

## 6 愛玩動物用飼料（ウェット製品）中の有機塩素系農薬のガスクロマトグラフ（ECD）による同時定量法

屋方 光則\*

### Simultaneous Determination of Organochlorine Pesticides in Wet Type Pet Foods by GC-ECD

Mitsunori YAKATA\*

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

An analytical method of determination was developed to determine organochlorine pesticides levels (16 kinds of organic chlorinated compounds) in wet pet food using a gas chromatograph equipped with electron capture detector (GC-ECD).

Sixteen organic chlorinated compounds ( $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC,  $\delta$ -BHC, heptachlor, heptachlor epoxide, *trans*-heptachlor epoxide, aldrin, dieldrin, endrin, *o,p'*-DDD, *p,p'*-DDD, *o,p'*-DDE, *p,p'*-DDE, *o,p'*-DDT and *p,p'*-DDT) were extracted from the samples using acetonitrile. The acetonitrile extract was dehydrated by liquid-liquid distribution with ethyl acetate/hexane solution (1:1 v/v). Further purification was performed using sequential solid phase extraction with the following: Chem Elut cartridge (Agilent Technologies Inc.; Santa Clara, CA, U.S.), gel permeation chromatography (GPC), and ENVI-Carb/NH<sub>2</sub> (Supelco; Bellefonte, PA, U.S.) and Sep-pak Vac Florisil (Waters; Milford, MA, U.S.). Analyses of the purified samples were performed with a GC-ECD equipped with a fused silica capillary column (DB-1701; 0.25 mm i.d. × 30 m, film thickness 0.25  $\mu$ m from Agilent Technologies).

Spike tests were conducted on wet dog and cat food spiked with 1 or 20  $\mu$ g/kg of six DDT related compounds and 1 or 2  $\mu$ g/kg of other ten compounds. Recoveries of six DDT related compounds and the other ten compounds ranged from 81.6 % to 97.1 % and 58.2 % to 98.7 %, respectively with repeatability in terms of relative standard deviations which did not exceed 12 % of DDT related compounds or 17 % of the other compounds.

A collaborative study was conducted in six laboratories using wet pet food spiked with 1, 2 or 20  $\mu$ g/kg of six DDT related compounds and 1 or 2  $\mu$ g/kg of the other ten compounds. The range of mean recoveries, repeatability and reproducibility in terms of the relative standard deviations, and Horwitz ratio (HorRat) were 91.3 to 110 %, not more than 6.8 % and not more than 19%, and not more than 0.85 regarding kind of DDT, respectively; 62.3 to 110 %, not more than 7.2 % and not more than 16%, and not more than 0.75 regarding other compounds, respectively.

This method was validated and established for use in the inspection of pet food for organochlorine pesticides.

Key words: organochlorine pesticides ; gas chromatograph equipped with electron capture detector (GC-ECD) ; gel permeation chromatography (GPC) ; collaborative study

---

\* 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

キーワード：有機塩素系農薬；電子捕獲検出器付きガスクロマトグラフ；ゲル浸透クロマトグラフィー；共同試験

## 1 緒 言

有機塩素系農薬は残留性有機汚染物質に含まれるが、残留性有機汚染物質とは、強毒性、難分解性、生物蓄積性及び長距離移動性を有し、人の健康又は環境に影響を及ぼす化学物質である。我が国も含め世界 170 カ国以上が締結している残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約では、これらの化学物質を特定し、製造、流通及び使用を規制することとしている。現在のところ 21 物質が特定されているが、順次追加されている。有機塩素系農薬は優れた殺虫力と安価な理由から我が国でも広く使用されたが、散布された農産物中への残留及び環境汚染が社会問題となり、我が国を含む先進国では 1960 年代後半よりこれら農薬の使用又は製造禁止等の対策がとられたが、有機塩素系農薬は安定した構造から土壌中でも分解しにくく環境中に長く留まることから、現在でも我が国及び海外において農産物中のこれら農薬の残留事例が報告されている。

愛玩動物用飼料中の有機塩素系農薬の残留については平成 23 年 9 月に基準値<sup>1,2)</sup>が定められた。ドライ及びセミドライ製品の分析法については愛玩動物用飼料等の検査法<sup>3)</sup>に記載（以下「ドライ製品法」という。）されているが、ウェット製品については記載されていない。今回、ドライ製品法を基にウェット製品中の基準値が定められた化学物質を含む 16 種類の有機塩素系農薬の定量法について検討を行ったので、その概要を報告する。

なお、検討した有機塩素系農薬を Table 1 に示した。また、愛玩動物用飼料中の基準値（水分含有量 10 %に換算したものに対して）と水分含有量が 80 %の場合のウェット製品の原物中の基準値の比較を Table 2 に示した。

Table 1 List of organochlorine pesticides used in this study

Name	Formula	MW	CAS No	Name	Formula	MW	CAS No
1 $\alpha$ -BHC	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	290.8	319-84-6	9 <i>o,p'</i> -DDT	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>5</sub>	354.5	789-02-6
2 $\beta$ -BHC	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	290.8	319-85-7	10 <i>p,p'</i> -DDT	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>5</sub>	354.5	50-29-3
3 $\gamma$ -BHC	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	290.8	58-89-9	11 Aldrin	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub>	364.9	309-00-2
4 $\delta$ -BHC	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	290.8	319-86-8	12 Endrin	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub> O	380.9	72-20-8
5 <i>o,p'</i> -DDD	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>4</sub>	320.0	53-19-0	13 Dieldrin	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub> O	380.9	60-57-1
6 <i>p,p'</i> -DDD	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>4</sub>	320.0	72-54-8	14 Heptachlor	C <sub>10</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>7</sub>	373.3	76-44-8
7 <i>o,p'</i> -DDE	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>4</sub>	318.0	3424-82-6	15 Heptachlor epoxide	C <sub>10</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>7</sub> O	389.3	1024-57-3
8 <i>p,p'</i> -DDE	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>4</sub>	318.0	72-55-9	16 <i>trans</i> -Heptachlor epoxide	C <sub>10</sub> H <sub>5</sub> Cl <sub>7</sub> O	389.3	28044-83-9

Table 2 Standard values of organochlorine pesticides

Name	Standard value ( $\mu\text{g/g}$ )	Real standard value corresponding to wet type product <sup>a)</sup>	Instructions
		( $\text{mg/kg}$ )	
BHC	0.01	0.002	Total of $\alpha$ -BHC, $\beta$ -BHC, $\gamma$ -BHC and $\delta$ -BHC
DDT	0.1	0.022	Total of <i>p,p'</i> -DDD, <i>p,p'</i> -DDE, <i>p,p'</i> -DDT and <i>o,p'</i> -DDT
Aldrin Dieldrin	0.01	0.002	Total of aldrin and dieldrin
Endrin	0.01	0.002	
Heptachlor Heptachlor epoxide	0.01	0.002	Total of heptachlor and heptachlor epoxide

a) Calculated with 80 % of moisture content

## 2 実験方法

### 2.1 試料

愛玩動物用飼料（犬用ウェット製品 2 種類及び猫用ウェット製品 2 種類）をフードプロセッサで均質化し供試試料として用いた。それぞれに表示されていた原材料を Table 3 に示した。

Table 3 Examples of ingredients of pet foods used in this study

Pet food types	Ingredients
Wet type for adult dogs 1	Meat (Chicken, Beef, Mutton), Wheat flour, Culinary plants (Potato, Carrot, Green peas), Minerals (Cl, Na, K, Mg, Zn, Se, I), Emulsifier, Thickening agent, Coloring agent (Caramel, Titanium dioxide, colcothar), Vitamins (Choline chloride, Pantothenic acid, Biotin, B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , B <sub>6</sub> , B <sub>12</sub> , C, D <sub>3</sub> , E, Folic acid)
Wet type for adult dogs 2	Meat (Chicken, etc.), Rice, Carrot, Corn, Dietary fiber, Vitamins (B <sub>12</sub> , D, E), Choline chloride, Pantothenic acid, Folic acid), Minerals (Ca, K, Na, S, Zn), Glycine, Thickening agent, Phosphate (Ca, Na), Color coupler (Nitrous acid Na), Coloring agents (Colcothar, Titanium dioxide)
Wet type for adult cats 1	Turkey, Pork, Salmon, Rice, Cornstarch, Cellulose, Wheat, Chicken extract, Soy bean, Chicken, Animal fats, Corn gluten, Yeast, Minerals, Vitamins Amino acids (Taurine, methionine), Thickening agent
Wet type for adult cats 2	Tuna, Pork, Wheat gluten, Chicken, Soy bean protein, Spinach, Glucose Minerals, Vitamins, Amino acid, Thickening agent (Modified starch), Coloring agents (Food red No.3, Titanium dioxide)

### 2.2 試薬

#### 1) 各農薬標準原液

Table 4 の各農薬標準品 10 mg を正確に量ってそれぞれ 50 mL の全量フラスコに入れ、アセトン 10 mL を加えて溶かし、更に各全量フラスコの標線まで 2,2,4-トリメチルペンタンを加えて各農薬標準原液を調製した（これらの液各 1 mL は、各農薬として 0.2 mg を含有する。）。

## 2) 農薬混合標準液

使用に際して、各農薬標準原液の一定量を混合し、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中に各農薬としてそれぞれ0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2及び0.5 µgを含有する各農薬混合標準液を調製した。

## 3) アセトニトリル, アセトン, 酢酸エチル, ヘキサン及びシクロヘキサンは残留農薬・PCB試験用を用いた。ジエチルエーテル及び2,2,4-トリメチルペンタンは高速液体クロマトグラフ用を用いた。

Table 4 The details of organochlorine pesticides used in this study

Name	Manufacturer	Purity(%)	f=	Name	Manufacturer	Purity(%)	f=
$\alpha$ -BHC	Dr. Ehrenstorfer	98.0	0.980	<i>o,p'</i> - DDT	Dr. Ehrenstorfer	98.5	0.985
$\beta$ -BHC	Dr. Ehrenstorfer	98.5	0.985	<i>p,p'</i> - DDT	Dr. Ehrenstorfer	98.5	0.985
$\gamma$ -BHC	Dr. Ehrenstorfer	98.6	0.986	Aldrin	Dr. Ehrenstorfer	99.0	0.990
$\delta$ -BHC	Dr. Ehrenstorfer	98.5	0.985	Endrin	Dr. Ehrenstorfer	99.5	0.995
<i>o,p'</i> - DDD	Dr. Ehrenstorfer	99.5	0.995	Dieldrin	Dr. Ehrenstorfer	99.0	0.990
<i>p,p'</i> - DDD	Dr. Ehrenstorfer	99.0	0.990	Heptachlor	Dr. Ehrenstorfer	99.0	0.990
<i>o,p'</i> - DDE	Dr. Ehrenstorfer	99.0	0.990	Heptachlor epoxide	Dr. Ehrenstorfer	99.0	0.990
<i>p,p'</i> - DDE	Dr. Ehrenstorfer	98.5	0.985	<i>trans</i> -Heptachlor epoxide	Dr. Ehrenstorfer	98.5	0.985

## 2.3 装置及び器具

- 1) 振とう機：タイテック製 レシプロシェーカー SR-2W
- 2) ロータリーエバポレーター：東京理化学器械製 NAJ-160
- 3) ガスクロマトグラフ：Agilent Technologies 製 6890N
- 4) ゲル浸透クロマトグラフ：日本分光製 GPC システム  
ポンプ：PU-2080  
オートサンプラー：AS-2050  
フラクションコレクター：SF-212N
- 5) 多孔性ケイソウ土カラム：Agilent Technologies 製 Chem Elut, 20 mL 保持用
- 6) 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：Supelco 製 ENVI-Carb/NH<sub>2</sub> (500 mg/500 mg)
- 7) 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム：Waters 製 Sep-pak Vac Florisil Cartridge (充てん剤量 5 g, リザーバー容量 20 mL)
- 8) メンブランフィルター：東洋濾紙製 DISMIC-25HP (孔径 0.45 µm, 直径 25 mm, 親水性 PTFE)

## 2.4 定量方法

## 1) 抽出

分析試料 20.0 g を量って 200 mL の共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリル 100 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出した。300 mL のなす形フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトニトリル 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過した。ろ液を 40 °C 以下の水浴で 50 mL 以下になるまで減圧濃縮した後、精製に供する試料溶液とした。

## 2) 精 製

試料溶液を 200 mL の分液漏斗に入れ、試料溶液の入っていたなす形フラスコをアセトニトリル 4 mL で洗浄し、洗液を分液漏斗に加えた。ヘキサン-酢酸エチル (1+1) 100 mL を分液漏斗に加えて 3 秒間振り混ぜた後、液層が 3 層に分離するまで 15 分間静置した。水層 (最下層) を捨て、残った 2 層を 300 mL のなす形フラスコに入れ、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た。

飽和食塩水 20 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 I に供する試料溶液とした。

## 3) カラム処理 I

試料溶液を多孔性ケイソウ土カラムに入れ、5 分間静置した。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 20 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下させて定量する各農薬を溶出させた。更に同溶媒 40 mL をカラムに加えて同様に溶出させた。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た。

シクロヘキサン-アセトン (4+1) 10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、この液を 10 mL の遠心沈殿管に入れ、1,000×g で 5 分間遠心分離した。上澄み液をメンブランフィルターでろ過し、ゲル浸透クロマトグラフィーに供する試料溶液とした。

## 4) ゲル浸透クロマトグラフィー

試料溶液 5.0 mL をゲル浸透クロマトグラフに注入し、各農薬が溶出する画分を 100 mL のなす形フラスコに分取し、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た。なお、ゲル浸透クロマトグラフィーの条件を Table 5 に示した。

酢酸エチル 4 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 II に供する試料溶液とした。

**Table 5 Operating conditions of GPC for analysing organochlorine pesticides**

Column	Shodex CLNpak EV-2000AC (20 mm i.d.×300 mm, 15 μm)
Guard column	Shodex CLNpak EV-G AC (20 mm i.d.×100 mm, 15 μm)
Eluent	Cyclohexane-acetone (4:1)
Flow rate	5 mL/min
Fraction volume	70~105 mL

## 5) カラム処理 II

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を酢酸エチル 10 mL で洗浄した。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流下させた後、試料溶液の入っていたなす形フラスコを酢酸エチル 2 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加えて定量する各農薬を流出させた。更に、酢酸エチル 4 mL をミニカラムに加え同様に流出させた。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た。

ヘキサン 2 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 III に供する試料溶液とした。

## 6) カラム処理 III

合成ケイ酸マグネシウムミニカラムをジエチルエーテル 20 mL 及びヘキサン 20 mL で順次洗浄した。100 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液をミニカラムに入れ、

液面が充てん剤の上端に達するまで自然流下させた後、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 2 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、各農薬を流出させた。更にヘキサノジエチルエーテル (9+1) 40 mL をミニカラムに加えて同様に流出させた。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た。

2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン (4+1) 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフィーに供する試料溶液とした。

#### 7) ガスクロマトグラフィー

試料溶液及び各農薬混合標準液各 1 µL をガスクロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得た。

ガスクロマトグラフの測定条件を Table 6 に示した。

**Table 6 Operating conditions of GC-ECD for analysing organochlorine pesticides**

Column	Agilent Technologies DB-1701 (0.25 mm i.d.× 30 m, 0.25 µm film thickness)
Column temperature	60 °C (1 min)→20 °C/min→195 °C →2 °C/min→240 °C →20 °C/min→280 °C (7 min)
Injection mode	Pulsed Splitless (30 psi, 60 s)
Injection temperature	250 °C
Carrier gas	He (1.0 mL/min)
Make up gas	N <sub>2</sub> (60 mL/min)
Detector	Electron capture detector
Detector temperature	280 °C
Injection volume	1 µL

#### 8) 計 算

得られたクロマトグラムから各ピーク高さを求めて検量線を作成し、試料中の各農薬量を算出した。

なお、定量法の概要を Scheme 1 に示した。

- Sample 20.0 g
- add 100 mL of acetonitrile and shake for 30 min
  - filtrate with suction filter (No.5B)
  - wash with 50 mL of acetonitrile
  - evaporate to the volume under 50 mL under 40 °C
- Liquid-liquid extraction
- add 100 mL of hexane-ethyl acetate (1:1) and shake for 3 seconds
  - allow to stand for 15 min
- Upper layer and middle layer (hexane-ethyl acetate and acetonitrile)
- evaporate to dryness under 40 °C
  - dissolve in 20 mL of saturated salt solution
- Chem Elut cartridge
- apply sample solution and allow to stand for 5 min
  - wash flask with 60 mL of hexane and apply washed solution
  - elute with 40 mL of hexane
  - evaporate to dryness under 40 °C
  - dissolve in 10 mL of cyclohexane-acetone (4:1)
  - centrifuge for 5 min at 1,000×g
  - filtrate with membrane filter (0.5 μm)
- GPC
- apply 5 mL of sample solution
  - collect the fraction of 70~105 mL
  - evaporate to dryness under 40 °C
  - dissolve in 4 mL of ethyl acetate
- ENVI-Carb/NH<sub>2</sub>
- prewash with 10 mL of ethyl acetate
  - apply sample solution and wash flask with 4 mL of ethyl acetate and apply washed solution
  - elute with 4 mL of ethyl acetate
  - evaporate to dryness under 40 °C
  - dissolve in 2 mL of hexane
- Sep-pak Vac Florisil cartridge
- prewash with 20 mL of diethyl ether and 20 mL of hexane
  - apply sample solution and wash flask with 4 mL of hexane and apply washed solution
  - elute with 40 mL of hexane-diethyl ether (9:1)
  - evaporate to dryness under 40 °C
  - dissolve in 1 mL of 2,2,4-trimethyl pentane-acetone (4:1)
- GC-ECD

Scheme 1 Analytical procedure for organochlorine pesticides in wet type pet foods

### 3 結果及び考察

#### 3.1 検量線の作成

各農薬として 1 mL 中にそれぞれ 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 及び 0.5 μg を含有する各農薬混合標準液を調製し、これらの液各 1 μL を GC-ECD に注入し、得られたクロマトグラムから各農薬のピーク高さを求めて検量線を作成した。その結果、検量線は Fig. 1 のとおりであり、各農薬として 0.005~0.5 μg/mL (注入量として 0.005~0.5 ng) の範囲で直線性を示した。

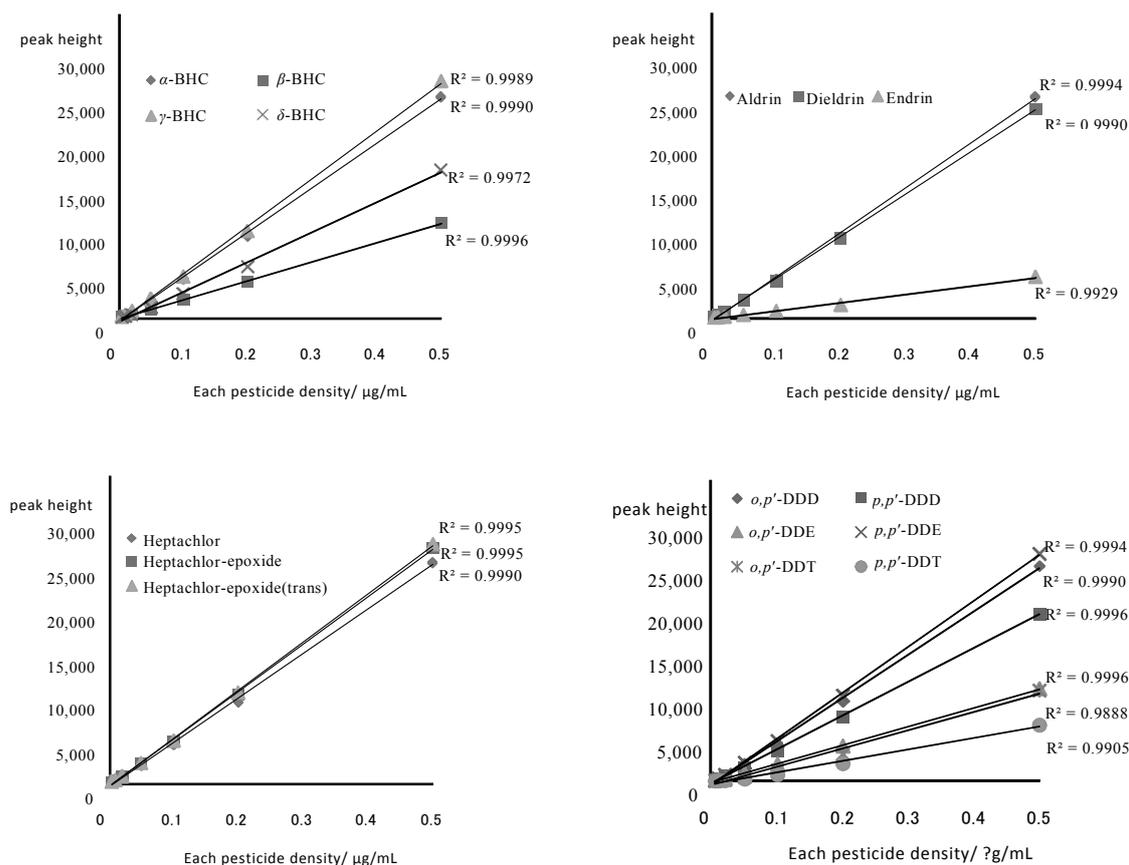


Fig. 1 Calibration curves of organochlorine pesticides

### 3.2 液液分配の検討

ドライ製品法では、アセトニトリル-水 (3+1) を用いて抽出し、抽出液を乾固後、多孔性ケイソウ土カラムで精製を行っている。ドライ製品法を用いて犬用ウェット製品及び猫用ウェット製品の試料の抽出液の濃縮乾固を試みたところ、濃縮時に抽出液が突沸しやすくなり、突沸を防止するために穏やかな減圧条件で操作する必要があることから濃縮操作に長時間を要する試料があった。また、濃縮後、エマルジョンが発生し乾固操作及びその後のカラム処理が不可能であった。

濃縮操作中の突沸と乾固時のエマルジョンの発生は、抽出液中に水分と脂質及び両親媒性の物質が多量に混在することが原因と考えられた。このことから、抽出液中のこれらの夾雑物を除去するため、抽出液にヘキサン-酢酸エチル (1+1) を加えることにより有機溶媒層と水層に分離させる方法を検討した。

犬用ウェット製品 8 種及び猫用ウェット製品 10 種を用い、それぞれの抽出液を約 50 mL 以下に濃縮し、これを 200 mL 用の分液漏斗に移し、ヘキサン-酢酸エチル (1+1) 100 mL を加え 3 秒間振り混ぜた後 15 分間静置したところ、全ての試料で有機溶媒層と水層に分離できた。水層を捨てた後、残った有機溶媒層を 300 mL のなす形フラスコに移し、通常の高圧下でほとんど乾固するまで濃縮したところ、全ての試料で突沸及びエマルジョンは発生しなかった。

液液分配に供する抽出液を約 80 mL に濃縮し、同様に操作したところ、その後の濃縮操作で突沸するものがあった。これは濃縮した抽出液量に対してヘキサン-酢酸エチル (1+1) の添加

量が少ないことから、水層の分離が不十分であったためと考えられた。検討に供した全ての試料の抽出液は通常の減圧下での濃縮操作で約 50 mL 以下に濃縮されるまでは突沸しなかったことから、使用溶媒の低減と操作の確実性から、抽出液は 50 mL 以下に濃縮し液液分配に供することが適当と考えられた。

ヘキサン-酢酸エチルを分液漏斗に加えた後の振とう時間を 3 秒と 5 分にした場合の比較を行った。5 分にしたところ、3 秒の場合と比較して振とう後の水層の分離に時間を要し、また分離した水層の量及び以降の濃縮乾固操作においては同等の結果であった。

これらの結果から、本法では水溶性の夾雑物を取り除くため、抽出液を 50 mL 以下に濃縮し、分液漏斗に入れ、ヘキサン-酢酸エチル (1+1) 100 mL を加え 3 秒間振り混ぜた後、水層が分離するまで静置することとした。

### 3.3 多孔性ケイソウ土カラムの溶出画分の検討

多孔性ケイソウ土カラムの溶出画分の検討を行った。

犬用ウェット製品を 2.4 の 1)及び 2)により抽出精製した液に各農薬として 10 µg/kg (試料原物中濃度として) 相当量を添加し、2.4 の 3)の多孔性ケイソウ土カラム処理に供する試料溶液として、本法により操作した後、溶出画分の回収率を確認した。その結果は Table 7 のとおりであり、全ての農薬は 0~100 mL に溶出し、100 mL 以後の画分には溶出されなかった。以上の結果から、本カラムによる溶出にはヘキサン 100 mL を用いることとした。

Table 7 Elution pattern from Chem Elut

Name	Spike level (µg/kg)	Hexane (mL)	
		0 - 100	100 - 150
		Recovery <sup>a)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)
<i>α</i> -BHC	10	81.3	0
<i>β</i> -BHC	10	90.1	0
<i>γ</i> -BHC	10	81.2	0
<i>δ</i> -BHC	10	93.7	0
<i>o,p'</i> -DDD	10	95.5	0
<i>p,p'</i> -DDD	10	87.8	0
<i>o,p'</i> -DDE	10	90.6	0
<i>p,p'</i> -DDE	10	79.9	0
<i>o,p'</i> -DDT	10	94.0	0
<i>p,p'</i> -DDT	10	87.8	0
Aldrin	10	81.2	0
Endrin	10	84.5	0
Dieldrin	10	89.6	0
Heptachlor	10	86.7	0
Heptachlor epoxide	10	88.4	0
<i>trans</i> -Heptachlor epoxide	10	84.5	0

a) Mean (*n*=2)

### 3.4 ゲル浸透クロマトグラフィーの溶出画分の検討

ゲル浸透クロマトグラフィーの溶出画分の検討を行った。

犬用ウェット製品を 2.4 の 1)~3)により抽出精製した液に各農薬として 10 µg/kg（試料原物中濃度として）相当量を添加し、2.4 の 4)のゲル浸透クロマトグラフィーに供する試料溶液とし、その後、本法により操作した後、溶出画分の回収率を確認した。その結果は Table 8 のとおりであり、全ての農薬は 75~100 mL に溶出し、75 mL 以前及び 100 mL 以後の画分には溶出されなかった。以上の結果から、本法では安全性を考慮し 70~105 mL を分取することとした。

Table 8 Elution pattern from GPC

Name	Spike level (µg/kg)	Cyclohexane- acetone (4:1) <sup>a)</sup>		Recovery <sup>b)</sup> (%)
		(mL)		
$\alpha$ -BHC	10	80 ~	100	87.3
$\beta$ -BHC	10	80 ~	100	91.9
$\gamma$ -BHC	10	85 ~	90	82.5
$\delta$ -BHC	10	75 ~	90	91.8
<i>o,p'</i> -DDD	10	75 ~	95	105
<i>p,p'</i> -DDD	10	75 ~	100	97.8
<i>o,p'</i> -DDE	10	80 ~	100	89.9
<i>p,p'</i> -DDE	10	75 ~	95	99.6
<i>o,p'</i> -DDT	10	75 ~	95	94.0
<i>p,p'</i> -DDT	10	75 ~	95	99.0
Aldrin	10	75 ~	90	81.7
Endrin	10	90 ~	100	86.6
Dieldrin	10	80 ~	100	94.0
Heptachlor	10	75 ~	90	86.6
Heptachlor epoxide	10	75 ~	90	90.2
<i>trans</i> -Heptachlor epoxide	10	75 ~	100	86.7

a) Pesticides eluted only to fraction

b) Mean ( $n=2$ )

### 3.5 ミニカラム処理の検討

ドライ製品法ではゲル浸透クロマトグラフィーの後、Sep-pak plus Florisil（充てん剤量 910 mg. 以下「Plus Florisil」という。）を用いて精製することとしている。無添加の犬用及び猫用ウェット製品を用いて 2.4 の 1)~4)により処理を行い、ゲル浸透クロマトグラフィーで分取した画分を濃縮乾固した後の残留物をドライ製品法と同様にヘキサン 2 mL に溶かした後、Plus Florisil に加え、ヘキササン-ジエチルエーテル (9+1) で溶出し、本法に基づいてガスクロマトグラフに供したところ、Fig. 2-1 の(B)のとおり多くの夾雑成分由来と考えられる妨害ピークが確認された。これは、ドライ製品等と比較してウェット製品中の夾雑物が多く、これまでの精製操作のみでは精製が不十分であり、Plus Florisil を使用した場合、夾雑成分を保持しきれず流出していることが考えられた。また、有機塩素系農薬を基準値相当量含有したウェット製品の最終試料溶液濃度はドライ製品等のその約 5 分の 1 であり、微量の夾雑ピークであっても定量の妨害に

なることから、更なる精製操作が必要であった。

そこで、Plus Florisil に供する前の試料溶液を飼料分析基準<sup>4)</sup>に記載されている「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」（以下「一斉法」という。）で使用されている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（以下「GC/NH<sub>2</sub> ミニカラム」という。）及び合成ケイ酸マグネシウムミニカラムを用いて精製した場合の精製効果について検討した。

#### 1) GC/NH<sub>2</sub> ミニカラムの検討

先と同様に、無添加の犬用ウェット製品を用いて 2.4 の 1)~4)により処理を行い、ゲル浸透クロマトグラフィーで分取した画分を濃縮乾固した後の残留物を一斉法に基づき酢酸エチル 4 mL で溶かした後、GC/NH<sub>2</sub> ミニカラムに加え、残留物の入っていたなす形フラスコを酢酸エチル 2 mL で 2 回洗浄し、洗液も同様に GC/NH<sub>2</sub> ミニカラムに加えて各農薬を流出させた。更に酢酸エチル 4 mL を GC/NH<sub>2</sub> ミニカラムに加えて同様に流出させた。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た。これをヘキサン 2 mL に溶解し、先と同様に Plus Florisil で精製を行ったところ、Fig. 2-1 の(C)のとおり、夾雑ピークは軽減され精製効果が確認された。

また、混合標準液を用いて GC/NH<sub>2</sub> ミニカラムからの各農薬の流出画分の確認を行った。酢酸エチル 4 mL に溶解した混合標準液を GC/NH<sub>2</sub> ミニカラムに負荷した後、酢酸エチルで各農薬を画分に流出させた。その結果は Table 9 のとおりであり、試料溶液負荷後に洗液 4 mL を負荷し、更に酢酸エチル 4 mL を加えることで全農薬が流出することが確認された。

#### 2) 合成ケイ酸マグネシウムミニカラムの検討

充てん剤量を増やすことによる精製効果について検討するために、Plus Florisil, Sep-pak Vac Florisil Cartridge の充てん剤量 2 g（以下「Vac Florisil 2 g」という。）及び同 5 g（以下「Vac Florisil 5 g」という。）を用いた場合を比較した。無添加の犬用及び猫用ウェット製品を用いて 2.4 の 1)~5)により処理して得られた試料溶液を各ミニカラムに加え、それぞれのミニカラムからの各農薬の流出画分を確認した。流出溶媒はドライ製品法と同様にヘキサレンジエチルエーテル (9+1) を使用した。その結果は Table 10 のとおりであり、Plus Florisil では流出溶媒 10 mL, Vac Florisil 2 g では 20 mL, Vac Florisil 5 g では 40 mL 以上の流出画分には各農薬の流出が確認されなかった。そこで、先と同じ試料溶液を用いてそれぞれのミニカラムに加え、更に先の検討で確認した流出液量として Plus Florisil では 10 mL, Vac Florisil 2 g では 20 mL 及び Vac Florisil 5 g では 40 mL を加え各農薬を流出させた。ここで、Vac Florisil 2 g 及び Vac Florisil 5 g を使用した場合のそれぞれのクロマトグラムを Fig. 2-2 の(D)及び(E)に示した。これらのクロマトグラムを比較したところ、Vac Florisil 2 g 及び Vac Florisil 5 g を使用した場合、夾雑ピークが低減することが確認された。Vac Florisil 2 g を使用した場合、検討に用いた試料では定量下限における添加回収試験で *o,p'*-DDD の定量を妨害するピークが確認されたが、Vac Florisil 5 g を使用した場合は定量を妨害するピークは軽減され、定量下限における添加回収試験の結果は良好であった。

以上のことから、本法ではゲル浸透クロマトグラフィーで分取した画分を濃縮乾固した後の残留物を酢酸エチル 4 mL で溶解し、GC/NH<sub>2</sub> ミニカラムに加えた後、容器の洗液を加え、更に酢酸エチル 4 mL を加え流出させる精製操作を行うこととした。また、GC/NH<sub>2</sub> ミニカラム処理後、

ヘキサンに溶解し Vac Florisil 5 g に加え、容器の洗液も同様に加え、更にヘキサニージエチルエーテル（9+1）40 mL を加え流出することとした。

Table 9 Elution pattern from ENVI-Carb/NH<sub>2</sub>

Name	Spike level (µg/kg)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	
		Ethyl acetate (mL)	
		0~12	12~19
<i>α</i> -BHC	10	99.2	0
<i>β</i> -BHC	10	98.3	0
<i>γ</i> -BHC	10	101	0
<i>δ</i> -BHC	10	100	0
<i>o,p'</i> -DDD	10	98.0	0
<i>p,p'</i> -DDD	10	98.5	0
<i>o,p'</i> -DDE	10	102	0
<i>p,p'</i> -DDE	10	98.2	0
<i>o,p'</i> -DDT	10	99.5	0
<i>p,p'</i> -DDT	10	99.3	0
Aldrin	10	101	0
Endrin	10	102	0
Dieldrin	10	99.6	0
Heptachlor	10	96.2	0
Heptachlor epoxide	10	97.1	0
<i>trans</i> -Heptachlor epoxide	10	99.2	0

a) *n*=1

Table 10 Elution pattern from several Florisil mini columns

Name	Plus Florisil		Vac Florisil 2 g		Vac Florisil 5 g	
	Hexane - diethyl ether	Recovery <sup>b)</sup> (%)	Hexane - diethyl ether	Recovery <sup>b)</sup> (%)	Hexane - diethyl ether	Recovery <sup>b)</sup> (%)
	(9+1) <sup>a)</sup> ( mL )		(9+1) <sup>a)</sup> ( mL )		(9+1) <sup>a)</sup> ( mL )	
$\alpha$ -BHC	0 ~ 10	88.1	0 ~ 10	87.1	0 ~ 20	89.5
$\beta$ -BHC	0 ~ 10	85.4	0 ~ 10	88.3	0 ~ 20	88.3
$\gamma$ -BHC	0 ~ 10	90.1	0 ~ 10	92.4	0 ~ 20	89.0
$\delta$ -BHC	0 ~ 10	91.8	0 ~ 20	101	0 ~ 40	83.8
<i>o,p'</i> -DDD	0 ~ 10	112	0 ~ 10	88.4	0 ~ 20	100
<i>p,p'</i> -DDD	0 ~ 10	101	0 ~ 10	89.6	0 ~ 20	97.4
<i>o,p'</i> -DDE	0 ~ 10	90.8	0 ~ 10	84.1	0 ~ 20	98.2
<i>p,p'</i> -DDE	0 ~ 10	99.4	0 ~ 10	82.4	0 ~ 20	113
<i>o,p'</i> -DDT	0 ~ 10	104	0 ~ 10	89.1	0 ~ 20	98.4
<i>p,p'</i> -DDT	0 ~ 10	106	0 ~ 10	96.3	0 ~ 20	99.0
Aldrin	0 ~ 10	82.0	0 ~ 10	75.4	0 ~ 20	83.0
Endrin	0 ~ 10	89.2	0 ~ 20	77.4	0 ~ 30	82.5
Dieldrin	0 ~ 10	94.1	0 ~ 20	82.5	0 ~ 40	89.1
Heptachlor	0 ~ 10	87.6	0 ~ 10	80.6	0 ~ 20	93.6
Heptachlor epoxide	0 ~ 10	86.5	0 ~ 10	77.3	0 ~ 20	84.5
<i>trans</i> -Heptachlor epoxide	0 ~ 10	86.5	0 ~ 10	84.1	0 ~ 20	89.0

a) Pesticides eluted only to fraction

b)  $n=1$

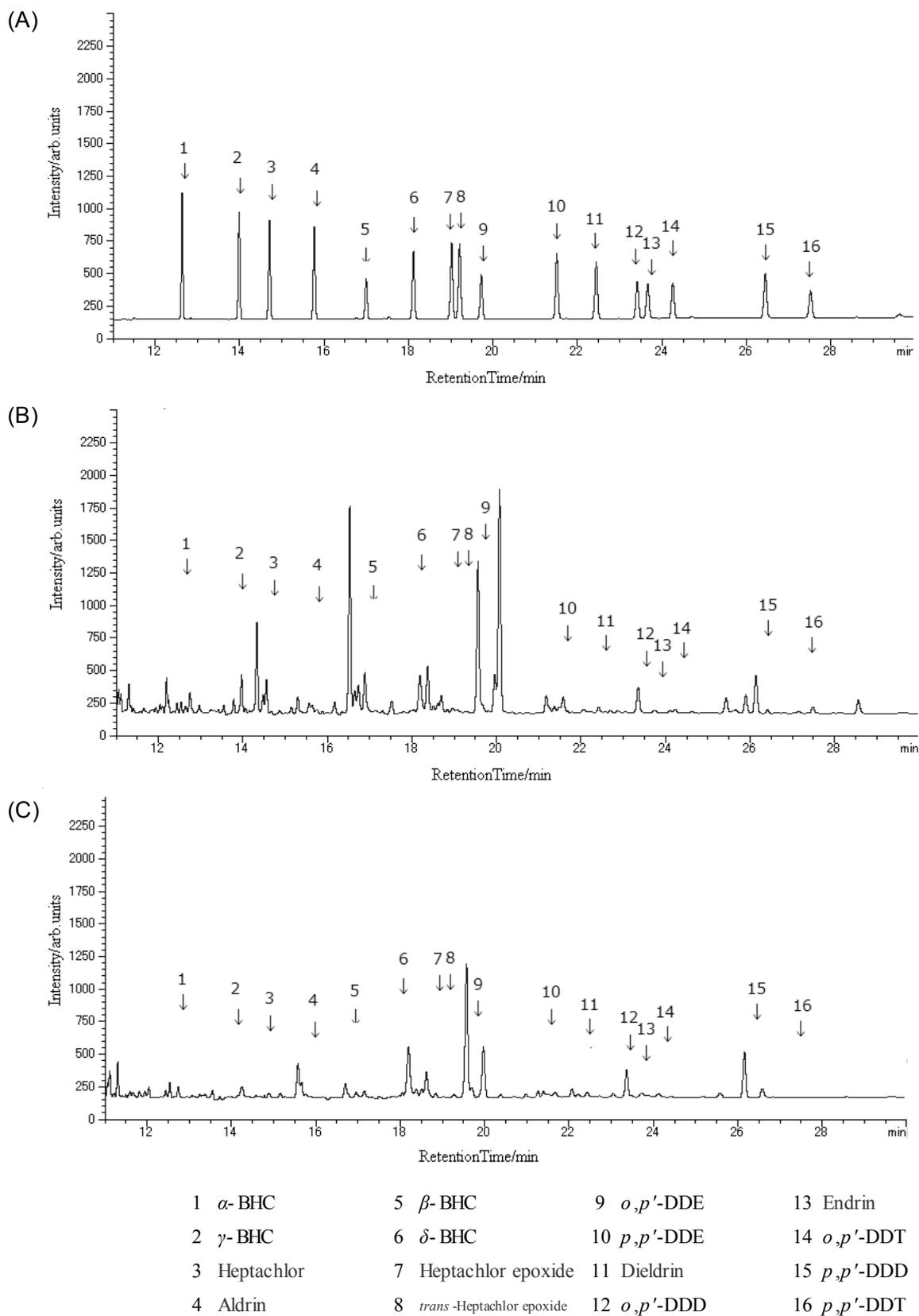


Fig. 2-1 Chromatograms regarding the effect of purification by several mini columns

(A) Mix standard solution (The amount was each 0.01 ng.)

(B) Sample solution of wet type pet food for dogs (purified with Plus Florisil)

(C) Sample solution of wet type pet food for dogs (purified with GC/NH<sub>2</sub> and Plus Florisil)

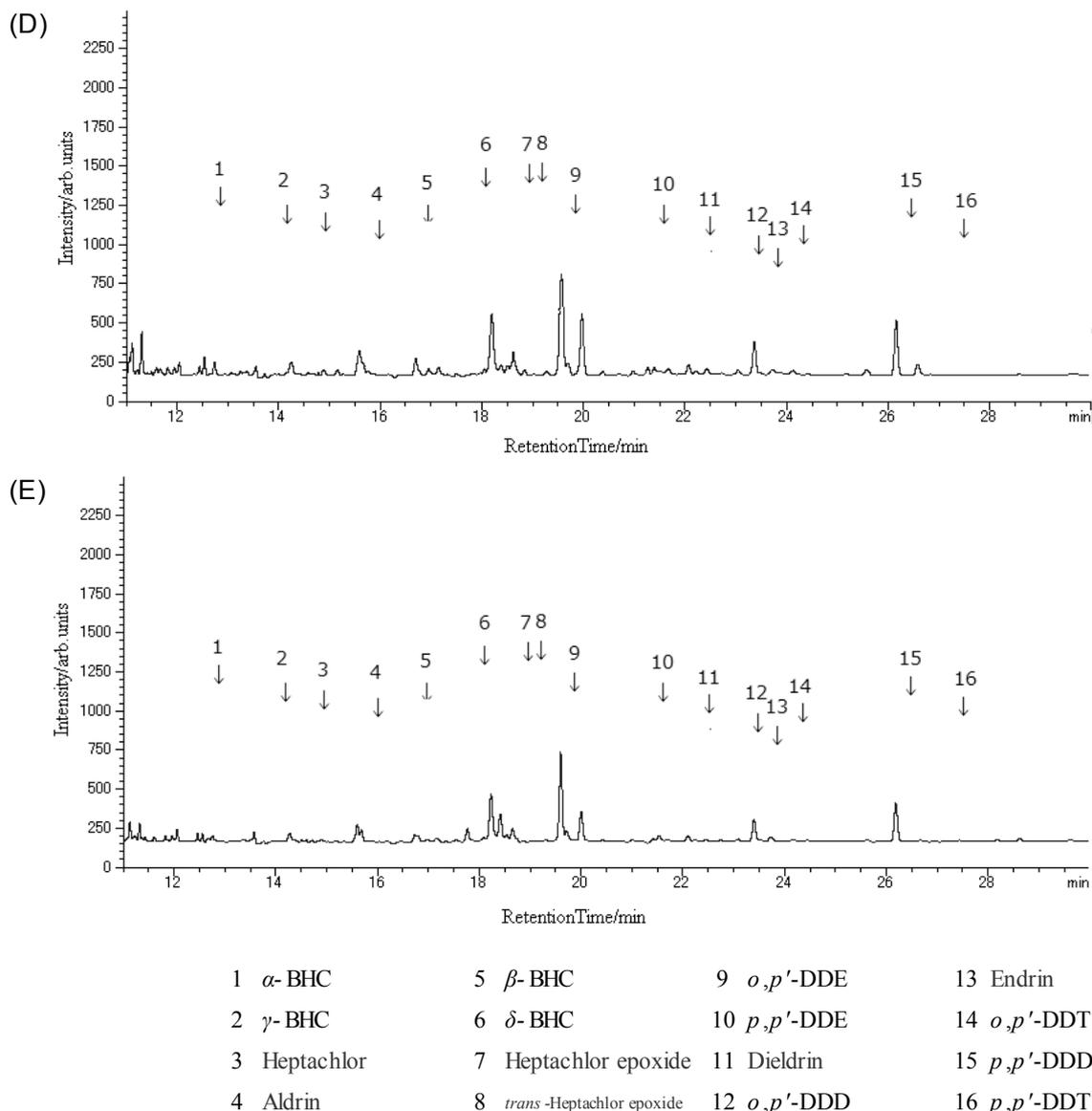


Fig. 2-2 Chromatograms regarding the effect of purification by several mini columns

(D) Sample solution of wet type pet food for dogs (purified with GC/NH<sub>2</sub> and Vac Florisil 2 g)

(E) Sample solution of wet type pet food for dogs (purified with GC/NH<sub>2</sub> and Vac Florisil 5 g)

### 3.6 妨害物質の検討

愛玩動物用飼料（犬用ウェット製品 8 種，猫用ウェット製品 9 種）を本法に従って分析を行い，妨害ピークの有無を確認した。

その結果，犬用ウェット製品の 4 種で *o,p'*-DDD の保持時間にピークが確認された。ピークが確認された試料溶液をガスクロマトグラフ質量分析計に供して，確認されたピークの定性を試みたが濃度が低く定性は不可能であった。しかし，これらのピークは全ての試料で *o,p'*-DDD の定量限界（下限）濃度に相当するピークの約 20 % 以下の高さであったことから，愛玩動物用飼料等の検査法<sup>1)</sup>に係る妥当性確認における選択性の基準を満たしていた。その他の農薬の定量を妨害するピークは認められなかった。

## 3.7 添加回収試験

犬用ウェット製品 2 種類及び猫用ウェット製品 2 種類に、DDT 類 6 種類（*o,p'*-DDD, *p,p'*-DDD, *o,p'*-DDE, *p,p'*-DDE, *o,p'*-DDT 及び *p,p'*-DDT）については各 20 µg/kg 相当量，その他の農薬については各 2 µg/kg 相当量を添加した試料を用いて本法により 5 点併行で定量し，回収率及び繰返し精度を検討した。

その結果，Table 11 のとおり，全ての農薬で愛玩動物用飼料等の検査法<sup>1)</sup>に定める真度及び精度の基準を満たしていた。

なお，添加回収試験で得られたクロマトグラムの一例を Fig.3 に示した。

Table 11 Recoveries of pesticides from four kinds of wet type pet food

Name	Spike level (µg/kg)	for dog 1		for dog 2		for cat 1		for cat 2	
		Recovery <sup>a)</sup>	RSD <sup>b)</sup>						
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
<i>α</i> -BHC	2	86.8	3.9	80.8	4.8	91.4	3.0	87.1	2.9
<i>β</i> -BHC	2	88.3	4.0	91.3	3.6	94.7	4.8	88.3	3.9
<i>γ</i> -BHC	2	85.7	3.6	82.6	2.5	98.7	5.3	92.4	3.1
<i>δ</i> -BHC	2	91.0	4.1	91.5	3.7	94.3	6.2	92.5	3.9
<i>o,p'</i> -DDD	20	89.5	3.1	90.9	3.6	94.2	2.7	87.1	3.3
<i>p,p'</i> -DDD	20	89.8	2.1	93.6	3.5	96.8	2.2	89.1	3.2
<i>o,p'</i> -DDE	20	91.0	2.6	91.1	4.4	89.7	2.1	83.5	2.2
<i>p,p'</i> -DDE	20	94.4	3.3	94.6	4.0	89.1	3.3	81.6	2.8
<i>o,p'</i> -DDT	20	93.8	2.5	97.1	2.1	89.5	3.0	88.1	2.8
<i>p,p'</i> -DDT	20	93.7	2.8	94.9	3.5	95.5	3.4	95.5	3.2
Aldrin	2	78.1	7.6	71.7	5.6	84.9	5.9	75.4	3.9
Endrin	2	84.5	5.1	89.9	4.5	73.0	6.1	73.8	5.9
Dieldrin	2	86.1	4.3	83.6	5.6	79.9	5.9	74.2	4.1
Heptachlor	2	82.5	4.5	87.0	2.9	87.7	3.2	80.6	3.5
Heptachlor epoxide	2	90.6	3.2	88.1	1.6	93.8	5.0	77.3	4.5
<i>trans</i> -Heptachlor epoxide	2	88.6	3.6	85.9	1.8	95.8	3.2	84.1	4.0

a) Mean ( $n=5$ )

b) Relative standard deviation of repeatability

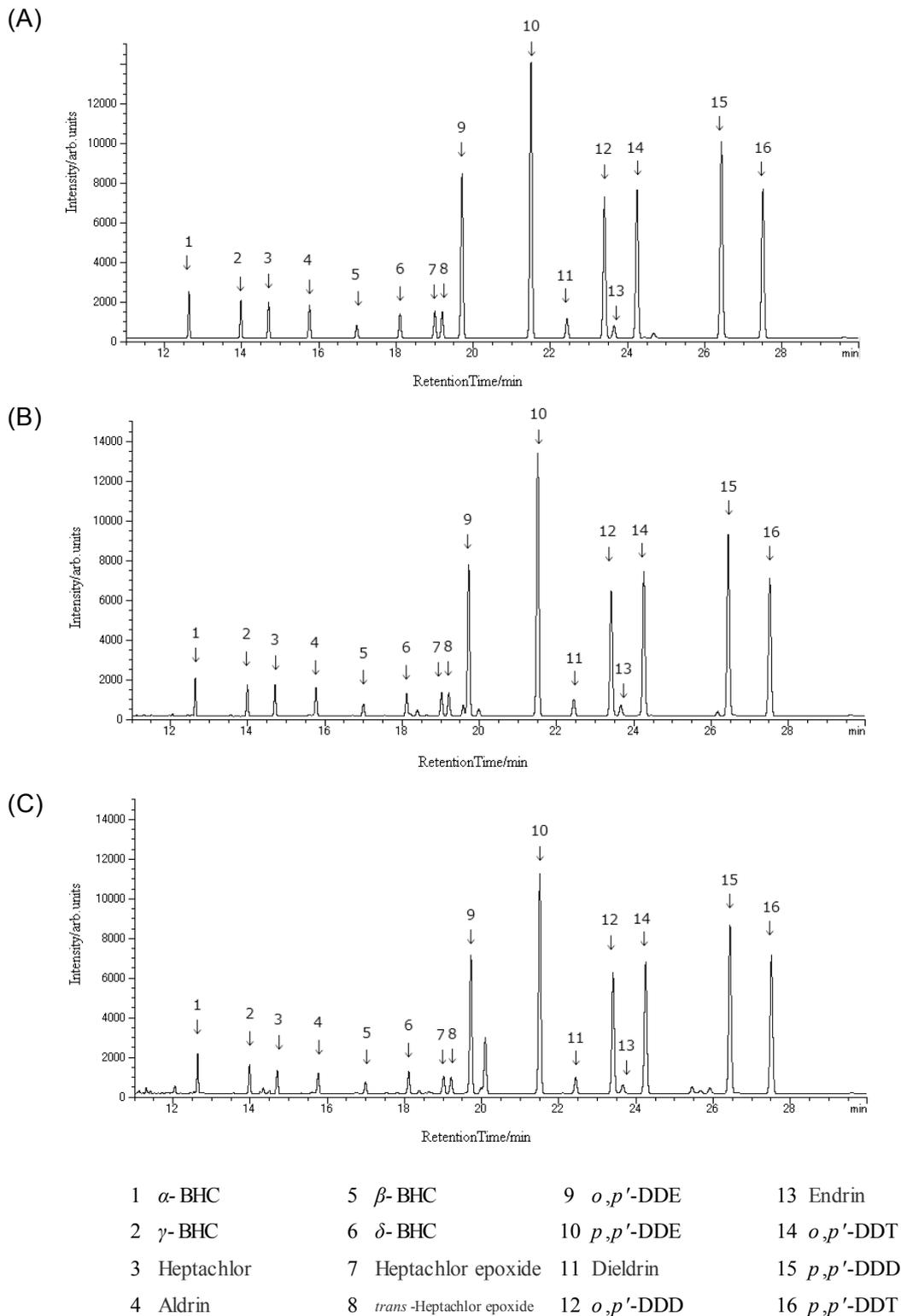


Fig. 3 Chromatograms of standard and sample solution in recovery test

(A) Mix standard solution (The amount were 0.2 ng for No.9,10,12,14,15 and 16 (6 kinds of DDTs) and 0.02 ng for other 10 pesticides.)

(B) Sample solution of wet dog food spiked 6 kinds of DDTs at 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and other 10 pesticides at 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

(C) Sample solution of wet cat food spiked 6 kinds of DDTs at 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and other 10 pesticides at 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

### 3.8 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、添加回収試験により得られるピークの  $SN$  比、回収率及び繰返し精度を求めた。

その結果、得られたピークの  $SN$  比が 10 以上となる濃度は、最も低い  $p,p'$ -DDT で、 $1 \mu\text{g}/\text{kg}$  であり、 $SN$  比が 3 以上となる濃度は  $0.3 \mu\text{g}/\text{kg}$  であった。

確認のために、犬用ウェット製品及び猫用ウェット製品に各農薬としてそれぞれ  $1 \mu\text{g}/\text{kg}$  相当量を添加し、本法に従って 5 点併行分析を実施した。その平均回収率及び繰返し精度は、Table 12 のとおりであり、愛玩動物用飼料等の検査法<sup>1)</sup>に定める真度及び精度の基準を満たしていた。

以上の結果から、本法による定量下限は  $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、検出下限は  $0.3 \mu\text{g}/\text{kg}$  と推察された。

Table 12 Recoveries at the level of limit of quantitation from two kinds of wet type pet foods

Name	Spike level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	for dog		for cat	
		Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sup>b)</sup> (%)
$\alpha$ -BHC	1	88.3	3.6	88.5	3.1
$\beta$ -BHC	1	94.9	6.1	99.5	2.9
$\gamma$ -BHC	1	90.9	5.0	88.6	4.2
$\delta$ -BHC	1	82.4	8.4	90.9	5.5
$o,p'$ -DDD	1	106	12	95.4	9.8
$p,p'$ -DDD	1	92.6	5.9	94.7	5.7
$o,p'$ -DDE	1	98.4	3.9	95.4	1.5
$p,p'$ -DDE	1	98.8	5.3	83.9	12
$o,p'$ -DDT	1	97.1	1.4	97.5	1.0
$p,p'$ -DDT	1	99.0	8.2	104	2.2
Aldrin	1	58.2	17	76.6	16
Endrin	1	91.4	10	81.9	7.2
Dieldrin	1	92.2	4.1	90.6	3.8
Heptachlor	1	96.5	6.4	71.6	11
Heptachlor epoxide	1	86.9	8.9	73.0	11
<i>trans</i> -Heptachlor epoxide	1	93.4	5.5	70.7	8.9

a) Mean ( $n=5$ )

b) Relative standard deviation of repeatability

### 3.9 対象農薬ピーク定性確認の検討

本法により得られるクロマトグラムにおける各農薬の対象ピークは微少であることから、夾雑ピークが対象ピークの近傍に出現し定性又は定量が困難な場合がある。このような場合、特性の違うキャピラリーカラムを用いてこれらのピークの出現時間や分離状況を確認し、定性及び定量が可能か検討した。3.7 でガスクロマトグラフに供した犬用ウェット製品 1 種及び猫用ウェット製品 1 種の試料溶液を 5 %ジフェニル-95 %ジメチルポリシロキサンコーティング (Agilent Technologies 製 DB-5, 内径 0.25 mm, 長さ 30 m, 膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ ) カラムを装着したガスクロマトグラフに供してクロマトグラムを得た。なお、ガスクロマトグラフの測定条件は本法によった。

結果は Fig. 4 のとおりであり、近傍の夾雑ピークと対象ピークはカラムの特性により出現時間が変化し、各ピークは分離することが確認された。また、定量の結果は Table 13 のとおりであり良好な回収率が得られた。これらのことから、本法により各農薬が検出された場合、キャピラリーカラムを DB-5 に変更し、本法のガスクロマトグラフの測定条件により得られたクロマトグラムを用いることにより各農薬の定性及び定量が可能と考えられた。

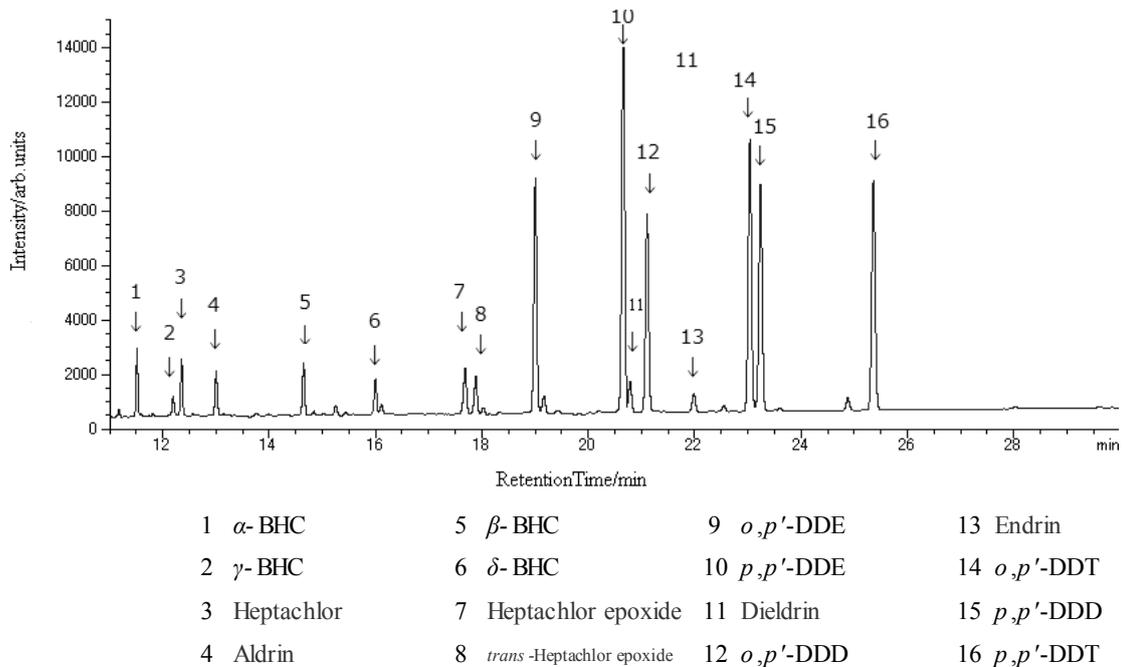


Fig. 4 Chromatogram of each pesticide used capillary column DB-5

Sample solution of wet dog food spiked 6 kinds of DDTs at 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  and other 10 pesticide at 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

Table 13 Recoveries of pesticides from wet type pet food used capillary column DB-5

Name	Spike level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	for dog		for cat	
		Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sup>b)</sup> (%)
$\alpha$ -BHC	2	86.8	2.3	85.4	6.2
$\beta$ -BHC	2	97.5	4.4	99.1	3.9
$\gamma$ -BHC	2	93.7	3.1	94.8	7.2
$\delta$ -BHC	2	97.2	6.0	95.7	6.7
<i>o,p'</i> -DDD	20	92.1	3.5	91.3	6.3
<i>p,p'</i> -DDD	20	109	2.7	111	4.3
<i>o,p'</i> -DDE	20	92.7	3.8	94.2	4.8
<i>p,p'</i> -DDE	20	92.5	3.6	93.0	5.0
<i>o,p'</i> -DDT	20	87.7	5.6	88.8	5.7
<i>p,p'</i> -DDT	20	118	4.4	116	4.4
Aldrin	2	70.1	1.5	85.2	5.4
Endrin	2	99.6	6.2	103	9.4
Dieldrin	2	94.8	5.6	99.2	4.1
Heptachlor	2	99.3	9.6	98.1	5.8
Heptachlor epoxide	2	102	8.3	95.6	5.7
<i>trans</i> -Heptachlor epoxide	2	90.0	7.2	86.3	3.2

a) Mean ( $n=3$ )

b) Relative standard deviation of repeatability

### 3.10 共同試験

本法の再現精度を調査するため、共通試料による共同試験を実施した。成犬用ウェット製品 A、成犬用ウェット製品 B 及び成猫用ウェット製品 C を用いて、財団法人日本食品分析センター、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、同名古屋センター、同神戸センター及び福岡センター（計 6 試験室）において本法に従って共同分析を実施した。各試験室において配布した試料に添加用標準液を一定量（添加濃度は不通知）添加し分析に供することとした。

BHC 類については Table 15 から 18 のとおりであり、ウェット製品中の基準値及び定量限界値相当量を添加した。 $\alpha$ -BHC の平均回収率が BHC 類の他の物質と比較して低い傾向にあったが、BHC 類 4 物質ともに室内及び室間再現精度は良好であり、結果は愛玩動物用飼料等の検査法第 9 章に定める回収率及び精度の目標値<sup>3)</sup>を満たした。

DDT 類については Table 19 から 24 のとおりであり、ウェット製品中の基準値、定量限界値及び定量限界値の 2 倍相当量を添加した。犬用ウェット製品で平均回収率が 97.0 ~ 110 % であり過回収となる傾向が確認されたが、得られた結果は DDT 類の全物質で目標とする回収率及び精度を満たした。

ドリノ類については Table 25 から 27 のとおりであり、ウェット製品中の基準値及び定量限界値相当量を添加した。アルドリンの回収率が成犬用ウェット製品 A において特に低く、最も低い測定値では回収率が 48.5 % であった。共同試験に用いた試料成犬用ウェット製品 A は、検討の中で添加回収試験に用いた試料「成犬用 2」と同一銘柄品（製造ロット及び試料調整日は別）

であるが、添加回収試験においても低回収率の傾向が確認されている。これら低回収率の原因は、検討の中で成犬用 2 の試料中に含まれる成分によって液液分配操作において損失が生じているものと考えられたが、共同試験に用いた成犬用ウェット製品 A ではその傾向が顕著であったと考えられた。エンドリン及びディルドリンにおいて結果は良好であり、アルドリンの回収率は低い結果ではあるものの目標とする回収率及び精度を満たした。

ヘプタクロル類については Table 28 から 30 のとおりであり、ウェット製品中のおおよその基準値、定量限界値相当量及び定量限界値の 2 倍相当量を添加した。ヘプタクロル類の全物質ともに室内及び室間再現精度は良好であり、目標とする回収率及び精度を満たした。

参考のため、各試験室で使用したガスクロマトグラフの機種等を Table 14 に示した。

Table 14 Instruments used in the collaborative study

Lab. No.	Instrument	GC column (i.d.×length,Filmthickness)
1	Agilent Technologies 6890N	Agilent Technologies DB-1701 (0.25 mm i.d.×30 m,0.25 µm)
2	Agilent Technologies 6890N	Agilent Technologies DB-1701 (0.25 mm i.d.×30 m,0.25 µm)
3	Agilent Technologies 6890N	Agilent Technologies DB-1701 (0.25 mm i.d.×30 m,0.25 µm)
4	Agilent Technologies 6890N	Agilent Technologies DB-1701 (0.25 mm i.d.×30 m,0.25 µm)
5	SHIMADZU GC-17A <sup>a)</sup> Agilent Technologies 6890N <sup>b)</sup>	Agilent Technologies DB-1701 (0.25 mm i.d.×30 m,0.25 µm)
6	Agilent Technologies 6890N	Agilent Technologies DB-1701 (0.25 mm i.d.×30 m,0.25 µm)

a) It was used to study of sample dogs B .

b) It was used to study of sample dogs A and cats C .

Table 15 Results of collaborative study ( $\alpha$ -BHC)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A		dogs B		cats C	
	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
1	1.39	1.49	0.703	0.700	1.41	1.33
2	1.35	1.52	0.664	0.626	1.68	1.50
3	1.30	1.23	0.647	0.664	1.21	1.25
4	1.44	1.44	0.715	0.676	1.52	1.55
5	1.34	1.51	0.709	0.691	1.42	1.29
6	1.83	1.78	0.870	0.890	1.59	1.71
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	1.47		0.713		1.45	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	73.4		71.3		72.7	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	5.4		2.6		5.4	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	13		12		12	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.58		0.55		0.53	

- 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 16 Results of collaborative study ( $\beta$ -BHC)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A		dogs B		cats C	
	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
1	1.66	1.67	0.929	0.871	1.67	1.59
2	1.88	1.96	1.02	1.02	2.01	2.03
3	1.98	1.96	1.03	0.929	2.03	1.99
4	1.91	1.88	0.982	0.931	1.89	1.82
5	1.72	1.87	1.09	1.00	1.93	1.85
6	2.12	2.14	1.14	1.16	2.00	2.07
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	1.90		1.01		1.91	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	94.8		101		95.4	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	2.7		4.4		2.4	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	8.5		9.1		8.3	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.39		0.41		0.38	

- 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 17 Results of collaborative study ( $\gamma$ -BHC)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A		dogs B		cats C	
	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
1	1.47	1.58	0.828	0.792	1.53	1.48
2	1.46	1.55	0.746	0.709	1.80	1.64
3	1.57	1.52	0.803	0.772	1.50	1.54
4	1.51	1.48	0.828	0.786	1.65	1.66
5	1.47	1.64	0.848	0.771	1.66	1.51
6	1.98	1.91	0.960	0.960	1.78	1.84
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	1.60		0.817		1.63	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	79.8		81.7		81.6	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	4.3		3.8		4.2	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	11		9.8		7.8	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.51		0.44		0.36	

- 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 18 Results of collaborative study ( $\delta$ -BHC)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A		dogs B		cats C	
	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
1	1.47	1.55	0.660	0.624	1.47	1.33
2	1.62	1.65	0.794	0.710	1.95	1.85
3	1.75	1.75	0.941	0.894	1.61	1.60
4	1.78	1.72	0.811	0.791	1.72	1.69
5	1.53	1.62	0.710	0.683	1.57	1.51
6	1.83	1.84	0.980	0.980	1.83	1.91
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	1.68		0.798		1.67	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	83.8		79.8		83.5	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	2.4		3.9		3.5	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	7.5		16		12	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.34		0.75		0.54	

- 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 19 Results of collaborative study (*o,p'*-DDD)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		dogs B ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		cats C ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
1	19.0	18.3	1.05	0.955	1.75	1.58
2	21.5	21.2	1.11	1.16	2.02	2.00
3	22.5	22.7	1.14	0.951	1.99	2.21
4	19.2	19.5	1.11	1.10	1.97	1.99
5	18.9	21.3	1.10	1.14	1.98	1.93
6	21.4	21.7	1.17	1.16	1.95	2.18
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	20		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	20.6		1.10		1.96	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	103		110		98.1	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	3.6		5.8		5.3	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	7.7		6.9		8.8	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.35		0.31		0.40	

- 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 20 Results of collaborative study (*p,p'*-DDD)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		dogs B ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		cats C ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
1	19.5	18.2	1.02	0.866	1.71	1.55
2	21.4	21.7	0.830	0.908	1.96	1.85
3	22.2	22.6	1.16	1.04	1.90	2.12
4	19.6	19.3	0.981	0.991	1.93	1.98
5	18.2	19.8	1.10	1.14	2.08	2.02
6	21.3	20.6	1.08	1.12	1.97	2.06
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	20		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	20.4		1.02		1.93	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	102		102		96.4	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	3.2		6.1		4.8	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	7.6		11		8.7	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.34		0.50		0.40	

- 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 21 Results of collaborative study (*o,p'*-DDE)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A		dogs B		cats C	
	(μg/kg)		(μg/kg)		(μg/kg)	
1	18.0	17.9	0.983	0.899	1.64	1.54
2	20.4	20.3	0.957	0.922	2.00	1.86
3	22.0	21.5	1.07	0.902	1.81	2.01
4	16.8	17.6	0.914	0.851	1.72	1.73
5	18.1	19.8	1.05	1.01	2.00	1.91
6	20.1	20.2	1.17	1.17	1.82	1.87
Spiked level (μg/kg)	20		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> (μg/kg)	19.4		0.991		1.83	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	97.0		99.1		91.3	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	2.9		5.9		4.5	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	8.9		11		8.4	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.40		0.50		0.38	

- 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 22 Results of collaborative study (*p,p'*-DDE)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A		dogs B		cats C	
	(μg/kg)		(μg/kg)		(μg/kg)	
1	18.9	18.4	1.07	0.935	1.76	1.68
2	19.7	20.9	0.849	0.808	1.94	1.86
3	21.5	21.7	1.11	0.949	1.73	1.97
4	17.4	17.7	1.06	1.04	1.88	1.92
5	17.4	19.5	1.09	1.08	2.04	1.93
6	20.1	20.7	1.14	1.17	1.97	2.06
Spiked level (μg/kg)	20		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> (μg/kg)	19.5		1.03		1.89	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	97.5		103		94.7	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	3.8		6.2		4.7	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	8.2		12		6.5	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.37		0.53		0.29	

- 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 23 Results of collaborative study (*o,p'*-DDT)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A ( $\mu\text{g/kg}$ )		dogs B ( $\mu\text{g/kg}$ )		cats C ( $\mu\text{g/kg}$ )	
1	19.0	17.5	1.19	1.05	1.94	1.78
2	20.5	20.9	0.840	0.849	1.89	1.84
3	23.0	23.3	1.20	1.02	1.99	2.27
4	17.7	17.9	0.833	0.871	1.76	1.74
5	17.8	19.6	1.00	1.05	2.11	2.16
6	21.2	20.2	1.18	1.17	1.96	2.06
Spiked level ( $\mu\text{g/kg}$ )	20		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g/kg}$ )	19.9		1.02		1.96	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	99.4		102		97.9	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	3.8		6.7		5.1	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	11		15		8.9	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.48		0.67		0.40	

- 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 24 Results of collaborative study (*p,p'*-DDT)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A ( $\mu\text{g/kg}$ )		dogs B ( $\mu\text{g/kg}$ )		cats C ( $\mu\text{g/kg}$ )	
1	19.8	18.2	0.954	0.896	1.69	1.67
2	20.5	20.5	0.709	0.696	1.86	1.69
3	22.8	23.9	1.27	1.16	2.03	2.39
4	17.9	18.7	1.00	1.02	1.75	1.81
5	17.1	18.7	1.00	1.04	2.11	2.25
6	21.6	20.4	1.19	1.18	2.02	2.19
Spiked level ( $\mu\text{g/kg}$ )	20		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g/kg}$ )	20.0		1.01		1.96	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	100		101		97.8	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	4.2		3.8		6.8	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	11		19		13	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.48		0.85		0.59	

- 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 25 Results of collaborative study (Aldrin)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A		dogs B		cats C	
	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
1	1.22	1.25	0.839	0.791	1.49	1.41
2	1.16	1.28	0.724	0.670	1.67	1.54
3	1.25	1.22	0.656	0.671	1.24	1.26
4	1.35	1.35	0.793	0.738	1.57	1.55
5	0.970	1.24	0.856	0.881	1.60	1.45
6	1.37	1.28	0.880	0.870	1.62	1.62
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	1.25		0.781		1.50	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	62.3		78.1		75.1	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	7.2		3.5		4.2	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	8.7		12		9.5	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.39		0.53		0.43	

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 26 Results of collaborative study (Endrin)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A		dogs B		cats C	
	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
1	1.97	1.80	1.25	1.08	1.91	1.77
2	1.75	1.80	0.998	0.882	2.10	2.04
3	2.18	2.22	1.18	1.02	1.93	1.94
4	1.98	1.87	1.06	1.08	1.98	2.00
5	1.82	1.93	1.27	1.17	2.05	2.13
6	2.34	2.35	1.06	1.10	2.09	2.14
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2.00		1.10		2.01	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	100		110		100	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	3.5		7.5		2.6	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	11		10		5.6	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.51		0.46		0.25	

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 27 Results of collaborative study (Dieldrin)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A		dogs B		cats C	
	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
1	1.66	1.62	0.978	0.920	1.75	1.62
2	1.65	1.69	0.834	0.790	1.86	1.85
3	2.08	2.12	1.13	0.995	1.91	1.88
4	1.90	1.87	0.992	1.01	1.91	1.94
5	1.75	2.03	1.12	1.12	2.05	1.98
6	2.20	2.16	1.00	1.05	2.04	2.16
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	1.89		0.995		1.91	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	94.7		99.5		95.6	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	4.5		4.7		3.0	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	12		11		7.7	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.54		0.51		0.35	

- 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 28 Results of collaborative study (Heptachlor)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A		dogs B		cats C	
	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
1	1.70	1.70	0.981	0.885	1.65	1.54
2	1.42	1.54	0.756	0.710	1.70	1.62
3	2.04	1.95	0.828	0.820	1.59	1.61
4	1.71	1.74	0.880	0.818	1.74	1.79
5	1.66	1.82	1.05	1.03	1.79	1.79
6	1.93	1.93	1.00	1.02	1.79	1.87
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	1.76		0.898		1.71	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	88.1		89.8		85.3	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	3.6		4.1		2.8	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	11		13		6.3	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.49		0.61		0.28	

- 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 29 Results of collaborative study (Heptachlor epoxide)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A		dogs B		cats C	
	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
1	1.66	1.67	0.894	0.836	1.63	1.56
2	1.75	1.81	0.825	0.811	1.98	1.81
3	2.01	1.97	1.00	0.887	1.77	1.79
4	1.81	1.84	0.941	0.945	1.86	1.88
5	1.52	1.66	1.15	1.11	1.39	1.32
6	1.89	1.86	1.06	1.14	1.72	1.75
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	1.79		0.967		1.70	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	89.4		96.7		85.2	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	2.6		4.8		3.4	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	8.3		13		12	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.38		0.61		0.55	

- 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 30 Results of collaborative study (*trans*-Heptachlor epoxide)

Laboratory No.	Pet food types (wet type for)					
	dogs A		dogs B		cats C	
	( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )		( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
1	1.68	1.66	0.914	0.850	1.65	1.57
2	1.71	1.74	0.815	0.834	1.97	1.85
3	2.00	2.00	1.06	0.913	1.82	1.84
4	1.79	1.76	0.937	0.909	1.81	1.91
5	1.69	1.78	1.17	1.14	1.88	1.83
6	1.92	2.00	1.11	1.17	1.57	1.65
Spiked level ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	2		1		2	
Mean value <sup>a)</sup> ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	1.81		0.985		1.78	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	90.5		98.5		88.9	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	2.1		5.1		3.2	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	7.6		14		7.8	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	22		22		22	
HorRat	0.35		0.65		0.36	

- 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

#### 4 まとめ

愛玩動物用飼料中の 16 種類の有機塩素系農薬 (BHC 類 4 種類 ( $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC 及び  $\delta$ -BHC), DDT 類 6 種類 ( $o,p'$ -DDD,  $p,p'$ -DDD,  $o,p'$ -DDE,  $p,p'$ -DDE,  $o,p'$ -DDT 及び  $p,p'$ -DDT)), ドリン類 3 種類 (アルドリン, エンドリン及びディルドリン) 及びヘプタクロル類 3 種類 (ヘプタクロル, ヘプタクロルエポキシド及び *trans*-ヘプタクロルエポキシド) について, ドライ製品法を基にガスクロマトグラフによる同時定量法を検討し, 愛玩動物用飼料等の検査法への適用の可否について検討したところ, 次の結果を得た.

- 1) 検討した全ての農薬の検量線は 0.005~0.5 ng 相当量 (注入量として 0.005~0.5 ng) の範囲で直線性を示した.
- 2) ウェット製品の抽出液は, 抽出液を 50 mL 以下に濃縮した後, ヘキサン-酢酸エチル (1+1) を加えて液々分配することにより水分及び水溶性夾雑物が除去され, 濃縮乾固操作時の突沸とエマルジョンの発生を防止できた.
- 3) 多孔性ケイソウ土カラムでは, ヘキサン 100 mL で全ての農薬が溶出した.
- 4) ゲル浸透クロマトグラフでは溶出画分 75~100 mL で全ての農薬が溶出した.
- 5) ミニカラムによる精製に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 (500 mg/500 mg) 及び合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (5 g) を用いることにより十分な精製効果が得られた.
- 6) 試験法の妥当性を確認するため犬用ウェット製品 2 種類及び猫用ウェット製品 2 種類に DDT 類 6 種類については各 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量, その他の農薬 10 種類については各 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量を添加した場合及び犬用ウェット製品 1 種類及び猫用ウェット製品 1 種類に全ての農薬を各 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量添加した場合の添加回収試験を実施した結果, いずれの場合でも全ての農薬で愛玩動物用飼料等の検査法に定める真度及び精度を満たしていた.
- 7) 本法による定量下限は各農薬ともに, 試料 (原物) 中で 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 検出下限は 0.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  であった.
- 8) 夾雑ピークにより定性又は定量が困難な場合, ガスクロマトグラフのキャピラリーカラムを DB-5 に変更し, 本法の測定条件により測定することにより定性及び定量が可能と考えられた.
- 9) 本法の再現精度を確認するため犬用ウェット製品 2 種類及び猫用ウェット製品 1 種類を用いて 6 試験室において本法に従い共同試験を実施した. その結果, BHC 類 4 種類については, 各試料に試料 (原物) 中で 1~2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量を添加したところ, 平均回収率は 71.3~101 %, その繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ相対標準偏差 ( $\text{RSD}_f$  及び  $\text{RSD}_R$ ) として 5.4 % 及び 16 % 以下であり,  $\text{HorRat}$  は 0.34~0.75 であった. DDT 類 6 種類については, 各試料に試料 (原物) 中で 1~20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量を添加したところ, 平均回収率は 91.3~110 %, その繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ  $\text{RSD}_f$  及び  $\text{RSD}_R$  として 6.8 % 及び 19 % 以下であり,  $\text{HorRat}$  は 0.29~0.85 であった. ドリン類 3 種類 (アルドリン, エンドリン及びディルドリン) については, 各試料に試料 (原物) 中で 1~2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量を添加したところ, 平均回収率は 62.3~110 %, その繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ  $\text{RSD}_f$  及び  $\text{RSD}_R$  として 7.5 % 及び 12 % 以下であり,  $\text{HorRat}$  は 0.25~0.54 であった. ヘプタクロル類 3 種類 (ヘプタクロル, ヘプタクロルエポキシド及び *trans*-ヘプタクロルエポキシド) については, 各試料に試料 (原物) 中で 1~2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  相当量を添加したところ, 平均回収率は 85.3~98.5 %, その繰返し精度及び室間再現精度はそれぞれ  $\text{RSD}_f$  及び  $\text{RSD}_R$  として 5.1 % 及び 14 % 以下であり,  $\text{HorRat}$  は 0.28~0.65 であった.

## 謝 辞

共同試験に参加していただいた財団法人日本食品分析センター多摩研究所における関係者各位に感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 農林水産省令・環境省令：愛玩動物用飼料の成分規格等に関する省令，平成 21 年 4 月 28 日，農林水産省令・環境省令第 1 号 (2009).
- 2) 農林水産省令・環境省令：愛玩動物用飼料の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令，平成 23 年 9 月 1 日，農林水産省令・環境省令第 3 号 (2011).
- 3) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター理事長通知：「愛玩動物用飼料等の検査法」の制定について，平成 21 年 9 月 1 日，21 消技第 1764 号 (2009).
- 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) 社団法人日本植物防疫協会，農薬ハンドブック 2005 年度版編集委員会編集：農薬ハンドブック 2005 年度版
- 6) 一般財団法人化学物質評価研究機構：平成 22 年度愛玩動物用飼料安全確保調査等委託事業報告書，(2009).
- 7) 農薬残留分析法研究班（武田 明治，小田中 芳次，小松 一裕，前川 吉明）編：最新 農薬の残留分析法 [改訂版]，中央法規出版，946-947 (2006).