報 文

LC-MS/MSによる畜水産物中のフルオピコリド分析法

(平成28年3月25日受理)

小林麻紀^{1,*} 酒井奈穂子¹ 上條恭子¹ 大谷陽範¹ 林 真輝¹
 小池 裕¹ 馬場糸子¹ 笹本剛生¹ 根本 了² 新藤哲也¹ 高野伊知郎¹

Determination of Fluopicolide in Livestock Products and Seafood by LC-MS/MS

Maki KOBAYASHI^{1,*}, Naoko SAKAI¹, Kyoko KAMIJO¹, Harunori OTANI¹, Masaki HAYASHI¹,
 Hiroshi KOIKE¹, Itoko BABA¹, Takeo SASAMOTO¹, Satoru NEMOTO², Tetsuya SHINDO¹ and Ichiro TAKANO¹

¹ Tokyo Metropolitan Institute of Public Health: 3-24-1 Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan;

² National Institute of Health Sciences: 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan;

*Corresponding author

An analytical method for the determination of fluopicolide in livestock products and seafood was developed using LC-MS/MS. Sodium chloride was added to livestock products and seafood samples and fluopicolide was extracted twice with acetone after acidification with formic acid. The fat from the crude extract was removed using a macroporous diatomaceous earth column, followed by purification with a combination of mini-columns of GC (graphite carbon) and PSA (ethylenediamine-*N*-propyl silylation silica gel). The average recovery ($n=5$) of fluopicolide from 10 types of livestock products and seafood (cattle fat, cattle liver, cattle muscle, chicken, eel, egg, freshwater clam, honey, milk and salmon) spiked at the MRLs or at the uniform limit (0.01 ppm) was 96–100%, with a relative standard deviation of 2.3–6.2%. The limit of quantitation of the developed method was calculated to be 0.01 mg/kg.

(Received March 25, 2016)

Key words: フルオピコリド fluopicolide; 畜産物 livestock products; 水産物 seafood; 液体クロマトグラフィー-タンデム型質量分析計 LC-MS/MS

緒 言

フルオピコリド (Fig. 1) は、1998年にドイツのアグレボ社 (現バイエルクロップサイエンス社) により開発され、薬剤耐性菌にも効果を発揮する新規農業用殺菌剤である。フルオピコリドは、卵菌綱 (*Oomycetes*) に属するトマト、ミニトマト、はくさい、たまねぎおよびきゅうりなどの各種作物のべと病および疫病に対して実用性を有する。作用機構は解明に至っていないが、電子伝達系阻害、脱共役阻害、セルロース生合成阻害など以外の作用機構を有する可能性が示唆されている^{*1,1)}。

フルオピコリドは、わが国において2008年に農薬登録さ

C₁₄H₈Cl₃F₃N₂O
 MW : 383.6

Fig. 1. Structure of fluopicolide

れ、食品衛生法の規格基準がばれいしょなどの農産物に0.02~25 ppmおよび牛の筋肉などの畜水産物に0.01~0.02 ppmが設定されている。基準値の設定されていない食品については一律基準値0.01 ppmが適用される。農産物については、一斉試験法および個別試験法の報告があり^{2),3)}、また、厚生労働省から個別試験法として「フルオピコリド試験法 (農産物)」^{*2,4)} が通知されているが、畜水産

* 連絡先 Maki_Kobayashi@member.metro.tokyo.jp

¹ 東京都健康安全研究センター: 〒169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

² 国立医薬品食品衛生研究所: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1

^{*1} 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC), 農薬抄録および評価書, 農薬抄録一般名フルオピコリド (殺菌剤), <http://www.acis.famic.go.jp/syouroku/fluopicolide/index.htm>, 2012年9月25日掲載

^{*2} 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知: 食品に残留する農薬、飼料添加物または動物用医薬品の成分である物質の試験法について, 平成17年1月24日, 食安発第0124001号。

物を対象として検討した試験法の報告はほとんどない。

そこで、畜水産物を対象とした高感度で選択性の高い LC-MS/MS による試験法を開発し、畜水産物への適用性について検討したので報告する。

実験方法

1. 試料

東京都内で市販されていた牛の筋肉、鶏の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、鶏卵、牛乳、はちみつ（そば蜜）、うなぎ、さけおよびしじみの計 10 種を用いた。

牛の筋肉、鶏の筋肉、牛の脂肪および牛の肝臓は、細切したのちフードプロセッサーを用いて均一化した。牛乳はそのまま、鶏卵は殻を除去後、はちみつは 30℃ に加温後、フードプロセッサーを用いてかくはん均一化した。うなぎおよびさけは可食部を細切した後、しじみは殻を除去後、フードプロセッサーを用いて均一化した。

2. 試薬

フルオピコリド標準品はシグマアルドリッチ製（純度 99.9%）の残留農薬試験用農薬標準品を用いた。この 20.0 mg を量り採り、アセトニトリルに溶解し、正確に 20 mL として標準原液とした。標準原液を用事、アセトニトリルで適宜希釈し、測定用標準溶液とした。また、標準原液をアセトンで希釈し、添加回収用標準溶液とした。

塩化ナトリウム、アセトンおよびアセトニトリルは和光純薬工業（株）製の残留農薬試験用を、ギ酸、酢酸アンモニウム溶液および移動相のアセトニトリルは和光純薬工業（株）製の LC-MS 用を用いた。

水は Milli-Q[®] 超純水装置（（株）日本ミリポア社製）により精製して用いた。

多孔性ケイソウ土カラムはジーエルサイエンス社製 InertSep K-solute（10 mL 保持用）を用いた。

精製用固相ミニカラムは、ジーエルサイエンス社製の InertSep GC（グラファイトカーボン）250 mg/3 mL および InertSep PSA（エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル）500 mg/3 mL を用いた。

3. 装置

ホモジナイザーはマイクロテック・ニチオン社製ヒスコトロン NS-52、遠心分離機はトミー精工社製 AX-321、減圧濃縮装置は Buchi 社製 R-215 を用いた。高速液体クロマトグラフは Waters 社製 ACQUITY UPLC、質量分析装置は Waters 社製 Quattro Premier XE を用いた。

4. 測定条件

LC-MS/MS 条件は Table 1 に示した。

5. 試験溶液の調製

試料 10 g に塩化ナトリウム 1 g および 1 vol% ギ酸 10 mL を加えた。そこへアセトン 50 mL を加え、ホモジ

Table 1. LC-MS/MS operating conditions

LC parameters				
Column	L-Column2 ODS (2.1×100 mm, 5 μm)			
Mobile phase	A = 2 mmol/L ammonium acetate B = acetonitrile			
Linear gradient elution				
	Time (min)	A (%)	B (%)	
	0	90	10	
	8	10	90	
	9	10	90	
	9.1	90	10	
Flow rate	0.3 mL/min			
Injection volume	5 μL			
Column temperature	40°C			
Run time	13 min			
MS conditions				
Ionization mode	Electrospray ionization (positive mode)			
Capillary voltage	3 kV			
Source temperature	100°C			
Desolvation temperature	450°C			
Cone gas flow	50 L/hr			
Desolvation gas flow	850 L/hr			
Transition				
	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Product ion (<i>m/z</i>)	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
	382.5	172.9 ^{a)}	28	24
	382.5	108.9 ^{b)}	28	55
^{a)} Used for quantitation				
^{b)} Used for confirmation

Scheme 1. Sample preparation method for analysis

ナイザー（10,000 rpm）で細砕した後，3,000回転で5分間遠心し，その上澄液を分取した．残渣にアセトン25 mLを加え，1回目と同様に細砕した後，遠心した．上澄液を合わせ，アセトンを加えて100 mLに定容し，試料抽出溶液とした．

InertSep K-solute カラムに試料抽出溶液を10 mL注入し，流下しないよう充填剤に浸潤させ，吸引マニホールドを用いて，5分間吸引して大部分の溶媒を乾燥した．アセトニトリル100 mLを注入し，全溶出液をナス型フラスコに採り，減圧濃縮装置を用いて40℃以下で約3 mLまで濃縮した．

あらかじめアセトニトリル10 mLでそれぞれコンディショニングしておいた，InertSep GCカラムの下にInertSep PSAカラムを接続し，約3 mLまで濃縮した溶液を注入した後，容器をアセトニトリル6 mLで洗い，洗液をカラムに注入し，さらにアセトニトリル10 mLを注入し，全溶出液を合わせ，正確にアセトニトリルで20 mLとしたものを試験溶液とした（Scheme 1）．

6. 添加回収試験

基準値濃度となるようフルオピコリド標準溶液を添加し，30分間放置した後，本法に従って操作して，真度および併行精度を求めた．

7. 試料マトリックスの測定への影響

ブランク試料を5. 試験溶液の調製に従って調製し，この2 mLを濃縮し，標準溶液2 mLに溶解して添加回収試験における回収率100%相当濃度になるようにマトリッ

クス標準溶液とした．マトリックス標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積比（各2回測定の実測値）を求めて試料マトリックスの測定への影響を検討した．

結果および考察

1. 測定条件の検討

1.1 MS条件の検討

厚生労働省から通知されている「フルオピコリド試験法（農産物）」は，LC-MSまたはLC-MS/MSを用いてESIポジティブモードで測定および確認する方法である．同様にESIモードで測定する最適な条件を検討した．

ポジティブモードでは，フルオピコリドのプロトン付加分子（ m/z 382.5 $[M+H]^+$ ），ネガティブモードでは脱プロトン化分子（ m/z 381.5 $[M-H]^-$ ）のモル質量382に関するスペクトルが得られたが，ネガティブモードでの感度はポジティブモードの1/100以下であったことから，測定にはポジティブモードを用いることとした．フルオピコリドのプロトン付加分子（ m/z 382.5 $[M+H]^+$ ）をプリカーサーイオンとした場合のプロダクトイオンのうち，イオン強度の最も高い m/z 172.9を定量用イオンに，次にイオン強度の高い m/z 108.9を定性用イオンとした．

1.2 LC条件の検討

分析カラムは，L-column2 ODS（内径2.1 mm，長さ100 mm，粒子径5 μ m：化学物質評価研究機構製），コアシェルカラムであるAccucore C18（内径2.1 mm，長さ100 mm，粒子径2.6 μ m：サーモフィッシャーサイエントフィック社製）およびAscentis Express C18（内径2.1 mm，長さ100 mm，粒子径5 μ m：シグマアルドリッチ製）を用いて検討を行ったところ，フルオピコリドのピーク形状，分離および再現性について良好な結果が得られたので，L-column2 ODSを使用することにした．

移動相条件は，「フルオピコリド試験法（農産物）」では，アセトニトリルおよび2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液（1:1）混液でのアイソクラティック測定が用いられている．分析カラム内の試料成分を迅速に流出させるため，また，後述する牛の肝臓での妨害ピークとの分離のため，グラジエント条件を検討した．アセトニトリルおよび2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液（1:9）から（9:1）までの8分間のリニアグラジエントののち，（9:1）で1分間保持する条件としたところ，フルオピコリドの保持時間は6.1分となり，試料成分も十分に分離して溶出させることができた．

本条件を用いて添加回収試験の濃度範囲である0.000125～0.0015 mg/Lで検量線を作成したところ，良好な直線性（ $r=0.999$ ）を示した．

2. 試験溶液の調製

2.1 抽出

抽出溶媒としてアセトン-*n*-ヘキサン混液（1:1および1:2），アセトン-アセトニトリル混液（1:1），酢酸エチル，酢酸エチル-アセトニトリル混液（1:1），ジエチル

エーテル-アセトニトリル混液 (1:1) について検討した。水 10 mL にフルオピコリド標準溶液 1 mg/L (アセトン溶液) 0.1 mL を添加し、塩化ナトリウム 1 g を加え、各溶媒 50, 25 mL で 1 分間ホモジナイズ後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離した。得られた上層 (2 層となった場合は有機層) を合わせ 100 mL に定容後、5 mL 分取し、アセトニトリルに置換後、LC-MS/MS で測定した。アセトン、酢酸エチルおよびジエチルエーテルで 99% 以上の回収結果であった。アセトン-*n*-ヘキサン混液 (1:2) では 60% 未満と低かった。これは、フルオピコリドの *n*-ヘキサンへの溶解性 (溶解度: 0.20 g/L (20°C)) が十分ではないためおよび水層に溶解したアセトンを十分に回収できなかったためと考えられる。

次に、回収率の高かったアセトン、酢酸エチルおよびジエチルエーテルを用いて、牛の筋肉など 10 試料に、水 10 mL、塩化ナトリウム 1 g、各溶媒 50 mL を加え、1 分間ホモジナイズ後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離した。その結果、アセトン以外では鶏の筋肉、牛の肝臓およびさけなどエマルジョンを形成する試料があり、上澄液を分取することが困難であった。そこでフルオピコリドの回収率が高く、抽出液を分取しやすいアセトンを抽出溶媒に用いることにした。

次に回収率の向上のため塩化ナトリウムおよびギ酸の添加を検討した。

牛の肝臓 10 g にフルオピコリド標準溶液 1 mg/L (アセトン溶液) 0.1 mL を添加し、30 分放置後、塩化ナトリウム 1 g を加えたものと加えないものとで回収率を比較した。アセトン抽出後、InertSepGC カラムおよび Inert-Sep PSA カラムで精製を行った後、試験溶液とした。塩化ナトリウムを加えないと 79.6%，加えた場合は 91.5% と塩析効果によると考えられる回収率の向上が見られた。

次に、ギ酸溶液を加えた場合の添加量を検討した。牛の肝臓 10 g にフルオピコリド標準溶液 1 mg/L (アセトン溶液) 0.1 mL を添加し、30 分放置後、ギ酸 (0.01~1 vol%) 10 mL を加え、アセトン抽出後、GC カラムおよび PSA カラムで精製を行った後、試験溶液とした。ギ酸溶液を加えない場合は 91%，加えることにより 99% 以上と回収率の向上が見られた。また、ギ酸濃度が 1 vol% ではクロマトグラム上でフルオピコリドに近接していたマトリックスピークが消失した (Fig. 2)。ギ酸を加えることで、妨害成分が分解または生成が抑制されたか、あるいはアセトンで抽出されにくくなったものと考えられた。1 vol% ギ酸溶液添加を採用することとした。

次に、1 vol% ギ酸溶液を加えた場合の塩化ナトリウムの添加量を検討した。牛の筋肉など 10 試料にフルオピコリド標準溶液 1 mg/L (アセトン溶液) 0.1 mL を添加し、30 分放置後、1 vol% ギ酸溶液 10 mL、塩化ナトリウム 0.5~3 g を加えアセトン抽出後、GC および PSA カラムで精製を行った後、試験溶液とした。塩化ナトリウム 0.5~3 g を加えた場合と加えなかった場合の回収結果を Table 2 に示した。

Fig. 2. SRM chromatograms of cattle liver fortified with 0.01 mg/kg fluopicolide, (A) without addition of formic acid, (B) addition of 0.1% formic acid, (C) addition of 0.5% formic acid, (D) addition of 1% formic acid

The scales of the Y-axis are the same in all chromatograms.

Table 2. Comparison of the recovery of fluopicolide from livestock products and seafood by the sodium chloride addition

Sample	Recovery (%) ^{a)}				
	Sodium chloride (g)				
	0	0.5	1	2	3
Cattle, muscle	84.3	91.5	98.3	98.0	98.2
Chicken	90.1	97.5	97.7	97.5	101.0
Cattle, fat	90.6	95.5	95.8	95.4	90.6
Cattle, liver	89.1	92.2	97.3	96.8	93.1
Egg	88.0	93.1	95.6	95.2	96.5
Milk	95.7	95.5	100.6	97.5	100.3
Honey	69.3	79.6	93.5	92.3	92.6
Eel	97.1	100.0	100.3	99.7	99.0
Salmon	98.8	98.2	99.8	99.1	98.1
Freshwater clam	89.6	96.7	97.7	97.4	95.2

^{a)} Fortified level: 0.01 mg/kg, *n* = 1

Table 3. Elution rate of fluopicolide from each mini-column

Column	Recovery (%) ^{a)}						Total
	Acetonitrile (mL)						
	0–5	5–10	10–15	15–20	20–25	25–30	
InertSep GC (250 mg) + InertSep C18 (1 g)	18.2	81.3	0.3	0.2	0	0	100.0
InertSep GC (500 mg) + InertSep C18 (1 g)	0.3	38.7	57.6	2.4	0.3	0.1	99.4
InertSep GC (250 mg) + InertSep PSA (500 mg)	19.8	79.7	0.3	0.1	0	0	99.9
InertSep GC (500 mg) + InertSep PSA (500 mg)	0.3	36.2	59.3	2.8	0.3	0.1	99.0

^{a)} One milliliter of standard solution (0.01 mg/L in acetonitrile) was loaded on each column, and elute with acetonitrile, then was divided every 5 mL. $n = 1$

その結果、はちみつでは塩化ナトリウムを添加した場合に、顕著な回収率の向上が見られた。その他の試料においても回収率の向上が見られたが、添加量1~3 gでは回収率に大きな違いが見られなかった。1 gより多く塩化ナトリウムを加えた場合、ホモジナイズ時に試料の分散が均一に行われにくく、シャフトに付着しやすい傾向が見られたことから、回収率が高く、ホモジナイズ時に均一になる1 gを用いることとした。

2.2 脱脂法の検討

操作の簡便性向上およびエマルジョンによる回収率低下を考慮し、多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィーによる脱脂^{5)~8)}を検討した。

InertSep K-soluteカラムにフルオピコリド標準溶液0.01 mg/L (アセトン溶液) 1 mLおよびアセトン9 mLを負荷し、5分間吸引乾燥後、アセトニトリル30 mL 1分画および10 mL 10分画で溶出し、各溶出液にアセトニトリルを加え、10 mLに定容後LC-MS/MSで測定した。アセトニトリル溶出量100 mLで96%以上の回収率が得られたことから、アセトニトリル100 mLで溶出することとした。牛の脂肪をこの条件で脱脂したところ、目視では濃縮後に残留物が確認されず、良好な脱脂効果が得られた。

2.3 精製法の検討

「フルオピコリド試験法 (農産物)」では、GCおよびオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (C18) を用いて精製を行っている。同様にGCおよびC18カラムについて、また脂肪酸等の除去に用いられるPSAカラムについて検討を行った。

それぞれ単独で精製した場合、C18およびPSAカラムでは試料溶液の色素除去が不十分であり、また、GCカラムにおいても、溶媒標準溶液とマトリックス添加標準溶液のピーク面積比に30%程度の差異が認められた。これはLC-MS/MS測定時のイオン化抑制によるものと考えられた。

そこで、GCおよびC18カラムの組合せと、GCおよびPSAカラムの組合せについて検討した。

カラムをアセトニトリル10 mLでコンディショニングした後、GCカラムを上にしてカラムを連結し、フルオピコリド標準溶液0.01 mg/L (アセトニトリル溶液) 1 mLを負荷し、アセトニトリルで溶出したときの溶出状況をTable 3に示した。いずれの組合せにおいても99%以上の

Table 4. Recovery of fluopicolide from livestock products and seafood

Sample	MRL	Fortified level	Recovery ^{a)}	RSD ^{b)}
	(mg/kg)	(mg/kg)	(%)	(%)
Cattle, muscle	0.01	0.01	100.0	3.1
Chicken	0.01	0.01	98.5	5.4
Cattle, fat	0.01	0.01	97.8	3.7
Cattle, liver	0.01	0.01	97.8	2.7
Egg	0.01	0.01	98.5	3.4
Milk	0.02	0.02	100.4	2.8
Honey	— ^{c)}	0.01	96.7	6.2
Eel	— ^{c)}	0.01	97.7	3.1
Salmon	— ^{c)}	0.01	98.7	2.3
Freshwater clam	— ^{c)}	0.01	98.6	3.9

^{a)} $n = 5$

^{b)} Relative standard deviation

^{c)} Uniform limit

回収が得られた。

次に、牛の筋肉など10試料の抽出した溶液をGCカラム250 mgと連結した場合はアセトニトリル20 mLで、GCカラム500 mgと連結した場合はアセトニトリル30 mLで溶出した。減圧濃縮後、残留物の重量を測定したところ、GCおよびC18カラムの組合せでは0.001未満~0.015 g、GCおよびPSAカラムの組合せでは0.001 g未満であった。GCおよびPSAカラムを組合せたほうが試料マトリックスの影響を受けにくいと考えられた。そこで、GCカラム500 mgとの組合せよりも溶出液量が少なく、また、フルオピコリドの回収率が99.9%と良いGCカラム250 mgおよびPSAカラム500 mgの組合せを採用した。

3. 添加回収試験

フルオピコリドが検出されないことを確認した10種類の試料10 gに、残留基準値濃度になるよう添加し、30分間放置した後、本法に従って操作して5併行の回収率を求めた。その結果、Table 4に示したように真度は96~100%、併行精度は2.3~6.2%と良好であった。検討したいずれの試料においても、フルオピコリドの定量を妨害するピークは認められず、選択性も良好であった (Fig. 3)。

4. 試料マトリックスの測定への影響

0.01および0.02 mg/Lの溶媒標準溶液と同濃度になるよ

Fig. 3. SRM chromatograms of (A) cattle liver blank, (B) cattle liver fortified with 0.01 mg/kg fluopicolide, (C) standard solution of fluopicolide (0.0005 mg/L)

The scales of the Y-axis are the same in all chromatograms.

うにマトリックス添加標準溶液を調製し、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。面積比は0.93~1.02といずれの試料においても、顕著なマトリックスの測定への影響は認められなかった。

0.001 ppm添加相当になるように調製したマトリックス添加標準溶液での S/N 比を求めたところ、平均値は22~31であり、すべての食品で $S/N \geq 10$ を満たし、検討したいずれの畜水産物においれも0.01 mg/kgを設定可能であった。

ま と め

LC-MS/MSを用いた畜水産物中のフルオピコリド試験法を検討した。試料に塩化ナトリウムを加え、ギ酸酸性下アセトンで抽出し、ケイソウ土カラムで脱脂後、GCおよびPSAカラムで精製して、LC-MS/MSで測定した。10種類の畜水産物（牛の筋肉、鶏の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、鶏卵、牛乳、はちみつ、うなぎ、さけおよびしじみ）

を対象に基準値濃度で添加回収試験を行った結果、真度は96~100%，併行精度は2.3~6.2%であり、良好な結果が得られた。定量限界は、検討したいずれの畜水産物においても0.01 mg/kgを設定できた。

謝 辞

本研究は、厚生労働省医薬食品局食品安全部（現医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部）「平成26年度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」により実施したものである。関係各位に深謝いたします。

文 献

- 1) 沢田勝鏡. 近年開発されたべと・疫病防除薬剤の各種特性と効果的な使用方法—新規化合物フルオピコリド—. EBC研究会誌, 5, 49-55 (2009).
- 2) Akiyama, Y., Matsuoka, T. Application of Multi-residue Analytical Method for 12 Pesticides Added to the

- Positive List, Bulletin of Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Consumer Sciences. Public Health Science Research Center, **1**, 38–42 (2010).
- 3) Paramasivam, M., Chandrasekaran S. Determination of fluopicolide in grapes and soil using an easy sample preparation method and gas chromatography-mass spectrometry. *Toxicological and Environmental Chemistry*, **95**, 1470–1476 (2013).
 - 4) 残留農薬等公示分析法検討会. 通知法解説 食品中の残留農薬・動物用医薬品等試験法37—食品に残留する農薬, 飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法—(104) フルオピコリド (農産物). *食品衛生研究*, **5**, 55–58 (2009).
 - 5) Iijima, K., Saka, M., Odanaka, Y., Matano, O. Multi-residue analytical method of pesticides by GC-MS: Application of macroporous diatomaceous earth column and silica gel cartridge. *J. Pestic. Sci.*, **22**, 17–26 (1997).
 - 6) Ueno, E. Application of macroporous diatomaceous earth column chromatography for pesticide residue analysis in foods. *J. Pestic. Sci.*, **35**, 74–78 (2010).
 - 7) Kobayashi, M., Otsuka, K., Tamura, Y., Tomizawa, S., Kamijo, K., Iwakoshi, K., Sato, C., Nagayama, Y., Takano, I. Study on rapid analysis method of pesticide con-tamination in processed foods by GC-MS and GC-FPD. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, **52**, 182–236 (2011).
 - 8) Ueno, E., Ohno, H., Watanabe, M., Oshima, H., Mikami, E., Nemoto, S., Mstsuda, R. Analysis of spinosad in animal and fishery products by LC-MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*, **52**, 330–335 (2011).