

## GC/MS を用いた食品中残留農薬分析における検量線に関する検討

○佐々野僚一、谷澤春奈（株）アイスティサイエンス

### 1. はじめに

近年、食品中の残留農薬等に関して社会問題となっており、食に対する安全・安心がより一層求められるとともに、多成分・多検体の残留農薬分析が可能な分析方法も同時に要望されている。また、厚生労働省は「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」を提示している。そのガイドラインに従い、比較検討している分析手法の妥当性評価を行っていたところ、検量線の作成方法により回収率や精度の評価が異なることがわかった。今回、検量線の作成方法に着目し、GC/MS を用いた食品中残留農薬分析における各種検量線の比較検討を行ったので報告する。

### 検量線について

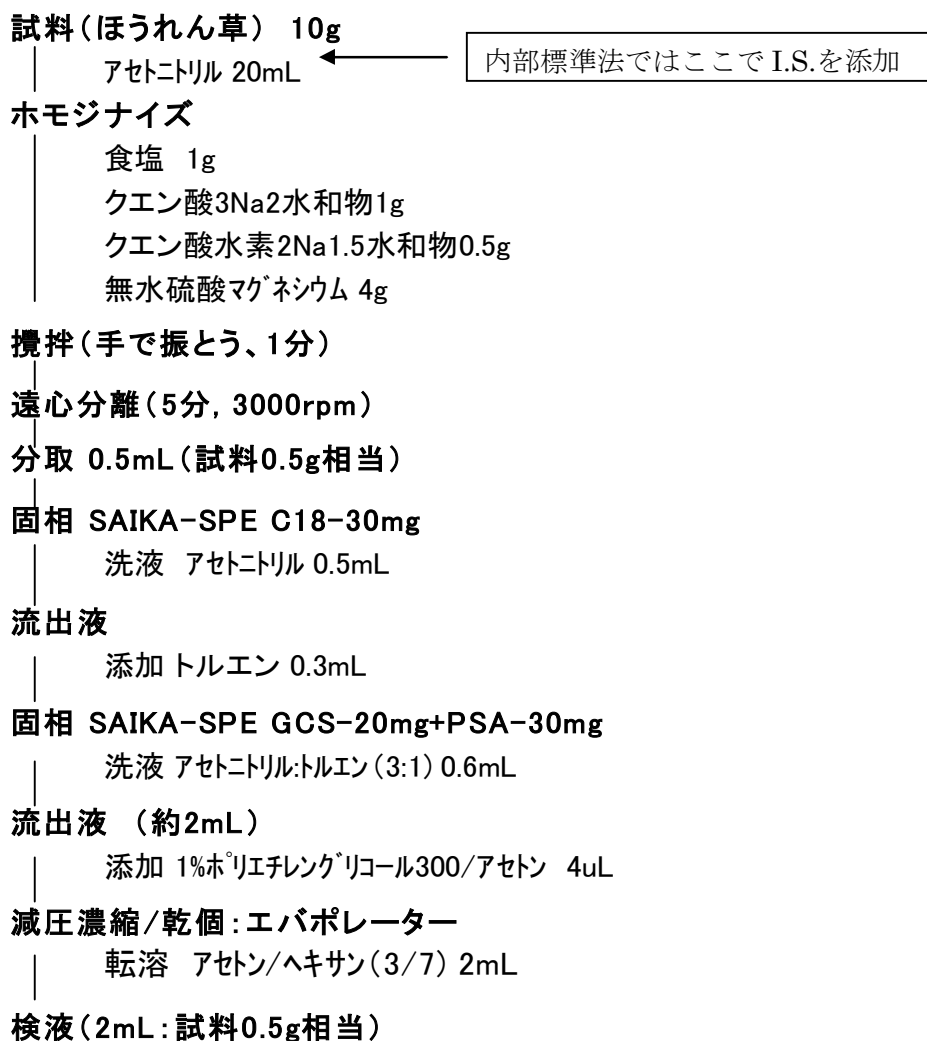
検量線の種類としては絶対検量線法、内部標準法、標準添加法が挙げられる。最近ではマトリックス検量線法や PEG 共注入検量線法も報告されている。内部標準法は測定対象物質と内標準物質との物性の違いなどからその補正に関して多成分一斉分析においては問題視されることもあるが、前処理工程や測定による影響を除去する手段として採用されている。標準添加法による測定は、1)すべての検体について2回ずつ注入しなければならない、2)添加した標準溶液の濃度よりも極端に高い濃度の農薬を検出した場合に誤差が大きくなり、正確な試料濃度が求められない、などの理由により難しい面もあるが、マトリックスの影響を除去して測定する手段としては有用であると報告されている。現在、ヨーロッパで残留農薬分析として広く用いられている QuEChERS 法では内部標準法と標準添加法を合わせて取り入れている。マトリックス検量線法は前処理後の検液（マトリックス）に標準液を添加して検量線を作成するため、マトリックスの影響を除去して測定することが可能となるが、標準液を添加する検液に測定対象農薬を含んでいないことが大前提となり、検出された時の定量方法を決めておかなければならない。尚、妥当性評価ガイドラインでは「分析対象である農薬等を含まない試料（ブランク試料）について操作を行い、定量を妨害するピークがないことを確認する。」「サロゲート（回収率の変動の補正を目的として、分析試料に添加する安定同位体標識標準品）を使用した場合には、サロゲートの回収率が 40%以上であることを確認する。」とある。PEG（ポリエチレングリコール）共注入検量線法は標準液にマトリックスのかわりに PEG を添加して検量線を作成する手法である。

## 2. 実験

### 2-1. 試薬

農薬混合標準液 22 (50 種)、農薬混合標準液 34 (46 種) : 関東化学  
ポリエチレングリコール 300 : 関東化学

### 2-2. 前処理方法



#### Scheme 1. 試験溶液の調製法

### 2-3. 装置条件

GC注入口	LVI-S200(アイスティサイエンス)、胃袋型インサート
注入口温度	70°C(0.3min)-120°C/min-240°C (0.5min) -50°C/min-290°C (30min)
GC/MS	Q1000GC(日本電子)
プレカラム	0.25mm i.d. × 0.5m
分離カラム	ENV-5ms 0.25mm i.d. × 30m, df 0.25μm
ポストカラム	0.25mm i.d. × 0.5m
カラム温度	60°C(4min)-20°C/min-160°C-5°C/min-220°C-3°C/min-235°C-7°C/min-310°C(8min)
キャリアーガス	コンスタントフロー: 1ml/min
スプリット流量	150ml/min(0.25min)-0ml/min(4min)-30ml/min
注入量	大量注入法 25μl

## 2-4. 実験方法

添加回収試験 (ほうれん草 : 添加濃度 0.01ppm) を行い、同一の測定結果のピーク面積から次の各検量線を用いて定量し、それぞれの回収率を求めた。

### A. 絶対検量線法

### B. 絶対検量線法 (PEG 有)

: A で作成した検量線用標準溶液に PEG300 を 20ug/mL になるように添加し、再度検量線を作成。

### C. 内部標準法 (PEG 有)

: Benfuresate を内部標準物質 (I.S.) として相対検量線を作成。

### D. マトリックス絶対検量線 (PEG 有)

: 前処理後の検液に混合標準液を添加してマトリックス標準液を作成し、検量線を作成。

### E. マトリックス内部標準法 (PEG 有)

: Benfuresate を内部標準物質 (I.S.) として相対検量線を作成。

## 3. 結果と考察

PEG 共注入の有無によるクロマトグラム比較を Fig.1 に示す。多くの農薬において Fig.1 の「Chlorfenvinphos」が示すように B 標準溶液 (PEG 共注入標準溶液) や D マトリックス標準液と比べると A 標準溶液 (PEG 無) の標準溶液のピークが小さい。そのため A 標準溶液で検量線を作成すると、異常回収率が多くなることが予想される。

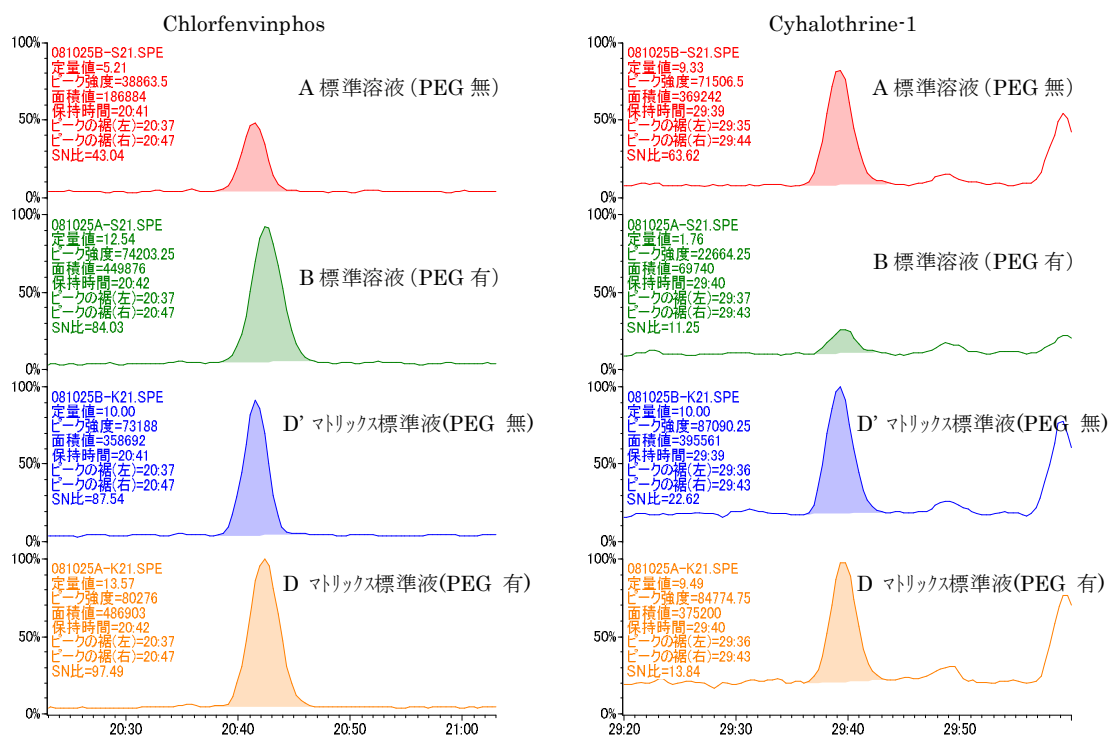


Fig.1 PEG 共注入によるクロマトグラム比較 (試料中換算濃度 : 0.01ppm)

Table 1 各検量線を用いた添加回収試験 (n=5) の結果と回収率分布

溶液 PEG添加の有無 算出方法 添加濃度 単位	標準液	標準液		標準液		マトリックス		マトリックス	
	PEG無	PEG有		PEG有		PEG有		PEG有	
	絶対検量線	絶対検量線		内部標準法		絶対検量線		内部標準法	
	0.01 ppm	0.01 ppm		0.01 ppm		0.01 ppm		0.01 ppm	
	回収率(%)	回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)
Methamidophos	175.5	113.4	1.9	97.8	2.1	87.4	1.9	83.3	2.1
Dichlorvos	105.5	83.7	10.9	72.2	11.9	70.2	10.9	66.8	11.9
EPTC	56.7	67.6	18.8	58.3	18.8	62.9	18.8	59.9	18.8
Butylate	69.8	87.0	12.2	75.0	12.0	78.0	12.2	74.3	12.0
Acephate	258.3	157.7	7.1	136.0	7.3	80.4	7.1	76.6	7.3
Isoprocarbe	153.7	134.6	2.8	116.1	2.8	99.8	2.8	95.0	2.8
Fenobucarb	155.3	148.2	2.6	127.7	1.4	99.9	2.6	95.1	1.4
Ethoprophos	141.7	129.9	2.1	112.0	1.2	97.1	2.1	92.4	1.2
Chlorpropham	150.3	135.5	3.7	116.8	2.2	102.9	3.7	97.9	2.2
Bendiocarb	226.6	524.2	17.5	452.6	18.2	63.8	17.5	60.8	18.2
Cadusafos	128.8	122.7	2.2	105.8	3.0	94.7	2.2	90.2	3.0
BHC-alpha	131.1	136.5	2.3	117.7	2.2	97.4	2.3	92.7	2.2
Thiometon	46.7	54.6	21.5	47.3	23.4	46.1	21.5	44.0	23.4
Terbufos	118.9	119.3	1.6	102.9	1.4	95.0	1.6	90.4	1.4
BHC-beta	123.9	110.8	3.5	95.5	2.2	102.9	3.5	97.9	2.2
Dimethipin	134.1	116.2	2.3	100.2	2.9	93.3	2.3	88.9	2.9
Diazinon	130.1	114.7	1.8	98.9	1.6	102.6	1.8	97.6	1.6
BHC-gamma	124.4	127.0	4.4	109.5	4.8	97.4	4.4	92.7	4.8
Tefluthrine	120.1	111.4	2.4	96.0	0.5	101.6	2.4	96.7	0.5
Etrimphos	139.2	113.3	2.1	97.7	1.3	103.7	2.1	98.7	1.3
Pirimicarb	126.8	112.9	2.4	97.4	0.9	100.1	2.4	95.3	0.9
BHC-delta	138.4	1240.5	16.8	1071.1	17.6	66.2	16.8	63.1	17.6
Ethiofencarb	6.7	64.6	43.3	56.1	44.7	7.2	43.3	6.9	44.7
Benfuresate	127.9	116.0	2.7	I.S.		105.1	2.7	I.S.	
Tolclofos-methyl	135.1	121.0	2.0	104.3	1.1	101.9	2.0	97.0	1.1
Methyl-parathion	250.9	166.1	3.5	143.2	3.9	105.4	3.5	100.3	3.9
Carbaril	375.7	2516.1	29.4	2172.9	29.8	44.6	29.4	42.6	29.8
Pirimiphos-methyl	166.9	144.5	3.4	124.6	1.0	107.8	3.4	102.6	1.0
Fenitrothion	221.1	164.2	2.9	141.6	3.5	104.1	2.9	99.1	3.5
Methiocarb	272.1	684.6	22.6	591.2	23.2	55.4	22.6	52.8	23.2
Malathion	213.8	171.6	2.9	148.0	3.0	100.8	2.9	95.9	3.0
Esprocarb	136.1	131.7	2.1	113.6	1.2	103.6	2.1	98.6	1.2
Dichlofluanid	4.1	25.0	23.1	21.6	23.5	3.3	23.1	3.1	23.5
Metolachlor	145.8	132.0	2.6	113.8	1.3	106.3	2.6	101.2	1.3
Chlorpyrifos	156.7	134.8	3.4	116.2	2.6	106.0	3.4	100.9	2.6
Diethofencarb	177.2	136.3	3.6	117.5	1.4	109.9	3.6	104.5	1.4
Dimethylvinphos	287.5	150.1	3.6	129.5	4.3	98.2	3.6	93.6	4.3
Thiobencarb	140.3	127.0	1.9	109.5	1.3	104.6	1.9	99.6	1.3
Fenthion	128.8	115.5	3.0	99.7	4.3	94.1	3.0	89.7	4.3
Isofenphos-oxon	227.9	143.6	2.0	123.9	2.5	99.9	2.0	95.2	2.5
Parathion	170.4	143.3	5.0	123.5	4.6	105.6	5.0	100.5	4.6
Fosthiazate-1	336.4	146.0	7.0	125.8	6.2	95.8	7.0	91.2	6.2
Fosthiazate-2	336.3	171.7	5.9	148.1	6.5	101.3	5.9	96.4	6.5
Chlorfenvinphos-E	224.8	135.6	7.4	116.8	5.9	104.6	7.4	99.5	5.9
Pendimethalin	167.3	148.9	3.1	128.3	1.1	101.7	3.1	96.8	1.1
Isofenphos	141.9	126.0	4.9	108.6	2.7	105.9	4.9	100.7	2.7
Chlorfenvinphos-Z	220.2	114.5	2.5	98.7	2.5	106.5	2.5	101.4	2.5
Pyrifenoxy-Z	152.7	106.3	2.5	91.6	0.8	101.2	2.5	96.4	0.8
Phenthoate	206.7	105.9	4.7	91.3	3.7	156.0	4.7	148.5	3.7
Quinalphos	153.6	112.3	2.3	96.8	1.0	104.7	2.3	99.7	1.0
Triadimenol-1	119.0	147.7	7.7	127.2	5.3	139.9	7.7	133.0	5.3
Captan	N.D.	N.D.		N.D.		N.D.		N.D.	
Triadimenol-2	164.4	124.3	3.6	107.2	2.7	108.8	3.6	103.6	2.7
Pyrifenoxy-E	183.3	125.6	2.8	108.3	1.7	108.5	2.8	103.3	1.7
Paclbutrazol	155.5	109.3	2.1	94.2	0.6	113.2	2.1	107.8	0.6
Quinomethionate	23.2	14.2	61.9	12.3	62.4	3.4	61.9	3.3	62.4
Flutolanil	167.0	134.3	3.0	115.7	1.0	107.3	3.0	102.1	1.0
Pretilachlor	175.0	140.2	2.5	120.9	2.4	107.2	2.5	102.1	2.4
Prothiofos	163.6	135.7	2.4	117.0	2.2	101.2	2.4	96.4	2.2
DDE-p,p'	125.4	113.6	1.9	98.0	1.8	99.2	1.9	94.5	1.8

第31回農薬残留分析研究会  
2008年11月25-26日(宮崎市)

溶液 PEG添加の有無 算出方法 添加濃度 単位	標準液	標準液		標準液		マトリックス		マトリックス	
	PEG無	PEG有		PEG有		PEG有		PEG有	
	絶対検量線	絶対検量線		内部標準法		絶対検量線		内部標準法	
	0.01 ppm	0.01 ppm		0.01 ppm		0.01 ppm		0.01 ppm	
	回収率(%)	回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)
Flusilazole	150.5	129.3	2.6	111.5	1.0	108.5	2.6	103.3	1.0
Myclobutanil	146.8	130.6	1.5	112.6	1.9	110.0	1.5	104.8	1.9
Tricyclazole	N.D.	168.4	3.1	145.1	1.5	96.0	3.1	91.4	1.5
Cyproconazole-1	163.3	137.2	2.1	118.4	3.7	108.3	2.1	103.1	3.7
Cyproconazole-2	164.0	136.9	2.9	118.1	3.2	105.2	2.9	100.2	3.2
Chlorobenzilate	163.7	144.0	1.9	124.2	1.4	108.1	1.9	102.9	1.4
Fensulfothion	251.8	161.9	3.5	139.6	2.4	111.8	3.5	106.4	2.4
DDD-p,p'+DDT-o,p'	153.7	152.9	1.7	131.9	1.7	103.3	1.7	98.4	1.7
Mepronil	182.3	118.9	4.4	102.5	4.0	112.4	4.4	107.0	4.0
Propiconazole-1	150.8	112.5	2.3	97.0	1.7	103.6	2.3	98.6	1.7
Edifenphos	2318.8	235.2	18.9	203.1	19.6	65.5	18.9	62.4	19.6
Propiconazole-2	160.4	112.6	2.2	97.1	3.3	100.3	2.2	95.5	3.3
Lenacil	182.1	112.4	1.8	96.9	1.4	106.7	1.8	101.6	1.4
Thenylchlor	190.6	125.0	1.6	107.8	1.5	107.9	1.6	102.7	1.5
Tebuconazole	158.9	118.8	2.9	102.5	2.7	109.3	2.9	104.1	2.7
Captafol	N.D.	N.D.		N.D.		N.D.		N.D.	
Iprodione	174.7	N.D.		N.D.		N.D.		N.D.	
EPN	209.7	148.0	3.8	127.6	3.4	100.5	3.8	95.6	3.4
Acetamidpride	N.D.	N.D.		81.9	137.4	N.D.		N.D.	
Tebufenpyrad	149.3	128.8	1.4	111.1	1.8	111.8	1.4	106.4	1.8
Phosalone	188.9	146.2	13.2	126.1	13.7	74.3	13.2	70.7	13.7
Cyhalothrin-1	112.8	236.5	15.9	204.1	16.4	73.2	15.9	69.8	16.4
Pyriproxyfen	154.9	123.8	2.1	106.7	1.9	105.6	2.1	100.5	1.9
Cyhalothrin-2	133.7	212.8	13.6	183.6	14.3	72.8	13.6	69.4	14.3
Mefenacet	217.7	132.9	2.4	114.6	2.4	105.9	2.4	100.8	2.4
Acrinathrin	53.4	355.6	24.3	306.9	24.7	47.5	24.3	45.3	24.7
Fenarimol	137.8	102.3	4.2	88.2	3.8	110.5	4.2	105.2	3.8
Pyraclufos	400.1	126.2	11.2	108.9	11.9	77.7	11.2	74.0	11.9
Bitertanol-1	214.8	133.4	1.9	115.1	1.0	109.6	1.9	104.3	1.0
Permethrin-cis	173.4	132.0	1.5	113.8	1.4	104.6	1.5	99.6	1.4
Bitertanol-2	196.0	118.9	2.0	102.5	2.1	109.4	2.0	104.1	2.1
Permethrin-trans	155.2	120.0	1.7	103.5	1.2	103.6	1.7	98.6	1.2
Pyridaben	163.6	122.4	2.2	105.5	0.8	106.4	2.2	101.3	0.8
Cyfluthrin-1	201.8	235.3	18.4	203.5	19.9	90.9	18.4	86.8	19.9
Cyfluthrin-2	78.5	151.2	26.6	130.7	27.2	56.8	26.6	54.2	27.2
Cyfluthrin-3	112.4	186.1	31.4	160.9	32.2	65.5	31.4	62.5	32.2
Cyfluthrin-4	122.4	190.5	19.5	164.1	19.1	59.6	19.5	56.7	19.1
Cypermethrin-1	115.0	158.7	18.0	136.8	17.7	64.5	18.0	61.3	17.7
Halfenprox	152.6	118.4	3.1	102.1	1.9	97.5	3.1	92.8	1.9
Flucythrinate-1	126.9	210.8	7.8	181.9	8.8	85.3	7.8	81.2	8.8
Cypermethrin-2	127.2	*		*		*		*	
Cypermethrin-3	118.6	50.6	28.5	43.6	28.5	67.3	28.5	64.1	28.5
Cypermethrin-4	102.3	163.8	25.2	141.5	25.9	48.2	25.2	46.0	25.9
Flucythrinate-2	128.0	204.9	8.6	176.8	9.4	82.2	8.6	78.3	9.4
Silaflofen	125.4	109.7	1.8	94.6	1.8	98.8	1.8	94.0	1.8
Pyrimidifen	80.3	59.3	4.3	51.1	3.2	59.2	4.3	56.3	3.2
Fenvalerate-1	90.5	154.9	12.1	133.7	12.7	82.2	12.1	78.3	12.7
Fluvalinate-1	45.9	226.9	41.9	195.9	42.1	28.9	41.9	27.5	42.1
Fluvalinate-2	40.7	269.2	44.0	232.3	44.1	28.0	44.0	26.6	44.1
Fenvalerate-2	130.5	185.4	12.8	159.8	12.8	80.7	12.8	76.9	12.8
Difenoconazole-1	152.4	112.3	1.3	96.8	2.8	104.9	1.3	99.9	2.8
Difenoconazole-2	164.4	118.3	3.7	102.0	2.8	110.5	3.7	105.2	2.8
Deltamethrin	84.9	57.5	22.5	49.6	23.4	71.3	22.5	68.0	23.4
Imibenconazole	184.2	101.9	8.3	87.8	7.5	85.3	8.3	81.2	7.5
回収率分布(単位:成分)									
50%未満	10	7		9		14		14	
50-70%	3	6		3		11		15	
70-120%	12	31		62		87		83	
120-150%	29	41		24		1		2	
150%以上	60	29		16		1		0	
合計	114	114		114		114		114	

しかし、Cyhalothrine-1 が示すように PEG を共注入することで逆にピークが減少する農薬がいくつかあるので注意が必要である。

各検量線を用いた添加回収試験の結果を Table 1 に示す。標準液-絶対検量線の PEG 無と PEG 有を比較すると PEG 有の方が異常回収率（120%以上）の分布が少ないことがわかった。また、標準液-絶対検量線法と標準液-内部標準法では内部標準法の方が異常回収率の分布がさらに少ないことがわかった。PEG 有標準液とマトリックスではマトリックス検量線の方が良好な結果を得ることができた。マトリックス検量線において、絶対検量線と内部標準法の違いはあまり見られなかったが、分取などの前処理での操作や機器での感度変動を考慮すると、内部標準法を取り入れておく方が望ましいと考えられる。

今回の結果から、妥当性評価を行う場合、同じ分析手法でも検量線の種類が異なるとその評価まで大きく異なることがわかった。また、今回比較検討を行った検量線ではマトリックス検量線が最も良い評価を得ることがわかった。

#### 4. 課題

マトリックス検量線法はマトリックス標準液に測定対象農薬を含んでいないことが大前提となり、実際の定量分析で検出された時の定量方法が問題となる。標準添加法で定量することも考えられるが、それではマトリックス検量線法での妥当性評価を行った意味が薄れてしまいかねない。または、農薬を含んでいない測定対象検体と同じ種類の検体の抽出液でマトリックス検量線を作成することも考えられるが、その抽出液を常に準備しておくなければならない。

これらのことを考えると、PEG 共注入検量線法のように農薬を含んでおらず、どのような測定対象物にも対応できる PEG 共注入検量線も有効のように思われる。すなわち、この PEG 共注入を改良して、PEG よりも効果があり、農薬に影響を与えない PEG に代わる添加物質を探求することが必要なのかもしれない。



# GC/MSを用いた食品中残留農薬分析 における検量線に関する検討

株式会社アイスティサイエンス

○佐々野僚一 谷澤春奈

AiSTI SCIENCE

## 目的

厚生労働省が提示している「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に従い、比較検討している分析手法の妥当性評価を行っていたところ、検量線の作成方法により回収率や精度の評価が異なることがわかった。

今回、検量線の作成方法に着目し、GC/MSを用いた食品中残留農薬分析における各種検量線の比較検討を行ったので報告する。

- 同じ前処理や測定でも  
「検量線の作成方法」により回収率や精度の評価が異なる !?



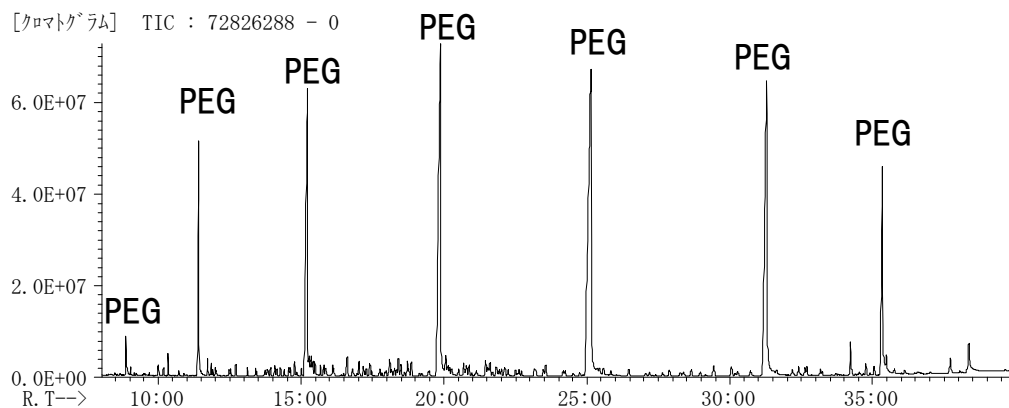
# 検量線の種類

- 絶対検量線法
- 内部標準法
  - ✓ 測定対象物質と内標準物質との物性の違いなどからその補正に関して問題視されることもあるが、前処理工程や測定による影響を除去する手段として採用されている
- 標準添加法
  - ✓ 1)すべての検体について2回ずつ注入しなければならない、2)添加した標準溶液の濃度よりも極端に高い濃度の農薬を検出した場合に誤差が大きくなり、正確な試料濃度が求められない、などの理由により難しい面もあるが、マトリックスの影響を除去して測定する手段としては有用であると報告されている
- マトリックス検量線法
  - ✓ 前処理後の検液（マトリックス）に標準液を添加して検量線を作成するため、マトリックスの影響を除去して測定することが可能となるが、標準液を添加する検液に測定対象農薬を含んでいないことが大前提となる

# 検量線の種類

## ➤ PEG共注入検量線法

- ✓ 標準液にマトリックスのかわりにPEG（ポリエチレングリコール）を添加して検量線を作成する手法。マトリックス検量線の欠点である残留農薬の影響を受けない。



## 効果

- ・マトリックスによる異常回収率の低減
- ・感度向上
- ・ピーク形状の改善
- ・カラム劣化の防止
- ・検量線の直線性の向上

### ☆PEG300を使用

- ・ほとんどの農薬のリテンションタイムをカバーしている。
- ・フラグメントイオンは主に100以下しか持たないため、農薬のマスペクトルと重なりにくい。

### ☆標準溶液だけでなく最終試験溶液にもPEG共注入

- ・マトリックスによる活性点の増大をPEGのコーティングにより防ぐことができる。

# 実験方法

添加回収試験(ほうれん草:添加濃度 0.01ppm)を行い、同一の測定結果のピーク面積から次の各検量線を用いて定量し、それぞれの回収率を求めた。

- A. 絶対検量線法
- B. 絶対検量線法 (PEG有)
  - : Aで作成した検量線用標準溶液にPEG300を20ug/mLになるように添加し、再度検量線を作成。
- C. 内部標準法 (PEG有)
  - : Benfuresateを内部標準物質 (I.S.) として相対検量線を作成。
- D. マトリックス絶対検量線 (PEG有)
  - : 前処理後の検液に混合標準液を添加してマトリックス標準液を作成し、検量線を作成。
- E. マトリックス内部標準法 (PEG有)
  - : Benfuresateを内部標準物質 (I.S.) として相対検量線を作成。

# 実験方法

添加回収試験(ほうれん草: 添加濃度 0.01ppm)を行い、同一の測定結果のピーク面積から次の各検量線を用いて定量し、それぞれの回収率を求めた。

## ポジティブリスト制 GC/MS対象農薬

製品名	農薬数	濃度	
農薬混合標準液 22	50種	10ppm	(アセフェート、 メタミドホスは50ppm)
農薬混合標準液 34	46種	10ppm	
	合計	281種	

\*いずれも関東化学社製

# 本法前処理フロー

## 抽出

試料 10g

— アセトニトリル 10 mL

ホモジナイズ

— NaCl(食塩) 1g

— クエン酸3Na2水和物 1g

— クエン酸水素2Na1.5水和物 0.5g

— MgSO<sub>4</sub>(無水硫酸マグネシウム)4g

撈拌(手で振とう 1分間)

遠心分離(3000rpm 5分間)

## 精製

アセトニトリル層分取 0.5mL (試料 0.5 g 相当)

C18-50mg

— 洗液 アセトニトリル 0.5mL

流出液

— 添加 トルエン 0.3mL

GCS-20mg/PSA-30mg

— 洗液 トルエン・アセトニトリル(1/3) 0.6mL

減圧濃縮/乾固

— 転溶 アセトン・ヘキサン(3/7) 2 mL

— 添加 フェナントレン-d+1%PEG300 4uL

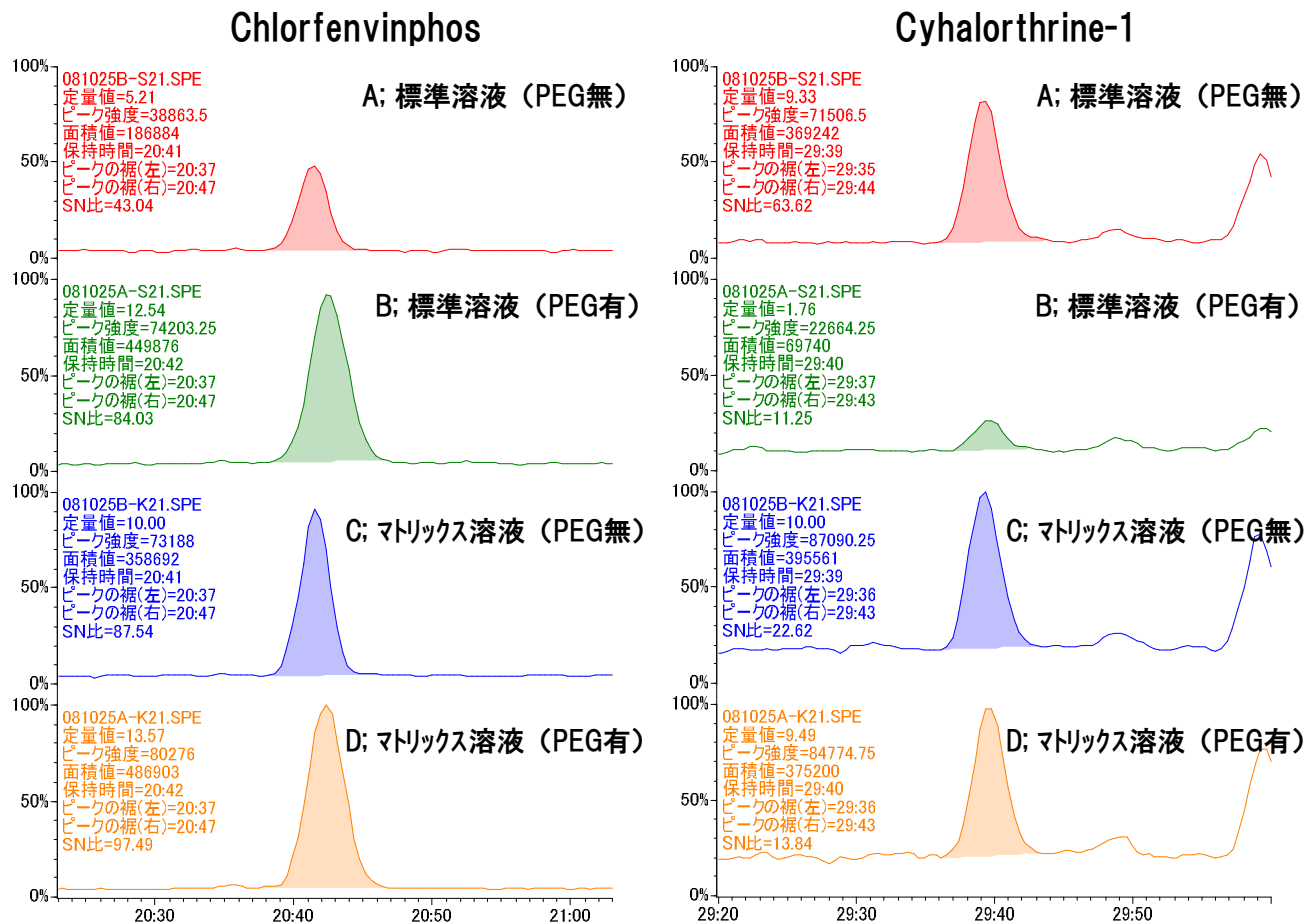
定容(2 mL)

GC/MS(大量注入25uL注入)

## GC/MS条件

PTV Injector	LVI-S200(AiSTI Science); Stomach Insert
Injector Temp.	90°C-120°C/min-240°C(1min)-50°C/min-270°C(30min)
Auto Samplor	Agilent 7683; 50 $\mu$ L Syringe
Injection Volume	25 $\mu$ L
GC/MS	JMS-Q1000GC(JEOL)
Pre-column	Deactivated silica capillary tube, 0.25mm $\times$ 0.3m
Column	ENV-5MS, 0.25mm i.d. $\times$ 30m, df: 0.25 $\mu$ m
Column Oven Temp.	60°C(4min)-20°C/min-160°C-5°C/min-220°C-3°C/min-235°C-7°C/min-310°C(8min)
Inlet Mode	Solvent Vent Mode
Vent Flow	150 mL/min
Vent Press	70 kPa
Vent End Time	0.42 min
Purge Flow	50 mL/min
Purge Time	4 min
Gas Saver Flow	20 mL/min
Gas Saver Time	6 min
Detector Temp.	280°C
MS Method	SCAN; 50 - 450 m/z, SIM

# PEG共注入の評価



Chlorfenvinphosが示すように多くの農薬においてB標準溶液(PEG共注入標準溶液)やDマトリックス標準液と比べるとA標準溶液(PEG無)の標準溶液のピークが小さい。そのためA標準溶液で検量線を作成すると、異常回収率が多くなることが予想される。しかし、Cyhalothrine-1が示すようにPEGを共注入することで逆にピークが減少する農薬がいくつかあるので注意が必要である。

Fig. PEG共注入有無によるクロマトグラム比較 (バイアル中濃度を統一)

## 添加回収試験(回収率分布)

検量線種類 溶液 PEG添加の有無 算出方法	検量線 A 標準液 PEG無 絶対検量線	検量線 B 標準液 PEG有 絶対検量線	検量線 C 標準液 PEG有 内部標準法	検量線 D マトリックス PEG有 絶対検量線	検量線 E マトリックス PEG有 内部標準法
50%未満	10	7	9	14	14
50-70%	3	6	3	11	15
70-120%	12	31	62	87	83
120-150%	29	41	24	1	2
150%以上	60	29	16	1	0
合計	114	114	114	114	114

試料;ほうれん草、 添加濃度 ;0.01ppm、 添加農薬成分数;114成分



## 結果と考察

標準液-絶対検量線のPEG無とPEG有を比較するとPEG有の方が異常回収率(120%以上)の分布が少ないことがわかった。また、標準液-絶対検量線法と標準液-内部標準法では内部標準法の方が異常回収率の分布がさらに少ないことがわかった。PEG有標準液とマトリックスではマトリックス検量線の方が良好な結果を得ることができた。マトリックス検量線において、絶対検量線と内部標準法の違いはあまり見られなかったが、分取などの前処理での操作や機器での感度変動を考慮すると、内部標準法を取り入れておく方が望ましいと考えられる。

今回の結果から、妥当性評価を行う場合、同じ分析手法でも検量線の種類が異なるとその評価まで大きく異なることがわかった。また、今回比較検討を行った検量線ではマトリックス検量線が最も良い評価を得ることがわかった。

## 今後の課題

しかし、マトリックス検量線は本当に最適なのだろうか？

### □ マトリックス検量線の問題点

マトリックス検量線法はマトリックス標準液に測定対象農薬を含んでいないことが大前提となり、実際の定量分析で検出された時の定量方法が問題となる。

- 標準添加法で定量
  - ✓ マトリックス検量線法での妥当性評価を行った意味が薄れてしまいかねない。
- 農薬を含んでいない測定対象検体と同じ種類の検体の抽出液でマトリックス検量線を作成
  - ✓ その抽出液を常に準備しておかなければならない。



### □ 今後の課題

極性PEG共注入検量線法のように農薬を含んでおらず、どのような測定対象物にも対応できるPEG共注入検量線も有効のように思われる。すなわち、このPEG共注入を改良して、PEGよりも効果があり、農薬に影響を与えないPEGに代わる添加物質を探求することが必要なのかもしれない。

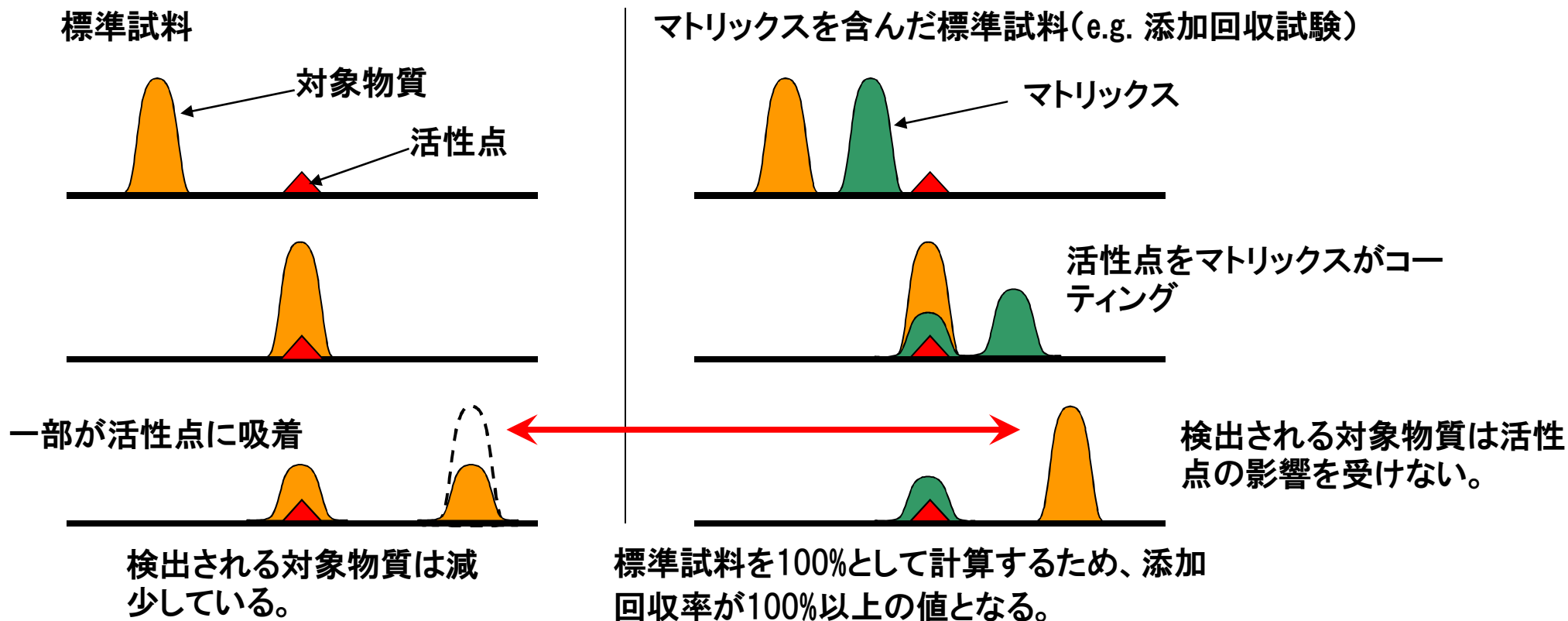
## 今後の課題

**検量線の役割とは？**

**真の値はどこに？**

## 異常回収率の原因は？

この原因として注入口やカラムやイオン化室(MSの場合)などの活性点が異常回収率を引き起こしていると考えられる。



溶液 PEG添加の有無 算出方法 添加濃度 単位	標準液	標準液	標準液		標準液		マトリックス		マトリックス	
	PEG無	PEG無	PEG有		PEG有		PEG有		PEG有	
	絶対検量線	絶対検量線	絶対検量線		内部標準法		絶対検量線		内部標準法	
	0.1 ppm 回収率(%)	0.01 ppm 回収率(%)	0.01 ppm 回収率(%) RSD(%)		0.01 ppm 回収率(%) RSD(%)		0.01 ppm 回収率(%) RSD(%)		0.01 ppm 回収率(%) RSD(%)	
Methamidophos	104.6	175.5	113.4	1.9	97.8	2.1	87.4	1.9	83.3	2.1
Dichlorvos	76.8	105.5	83.7	10.9	72.2	11.9	70.2	10.9	66.8	11.9
EPTC	51.2	56.7	67.6	18.8	58.3	18.8	62.9	18.8	59.9	18.8
Butylate	63.7	69.8	87.0	12.2	75.0	12.0	78.0	12.2	74.3	12.0
Acephate	117.6	258.3	157.7	7.1	136.0	7.3	80.4	7.1	76.6	7.3
Isoprocarbe	93.2	153.7	134.6	2.8	116.1	2.8	99.8	2.8	95.0	2.8
Fenobucarb	92.1	155.3	148.2	2.6	127.7	1.4	99.9	2.6	95.1	1.4
Ethoprophos	89.1	141.7	129.9	2.1	112.0	1.2	97.1	2.1	92.4	1.2
Chlorpropham	92.8	150.3	135.5	3.7	116.8	2.2	102.9	3.7	97.9	2.2
Bendiocarb	108.1	226.6	524.2	17.5	452.6	18.2	63.8	17.5	60.8	18.2
Cadusafos	89.4	128.8	122.7	2.2	105.8	3.0	94.7	2.2	90.2	3.0
BHC-alpha	84.8	131.1	136.5	2.3	117.7	2.2	97.4	2.3	92.7	2.2
Thiometon	30.4	46.7	54.6	21.5	47.3	23.4	46.1	21.5	44.0	23.4
Terbufos	76.6	118.9	119.3	1.6	102.9	1.4	95.0	1.6	90.4	1.4
BHC-beta	91.0	123.9	110.8	3.5	95.5	2.2	102.9	3.5	97.9	2.2
Dimethipin	88.4	134.1	116.2	2.3	100.2	2.9	93.3	2.3	88.9	2.9
Diazinon	89.1	130.1	114.7	1.8	98.9	1.6	102.6	1.8	97.6	1.6
BHC-gamma	80.6	124.4	127.0	4.4	109.5	4.8	97.4	4.4	92.7	4.8
Tefluthrine	86.3	120.1	111.4	2.4	96.0	0.5	101.6	2.4	96.7	0.5
Etrimphos	89.2	139.2	113.3	2.1	97.7	1.3	103.7	2.1	98.7	1.3
Pirimicarb	87.3	126.8	112.9	2.4	97.4	0.9	100.1	2.4	95.3	0.9
BHC-delta	85.3	138.4	1240.5	16.8	1071.1	17.6	66.2	16.8	63.1	17.6
Ethiofencarb	2.1	6.7	64.6	43.3	56.1	44.7	7.2	43.3	6.9	44.7
Benfuresate	87.9	127.9	116.0	2.7	I.S.		105.1	2.7	I.S.	
Tolclofos-methyl	87.4	135.1	121.0	2.0	104.3	1.1	101.9	2.0	97.0	1.1
Methyl-parathion	101.6	250.9	166.1	3.5	143.2	3.9	105.4	3.5	100.3	3.9
Carbaril	114.4	375.7	2516.1	29.4	2172.9	29.8	44.6	29.4	42.6	29.8
Pirimiphos-methyl	97.4	166.9	144.5	3.4	124.6	1.0	107.8	3.4	102.6	1.0
Fenitrothion	107.3	221.1	164.2	2.9	141.6	3.5	104.1	2.9	99.1	3.5
Methiocarb	113.2	272.1	684.6	22.6	591.2	23.2	55.4	22.6	52.8	23.2
Malathion	101.8	213.8	171.6	2.9	148.0	3.0	100.8	2.9	95.9	3.0
Esprocarb	90.6	136.1	131.7	2.1	113.6	1.2	103.6	2.1	98.6	1.2
Dichlofluanid	0.0	4.1	25.0	23.1	21.6	23.5	3.3	23.1	3.1	23.5
Metolachlor	94.4	145.8	132.0	2.6	113.8	1.3	106.3	2.6	101.2	1.3
Chlorpyrifos	89.3	156.7	134.8	3.4	116.2	2.6	106.0	3.4	100.9	2.6
Diethofencarb	96.1	177.2	136.3	3.6	117.5	1.4	109.9	3.6	104.5	1.4
Dimethylvinphos	128.9	287.5	150.1	3.6	129.5	4.3	98.2	3.6	93.6	4.3
Thiobencarb	88.3	140.3	127.0	1.9	109.5	1.3	104.6	1.9	99.6	1.3
Fenthion	76.7	128.8	115.5	3.0	99.7	4.3	94.1	3.0	89.7	4.3
Isofenphos-oxon	120.7	227.9	143.6	2.0	123.9	2.5	99.9	2.0	95.2	2.5
Parathion	94.0	170.4	143.3	5.0	123.5	4.6	105.6	5.0	100.5	4.6
Fosthiazate-1	138.6	336.4	146.0	7.0	125.8	6.2	95.8	7.0	91.2	6.2
Fosthiazate-2	163.4	336.3	171.7	5.9	148.1	6.5	101.3	5.9	96.4	6.5
Chlorfenvinphos-E	106.9	224.8	135.6	7.4	116.8	5.9	104.6	7.4	99.5	5.9
Pendimethalin	96.3	167.3	148.9	3.1	128.3	1.1	101.7	3.1	96.8	1.1
Isofenphos	91.4	141.9	126.0	4.9	108.6	2.7	105.9	4.9	100.7	2.7
Chlorfenvinphos-Z	108.7	220.2	114.5	2.5	98.7	2.5	106.5	2.5	101.4	2.5
PyrifenoX-Z	89.2	152.7	106.3	2.5	91.6	0.8	101.2	2.5	96.4	0.8
Phenthoate	85.8	206.7	105.9	4.7	91.3	3.7	156.0	4.7	148.5	3.7
Quinalphos	88.6	153.6	112.3	2.3	96.8	1.0	104.7	2.3	99.7	1.0
Triadimenol-1	93.6	119.0	147.7	7.7	127.2	5.3	139.9	7.7	133.0	5.3
Captan	N.D.	N.D.	N.D.		N.D.		N.D.		N.D.	
Triadimenol-2	97.9	164.4	124.3	3.6	107.2	2.7	108.8	3.6	103.6	2.7
PyrifenoX-E	91.9	183.3	125.6	2.8	108.3	1.7	108.5	2.8	103.3	1.7
Paclbutrazol	94.5	155.5	109.3	2.1	94.2	0.6	113.2	2.1	107.8	0.6
Quinomethionate	1.8	23.2	14.2	61.9	12.3	62.4	3.4	61.9	3.3	62.4
Flutolanil	95.8	167.0	134.3	3.0	115.7	1.0	107.3	3.0	102.1	1.0
Pretilachlor	99.3	175.0	140.2	2.5	120.9	2.4	107.2	2.5	102.1	2.4
Prothiofos	92.7	163.6	135.7	2.4	117.0	2.2	101.2	2.4	96.4	2.2
DDE-p,p'	80.5	125.4	113.6	1.9	98.0	1.8	99.2	1.9	94.5	1.8

溶液 PEG添加の有無 算出方法 添加濃度 単位	標準液	標準液	標準液		標準液		マトリックス		マトリックス	
	PEG無	PEG無	PEG有		PEG有		PEG有		PEG有	
	絶対検量線	絶対検量線	絶対検量線		内部標準法		絶対検量線		内部標準法	
	0.1 ppm 回収率(%)	0.01 ppm 回収率(%)	0.01 ppm 回収率(%)	RSD(%)	0.01 ppm 回収率(%)	RSD(%)	0.01 ppm 回収率(%)	RSD(%)	0.01 ppm 回収率(%)	RSD(%)
Flusilazole	90.7	150.5	129.3	2.6	111.5	1.0	108.5	2.6	103.3	1.0
Myclobutanil	91.7	146.8	130.6	1.5	112.6	1.9	110.0	1.5	104.8	1.9
Tricyclazole	115.5	N.D.	168.4	3.1	145.1	1.5	96.0	3.1	91.4	1.5
Cyproconazole-1	97.7	163.3	137.2	2.1	118.4	3.7	108.3	2.1	103.1	3.7
Cyproconazole-2	94.2	164.0	136.9	2.9	118.1	3.2	105.2	2.9	100.2	3.2
Chlorobenzilate	97.3	163.7	144.0	1.9	124.2	1.4	108.1	1.9	102.9	1.4
Fensulfothion	126.0	251.8	161.9	3.5	139.6	2.4	111.8	3.5	106.4	2.4
DDD-p,p'+DDT-o,p'	92.2	153.7	152.9	1.7	131.9	1.7	103.3	1.7	98.4	1.7
Mepronil	105.2	182.3	118.9	4.4	102.5	4.0	112.4	4.4	107.0	4.0
Propiconazole-1	98.6	150.8	112.5	2.3	97.0	1.7	103.6	2.3	98.6	1.7
Edifenphos	212.3	2318.8	235.2	18.9	203.1	19.6	65.5	18.9	62.4	19.6
Propiconazole-2	95.7	160.4	112.6	2.2	97.1	3.3	100.3	2.2	95.5	3.3
Lenacil	107.6	182.1	112.4	1.8	96.9	1.4	106.7	1.8	101.6	1.4
Thenylchlor	114.1	190.6	125.0	1.6	107.8	1.5	107.9	1.6	102.7	1.5
Tebuconazole	96.4	158.9	118.8	2.9	102.5	2.7	109.3	2.9	104.1	2.7
Captafol	N.D.	N.D.	N.D.		N.D.		N.D.		N.D.	
Iprodione	97.9	174.7	N.D.		N.D.		N.D.		N.D.	
EPN	105.0	209.7	148.0	3.8	127.6	3.4	100.5	3.8	95.6	3.4
Acetamipride	184.5	N.D.	N.D.		81.9	137.4	N.D.		N.D.	
Tebufenpyrad	94.8	149.3	128.8	1.4	111.1	1.8	111.8	1.4	106.4	1.8
Phosalone	96.6	188.9	146.2	13.2	126.1	13.7	74.3	13.2	70.7	13.7
Cyhalothrin-1	73.5	112.8	236.5	15.9	204.1	16.4	73.2	15.9	69.8	16.4
Pyriproxyfen	96.0	154.9	123.8	2.1	106.7	1.9	105.6	2.1	100.5	1.9
Cyhalothrin-2	92.8	133.7	212.8	13.6	183.6	14.3	72.8	13.6	69.4	14.3
Mefenacet	119.4	217.7	132.9	2.4	114.6	2.4	105.9	2.4	100.8	2.4
Acrinathrin	42.7	53.4	355.6	24.3	306.9	24.7	47.5	24.3	45.3	24.7
Fenarimol	94.0	137.8	102.3	4.2	88.2	3.8	110.5	4.2	105.2	3.8
Pyraclufos	175.1	400.1	126.2	11.2	108.9	11.9	77.7	11.2	74.0	11.9
Bitertanol-1	127.5	214.8	133.4	1.9	115.1	1.0	109.6	1.9	104.3	1.0
Permethrin-cis	103.8	173.4	132.0	1.5	113.8	1.4	104.6	1.5	99.6	1.4
Bitertanol-2	132.6	196.0	118.9	2.0	102.5	2.1	109.4	2.0	104.1	2.1
Permethrin-trans	103.7	155.2	120.0	1.7	103.5	1.2	103.6	1.7	98.6	1.2
Pyridaben	101.2	163.6	122.4	2.2	105.5	0.8	106.4	2.2	101.3	0.8
Cyfluthrin-1	73.8	201.8	235.3	18.4	203.5	19.9	90.9	18.4	86.8	19.9
Cyfluthrin-2	55.4	78.5	151.2	26.6	130.7	27.2	56.8	26.6	54.2	27.2
Cyfluthrin-3	84.7	112.4	186.1	31.4	160.9	32.2	65.5	31.4	62.5	32.2
Cyfluthrin-4	99.8	122.4	190.5	19.5	164.1	19.1	59.6	19.5	56.7	19.1
Cypermethrin-1	80.1	115.0	158.7	18.0	136.8	17.7	64.5	18.0	61.3	17.7
Halfenprox	93.0	152.6	118.4	3.1	102.1	1.9	97.5	3.1	92.8	1.9
Flucythrinate-1	85.8	126.9	210.8	7.8	181.9	8.8	85.3	7.8	81.2	8.8
Cypermethrin-2	76.7	127.2	*		*		*		*	
Cypermethrin-3	80.0	118.6	50.6	28.5	43.6	28.5	67.3	28.5	64.1	28.5
Cypermethrin-4	73.4	102.3	163.8	25.2	141.5	25.9	48.2	25.2	46.0	25.9
Flucythrinate-2	93.2	128.0	204.9	8.6	176.8	9.4	82.2	8.6	78.3	9.4
Silafluofen	83.7	125.4	109.7	1.8	94.6	1.8	98.8	1.8	94.0	1.8
Pyrimidifen	56.1	80.3	59.3	4.3	51.1	3.2	59.2	4.3	56.3	3.2
Fenvalerate-1	71.2	90.5	154.9	12.1	133.7	12.7	82.2	12.1	78.3	12.7
Fluvalinate-1	41.7	45.9	226.9	41.9	195.9	42.1	28.9	41.9	27.5	42.1
Fluvalinate-2	40.2	40.7	269.2	44.0	232.3	44.1	28.0	44.0	26.6	44.1
Fenvalerate-2	94.2	130.5	185.4	12.8	159.8	12.8	80.7	12.8	76.9	12.8
Difenoconazole-1	106.0	152.4	112.3	1.3	96.8	2.8	104.9	1.3	99.9	2.8
Difenoconazole-2	102.2	164.4	118.3	3.7	102.0	2.8	110.5	3.7	105.2	2.8
Deltamethrin	40.4	84.9	57.5	22.5	49.6	23.4	71.3	22.5	68.0	23.4
Imibenconazole	100.5	184.2	101.9	8.3	87.8	7.5	85.3	8.3	81.2	7.5
回収率分布										
50%未満	10	10	7		9		14		14	
50-70%	4	3	6		3		11		15	
70-120%	90	12	31		62		87		83	
120-150%	6	29	41		24		1		2	
150%以上	4	60	29		16		1		0	
合計	114	114	114		114		114		114	