 29 年 6 月 30 日まで

## 2.7 解析方法

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>9), 10)</sup>を参考に、Cochran 検定, single Grubbs 検定及び paired 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 ( $\text{RSD}_f$ ) 及び室間再現精度 ( $\text{RSD}_R$ ) を算出し、得られた  $\text{RSD}_R$  から、修正 Horwitz 式<sup>11)</sup>を用いて HorRat を求めた。

## 3 参加試験室

一般財団法人食品環境検査協会東京事業所, 一般財団法人東京顕微鏡院食と環境の科学センター, 一般財団法人日本穀物検定協会中央研究所, 一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所, 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 11 試験室)

## 4 結果及び考察

カルバリルの結果は Table 2 のとおりであり、肉用牛肥育用配合飼料, 小麦, とうもろこし, マイロ及びオーツ乾草について、平均回収率は 99.4, 95.4, 99.1, 97.9 及び 94.9 %,  $\text{RSD}_f$  は 7.2, 5.9, 4.6, 2.6 及び 5.3 %,  $\text{RSD}_R$  は 15, 9.4, 16, 6.5 及び 11 %, HorRat は 0.68, 0.46, 0.74, 0.58 及び 0.96 であった。

カルボフランの結果は Table 3 のとおりであり、肉用牛肥育用配合飼料, 小麦, とうもろこし, マイロ及びオーツ乾草について、平均回収率は 96.5, 94.2, 96.8, 98.7 及び 94.0 %,  $\text{RSD}_f$  は 3.1, 5.6, 3.4, 2.3 及び 2.2 %,  $\text{RSD}_R$  は 7.5, 7.0, 9.9, 5.2 及び 6.1 %, HorRat は 0.34, 0.34, 0.45, 0.24 及び 0.54 であった。

フェノブカルブの結果は Table 4 のとおりであり、肉用牛肥育用配合飼料, 小麦, とうもろこし, マイロ及びオーツ乾草について、平均回収率は 94.9, 92.5, 96.3, 97.8 及び 95.4 %,  $\text{RSD}_f$  は 4.7, 6.0, 3.4, 3.2 及び 2.8 %,  $\text{RSD}_R$  は 5.6, 7.2, 8.3, 6.7 及び 7.0 %, HorRat は 0.29, 0.37, 0.43, 0.35 及び 0.61 であった。

それぞれの成分ともに、飼料分析基準の妥当性確認法ガイドライン (以下「妥当性確認法ガイドライン」という。) に定められた室間再現精度の目標値を満たしていた。HorRat については、0.5 を下回るものが散見されたが、分析操作が比較的簡便であるためと考えられた。

参考のため、各試験室で使用した LC-MS/MS の機種等を Table 5 に示した。

Table 2 Collaborative study for carbaryl

Lab. No.	Feed types									
	Formula feed for finishing beef cattle		Wheat		Corn		Milo		Oats hay	
	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
1	0.0887	0.0862	1.90	1.86	0.0949	0.0919	8.30	8.37	8.96	8.96
2	0.0967	0.0915	2.04	1.97	0.0894	0.0940	10.3	10.4	9.61	9.53
3	0.0893	0.0909	1.85	1.75	0.0920	0.0899	10.3	9.55	9.23	9.06
4	0.104	0.0892	1.88	1.99	0.0999	0.100	9.63	9.92	9.58	9.72
5	0.124	0.106	2.28	1.89	0.120	0.108	9.90	9.26	9.60	8.98
6	0.0979	0.100	1.88	1.92	0.104	0.102	9.94	10.1	10.0	9.98
7	0.103	0.103	1.80	1.95	0.104	0.0981	9.90	10.2	9.90	7.88
8	0.104	0.119	2.06	2.08	0.107	0.119	10.9	10.6	10.7	10.6
9	0.0920	0.0875	1.69	1.62	0.0877	0.0903	9.23	9.05	8.11	8.97
10	0.118	0.110	2.13	2.13	0.106	0.112	9.90	10.0	11.7	11.4
11	0.0880	0.0973	1.78	1.52	0.0832	0.0872	14.1 <sup>a)</sup>	14.6 <sup>a)</sup>	8.44	7.91
Spiked level (mg/kg)	0.1		2		0.1		10		10	
No. labs <sup>b)</sup>	11		11		11		10		11	
No. outliers <sup>c)</sup>	0		0		0		1		0	
Mean value (mg/kg)	0.0994		1.91		0.0991		9.79		9.49	
Mean recovery (%)	99.4		95.4		99.1		97.9		94.9	
RSD <sub>r</sub> <sup>d)</sup> (%)	7.2		5.9		4.6		2.6		5.3	
RSD <sub>R</sub> <sup>e)</sup> (%)	15		9.4		16		6.5		11	
PRSD <sub>R</sub> <sup>f)</sup> (%)	22		14		22		11		11	
HorRat	0.68		0.46		0.74		0.58		0.96	

a) Data excluded by single Grubbs test

b) Number of laboratories retained after eliminating outliers

c) Number of outlier laboratories removed in parentheses

d) Relative standard deviation of repeatability within laboratory

e) Relative standard deviation of reproducibility between laboratories

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

Table 3 Collaborative study for carbofuran

Lab. No.	Feed types									
	Formula feed for finishing beef cattle		Wheat		Corn		Milo		Oats hay	
	(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)	
1	0.0835	0.0856	0.180	0.175	0.0427	0.0391	0.0895	0.0899	8.99	9.22
2	0.0956	0.0938	0.188	0.184	0.0469	0.0468	0.0960	0.101	9.43	9.69
3	0.0947	0.0906	0.186	0.177	0.0440	0.0451	0.0913	0.0918	9.42	9.64
4	0.0985	0.0986	0.193	0.194	0.0496	0.0494	0.101	0.102	9.79	9.72
5	0.115	0.103	0.233	0.186	0.0530	0.0590	0.101	0.103	9.46	9.10
6	0.101	0.102	0.194	0.192	0.0559	0.0551	0.0984	0.104	9.58	9.40
7	0.0950	0.0975	0.182	0.190	0.0482	0.0483	0.0984	0.0994	9.67	9.62
8	0.107	0.104	0.202	0.206	0.0523	0.0530	0.108	0.106	10.6	10.4
9	0.0901	0.0892	0.174	0.178	0.0457	0.0456	0.0957	0.0945	8.68	9.16
10	0.0970	0.0949	0.189	0.188	0.0482	0.0461	0.0971	0.103	9.43	9.31
11	0.0942	0.0921	0.175	0.179	0.0448	0.0464	0.0984	0.101	8.52	7.97
Spiked level (mg/kg)	0.1		0.2		0.05		0.1		10	
No. labs <sup>a)</sup>	11		11		11		11		11	
No. outliers <sup>b)</sup>	0		0		0		0		0	
Mean value (mg/kg)	0.0965		0.188		0.0484		0.0987		9.40	
Mean recovery (%)	96.5		94.2		96.8		98.7		94.0	
RSD <sub>r</sub> <sup>c)</sup> (%)	3.1		5.6		3.4		2.3		2.2	
RSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	7.5		7.0		9.9		5.2		6.1	
PRSD <sub>R</sub> <sup>e)</sup> (%)	22		20		22		22		11	
HorRat	0.34		0.34		0.45		0.24		0.54	

a) Number of laboratories retained after eliminating outliers

b) Number of outlier laboratories removed in parentheses

c) Relative standard deviation of repeatability within laboratory

d) Relative standard deviation of reproducibility between laboratories

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

Table 4 Collaborative study for fenobucarb

Lab. No.	Feed types									
	Formula feed for finishing beef cattle		Wheat		Corn		Milo		Oats hay	
	(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)	
1	0.293	0.297	0.282	0.305	0.299	0.292	0.297	0.317	9.50	9.98
2	0.290	0.276	0.272	0.269	0.291	0.280	0.289	0.272	9.56	9.86
3	0.284	0.277	0.267	0.273	0.234	0.231	0.268	0.270	9.24	9.55
4	0.295	0.268	0.280	0.282	0.319	0.287	0.308	0.303	10.6	10.5
5	0.319	0.271	0.342	0.271	0.302	0.305	0.318	0.289	9.41	8.87
6	0.280	0.279	0.269	0.282	0.300	0.302	0.284	0.294	9.50	9.49
7	0.279	0.290	0.268	0.280	0.289	0.293	0.294	0.293	9.42	9.70
8	0.320	0.304	0.292	0.307	0.328	0.317	0.327	0.330	10.6	10.5
9	0.282	0.279	0.263	0.265	0.288	0.281	0.311	0.295	8.82	9.37
10	0.255	0.266	0.259	0.259	0.266	0.274	0.267	0.271	9.44	9.40
11	0.285	0.276	0.257	0.263	0.302	0.277	0.281	0.275	8.61	7.97
Spiked level (mg/kg)	0.3		0.3		0.3		0.3		10	
No. labs <sup>a)</sup>	11		11		11		11		11	
No. outliers <sup>b)</sup>	0		0		0		0		0	
Mean value (mg/kg)	0.285		0.278		0.289		0.293		9.54	
Mean recovery (%)	94.9		92.5		96.3		97.8		95.4	
RSD <sub>r</sub> <sup>c)</sup> (%)	4.7		6.0		3.4		3.2		2.8	
RSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	5.6		7.2		8.3		6.7		7.0	
PRSD <sub>R</sub> <sup>e)</sup> (%)	19		19		19		19		11	
HorRat	0.29		0.37		0.43		0.35		0.61	

a) Number of laboratories retained after eliminating outliers

b) Number of outlier laboratories removed in parentheses

c) Relative standard deviation of repeatability within laboratory

d) Relative standard deviation of reproducibility between laboratories

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

Table 5 Instruments used in the collaborative study

Lab.No	LC-MS/MS	LC column (i.d.×length, particle size)
1	LC: ACQUITY UPLC, Waters MS/MS: Quattro premier XE, Waters	ZORBAX Eclipse XDB-C18 Agilent Technologies (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
2	LC: Nexera X2, Shimadzu MS/MS: LCMS-8040, Shimadzu	ZORBAX Eclipse XDB-C18 Agilent Technologies (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
3	LC: ACQUITY UPLC, Waters MS/MS: Xevo TQD, Waters	ZORBAX Eclipse XDB-C18 Agilent Technologies (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
4	LC: ACQUITY UPLC, Waters MS/MS: ACQUITY TQD, Waters	ZORBAX Eclipse XDB-C18 Agilent Technologies (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
5	LC: ACQUITY UPLC, Waters MS/MS: ACQUITY TQD, Waters	ZORBAX Eclipse XDB-C18 Agilent Technologies (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
6	LC: ACQUITY UPLC, Waters MS/MS: ACQUITY TQD, Waters	ZORBAX Eclipse XDB-C18 Agilent Technologies (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
7	LC: Prominence, Shimadzu MS/MS: API4000, Applied Biosystems	ZORBAX Eclipse XDB-C18 Agilent Technologies (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
8	LC: Prominence, Shimadzu MS/MS: LCMS-8060, Shimadzu	Symmetry C18, Waters (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
9	LC: 1260 Infinity, Agilent Technologies MS/MS: 6490 Triple Quadrupole LC/MS Agilent Technologies	ZORBAX Eclipse XDB-C18 Agilent Technologies (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
10	LC: 1200 Series, Agilent Technologies MS/MS: API-3200 Q TRAP, AB SCIEX	ZORBAX Eclipse XDB-C18 Agilent Technologies (2.1 mm×150 mm, 5 μm)
11	LC: LC800, GL Sciences MS/MS: 4000 Q TRAP, AB SCIEX	InertSustain C18, GL Sciences (2.1 mm×150 mm, 5 μm)

## 5 まとめ

飼料に残留するカルバリル、カルボフラン及びフェノブカルブについて、肉用牛肥育用配合飼料にカルバリル及びカルボフランとしてそれぞれ 0.1 mg/kg 相当量並びにフェノブカルブとして 0.3 mg/kg 相当量、小麦にカルバリルとして 2 mg/kg 相当量、カルボフランとして 0.2 mg/kg 相当量及びフェノブカルブとして 0.3 mg/kg 相当量、とうもろこしにカルバリルとして 0.1 mg/kg 相当量、カルボフランとして 0.05 mg/kg 相当量及びフェノブカルブとして 0.3 mg/kg 相当量、マイロにカルバリルとして 10 mg/kg 相当量、カルボフランとして 0.1 mg/kg 相当量及びフェノブカルブとして 0.3 mg/kg 相当量、オーツ乾草にカルバリル、カルボフラン及びフェノブカルブとしてそれぞれ 10

mg/kg 相当量を添加した試料を用いて 11 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値を満たす良好な結果が得られた。

## 謝 辞

共同試験に参加していただいた一般財団法人食品環境検査協会東京事業所，一般財団法人東京顕微鏡院食と環境の科学センター，一般財団法人日本穀物検定協会中央研究所，一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所及びジーエルサイエンス株式会社における関係者各位に感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 一般社団法人日本植物防疫協会：農薬ハンドブック 2016 年版（改訂新版），420-421，日本植物防疫協会，東京，(2016) (ISBN: 978-4-88926-146-2).
- 2) 内閣府食品安全委員会：食品安全総合情報システム、  
<http://www.fsc.go.jp/fsciis/foodSafetyMaterial/show/syu02850270108>, cited 9 Apr. 2018.
- 3) 食品安全委員会農薬専門調査会，食品安全委員会動物用医薬品専門調査会：農薬・動物用医薬品評価書 (2013).
- 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) 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).
- 8) 田中 里美，桑原 正良：飼料中のカルバリル，カルボフラン及びフェノブカルブの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時定量法の開発，飼料研究報告，42，20-33 (2017).
- 9) Horwitz, W., Protocol for Design, Conduct and Interpretation of Method - Performance Studies, Pure & Appl. Chem., 67(2), 331-343 (1995).
- 10) 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).
- 11) 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).