

※ 本報告書は、試験法開発における検討結果を取りまとめたものであり、試験法の実施に際しての参考としてください。なお、報告書の内容と通知又は告示試験法との間に齟齬がある場合には、通知又は告示試験法が優先することに御留意ください。

# 食品に残留する農薬等の成分である物質の 試験法開発事業報告書

## MCPA試験法 (畜水産物)

## MCPA 試験法(畜水産物)の検討結果

[緒言]

### 1. 目的

MCPA は、フェノキシ系の除草剤である。オーキシン様作用により植物の細胞分裂を活性化して異常成長を発生させ、除草効果を示すと考えられている。

今般、魚介類への基準値設定依頼が農林水産省からなされたこと及び海外機関から「国外で使用される農薬等に係る残留基準の設定及び改正に関する指針について」に基づく残留基準の設定要請がなされたことに伴い、食品安全委員会において食品健康影響評価がなされたことを踏まえ、農薬・動物用医薬品部会において基準値が見直された。<sup>1)</sup>

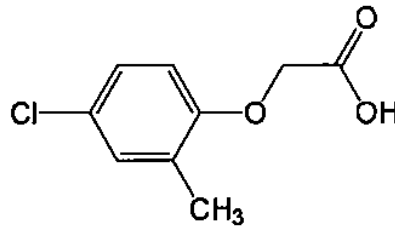
本検討においては、薬事食品衛生審議会食品衛生分科会報告書に記載されている内容を踏まえ、畜水産物中の MCPA 試験法の開発を行った。

### 2. 分析対象化合物の構造式及び物理化学的性質

分析対象化合物：MCPA

IUPAC 名：4-Chloro-*o*-tolylloxyacetic acid

構造式：



分子式：C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>ClO<sub>3</sub>

分子量：200.62

溶解度：水 734 mg/L、メタノール 775.6 g/L、エタノール 1530 g/L、プロパノール 425.6 g/L、*n*-オクタノール 218.3 g/L、アセトン 487.8 g/L、酢酸エチル 289.3 g/L、ジエチルエーテル 770 g/L、ジクロロメタン 69.2 g/L、トルエン 26.5 g/L、キシレン 49 g/L、ヘプタン 5 g/L、*n*-ヘキサン 0.323 g/L (25°C)

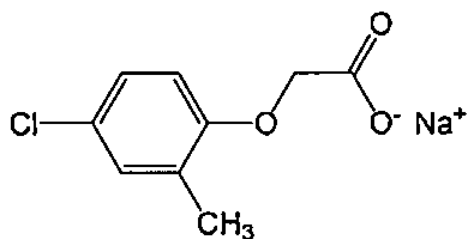
分配係数：logP<sub>ow</sub>= 2.7~2.8 (pH 1)、0.28~0.59 (pH 5)、-0.81~-0.71 (pH 7)、-1.07~-0.88 (pH 9) (25°C)

酸解離定数：pK<sub>a</sub>=3.73 (25°C)

分析対象化合物：MCPA ナトリウム塩

IUPAC 名：Sodium 4-chloro-*o*-tolylloxyacetate

構造式：



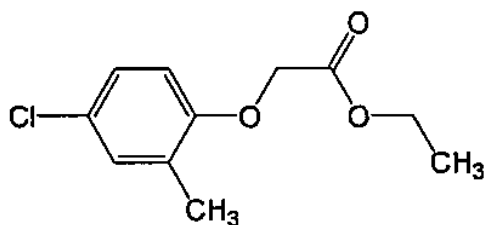
分子式：C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>ClNaO<sub>3</sub>

分子量：222.60

分析対象化合物：MCPA エチル

IUPAC 名：Ethyl 4-chloro-*o*-tolylxyacetate

構造式：



分子式：C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>ClO<sub>3</sub>

分子量：228.67

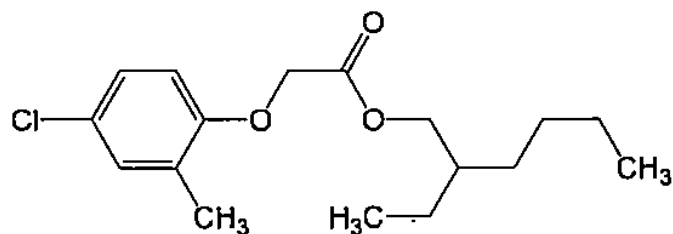
溶解度：水 6.56×10<sup>-2</sup> g/L (20°C)

分配係数：logP<sub>ow</sub>= 3.44 (20°C)

分析対象化合物：MCPA 2-エチルヘキシルエステル

IUPAC 名：(*RS*)-2-Ethylhexyl 4-chloro-*o*-tolylxyacetate

構造式：



分子式：C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>ClO<sub>3</sub>

分子量：312.83

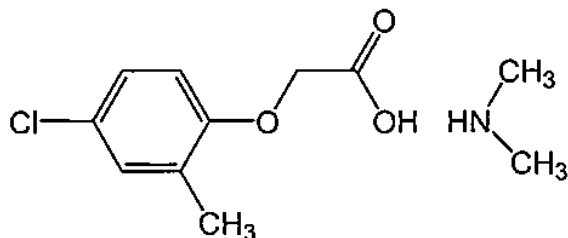
溶解度：水 <1.25×10<sup>-4</sup> g/L、アセトン、1, 2-ジクロロエタン、酢酸エチル、*n*-ヘプタン、メタノール、*p*-キシレン >1000 g/L

分配係数：logP<sub>ow</sub>= 6.80

分析対象化合物：MCPA ジメチルアミン塩

IUPAC 名：Dimethylamine 2-(4-chloro-2-methylphenoxy)acetate

構造式：



分子式：C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>ClNO<sub>3</sub>

分子量：245.70

MCPA ジメチルアミン塩については標準品を入手することができなかった。

出典：Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR) 評価書

The Pesticide Manual 12th edition, British Crop Protection Council

食品安全委員会 農薬評価書「MCPA」

### 3. 基準値（畜水産物のみの抜粋）

食品名	基準値 (ppm)
牛の筋肉	0.1
豚の筋肉	0.1
その他の陸棲哺乳類に属する動物の筋肉	0.1
牛の脂肪	0.2
豚の脂肪	0.2
その他の陸棲哺乳類に属する動物の脂肪	0.2
牛の肝臓	3
豚の肝臓	3
その他の陸棲哺乳類に属する動物の肝臓	3
牛の腎臓	3
豚の腎臓	3
その他の陸棲哺乳類に属する動物の腎臓	3
牛の食用部分	3

豚の食用部分	3
その他の陸棲哺乳類に属する動物の食用部分	3
乳	0.04
鶏の筋肉	0.05
その他の家きんの筋肉	0.05
鶏の脂肪	0.05
その他の家きんの脂肪	0.05
鶏の肝臓	0.05
その他の家きんの肝臓	0.05
鶏の腎臓	0.05
その他の家きんの腎臓	0.05
鶏の食用部分	0.05
その他の家きんの食用部分	0.05
鶏の卵	0.05
その他の家きんの卵	0.05
魚介類	0.03

施行通知 生食発 1217 第 1 号（令和 3 年 12 月 17 日）

MCPA とは、MCPA 並びにその塩、エステル体及び加水分解により MCPA に変換される代謝物を MCPA に換算したものの和とする。

#### [実験方法]

##### 1. 試料

東京都内の小売店で購入した。試料の調製方法を以下に示した。

###### 1) 牛の筋肉

可能な限り脂肪層を除き、細切した後、フードプロセッサーを用いて均一化した。

###### 2) 牛の脂肪

可能な限り筋肉層を除き、細切した後、フードプロセッサーを用いて均一化した。

###### 3) 牛の肝臓

細切した後、フードプロセッサーを用いて均一化した。

###### 4) 牛乳

よく攪拌して均一化した。

###### 5) うなぎ

頭を除いた可食部（内臓、骨及び皮を含む）を細切した後、フードプロセッサーを用いて均一化した。

###### 6) しじみ

殻を除去し、得られたむき身を金網にのせ、約 5 分間水切りを行った後、フードプロセッサーを用いて均一化した。

## 7) 鶏卵

殻を除去し、フードプロセッサーを用いて均一化した。

## 2. 試薬・試液

MCPA 標準品：純度 95.0% (関東化学)

MCPA ナトリウム塩標準品：純度 94.55% (Dr. Ehrenstorfer)

MCPA エチル標準品：純度 99.7% (Dr. Ehrenstorfer)

MCPA 2-エチルヘキシルエステル標準品：純度 99.2% (シグマアルドリッチ)

アセトニトリル：LC/MS 用 (富士フイルム和光純薬)

アセトン：残留農薬試験用 (富士フイルム和光純薬)

エタノール：残留農薬試験用 (関東化学)

塩酸：特級 (富士フイルム和光純薬)

ギ酸：LC/MS 用 (富士フイルム和光純薬)

1 mol/L ギ酸アンモニウム溶液：高速液体クロマトグラフ用 (富士フイルム和光純薬)

1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液：高速液体クロマトグラフ用 (富士フイルム和光純薬)

酢酸エチル：残留農薬試験用 (関東化学)

水酸化ナトリウム：特級 (関東化学)

*n*-ヘキサン：残留農薬試験用 (富士フイルム和光純薬)

水：超純水装置 Milli-Q Integral 5 (メルク) で精製したもの

メタノール：残留農薬試験用 (関東化学)

メタノール：LC/MS 用 (富士フイルム和光純薬)

ミニカラム：InertSep SAX (500 mg/6 mL) (ジーエルサイエンス)

### 標準原液

MCPA 標準品 10.5 mg を精秤し、アセトンに溶解して正確に 50 mL とし、MCPA 200 mg/L 溶液を調製した。

MCPA ナトリウム塩標準品 11.1 mg を精秤し、メタノールに溶解して正確に 50 mL とし、MCPA ナトリウム塩 200 mg/L (MCPA 換算値) 溶液を調製した。

MCPA エチル標準品 11.4 mg を精秤し、アセトンに溶解して正確に 50 mL とし、MCPA エチル 200 mg/L (MCPA 換算値) 溶液を調製した。

MCPA 2-エチルヘキシルエステル標準品 15.6 mg を精秤し、アセトンに溶解して正確に 50 mL とし、MCPA 200 mg/L (MCPA 換算値) 溶液を調製した。

検量線用標準溶液：MCPA 標準原液をアセトニトリル及び水 (1 : 4) 混液で適宜希釈し、0.00005~0.0003 mg/L (定量限界値相当濃度の添加回収試験用)、0.0005~0.003 mg/L (牛の筋肉、牛乳、鶏卵、うなぎ、しじみの基準値相当濃度の添加回収試験用) 及び 0.00125~0.0075 mg/L (牛の脂肪、肝臓の基準値相当濃度の添加回収試験用) の濃度の溶液を調製した。

### 添加用標準溶液

① 定量限界値相当濃度 (添加濃度 0.01 ppm)

MCPA 標準原液をアセトンで希釈し、0.1 mg/L の溶液を調製した。

## ②基準値相当濃度

### a. 牛の筋肉（添加濃度 0.1 ppm）

MCPA 標準原液をアセトンで希釈し、1 mg/L の溶液を調製した。

### b. 牛の脂肪（添加濃度 0.2 ppm）

MCPA 標準原液をアセトンで希釈し、2 mg/L の溶液を調製した。

### c. 牛の肝臓（添加濃度 3 ppm）

MCPA 標準原液をアセトンで希釈し、30 mg/L の溶液を調製した。

### d. 牛乳（添加濃度 0.04 ppm）

MCPA 標準原液をアセトンで希釈し、0.4 mg/L の溶液を調製した。

### e. 鶏卵（添加濃度 0.05 ppm）

MCPA 標準原液をアセトンで希釈し、0.5 mg/L の溶液を調製した。

### f. うなぎ、しじみ（添加濃度 0.03 ppm）

MCPA 標準原液をアセトンで希釈し、0.3 mg/L の溶液を調製した。

## 3. 装置

ホモジナイザー：マルチディスペンサー PB-95（シャフト：HG-2）（SMT COMPANY）

フードプロセッサー：MK-K58（パナソニック）

濃縮装置：有機溶媒回収装置 V-703（BUCHI）

遠心分離器：ユニバーサル冷却遠心機 5930（久保田商事）

ウォーターバス：EW-100R（アズワン）

## LC-MS/MS

装置	型式	会社
MS	8060	島津製作所
LC	Prominence	島津製作所
データ処理	LC solution	島津製作所

## 4. 測定条件

### LC-MS/MS

LC 条件	
カラム	Inertsil ODS-3（内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 μm : GL サイエンス）
移動相流速（mL/min）	0.20
注入量（μL）	5
カラム温度（℃）	40
移動相	A 液：0.1 vol%ギ酸溶液

	<p>B 液 : アセトニトリル</p> <p>加水分解条件検討時</p> <p>A 液 : 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液</p> <p>B 液 : 5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液</p>																																				
グラジエント条件	<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>A 液 (%)</th> <th>B 液 (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>15.0</td> <td>20</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>25.0</td> <td>20</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>25.5</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>35.0</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> </tbody> </table> <p>加水分解条件検討時</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>A 液 (%)</th> <th>B 液 (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>10.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>20.0</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> <tr> <td>20.5</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>30.0</td> <td>90</td> <td>10</td> </tr> </tbody> </table>	時間 (分)	A 液 (%)	B 液 (%)	0.0	80	20	15.0	20	80	25.0	20	80	25.5	80	20	35.0	80	20	時間 (分)	A 液 (%)	B 液 (%)	0.0	90	10	10.0	10	90	20.0	10	90	20.5	90	10	30.0	90	10
時間 (分)	A 液 (%)	B 液 (%)																																			
0.0	80	20																																			
15.0	20	80																																			
25.0	20	80																																			
25.5	80	20																																			
35.0	80	20																																			
時間 (分)	A 液 (%)	B 液 (%)																																			
0.0	90	10																																			
10.0	10	90																																			
20.0	10	90																																			
20.5	90	10																																			
30.0	90	10																																			
MS 条件																																					
測定モード	SRM (選択反応モニタリング)																																				
イオン化モード	<p>ESI (-) : MCPA</p> <p>加水分解検討時</p> <p>ESI (+) : MCPA エチル、MCPA 2-エチルヘキシルエステル</p>																																				
ネブライザーガス流量	3 L/min (窒素)																																				
ドライイングガス流量	10 L/min (窒素)																																				
ヒーティングガス流量	10 L/min (窒素)																																				
インターフェース電圧	+4.0 KV																																				
インターフェース温度	300°C																																				
脱溶媒温度	526°C																																				
コリジョンガス	アルゴン																																				
DL 電圧	0 V																																				

DL 温度	250℃
ヒートブロック温度	400℃
定量イオン ( $m/z$ )	MCPA : 198.9→141.0 [CE : 14 (eV)]  加水分解検討時 MCPA エチル : 246.0→125.1 [CE : 33 (eV)] MCPA 2-エチルヘキシルエステル : 330.1→155.1 [CE : 20 (eV)]
定性イオン ( $m/z$ )	MCPA : 200.7→143.0 [CE : 15 (eV)]  加水分解検討時 MCPA エチル : 246.0→155.1 [CE : 17 (eV)] MCPA 2-エチルヘキシルエステル : 330.1→201.1 [CE : 11 (eV)]
保持時間	MCPA : 11.5 分  加水分解検討時 MCPA : 8.5 分 MCPA エチル : 10.5 分 MCPA 2-エチルヘキシルエステル : 13.5 分

CE : Collision Energy

## 5. 定量

MCPA 標準原液をアセトニトリル及び水 (1 : 4) 混液で希釈して 0.00005~0.0003 mg/L (定量限界値相当濃度の添加回収試験用)、0.0005~0.003 mg/L (牛の筋肉、牛乳、鶏卵、うなぎ、しじみの基準値相当濃度の添加回収試験用) 及び 0.00125~0.0075 mg/L (牛の脂肪、肝臓の基準値相当濃度の添加回収試験用) の濃度の溶液を調製した。この溶液 5  $\mu$ L を LC-MS/MS に注入して、得られた ピーク面積を用いて絶対検量線法により検量線を作成した。同様に試験溶液 5  $\mu$ L を LC-MS/MS に注入し、得られたピーク面積を用いて、作成した検量線から試料中の MCPA の含量を算出した。

## 6. 試験溶液の調製

### 1) 添加試料の調製

試料 10.0 g に添加用標準溶液 1 mL を添加しよく混合した後、30 分間放置した。牛の脂肪の場合は、試料 10.0 g を 40℃で加温して融解し、添加用標準溶液 1 mL を添加しよく混合した後、再凝固してから 30 分間放置した。

### 2) 抽出

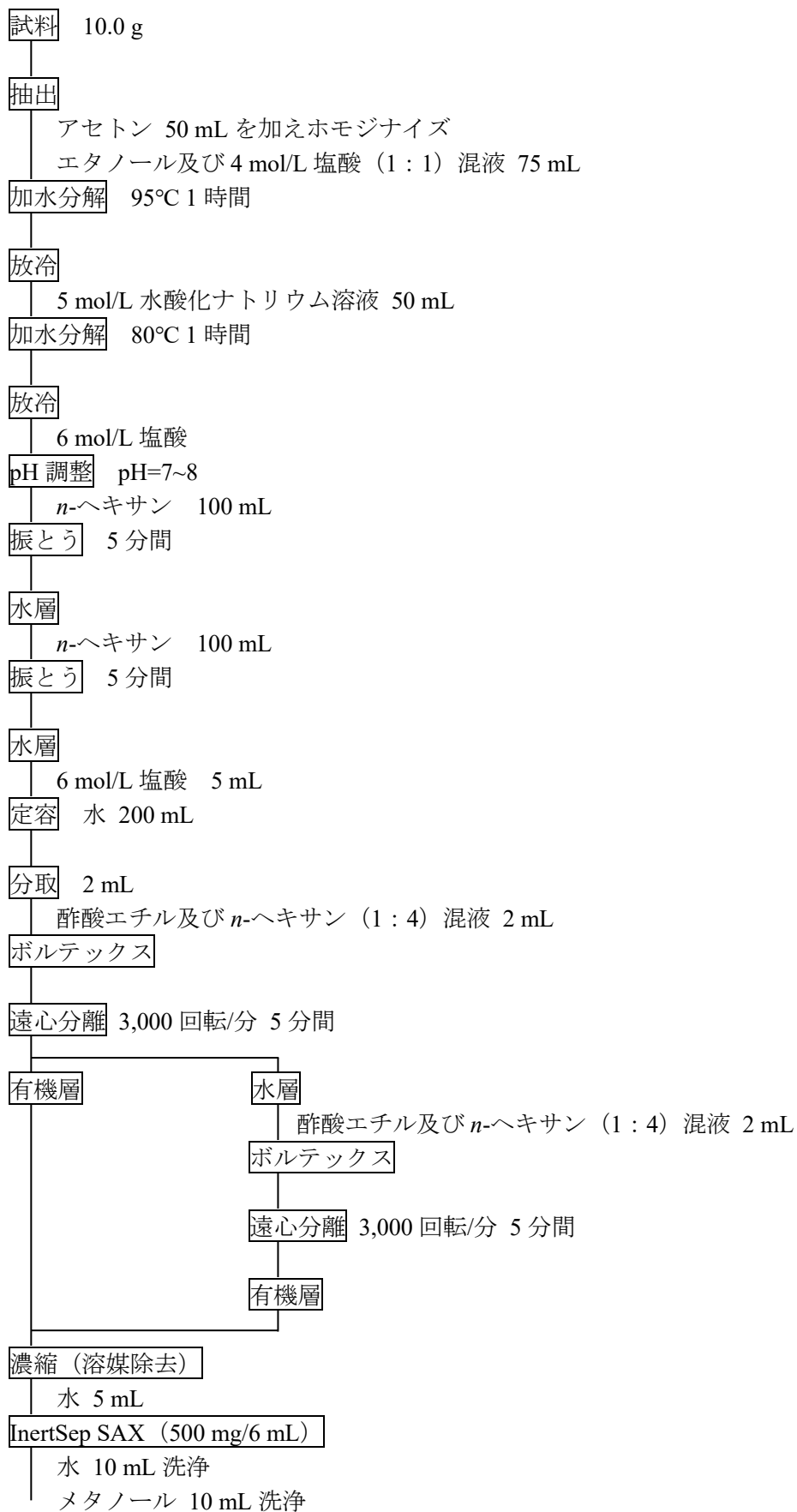
試料 10.0 g をナス型フラスコにはかり取り、アセトン 50 mL を加え、ホモジナイズした後、エタノール及び 4 mol/L 塩酸 (1 : 1) 混液 75 mL を加え、還流冷却器をつけて水浴で 95℃で 1 時間加熱した。放冷した後、5 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 50 mL を加え、還流冷却器をつけて、80℃で 1 時

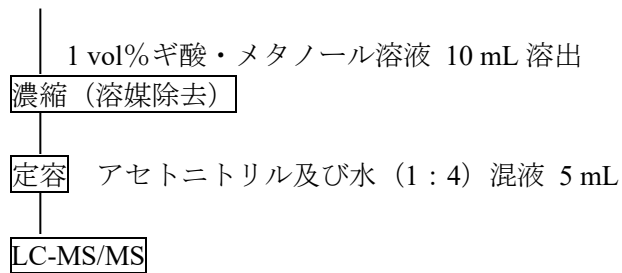
間加熱した。放冷した後、6 mol/L 塩酸を加え pH を 7~8 に調整した。この溶液を吸引ろ過し、分液ろうとに移してから *n*-ヘキサン 100 mL ずつを加えて 2 回振とうした後、水層を採り、6 mol/L 塩酸 5 mL 及び水を加えて正確に 200 mL とした。この溶液から正確に 2 mL を採り、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 2 mL を加えてボルテックスミキサーで攪拌した後、3,000 回転で 5 分間遠心分離し、酢酸エチル及び *n*-ヘキサンの層を採った。水層に酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 2 mL を加えて上記と同様に操作し、酢酸エチル/*n*-ヘキサン層を合わせ、40°C以下で濃縮し溶媒を除去した。この残留物に水 5 mL を加えて溶かした。

### 3) 精製

InertSep SAX (500 mg/6 mL) にメタノール 10 mL、水 10 mL を順次注入し、流出液は捨てた。このカラムに 2) で得られた溶液を注入した後、水 10 mL、メタノール 10 mL を順次注入し、流出液は捨てた。次いで、1 vol%ギ酸・メタノール溶液 10 mL を注入し、溶出液を 40°C以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物をアセトニトリル及び水 (1 : 4) 混液に溶かし、正確に 5 mL としたものを試験溶液とした。

[分析法フローチャート]





#### 7. マトリックス添加標準溶液の調製

各検討対象食品のブランク試験溶液 0.2 mL を採り、窒素気流下で溶媒を除去した後、添加回収試験における回収率 100%相当濃度の溶媒標準溶液 0.2 mL を加えて溶解したものをマトリックス添加標準溶液とした。

## [結果及び考察]

### 1. 測定条件の検討

#### 1) MS 条件の検討

イオン化モードを選択するために MCPA 標準溶液、MCPA エチル標準溶液、MCPA 2-エチルヘキシルエステル標準溶液のインフュージョン測定を行ったところ、ESI (-) モードにおいて MCPA の脱プロトン化分子である  $m/z$  198.9[M-H]<sup>-</sup>及びその同位体である  $m/z$  200.7[M-H]<sup>-</sup>が検出された。また、ESI (+) モードにおいて MCPA エチルのアンモニア付加体である  $m/z$  246.0[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>及び MCPA 2-エチルヘキシルエステルのアンモニア付加体である  $m/z$  330.1[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>が検出された。このときのマススペクトルを図 1, 2 及び 3 に示す。

MCPA の脱プロトン化分子である  $m/z$  198.9[M-H]<sup>-</sup>をプリカーサーイオンとした場合のプロダクトイオンスペクトルを図 4 に示した。 $m/z$  141.0 が非常に高い強度で検出されたが、それ以外は検出されなかった。そこで、MCPA の同位体の脱プロトン化分子である  $m/z$  200.7 [M-H]<sup>-</sup>をプリカーサーイオンとした場合のプロダクトイオンスペクトルを確認したところ、図 5 に示したとおり、 $m/z$  143.0 が高い強度で検出された。この結果から、MCPA については  $m/z$  198.9→141.0 を定量用  $m/z$  200.7→143.0 を定性用の測定イオンとした。

MCPA エチルのアンモニア付加体である  $m/z$  246.0[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>をプリカーサーイオンとした場合のプロダクトイオンスペクトルを図 6 及び図 7 に示した。 $m/z$  155.1 が非常に高い強度で検出され、次いで  $m/z$  125.1 が検出されたが、 $m/z$  246.0→155.1 ではグラジエント測定した場合にベースラインが安定しなかったため、 $m/z$  246.0→125.1 を定量用  $m/z$  246.0→155.1 を定性用の測定イオンとした。

MCPA 2-エチルヘキシルエステルのアンモニア付加体である  $m/z$  330.1[M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>をプリカーサーイオンとした場合のプロダクトイオンスペクトルを図 8 及び図 9 に示した。 $m/z$  155.1 が非常に高い強度で検出され、次いで  $m/z$  201.1 が検出されたため、 $m/z$  330.1→155.1 を定量用  $m/z$  330.1→201.1 を定性用の測定イオンとした。

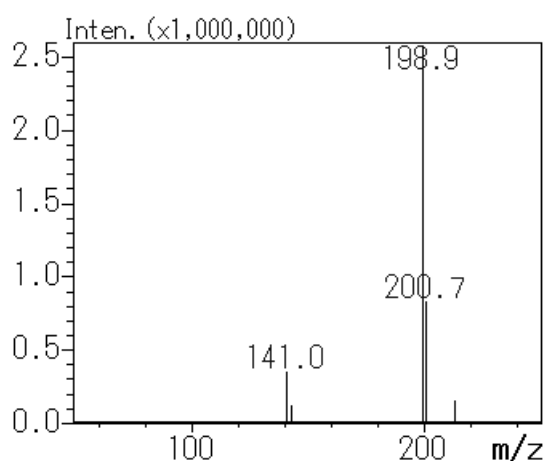


図 1 MCPA 標準溶液のマススペクトル  
スキャン範囲：50~400 amu  
測定条件：ESI-

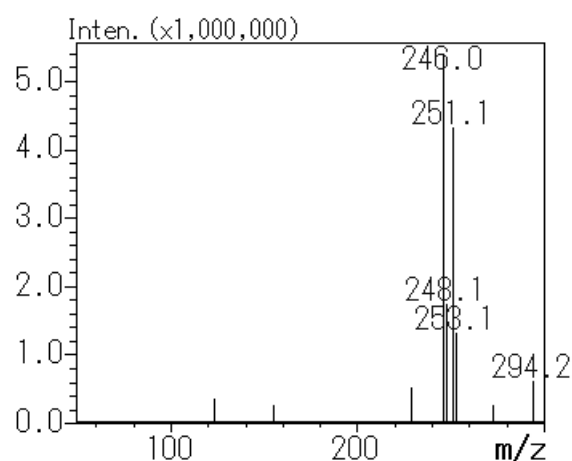


図 2 MCPA エチル標準溶液のマススペクトル  
スキャン範囲：50~400 amu  
測定条件：ESI+

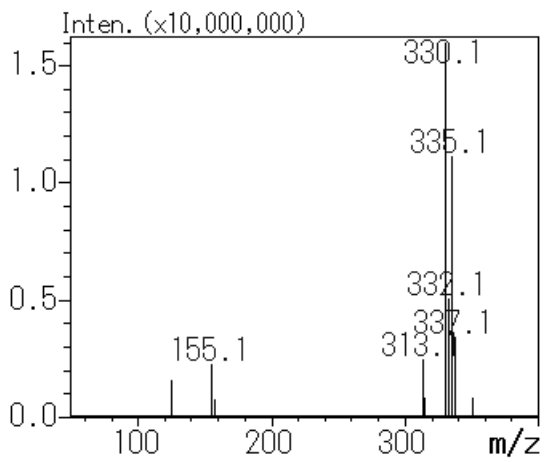


図3 MCPA 2-エチルヘキシルエステル標準溶液  
のマススペクトル

スキャン範囲 : 50~400 amu

測定条件 : ESI+

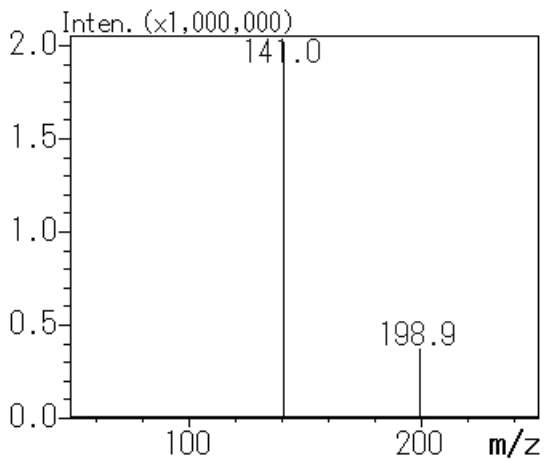


図4 MCPA のプロダクトイオンスペクトル (定  
量用)

プリカーサーイオン :  $m/z$  198.9

測定条件 : ESI-, CE = 14 eV

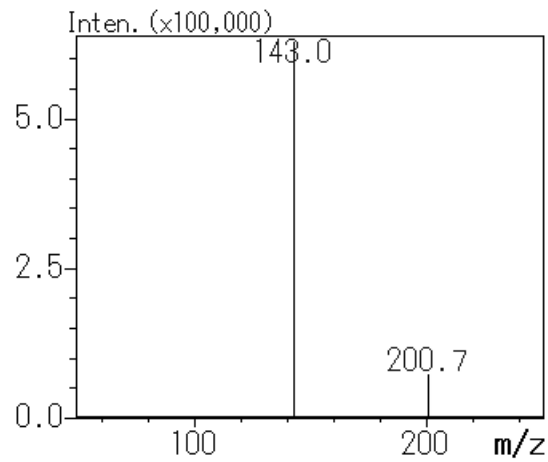


図5 MCPA のプロダクトイオンスペクトル (定  
性用)

プリカーサーイオン :  $m/z$  200.7

測定条件 : ESI-, CE = 15 eV

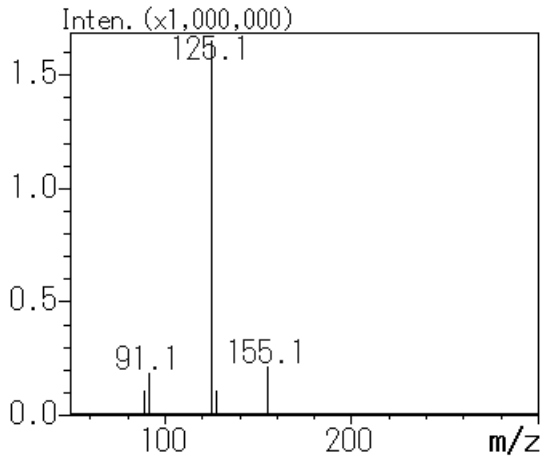


図6 MCPA エチルのプロダクトイオンスペクトル (定量用)

プリカーサーイオン :  $m/z$  246.0  
 測定条件 : ESI+, CE = 33 eV

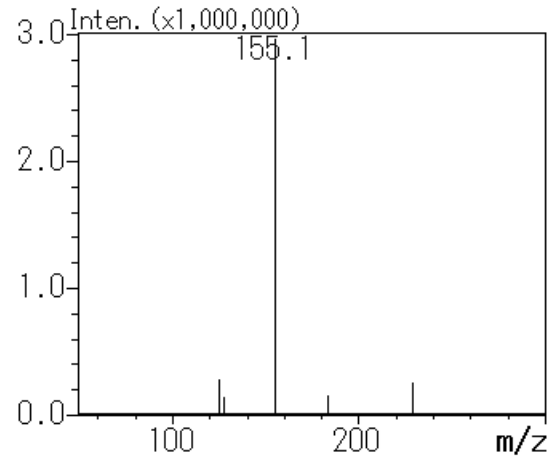


図7 MCPA エチルのプロダクトイオンスペクトル (定性用)

プリカーサーイオン :  $m/z$  246.0  
 測定条件 : ESI+, CE = 17 eV

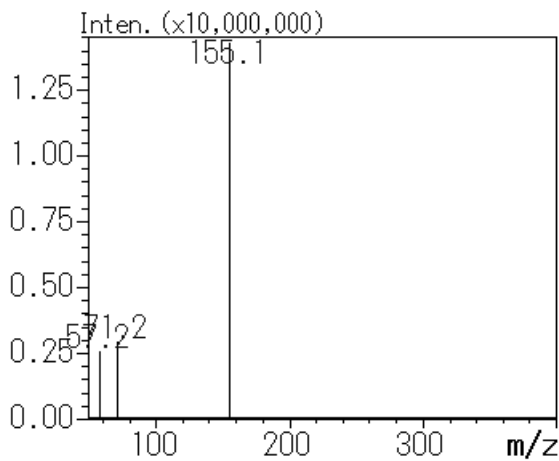


図8 MCPA 2-エチルヘキシルエステルのプロダクトイオンスペクトル (定量用)

プリカーサーイオン :  $m/z$  330.1  
 測定条件 : ESI+, CE = 20 eV

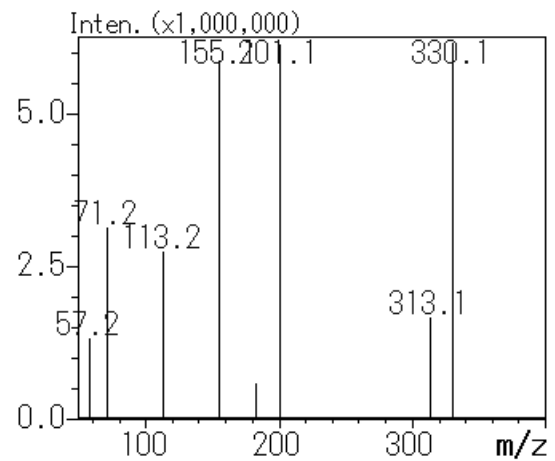


図9 MCPA 2-エチルヘキシルエステルのプロダクトイオンスペクトル (定性用)

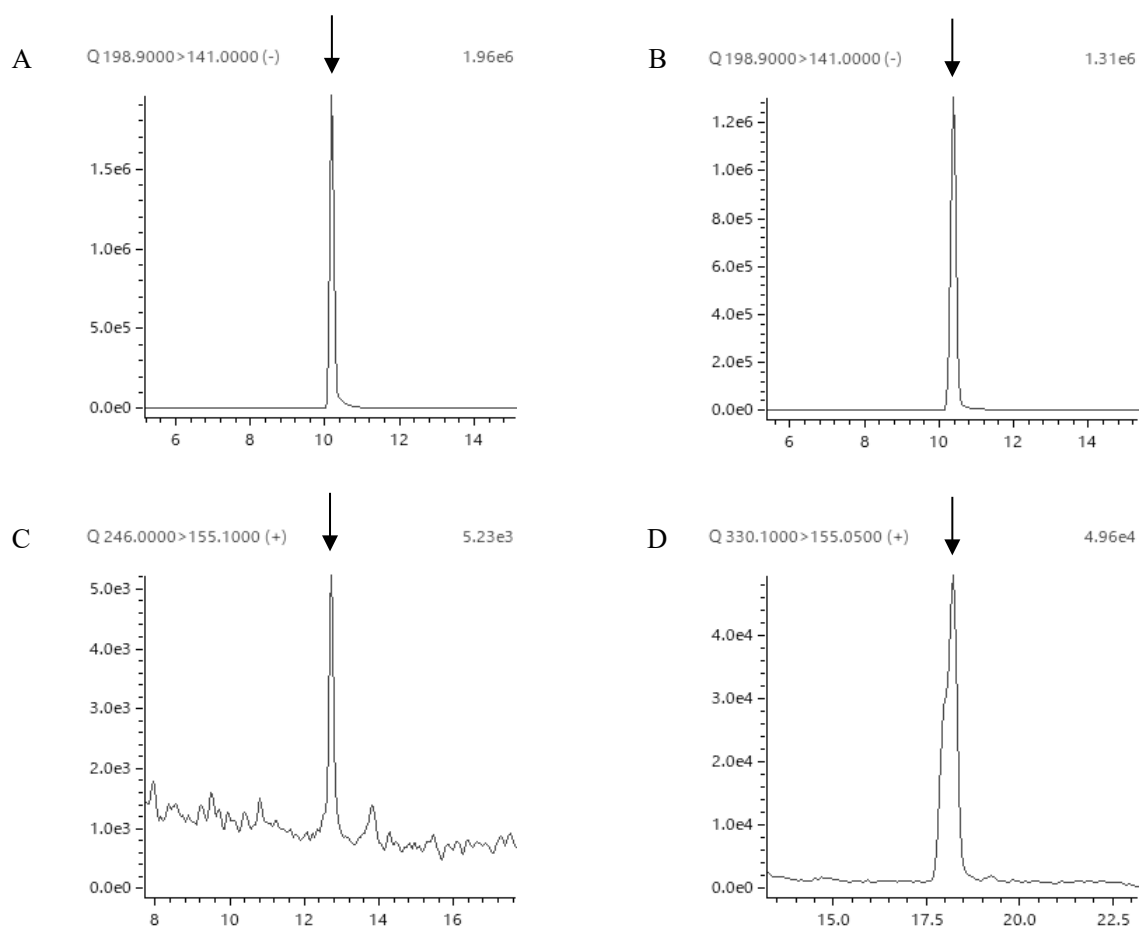
プリカーサーイオン :  $m/z$  330.1  
 測定条件 : ESI+, CE = 11 eV

## 2) LC 条件の検討

分析カラムについて検討を行った。オクタデシルシリル化シリカゲルカラム Inertsil ODS-3 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3  $\mu\text{m}$  : GL サイエンス) を用いて検討を行ったところ、保持、ピーク形状ともに良好な結果が得られたことから、分析カラムには Inertsil ODS-3 を用いることとした。

移動相条件については、添加剤についてギ酸、酢酸アンモニウム、ギ酸アンモニウム、有機溶媒についてアセトニトリル及びメタノールを用いて検討を行ったところ、MCPA の測定においてはアセトニトリル-0.1 vol%ギ酸を用いた場合に最も良好な感度とピーク形状が得られたので、アセトニトリル-0.1vol%ギ酸を移動相として用いることとした。

また、MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステルの測定については、アセトニトリル-0.1vol%ギ酸では良好なクロマトグラムが得られず、5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノールにおいて MCPA、MCPA エチル、MCPA 2-エチルヘキシルエステルのいずれの化合物も定量可能な感度及びピーク形状が得られたことから、加水分解条件の検討時には 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノールを移動相として用いることとした。なお、MCPA についてはアセトニトリル-0.1vol%ギ酸を移動相として用いた方が高い感度が得られたため、添加回収試験ではアセトニトリル-0.1vol%ギ酸を移動相として用いることとした (図 10 参照)。



A : MCPA 0.1 mg/L 溶液 (移動相 : アセトニトリル-0.1 vol%ギ酸)

B : MCPA 0.1 mg/L 溶液、C : MCPA エチル 0.1 mg/L 溶液、D : MCPA エチルヘキシル 0.1 mg/L 溶液  
(B、C、D の移動相 : 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール)

図 10 MCPA、MCPA エチル、MCPA エチルヘキシルの SRM クロマトグラム

### 3) 検量線

図 11~13 に検量線の例を示した。0.00005~0.0003 mg/L (定量限界値相当濃度の添加回収試験用)、0.0005~0.003 mg/L (牛の筋肉、牛乳、鶏卵、うなぎ、しじみの基準値相当濃度の添加回収試験用) 及び 0.00125~0.0075 mg/L (牛の脂肪、肝臓の基準値相当濃度の添加回収試験用) の濃度範囲で作成した検量線は、いずれも決定係数 0.999 以上であり良好な直線性を示した。

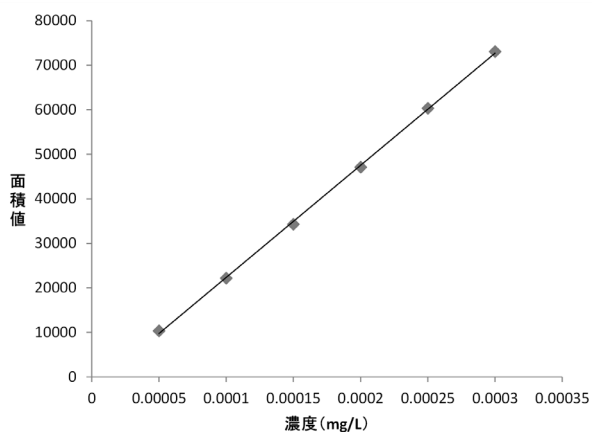


図 11 MCPA 検量線の例 (定量限界値相当)  
濃度範囲 : 0.00005~0.0003 mg/L  
 $y = 251964000x - 2882 \quad r^2 = 0.9996$

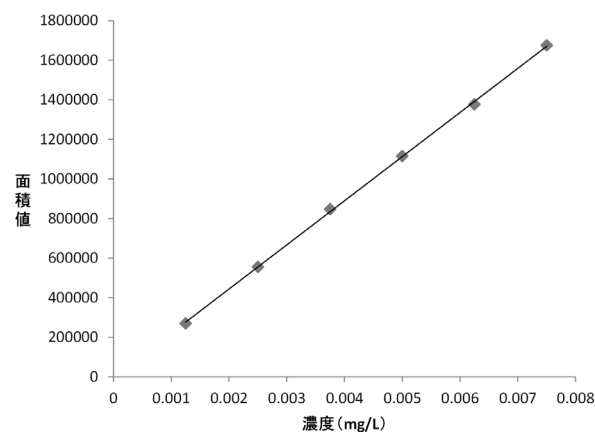


図 13 MCPA 検量線の例 (牛の肝臓基準値相当)  
濃度範囲 : 0.00125~0.0075 mg/L  
 $y = 223045623x - 2099 \quad r^2 = 0.9997$

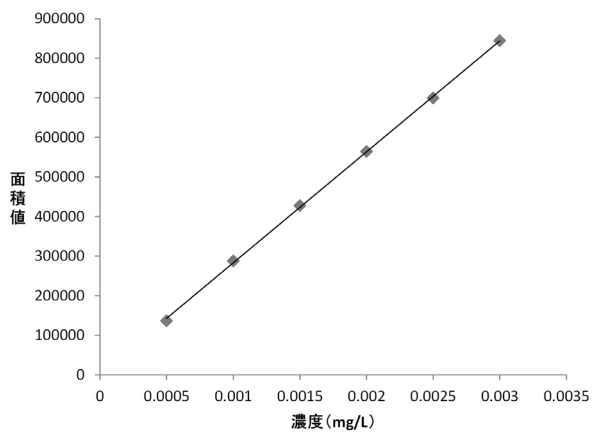


図 12 MCPA 検量線の例 (牛乳基準値相当)  
濃度範囲 : 0.0005~0.003 mg/L  
 $y = 280526057x + 2453 \quad r^2 = 0.9997$

## 2. 試験溶液調製法の検討

### 1) 抽出方法の検討

牛の脂肪を用いて家畜残留試験の方法<sup>2)</sup>に従って抽出方法の検討を行った。40℃で融解し、MCPA、MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステル各 10 mg/L 標準溶液 (アセトン溶液) 2 mL を添加した後、再凝固してから 30 分放置した試料 10.0 g に *n*-ヘキサン 100 mL を加えてホモジナイズし、

毎分 3,000 回転で 10 分間遠心分離した後、上澄液を採った。残留物に *n*-ヘキサン 50 mL を加え、上記と同様の操作を行った。上澄液を合わせ、*n*-ヘキサンを加えて正確に 200 mL とした。ここから 30 mL を分取し、1%水酸化ナトリウム溶液 30 mL ずつを加えて 3 回振とう抽出を行った。このときの結果は表 1 に示したとおり、MCPA は 3 回の抽出でほぼ全量回収されたが、MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステルは低回収であった。この結果より、水酸化ナトリウム溶液による抽出は困難であると考えられた。

表 1 水酸化ナトリウム溶液による抽出の検討 [回収率<sup>※1</sup> <sup>※2</sup> (%) ]

分析対象化合物	1 回目	2 回目	3 回目	計
MCPA	96.1	1.9	0.8	98.8
MCPA エチル	20.0	14.5	10.8	45.3
MCPA 2-エチルヘキシルエステル	1.9	0.5	0.5	2.9

添加量：20 µg (アセトンで調製した各 10 mg/L 標準溶液 2 mL を添加)

※1 エステル体については MCPA への変換率 (MCPA としての回収率)

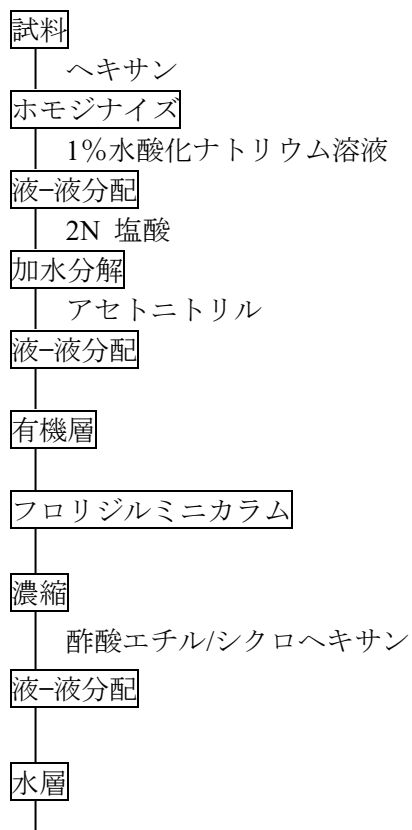
※2 マトリックス添加標準溶液による補正值

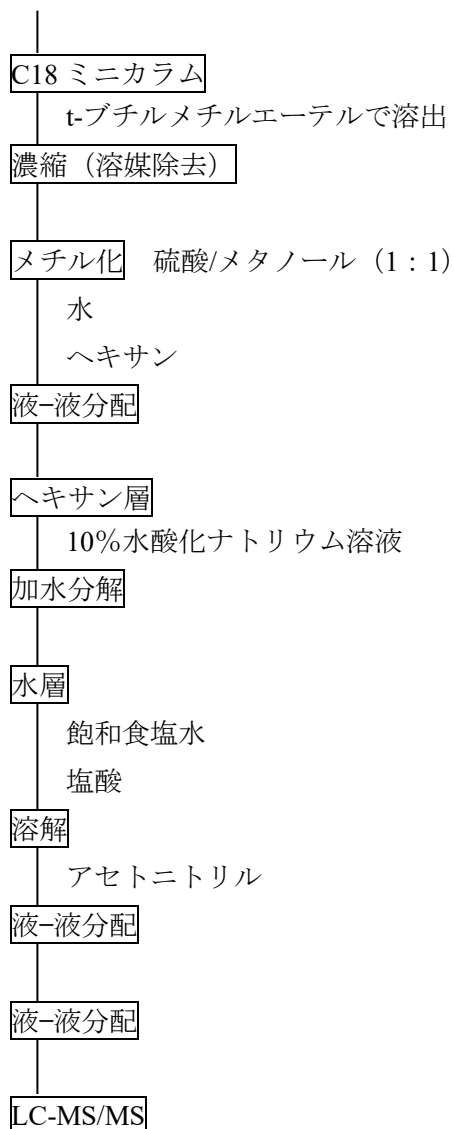
[家畜残留試験の分析法の概要<sup>2)</sup>]

分析対象化合物：MCPA、MCPA グリシン抱合体、HMCPA<sup>\*</sup>、HMCPA グリシン抱合体

試料：牛の筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及びクリーム

※HMCPA：2-Hydroxy-4-chlorophenoxyacetic acid





## 2) 加水分解条件の検討

### ①酸による加水分解

家畜残留試験の方法 (PTRL2117) には牛の脂肪以外の試料について、試料に塩酸を加え加水分解する方法が記載されている。そこで、牛の脂肪について、塩酸を用いて加水分解する方法を検討した。まず、家畜残留試験の方法に示された 2 mol/L 塩酸を用いて検討した。牛の脂肪 10.0 g を融解し、MCPA、MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステル各 200 mg/L 標準溶液 (アセトン溶液) 0.5 mL を添加した後、再凝固した。2 mol/L 塩酸 150 mL を加え 95°C で 1 時間加熱した後、放冷したところ、白い固体が析出した。固層と液層をろ過により分離し、それぞれにおける各化合物の回収率を確認した。固層については *n*-ヘキサン 20 mL に溶解し、アセトンを加えて正確に 200 mL とした後、1 mL を分取し、メタノールを加えて正確に 10 mL とした。この溶液を遠心分離した後、上澄液を採り、LC-MS/MS で測定した。液層については水を加えて正確に 200 mL とした後、1 mL を分取し、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加えて中和した後、メタノールを加えて正確に 10 mL とし LC-MS/MS で測定した。結果は表 2 に示したとおり、MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステルの MCPA への変換は不十分だった。

表 2 2 mol/L 塩酸を用いた加水分解の検討 (試料：牛の脂肪)

添加した化合物	回収率 <sup>※1</sup> <sup>※2</sup> (%)				計
	液層		固層		
	MCPA へ 変換	未反応	MCPA へ 変換	未反応	
MCPA	—	28.8	—	75.4	104.2
MCPA エチル	2.6	0	3.1	105.9	111.6
MCPA 2-エチルヘキシルエステル	0.5	0	1.4	114.8	116.7

添加量：100 µg (アセトンで調製した各 200 mg/L 標準溶液 0.5 mL を添加)

※1 エステル体については MCPA への変換率 (MCPA としての回収率)

※2 マトリックス添加標準溶液による補正值

次に、試料と溶媒が十分に混和されず、加水分解の効率が低いと考えられたため、混和性を高めるために、エタノールの添加を検討した。

エタノール及び 4 mol/L 塩酸 (1 : 1) 混液を用いて上記と同様に操作した。このときの結果は表 3 に示したとおり、MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステルの MCPA への変換率<sup>※</sup>に向上はみられたものの、不十分であった。

表 3 4 mol/L 塩酸-エタノール (1 : 1) 混液を用いた加水分解の検討 (試料：牛の脂肪)

添加した化合物	回収率 <sup>※</sup> (%)				計
	液層		固層		
	MCPA へ 変換	未反応	MCPA へ 変換	未反応	
MCPA	—	90.4	—	7.8	98.2
MCPA エチル	57.2	0	3.2	50.0	110.4
MCPA 2-エチルヘキシルエステル	12.0	0	0.8	92.0	104.8

添加量：100 µg (アセトンで調製した各 200 mg/L 標準溶液 0.5 mL を添加)

※マトリックス添加標準溶液による補正值

今回参考にした家畜残留試験の分析対象化合物は、MCPA、MCPA グリシン抱合体、HMCPA、HMCPA グリシン抱合体であり、MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステルが含まれていない。そのため、これらの化合物を加水分解するには別の加水分解条件の設定が必要と考えられた。そこで、次にアルカリによる加水分解の検討を行うこととした。

## ②アルカリによる加水分解

酸ではエステル体の加水分解が不十分であったため、アルカリによる加水分解を検討した。

牛の脂肪抽出液<sup>※2</sup> 2 mL に MCPA、MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステル各 10 mg/L

標準溶液（アセトン溶液）1 mL を添加し、溶媒を除去した。この残留物にメタノール 1 mL 及び 1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 1 mL を加え、40°C で 60、90 分間加熱し、塩酸で中和した後、メタノールで希釈した。結果は表 4 に示したとおり、MCPA エチルは 60 分でほぼ全量 MCPA へ変換したが、MCPA 2-エチルヘキシルエステルは 90 分間加熱しても未反応のものが残った。

※牛の脂肪抽出液の調製法

牛の脂肪 10.0 g に *n*-ヘキサン 100 mL を加えホモジナイズし、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離した。上澄液を採り、残留物に *n*-ヘキサン 100 mL を加えて上記と同様に操作した。得られた上澄液を合わせ、*n*-ヘキサンを加えて正確に 200 mL とした。

表 4 40°Cにおける加水分解の検討（試料：牛の脂肪）

分析対象化合物	加熱時間	MCPA への 変換率 <sup>※1 ※2</sup> (%)	未反応 <sup>※1 ※2</sup> (%)	計
MCPA エチル	60 分	102.7	0	102.7
	90 分	107.0	0	107.0
MCPA 2-エチルヘキシル エステル	60 分	81.9	15.4	97.3
	90 分	60.2	35.3	95.5

添加量：10 µg（アセトンで調製した各 10 mg/L 標準溶液 1 mL を添加）

※1 MCPA への変換率（MCPA としての回収率）

※2 マトリックス添加標準溶液による補正值

〔結果〕1 mol/L 水酸化ナトリウム、加熱温度 40°C では MCPA 2-エチルヘキシルエステルの加水分解が十分に進行しなかった。

上記と同様に牛の脂肪抽出液を用いて、温度を 60°C、加熱時間を 30、60、90 分間として加水分解の検討を行った。結果は表 5 に示したとおり、MCPA エチルは 60 分以上の加熱では回収率の低下がみられた。また、MCPA 2-エチルヘキシルエステルは 90 分加熱しても未反応のものが残った。

表 5 60°Cにおける加水分解の検討 (%)

分析対象化合物	加熱時間	MCPA への 変換率 <sup>※1</sup> <sup>※2</sup> (%)	未反応 <sup>※1</sup> <sup>※2</sup> (%)	計
MCPA エチル	30 分	99.8	0	99.8
	60 分	83.5	0	83.5
	90 分	81.0	0	81.0
MCPA 2-エチルヘキシル エステル	30 分	81.8	14.8	96.6
	60 分	71.3	17.5	88.8
	90 分	92.6	15.8	108.4

添加量：10 µg (アセトンで調製した各 10 mg/L 標準溶液 1 mL を添加)

※1 MCPA への変換率 (MCPA としての回収率)

※2 マトリックス添加標準溶液による補正值

[結果] 加熱温度を 40°C から 60°C へ変更したが、MCPA 2-エチルヘキシルエステルの加水分解は十分進行しなかった。

上記と同様に 2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を用いて、温度を 60°C、加熱時間を 30、60、90 分間として加水分解の検討を行った。結果は表 6 に示したとおり 1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を用いた場合と比較しても大きな違いはみられなかった。

表 6 2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液による加水分解の検討 (%)

分析対象化合物	加熱時間	MCPA への 変換率 <sup>※1</sup> <sup>※2</sup> (%)	未反応 <sup>※1</sup> <sup>※2</sup> (%)	計
MCPA エチル	30 分	101.5	0	101.5
	60 分	99.1	0	99.1
	90 分	79.6	0	79.6
MCPA 2-エチルヘキシル エステル	30 分	77.9	14.2	92.1
	60 分	76.3	13.4	89.7
	90 分	89.5	13.5	103.0

添加量：10 µg (アセトンで調製した各 10 mg/L 標準溶液 1 mL を添加)

※1 MCPA への変換率 (MCPA としての回収率)

※2 マトリックス添加標準溶液による補正值

[結果] 加熱温度を 60°C にして、水酸化ナトリウム濃度を 2 mol/L にしたが、1 mol/L の場合と同様の結果であった。

次に温度を 80°C にして加水分解の検討を行った。牛の脂肪抽出液 2 mL に MCPA、MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステル各 10 mg/L 標準溶液 (アセトン溶液) 1 mL を添加し、溶媒を除

去した。この残留物にメタノール 20 mL 及び 1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 20 mL を加え、80°C で 60、90 分間加熱した。結果は表 7 に示したとおり、MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステルともに 60 分でほぼ全量 MCPA へ変換した。

また、80°C における加水分解の結果と比較して、60°C における加水分解では加熱時間によって変換率にばらつきがみられたが（表 6）、加水分解に供した試験液量が少ないことも原因として考えられた。

表 7 80°C における加水分解の検討 (%)

分析対象化合物	加熱時間	MCPA への 変換率 <sup>※1</sup> <sup>※2</sup> (%)	未反応 <sup>※1</sup> <sup>※2</sup> (%)	計
MCPA エチル	60 分	98.8	0	98.8
	90 分	99.1	0	99.1
MCPA 2-エチルヘキシル エステル	60 分	102.3	0	102.3
	90 分	100.0	0	100.0

添加量：10 µg（アセトンで調製した各 10 mg/L 標準溶液 1 mL を添加）

※1 MCPA への変換率（MCPA としての回収率）

※2 マトリックス添加標準溶液による補正值

〔結果〕水酸化ナトリウム濃度を 1 mol/L、加熱温度を 80°C で加水分解を行ったところ、MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステルともにほぼ全量 MCPA に変換した。

以上の結果より、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を用いて、80°C で 60 分間加熱することによりエステル体を MCPA へ加水分解できることがわかった。

今回の規制対象は「加水分解により MCPA に変換される代謝物を含む」となっているが、標準品が入手できなかった物質もあるため、すべての代謝物が MCPA へ変換することは確認できなかった。そのため、すべての代謝物を MCPA へ変換するには家畜残留試験の加水分解方法も必須となる。そこで、酸加水分解とアルカリ加水分解を連続して行うことを検討した。

### ③酸加水分解及びアルカリ加水分解

牛の脂肪 10.0 g を融解し、MCPA、MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステル各 200 mg/L 標準溶液（アセトン溶液）0.5 mL を添加した後、再凝固した。ここにエタノール及び 4 mol/L 塩酸（1 : 1）混液 150 mL を加え、95°C で 1 時間加熱した。この溶液を放冷した後、10 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 50 mL を加え、80°C で 1 時間または 3 時間加熱した。このときの結果は表 8 に示したとおり、アルカリ性下では更に加水分解が進行し、MCPA エチルについては 3 時間加熱した場合にほぼ全量 MCPA へ変換したが、MCPA 2-エチルヘキシルエステルについては不十分であった。

表 8 酸及びアルカリ加水分解の検討 [回収率<sup>※1</sup> <sup>※2</sup> (%)、試料：牛の脂肪]

添加した化合物	1 時間加熱	3 時間加熱
MCPA	98.9	88.6
MCPA エチル	90.2	96.7
MCPA 2-エチルヘキシルエステル	51.8	64.9

添加量：100 µg (アセトンで調製した各 200 mg/L 標準溶液 0.5 mL を添加)

※1 エステル体については MCPA への変換率 (MCPA としての回収率)

※2 マトリックス添加標準溶液による補正值

次に、溶媒と試料の混和性を高めるため、加水分解前に試料をアセトンでホモジナイズする方法を検討した。

牛の脂肪 10.0 g を融解し、MCPA、MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステル各 200 mg/L 標準溶液 (アセトン溶液) 0.5 mL を添加した後、再凝固し、アセトン 50 mL を加えてホモジナイズした。ここにエタノール及び 4 mol/L 塩酸 (1 : 1) 混液 150 mL を加え、95°C で 1 時間加熱した後、10 mol/L 水酸化ナトリウム 50 mL を加え、80°C で 1 時間または 3 時間加熱した。このときの結果は表 9 に示したとおり、MCPA 2-エチルヘキシルエステルの MCPA への変換率が向上した。なお、加熱時間による変換率の差はみられなかった。

表 9 アセトン抽出の効果の検討 [回収率<sup>※1</sup> <sup>※2</sup> (%)、試料：牛の脂肪]

添加した化合物	1 時間加熱	3 時間加熱
MCPA	88.5	88.8
MCPA エチル	105.5	96.6
MCPA 2-エチルヘキシルエステル	89.4	91.4

添加量：100 µg (アセトンで調製した各 200 mg/L 標準溶液 0.5 mL を添加)

※1 エステル体については MCPA への変換率 (MCPA としての回収率)

※2 マトリックス添加標準溶液による補正值

エタノール及び 4 mol/L 塩酸 (1 : 1) 混液の量を 150 mL から 75 mL とし、酸加水分解後に添加する水酸化ナトリウムの濃度を 10 mol/L から 5 mol/L とし、80°C で 1 時間加熱した場合についても検討を行った。

牛の脂肪 10.0 g を融解し、MCPA、MCPA エチル及び MCPA 2-エチルヘキシルエステル各 200 mg/L 標準溶液 (アセトン溶液) 0.5 mL を添加した後、再凝固し、アセトン 50 mL を加えてホモジナイズした。ここにエタノール及び 4 mol/L 塩酸 (1 : 1) 混液 75 mL を加え、95°C で 1 時間加熱した後、5 mol/L 水酸化ナトリウム 50 mL を加え、80°C で 1 時間加熱した。放冷後、6 mol/L 塩酸を加えて中和した後、吸引ろ過し、水を加えて正確に 200 mL とした。ここから 1 mL を分取した後、水を加えて 10 mL とし、LC-MS/MS で測定した。結果は表 10 に示したように、いずれの試料においても MCPA、MCPA ナトリウム塩、MCPA エチル、MCPA 2-エチルヘキシルエステルについて良好な回収が得られた。

表 10 加水分解溶媒量の検討 [回収率<sup>※1</sup> <sup>※2</sup> (%) ]

添加した化合物	牛の筋肉	牛の脂肪	牛の肝臓	牛乳	うなぎ	しじみ	鶏卵
MCPA	100.1	102.0	100.5	103.1	94.7	93.7	105.0
MCPA ナトリウム塩	106.6	99.1	105.7	98.9	107.3	98.9	101.2
MCPA エチル	99.4	94.6	107.6	104.0	107.9	102.6	100.4
MCPA 2-エチル ヘキシルエステル	99.3	103.1	100.2	99.1	102.3	97.7	105.6

添加量：100 µg (アセトンで調製した各 200 mg/L 標準溶液 0.5 mL を添加)

※1 エステル体については MCPA への変換率

※2 マトリックス添加標準溶液による補正值

以上の結果より、加水分解においては、まず試料にアセトン 50 mL を加えてホモジナイズし、エタノール及び 4 mol/L 塩酸 (1 : 1) 混液 75 mL を加えて 95°C で 1 時間加熱した後、5 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 50 mL を加えて 80°C で 1 時間加熱することとした。

### 3) 脱脂方法の検討

試料によっては加水分解後に油状のものが液面に浮いていた。そこで、脱脂方法の検討を行った。

牛の脂肪にアセトンを加えてホモジナイズし、酸及びアルカリで加水分解して得られた溶液に 6 mol/L 塩酸を加えて pH=7 とした。この溶液に MCPA 1 mg/L 標準溶液 (水溶液) 0.5 mL を加え、*n*-ヘキサン 100 mL ずつで 3 回振とうした後、ヘキサン層については溶媒除去後、残留物の重量確認し、水層については希釈して LC-MS/MS にて測定を行った。その結果、水層への MCPA の残存率は 97.5% であり、*n*-ヘキサンで 3 回洗浄を行ってもほぼ全量を回収することができた。また、*n*-ヘキサン層の溶媒除去後の残留物の重量は表 11 に示したとおり、2 回の振とうで脱脂できていることが確認できた。この結果より、脱脂操作として *n*-ヘキサン 100 mL ずつを加えて 2 回振とうを行うこととした。

表 11 脱脂方法の検討結果 [重量 (g)]

1 回目	2 回目	3 回目	計
8.0192	0.1229	0	8.1421

添加量：0.5 µg (水で調製した MCPA 1 mg/L 標準溶液 0.5 mL を添加)

### 4) 酢酸エチル及び *n*-ヘキサン混液による転溶の検討

対象食品の中で最も夾雑物が多いと考えられる牛の肝臓を用いて検討を行った。MCPA 0.1 mg/L 標準溶液 (アセトン溶液) 1 mL を採り、窒素気流下で溶媒を除去した。この残留物に牛の肝臓加水分解液<sup>※</sup>2 mL を加えて溶かし、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 2 mL ずつを加えてボルテックスミキサーで 3 回激しく攪拌した。このときの結果は表 12 に示したとおり、MCPA は 2 回のボルテックスミキサーによる攪拌で全量回収された。

※牛の肝臓加水分解液の調製法

牛の肝臓 10.0 g にアセトン 50 mL を加えてホモジナイズした。ここにエタノール及び 4 mol/L 塩酸 (1 : 1) 混液 75 mL を加え、95°C で 1 時間加熱した後、5 mol/L 水酸化ナトリウム 50 mL を加え、80°C で 1 時間加熱した。放冷後、6 mol/L 塩酸で pH=7~8 に調整し、*n*-ヘキサン 100 mL ずつで 2 回振とうした後、水層を採った。この溶液に 6 mol/L 塩酸 5 mL を加えた後、水を加えて正確に 200 mL とした。

表 12 酢酸エチル及び *n*-ヘキサン混液による転溶の検討結果 [回収率 (%) ]

1 回目	2 回目	3 回目	計
90.0	10.5	0	100.5

添加量 : 0.1 µg (アセトンで調製した MCPA 0.1 mg/L 標準溶液 1 mL を添加)

5) カラム精製の検討

陰イオン交換体ミニカラムによる精製 [InertSep SAX (500 mg/6 mL)]

InertSep SAX (500 mg/6 mL) における溶出状況の確認を行った。カラムを溶出溶媒 10 mL で予備洗浄した後、MCPA 0.01 mg/L 標準溶液 (各溶出溶媒を用いて調製した溶液) を 1 mL 負荷し、溶出溶媒を 5 mL ずつ負荷して各分画を分取した。結果は表 13 に示した通り、MCPA はメタノール及び水では溶出せず、ギ酸・メタノールで溶出した。ギ酸濃度は 0.5 vol% 以下では全量溶出するのに 15 mL 以上を要する一方、1 vol% ギ酸・メタノール溶液では 10 mL で全量溶出した。これらの結果より、SAX ミニカラムによる精製においては、水及びメタノール 10 mL で順次洗浄し、1 vol% ギ酸・メタノール溶液 10 mL で溶出することとした。

表 13 InertSep SAX (500 mg/6 mL) からの MCPA の溶出状況 [回収率 (%) ]

溶出溶媒量	メタノール	水	0.1 vol% ギ酸・ メタノール溶液	0.5 vol% ギ酸・ メタノール溶液	1 vol% ギ酸・ メタノール溶液
0-5 mL	0	0	0	4.4	83.4
5-10 mL	0	0	0	97.7	21.9
10-15 mL	0	0	0	4.3	0
15-20 mL	0	0	60.8	0	0
20-25 mL	0	0	41.7	0	0
25-30 mL	0	0	0	0	0
計	0	0	102.5	106.4	105.3

添加量 : 0.01 µg (各溶出溶媒で調製した MCPA 0.01 mg/L 標準溶液 1 mL を添加)

次にマトリックス (牛の肝臓) 存在下における溶出状況を確認した。牛の肝臓加水分解液\*2 mL に酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 2 mL ずつを加えてボルテックスミキサーで 2 回激しく攪拌した。有機層を合わせ、MCPA 0.1 mg/L 標準溶液 (アセトン溶液) 1 mL を加えて、溶媒を除去した。この残留物に水 5 mL を加えて溶解し、メタノール 10 mL 及び水 10 mL で予備洗浄した SAX ミニカラムに負荷し、溶出溶媒 5 mL ずつを負荷して溶出液を分取した。結果は表 14 に示したとおり、MCPA は

負荷及び水 10 mL、メタノール 10 mL では溶出せず、1 vol%ギ酸・メタノール溶液 10 mL で溶出した。

※牛の肝臓加水分解液の調製法

牛の肝臓 10.0 g にアセトン 50 mL を加えてホモジナイズした。ここにエタノール及び 4 mol/L 塩酸 (1 : 1) 混液 75 mL を加え、95°C で 1 時間加熱した後、5 mol/L 水酸化ナトリウム 50 mL を加え、80°C で 1 時間加熱した。放冷後、6 mol/L 塩酸で pH=7~8 に調整し、*n*-ヘキサン 100 mL ずつで 2 回振とうした後、水層を採った。この溶液に 6 mol/L 塩酸 5 mL を加えた後、水を加えて正確に 200 mL とした。

表 14 InertSep SAX (500 mg/6 mL) からの溶出状況 (試料：牛の肝臓)

溶出溶媒量		回収率* (%)
負荷 (水 5 mL)		0
水	0-5 mL	0
	5-10 mL	0
メタノール	0-5 mL	0
	5-10 mL	0
1 vol%ギ酸・メタノール溶液	0-5 mL	0
	5-10 mL	98.0
	10-15 mL	0
	15-20 mL	0
	20-25 mL	0
	25-30 mL	0
計	計	98.0

添加量：0.1 µg (アセトンで調製した MCPA 0.1 mg/L 標準溶液 1 mL を添加)

※マトリックス添加標準溶液による補正值

以上の結果より、SAX ミニカラムを用いた精製では、水及びメタノール 10 mL で洗浄した後、1 vol%ギ酸・メタノール溶液 10 mL で溶出することとした。

3. 添加回収試験

牛の筋肉、脂肪、肝臓、牛乳、うなぎ、しじみ、鶏卵を試料に用いて、実験方法の「6. 試験溶液の調製」に従って添加回収試験を実施した。

添加回収試験における回収率 100%相当の溶媒標準溶液、各食品のブランク試料及び添加試料の代表的な SRM クロマトグラムを図 14~20 に示した。また、各食品のブランク試料のフルスキャン測定によるトータルイオンクロマトグラムを図 21 及び 22 に示した。なお、牛の肝臓の基準値相当濃度の添加回収試験については試験溶液を 10 倍に希釈して測定した。

1) 選択性

選択性の検討結果を表 15 に示した。検討を行ったいずれの試料においても、MCPA の定量を妨害する

ピークは認められなかった。

表 15 選択性の評価

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (mg/kg)	基準値 (ppm)	妨害ピークの許容範囲の評価		ピーク面積(高さ) <sup>*1</sup>						選択性の評価 <sup>3</sup>	備考			
					評価濃度 (ppm)	評価基準	面積又は高さの別	ブランク			マトリックス添加標準溶液 <sup>2</sup>				面積(高さ)比 (a)/(b)		
								n=1	n=2	平均 (a)	n=1	n=2				平均 (b)	
1	MCPA	牛の筋肉(LOQ)	0.01		定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0	40784	40688	40736	0.000	○	
2		牛の脂肪(LOQ)	0.01		定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0	42372	42080	42226	0.000	○	
3		牛の肝臓(LOQ)	0.01		定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0	43950	45328	44639	0.000	○	
4		牛乳(LOQ)	0.01		定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0	41860	44374	43117	0.000	○	
5		鶏卵(LOQ)	0.01		定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0	39666	40111	39889	0.000	○	
6		うなぎ(LOQ)	0.01		定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0	39247	41388	40318	0.000	○	
7		しじみ(LOQ)	0.01		定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0	41233	41219	41226	0.000	○	
8		牛の筋肉(MRL)	0.01	0.1	基準値	0.1	< 0.100	面積	0	0	0	396747	409859	403303	0.000	○	
9		牛の脂肪(MRL)	0.01	0.2	基準値	0.2	< 0.100	面積	0	0	0	872208	874391	873300	0.000	○	
10		牛の肝臓(MRL)	0.01	3	基準値	3	< 0.100	面積	0	0	0	1342688	1342690	1342689	0.000	○	
11		牛乳(MRL)	0.01	0.04	基準値	0.04	< 0.100	面積	0	0	0	164145	165213	164679	0.000	○	
12		鶏卵(MRL)	0.01	0.05	基準値	0.05	< 0.100	面積	0	0	0	184481	184328	184405	0.000	○	
13		うなぎ(MRL)	0.01	0.03	基準値	0.03	< 0.100	面積	0	0	0	129135	131172	130154	0.000	○	
14		しじみ(MRL)	0.01	0.03	基準値	0.03	< 0.100	面積	0	0	0	117962	113616	115789	0.000	○	

\*1 ブランク試料、標準溶液の順に注入して測定した結果から評価する。(必要に応じて総注入を行う。)

\*2 試料中の濃度が「評価濃度」相当になるように、ブランク試料の試験溶液で調製した標準溶液(マトリックス添加標準溶液)を用いる。ブランク試料に妨害ピークが観察されなかった場合には、標準溶液のピーク面積(高さ)は求めなくてもよい。

\*3 面積(高さ)比が、妨害ピークの許容範囲の評価基準に適合する場合には「○」、適合しない場合には「×」を記載する。

## 2) 真度、精度

真度及び併行精度の検討結果を表 16 に示した。

定量限界相当濃度の添加回収試験では、真度 88.5~99.1%、併行精度 0.9~4.7%であり、真度 70~120%、併行精度 (RSD) < 25%という目標値を満足した。また、S/N は 223.4~367.1 であり、いずれの食品においても S/N ≥ 10 を満足した。

基準値相当濃度の添加回収試験では、真度 87.6~97.0%、併行精度 0.7~3.4%であり、真度 70~120%、併行精度 (RSD) < 15% (牛の筋肉、牛乳、うなぎ、しじみ、鶏卵) 及び併行精度 (RSD) < 10% (牛の脂肪、牛の肝臓) という目標値を満足した。

表 16 真度、精度及び定量限界の評価

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (mg/kg)	基準値 (ppm)	添加濃度 (ppm)	定量限界の評価 <sup>*1</sup>	検量線			回収率(%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	S/N <sup>2</sup>			備考
							傾き	切片	r <sup>2</sup> 値	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5			Max	Min	平均値	
1	MCPA	牛の筋肉(LOQ)	0.01	0.1	0.01	S/N	220135429	-2103	0.9991	90.7	86.4	86.3	88.3	91.0	88.5	2.5	355.3	268.0	311.7	
2		牛の脂肪(LOQ)	0.01	0.2	0.01	S/N	202312571	-906	0.9993	89.1	89.4	89.1	94.8	90.0	90.5	2.7	384.5	234.9	309.7	
3		牛の肝臓(LOQ)	0.01	3	0.01	S/N	233987429	-2666	0.9995	99.9	99.6	92.1	90.9	91.8	94.9	4.7	302.1	250.5	276.3	
4		牛乳(LOQ)	0.01	0.04	0.01	S/N	209892090	-3470	0.9991	95.4	96.3	88.7	97.4	92.0	94.0	3.8	218.4	242.6	230.5	
5		鶏卵(LOQ)	0.01	0.05	0.01	S/N	152621143	-549	0.9993	90.0	92.0	91.7	90.9	93.4	91.6	1.4	272.4	174.4	223.4	
6		うなぎ(LOQ)	0.01	0.03	0.01	S/N	189501714	1722	0.9989	96.9	96.6	92.0	96.2	97.2	95.8	2.2	386.3	343.5	364.9	
7		しじみ(LOQ)	0.01	0.03	0.01	S/N	251984000	-2882	0.9996	100.2	97.9	99.3	99.8	98.5	99.1	0.9	419.9	314.4	367.1	
8		牛の筋肉(MRL)	0.01	0.1	0.1	—	207988857	-14789	0.9993	89.3	86.1	85.2	88.0	89.3	87.6	2.1	—	—	—	
9		牛の脂肪(MRL)	0.01	0.2	0.2	—	212799040	-48880	0.9990	90.8	92.0	96.2	91.6	94.1	92.9	2.4	—	—	—	
10		牛の肝臓(MRL)	0.01	3	3	—	220496923	-2099	0.9997	96.5	98.8	94.5	96.2	96.9	97.0	1.7	—	—	—	
11		牛乳(MRL)	0.01	0.04	0.04	—	230520057	2453	0.9997	89.8	91.2	90.2	90.3	89.4	90.2	0.7	—	—	—	
12		鶏卵(MRL)	0.01	0.05	0.05	—	182059200	6888	0.9994	90.8	90.0	93.4	91.8	90.1	91.2	1.6	—	—	—	
13		うなぎ(MRL)	0.01	0.03	0.03	—	208514457	-2329	0.9998	88.3	92.4	92.3	95.7	96.0	92.9	3.4	—	—	—	
14		しじみ(MRL)	0.01	0.03	0.03	—	232002171	6024	0.9990	94.1	95.0	94.8	96.6	97.0	95.9	1.9	—	—	—	

\*1 S/Nを求める必要がある場合には「S/N」と表示される。

\*2 得られた回収率の中で最大値を与えるピーク(Max.)及び最小値を与えるピーク(Min.)のそれぞれのS/Nを求める。

## 3) 試料マトリックスの測定への影響

試料マトリックスの測定への影響について検討した結果を表 17 に示した。添加回収試験における回収率 100%相当濃度になるように調製したマトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積比を求めた。定量限界相当濃度及び基準値相当濃度における MCPA の面積比は 0.96~1.02 であり、いずれも試料マトリックスの測定への影響はほとんどみられなかった。

添加回収試験における真度を表 17 で求めたピーク面積比で除して補正真度を求め、表 18 に示した。MCPA の補正真度は 89.4~102.2%であり、試料マトリックスの影響を考慮した場合でも良好な結果が得

られた。

表 17 試料マトリックスの測定への影響

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (mg/kg)	基準値 (ppm)	添加濃度 (ppm)	標準溶液 濃度 <sup>1)</sup> (mg/L)	ピーク面積(高さ) <sup>2)</sup>									備考
							面積又は 高さの別	フランク <sup>3)</sup>	マトリックス添加標準溶液 <sup>4)</sup>			溶媒標準溶液			ピーク面積 (高さ)比 <sup>5)</sup>	
									n=1	n=2	平均	n=1	n=2	平均		
1	MCPA	牛の筋肉(LOQ)	0.01	0.1	0.01	0.0002	面積	0	40784	40688	40736	40992	41325	41159	0.99	
2		牛の脂肪(LOQ)	0.01	0.2	0.01	0.0002	面積	0	42372	42080	42226	43557	41412	42485	0.99	
3		牛の肝臓(LOQ)	0.01	3	0.01	0.0002	面積	0	43950	45328	44639	43943	43741	43842	1.02	
4		牛乳(LOQ)	0.01	0.04	0.01	0.0002	面積	0	41860	44374	43117	43329	43889	43609	0.99	
5		鶏卵(LOQ)	0.01	0.05	0.01	0.0002	面積	0	39666	40111	39889	41402	41294	41348	0.96	
6		うなぎ(LOQ)	0.01	0.03	0.01	0.0002	面積	0	39247	41388	40318	41755	42237	41996	0.96	
7		しじみ(LOQ)	0.01	0.03	0.01	0.0002	面積	0	41233	41219	41226	42692	42273	42483	0.97	
8		牛の筋肉(MRL)	0.01	0.1	0.1	0.002	面積	0	396747	409859	403303	412632	411660	412146	0.98	
9		牛の脂肪(MRL)	0.01	0.2	0.2	0.004	面積	0	872208	874391	873300	859439	866889	863164	1.01	
10		牛の肝臓(MRL)	0.01	3	3	0.006	面積	0	1342688	1342690	1342689	1343288	1343150	1343219	1.00	
11		牛乳(MRL)	0.01	0.04	0.04	0.0008	面積	0	164145	165213	164679	163883	165305	164594	1.00	
12		鶏卵(MRL)	0.01	0.05	0.05	0.001	面積	0	184481	184328	184405	189918	184722	187320	0.98	
13		うなぎ(MRL)	0.01	0.03	0.03	0.0006	面積	0	129135	131172	130154	129456	128572	129014	1.01	
14		しじみ(MRL)	0.01	0.03	0.03	0.0006	面積	0	117962	113616	115789	121159	118997	120078	0.96	

\*1 添加回収試験における回収率100%相当濃度になるように、フランク試料の試験溶液で調製した標準溶液(マトリックス添加標準溶液)及び溶媒で調製した標準溶液(溶媒標準溶液)を作成する。

\*2 マトリックス添加標準溶液及び溶媒標準溶液の順に交互に2回以上測定した結果から評価する。(必要に応じて起爆注入を行う。)

\*3 フランクにピークが認められた場合には、マトリックス添加標準溶液の値はフランク値を差し引いた値を用いる。

\*4 マトリックス添加標準溶液は試験当日のフランク試料の試験溶液を用いて調製する。

\*5 マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積(又は高さ)の比を求める。

表 18 補正真度

食品名	添加濃度 (ppm)	真度 (%)	補正真度 (%)	ピーク面積比 <sup>*</sup>
牛の筋肉 (LOQ)	0.01	88.5	89.4	0.99
牛の脂肪 (LOQ)	0.01	90.5	91.4	0.99
牛の肝臓 (LOQ)	0.01	94.9	93.0	1.02
牛乳 (LOQ)	0.01	94.0	94.9	0.99
うなぎ (LOQ)	0.01	91.6	95.4	0.96
しじみ (LOQ)	0.01	95.8	99.8	0.96
鶏卵 (LOQ)	0.01	99.1	102.2	0.97
牛の筋肉 (MRL)	0.1	87.6	89.4	0.98
牛の脂肪 (MRL)	0.2	92.9	92.0	1.01
牛の肝臓 (MRL)	3	97.0	97.0	1.00
牛乳 (MRL)	0.04	90.2	90.2	1.00
うなぎ (MRL)	0.05	91.2	93.1	0.98
しじみ (MRL)	0.03	92.9	92.0	1.01
鶏卵 (MRL)	0.03	95.9	99.9	0.96

※マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積の比

#### 4. 考察

開発した試験法を用いて、牛の筋肉、脂肪、肝臓、牛乳、うなぎ、しじみ、鶏卵の添加回収試験を行った結果、いずれの食品においても MCPA の定量を妨害するピークやマトリックスの影響はみられず、真度及び併行精度はいずれの化合物においても、定量限界相当では真度 70~120%、併行精度 (RSD) <25%、基準値相当では真度 70~120%、併行精度 (RSD) <15% (牛の筋肉、牛乳、うなぎ、しじみ、鶏卵) 及び

併行精度 (RSD) <10% (牛の脂肪、牛の肝臓) という目標値を満たしていたことから、本試験法は、畜水産物に適用可能であると判断された。

#### [結論]

畜水産物中の MCPA 試験法として、試料をアセトンでホモジナイズし、酸加水分解及びアルカリ加水分解により代謝物を MCPA へ変換し、*n*-ヘキサンによる脱脂及び酢酸エチル及び *n*-ヘキサン混液への転溶を行った後、トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製を行い、LC-MS/MS で定量及び確認する方法を開発した。

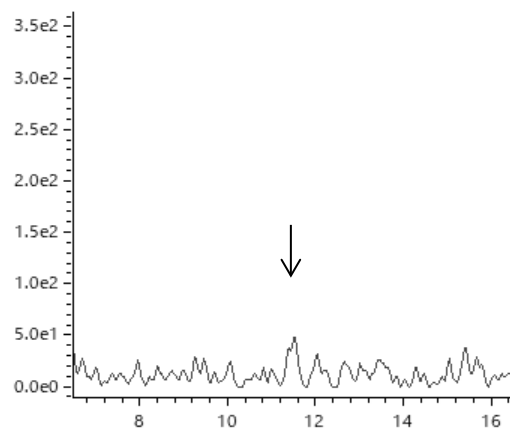
牛の筋肉、脂肪、肝臓、牛乳、うなぎ、しじみ、鶏卵に適用した結果、いずれの化合物においても選択性には問題なく、定量限界値相当において  $S/N \geq 10$  を満足した。また、真度、併行精度の目標値を満足する良好な結果が得られた。

#### [参考文献]

- 1) 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会報告書、令和3年8月16日
- 2) Validated Analytical Method for the Determination of 4-Chloro-2-Methylphenoxy acetic Acid(MCPA), MCPA Glycine Conjugate, 4-Chloro-2-hydroxymethylphenoxy-acetic acid(HMCPA) and HMCPA glucose conjugate in Beef Tissues, Milk and Cream.(Method PTRL Report no. 2117), JMPR : Pesticides residues in food 2012 Evaluations Part I : Residue : MCPA

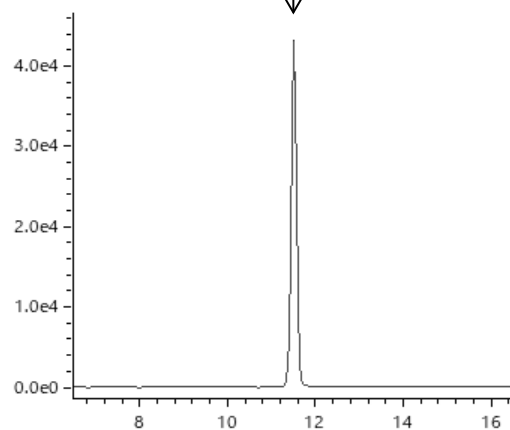
ブランク試料

Q 198.90>141.00 (-) 4.90e1



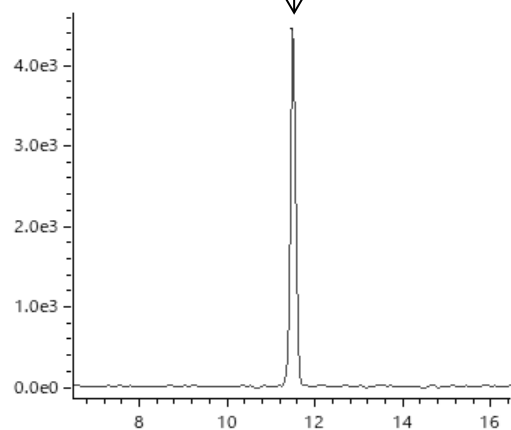
添加試料 (試料中 0.01 ppm 相当)

Q 198.90>141.00 (-) 4.30e4



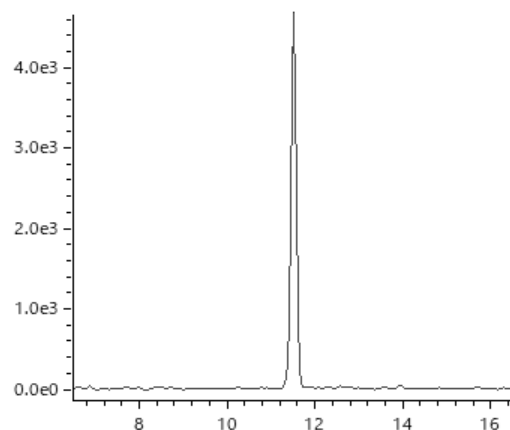
添加試料 (試料中 0.1 ppm 相当)

Q 198.90>141.00 (-) 4.43e3



標準溶液 (0.0002 mg/L)

Q 198.90>141.00 (-) 4.67e3



標準溶液 (0.002 mg/L)

Q 198.90>141.00 (-) 4.67e4

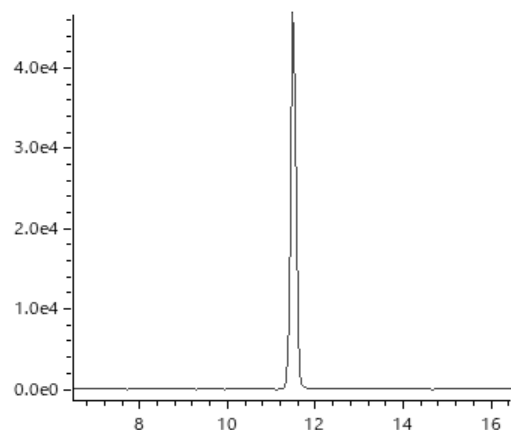
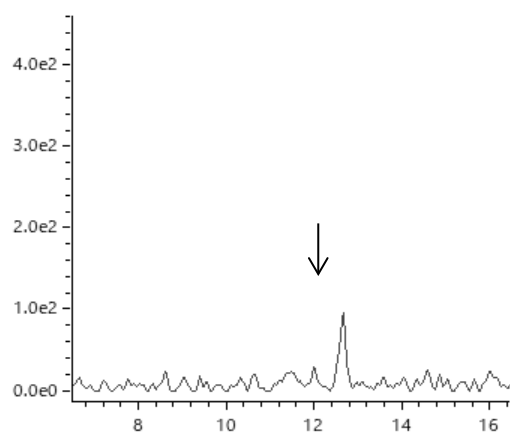


図 14 MCPA の SRM クロマトグラム ( $m/z$  198.9→141.0)  
試料：牛の筋肉

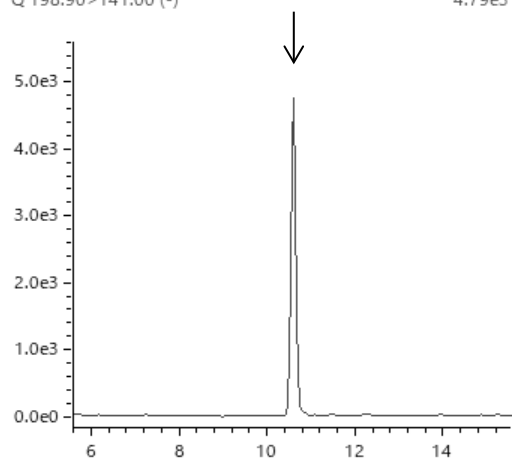
ブランク試料

Q 198.90>141.00 (-) 9.70e1



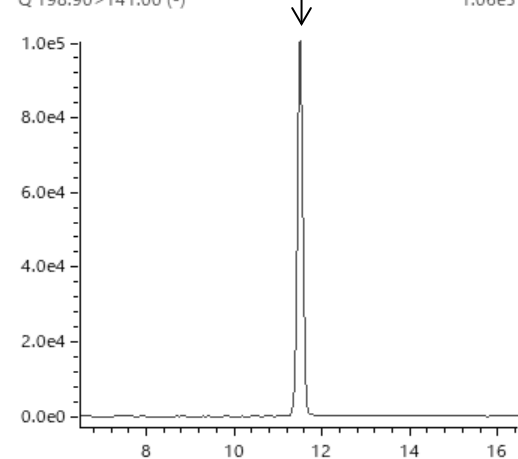
添加試料 (試料中 0.01 ppm 相当)

Q 198.90>141.00 (-) 4.79e3



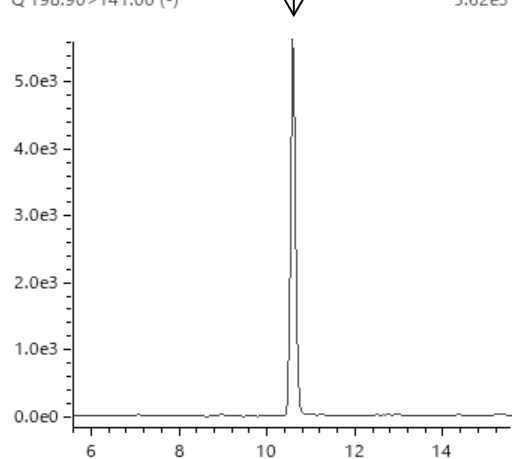
添加試料 (試料中 0.2 ppm 相当)

Q 198.90>141.00 (-) 1.06e5



標準溶液 (0.0002 mg/L)

Q 198.90>141.00 (-) 5.62e3



標準溶液 (0.004 mg/L)

Q 198.90>141.00 (-) 1.01e5

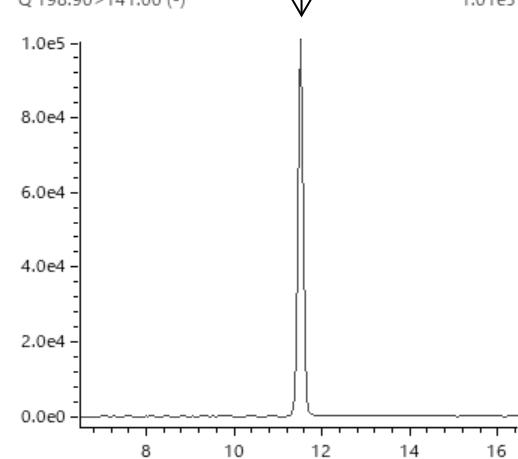
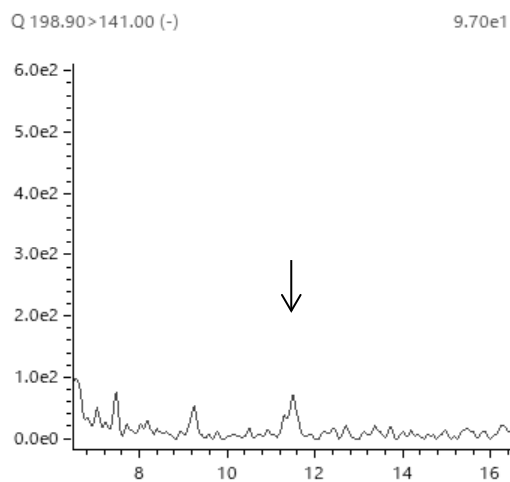
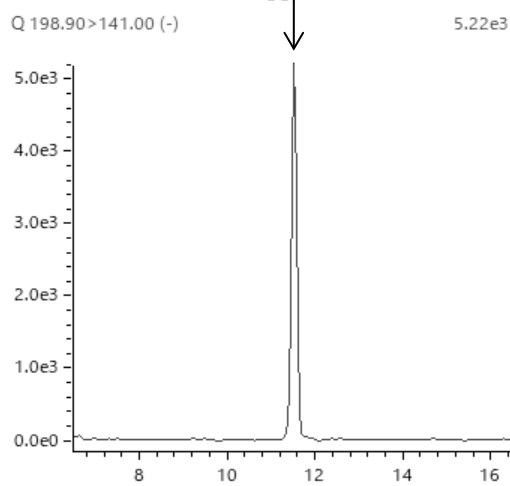


図 15 MCPA の SRM クロマトグラム ( $m/z$  198.9→141.0)  
試料：牛の脂肪

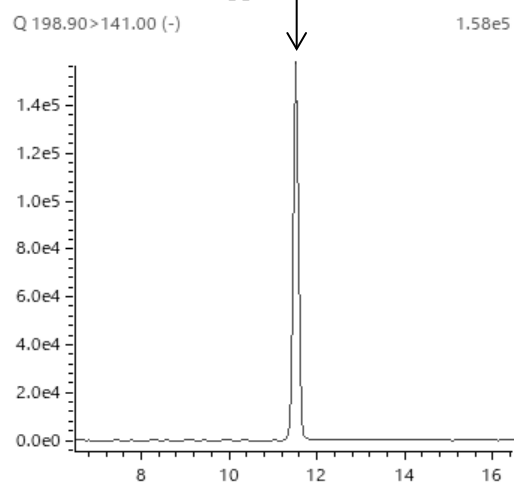
ブランク試料



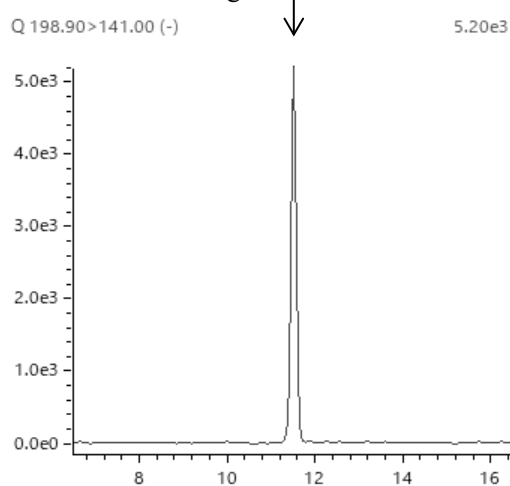
添加試料 (試料中 0.01 ppm 相当)



添加試料 (試料中 3 ppm 相当、10 倍希釈)



標準溶液 (0.0002 mg/L)



標準溶液 (0.006 mg/L)

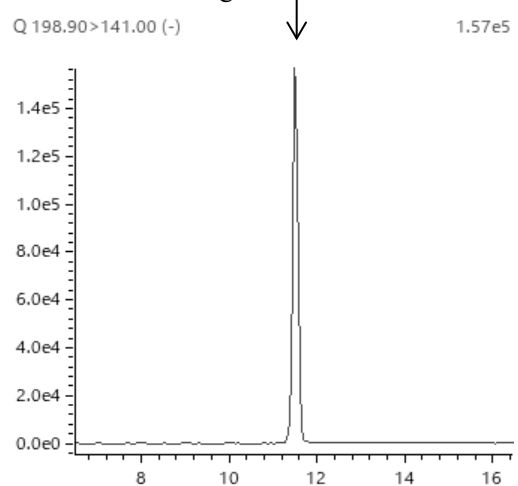
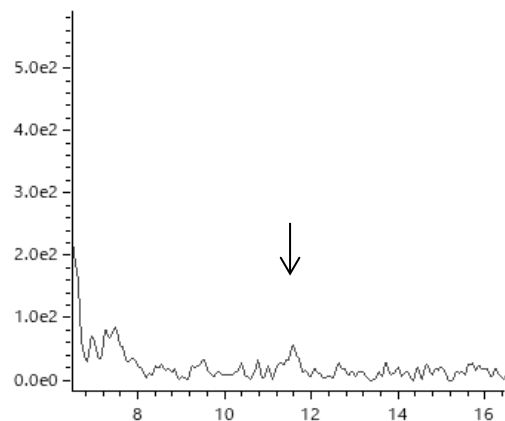


図 16 MCPA の SRM クロマトグラム ( $m/z$  198.9→141.0)  
試料：牛の肝臓

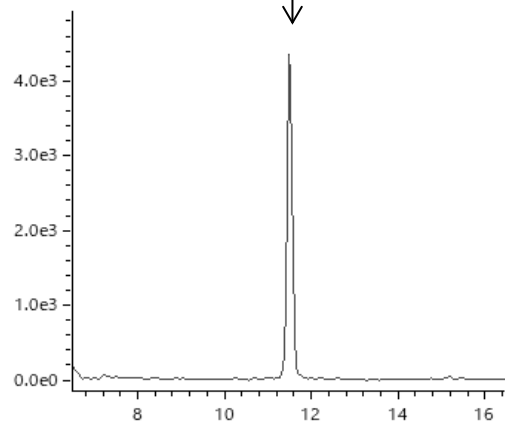
ブランク試料

Q 198.90>141.00 (-) 2.20e2



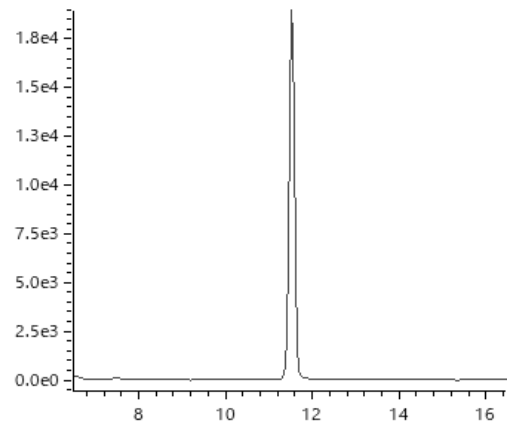
添加試料 (試料中 0.01 ppm 相当)

Q 198.90>141.00 (-) 4.33e3



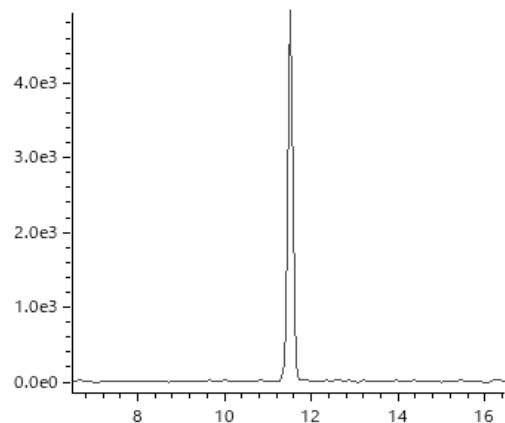
添加試料 (試料中 0.04 ppm 相当)

Q 198.90>141.00 (-) 1.98e4



標準溶液 (0.0002 mg/L)

Q 198.90>141.00 (-) 4.95e3



標準溶液 (0.0008 mg/L)

Q 198.90>141.00 (-) 1.90e4

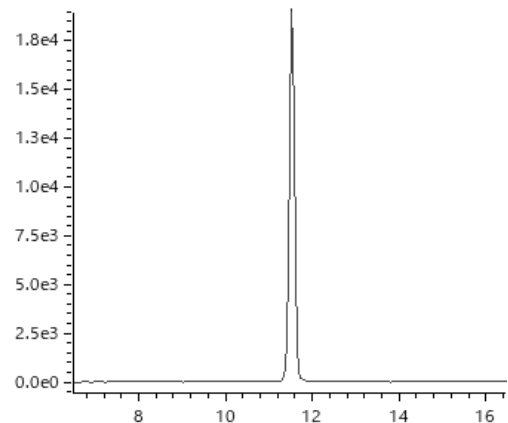
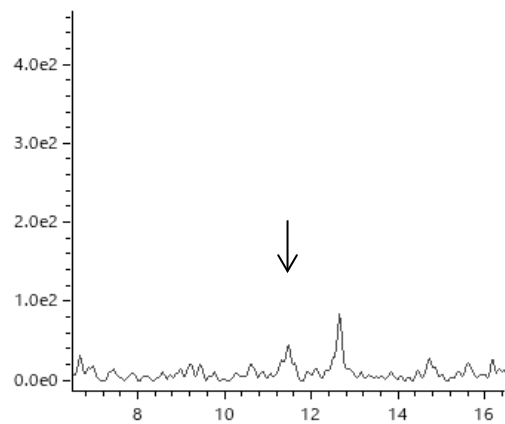


図 17 MCPA の SRM クロマトグラム ( $m/z$  198.9→141.0)  
試料：牛乳

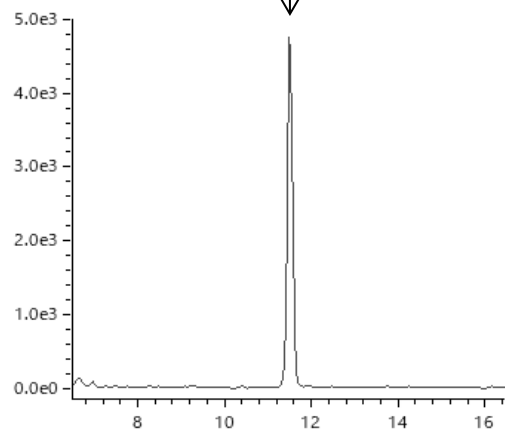
ブランク試料

Q 198.90>141.00 (-) 8.60e1



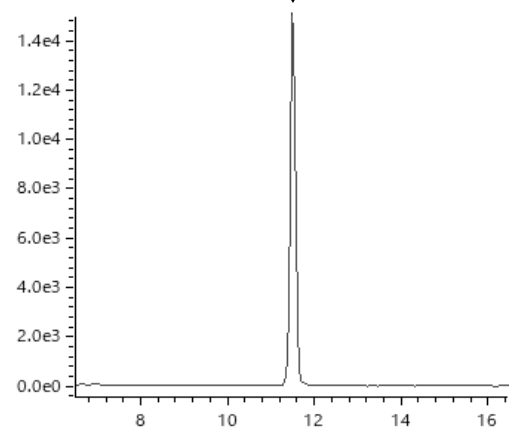
添加試料 (試料中 0.01 ppm 相当)

Q 198.90>141.00 (-) 4.78e3



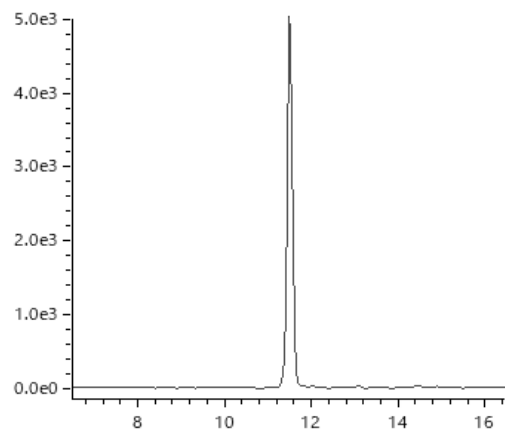
添加試料 (試料中 0.03 ppm 相当)

Q 198.90>141.00 (-) 1.50e4



標準溶液 (0.0002 mg/L)

Q 198.90>141.00 (-) 5.02e3



標準溶液 (0.0006 mg/L)

Q 198.90>141.00 (-) 1.50e4

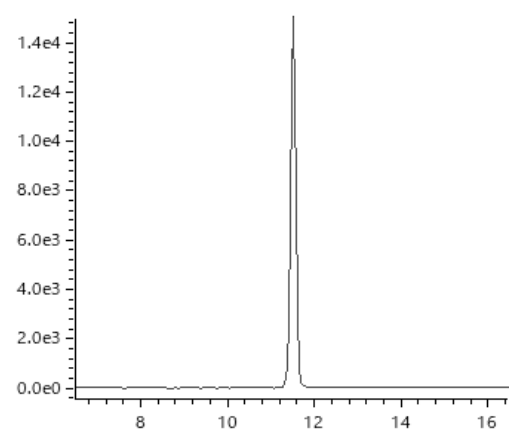
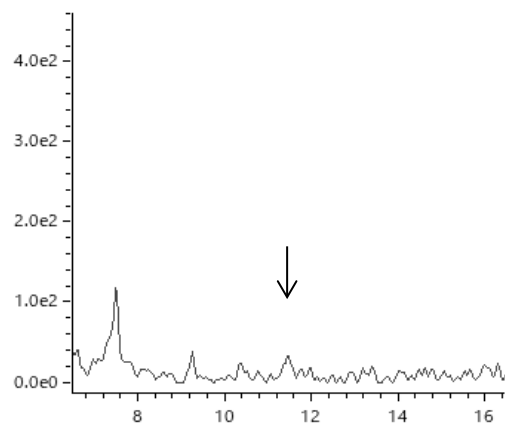


図 18 MCPA の SRM クロマトグラム ( $m/z$  198.9→141.0)  
試料：うなぎ

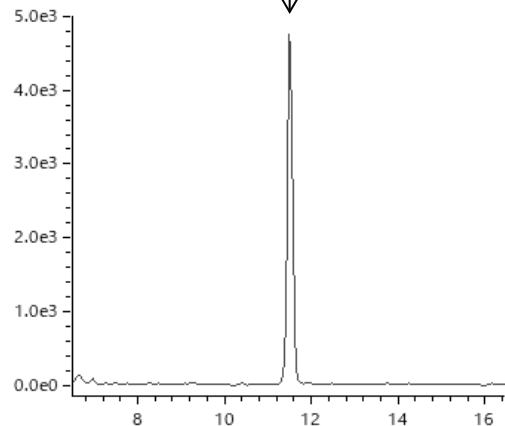
ブランク試料

Q 198.90>141.00 (-) 1.18e2



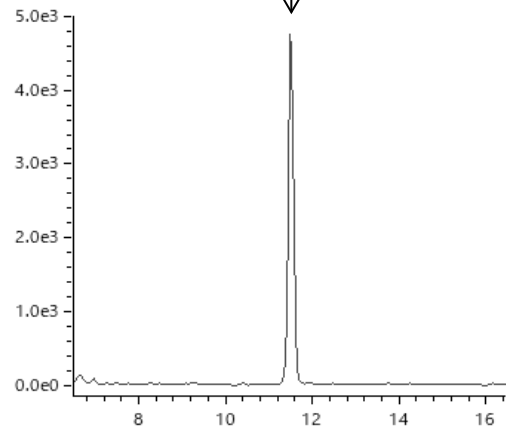
添加試料 (試料中 0.01 ppm 相当)

Q 198.90>141.00 (-) 4.78e3



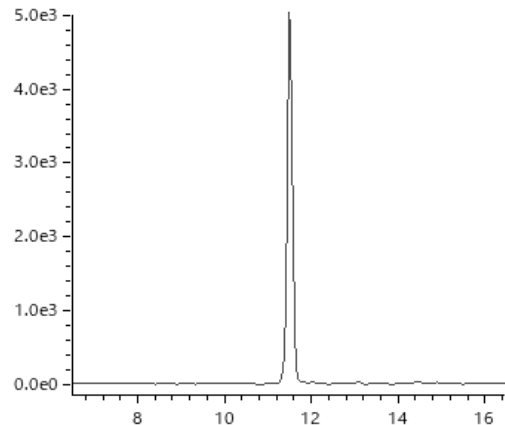
添加試料 (試料中 0.03 ppm 相当)

Q 198.90>141.00 (-) 4.78e3



標準溶液 (0.0002 mg/L)

Q 198.90>141.00 (-) 5.02e3



標準溶液 (0.0006 mg/L)

Q 198.90>141.00 (-) 1.50e4

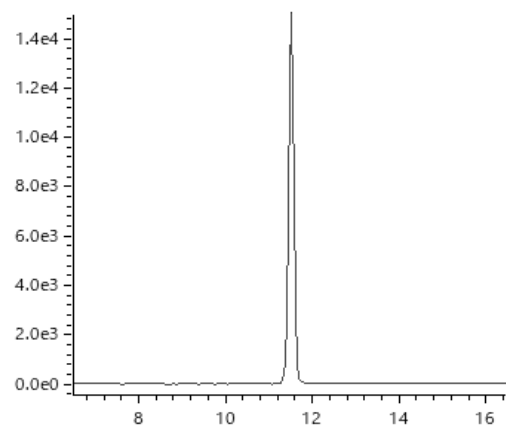
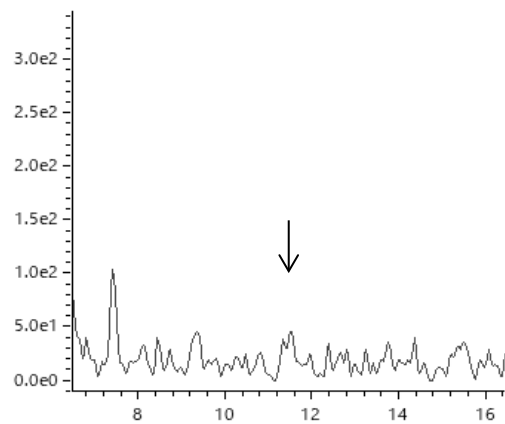


図 19 MCPA の SRM クロマトグラム ( $m/z$  198.9→141.0)  
試料：しじみ

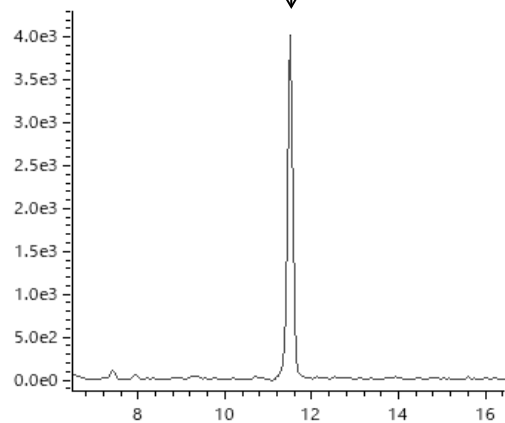
ブランク試料

Q 198.90>141.00 (-) 1.04e2



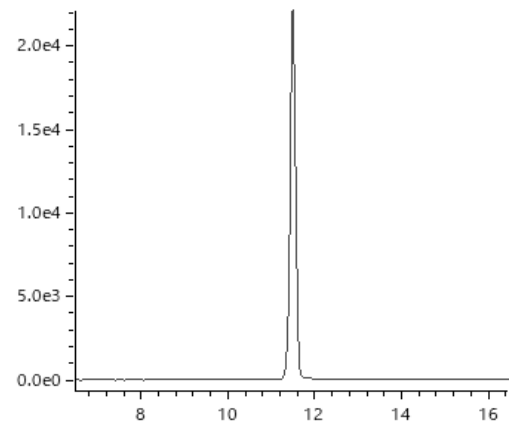
添加試料 (試料中 0.01 ppm 相当)

Q 198.90>141.00 (-) 4.01e3



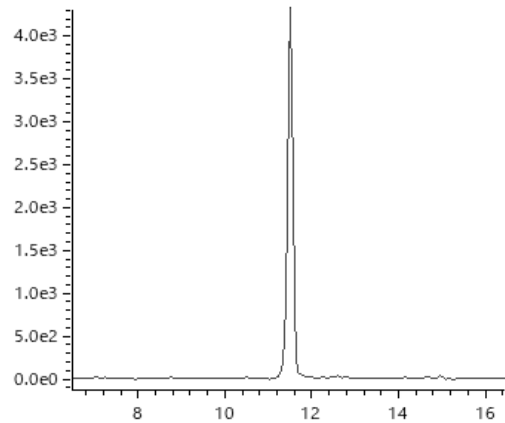
添加試料 (試料中 0.05 ppm 相当)

Q 198.90>141.00 (-) 2.28e4



標準溶液 (0.0002 mg/L)

Q 198.90>141.00 (-) 4.32e3



標準溶液 (0.001 mg/L)

Q 198.90>141.00 (-) 2.21e4

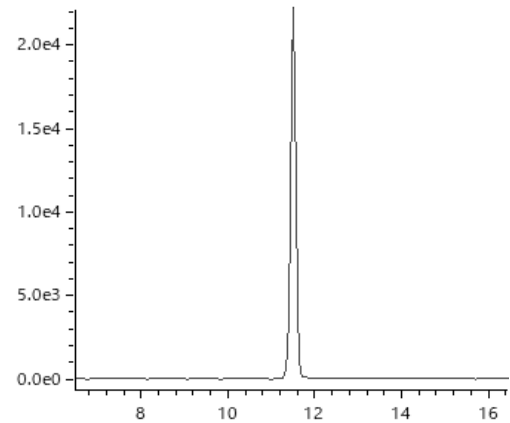
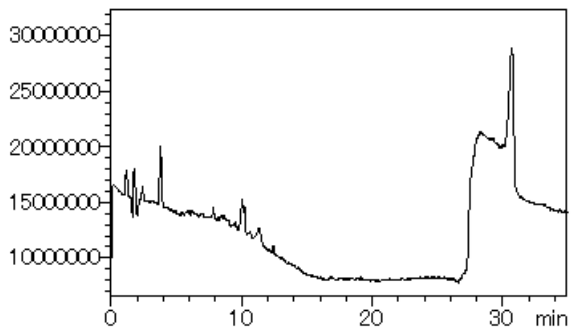
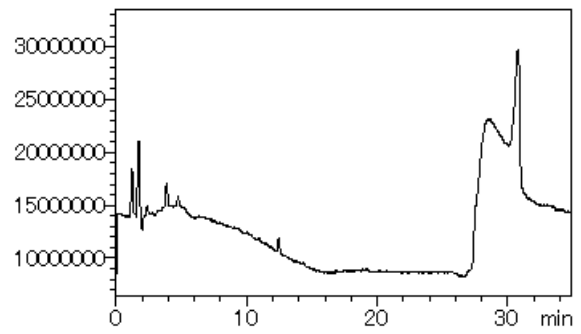


図 20 MCPA の SRM クロマトグラム ( $m/z$  198.9→141.0)  
試料：鶏卵

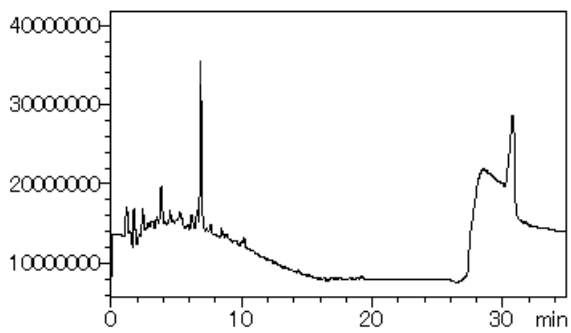
牛の筋肉



牛の脂肪



牛の肝臓



牛乳

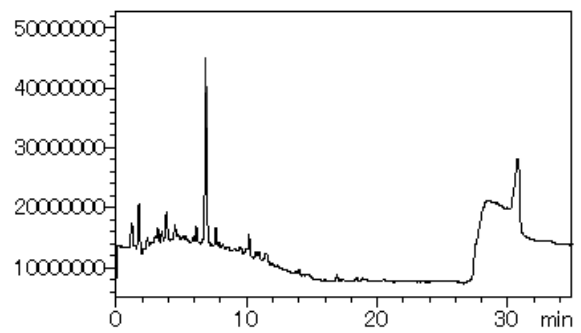
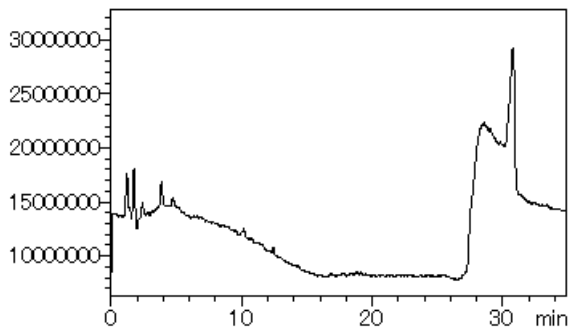
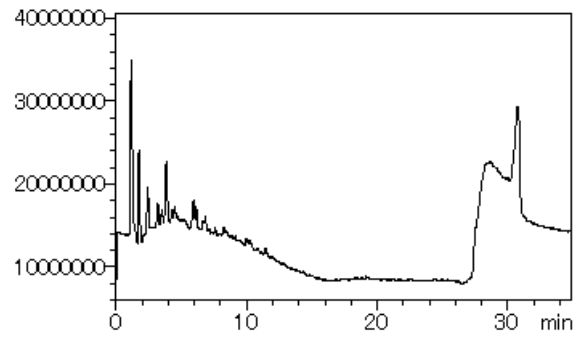


図 21 ブランク試料のフルスキャン測定におけるトータルイオンクロマトグラム  
試料：牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳  
(ネガティブイオンモード、スキャン範囲：50~550 amu)

うなぎ



しじみ



鶏卵

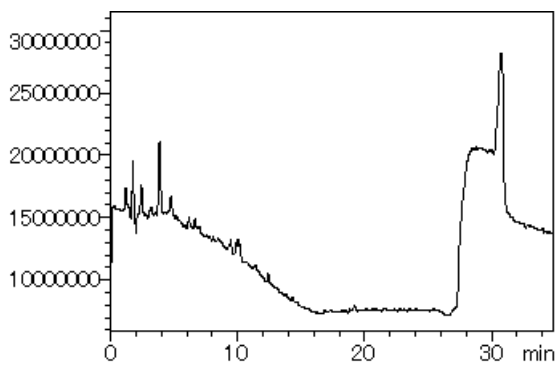


図 22 ブランク試料のフルスキャン測定におけるトータルイオンクロマトグラム  
試料：うなぎ、しじみ、鶏卵  
(ネガティブイオンモード、スキャン範囲：50~550 amu)

## MCPA 試験法（畜水産物）の追加検討結果

添加回収試験において加水分解操作に問題がないことも含めて確認するため、検討対象化合物中で最も加水分解されにくかった MCPA 2-エチルヘキシルエステルを用いて添加回収試験を行った。

選択性の検討結果を表 19 に示した。検討を行ったいずれの試料においても、MCPA の定量を妨害するピークは認められなかった。

表 19 選択性の評価

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (mg/kg)	基準値 (ppm)	妨害ピークの許容範囲の評価		ピーク面積 (高さ) <sup>1)</sup>						選択性の評価 <sup>3)</sup>	備考			
					評価濃度 (ppm)	評価基準	面積又は高さの別	ブランク			マトリックス添加標準溶液 <sup>2)</sup>				面積(高さ)比 (a)/(b)		
								n=1	n=2	平均 (a)	n=1	n=2				平均 (b)	
1	MCPA	牛の筋肉(LOQ)	0.01		定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0	35267	35539	35403	0.000	○	
2		牛の脂肪(LOQ)	0.01		定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0	39781	41911	40846	0.000	○	
3		牛の肝臓(LOQ)	0.01		定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0	36577	35257	35917	0.000	○	
4		牛乳(LOQ)	0.01		定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0	41693	42294	41994	0.000	○	
5		鶏卵(LOQ)	0.01		定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0	42655	42957	42806	0.000	○	
6		うなぎ(LOQ)	0.01		定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0	40547	38744	39646	0.000	○	
7		しじみ(LOQ)	0.01		定量限界	0.01	< 0.333	面積	0	0	0	41899	40385	41142	0.000	○	
8		牛の筋肉(MRL)	0.01	0.1	基準値	0.1	< 0.100	面積	0	0	0	318892	334719	326806	0.000	○	
9		牛の脂肪(MRL)	0.01	0.2	基準値	0.2	< 0.100	面積	0	0	0	771082	772125	771604	0.000	○	
10		牛の肝臓(MRL)	0.01	3	基準値	3	< 0.100	面積	0	0	0	1011983	1021545	1016764	0.000	○	
11		牛乳(MRL)	0.01	0.04	基準値	0.04	< 0.100	面積	0	0	0	128580	129807	129194	0.000	○	
12		鶏卵(MRL)	0.01	0.05	基準値	0.05	< 0.100	面積	0	0	0	166398	167023	166711	0.000	○	
13		うなぎ(MRL)	0.01	0.03	基準値	0.03	< 0.100	面積	0	0	0	111412	111361	111387	0.000	○	
14		しじみ(MRL)	0.01	0.03	基準値	0.03	< 0.100	面積	0	0	0	112192	110565	111379	0.000	○	

真度及び併行精度の検討結果を表 20 に示した。

定量限界相当濃度の添加回収試験では、真度 87.1~96.2%、併行精度 1.4~3.7%であり、真度 70~120%、併行精度 (RSD) < 25%という目標値を満足した。また、S/N は 189.0~282.7 であり、いずれの食品においても S/N ≥ 10 を満足した。

基準値相当濃度の添加回収試験では、真度 88.7~96.7%、併行精度 0.3~3.7%であり、真度 70~120%、併行精度 (RSD) < 15% (牛の筋肉、牛乳、うなぎ、しじみ、鶏卵) 及び併行精度 (RSD) < 10% (牛の脂肪、肝臓) という目標値を満足した。

表 20 真度、精度及び定量限界の評価

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (mg/kg)	基準値 (ppm)	添加濃度 (ppm)	定量限界の評価 <sup>1)</sup>	検量線		回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	S/N <sup>2)</sup>			備考	
							傾き	切片	r <sup>2</sup>	n=1	n=2	n=3	n=4			n=5	Max.	Min.		平均値
1	MCPA	牛の筋肉(LOQ)	0.01	0.1	0.01	S/N	178922280	196	0.9998	86.5	91.0	84.2	90.0	83.9	87.1	3.7	235.5	262.4	248.9	
2		牛の脂肪(LOQ)	0.01	0.2	0.01	S/N	189928857	-312	0.9997	88.5	91.9	91.6	88.1	87.9	89.6	2.2	223.1	226.6	224.8	
3		牛の肝臓(LOQ)	0.01	3	0.01	S/N	181192571	-123	1.0000	97.2	94.6	96.1	99.4	93.7	96.2	2.3	191.0	187.1	189.0	
4		牛乳(LOQ)	0.01	0.04	0.01	S/N	215482000	-59	0.9999	95.3	94.9	93.2	93.5	98.1	95.0	2.1	271.5	270.3	270.9	
5		鶏卵(LOQ)	0.01	0.05	0.01	S/N	215789143	-425	0.9999	87.8	86.1	88.6	88.4	86.1	87.4	1.4	282.2	256.7	269.5	
6		うなぎ(LOQ)	0.01	0.03	0.01	S/N	186747428	-215	0.9998	90.4	92.7	96.4	94.6	93.8	93.6	2.4	251.8	276.4	264.1	
7		しじみ(LOQ)	0.01	0.03	0.01	S/N	203412571	-912	0.9998	88.9	89.4	89.6	92.8	92.9	90.7	2.2	257.0	308.5	282.7	
8		牛の筋肉(MRL)	0.01	0.1	0.1	—	108803057	-3310	0.9997	88.4	89.6	92.1	91.5	90.4	90.4	1.6	—	—	—	
9		牛の脂肪(MRL)	0.01	0.2	0.2	—	194902309	8636	0.9997	88.1	89.4	88.9	89.0	88.0	88.7	0.7	—	—	—	
10		牛の肝臓(MRL)	0.01	3	3	—	159595220	20761	0.9999	88.8	92.9	89.7	93.7	93.5	91.7	2.5	—	—	—	
11		牛乳(MRL)	0.01	0.04	0.04	—	105280800	-7137	0.9998	92.3	90.2	93.2	92.7	91.3	91.9	1.3	—	—	—	
12		鶏卵(MRL)	0.01	0.05	0.05	—	180289400	-20710	0.9994	94.8	94.7	94.4	94.9	95.1	94.8	0.3	—	—	—	
13		うなぎ(MRL)	0.01	0.03	0.03	—	172709026	-16505	0.9990	97.4	95.9	97.2	94.9	98.1	96.7	1.3	—	—	—	
14		しじみ(MRL)	0.01	0.03	0.03	—	167878971	-13486	0.9996	87.8	89.4	91.1	94.8	95.7	91.8	3.7	—	—	—	

<sup>1)</sup> S/Nを求める必要がある場合には『S/N』と表示される。

<sup>2)</sup> 得られた回収率の中で最大値を与えるピーク(Max.)及び最小値を与えるピーク(Min.)のそれぞれのS/Nを求める。

### [結論]

本法を用いて MCPA 2-エチルヘキシルエステルの定量限界相当濃度及び基準値相当濃度の添加回収試験を行った結果、真度 87.1~96.7%、併行精度 0.3~3.7%という良好な結果が得られたことから、加水分解操作を含め、MCPA の分析法として十分な精度を有していることが確認できた。

以上の結果より、本法は畜水産物中の MCPA を精確に分析できる方法であると考えられた。