

# 博士論文

クロマトグラフィー/質量分析法による  
食用塩中の残留農薬等の  
分析法に関する研究

Studies on analytical methods of  
agricultural chemicals in edible salts  
by chromatography / mass spectrometry

野田 寧

Yasushi Noda

2010年9月

# 目次

第1章 序論

第2章 GC/MSによる塩中の残留農薬等の一斉分析法

第3章 LC/MSによる塩中の残留農薬等の一斉分析法

第4章 ヘッドスペース-GC/MSによる塩中の残留農薬等の個別分析法

メタム類分析法（個別分析）

ジチオカーバメート類分析法（個別分析）

第5章 LC/MSによる塩中の残留農薬等の個別分析法

イミノクタジン系分析法（個別分析）

グリホサート系分析法（個別分析）

第6章 GC/MSによる塩中の残留農薬等の個別分析法

アセフェート類分析法（個別分析）

カルタップ類分析法（個別分析）

第7章 総括

謝辞

Appendix 調査対象農薬一覧





# 第 1 章

## 序論

## 第 1 章 序論

本論文は、食用塩に対する残留農薬等の分析技術を開発した結果について論じるものである。第 1 章では、ポジティブリスト制度の概要を解説し、塩事業センターで実施した農薬等の選定について、概説した。さらに本論文で使用した分析機器である質量分析計、前処理法である固相抽出法について記述し、第 2 章以降での研究の緒言とした。

### 1.1 食品に残留する農薬等に関するポジティブリスト制度について

#### 1.1.1 食品に残留した農薬等に関するポジティブリスト制度(以下、ポジティブリスト制度)の施行経緯

2002 年に輸入食品から高濃度の残留農薬が検出されることが相次いだため、消費者の食品中の残留農薬に対する不安が増し、規制強化が求められてきた。厚生労働省では、日本における食品の安全性に関する法律である食品衛生法を **Table 1** に示す経緯により改正し、ポジティブリスト制度が 2006 年 5 月 29 日に施行された。

**Table 1** ポジティブリスト制度施行までの流れ

1996年	食品衛生法改正	ポジティブリスト制度導入を検討することを付帯決議
2003年	ポジティブリスト制度導入決定	3年後までに導入することを決定
2005年	施行開始の宣言(11月29日)	制度の最終案を発表
2006年	施行開始(5月29日)	

本報告では、ポジティブリスト制度及びその対応について概説するとともに、塩事業センターにおけるポジティブリスト制度への対応についても付記した。

#### 1.1.2 ポジティブリスト制度導入の背景

これまで、日本では、食品衛生法により残留基準(以下、既往基準)が設定され、この基準を超えて農薬が残留する食品の流通は禁止されていたが、国内で生産された食品は、農薬取締法において、食品衛生法の既往基準を大きく超過しないように農薬の使用基準が設定されており、基準値を超えることは稀であった。しかし、日本は食糧の自給率が低く、加工食品を含めて食品の輸入が極めて多い。このような状況のもとで輸入食品から残留農薬が検出されたことから、これまでの国内生産の食品に対する規制だけでなく、輸入食品に対する規制も必要とされるようになった。

一方、これまでは食品ごとに規制される農薬等が定められていたため、その食品に残留基準が設定されていない農薬等が検出されても流通禁止にできないなど、食品衛生法による残留農薬に関する法的規制の問題点も浮き彫りとなった。

Fig. 1 に厚生労働省が発表している最近 4 年間の食品中の残留農薬検査における検出率を示す<sup>1)</sup>。国内生産農作物では、農薬取締法による使用基準が遵守されているため、残留基準の設定の有無に関わらず、農薬等の検出率は低いレベルを維持している。輸入農作物に関しては、残留基準が設定されていた農作物では検出率は減っているが、設定されていなかった農薬等の検出率は増大し、規制できない農薬等が残留する農作物が流通している可能性があった。次に、国内生産の畜水産物では、残留基準が設定されていた農薬等の検出率は若干減少していて、残留基準が設定されていなかった農薬等の検出率も低いレベルで推移している。これに対して、輸入畜水産物は、残留基準が設定されていた農薬等の検出率が増大し、残留基準が設定されていなかった農薬等の検出率は低いレベルにあるが、増加傾向にあった。

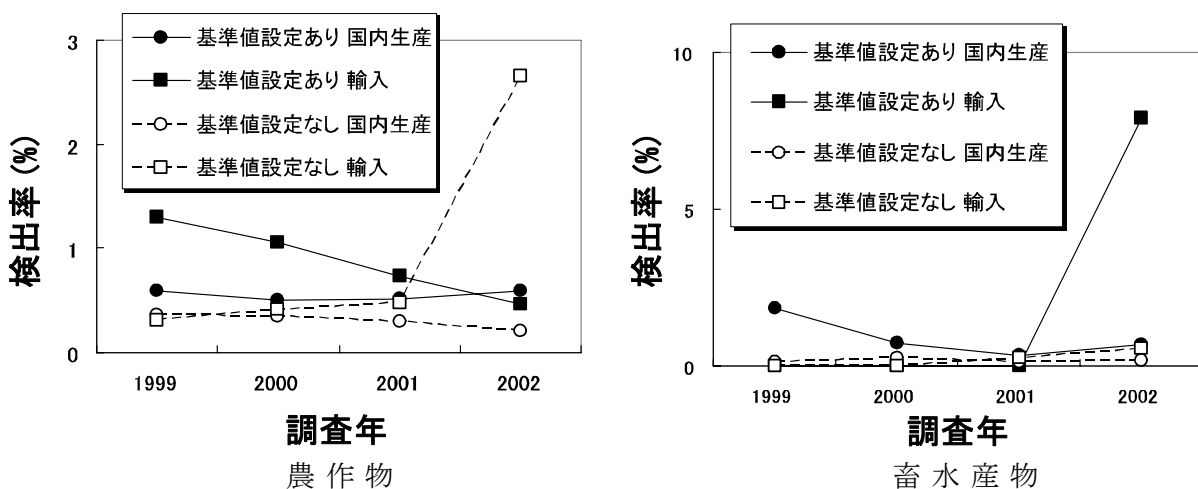


Fig. 1 厚生労働省による最近 4 年間の残留農薬等調査結果

### 1.1.3 ポジティブリスト制度の概要

前項のような背景により食品衛生法が改正されポジティブリスト制度が施行された。今回の食品衛生法の改正点は、第 11 条第 1 項の改正と第 3 項が追加されたことであるが、このうち第 3 項がポジティブリスト制度の導入に関する事項である。

ポジティブリスト制度では、全ての食品を対象とし、規制される

物質も農薬、動物用医薬品、飼料添加物(これらを合わせて農薬等)全てとなった。その目的は、農薬等の適切な使用を推進し、輸入食品への規制を強化して食品の安全性をより高いものにしようとするもので、本制度に適合することが農薬等に関して安全な食品であることの証明となる。

#### 1.1.4 対象となる食品

ポジティブリスト制度では、農作物や畜水産物だけでなく、それらを加工した食品を含めた全て食品が対象となる。例えば、小麦粉などのように小麦を粉碎しただけの加工食品については「加工食品中の農薬等残留基準一覧」が示され、複数の原材料を使用した加工食品については 3.3 で述べる一律基準が適用される。ただし、食品規格一般規則 10 において、原材料がポジティブリスト制度での基準を満たしていれば、その加工食品も基準に適合しているとみなされるが、この場合には、原材料の加工形態を考慮した係数を用いて基準値が適用される(Fig. 2)。

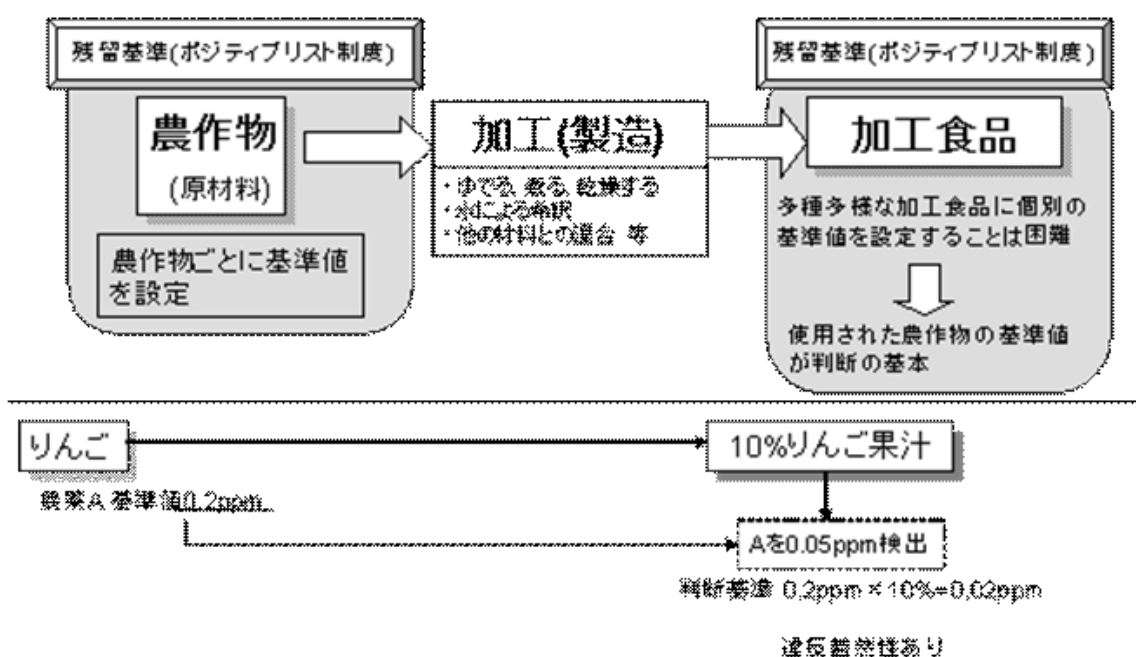


Fig. 2 加工食品への残留基準の適用概念図

また、加工形態を考慮した係数については、業界や事業者で設定されたものが、科学的な根拠に基づいたものであれば、これを用いることができる。

#### 1.1.5 対象とする農薬等



ポジティブリスト制度において規制の対象となる農薬等とは、正確には農薬、動物用医薬品、飼料添加物とこれらの代謝物である。

農薬は、農薬取締法で定められている、農作物の害虫からの防除、生理機能増進などに用いられる薬剤で、殺虫剤、殺菌剤、除草剤、成長促進剤などがある。動物用医薬品は、薬事法で定められている疾病の診断、治療などに用いられる物で、鎮痛剤、ワクチン、検査用試薬などがある。飼料添加物は、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律に定められている、飼料の品質低下防止などの目的として使用されるもので、防カビ剤、ビタミンなどがある。

農薬等の中で、厚生労働大臣の定める「対象外物質」は例外として、ポジティブリスト制度の対象物質から除かれている。この対象外物質は、毒性などの試験により、農薬等として使用され食品に残留したとしても、人体に影響がないとされているもので、ポジティブリスト制度施行時で 65 物質が指定されている<sup>2)</sup>。また、食品添加物として規制されているもの(食品を添加物としたものを以外)も規制対象から除かれている。

これらのポジティブリスト制度において規制の対象外とならなかった農薬等は、全てが規制の対象となり、現在、残留基準が設定されているものだけでも約 800 種類の項目が指定されている。

#### 1.1.6 基準の概要

ポジティブリスト制度では、まず農薬等の基準値を一律に設定し、その上で既往基準が設定されている食品、農薬等については、そのままその基準が、さら海外においてリスク評価されたものについては暫定基準が設定されている。以下にそれぞれの基準の概要を述べる。

##### 1) 一律基準

農薬を使用していない食品(塩がその例)、3.1 項で述べたような複数の原材料を使用した加工食品など、2)既往基準及び 3)暫定基準が設定されていない農薬等の場合には、この一律基準が適用され、不正使用などがあった場合に食品の流通を規制できる。

一律基準値の設定にあたっては、各種の報告<sup>3,4)</sup>、データを Fig. 3 の手順で解析し、ポジティブリスト制度を導入している諸外国の一律基準値も加味して、0.01ppmが設定された。いわゆるゼロ規制(検出されないこと)にしていないのは、安全性に影響しない程度の微量の農薬等が検出されることで、食品の流通が阻害されるような事態を招かないためである。

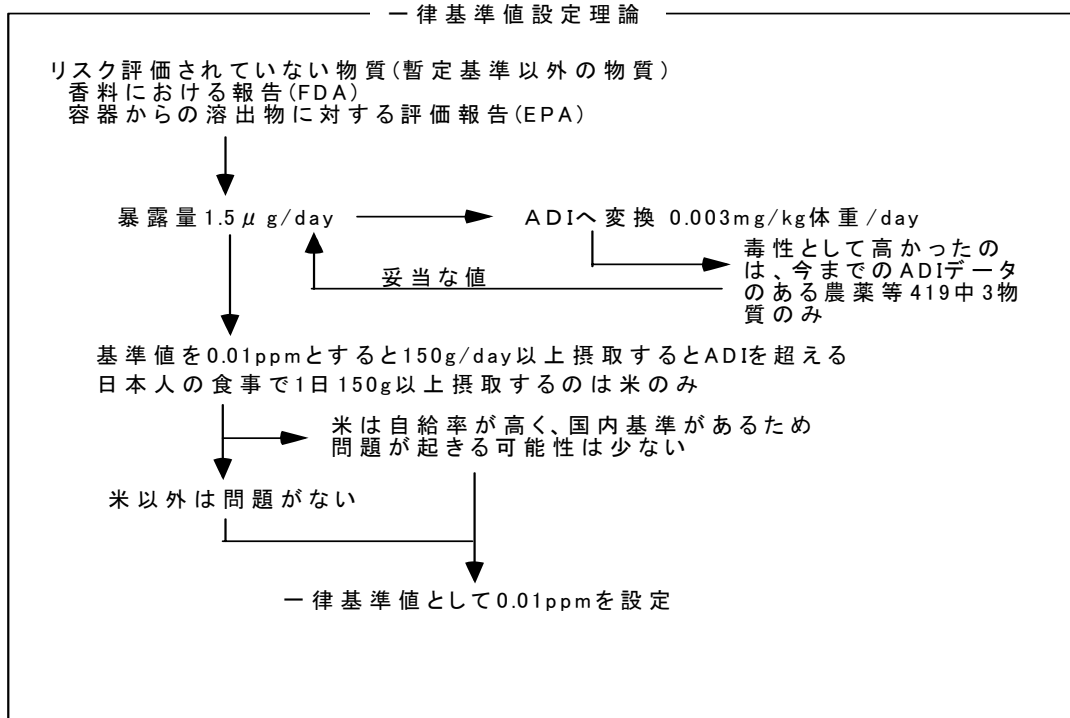


Fig. 3 一律基準値設定理論

## 2) 既往基準

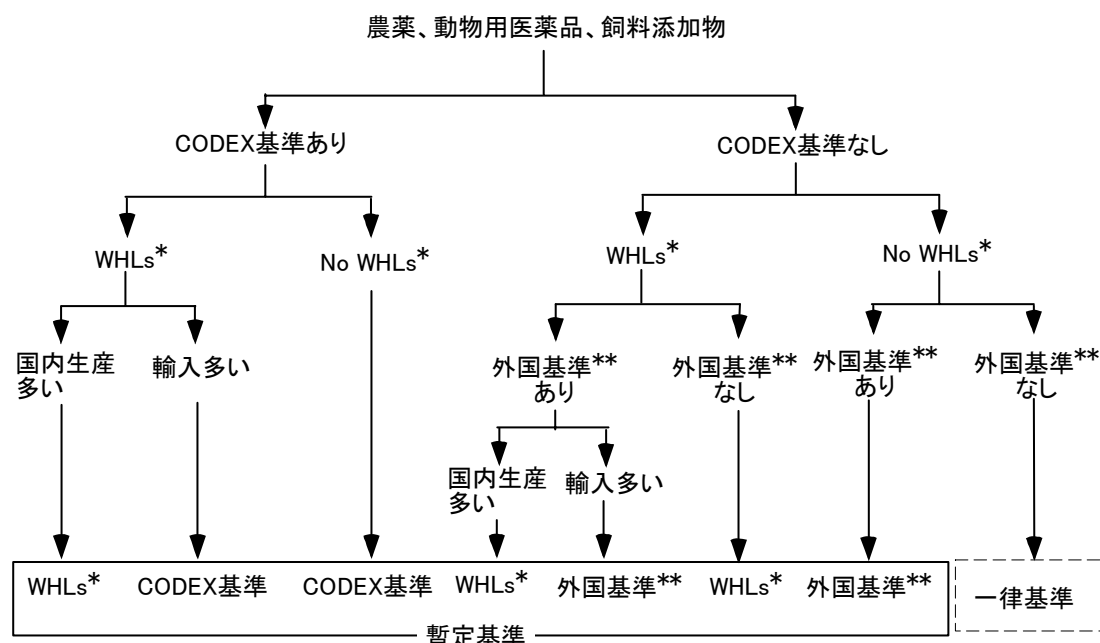
ポジティブリスト制度の施行までの農薬等に関する残留基準であり、リスク評価により 133 の食品に対して 283 の農薬等が規制されていた。これらの農薬等についてはポジティブリスト制度の中でも引き続き残留基準として規制されることになる。

## 3) 暫定基準

輸入される食品では、生産国でリスク評価を行い基準が設定されており、これをクリアしている場合がある。このような農薬等は、日本国内で既往基準として基準値を設定していない場合、一律基準が適用されることになる。このような場合に、例外的な基準として暫定基準が適用されることがある。この暫定基準はいずれ国内でリスク評価される予定である。

Fig. 4 に暫定基準の設定判断樹を示す。日本は、世界貿易機関(WTO)に加盟しているため、CODEX 基準を基本とする。農薬等について人体への影響を検討している農薬取締法農薬登録保留基準や今回のポジティブリスト制度施行に際して、情報提供に協力した国や地域の基準の 3 つの基準について日本国内での自給率を勘案して採用し

ている。



\*WHLs：登録保留基準(国内で新規の農薬を登録する時に人体への影響を検討した結果設定される基準)  
 \*\*外国基準：外国で設定されている国際標準の安全性試験を元にした基準

Fig. 4 暫定基準の設定判断樹

これとは別に、一律基準は 0.01ppm と微量であるため、この基準値まで分析を行う技術が達成されていないものについては、現状の定量下限を用いて基準値としているものもある。このような項目については、類型 6(類型 1～5 は Fig.4 での判断結果を分類している)として暫定基準に組み込まれている。これらの項目についてもいずれ分析方法が確立されれば、一律基準として設定される可能性がある。

### 1.1.7 ポジティブリスト制度への対応

#### 1.1.7.1 管理体制の構築

ポジティブリスト制度の施行により、食品と農薬等の関係について厳密な規則が設定された。農薬等の不正使用や輸入食品に対する監視体制が整い、消費者にとっては「食の安全・安心」に即した有益な内容になっている。しかし、事業者にとっては、農薬等の適正な使用の遵守や、使用履歴などの証明によるトレーサビリティの把握を行うことが必要であり、さらに使用していない農薬等についても、周辺環境からのドリフトを含め製造・流通に対する厳格な監視

を行うことが必要となるため、かなりの負担を負うことになる。

しかし、その一方で、ポジティブリスト制度では、食品中の残留農薬を分析しなければならないといった規制はなく、農薬等が基準値を超えて残留しないことを合理的に証明することが義務づけられていることから、事業者は独自に合理的かつ科学的な管理体制を構築すれば良いともいえる。

以下に管理体制の構築におけるポイントを整理した。

- ・ 農薬等のトレーサビリティーの管理

Fig.1 に示すように、農薬等の使用基準を遵守すれば、食品に基準を超えて農薬等が残留することは稀なことから、農薬等の使用におけるトレーサビリティーを管理することにより残留農薬が基準値以下であることの証明に繋がる。

- ・ 周辺環境からのドリフトに関する管理

農薬等の使用の有無に関わらず、注意しなければならないのは、周辺環境からの農薬等の混入、すなわちドリフトと呼ばれるものである。ポジティブリスト制度では、流通段階における殺菌、消毒のための農薬等の使用なども含め、予想外の混入を考慮しなければならないとなり、こうしたドリフトなどによって使用できない農薬等の混入があった場合には、不正使用と判断される。もちろん使用できる農薬等であった場合でも、基準値を超えると残留とみなされる。こうしたドリフトなどによる農薬等の混入に対しては、周辺環境や流通過程における情報を調査し、混入の可能性の有無を確認することが必要であり、ドリフトを遮断するような設備などのシステムを導入することや、混入が懸念される場合には検査が必要となってくる。

- ・ 農薬等の検査

ポジティブリスト制度では、前述したように、農薬等が基準値を超えて残留しないことを合理的に証明できれば良く、農薬等の検査を義務づけられているわけではない。しかし、ドリフトなどによって混入が懸念される場合や食品に農薬等が残留しないことを証明する上では、検査を実施することが有効な手段となる。

#### 1.1.7.2 検査体制の構築

前項でも述べたように、食品に農薬等が残留しないことを証明するためには、実際に検査を実施することが有効な手段である。本項では、農薬等の検査体制の構築に関する行政の動向、自主検査の考え方や厚生労働省によるこれまでの検査方法の開発状況を述べ

る。

### 1) 行政による検査体制

国内に流通している食品は、各都道府県の健康保険局で検査体制の構築が計画され、各都道府県市町村の衛生研究所や保健所により抜き取り検査が実施されることになる。このような体制はポジティブリスト制度の施行前と変わらないが、検査項目の増加、検査結果への対応の迅速化などが行われている。

輸入食品の検査体制に対しては、平成 17 年度における検疫所の検査項目は 200 項目であった。これに対して平成 18 年度においては 447 項目の中から対応する食品に応じて検査を実施することになっており、畜水産物については毎月検査項目を変更してモニタリングし<sup>5)</sup>、農作物については年度前半と後半で検査項目を変更している。

### 2) 自主検査

全ての農薬等に基準値が設定されたが、800 項目にも及ぶ農薬等を分析することは困難である。厚生労働省はポジティブリスト制度を導入するのにあたって、「食品に残留する農薬等の監視指導に係る留意事項について」<sup>6)</sup>で述べているように、残留基準を超えた場合、「食品等事業者がポジティブリスト制度の遵守を指導する際は、同制度は取引関係者が示す保証書や試験の実施などを義務づけるものではないこと、また営業者が自主的に試験検査を実施する場合には、農薬等の使用や違反の状況を踏まえて検査項目を定め行うべきであることを指導すること」としている。さらに、ポジティブリスト制度のパンフレットにおいても、「ポジティブリスト制度は、食品中の農薬等の検査や検査結果の提出を義務づけるものではありません。」と告知している。

すなわち、農薬等の自主検査は、一般の出荷検査とは趣旨が異なり、食品の製造・流通において農薬等が残留していないことを証明するために利用するものである。したがって、自主検査では、管理が十分に安全であることを証明するだけの合理性が必要であり、検査項目の選定にあたっては十分な検討が必要である

### 3) 厚生労働省における試験方法の開発状況

検査に使用される試験方法については、食品衛生法の食品、添加物の規格基準(告示 370 号)の「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」<sup>7)</sup>で通知されており(以下、通知法)、一斉試験法と個別試験法により構成されている。このうち、一斉試験法は、より多くの農薬等を効率的に分析する手段としてポジティブリスト制度施行に合わせて導入された。また、個別

試験法もポジティブリスト制度施行に合わせて大幅に増加している。ただし、こうした通知法では、全ての食品、農薬等をカバーしていないため、今後も追加されると思われる。

各試験法は、分析対象物、装置、試薬、試験溶液の調製、検量線、定量法、測定条件、定量限界、留意事項、参考、類型(参考にした方法の分類)が示されている。試験溶液の調製では、いわゆる前処理が示されている。対象農薬等によって異なるが、種実類の場合、果実・野菜・ハーブ類の場合などと、食品ごとに抽出方法が示されている。方法の多くは、食品から効率的に抽出し、精製する手順が書かれている。

2010年7月20日現在、一斉試験法8法、個別分析法470法が通知されている。通知法は、いわゆる公定法と異なり、分析を行うための指針であり、この方法を用いなければならないとするものではない。加工食品のようにあらゆる形態の食品の前処理方法を開発するのは困難であるため、各農薬等について、全ての食品用の試験法を通知していくことも不可能である。このような、通知法を用いて試験することが困難な食品などについては、通知法を参考に同等以上の性能を有する、特有の試験法を用いて分析することが求められている。

通知法以外にも19法の告示法が存在する。これは、特定の食品において基準が「不検出」とされた農薬等について、不検出の定義を定量限界としているため、統一した試験法を定めている。この告示法は公定法であり、示された方法により試験をしなければならない。

## 1.2 塩事業センターにおけるポジティブリスト制度への対応

塩事業センター(以下、当センター)が販売する塩製品の製造工程において農薬等を使用することはないが、ポジティブリスト制度の導入を受けて、塩も食品であるとの認識のもと、製品中に農薬等が残留しないこと、また製造工程においてもドリフトなどによって農薬等が混入しないことを証明することを目的に、以下の検討を実施している<sup>8)</sup>。

### 1.2.1 当センターが販売する塩製品の製造工程について

当センターが販売する塩製品の製造工程は、海水から塩を分離、精製するプロセスから構成されている。イオン交換膜製塩法では、砂ろ過により清澄な海水をつくり、イオン交換膜電気透析装置により海水中の塩分を集めることにより、塩分濃度の高いかん水を得、

さらにこのかん水を煮詰めて塩の結晶を取り出し、苦汁成分を分離して製品としている。溶解再製法では、海水を天日で蒸発してつくった天日塩を真水で再溶解してかん水をつくるが、かん水を煮詰める工程以降はイオン交換膜製塩法と同じである。このように、当センターの塩製品の原料は海水であり、その製造工程は効率的に海水から塩を取り出すための多くの分離工程により成り立っている。

これら塩製品の製造にはもちろん農薬等を使用しない。このため、ポジティブリスト制度において検討しなければならないのは、原料としている海水、製造・流通過程へ、外部から農薬等の混入がないことの検証である。具体的対応としては、原料海水、製造工程、外部環境の農薬等の実態調査、実験室レベルでの農薬等の製造工程中の挙動研究、周辺環境の情報収集を行い、科学的な根拠として塩製品中に農薬等が混入しないことを検証することとしている。

### 1.2.2 対象とする農薬等の選定

4.2 における自主検査の項でも述べたように、ポジティブリスト制度への対応においては、食品に応じて適切に農薬等を選定する必要がある。そこで2つの観点から選定を行った。

第一に原料となる海水や製造・流通の過程における環境中からの混入の可能性に着目して選定した。ここでは、環境汚染について考慮されている「環境基本法」より、環境中で人の健康の保護に関する項目として「水質汚濁に係る環境基準」(15項目)及び散布農薬等の広範囲に使用される農薬等の項目として「公共用水域等における農薬の水質評価指針」(27項目)を参考とし、42項目を選定した。

次に、塩が使用される主な加工食品(みそ、醤油、漬物、かまぼこ、チーズ、パン、麺類)の原料(米、麦類、葉菜類、大豆、梅、魚類、生乳)で残留基準が指定されている全ての農薬等の中から、生産量の多い物(年間500t以上)を使用される可能性が高い農薬等、食品検査において検出率が高い物(検出率1%以上)を残留性が高い農薬等、毒性が高い物(許容一日摂取量で0.0002mg/kg体重/day以下)を使用量、残留の可能性が低くとも人体に対する影響が高い農薬等として、これら3つの条件により選定された農薬等を合計して93項目を選定した。

環境を考慮した42項目と塩を使用する加工食品の原料を考慮した93項目を合わせて、重複分を差し引いた116項目を選定した(Table 2)。ただし、選定した116項目の農薬等については、検査結果などを考慮の上、必要に応じて見直しを行う予定である。

**Table 2** ポジティブリスト制度へ対応した塩に関する調査対象とした農薬等

Chemicals name	
1	2,4-D
	2,4-D sodium salts
	2,4-D dimethylamine salts
	2,4-D ethyl ester
	2,4-D isopropyl ester
	2,4-D butoxyethyl es
2	p,p'-DDD
	p,p'-DDE
	p,p'-DDT
	o,p'-DDT
3	EPN
4	acetamiprid
5	acephate
6	azoxystrobin
7	isoxathion
8	isoprothiolane
9	iprodione
	N-(3,5-dichlorophenyl)-3-isopropyl-2,4-dioxoimidazoline-1-carb oxamide
10	iprobenfos
11	imazalil
12	imidacloprid
13	iminocladine
	iminocladine-triacetate
	iminocladine- albesilate
14	esprocarb
15	ethion
16	edifenphos



17	etofenprox
18	alpha-endosulfan
	beta-endosulfan
19	endrin
20	oxadixyl
21	oxytetracycline
	chlortetracycline
	tetracycline
22	oxine-copper
23	omethoate
24	carazolol
	cartap
25	bensultap
	thiocyclam
26	carbaryl
	carbendazim
27	benomyl
	thiophanate-methyl
	thiophanate
28	quinalphos
29	captan
	glyphosate
	glyphosate-ammonium
	glyphosate-isopropylamine
30	glyphosate-trimesium
	glyphosate sodium salts
	glufosinate
31	glufosinate-ammonium
	3-methylphosphinico-propionic acid
32	kresoxim-methyl
33	CNP
34	chlorpyrifos

35	chlorpyrifos-methyl
36	chlorfenapyr
37	chlorothalonil
38	diethofencarb
39	dichlofenthion
40	dichlorvos
	naled
41	diquat
42	dicofol
43	zineb
	ziram
	thiram
	nickel bis (dimethyl dithiocarbamate)
	ferbam
	propine
	polycarbamate
	mancozeb
	maneb
	metiram
44	cyhalothrin (include lambda-)
45	cypermethrin
46	simazine
47	dimethoate
48	dimethomorph
49	simetryn
50	silaflluofen
51	sulfadimethoxine
52	sulfamonomethoxine
53	diazinon
54	thiabendazole
55	thiobencarb
56	dieldrin

	aldrin
57	tetraconazole
58	tetradifon
59	tebufenpyrad
60	deltamethrin
	tralomethrin
61	triadimenol
62	triadimefon
63	triazophos
64	trichlorfon
65	tricyclazole
66	tolclofos-methyl
67	norgestomet
68	parathion
69	bitertanol
70	bifenthrin
71	piperonyl butoxide
72	pyraclofos
73	pyridafenthion
74	pyridaben
75	pirimiphos-methyl
76	fipronil
77	fenitrothion
78	fenobucarb
79	phenthoate
80	fenvalerate
81	fenbuconazole
82	fenpropathrin
83	fthalide
84	butamifos
85	buprofezin
86	flutolanil

87	fluvalinate
88	pretilachlor
89	prednisolone
90	procymidone
91	propargite
92	propyzamide
93	profenofos
94	probenazole
95	bromobutide
96	bromopropylate
97	betamethasone
98	permethrin
99	pencycuron
100	bensulide
101	bentazone
	bentazone sodium
102	pendimethalin
	benfuracarb
103	carbofuran
	3-OH carbofuran
104	fosetyl
	phosphorous acid
105	malathion
106	myclobutanil
	methomyl
107	thiodicarb
	methomyloxime
108	methamidophos
109	metalaxyl
	mefenoxam
110	methidathion
111	methyl isothiacyanate

	dazomet
	metam
112	mefenacet
113	mepronil
114	monocrotophos
115	molinate
116	lindane

### 1.2.3 対象項目の試験方法の開発

選定した 116 項目の分析方法については、厚生労働省の通知法では、分析対象とする食品が農作物や畜水産物で、その内容も限定されているため、食用塩の分析法へその前処理方法が適用できないなどの問題があったため、塩固有の試験法を開発する必要<sup>9)</sup>があった。本論文では、この 116 項目の農薬等について食用塩に対する分析技術を開発することを目的とし、この分析技術により食用塩の安全性を検証することを可能とした。

### 1.3 選定された農薬等について

選定された 116 項目の農薬等について、その項目に代表される物質を中心とした名称、CAS 番号、組成式、分子量、 $\log P_{ow}$ 、項目に含まれる他の農薬等の名称等、構造式を Appendix に示した。

### 1.4 分析機器

本研究においては、検出器として質量分析計(MS)を使用した。MS は、イオン源、質量分離部、イオン検出部からなる。

イオン源には電子衝撃イオン化(EI)、化学イオン化(CI)など、主にガスクロマトグラフィーと組み合わせられて使用されるイオン化法や、エレクトロスプレーイオン化(ESI)、大気圧化学イオン化(APCI)などの液体クロマトグラフィーと組み合わせられるイオン化法があり、その他に高速原子衝撃(FAB)、マトリクス支援レーザーイオン化(MALDI)、電界脱離(FD)、誘導結合プラズマ(ICP)がある。これらイオン源でイオン化された物質は、質量分離部に導かれる。

質量分離には、磁場型、四重極型、イオントラップ型、飛行時間型などがあり、各装置の特長、用途も様々である。この中で、四重極型が、低価格、小型、汎用性などから最も普及している。

イオン検出部は電子倍增管やマイクロチャンネルプレートなど

がある。電子増倍管では、質量分離されたイオンが最初のダイノードに入射されるとイオンのエネルギーに応じた二次電子を放出し、次のダイノードへ入射する。このときエネルギーにより二次電子増倍が起きる。チャンネル型はこれを直線的なダイノードで行い、複数の電子増倍管を束ねたものである。電子増倍管の前に、コンバージョンダイノードを追加して装備しイオンのエネルギーを高くするイオン検出部や、蛍光プレートにより光に変換し、光電子増倍管で検出するイオン検出部を備える装置もある。

本研究に用いた分析機器は、GC/MS が EI イオン源、四重極型質量分離部、コンバージョンダイノード付き電子増倍管イオン検出部である島津製 GCMS-QP2010 を使用した。LC/MS には、ESI イオン源、四重極型質量分離部、コンバージョンダイノード付き光電子増倍管イオン検出部である Waters 製 ZQ2000 を用いた。これらの装置の特長は主にイオン源に用いられるイオン化法と質量分離部であるため以下に説明する。

#### 1.4.1 イオン化法

##### 1.4.1.1 電子イオン化法

EI イオン化法は、ガス状の試料に対して、タングステンやレニウムなどからなるフィラメント熱して、熱電子を衝突させることにより試料分子をイオン化する。イオン源の概要を Fig. 5 に示す。

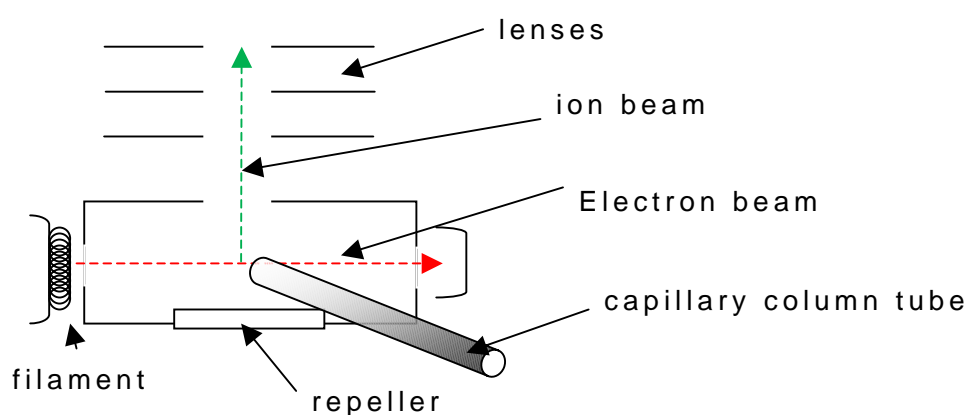


Fig. 5 Basic concept of electron ionization

フィラメントで発生した熱電子は、10 から 150V の電圧で加速され、試料分子と衝突する。熱電子と試料の電子雲との励起相互作用によりイオン化が起こる。イオン化されたイオンは、リペラーにより質量分離部へ押し出される。

加速電圧はイオン化エネルギーであるが、衝突時のイオン化効率はいオン化エネルギーが大きいくほど増加するが、加速電圧が高くなるため、イオン源内部での試料分子との相互作用の時間が短くなり、結果としてイオン化効率が減少してしまう。イオン化効率が良いのは、一般的に 70 eV とされている。有機化合物の第一イオン化エネルギーは約 10eV であり、70 eV が与えられた場合、残りのエネルギーは試料分子の開裂に使われる。この開裂はフラグメンテーションと呼ばれ、EI による質量スペクトルは、フラグメンテーションのパターンが反映される。有機化合物は偶数個の電子を持つため、通常、熱電子により1つの電子が離れ、ラジカルカチオンが生成される。このラジカルカチオンがフラグメンテーションを起こす時、与えられるイオン化エネルギーが一定であれば、そのパターンは再現性が高い。EI イオン化法の特長として、歴史が古く、その質量スペクトルに再現性が高いため多くの物質について測定が行われ、その質量スペクトルはライブラリーとして市販され、その殆どは、イオン化エネルギーとして 70 eV を使用している。

EI イオン化法は、試料分子として気体分子であることが望ましいため、GC と接続される MS に使用されている。

#### 1.4.1.2 エレクトロスプレーイオン化法

ESI は、LC と MS を接続するためのインターフェースとして開発された。概略図を Fig.6 に示す。

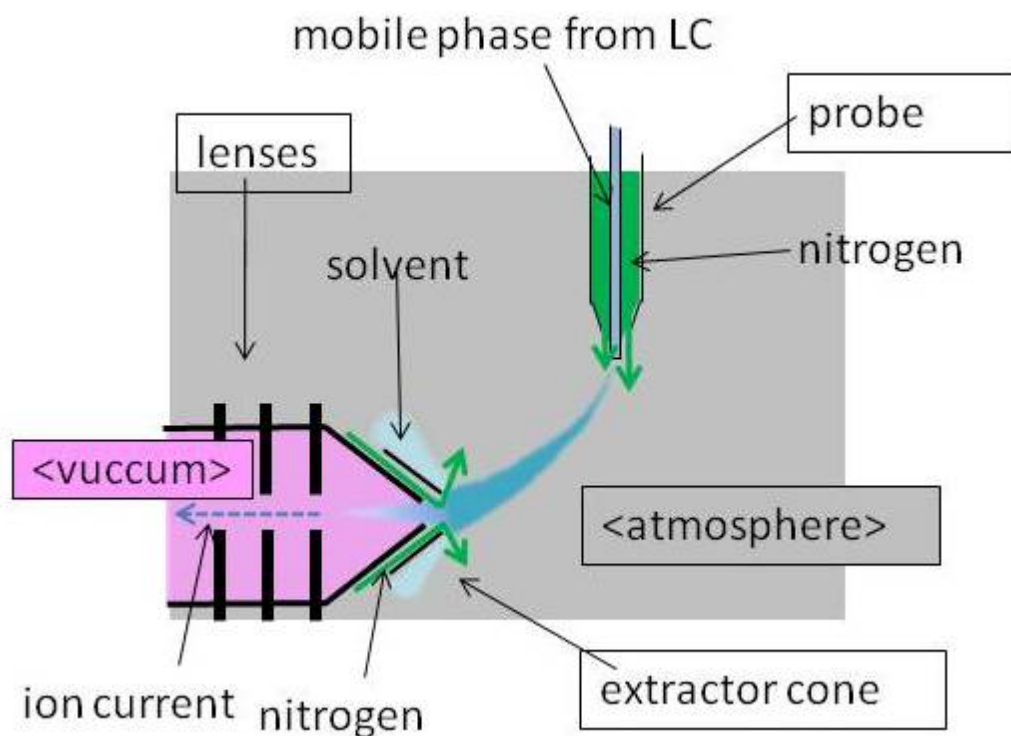


Fig. 6 Basic concept of electro spray ionization  
cf. Waters type

液体中に溶解している試料を、数kVの高電圧を印可されたキャピラリーチューブから大気圧中に噴霧する。この際に、キャピラリー先端には円錐状のテイラーコーンが形成され、この高電場により正負イオンの分離が起こり、高度に帯電した液滴が生成することとなる。対向流として供給される高温のガスにより溶媒を気化させ、液滴の体積を収縮させることにより、電荷密度がレイリーリミットを超過し、液滴は微細化する。液滴が小さくなるとイオンの蒸発が起こり、持っていた電荷は、溶媒と試料との間で電子やプロトンとして交換され、試料がイオン化する。このため、生成したイオンは、プロトンが付加、もしくは脱離した分子量関連イオン(例； $[M+H]^+$ 、 $[M-H]^-$ )となる可能性が高い。また、多価イオンを生成することもある。Fig. 7に示すようなキャピラリー外側に気体を流すことで噴霧させることにより、試料流速を高めた構造を有するものをイオンスプレーと呼ぶこともある。この場合、生成した液滴のブルームは、中心部に大きな液滴、周辺部に小さな液滴が分布するため、イオンを導入するオリフィスからオフアクシスで設置することで、イオン量が増加する効果がある。



EIと比較すると、ソフトなイオン化であるためフラグメンテーションが起きにくく、有機化合物によっては正イオンのみでなく、負イオンが観測される場合がある特徴がある。イオン化は大気圧下で行われるため、イオンが導入されたオリフィスから質量分離部までの間で差動排気されて真空状態を作り出す。差動排気中のガスにイオンを故意に加速し、衝突時に生じたエネルギーが内部エネルギーへ変換させ、励起することでイオンを解離させフラグメンテーションを誘起させることで構造情報を得ることもある。

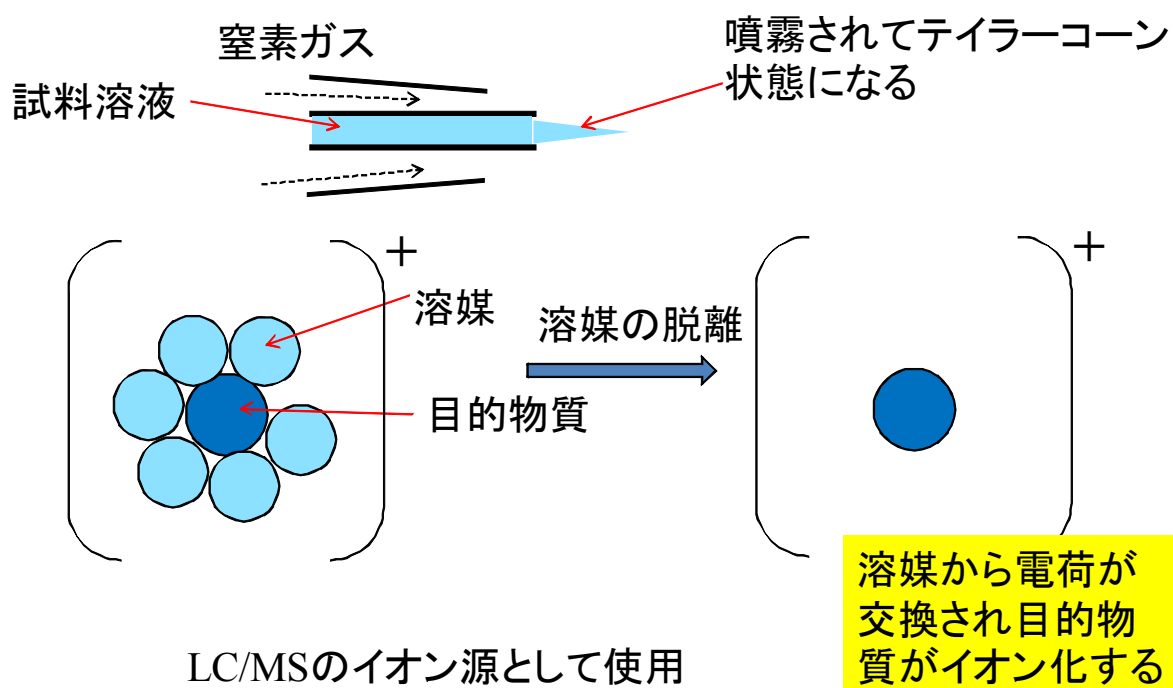


Fig. 7 ESI sprayer

#### 1.4.2 質量分離部

四重極型質量分析計は、四本の電極柱を平行に並べ、その中心部分をイオンが通過する際に、質量分離を行う。対となる電極柱に直流(U)と高周波交流(V)を重ね合わせて印加することで、中心部分は高周波電場となり、イオンは振動しながら進む。特定の周波数に対応したイオンのみが電極柱を通過することができ、それ以外のイオンは振幅が大きくなり通過できない。印加された電圧は $\pm(U + V \cos \omega t)$ で表される。このUとVの関係はマッシュューの方程式(eq.1)に従い進行方向に対して垂直の平面上を振動する。

$$\left. \begin{aligned} \frac{d^2x}{dt^2} + \frac{e}{mr_0^2} (U + V \cos\omega t) x &= 0 \\ \frac{d^2y}{dt^2} - \frac{e}{mr_0^2} (U + V \cos\omega t) y &= 0 \end{aligned} \right\} \text{eq. 1}$$

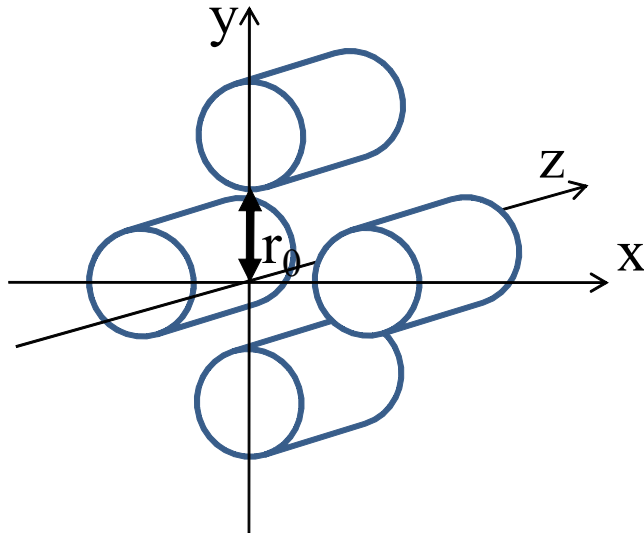


Fig. 8 Mathieu equation and basic concept of quadropole

### 1.5 固相抽出法

溶液中の成分を分析対象成分とマトリクス成分に分離する方法である。

固相としては、シリカゲル、ポリマーなどの担体そのもの、もしくは、官能基を結合させたものがある。クロマトグラフィーの原理により分離を行うため、順相と逆相モードが存在する。無極性溶液中から親水性物質を吸着し、疎水性物質を通過させるモードを順相モードと呼び主に精製などに使用される。逆相モードでは、水溶液中の疎水性物質を吸着させ、少量の有機溶媒により抽出することができる。逆相モードで使用される固相は、シリカゲル担体にオクタデシル基を修飾させたものや、ポリマー担体を使用される。

使用方法の例として塩を水で溶解した試料溶液中からの逆相モードでの抽出を例とする。固相抽出は、充填剤のコンディショニング、試料溶液の通液、リンス、溶出の順番で行われる。充填剤としては、オクタデシル基をシリカゲルに修飾させた ODS カラムやポリマーを使用したものが用いられる。

- ① コンディショニング：充填剤は、まず洗浄のため、溶出溶媒と同じ溶媒を通液させる。その後、試料溶液を充填剤に効率よく接触させるために、先の溶媒と水が混和するメタノールなどの溶媒を通液させた後に、水を通液させる。充填剤が乾燥するとその部分だけ、次の段階での試料溶液が接触しなくなることがあるため、連続的に行うことが必要とされる。
- ② 試料溶液の通液：試料溶液を通液する場合、一般的には毎分 10mL 程度の流速で通液すると、試料溶液中の目的成分が効率よく抽出される。
- ③ リンス：試料溶液中の塩化ナトリウムなどのマトリクス成分の残留を除去するために抽出後の充填剤に水を通液する。
- ④ 溶出：充填剤に吸着した目的成分を溶出するために、目的成分が溶解する溶離液をゆっくり(毎分 1mL 程度)と通液して、流出液を採取する。このとき、リンスで使用した水が充填剤に残っていると、効率よく抽出が行えないため、充填剤はあらかじめ窒素などを流して乾燥させておく。充填剤と溶離液に対する目的物質の相互作用により溶離液の通液量が決まる。

Conditioning solvent  
ex; methanol, water

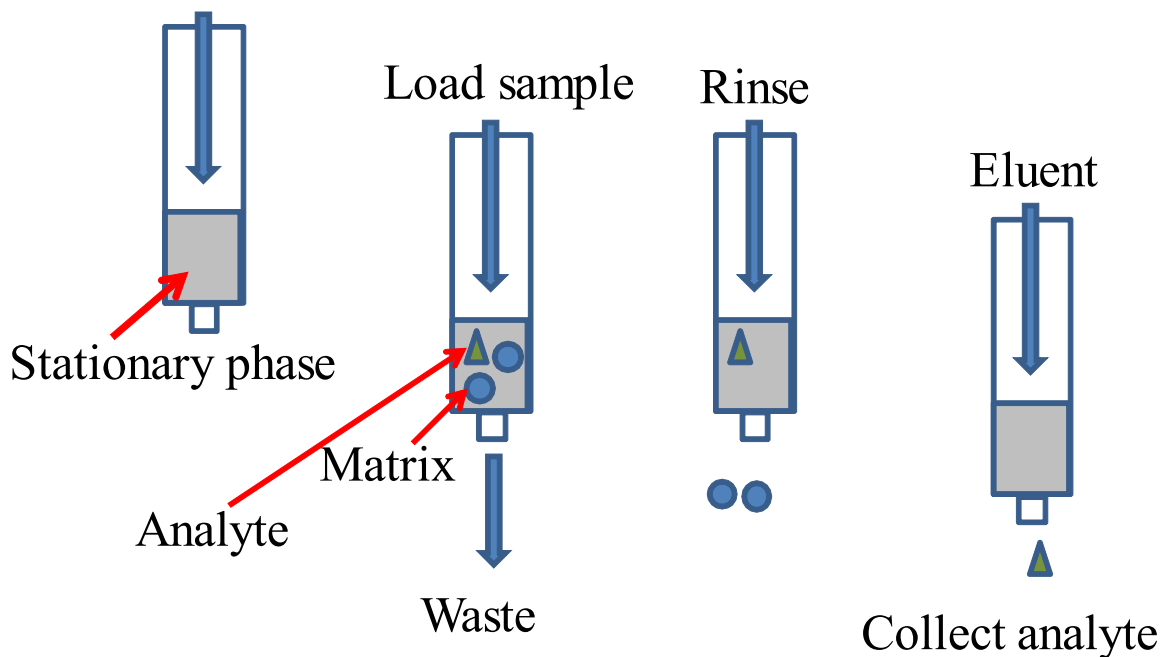


Fig. 9 Protocol of solid phase extraction

文献

- 1) 厚生労働省, “食品中の残留物質モニタリング検査結果” (2004),(2005)
- 2) 厚生労働省, “食品衛生法等の一部を改正する法律による改正後の食品衛生法第11条第3項の施行に伴う関係法令の整備について” 厚生労働省告示第498号, 1-10 (2005)
- 3) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants - Forty-fourth report of Joint FAO/WHO Expert Consultation on Food Additives (1995)
- 4) U.S. Food and Drug Administration, Food Additives: Threshold of regulation for substances used in food contact articles; final rule, 21 CFR Part 5, et al. (1995)
- 5) 厚生労働省医薬食品局食品安全部, “Imported foods monitoring plan for FY 2006”, 通知番号 0331006 (2006)
- 6) 厚生労働省, “食品に残留する農薬等の監視指導に係る留意事項について”, 医薬食品局通知番号 0529001 (2006)
- 7) 厚生労働省, “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について”, 医薬食品局通知番号 0124001 (2005)
- 8) 塩事業センター, “食品中の残留農薬等に関するポジティブリスト制度への対応”, 塩事業センター海水総合研究所テクニカルノート, vol. 1,  
[http://www.shiojigyo.com/a060laboratory/07\\_technicalnote/img/technicalnote\\_no1.pdf](http://www.shiojigyo.com/a060laboratory/07_technicalnote/img/technicalnote_no1.pdf)
- 9) 塩事業センター, “食品中に残留する農薬等の基準に係るポジティブリスト制度への対応— 分析法の開発状況とセンター販売商品における農薬等の検査結果(その1)—”, 塩事業センター海水総合研究所テクニカルノート, vol. 2,  
[http://www.shiojigyo.com/a060laboratory/07\\_technicalnote/img/technicalnote\\_no2-1.pdf](http://www.shiojigyo.com/a060laboratory/07_technicalnote/img/technicalnote_no2-1.pdf)
- 10) J. H. Gross, “Mass Spectrometry”, 日本質量分析学会出版委員会 (2007)
- 11) Varian 編, “固相抽出の基礎”, (1995)



## 第 2 章

# GC/MS による塩中の残留農薬等の 一斉分析法

## 第 2 章 GC/MS による塩中の残留農薬等の一斉分析法

### 2.1 緒言

「食品中の残留農薬等に関するポジティブリスト制度」が食品衛生法の改正により施行され、すべての食品におけるすべての農薬等(農薬、動物用医薬品、飼料添加物の総称)の残留が規制された。食品である食用塩の製造においては農薬等を使用することはないが、食の安全・安心のため残留農薬等に対する安全性を証明する社会的な要求に応える必要がある。このため財団法人塩事業センターでは、まず、製塩の原料である海水に対して、環境基準や空中散布農薬等に関するガイドラインなどの法規制で対象となっている農薬等を選定し、次に塩を比較的多く使用する加工食品に対しては、主要材料で使用される農薬等から、生産量、毒性、残留性(過去の検出頻度)から関連する項目を選定した。調査対象として選定されたのは合計で 116 項目であった<sup>1)</sup>。選定された農薬等の項目には、食品衛生法では、その代謝物や塩類についても基準が設けられているため、農薬等は全部で 162 物質である。農薬等の分析法については、厚生労働省の通知法があるが、分析対象となる食品は穀物や肉、野菜などであり、塩には適用できない。これまで、塩中の農薬等に関する研究は全く行われていない。そこで、本研究では塩を試料として、選択された 116 項目の農薬等の分析法を開発することを目的とした。

食用塩中の農薬等の分析法の開発に際しては、より多くの農薬等を同時に処理、分析できる一斉分析法を基本とし、一斉分析法が適用できなかった農薬等については個別に分析法を開発することとした。分析法としては、ガスクロマトグラフィー質量分析法(GC/MS)、もしくは液体クロマトグラフィー質量分析法(LC/MS)を使用することとした。クロマトグラフィーでの分離能が高い GC/MS を第一の選択肢とし、誘導体化などの処理を要するなど GC/MS で測定が困難である農薬等は LC/MS で検討を行うこととした。本報告では、このうちの GC/MS による一斉分析法について報告する。

食品中の残留農薬等の一斉分析法については、多くの報告がある。Hiraharaらは、オレンジ、きゅうり、にんじんなどの 11 種類の食品中の 186 種類の農薬等の一斉分析を報告<sup>2)</sup>している。他にも苺<sup>3)</sup>、オリーブ油<sup>4)</sup>、桃<sup>5)</sup>などの特定の食品に対する農薬等の一斉分析法の報告がある。榊原らは、加工食品である醤油について、その原料である大豆、小麦の残留農薬の一斉分析を

報告<sup>6)</sup>している。この中で大豆は、他の食品と比較して油脂成分が多いために特殊な精製処理が必要とされているが、GC/MS/MSを使用することにより簡単に処理することができる」と報告している。食品における農薬等の分析には、各食品の特性を考慮した分析法を開発する必要があるため、食用塩を対象とした場合についても、分析法を開発する必要がある。食用塩以外の食品の分析においては、QuEChERS法<sup>7)</sup>に代表されるように、有機溶媒によりホモジナイズ、抽出し、精製の手順を行うのが一般的である。他の食品と異なり、食用塩は水に溶解することにより、目的成分を水溶液へ抽出することができるため、水試料を対象とした分析法を参考とした。

水試料を対象とした農薬等の一斉分析法としては、農業用水等<sup>8-10)</sup>、海水等<sup>11-13)</sup>が報告されている。これらの分析法では、物理的な性質の異なる物質を抽出するために固相抽出が用いられている。固相抽出法については、ディスク型<sup>14-16)</sup>やカラム型<sup>17-20)</sup>が検討されている。ディスク型は500mL以上の大量の試料の場合に使用されることが多い。また、測定機器としては、液体クロマトグラフ(LC)-フォトダイオードアレイ検出器<sup>9-10,17-18)</sup>やガスクロマトグラフ(GC)-電子捕獲型検出器<sup>2-3, 8-9, 13)</sup>、GC-炎光光度検出器<sup>4-5)</sup>が使用されるが、感度および物質の選択検出性の優れたガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)、もしくは液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS)が主に使用されている。本報告では、カラム型固相抽出法で抽出した後、GC/MSで一斉分析する方法について検討した。

## 2.2 方法

### 2.2.1 装置

GC/MSは、GCMS-QP2010(島津製作所製)を用いた。カラムはVarian製VF-17(30 m×0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 μm)、またはRestek製Rtx-5ms(30m×0.25mm i.d., 膜厚 0.25μm)を使用した。カラム温度は、初期温度50℃で2分間保持し、20℃/minで180℃まで昇温、その後、昇温速度を2℃/minへ変更して250℃からは、20℃/minで300℃まで昇温した後に10分間保持した。インターフェースとイオン源温度は、それぞれ280℃、230℃に設定した。GC注入口は、250℃とし、250 kPaで1.5分間保持する高圧注入法で2 μLを注入した。質量分析計は、 $m/z$ :75~560を走査測定した。各標準物質の質量スペクトルより、定量用のモニターイオンと参照用イオンを設定し、マスクロマトグラムによりピーク面積を算出した。各成分は2.2.2試薬で示す内標準物質とのピーク面積比



により定量した。

固相抽出カラムは、Sep-Pak C18、C8 (Waters 製：シリカゲル系充填剤)、PS-2、OASIS HLB (Waters 製：ポリマー系充填剤)を使用した。これらの固相抽出カラムは、使用前にジクロロメタン、メタノール、水の順に各 5 mL ずつ通過させてコンディショニングを行った。

### 2.2.2 試薬等

有機溶媒(アセトン、メタノール、ジクロロメタン)と塩化ナトリウムは、和光純薬工業製残留農薬試験用のものを用いた。水は Milli-Q 水製造装置(日本ミリポア製)で製造したものを使用した。塩酸は PCB 測定用のもの(和光純薬工業製)を使用した。

各農薬の標準試薬は関東化学製もしくは和光純薬工業製を用い、ジクロロメタンもしくはアセトンで溶解し、100mg/L に調製し保存溶液とした。測定用溶液は、保存溶液を適宜希釈し、使用時に調製した。

GC/MSによる定量では、ナフタレン-d<sub>8</sub>、フェナントレン-d<sub>10</sub>、ピレン-d<sub>10</sub>、クリセン-d<sub>12</sub>、ペリレン-d<sub>12</sub>の多環芳香族炭化水素の重水素置換体混合溶液(スペルコ製)をジクロロメタンにより希釈し、各 20mg/Lに調製したものを内標準溶液として使用した。

### 2.2.3 固相抽出カラムによる前処理

塩試料として、試薬の塩化ナトリウム、もしくは食用塩 10.0 gを秤量し、これに農薬等の標準溶液 1.0 mg/Lを 1.0 mL 添加し、約 30 分間放置した。回収率を検討する際には、標準溶液の濃度を 0.1 mg/L と変化させて添加した試料も調製した。この塩試料を 100.0 mL の水あるいは、メタノールを 10~50% (v/v) 含有した水溶液で溶解して試料溶液とした。コンディショニングした各固相抽出カラムに、試料溶液 100.0 mL を 10 mL/min で加圧通液した後に、水 5 mL でリンスした。リンス後の固相抽出カラムは 40 分間吸引することで水分を取り除いた。固相抽出カラムからの溶出にはジクロロメタンを 5.0 mL、カラムを膨潤させながら 1.0 mL/min で通液し、溶出液を採取した。溶出液は乾燥窒素を吹き付けて濃縮した後、1.0 mL に定容した。これに 20 mg/L の内標準溶液を 10.0 µL 添加したものから、2 µL を GC/MS へ注入した。

### 2.2.4 食用塩の分析

添加回収試験には、塩事業センターで販売している「食塩 1 kg」、「原塩」を試料として使用した。「食塩 1kg」は、日本沿岸の海水をイオン交換膜法により、塩濃度約 20%へ濃縮し、せんごうにより晶析して製造された塩である。「原塩」は、海外の天日塩田で採取された塩を原料海水により洗浄した塩を輸入した商品である。分析方法は、試料 10.0 g を秤量し、これに農薬等の標準溶液 1.0 mg/L、あるいは 0.1 mg/L を 1 mL 添加し、30 分放置後、100.0 mL のメタノールを 50%含有した水溶液で溶解し、コンディショニングしておいた PS-2 固相抽出カラムに、10 mL/min で通液した。リンス以降の抽出操作は、2.2.3 と同様に行い、2.1 の分析条件で GC カラムを VF-17 で行った。

また、一般に販売されている商品として、「食塩 5kg」、「並塩」、「精製塩 1kg」、「食卓塩」(商品は全て塩事業センター販売商品)を分析した。これらの分析については、標準溶液を添加しない以外は、前述した条件と同様の操作を行った。

## 2.3 結果と考察

当センターで選定した全農薬等 162 物質(116 項目)のうち、揮発性や極性などを考慮し、97 物質(88 項目)を GC/MS による測定物質として検討した。

### 2.3.1 GC/MS の測定条件

各物質の保存溶液を混合して GC/MS で測定した。分離カラムは、5%ジフェニルポリシロキサン、95%ジメチルポリシロキサンの Rtx-5ms と 50%ジフェニルポリシロキサン、50%ジメチルポリシロキサンの VF-17ms を用いて測定した。双方のカラムとも全イオンモニタリング(TIM)上で、いくつかのピークが重なったが、定量するためのモニターイオンが異なるために、各マスクロマトグラムにおいては相互に分離されており、どちらの分離カラムでも全ての物質の測定が可能であった。ピークが重なったのは、Rtx-5ms で 38 物質、VF-17ms で 26 物質であり、VF-17ms の極性が高いため、若干ではあるが重なるピークが少なく、分離カラムは、直前の物質のキャリーオーバーの可能性を少なくするために、高温での焼きだしが必要であるため、使用上限温度が 360℃と高い VF-17 を GC/MS の分離カラムとして選択した。Fig.1 に VF-17 を用いたときのクロマトグラムを示す。

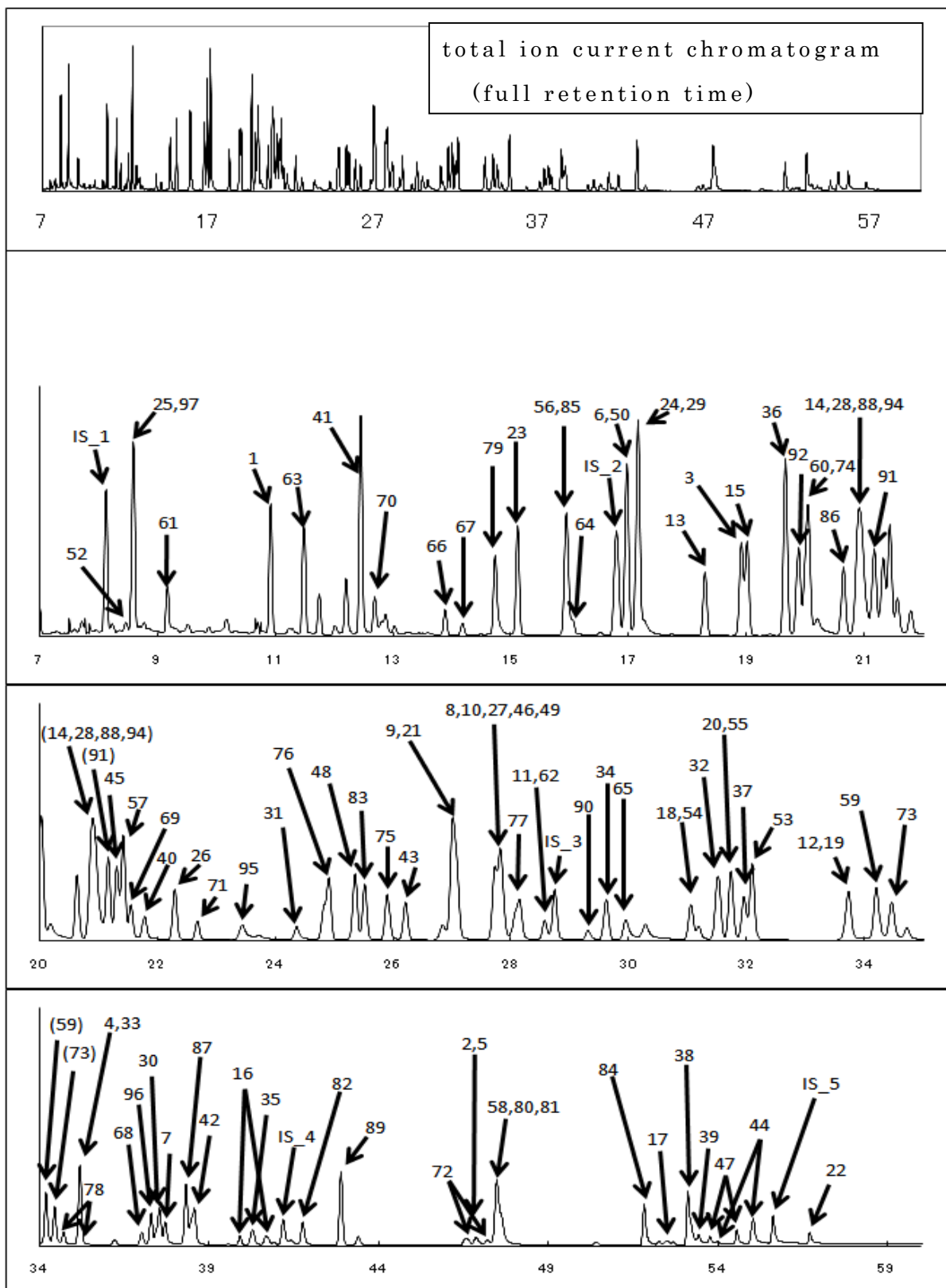


Fig. 1 Total ion chromatogram of standard agricultural chemicals (100  $\mu\text{g/L}$  each).

Peak numbers correspond to the compound numbers in Table 1.

検討した物質の中で、トリクロロホンはガスクロマトグラフィーの注入口で熱分解し、全てジクロロボスとして検出され、トラロメトリンも同様にデルタメトリンとして検出された。ジクロロボスとトリクロロホン、デルタメトリンとトラロメトリンの定量はその含量として行うこととした。各標準物質を測定することにより、クロマトグラムでの保持時間とマススペクトルを確認し、定量イオンと参照イオンを設定した。また、各物質の検量線を作成し、peak to peak でシグナル・ノイズ比(S/N)が10であった濃度を定量下限とした。Table 1 に設定した各物質のGC/MSでの定量下限、定量イオン、参照イオンを示す。得られた定量下限はクレソキシムメチルやプレチラクロールなどの1 ng/mL からアセタミプリドの63 ng/mL であり、本一斉分析法で検出された場合、個別定量分析が必要となる可能性もあるが、定量下限が高い物質でも63 ng/mL 以下であり、S/Nを3とした場合の検出はさらに低濃度で可能である。このため農薬等の定量下限として十分な分析感度であると考えられた。

Table 1 Detection limit for agricultural chemicals by the present method with GC/MS.

No.	Compound name	detection limit ( ng/mL )	<i>m/z</i> for quantitation	<i>m/z</i> for identification	
1	Acephate	4	136	94	95
2	Acetamiprid	63	152	126	221
3	Aldrin	9	263	265	293
4	Bifenthrin	4	181	166	165
5	Bitertanol	3	170	112	168
6	Bromobutide	5	119	232	118
7	Bromopropylate	8	341	183	343
8	Buprofezin	9	105	172	175
9	Butamifos	50	286	200	152
10	Captan	4	149	117	264
11	Chlorfenapyr	5	247	328	408
12	Chlornitrofen	20	317	319	287
13	Chlorothalonil	5	266	264	268

14	Chlorpyrifos	3	197	314	258
15	Chlorpyrifos Methyl	1	286	288	125
16	Cyhalothrin	9	181	197	449
17	Cypermethrin	11	163	181	209
18	o,p'-DDT	1	235	237	165
19	p,p'-DDT	1	235	237	165
20	p,p'-DDD	1	235	165	237
21	p,p'-DDE	2	246	318	286
22	Deltamethrin	30	181	253	209
23	Diazinon	7	137	152	304
24	Dichlofenthion	1	279	223	162
25	Dichlorvos	2	109	185	145
26	Dicofol	4	139	250	252
27	Dieldrin	3	263	277	345
28	Diethofencarb	8	267	225	168
29	Dimethoate	2	93	125	143
30	Edifenphos	5	109	310	173
31	a-Endosulfan	6	159	241	277
32	b-Endsulfan	6	159	241	339
33	Endosulfan Sulfate	7	272	387	422
34	Endrin	6	263	279	245
35	EPN	10	157	169	185
36	Esprocarb	6	162	222	151
37	Ethion	1	231	153	384
38	Etofenprox	8	163	135	376
39	Fenbuconazole	12	129	198	125
40	Fenitrothion	4	125	277	260
41	Fenobucarb	10	121	150	91
42	Fenpropathrin	5	181	265	349
43	Fenthoate	5	274	246	125
44	Fenvalerate	16	125	167	225
45	Fipronil	5	367	213	369

46	Flutolanil	1	173	145	281
47	Fluvalinate	14	250	181	502
48	Fthalide	2	243	272	241
49	Imazalil	20	173	145	281
50	Iprobenfos	9	204	123	107
51	Iprodione	13	314	124	244
52	Iprodione-degradate	5	187	124	158
53	Isoprothiolane	1	118	162	290
54	Isoxathion	12	105	177	313
55	kresoxim-methyl	1	116	206	131
56	Lindene	1	181	219	183
57	Malathion	4	127	173	158
58	Mefenacet	9	192	120	298
59	Mepronil	1	119	269	227
60	Metalaxyl	3	160	206	279
61	Methamidophos	4	94	141	95
62	Methidathion	3	145	85	125
63	Molinate	1	126	187	83
64	Monocrotophos	7	127	192	164
65	Myclobutanil	4	179	150	288
66	Naled	5	109	145	185
67	Omethoate	5	156	110	141
68	Oxadixyl	19	163	132	233
69	Parathion	3	291	155	137
70	Pencycuron	1	125	180	127
71	Pendimethalin	6	252	281	162
72	Permethrin	7	183	163	165
73	PiperonylButoxide	1	176	193	338
74	Pirimiphos Methyl	1	290	276	305
75	Pretilachlor	1	162	238	262
76	Procymidone	2	96	283	285
77	Profenofos	7	139	339	374

78	Propargite	9	135	173	350
79	Propizamide	1	173	255	145
80	Pyraclofos	23	360	194	139
81	Pyridaben	6	147	117	a
82	Pyridaphenthion	9	340	199	188
83	Quinalphos	1	146	157	298
84	Silafluofen	6	179	286	258
85	Simazine	3	201	186	173
86	Simetryn	2	213	170	155
87	Tebufenpyrad	3	171	318	333
88	Tetraconazole	7	336	338	171
89	Tetradifon	5	159	227	356
90	Thiabendazole	7	201	174	130
91	Thiobencarb	1	100	257	125
92	Tolclofos Methyl	3	265	125	267
93	Tralomethrin	30	181	253	209
94	Triadimefon	11	208	181	210
95	Triadimenol	7	112	168	128
96	Triazophos	10	161	257	285
97	Trichlorfon	2	109	185	145

<sup>a</sup> Mass spectrum of Pyridaben showed only 2 fragment ions.

### 2.3.2 固相抽出カラムの選択

塩は有機化合物の混入が少ないため、共存有機物の影響は少ないが、水に溶解したときの、水溶液中からの農薬等の抽出が課題となる。飽和食塩水の塩化ナトリウム濃度は20℃で26.4%であるが、ハンドリングを考慮して農薬等を塩の10%溶液に添加したものをを用いた。水溶液からの抽出方法には、溶媒抽出もしくは固相抽出が考えられるが、農薬等を抽出する方法として、海水を試料とした農薬の一斉分析法の報告<sup>11-13)</sup>では、前処理として固相抽出法が使用されており、多くの農薬等が処理されていることから、溶媒抽出よりも効率的な処理法であると判断した。固相抽出においては、使用する固相抽出剤により、抽出可能な農薬等が異なる。本検討における対象物質は、主に疎水性であることか

ら、検討した固相抽出カラムは逆相系のものとした。Sep-Pak C8、C18 はシリカゲル系の充填剤であり、Sep-Pak PS-2 はスチレン-ジビニルベンゼンの充填剤、OASIS HLBはピロリジンを導入したスチレン-ジビニルベンゼン共重合体の充填剤である。

10.0g の塩化ナトリウムに各 1.0mg/L の農薬標準液を 1.0 mL 添加し、水 100.0 mL で溶解した試料溶液を固相抽出カラムに通した。各固相抽出カラムで得られた回収率を Table 2 に示す。厚生労働省の農薬等の分析法開発における回収率のガイドラインでは、回収率は 70%以上 120%以下が望ましいとされているため、70%以上の物質は、初期の抽出条件で十分に回収されていると考えられる。回収率が 10%以下であった物質は、検討した固相抽出カラムに対する相互作用が少ないものと考えられ、抽出条件等を検討しても一斉分析へは適用が困難になると考えられた。一方、回収率 10%以上であった物質は、抽出条件を検討することで、回収率が向上する可能性があると考えられ、50%以上の回収率であれば、その可能性は高いと思われる。

Table 2 Recovery rate of agricultural chemicals with SPE cartridges

SPE cartridge	< 10%	10 - 49%	50 - 69%	70% <
C8	15	42	12	34
C18	21	47	15	20
PS-2	6	22	27	48
HLB	6	33	19	45

シリカゲル系充填剤である C8、C18 では、回収率が 10%以下の物質が多かった。ポリマー充填剤では、PS-2 に対して、HLB はピロリジンを重合させることにより親水性の物質に対する相互作用を高めるよう設計されている。回収率 10%以下の物質は親水性物質であると考えられたが、本試験で使用した物質においては PS-2、HLB に回収率 10%以下の農薬等の数に差は見られなかったが、10%から 50%の回収率であった農薬等は HLB の方が PS-2 より多数であった。以上の結果より、回収率が 50%以上であった農薬等の数が 75 と最も多かった PS-2 を抽出カラムとして選択した。



### 2.3.3 固相抽出条件の検討

抽出条件を検討することにより、回収率の向上を検討した。親水性の高い物質は、固相抽出カラムとの相互作用が少なく、カラムへ吸着されず、通過する可能性がある。また、疎水性が高い物質は固相抽出カラムへ吸着するが、相互作用が強すぎて溶出しないということが予想された。

疎水性が高い物質の固相抽出に関しては、Nakamuraら<sup>21)</sup>が試料水にメタノールを 40%混合することで、固相抽出カラムに対する疎水性の高い物質の吸着性を抑制し、溶出効率を高めることができると報告している。そこで、塩 10.0g を溶解するときの試料水にメタノールを混合して固相抽出を行った。メタノールの混合比を 10%から 50%まで変化させて抽出したときの回収率を、親水性、疎水性のパラメーターとして水/オクタノール分配係数( $\log P_{ow}$ )を用いてプロットしたものをFig.2に示す。図中の曲線は、2次曲線としてフィッティングしている。 $\log P_{ow}$ と回収率との相関は高くないが、 $\log P_{ow}$ の値が低い物質は回収率が悪く、 $\log P_{ow}$ の増加とともに回収率が良くなり、 $\log P_{ow}$ が約 4以上の物質は回収率が減少する傾向が見られた。また、メタノール含有率を増加させるに従い、 $\log P_{ow}$ が約 4以上の疎水性の物質の回収率が高くなっている傾向が示唆された。メタノール含有率の増加とともに回収率の向上が認められたが、メタノール含有率 60%以上では塩化ナトリウムが析出するため、50%が限界であった。そこで、塩化ナトリウムの溶解量を上げるため、溶解に用いる溶媒量を 200 mL(水 100 mL、メタノール 100 mL)に増加したところ、全ての物質の回収率が 50%以下となり、固相抽出カラムの保持容量を超えてしまったと考えられた。そこで、試料水量は 100 mL、メタノール含有率は 50%とした。

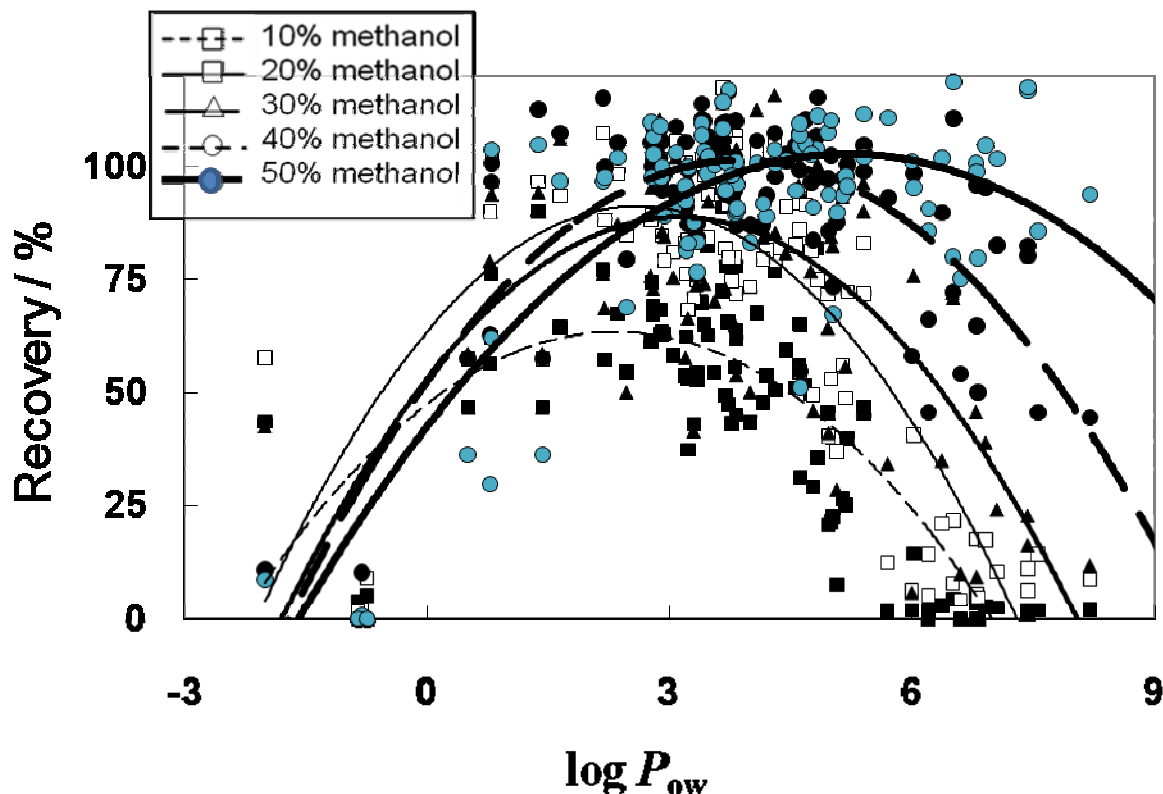


Fig. 2 Effect of methanol concentration in the sample solution on the recovery rate.

Concentration of each standard: 1 mg/L; sample volume: 100 mL; SPE cartridge: PS-2

メタノールを試料水溶液に混合させることにより、回収率が向上することの要因として、Nakamuraら<sup>21)</sup>は、メタノールが固相抽出カラムへ作用することにより、疎水性物質の高い吸着性を抑制し、効率的に溶出が行えると報告している。そこで、メタノールを含まない水だけの試料水溶液に農薬等を添加し、固相抽出を行い、PS-2からの溶出に使用するジクロロメタンの量を5 mLずつ合計20 mLまで溶出させた。しかし、最初の5 mLの画分以外から、10%以上の農薬等が検出されることは無かった。これとは別に伊吹ら<sup>22)</sup>はエトフェンプロックスを排水試料から固相抽出する際に、処理に使用する容器への吸着も影響していると報告している。そこで、200 mLビーカーを使用して、塩試料10.0 gを水または50%メタノール水溶液100.0 mLで溶解した後に、水10.0 mLで洗浄後、ビーカーをアセトンで洗浄し、そのアセトン洗浄液を測定することにより、ビーカー残留率を求めた。Fig. 3に結果を示すが、水のみの場合には $\log P_{ow}$ が高くなるにつれてビーカーへの残留率が高くなる傾向にあった。これに対してメタノールを50%含有

させた溶液では、残留率は常に 10%以下であった。一般に水溶液中からの有機物の抽出においては、塩化ナトリウムを添加し、塩析効果による抽出効率の増加を図る。しかし、今回は水溶液中の塩化ナトリウム濃度が 10%と高濃度であるため、溶存物質の溶解度へ影響して、ガラス壁面などへ有機物が吸着したと考えられる。しかし、メタノールを溶媒に用いる水溶液に含有させることにより、処理で使用する容器の壁への吸着が抑制されて回収率が向上したと考えられる。

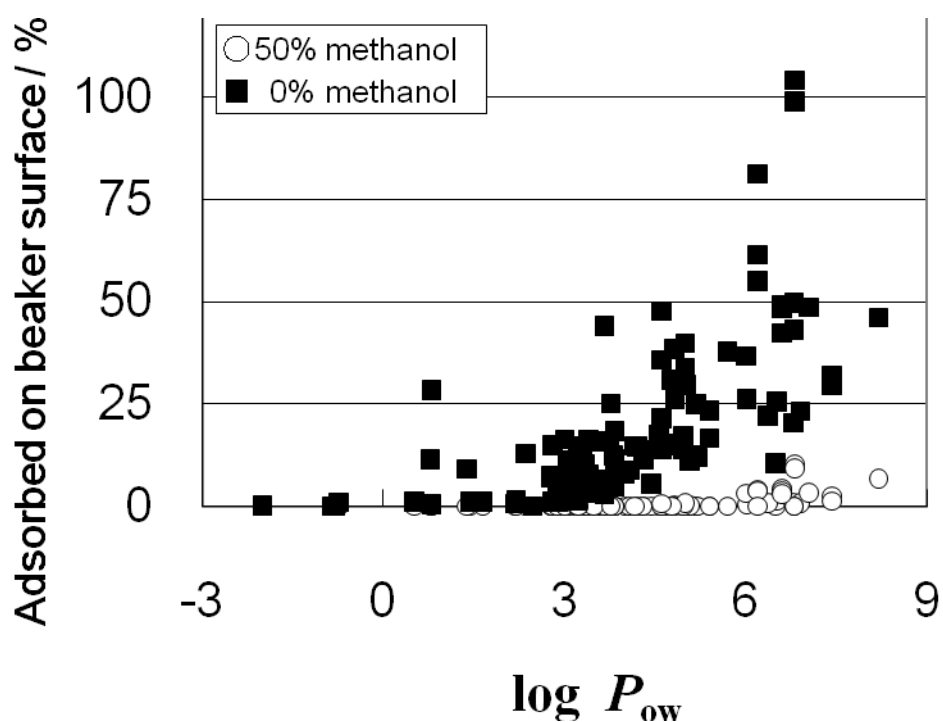


Fig. 3 Ratio of agricultural chemicals adsorbed on beaker surface vs. their log  $P_{ow}$  values.

親水性が高いと考えられるアセフェート(-0.9)、メタミドホス(-0.8)、オメトエート(-0.7)の 3 物質(カッコ内は log  $P_{ow}$ )は、メタノール含有率に関わらず回収率が 70%を下回った。このような親水性物質に対しては、スチレンジビニルベンゼンを充填剤とする固相抽出カラムでは、抽出が困難であると考えられる。溶液中の pHにより物質の解離状態を変化させ抽出効率の改善を図ったが、効果は認められなかった。よって、これらの物質には、一斉分析法は適用できないと判断した。

一斉分析の対象とした 94 種類の農薬等の塩試料への添加濃度を 0.1, 0.01 mg/kgとした時の本法での回収率をTable3 に示す。個々の農薬等のlog  $P_{ow}$  の違い、メタノールや水への分解などによるものと考えられる回収率の差が見られたが、全体としての回収率は概ね 70%から 120%であり、全物質の平均が  $89 \pm 21\%$ 、 $88 \pm 11\%$ であった。多くの物質では添加濃度の違いによる回収率等への影響は少なかった。しかし、添加濃度が 0.01 mg/kgの試験で回収率が 70%以下となる農薬等が 13 物質あった。特にフェンプロパトリンとジコホールは 50%を下回った。これらの物質は、水溶液中での分解<sup>23)</sup>、GC注入口での分解<sup>24)</sup>などが報告されているため、試験条件などを含めた今後の課題であると考えられた。

Table 3 Recovery rate of agricultural chemicals spiked to the salt sample with the present GC/MS method

No.	Compounds	Pesticide grade salt			
		0.01 mg/kg spike		0.1 mg/kg spike	
		Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
1	Acetamiprid	90	26	95	11
2	Aldrin	71	19	92	10
3	gamma-BHC	92	12	90	8
4	Bifenthrin	66	9	99	6
5	Bitertanol	79	13	91	9
6	Bromobutide	92	9	75	9
7	Bromopropylate	110	10	76	9
8	Buprofezin	109	11	79	5
9	Butamifos	80	11	72	9
10	Captan	102	11	100	6
11	Chlorfenapyr	64	8	82	10
12	Chlornitrofen	67	11	77	9
13	Chlorothalonil	109	10	90	9
14	Chlorpyrifos	104	14	85	7
15	Chlorpyrifos-methyl	111	13	90	9
16	Cyhalotrin	91	25	105	11
17	Cypermethrin	80	15	108	13
18	o,p'-DDT	90	12	79	6
19	p,p'-DDD	69	9	79	5
20	p,p'-DDE	106	7	78	5
21	p,p'-DDT	59	15	78	9
22	Deltamethrin /Tralomethrin	78	25	105	6
23	Diazinon	98	8	96	11
24	Dichlofenthion	80	18	83	10
25	Dichlorvos /Trichlorfon	89	6	96	13

26	Dicofol	35	11	89	13
27	Dieldrin	99	12	75	8
28	Diethofencarb	103	13	81	8
29	Dimethoate	101	12	89	8
30	Edifenphos	104	8	89	9
31	Endrin	61	15	77	6
32	alfa-Endosulfan	112	14	82	9
33	beta-Endsulfan	99	15	86	10
34	Endsulfan-sulfate	115	17	87	8
35	EPN	61	7	89	12
36	Esprocarb	72	6	100	8
37	Ethion	68	4	77	8
38	Etofenprox	83	3	101	8
39	Fenbuconazole	74	14	85	10
40	Fenitrothion	96	16	100	15
41	Fenobucarb	103	7	85	6
42	Fenpropathrin	47	20	97	7
43	Fenthoate	103	13	75	9
44	Fenvalerate	79	34	105	8
45	Fipronil	81	9	77	10
46	Flutolanil	103	7	92	5
47	Fluvalinate	110	22	87	8
48	Fthalide	125	7	77	7
49	Imazalil	103	7	92	5
50	Iprobenfos	99	12	91	13
51	Iprodione	109	7	89	9
52	Iprodione-degraded	71	25	99	15
53	Isoprothiolane	90	10	79	7
54	Isoxathion	70	4	75	8
55	Kresoxim-methyl	87	10	78	7
56	Malathion	97	11	91	9
57	Mefenacet	79	19	92	10
58	Mepronil	106	8	82	7
59	Methalaxyl	113	8	82	12
60	Methidathion	99	4	76	7
61	Molinate	106	5	83	10
62	Monocrotophos	104	15	72	21
63	Myclobutanil	81	15	84	7
64	Naled	78	8	83	9
65	Oxadixyl	106	7	86	15
66	Parathion	91	19	89	12
67	Pencycuron	86	11	94	6
68	Pendimethalin	93	17	79	11
69	Permethrin	77	24	102	9
70	Piperonylbutoxide	51	11	104	9
71	Pirimiphos-methyl	110	14	87	7
72	Pretilachlor	112	10	86	6
73	Procymidone	106	6	78	8
74	Profenofos	110	13	83	8
75	Propargite	70	10	92	6
76	Propizamide	116	9	89	10
77	Pyraclofos	75	18	87	11
78	Pyridaben	72	9	91	9
79	Pyridaphenthion	101	13	97	9
80	Quinalphos	96	7	81	6
81	Silafluofen	72	13	99	7
82	Simazine	93	7	72	10

83	Simetryn	98	5	85	8
84	Tebufenpyrad	63	8	100	7
85	Tetraconazole	112	12	92	8
86	Tetradifon	69	5	93	6
87	Thiabendazole	104	20	71	10
88	Thiobencarb	102	4	99	7
89	Tolclofos-methyl	106	12	86	6
90	Triadimefon	92	16	82	8
91	Triadimenol	113	11	75	12
92	Triazophos	78	10	79	10
AVERAGE (Total)		90	12	87	9

#### 2.3.4 市販食用塩への分析法の適用

実試料として日本国内で主に流通しているイオン交換膜法塩「食塩」と輸入天日塩「原塩」を使用して添加回収試験を行った。試料中の各農薬等の添加濃度は0.1mg/kgとした。測定結果をTable 4に示した。回収率の平均値は食塩で96%、天日塩で84%であり、再現性の指標とした相対標準偏差の平均値もそれぞれ7%、7%であった。また、より低濃度での回収事例を検討するため「食塩」への添加濃度を0.01 mg/kgとした試験を行った。回収率は51から119%であり、平均値は83%であり、相対標準偏差の平均値は11%であった。2.3.3での低濃度添加試験と同様にいくつかの物質で回収率が低いものもあったが、全体的な回収率、再現性については、試薬の塩化ナトリウムと比較して違いが見られず、食用塩への適用が可能であることが確認された。しかし、個々の物質では回収率が異なる場合もあり、輸入天日塩の回収率は低い傾向であった。輸入天日塩には不溶解分として、土砂成分が含まれるが、試薬塩化ナトリウムやイオン交換膜法で製塩された「食塩」は、これらの土砂成分がない。これらの土砂成分への吸着の影響などについては、今後の検討課題であると考えられた。

次に、本報告で検討した分析方法を用いて一般に販売されている商品进行分析した。商品として、「食塩 5kg」、「並塩」、「精製塩 1kg」、「食卓塩」を測定した。これらの商品については、農薬等が使用されることのない工程で製造されており、測定結果も、これらの商品から農薬等のピークは検出されなかった。本分析法によりこれらの商品には、今回検討した94種類の農薬等の混入が無いことが確認された。

Table 4 Recovery rate of agricultural chemicals spiked to the edible salt sample with the present GC/MS method

No.	Compounds	Edible salt, "Syoku-en"				Solar salt, "Gen-en"	
		0.01 mg/kg spike		0.1 mg/kg spike		0.1 mg/kg spike	
		Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
1	Acetamiprid	84	12	111	8	82	3
2	Aldrin	99	14	101	8	84	7
3	gamma-BHC	92	12	108	9	99	9
4	Bifenthrin	97	20	98	17	87	7
5	Bitertanol	81	1	116	13	100	4
6	Bromobutide	93	13	88	7	88	10
7	Bromopropylate	76	8	81	16	70	5
8	Buprofezin	84	9	82	6	74	8
9	Butamifos	102	4	97	2	69	4
10	Captan	103	24	35	5	76	13
11	Chlorfenapyr	65	10	87	5	71	4
12	Chlornitrofen	87	7	104	5	77	6
13	Chlorothalonil	85	20	68	7	85	7
14	Chlorpyrifos	60	5	105	6	95	8
15	Chlorpyrifos-methyl	70	7	101	5	88	5
16	Cyhalotrin	77	4	115	16	100	7
17	Cypermethrin	89	11	101	11	100	12
18	o,p'-DDT	56	22	88	5	72	7
19	p,p'-DDD	59	16	86	4	70	6
20	p,p'-DDE	78	25	81	6	67	5
21	p,p'-DDT	68	9	85	3	73	7
22	Deltamethrin /Tralomethrin	81	9	117	3	120	5
23	Diazinon	68	13	104	2	91	7
24	Dichlofenthion	82	9	95	6	81	10
25	Dichlorvos /Trichlorfon	68	5	121	3	113	2
26	Dicofol	60	5	93	14	59	15
27	Dieldrin	70	14	80	2	69	7
28	Diethofencarb	97	8	98	3	87	5
29	Dimethoate	88	14	104	7	96	11
30	Edifenphos	72	11	90	17	78	4
31	Endrin	52	10	89	3	79	6
32	alfa-Endosulfan	85	12	91	4	80	1
33	beta-Endsulfan	72	27	93	5	77	5
34	Endsulfan-sulfate	70	2	77	17	70	7
35	EPN	67	7	115	14	90	6
36	Esprocarb	61	7	106	3	92	7
37	Ethion	94	14	91	3	74	5
38	Etofenprox	99	8	100	3	86	7
39	Fenbuconazole	92	6	118	4	107	9
40	Fenitrothion	65	24	112	7	110	4
41	Fenobucarb	88	8	91	2	78	3
42	Fenpropathrin	74	10	96	16	88	7

43	Fenthoate	66	10	90	5	69	6
44	Fenvalerate	71	12	112	4	94	9
45	Fipronil	96	16	101	4	90	6
46	Flutolanil	102	7	99	5	83	6
47	Fluvalinate	76	10	107	4	82	6
48	Fthalide	116	8	84	7	73	5
49	Imazalil	102	7	99	5	83	6
50	Iprobenfos	75	16	110	5	110	6
51	Iprodione	93	12	79	20	76	5
52	Iprodione-degradate	71	7	78	18	96	11
53	Isoprothiolane	109	4	90	8	76	8
54	Isoxathion	81	19	96	6	75	7
55	Kresoxim-methyl	99	8	86	6	75	8
56	Malathion	106	10	101	2	90	5
57	Mefenacet	88	8	115	22	89	5
58	Mepronil	104	5	95	4	83	6
59	Methalaxyl	115	6	94	4	92	7
60	Methidathion	90	10	92	3	83	6
61	Molinate	74	7	89	3	70	5
62	Monocrotophos	69	18	71	12	98	6
63	Myclobutanil	104	7	95	2	84	5
64	Naled	74	16	76	7	80	5
65	Oxadixyl	119	11	84	15	87	14
66	Parathion	66	19	113	4	102	9
67	Pencycuron	77	15	108	5	78	5
68	Pendimethalin	118	4	108	4	86	10
69	Permethrin	91	8	111	17	91	4
70	Piperonylbutoxide	51	11	99	15	89	6
71	Pirimiphos-methyl	66	9	99	5	84	7
72	Pretilachlor	82	10	93	8	78	6
73	Procymidone	112	8	84	4	72	4
74	Profenofos	64	10	88	3	77	6
75	Propargite	69	33	88	17	76	5
76	Propizamide	95	13	109	5	97	3
77	Pyraclofos	82	8	100	17	92	4
78	Pyridaben	68	7	102	4	76	6
79	Pyridaphenthion	79	16	112	5	86	4
80	Quinalphos	79	4	96	5	84	4
81	Silafluofen	80	11	102	3	91	3
82	Simazine	102	4	89	8	78	8
83	Simetryn	92	5	96	2	79	4
84	Tebufenpyrad	57	18	97	16	87	5
85	Tetraconazole	76	9	108	4	94	4
86	Tetradifon	88	20	98	9	79	5
87	Thiabendazole	84	22	110	11	82	15
88	Thiobencarb	90	3	100	3	83	2
89	Tolclofos-methyl	68	6	98	6	81	5
90	Triadimefon	83	3	97	6	90	11
91	Triadimenol	116	3	104	7	83	9
92	Triazophos	70	12	93	21	81	15
AVERAGE (Total)		83	11	96	7	84	7

## 2.4 結言



食用塩における残留農薬等の分析法を開発するために、GC/MS による一斉分析法について検討した。試料である塩を水溶し、固相抽出により濃縮、精製した。GC/MS における分離カラム、固相抽出におけるカラムを選択した。また、疎水性物質の固相抽出における回収率を向上させるために塩試料の溶媒として水にメタノールを 50%混合したものを用いた。このメタノールの混合により、試料調製時における器具壁面等への吸着が防止され、回収率が向上されたと考えられる。親水性物質(3 物質)については、選択した固相抽出カラムでは回収されなかったため、本一斉分析法では分析できないと考えられた。

本一斉分析法により、94 物質の農薬等が分析することができた。本法により、塩事業センターで選定した食用塩におけるポジティブリスト制度へ対応するための対象農薬等 162 物質(116 項目)のうち、94 物質(85 項目)の農薬等に対する GC/MS による一斉分析が可能であることがわかった。今後、本報告での分析法に適用できなかった対象農薬等について分析法を開発し、全 162 物質の農薬等に対する分析法を開発する方針である。

## 文献

- 1) 野田, “食品に残留する農薬等のポジティブリスト制度について”, 日本海水学会誌, **60**, 358-364 (2006)
- 2) Y.Hirahara, M.Kimura, T.Inoue, S.Uchikawa, S.Otani, A.Haganuma, N.Matsumoto, A.Hirata, S.Maruyama, T.Iizuka, M.Ukyo, M.Ota, H.Hirose, S.Suzuki, Y.Uchida, “Validation of multiresidue screening methods for the determination of 186 pesticides in 11 agricultural products using gas chromatography (GC)”, *J. Health Sci.*, **51**, 617-627 (2005)
- 3) P.Bolanos, J.Moreno, D.Shtereva, A.Frenich, J.Vidal, “Development and validation of a multiresidue method for the analysis of 151 pesticide residues in strawberry by gas chromatography coupled to a triple quadrupole mass analyzer”, *Rapid commun. Mass Spectrom.*, **21**, 2282-2294 (2007)
- 4) L. Rastrelli, K. Totaro, F. D. Simone, “Determination of organophosphorus pesticide residues in Cilento (Campania, Italy) virgin olive oil by capillary gas chromatography”, *Food Chem.*, **79**, 303-305 (2002)
- 5) T. Danis, V. Sakkas, I. Stratis, T. A. Albanis, “Pesticide multiresidue analysis in fresh and canned peaches using solid phase extraction and gas chromatography techniques”, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **69**, 674-681 (2002)
- 6) 榊原, 石山, 木村, 堀内, 辰巳, 佐々木, “醤油原料(大豆・小麦)中の残留農薬の一斉分析”, 醤油の研究と技術, **32**, 93-98 (2006)
- 7) M. Anastassiades, S.J. Lehotay, D. Stajnbaher, F.J. Schenck, “Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction / partitioning and “Dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce”, *J. AOAC Intern.*, **86**, 412-431 (2003)
- 8) J. A. Field, K. Monohan, “Chlorinated acid herbicides in water by strong anion-exchange disk extraction and in-vial elution and derivatization”, *J. Chromatogr. A*, **741**, 85-90 (1996)

- 9) M. J. M. Wells, D. D. Riemer, M. C. Wells-Knecht, "Development and optimization of a solid-phase extraction scheme for determination of the pesticides metribuzin, atrazine, metolachlor and esfenvalerate in agricultural runoff water", *J. Chromatogr. A*, **659**, 337-348 (1994)
- 10) A. A. D'Archivio, M. Fanelli, P. Mazzeo, F. Ruggieri, "Comparison of different sorbents for multiresidue solid-phase extraction of 16 pesticides from groundwater coupled with high-performance liquid chromatography", *Talanta*, **71**, 25-30 (2007)
- 11) R.J.C.A. Steen, I.L. Frerik, W.P. Confino, U.A.Th. Brinkman, "Large-volume injection in gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry for the determination of pesticides in the marine environment at the low ng/l level", *Anal. Chim. Acta*, **353**, 153-163 (1997)
- 12) D.Garcia-Rodriguez, A. M. Carro, R. A. Lorenzo, F. Fenandez, R. Cela, "Determination of trace levels of aquaculture chemotherapeutants in seawater samples by SPME-GC-MS/MS", *J. Sep. Sci.*, **31**, 2882-2890 (2008)
- 13) A. Togola, H. Budzinski, "Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples", *J. Chromatogr. A*, **1177**, 150-158 (2008)
- 14) K. Ensing, J.P. Franke, A. Temmink, X. Chen, R. A. de Zeeuw, "Application of Empore C-8 extraction disks for screening urine in systematic toxicological analysis", *J. Forensic Sci.*, **1992**, 460-466
- 15) C. Crespo, R.M. Marce, F. Borrull, "Determination of various pesticides using membrane extraction discs and gas chromatography-mass spectrometry", *J. Chromatogr. A*, **670**, 135-144 (1994)
- 16) G. Durand, D. Barcelo, "Solid-phase extraction using C18 bonded silica disks: interferences and analysis of chlorotriazines in seawater samples", *Talanta*, **40**, 1665-1670 (1993)
- 17) W. Liu, H.K. Lee, "Quantitative analysis of pesticides by capillary column high performance liquid chromatography combined with solid-phase extraction", *Talanta*, **45**, 631-639 (1998)
- 18) P. Parrilla, J.L. Martinez Vidal, "Determination of pesticide residues

in water using LLE or SPE and HPLC/DAD detection”, *Anal. Lett.*, **30**, 1719-1738 (1997)

19) 浦山, 杉山, 劔持, 藤原, 鷹野, 吉岡, “環境中超微量有害化学物質の分析、検索技術の開発に関する研究 -LC/MSによる農薬の他成分同時分析のための基礎的検討-“, 岡山県環境保健センター年報, **30**, 57-62 (2006)

20) S. Lacorte, N. Ehresmann, D. Barcelo, “Stability of organophosphorus pesticides on disposable solid-phase extraction precolumns”, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 2834-2841 (1995)

21) M. Nakamura, M. Nakamura, S. Yamada, “Conditions for solid-phase extraction of agricultural chemicals in waters by using n-octanol-water partition coefficients”, *Analyst*, **121**, 469-475 (1996)

22) 伊吹, 兎本, 北田, “エトフェンプロックスの固相抽出による分析法の検討”, 奈良県保健環境研究センター年報, **36**, 77-79 (2002)

23) T. Katagi, “Photodegradation of 3-phenoxybenzoic acid in water and on solid surfaces”, *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1269-1274 (1992)

24) 佐藤, 大橋, 高田, 天川, 都田, 荻原, 青柳, 鈴木, “GC/MS 及び HPLC による野菜中に残留する DDT と dicofol の分析”, 東京衛研年報, **51**, 135-139 (2000)

## 第 3 章

# LC/MS による塩中の残留農薬等の 一斉分析法

## 第 3 章

### LC/MS による塩中の残留農薬等の一斉分析法

#### 3.1 緒言

財団法人塩事業センターでは、農薬等 116 項目選定した<sup>1)</sup>。選定された農薬等の項目には、食品衛生法では、その代謝物や塩類についても基準が設けられているため、農薬等は全部で 162 物質である。そこで、本研究では塩を試料として、選択された 116 項目の農薬等の分析法を開発することを目的とした。

食用塩中の農薬等の分析法の開発に際しては、より多くの農薬等を同時に処理、分析できる一斉分析法を基本とし、一斉分析法が適用できなかった農薬等については個別に分析法を開発することとした。分析法としては、ガスクロマトグラフィー質量分析法(GC/MS)、もしくは液体クロマトグラフィー質量分析法(LC/MS)を使用することとした。クロマトグラフィーでの分離能が高いGC/MSを第一の選択肢とし、94 物質についての一斉分析法を開発し、第 2 章で報告した<sup>2)</sup>。次に、誘導体化などの処理を要するなどGC/MSで測定が困難である農薬等はLC/MSで検討を行うこととした。本章では、LC/MSによる一斉分析法について報告する。

食品中の残留農薬等の一斉分析法については、多くの報告があり、例えば、QuEChERS法<sup>3)</sup>に代表されるように、有機溶媒によりホモジナイズ、抽出し、精製の手順を行うのが一般的である。しかし、食用塩は、他の食品と異なり、水に溶解することにより、目的成分を水溶液へ抽出することができるため、水試料を対象とした分析法<sup>4-12)</sup>を参考とした。

Greulichら<sup>4)</sup>は、300 の殺虫剤に関する飲料水を対象とした分析方法として、LC/MSに直接導入して測定する方法を報告している。Romero-Gonzalezら<sup>5)</sup>は、フルーツジュースに関してQuEChERS法と固相抽出法(SPE)を比較し、QuEChERS法がSPE法よりも良い結果であると報告している。これらの分析方法は、簡便な方法であるが、食用塩には、脱塩処理が行われていないため適用できない。その他にもいくつか報告があるが、食用塩を対象としたものはない。

本報告では、カラム型固相抽出法で抽出した後、LC/MSで一斉分析する方法について検討した。

#### 3.2 方法

### 3.2.1 試薬

メタノール、アセトン、塩化ナトリウムは残留農薬分析用、エチレンジアミン四酢酸、塩化カルシウム、塩化マグネシウム、塩化カリウム、水酸化ナトリウム、塩酸、硝酸は特級試薬、ギ酸は HPLC 用の和光純薬工業製の試薬を使用した。アセトニトリルはハネウエル製の HPLC 用、水はミリポア製 MilliQ システムで作成したものをを使用した。

農薬等の標準試薬は、Dr.Ehrenstofer 製、もしくは和光純薬工業製を使用した。検討した農薬等を Table 1 に示す。

Table 1 The studied agricultural chemicals

2,4-Ds (2,4-D sodium salt, 2,4-D ethyl, 2,4-D diethylamine, 2,4-D isopropyl, 2,4-D butoxyethyl)			
benomyls (benomyl <sup>1</sup> , carbendazim <sup>2</sup> , thiophanate <sup>3</sup> , thiophanate-methyl <sup>4</sup> )			
dithiocarbamates (ferbam, mancozeb, maneb, methiram, polycarbamate, propineb, thiuram, zineb, ziram, nickel-bis(dithiocarbamate))			
glufosinates (glufosinate, glufosinate ammonium, 3-methylphosphinico propionic acid)			
glyphosates (glyphosate, glyphosate ammonium, glyphosate isopropyl-amine, glyphosate trimesium, glyphosate sodium)			
iminocadines (iminocadine, iminocadine triacetates <sup>5</sup> , iminocadine albeyl acid)			
bentasones (bentasonone, bentasonone sodium)			
carbofurans (carbofuran <sup>6</sup> , 3-OH carbofuran <sup>7</sup> , benfuracarb <sup>8</sup> )			
cartaps (cartap <sup>9</sup> , thiocyclam <sup>10</sup> , bensultap <sup>11</sup> )			
fosetyls (fosetyl, phosphonate)			
mesomyls (mesomyl <sup>12</sup> , mesomyl-oxime <sup>13</sup> , thiodicarb <sup>14</sup> )			
methams (metham, dazomet, methylthioisocyanate)			
tetracyclines (tetracycline <sup>15</sup> , chlortetracycline <sup>16</sup> , oxytetracycline <sup>17</sup> )			
azoxystrobin <sup>18</sup>	bensulide <sup>19</sup>	betamethazone <sup>20</sup>	carbaryl <sup>21</sup>
carazolo <sup>22</sup>	dimethomorf <sup>23</sup>	diquat	imidacloprid <sup>24</sup>
norgestomet <sup>25</sup>	oxine-copper <sup>26</sup>	prednisolone <sup>27</sup>	probenazole <sup>28</sup>

sulfadimethoxyn <sup>29</sup>	sulfamonomethoxyn <sup>30</sup>	tricyclazol <sup>31</sup>
-------------------------------	---------------------------------	---------------------------

Superscripts are referred to the peak numbers in figure 3.

固相抽出カラムとしては、和光純薬製 **PrecepC-C18** (470mg)と **PrecepC-Agri** (220mg)を比較検討した。2種類とも、一般的にコマ型といわれる密閉形態のカラムである。

### 3.2.2 食用塩試料

実試料としての食用塩としては、塩事業センターが販売している「食塩 1kg」と「新家庭塩」を使用した。回収率などの検討には和光純薬工業製の試薬特級の塩化ナトリウムを使用した。

### 3.2.3 ethyl 1H-benzimidazol-2-ylcarbamate (EBC)の合成

**EBC**は、チオファネートの代謝物である。チオファネートは、分析前処理中に **EBC**へ分解する。このため、チオファネートを定量するためには、分解物である **EBC**も定量しなければならない。しかし、**EBC**は試薬として市販されていないためチオファネートを閉環反応することにより合成した。

100 mg のチオファネートを 60%酢酸 100 mL で溶解した溶液に、0.20 g の酢酸銅を加えた。この溶液を入れたビーカーに時計皿を載せて 30 分間煮沸した。放冷後、未反応のチオファネートを除去するために、*n*-ヘキサン 50 mL により液々抽出を 2 回行った。水相を水酸化ナトリウムにより中和し、*n*-ヘキサン、酢酸エチルの 1 : 1 混合溶液により **EBC**を抽出した。この抽出液をロータリーエバポレーターにより乾固し、得られた残さをアセトニトリルで溶解して **LC/MS**で測定した。

クロマトグラムは単一のピークが得られ、**EBC**の分子量はノミナルで 205 であり、マススペクトルのベースピークはプロトン付加イオンとして *m/z* 206.0 であった。

### 3.2.4 苦汁標準液の調製

苦汁の主成分における陽イオンは、カルシウム(3%)、マグネシウム(5%)、カリウム(1%)、ナトリウム(1%)であると報告<sup>13)</sup>されている。そこ



で、我々は、模擬苦汁として、次の 4 種類の標準溶液を調製した。(1) カルシウム溶液：6.7 gの塩化カルシウムを 93.3 gの水に溶解、(2) マグネシウム溶液：19.1 gの塩化マグネシウムを 80.9 gの水に溶解、(3) カリウム溶液：2.2 gの塩化カリウムと 2.3gの塩化ナトリウムを 95.5 gの水に溶解、(4) 調製苦汁：6.7 gの塩化カルシウム、19.1 gの塩化マグネシウム、0.01 gの硫酸マグネシウム、2.2gの塩化カリウム、2.3 gの塩化ナトリウムを 69.7 gの水に溶解した。

### 3.2.5 農薬等の標準溶液

Table 1 に示した農薬等 10.0 mg を 100.0 mL のアセトニトリルもしくは、メタノール、塩酸酸性にした水で溶解し、これを保存溶液として 4°C で保存した。各保存溶液を混合し、アセトニトリルで希釈し、1 mg/L の混合溶液とした。この混合溶液をさらにアセトニトリルで適宜希釈し、0.5 から 500 µg/L の濃度の標準溶液を調整し、検量線を作成した。ピークの S/N 比により検出下限を求めた。

保存溶液は、アセトニトリル、メタノール、もしくは水で溶解、調製したが、測定溶液は、水とアセトニトリルの混合溶液で保存溶液を希釈して調製した。水を混合することで、クロマトグラフのピーク形状を適切にする効果があった。これらの農薬等に対する測定溶液(LC/MS で測定するための溶液)での水の影響を検討するためアセトニトリルに対する水の混合割合を 0、25、50、75%とした 1 mg/L の標準溶液を調製した。

### 3.2.6 装置

LC/MS は Waters 製 Alliance 2965 + ZQ を使用した。イオン源はエレクトロスプレー(ESI)で、イオン化電圧は 3.0 kV とした。ネブライザーガスは窒素を 500 °C、600 L/min とし、コーン電圧は 30 V に設定した。スキャンモードで測定する場合には、 $m/z$  80~500 を 0.5 秒でスキャンした。選択イオンモニタリングモードでは、最も強度の高い  $m/z$  をマススペクトルより選択し、0.1 秒ごとに測定した。各農薬等の選択したモニターイオンを Table 3 に示す。このモニターイオンを選定するためのマススペクトルは、LC を介さずにマイクロシリンジで MS に直接注入し、測定した。この測定では、10 mg/L の各農薬等を

1.0%ギ酸水溶液とアセトニトリルの 1:1 混合溶液として毎分 10 $\mu$ L で連続的に注入し、スキャンモードで測定した。

LC での分離カラムとして、東ソー製 ODS-100v (2.1 mm i.d.  $\times$  150 mm, 粒子径 5  $\mu$ m)を使用した。

移動相はアセトニトリル(A)、水(B)、1.0%ギ酸水溶液(C)を組み合わせたグラジエントシステムとした。A:B:C の比率を 5:85:10 とし、10 分間保持した。その後、直線的に 50 分までに 85:5:10 へ変化させた。流速は 0.2 mL/min とし、カラム温度 40 $^{\circ}$ C、測定試料の注入量は 20  $\mu$ L とした。これらの条件を Table 2 にまとめて示す。

Table 2 LC/MS operating conditions

---

#### Liquid chromatography conditions

column; TOSOH ODS-100v (2.1 mm i.d., 150 mm long, particle size: 5  $\mu$ m) at 40 $^{\circ}$  C

injection volume; 20  $\mu$ L                      flow rate; 0.2 mL/min.

mobile phase; (A) acetonitrile, (B) water, and (C) 1.0% formic acid water solution:

initial A:B:C ratio 5:85:10 (hold 10 min), final (50 min) ratio 85:5:10 (linearly change).

direct injection mode; flow rate; 10  $\mu$ L/min.    ionization assist with 1.0% formic acid.

#### Mass spectrometry conditions

scan mode;  $m/z$  80 to 500 / 0.5 s

selected ion monitoring (SIM) mode; selected  $m/z$  (shown in Table 3) /0.1 s

cone voltage; 30 eV

---

#### 3.2.7 固相抽出 (SPE)

塩試料からの農薬等の抽出には、固相抽出法を用いた。10 g の塩試料はビーカー内で 100 mL の水により溶解し、pH を調整する場合には、

2.0、3.5、5.0、6.5、8.0、9.5 に調整した。試料溶液は、コンディショニングした SPE カートリッジに通液した。このコンディショニングは、5 mL のメタノール、5 mL のアセトニトリル、5 mL の水、5 mL の 10% EDTA 水溶液、10 mL の水の順で通液して行った。試料溶液の通液後、カートリッジに水を 10 mL 流して、カラム内を洗浄した。窒素を 40 分間通過させてカートリッジを乾燥させた後に分析対象物質である農薬等を 5 mL のアセトニトリルで溶出した。溶出液は窒素ガスを穏やかにパージして濃縮し、1.0 mL に定容し、測定溶液とした。SPE カートリッジは、PrecepC-C18 と PrecepC-Agri を試験した。

本報告での最終条件としては、試料溶液の pH は 3.5 で、カートリッジは PrecepC-Agri であった。また、溶出液は、0.2 mL まで濃縮し、水で 1.0 mL に定容した。

### 3.3 結果と考察

#### 3.3.1 LC/MS での測定について

定量を行うための LC/MS におけるモニターイオンを選定するためには、各農薬等のマススペクトルが必要となる。このマススペクトルを測定するために、ESI に直接注入モードでの測定を行った。Table 1 に示した 65 物質について、Table 2 に示した方法でマススペクトルを測定した。このうち、7 物質について ESI でマススペクトルが測定できなかった。この 7 物質は、農薬等の 1 項目であるジチオカーバメート類(1 項目の中に複数の物質がある場合には類を付けて区別した)という 10 物質のうちの 7 つであった。この 10 物質は、フェルバム、マンゼブ、マンネブ、メチラム、ポリカーバメート、プロピネブ、チウラム、ジネブ、ジラム、ニッケルビスジチオカーバメートであり、このうち、チウラム、ジネブ、ジラムはマススペクトルが測定できたが、他の 7 物質は測定できなかった。これは、ジチオカーバメート類の ESI におけるイオン化効率が低いため、もしくは、保存溶液への溶解度が低いためと考えられた。ジチオカーバメート類は 10 物質中、7 物質のマススペクトルが測定できなかったため、一斉分析法への適用は困難であると判断した(第 4 章参照)。一方、ジチオカーバメート類以外の物質は、良好なマススペクトルが測定できた。

次に、残りの物質について、LC 条件を検討した。まず、0.1%ギ酸水

溶液とアセトニトリル 9:1 の移動相を使用したアイソクラチックモードによりオクタデシルカラム(ODS)を使用した逆相クロマトグラフィーにより測定を行った。メタム類(3 物質)、グリホサート類(5 物質)、グルホシネート類(3 物質)、ホセチル類(2 物質)、ジクワットの合計 14 物質は、デッドボリュームと同じ保持時間でピークが出現した。これらを ODS カラムへ保持させるためにアセトニトリルとギ酸水溶液の割合、さらにギ酸濃度の変化を検討したが、保持時間は変わらなかった。また、ギ酸を 10mM 酢酸アンモニウムへ変更しても、保持時間に変化は見られなかった。これらの 14 物質は、非常に高い親水性を有するために、逆相クロマトグラフィーでは分離が困難であると考えられ、本一斉分析法への適用はできないと判断した(第 5 章参照)。

残りのエレクトロスプレーイオン化法でマススペクトルが得られ、ODS カラムで分離された物質の中には、同じ保持時間にピークが出現し、同じマススペクトルを示すものがあった。これは、同一項目に、塩類が含まれている場合であり、例えば、ベンタゾン類は、ベンタゾンとベンタゾンナトリウム塩で構成されているが、これらは同じピークと同じマススペクトルとなった。よって、以降の試験では、ベンタゾンを用いて検討を行った。同様に 2,4-D 類は 2,4-D とその塩類で構成され、イミノクタジン類もイミノクタジンとその塩類で構成されるため、それぞれ、2,4-D とイミノクタジン三酢酸塩を標準物質として用いて試験を行った。このようなことから、以降の試験では 34 物質の混合標準溶液を用いて試験を行った。

混合標準溶液により、LCにおける移動相を検討した。グラジエントモードは Fig. 1 右側に示す A,B,C の 3 水準を比較検討し、TICとして Fig. 1 左側に示すクロマトグラムを得た。グラジエントモード A では、すべての物質を検出することができ、ピークの分離も行えた。一方、グラジエントモード B では、ベースラインが最も安定していたが、オキシシン銅のピークが死容量に出現するサンプルマトリクスに由来すると思われるピークに影響されて検出することができなかった。同様の状況がグラジエントモード C でも起きた。オキシシン銅以外の物質は検出することができたが、グラジエントモード B、C では、イミノクタジンと MBC が近い溶出時間であったため、TIC では分離されなかった。この分離度を拡大して示すため、Fig. 2 に各グラジエントモードにおける

イミノクタジンとMBCのマスキロマトグラムを示す。これらのクロマトグラムは、それぞれのマスキロマトグラムを重ねて描画している。SIM法によるイミノクタジンのモニターイオンは、 $m/z$  356.5 であり、MBCは  $m/z$  192.2 である。両物質ともプロトン付加分子イオン  $[M+H]^+$  でモニターされる。これらの物質は、質量分離を行うことで、この両物質は分離検出することができるが、TICで良好な分離を示したグラジエントモードAを採用した。グラジエントモードAを使用して分析した時の正イオンのTICクロマトグラムをFig. 3に示す。各ピークに付属している数字はTable 1に対応している。

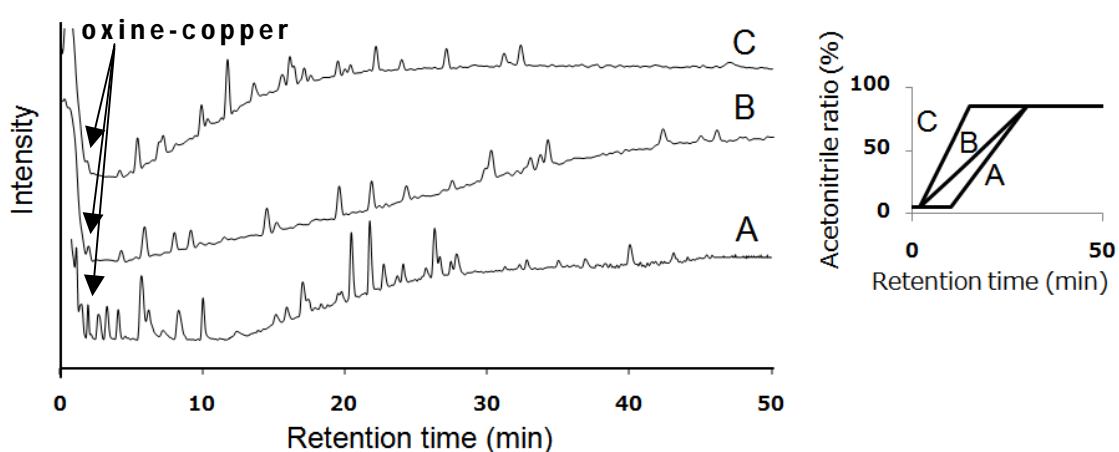


Fig. 1 Total ion current chromatograms with various gradient programs (left), with gradient programs applied (right). Offsets of each chromatogram was changed to show in one figure. The mobile phase had 10% formic acid (1%) at all times, and the rest of the balance was acetonitrile and water.

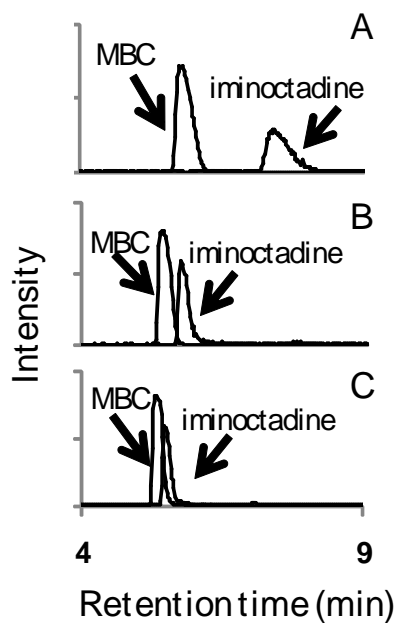


Fig. 2 Reconstructed mass chromatograms of MBC (carbendazim) and iminoctadine. A, B and C are gradient programs corresponding to those in Figure 1.

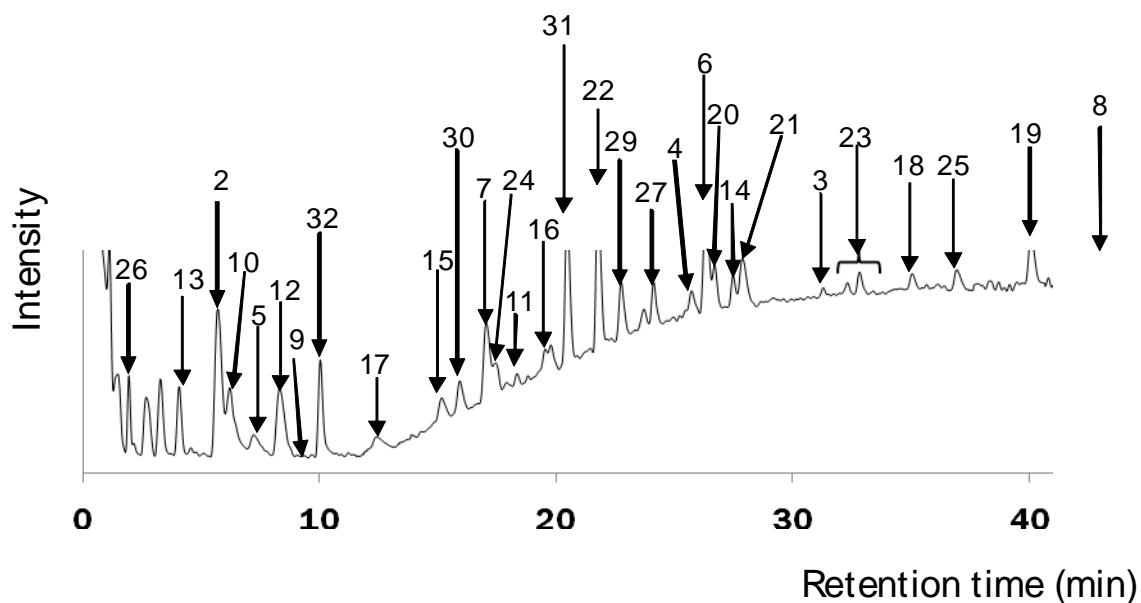


Fig. 3 Total ion current chromatogram of 1 mg/L each of standards. Peak numbers correspond to the numbers shown in Table 1.

オキシシン銅、カルベンダジム(MBC)、メソミル、メソミルオキシム(methyl thioacetohydroximate)のピークについては、リーディングしていた。この現象について、混合標準溶液がアセトニトリルを主な溶媒としているためと考えた。VukmanicとChiba<sup>14)</sup>は、MBCをアセトニトリル溶液として測定すると、分子内水素結合によりブロードなピークとなることを報告している。

そこで、測定溶液のアセトニトリルに対して水を混合させ、さらにその割合を変化させた。結果のクロマトグラムを Fig. 4 に示す。メソミル、メソミルオキシムについては、リーディングしていたピークが、水を混合させることにより正常なピークとなった。MBC、オキシシン銅については、水を混合させることで、リーディングが解消したと同時に、デッドボリュームに存在したピークが減少した。このデッドボリュームでのピークは、分析カラムである ODS との相互作用が無い物質であると考えられた。

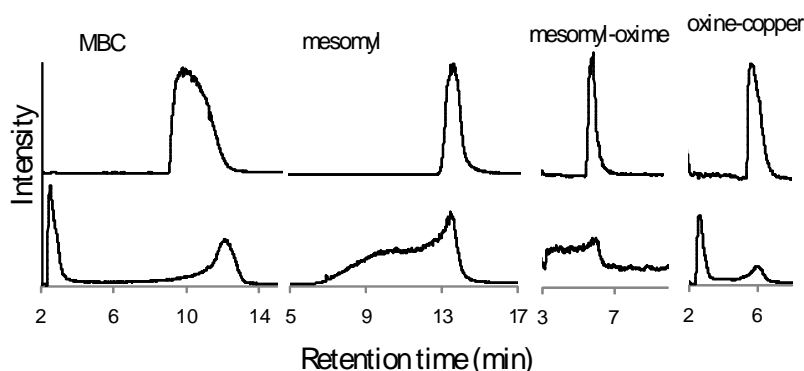


Fig. 4 Chromatograms with peak shape affected by water content in sample solutions. Solvents for chemicals are 75% water - 25% acetonitrile (upper) and 100% acetonitrile (lower). Only in the case of oxine-copper, methanol was used in place of acetonitrile.

測定溶液がアセトニトリル溶液である場合、LCへの注入時においては、移動相の組成が95%水溶液であったとしても、微小な範囲ではアセトニトリルが多い状態であるため、注入された物質の一部は分析カラムである ODS との相互作用が非常に弱くなり、保持されない現象が起きていると考えられる。MBC とオキシシン銅のクロマトグラムに見ら

れるデッドボリューム付近のピークは、ODS カラムに保持されずに、滑った一部が、検出されていると思われる。LC のグラジエント条件の初期組成である水溶液 95%へ近づけることにより、注入時の測定溶液による局所的な濃度差が小さくなったためにピーク形状が向上したと考えられた。後述する固相抽出において、その溶出液はアセトニトリルとしている。本検討により測定溶液は、溶出液のアセトニトリルを水へ変換させることが望ましいと思われた。しかし、溶媒を乾固させることは、抽出物質が損出する可能性があるため、溶出液を 0.2 mL まで濃縮し、水により 1.0 mL へ定容することとした。同様に混合標準溶液も水-アセトニトリル(2:8)混合溶液で希釈することとした。

水-アセトニトリル混合溶液により各農薬等の濃度を 0.5~500 µg/L とした混合標準溶液を調製し、LC/MS による SIM モードで定量し、検量線を作成した。

カルタップ類(カルタップ、ベンスルタップ、チオシクラム)は、検量線に直線性がなかった。カルタップとベンスルタップは水溶液中でネライストキシシンへ分解し、チオシクラムも一部がネライストキシシンへ分解する。同様に水溶液中で、農薬が分解するという報告は他にもあり、Anisuzzamanら<sup>15)</sup>は、イプロジオンについて1級、2級アルコール中での分解することを報告している。Durandら<sup>16)</sup>は、アトラジンの蒸留水、海水において速やかに分解することを報告している。カルタップについても、AsahiとYoshida<sup>17)</sup>は、カルタップは、加水分解によりデヒドロネライストキシシンとなり、さらに酸化されることによりネライストキシシンとなると報告している。このネライストキシシンは、さらなる加水分解条件に対しては、非常に安定な物質である。カルタップの加水分解は疑似1次反応であり、半減期はpH7、25°Cで11分であると報告されているため、これらの物質は、標準溶液調製時、希釈時にすぐに分解すると思われた。厚生労働省ではカルタップについてはアルカリ加水分解により、強制的にネライストキシシンへ変換して測定する方法を推奨している。カルタップの一部が分解したとしても、分解物を含めた合計量を定量することによりスクリーニングできるが、標準物質が不安定であると検量線が作成できない。よって、カルタップ類については、完全に分解させることにより、分解物であるネライストキシシンを分析する方法が適していると考え、本一斉分析法に



は適用できないと判断し、課題として、個別分析法を検討することとした(第 6 章参照)。

その他の物質については、検量線に十分な直線性が得られたため、この検量線を用いて定量下限を決定した。ピークの S/N(peak to peak) が 10 である濃度を定量下限とし、Table 5 に示す。定量下限は 0.5～50 $\mu$ g/L であった。食品衛生法では、一律基準値として 0.01 mg/kg を設定している。本一斉分析法では、後述する固相抽出法で 10 倍濃縮を行っているため、食品衛生法で定められている一律基準値以下の定量下限が得られた。

### 3.3.2 固相抽出条件の検討

固相抽出カラムについては、2 種類のカラムを検討した。PrecepC-C18(以下、PC-C18)は、一般的なシリカゲルを担体としたオクタデシル基を修飾した疎水性カラムで、PrecepC-Agri(以下、PC-Agri)は、スチレンジビニルベンゼンとポリメタクリレートの共重合体を充填剤としたカラムである。初期試験として、10 g の塩化ナトリウムを試料とし、これに 1  $\mu$ g の各農薬等を添加した。これを 100 mL の水で、10 分間攪拌して溶解した。あらかじめ 5 mL のメタノール、5 mL のアセトニトリル、5 mL の水を順に流してコンディショニングした固相抽出カラムに溶解した試料溶液を通液した。

PC-Agri では 50%以上の回収率を示したのは 22 物質であったことに対して、PC-C18 では 50%以上の回収率を示したのは 15 物質であったため、固相抽出カラムは PC-Agri を選択した。

食品衛生法では、物質の回収率は 70%以上であることが望ましいとしている。そこで次に、PC-Agri による固相抽出で 70%以上の回収率を得ることを検討した。

2 章で報告した GC/MS での一斉分析法の対象物質と異なり、LC/MS で対象とした物質の多くは、親水性があるため試料を溶解した試料溶液の pH が固相抽出カラムへの吸着等に影響する可能性があると予想し、試料溶液の pH を 2.0～9.5 へ変化させた。試料溶液中の pH を変化させることにより、物質の疎水性を増加させることができる可能性がある。結果を Table 3 に示す。回収率が 70%以上となる物質が多かった pH は 3.5 であった。

Table 3 Recovery rates(%) of chemicals added to aqueous solutions at various pH values

pH	2	3.5	5	6.5	8	9.5
2,4-D	80	74	68	79	72	82
3-OH,carbofuran	100	92	93	101	99	96
azoxystrobin	83	80	79	95	87	96
benfracarb	82	73	69	44	49	44
benomyl	17	23	18	20	19	20
bensulide	74	73	68	62	63	51
bensultap	90	94	26	n.d.	n.d.	n.d.
bentasone	84	73	38	n.d.	n.d.	n.d.
betamethazone	91	90	91	97	96	106
carazolol	87	88	84	90	85	92
carbaril	90	85	86	90	86	87
carbofuran	80	115	99	101	102	91
chlortetracycline	50	81	18	64	48	27
dimethomorph	85	86	81	96	92	100
EBC	74	66	69	69	69	70
imidacloprid	76	86	60	62	60	65
iminocadine	41	18	2	2	2	1
MBC	56	83	83	96	88	104
mesomyl	102	96	84	76	81	76
mesomyl-oxime	27	28	25	16	21	33
norgestomet	83	83	80	96	90	99
oxine-Cu	28	94	95	116	80	60
oxytetracycline	47	94	76	114	90	44
prednisolone	84	85	85	87	87	94
probenazole	94	90	83	88	79	54
sulfadimethoxyn	84	86	86	97	92	98
sulfamonomethoryn	97	92	90	104	102	87
tetracycline	37	85	28	89	70	53

thiodicarb	<b>78</b>	<b>77</b>	<b>82</b>	<b>83</b>	<b>81</b>	<b>80</b>
thiophanate	n.d.	<b>80</b>	65	55	51	41
thiophanate-methyl	n.d.	<b>86</b>	62	66	<b>81</b>	64
tricyclazol	<b>94</b>	<b>88</b>	<b>89</b>	<b>102</b>	<b>98</b>	<b>105</b>

Bold characters indicate more than 70% recovery rate

ベンタゾンは  $pK_a$  が 3.3 であるため、 $pH3.5$  以上では回収率が減少したと考えられた。ノルジェストメットは、動物用医薬品であり、分析に関する報告はない。そこで、当初は個別分析法として検討を進めるために、本一斉分析法で検討している前処理条件をもとに、試料水溶液の  $pH$  を変化させたときの回収率を試験した。このとき予備試験において、アルカリ性領域で回収率が高い傾向がみられた。ノルジェストメットのマススペクトルを Fig. 5 に示す。次に、アルカリ領域における回収率を試験した。100 mL の 10%塩化ナトリウム溶液の  $pH$  を 8 から 11 まで変化させて、1 mg/L のノルジェストメットを 1 mL 添加して回収試験を行った。Fig. 6 に回収率を示す。回収率は  $pH10$  で最大になった。しかし、本章で検討している一斉分析法に取り入れた方が効率的であるため、Table 3 の  $pH$  領域での試験を行ったところ、 $pH3.5$  においても 80%以上の回収率が得られたため、一斉分析法での前処理でも問題ないと考えられた。

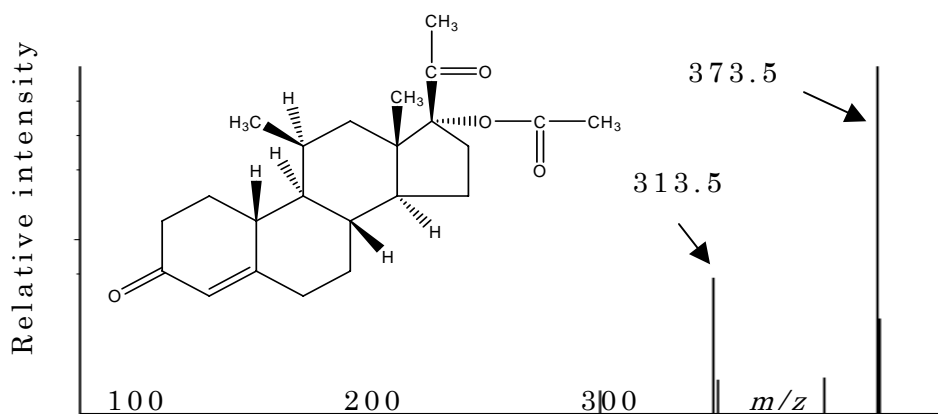


Fig. 5 Mass spectrum of norgestomet

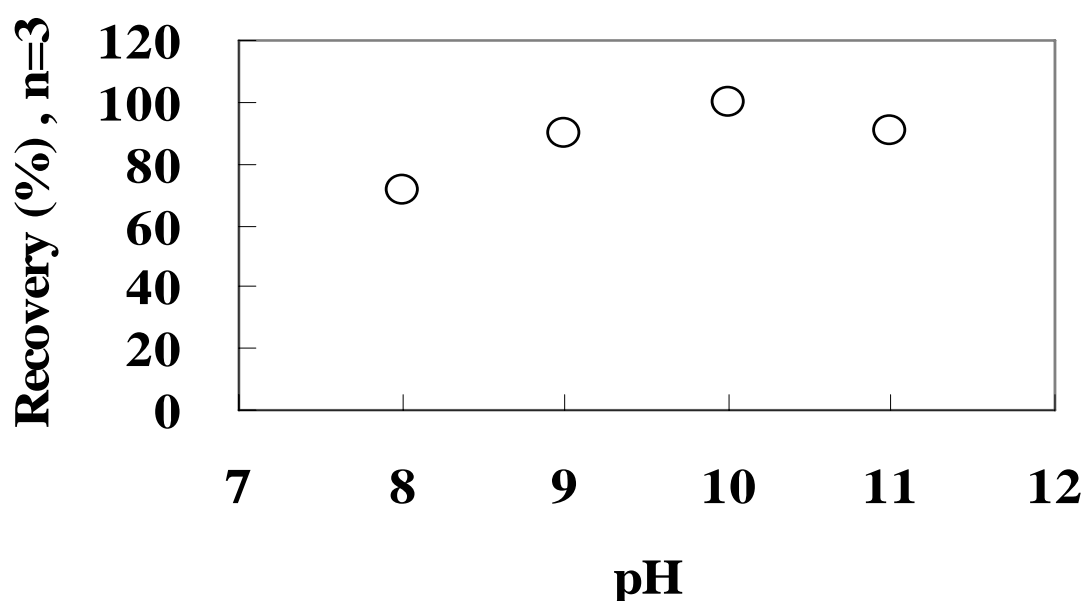


Fig. 6 Recovery rates of norgestomet in various pH of sample solutions

すべての pH 条件で回収率が悪かった物質は、メソミルオキシム、イミノクタジン、ベノミルであった。これらの回収率は 30%以下であった。メソミルオキシムとイミノクタジンはガラス壁面等への吸着が予想されるため、2章で検討した試料水溶液へのメタノール添加を検討したが、メタノールを添加することで、さらに回収率が悪くなったため、これらの物質は、本一斉分析法には適用できないと判断した(第5章参照)。ベノミルについては次の検討を行った。

### 3.3.3 ベノミルの分解

ベノミルはベノミル類(ベノミル、チオファネートメチル、MBC、チオファネート)に属する物質である。ベノミル類は、分析途中で分解が起きると報告されている<sup>18)</sup>。環境中でも、ベノミルとチオファネートメチルはMBCへ、チオファネートはEBCへ分解する(Fig. 7)。MBCは浸透性の殺菌剤で、真菌の有糸分裂による微小管形成を阻害する。ベノミルやチオファネートメチルは、環境中で分解し、MBCになることで、殺菌剤としての効果を発揮する<sup>19-21)</sup>。そこで、これらの分解に関する試験を行った。分解率を調べるために、1.0 mg/Lのチオファネートを除く、これらの物質を 1.0 mL、100.0 mLの 10%塩化ナトリウム溶液へ

添加した。30 分間放置後、分析を行った。チオファネートの分解物は **MBC**ではなく、**EBC**であるため別に同様の試験を行った。Table 4 に 5 回試行した結果を示す。

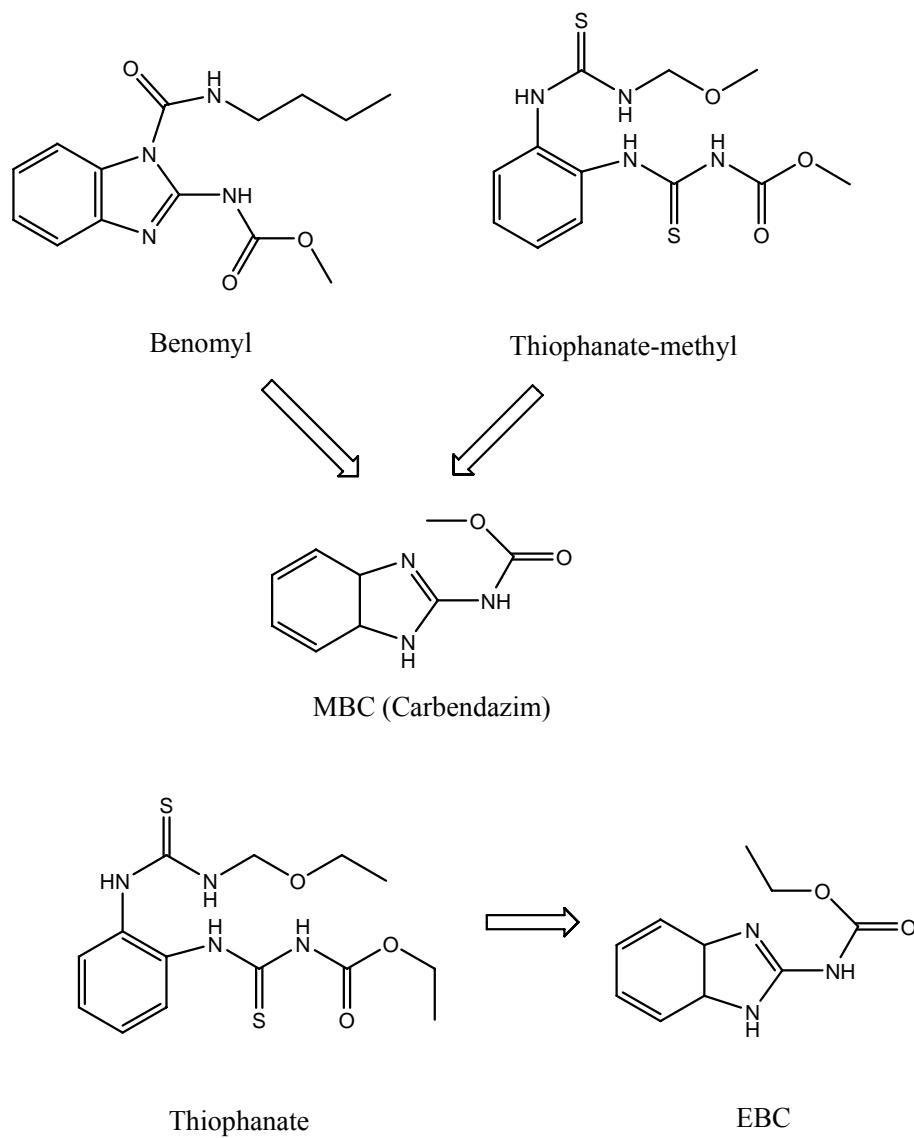


Fig. 7 Degradation scheme of benomyls

Table 4 Degradation of benomyls during analytical processes

	Degraded to MBC			Total
	benomyl	MBC	thiophanate-methyl	
Spiked ( $\mu\text{mol/L}$ )	3.45	5.24	2.92	11.61
Found ( $\mu\text{mol/L}$ )	1.92	8.30	0.03	10.25
Recovery rate (%)	56 $\pm$ 9	158 $\pm$ 11	1 $\pm$ 20	88 $\pm$ 20
	Degraded to EBC			Total
	thiophanate	EBC		
Spiked ( $\mu\text{mol/L}$ )	2.70	not spiked		2.70
Found ( $\mu\text{mol/L}$ )	1.24	1.48		2.72
Recovery rate (%)	46 $\pm$ 10	-		101 $\pm$ 16

ベノミルは約 50%が分解し、チオファネートメチルは 1%しか残らなかった。これに伴い、MBC は約 160%に増加していた。ベノミル、MBC、チオファネートメチルの合計は約 11  $\mu\text{mol/L}$  であり、これらの分解による減少と増加のバランスは取れていた。この全量での回収率は 88%  $\pm$  20%であった。同様にチオファネートは、2.7  $\mu\text{mol/L}$  の初期濃度であったが、分析処理中に 1.24  $\mu\text{mol/L}$  へ分解に伴う減少を示し、添加していない EBC は 1.48  $\mu\text{mol/L}$  出現した。同様に合計量は約 2.7  $\mu\text{mol/L}$  で安定しており、回収率も 101%  $\pm$  16%であった。

以上の事より、ベノミル類は、分析中に分解するために、試料から検出された場合にどのような形態で存在していたのかは不明となるが、全量を合計して定量することにより、一斉分析に適用することが可能であった。

### 3.3.4 抽出時における苦汁の影響

近年の市販食用塩には、苦汁成分が添加されているものが増えてきている。苦汁の主成分は、マグネシウムもしくはカルシウムである。クラークら<sup>22)</sup>はアルカリ溶液中において、塩化カルシウムが農薬等の

分解を促進すると報告している。そこで、抽出時の苦汁の影響について検討した。

芳賀ら<sup>13)</sup>は、国内で市販されている苦汁の主成分を報告している。苦汁は、その製造方法(天日塩田による製造とイオン交換膜法による製造)により 2 種類に分類される。このうち、国内食用塩はイオン交換膜法により製造されるものが多いため、苦汁もこれをモデルとした。

苦汁の成分としてカルシウム溶液、マグネシウム溶液、カリウム溶液と名付けた 3 つの溶液を調製し、これら各 100 g に、農薬等 1 mg/L 溶液を 1 mL 添加し、分析した。カルシウム溶液におけるオキシシン銅の回収率が 46%であったこと以外は、3 つの溶液を用いた試験ですべての農薬等が 70%以上の回収率であった。オキシシン銅はマグネシウム溶液では 75%、カリウム溶液では 92%の回収率であった。オキシシン銅は 8-キノリノールを配位子として銅をキレートしている物質であるため、溶液中のマトリクスが、錯体構造へ影響していると考えられた。オキシシン銅の酸解離定数は 5.00<sup>23)</sup>であるため、pH3.5 溶液中では 8-キノリノールと銅は解離していると思われる。8-キノリノールはカルシウムと錯形成している可能性がある<sup>24)</sup>。このため、EDTAを用いてカルシウムイオンをマスクングする方法を検討することとした。

100 g の調製苦汁に 1 mg/L の農薬等 1 mL を添加した。この溶液に、10%EDTA を 0、10、20mL 加えて SPE により前処理を行った。しかし、回収率に変化はなかった。そこで、10%EDTA を SPE のコンディショニングに追加し、カラムに EDTA を保持させることによりマスクング効果を検討した。通常コンディショニングにおいては、メタノール、アセトニトリルでカラムを洗浄し、その後、カラム内を水に置換し、最後に試料溶液と同様の溶液を通液させるが、水を通液後、さらに 10%EDTA を 5 mL 通液し、再度水で洗浄した。この検討において、オキシシン銅の回収率は 73%となった。SPE カートリッジに対して EDTA を通液、吸着させることで、カルシウムイオンの様な夾雑する金属イオンをマスクングし、その影響が減少したためにオキシシン銅の回収率が向上したと考えられた。

### 3.3.5 食用塩実試料の分析

実試料として、塩事業センターが販売している「食塩 1kg」に対して農薬等を添加し、測定を行った。結果を Table 5 に示す。すべての農薬等が回収率 70%以上であった。このことから食用塩へ本報告で検討した分析方法が適用できることが確認された。本方法を用いて、「食塩 1kg」と「新家庭塩」について検査を行ったところ、これらの試料から農薬等は検出されなかった。





Table 5 Monitor ions, limits of quantification (LOQ) and recovery rate<sup>a</sup> of chemicals by the present method

Chemicals		LOQ ( $\mu\text{g/L}$ )	monitored ion ( $m/z$ )		Recovery (%)	RSD $\pm$ (%)
2,4-D and its salts (6 compounds)		50	219.0 <sup>e</sup>	221.0 <sup>e</sup>	76	7
azoxystrobin		50	372.1	405.0	89	4
benfuracarbs	benfuracarb	0.5	165.1	122.9	98	7
	carbofuran	1	222.1	465.1	98	2
	3-OH, carbofuran	10	220.1	375.8	105	5
benomyls	carbendazim	50	192.1	160.0	— <sup>c</sup>	
	benomyl	50	192.1	291.1	— <sup>c</sup>	
	thiophanate-methyl	10	343.0	192.1	— <sup>c</sup>	
	thiophanate	50	371.0	192.1	— <sup>d</sup>	
EBC <sup>b</sup>		50	206.0	178.0	— <sup>d</sup>	
bensulide		10	356.0	398.0	70	10
bentazone and sodium salt		50	239.1 <sup>e</sup>		104	12
betamethasone		10	393.2	373.2	102	8
carbaryl		10	202.0	403.2	97	7
carazolol		10	299.2	115.9	81	1
dimethomorph		10	387.9	479.2	92	7
imidacloprid		50	221.0	511.1	86	8
mesomyls	mesomyl	10	163.1	325.1	96	10
	thiodicarb	10	87.8	107.8	96	6
norgestomet		10	313.1	271.1	83	2
oxine-copper		50	146.1	352.0	98	6
sulfadimethoxine		10	311.1	155.9	97	7
sulfamonomethoxine		10	281.1	155.9	87	6
tetracyclines	tetracycline	10	427.1	410.0	85	3
	chlortetracycline	50	479.0	443.0	82	2
	oxytetracycline	1	426.0	461.0	110	4
tricyclazole		10	190.1	379.1	104	5
prednisolone		5	361.2	343.2	103	7
probenazole		10	224.1		104	6

a: Recovery by the proposed method: 0.01 mg/kg each of 29 agricultural chemicals were spiked to “Shoku-en”

b: EBC, ethyl 1H-benzimidazol-2-ylcarbamate

c: Could not be determined individually: Total recovery of the three chemicals was  $120 \pm 12\%$

d: Could not be determined individually: Total recovery of the two chemicals was  $101 \pm 17\%$

e: Monitored negative ion mode

### 3.4 結言

食用塩に対する固相抽出して LC/MS で測定する一斉分析法を開発した。抽出においては、スチレンジビニルベンゼン-メタクリレート共重合体カラムを用い、コンディショニングにおいては、EDTAを追加して用いること、試料溶液の pH は 3.5 とした。吸着した農薬等はアセトニトリルで溶出した。溶出液は濃縮し、アセトニトリル 20%、水 80% に溶媒変換することで、LC/MS におけるクロマトグラムでのピークがシャープになった。ベノミル類は、分析中に分解するが、全ベノミル類を合計することで、定量が可能であった。本方法により、塩事業センターが選定した 162 物質のうち 34 物質が分析できるようになった。一方、一斉分析法で分析できず、個別分析法を開発する必要がある物質を課題とした。本分析法を塩事業センターで販売する食用塩を試料として適用したところ、農薬等は検出されなかった。

## 文献

- 1) Y. Noda, "Introduction of the positive list system for agricultural residues in foods. *Bull. Soc. Sea Water Sci. Jpn.*, **60**, pp. 358–364 (2006)
- 2) Y. Noda, T. Asada, K. Kobayashi, "Simultaneous analysis of agricultural chemical residue in salt by GC/MS", *Bunseki Kagaku*, **59**, pp. 579–587 (2010)
- 3) M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajn, "Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "Dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce", *J. AOAC Int.*, **86**, pp. 412–431 (2003)
- 4) K. Greulich and L. Alder, "Fast multiresidue screening of 300 pesticides in water for human consumption by LC-MS/MS", *Anal. Bioanal. Chem.*, **391**, pp. 183–197 (2008)
- 5) R. Romeo-González, A. G. Frenich, J. L. M. Vidal, "Multiresidue method for fast determination of pesticides in fruit juices by ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry", *Talanta*, **76**, pp. 211–225 (2008)
- 6) M. Hiemstra and A de Kok, "Comprehensive multi-residue method for the target analysis of pesticides in crops using liquid chromatography-tandem mass spectrometry", *J. Chromatogr. A*, **1154**, pp. 3–25 (2007)
- 7) M. Takino, S. Daishima, K. Yamaguchi, T. Nakahara, "Simultaneous determination of pesticides in river water by LC/electrospray ionization MS", *Bunseki Kagaku*, **50**, pp. 309–317 (2001)
- 8) B. F. Spisso, A. L. Oliveira e Jesus, M. A. Gonçalves, M. A. Monteiro, "Validation of a high-performance liquid chromatographic method with fluorescence detection for the simultaneous determination of tetracycline residues in bovine milk", *Anal. Chim. Acta*, **581**, pp. 108–117 (2007)
- 9) Y. Kobayashi, "Development of residue analysis for pesticides by LC/MS and LC/MS/MS methods", *Bunseki Kagaku*, **58**, pp. 985–997 (2009)
- 10) S. Takatori, M. Okihashi, Y. Okamoto, Y. Kitagawa, S. Kakimoto, H. Murata, T. Sumimoto, Y. Tanaka, "A rapid and easy multiresidue method for the determination of pesticide residues in vegetables, fruits, and cereals using liquid chromatography/tandem mass spectrometry", *J. AOAC Int.*, **91**, pp. 871–883 (2008)
- 11) D. Debaye, G. Dessalces, M. F. Grenier-Loustalot, "Multi-residue analysis of traces of pesticides and antibiotics in honey by HPLC-MS-MS", *Anal. Bioanal.*

- Chem.*, **391**, pp. 1011–1020 (2008)
- 12) J. M. Conley, S. J. Symes, S. A. Kindelberger, S. M. Richards, “Rapid liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of a broad mixture of pharmaceuticals in surface water”, *J. Chromatogr. A*, **1185**, pp. 206–215 (2008)
  - 13) M. Haga, Y. Niino, H. Nishimura, H. Seki, “Quality of bittern products. *J. Cookery Sci. Jpn.*, **38**, pp. 281–285 (2005)
  - 14) D. Vukmanic, M. Chiba (1989) Effect of organic solvents in sample solutions and injection volumes on chromatographic peak profiles of analytes in reversed–phase high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **483**, 189–196.
  - 15) A. K. M. Anisuzzaman, T. Storehalder, D. C. Williams, N. Ogg, T. D. Kilbourne, J. J. Samuel, C. E. Cottrell, “Effect of alcohols on the stability of iprodione in solution”, *J. Agric. Food Chem.*, **56**, pp. 502–506 (2008)
  - 16) G. Durand, D. Barceló, J. Albaiges, “On the photolysis of selected pesticides in the aquatic environment”, *Toxicol. Environ. Chem.*, **31–32**, pp. 55–62 (1991)
  - 17) Y. Asahi and T. Yoshida, “Kinetics of hydrolyses of insecticides: cartap hydrochloride and nereistoxin”, *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, pp. 2211–2216 (1977)
  - 18) N. Shiga, T. Kinoshita, K. Hirano, O. Matano, S. Goto, “Preventive effect of sodium l–ascorbate for decomposition of thiophanate–methyl in homogenized crops”, *J. Pesticide Sci.*, **9**, pp. 681–688 (1984)
  - 19) N. Shiga, O. Matano, S. Goto, “Decomposition of thiophanate–methyl in grape homogenate”, *J. Pesticide Sci.*, **10**, pp. 713–720 (1985)
  - 20) R. Singh and M. Chiba, “Determination of benomyl and its degradation products by chromatographic methods in water, wettable powder formulations, and crops”, *J. Chromatogr.*, **643**, pp. 249–260 (1993)
  - 21) E. Mallat, D. Barceló, R. Tauler, “Degradation study of benomyl and carbendazim in water by liquid chromatography and multivariate curve resolution methods”, *Chromatographia*, **46**, pp. 342–350 (1997)
  - 22) J. M. Clark, M. W. Brooks, S. A. Woods, W. M. Coli, “Enhanced degradation of pesticides in aqueous formulations due to addition of calcium chloride”, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **112**, pp. 260–263 (1987)
  - 23) K. Ohashi, S. Choi, J. Ougiyangi, “8–Quinololinol and its derivatives as analytical reagents”, *Bunseki Kagaku*, **49**, pp. 807–833 (2000)
  - 27) T. Yokoyama, K. Murata, S. Mukai, K. Uomoto, T. Itoh, M. Shibata, M. Zenki, “Determination of aluminum in water samples by flame AAS after extraction of 8–quinolinol complex with nitrobenzene”, *Bunseki Kagaku*, **55**, pp. 757–763 (2006)



## 第 4 章

# ヘッドスペース-GC/MS による塩 中の残留農薬等の個別分析法

## 第 4 章 ヘッドスペース-GC/MS による塩中の残留農薬等の個別分析法

本章では、GC/MS もしくは LC/MS による一斉分析法で分析することが困難であったメタム類とジチオカーバメート類についての個別分析法について検討を行った。メタム類はメタム、ダゾメット、メチルイソチオシアネートの 3 つの農薬からなる項目で、ジチオカーバメート類は、フェルバム、マンゼブ、マネブ、メチラム、ポリカーボネート、プロピネブ、チウラム、ジネブ、ジラム、ニッケルビスジチオカーバメートの 10 の農薬からなる項目である。

メタム類は、GC/MS の注入時に一部が熱分解してしまう物質である。そこで、前処理により完全に分解させる方法が一般的である。一方、ジチオカーバメート類は、溶媒に溶解させることが困難な農薬であり、分解物を溶解させる方法が一般的である。これらの 2 種類の農薬については、分解時に生じる分解物に揮発性があるため、密閉した容器内で分解させ、揮発によりバイアル内のヘッドスペース部分に抽出された分解物を GC/MS で分析する方法を検討した。分解条件等が異なるために 4.1 ではメタム類について、4.2 ではジチオカーバメート類について検討した。

### 4.1 メタム類分析法（個別分析法）

#### 4.1.1 緒言

メタム、ダゾメット、メチルイソチオシアネート(MITC)は、殺虫剤や殺菌剤として使用される農薬で、メタム、ダゾメットは土壌に散布されると、活性成分である MITC へ分解することで効力を発揮する<sup>1-4)</sup>。これらの分析法としては、野菜などの場合、水抽出物を加熱還流し、酢酸エチルで液々抽出を行った後にガスクロマトグラフィー—アルカリ熱イオン化検出器で測定する方法<sup>5)</sup>が、厚生労働省の通知法<sup>6)</sup>となっている。これは、メタム、ダゾメットが熱に不安定であるため、ガスクロマトグラフィーでの測定において、注入口やカラム内部で一部のみが分解されるので、完全に MITC へ分解させ、これを測定する方



法である。MITCは蒸気圧が 3.54 mmHg (25℃)と揮発性の高い物質であることから、液液抽出や加熱還流における損失、減圧濃縮等による損失が予想された。そこで、加熱による分解と抽出を同時に行う方法を検討した。

ヘッドスペース法は、ガスクロマトグラフィーのサンプル注入法である。20 mL 程度のバイアル瓶に液体試料等を 10mL 程度入れ、これにヘリウムなどの GC のキャリアーガスをバブリングさせて液中の揮発成分をバイアルのヘッドスペース部分に追い出すことにより抽出し、このヘッドスペース部分の気体を直接 GC へ導入する方法である。このヘッドスペースサンプラー用のバイアル瓶は、試料をセプタムとアルミシールにより密封するため、揮発性物質の加熱による揮散等の損失が少ない。また、通常の GC での分析において、試料を注入する場合、試料溶媒はガス化させる必要があるため、水から酢酸エチルのような有機溶媒へ転溶操作が必要となるが、ヘッドスペース法は、ガス化した成分を直接注入するために、その操作を省略できる。また、ヘッドスペース部分に存在する気体を全量注入するため、高感度の測定が期待される。このヘッドスペース法を使用して、メタム、ダゾメット、MITC の分析法を検討した。

#### 4.1.2 装置と試薬

##### 4.1.2.1 試薬

メタム水素ナトリウムとダゾメットは Dr. Ehrenstorfer 製を使用した。MITC は和光純薬工業製を使用した。水はミリポア製ミリ Q 水を使用し、その他の試薬は和光純薬工業製の特級を使用した。

10.0 mg のダゾメットと MITC は 100.0 mL のアセトンに溶解し、メタムはメタノールに溶解して 100 mg/L の保存溶液とした。標準添加試験では各標準試料の保存溶液を、適宜希釈した溶液 10.0  $\mu$ L をマイクロシリンジで 10 mL の 10%塩化ナトリウム水溶液へ添加して調製した。

##### 4.1.2.2 装置

GC/MSは島津製 GCMS-QP2010 を使用し、ヘッドスペースサンブラ

ー(以下、HS。パーキンエルマー製TM-40)をオンラインで接続した。GC条件は、カラムはアジレント製DB624 (50 m×0.53 mm内径、0.32 μm液相)を、初期設定温度 40℃として、毎分 20℃で 200℃まで昇温した。質量分析条件は、選択イオンモニタリングモードで  $m/z$  73 を定量イオンとして、 $m/z$  45 を参照イオンとして検出した。MITCの組成式は  $\text{CH}_3\text{-N=C=S}$  であるため、分子量 73 であり、そのフラグメントである  $\text{=C=S}$  にプロトンが転移し、 $m/z$  45 が出現すると思われる。

HS は、まずバイアルを一定温度、一定時間保温する。その後、ニードルをセプタムを介して挿入し、液中にガスクロマトグラフのキャリアーガスであるヘリウムガスを注入して加圧することにより、液中の揮発性物質をバイアルのヘッドスペース部分に追い出す。その後、ニードルよりヘッドスペース内の気体を GC/MS へ導入する。HS 条件の検討においては、バイアルの保温温度(試験条件 60℃、80℃、100℃、120℃)を検討し、その他の条件は、保温時間 10 分、GC 注入時間および加圧時間 2 分と固定した。

#### 4.1.2.3 添加試験方法

10%塩化ナトリウム 10 mL を HS 用バイアルに入れ、これに 100 mg/L に調製したメタム(もしくは、ダゾメット、MITC)を 10 μL 添加した。アルミシールにより密封後、加熱する場合には、ホットプレート上の沸騰した湯により湯せんした。放冷後、HS-GC/MS により測定した。

#### 4.1.2.4 標準分析法

1g の塩試料を HS 用バイアルに採取し、10 mL の水で溶解した。アルミシールで密封後、湯せんにより 40 分間加熱した。放冷後、HS-GC/MS により測定した。

### 4.1.3 結果と考察

#### 4.1.3.1 HS 条件の検討

塩化ナトリウムの影響を検討するために、水 10 mL と 10%塩化ナトリウム水溶液 10 mL、それぞれに MITC を 10 μL 添加し、面積値を比較した。このときの保温温度は 80℃とした。結果、10%塩化ナトリウ

ム水溶液を試料とした場合、水を試料とした場合と比較して 1.5 倍の面積値が得られた。これは、水溶液中からヘッドスペース部分への抽出が塩析効果で効率的になったためと思われた。また、塩化ナトリウムが含まれることによる、ベースライン等への GC/MS の測定には影響がなく、10%塩化ナトリウム水溶液を試料として分析できることを確認した。

次に、MITC を 10  $\mu$ L 添加した 10%塩化ナトリウム水溶液 10.0 mL を試料とし、HS での保温温度を 60, 80, 100, 120 $^{\circ}$ C とした時に検出されたピーク面積を比較した (Table 1)。MITC の沸点は 117 $^{\circ}$ C であるため 120 $^{\circ}$ C まで加温することで、ヘッドスペースへの MITC の気化は最大になると考えられた。しかし、最もピーク面積が大きかったのは、80 $^{\circ}$ C に保温した時であった。これは、100 $^{\circ}$ C 以上で保温すると、試料溶液の水も蒸気となり、GC/MS へ導入され、ベースラインが安定しなかったことが、原因であると思われた。結果として最もピーク面積が大きかった 80 $^{\circ}$ C を以後、HS でのサンプル保温温度とした。

Table 1 condition of head space sampler

heat tempareture ( $^{\circ}$ C)	peak area
60	5321
80	87410
100	20408
120	15826

本条件で、MITC の標準溶液を適宜希釈して検量線を作成し、ピークの S/N が 10 になる濃度を算出したところ 0.0001 mg/L であった。これにより、本分析法における検出下限は 0.001 mg/kg とした。0.02 mg/L の MITC を測定した時のクロマトグラムを Fig. 1 に示す。

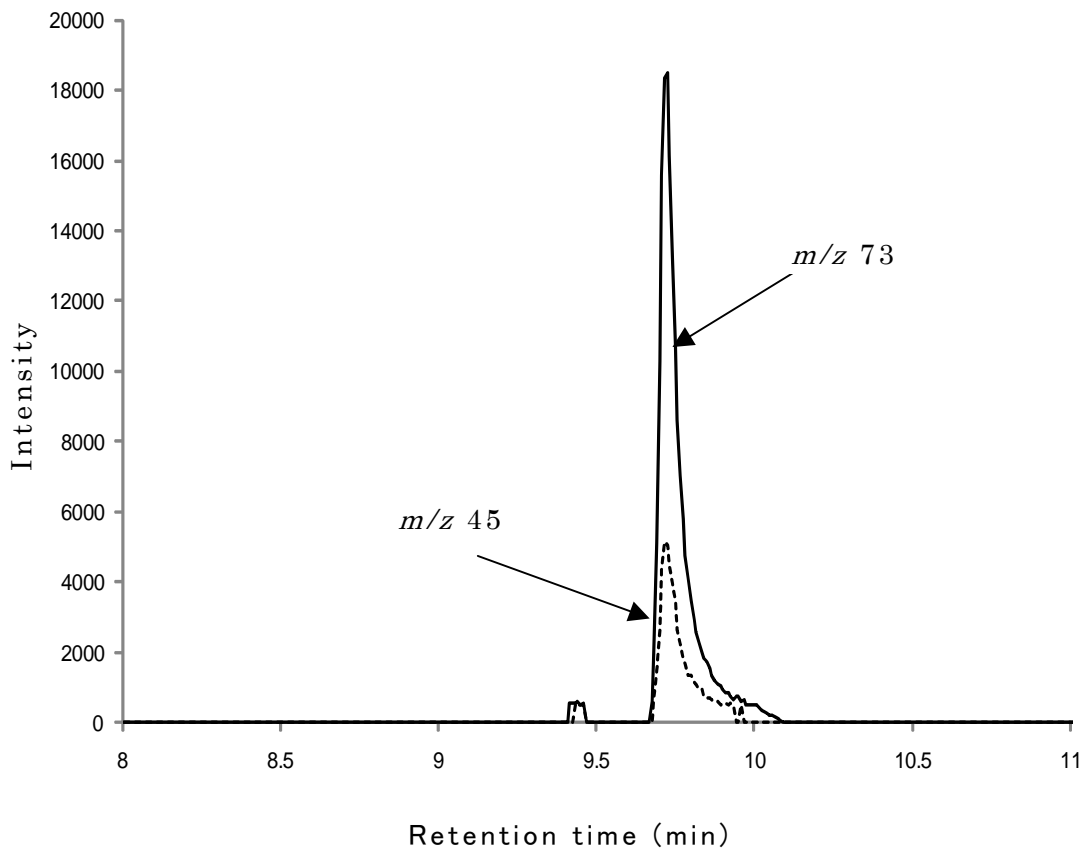


Fig. 1 Mass chromatogram of MITC

#### 4.1.3.2 加熱分解条件

メタム、ダゾメットは、熱分解だけでなく、水溶液中で速やかに MITC へ分解することが知られている。そのため、分析中に一部が分解し、測定が困難である。このため、メタム、ダゾメットを MITC へ完全に分解することが必要である。加熱時の MITC へ分解に要する時間を検討した。

ダゾメットとメタムの各保存溶液(100  $\mu\text{g/L}$ )は、メタノール溶液中では1日で分解したため、アセトン溶液へ溶解を試みた。ダゾメットはアセトン溶液が調整できたが、メタムはアセトンに溶解しなかったため、メタノール溶液とし、用事調製とした。

メタム、ダゾメット、それぞれ 10  $\mu\text{L}$  を 10 mL の 10%塩化ナトリウム溶液中へ添加し、アルミシールで密封した。このバイアルを、熱湯

をいれたビーカーにいれ、ヒーターで加熱した。加熱時間を 0、20、40、60、80 分とし、HS-GC/MS で MITC を測定した。検出された MITC はダゾメットとメタムが分解して生成したとした時の分解率を Fig. 2 に示す。40 分間加熱することでダゾメットが 84%、メタムが 72% 分解したことに相当する MITC が検出された。加熱時間を長くすると若干分解効率が低くなる傾向にあった。これは加熱による分解で生じた MITC が、さらに分解されている可能性を示している。

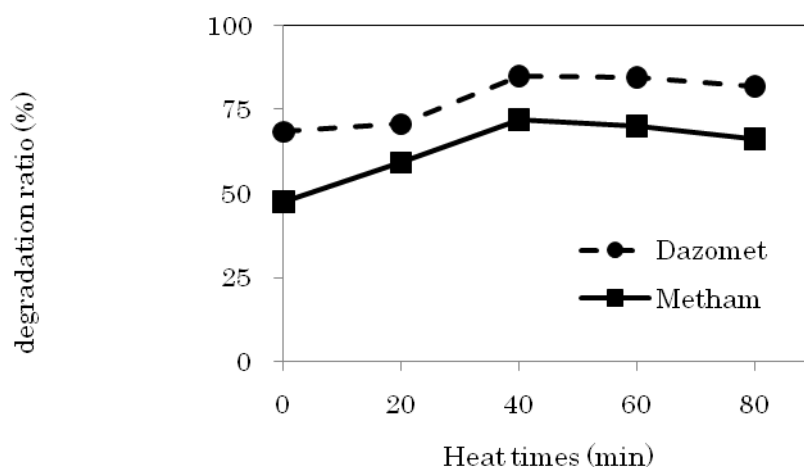


Fig. 2 The efficiency of degradation to MITC by heating times

そこで、加熱時間を長くした場合の MITC の検出率に関して実験を行った。10%塩化ナトリウム水溶液 10 mL に 100  $\mu\text{g/L}$  の MITC を添加して 40、80、120 分間加熱した。Fig. 3 に検出率を示す。40 分間の加熱では、99%を検出し、MITC の分解はないと考えられたが、加熱を続けることで損出が生じていた。このことより、ダゾメットとメタムの MITC への分解において、40 分間以上の分解は、生じた MITC が損失する可能性があるため、加熱時間は 40 分間とした。

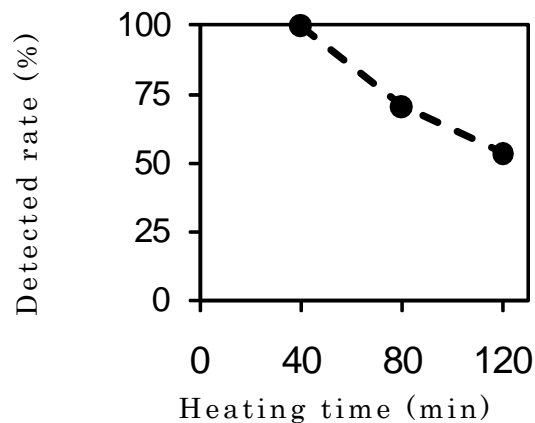


Fig.3 Detected rate (%) about a loss of MITC by heating times

#### 4.1.3.3 実試料の分析

食用塩の実試料として、塩事業センターの販売する「食塩 1 kg」を試料として測定した。メタム、ダゾメット、もしくは MITC の保存溶液(100 mg/L)を 1  $\mu$ L 添加した「食塩 1 kg」1 g を試料とし、標準分析法に従って分析し、回収率を求めた。各農薬の回収率は、MITC  $92 \pm 3\%$ 、ダゾメット  $78 \pm 16\%$ 、メタム  $79 \pm 5\%$ であった。ダゾメットは、MITC とメタムと比較して変動係数が大きかったが、実試料において、十分に分析できることが確認できた。

#### 4.1.4 結言

メタム類であるメタム、ダゾメット、メチルイソチオシアネートは、GC 測定において注入口における熱で、容易に分解するため測定が困難な物質である。メタム、ダゾメットは、分解するとメチルイソチオシアネートとなるため前処理において熱分解し、すべてをメチルイソチオシアネートとし、さらに分解物をヘッドスペース法により直接 GC/MS に導入し、分析する方法を開発した。実試料として、塩事業センターが販売する「食塩 1 kg」に各物質を添加して回収試験を行い、MITC  $92 \pm 3\%$ 、ダゾメット  $78 \pm 16\%$ 、メタム  $79 \pm 5\%$ であり、回収率 70% 以上、相対変動係数 20%以下の結果であった。

本方法により、メタム類 3 種類の農薬について、分別して検出することはできないが、MITC として定量することで、塩事業センターが

選定した、食用塩に対する安全性を確認するための農薬等 116 項目 162 物質のうち、1 項目 3 物質の分析が可能となった。

## 4.2 ジチオカーバメート類分析法（個別分析法）

### 4.2.1 緒言

ジチオカーバメート類は、フェルバム、マンゼブ、マネブ、メチラム、ポリカーボネート、プロピネブ、チウラム、ジネブ、ジラム、ニッケルビスジチオカーバメートの総称で、ジチオカルバミン酸 ( $\text{H}_2\text{N-CS-SH}$ ) の構造を持つ殺菌剤である<sup>7-10)</sup>。

エレクトロスプレーイオン化法を使用した質量分析計では、チウラム、ジラム、ジネブはマススペクトルが測定できたが、その他の物質は測定できなかった(3 章参照)。環境省が公示している分析法<sup>11,12)</sup>では、ジチオカーバメート類は金属とジチオカルバミン酸が錯形成している構造であるため、EDTA水溶液に溶解することで、錯形成を解離させ、遊離したジチオカルバミン酸をヨウ化メチルでメチル化して測定している。この方法では、配位子の種類により、ジメチルジチオカルバミン酸、ジエチルジチオカルバミン酸、ジプロピルジチオカルバミン酸に分別して分析できる。しかし、メチラムはジメチルジチオカルバミン酸の亜鉛錯体だが、ポリマーであるため誘導体化せず、環境省が公示している方法では分析できない<sup>11)</sup>。その他にも原子吸光光度計を用いる方法<sup>13)</sup>、ダンシル化してデンストメーターで測定する方法<sup>14)</sup>などが報告されている。

分析法としては、これら 10 物質を全て分別して分析できる方法が最も望ましいが、困難であるため、環境省告示 46 号で指定されている分析法<sup>15)</sup>を参考に検討した。この方法は、熱塩酸で試料を分解し、生じた二硫化炭素を液体酸素で冷却した濃縮管に捕集し、炎光光度型検出器(FPD)付きガスクロマトグラフで測定する方法である。この方法では、塩酸加水分解により二硫化炭素を生成する物質をすべて量り込んでしまうという欠点がある。しかし、食用塩中にこのような物質がマトリクスに存在する可能性が少ないため、二硫化炭素まで分解する方法でも、バックグラウンドが高くなるような現象は避けられると

予想された。しかし、熱塩酸により分解を行うため、分析操作に危険性を有するため、改良が必要であると考えられた。

そこで、バイアル内で分解操作を行い、発生した二硫化炭素を直接GC/MSで測定するためにヘッドスペース法(HS)を用いることを検討した。この操作では、直接熱塩酸に暴露されることなく試験を行えるため安全な作業が期待できる。

このヘッドスペース法を使用したジチオカーバメート類の分析法を開発した。

## 4.2.2 装置と試薬

### 4.2.2.1 試薬

フェルバム、マンゼブ、マネブ、メチラム、ポリカーボネート、プロピネブ、ジネブ、ジラムは Dr. Ehrenstorfer 製を使用した。チウラムは和光純薬工業製を、ニッケルビスジチオカーバメートは東京化成製を使用した。水はミリポア製ミリ Q 水を使用し、その他の試薬は和光純薬工業製の特級を使用した。

ジチオカーバメート類はチウラムを除き水、有機溶媒に不溶であるため、懸濁状態で標準溶液を調製<sup>11)</sup>するのが一般的である。木船らはアルカリ性EDTA溶液で溶解した場合に、キレートしている金属を補足するとともにジチオカーバメート類の配位子をナトリウム塩として水溶性物質へ変換できると報告<sup>16)</sup>している。そこで、水酸化ナトリウムによりpHを約10に調整した10%EDTA水溶液100 mLで、フェルバム、ジネブ、ジラム、ポリカーバメート、プロピネブを各10.0 mgを溶解し、標準溶液とした。本溶液は用事調製とした。また、EDTAによっても溶解しない、マンネブ、マンゼブ、ニッケルビスジメチルジチオカーバメート、フェルバムは、ピリジンで溶解し、アセトニトリルで希釈した。さらに、EDTA、ピリジンでも溶解しないメチラムに対しては、水酸化ナトリウムでpHを10に調整した10%EDTAにL-システイン1 gを溶解した100 mLで溶解した。チウラムはアセトニトリル100 mLで溶解した。これらの各100 mg/Lの溶液を保存溶液とした。標準溶液である二硫化炭素は、100 mLのアセトンに10 µLを添加して調製した。



#### 4.2.2.2 装置

GC/MSは島津製GCMS-QP2010を使用し、ヘッドスペースサンプラー(パーキンエルマー製TM-40)をオンラインで接続した。GC条件は、カラムはアジレント製DB624(50 m×0.53 mm内径、0.32 μm液相)を、初期設定温度40℃とし、毎分20℃の割合で200℃まで昇温した。質量分析条件は、選択イオンモニタリングモードで $m/z$  76( $CS_2$ の分子量)を定量イオンとして、 $m/z$  44( $CS$ のフラグメントイオン)を参照イオンとして検出した。

HS条件は、保温温度80℃(試験条件60℃、100℃)、保温時間10分、注入および加圧時間2分とした。

#### 4.2.2.3 HS条件の検討

HS用バイアルに10%塩化ナトリウム10 mLを入れ、アセトンにより100 μL/Lに調製した二硫化炭素を10 μL添加した。これをアルミシールにより密封し、HS-GC/MSにより測定した。なお、検量線作成においては、二硫化炭素の添加量により、濃度を調製した。

#### 4.2.2.4 分解率の検討

ジチオカーバメート類保存溶液(100 mg/L)を10 μL添加した1 gの塩化ナトリウムをHS用バイアルに入れ、1M塩酸水溶液を10 mLで溶解した。還元剤を添加する場合には、さらに塩化スズを0.2 g添加した。アルミシールにより密封後、加熱する場合には、湯せんにより30分、もしくは60分間加熱した。放冷後、HS-GC/MSにより測定した。

#### 4.2.2.5 標準分析法

1gの食用塩を10.0mLの1M塩酸水溶液で溶解した。塩化スズ0.2 gを添加し、これをアルミシールにより密封してから、100℃で30分間加熱した。放冷後、HS-GC/MSにより測定した。

### 4.2.3 結果と考察

#### 4.2.3.1 HS条件の検討

100  $\mu\text{L/L}$  の二硫化炭素を 10  $\mu\text{L}$  添加した 10%塩化ナトリウム水溶液 10.0 mL を調製し、HS での保温温度を 60, 80 $^{\circ}\text{C}$  とした時に検出されたピーク面積を比較した (Table 2)。二硫化炭素の沸点は 46 $^{\circ}\text{C}$  であるため 60 $^{\circ}\text{C}$  で加温することで、十分にヘッドスペースへ移動できると予想した。結果としてピーク面積は、80 $^{\circ}\text{C}$  で 60 $^{\circ}\text{C}$  でのピーク面積よりも 2 倍以上の値となった。また、100 $^{\circ}\text{C}$  以上では、水が蒸発し GC へ注入されてしまい、カラムへ影響しベースラインが安定せず、ピークを検出することが困難であった。以後、HS でのサンプル加熱温度は 80 $^{\circ}\text{C}$  とした。

Table 2 condition of head space sampler

heat temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	peak area
60	111464
80	284047

この条件で、二硫化炭素の検量線を作成し、得られた GC/MS でのピークの S/N が 10 となる濃度を求めたところ、0.0001 mg/L であった。10 nL/L の二硫化炭素のマスキロマトグラムを Fig. 4 に示す。

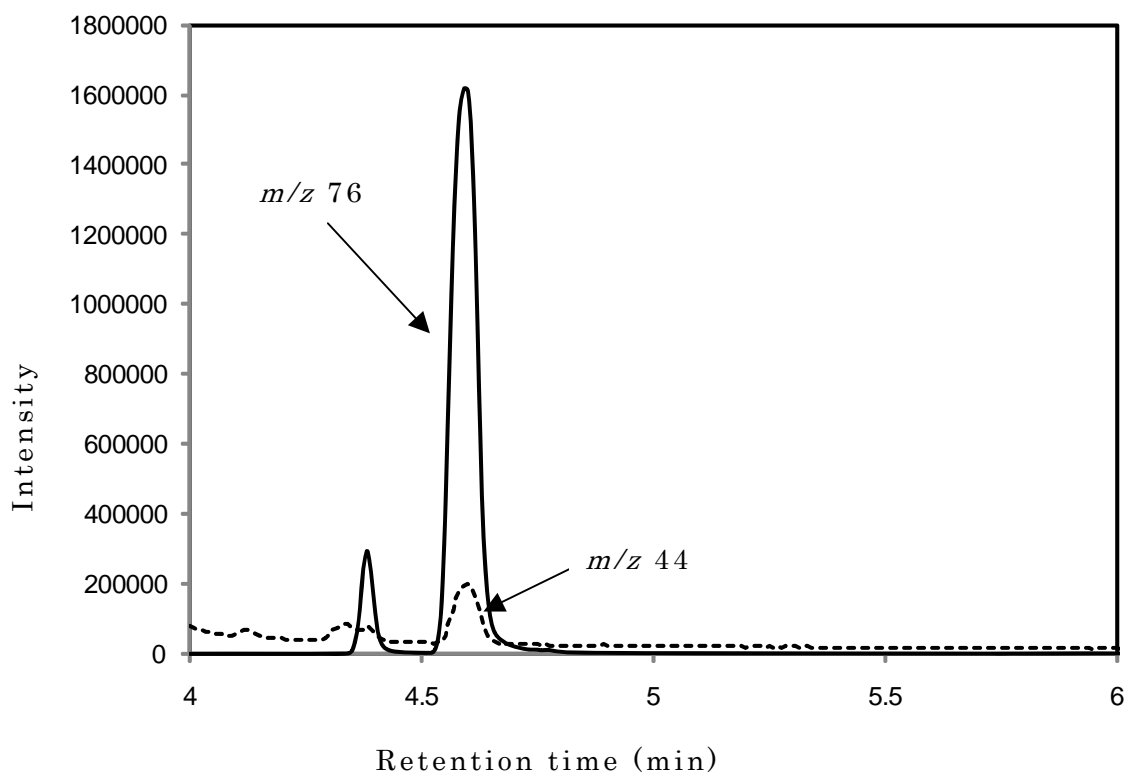


Fig. 4 Mass chromatogram of carbon disulfide

#### 4.2.3.2 分解条件の検討

バイアル内での分解条件を検討するため、ジチオカーバメート類のうち、ジネブ、ジラム、プロピネブ、ポリカーバメートの4物質をアルカリ性とした10%EDTA溶液で溶解した。

ジチオカーバメート類は、酸性条件化で分解する。まず、4.2.2.4で示した検討条件の、塩酸のみの効果を検討した。100 mg/Lに調製した4種類の農薬10 μLを1 g塩化ナトリウムに添加し、1 M塩酸水溶液10 mLで溶解した。室温で1時間放置し、HS-GC/MSで測定した。また、塩酸水溶液で溶解した10mLの試料溶液を密閉後、30分、1時間煮沸した。結果をFig. 5に示す。

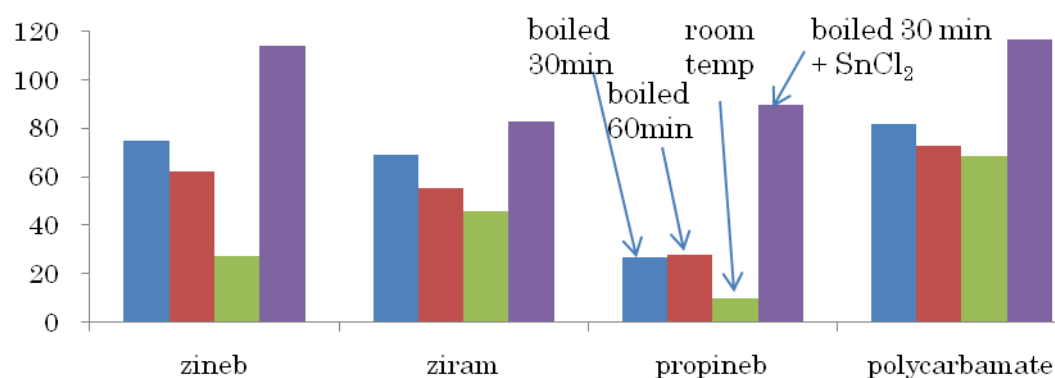


Fig. 5 Degradation ratio of dithiocarbamates by HCl

室温と比較して、加熱することにより、二硫化炭素への分解が進んでいることが分かった。しかし、60分間加熱した場合、30分間の加熱よりも検出率が小さくなっていった。これは、60分間の加熱により、二硫化炭素の分解等の損失が起きるために、30分間加熱する条件よりも検出される二硫化炭素が少なくなったと考えられた。

また、Fig. 5でのプロピネブについて、30分間の塩酸水溶液中での加熱でも、分解率が40%以下であった。そこで、分解効率を向上させるため、試料溶液に還元剤として塩化(第一)スズを添加して30分間煮沸した。塩化スズの添加量は0.2 gとした。この時の分解率(Fig. 5)はジネブ72%、ジラム83%、プロピネブ89%、ポリカーボネートが116%となり、十分に分解されていた。よって、HSバイアルへ、塩酸、塩化スズを添加して密閉し、30分間加熱した試料を分析試料としてHS-GC/MSで測定する方法を標準分析法とした。

#### 4.2.3.3 苦汁の影響

市販されている食用塩には苦汁成分が含まれている場合がある。苦汁成分の主な成分は、マグネシウムやカルシウムである。ジチオカーバメート類は錯体であるため、これら金属成分が分解に影響する可能性について検討した。

標準分析法における塩試料(塩化ナトリウム)を塩化マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化カルシウムに変更して分析した。結果をFig. 6に示す。試料を苦汁成分であるカルシウムやマグネシウムへ変更して

も本方法による分解効率は、すべて 90%以上であり、反応への影響は無視できると考えられた。

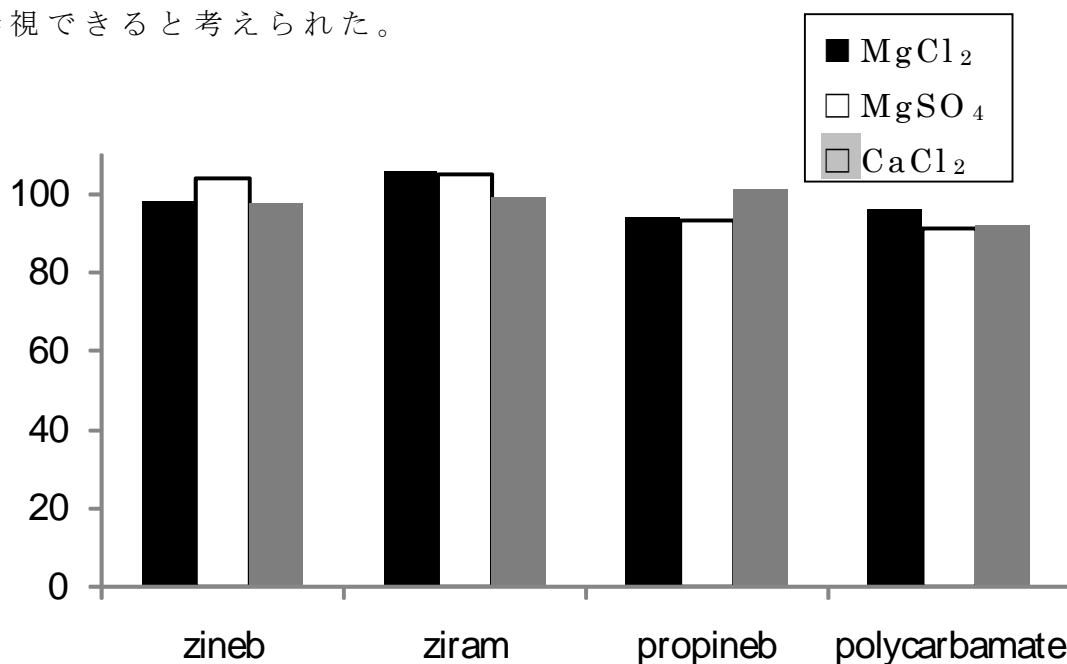


Fig. 6 Effect by bitterns to the degradation rates of the dithiocarbamates

#### 4.2.3.4 実試料への添加試験

試薬塩化ナトリウムと実試料として、塩事業センターが販売する「食塩 1kg」を用いて、ジチオカーバメート類 10 物質を添加した試料を調製し、標準分析法により分析した。結果を Fig. 7 に示す。試薬の塩化ナトリウム(純度 99%以上)では、ジチオカーバメート類すべての物質で、70%以上の回収率が得られた。一方、食塩 1kg を使用した試験でも、良好な回収率が得られ、その変動係数は 5%以下であった。このことより、本分析法は、ジチオカーバメート類の分析に適用できることが示唆された。

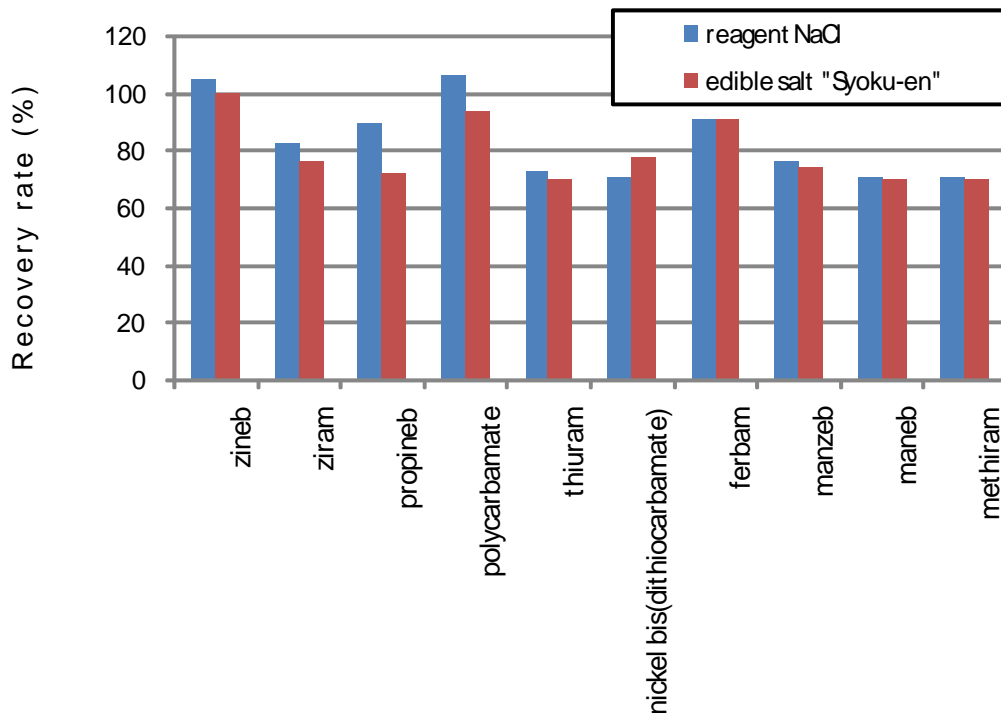


Fig. 7 Recovery rates of dithiocarbamates with spike tests for reagent and Syoku-en

#### 4.2.4. 結言

LC/MS で分析が困難なジチオカーバメート類をバイアル内で塩酸酸性化塩化スズにより分解し、分解物である二硫化炭素をヘッドスペース法により GC/MS へ直接導入して測定する方法を開発した。「食塩 1 kg」への添加試験を行ったところ、回収率 70%以上、相対変動係数 5%以下の結果であった。本方法により、分別定量できないものの、塩事業センターが選定した、食用塩に対する安全性を確認するための農薬等 116 項目 162 物質のうち、ジチオカーバメート類について 1 項目 10 物質の分析が可能となった。

文献

- 1) B. Warton, J. N. Matthiessen, "The crucial role of calcium interacting with soil pH in enhanced biodegradation of metam-sodium", *Pest Manag. Sci.*, **61**, 856-862 (2005)
- 2) BASF Japan Ltd., "Summaries of Toxicity Studies on Dazomet", *J. Pesticide Sci.*, **17**, S327-S335 (1992)
- 3) E. Erçağ, A. Erçağ, R. Apak, "Spectrophotometric determination of the soil fumigant: dazomet with copper(II)-neocuproine reagent", *Anal. Chim. Acta*, **505**, 95-100 (2004)
- 4) R. S. Dungan, J. Gan, S. R. Yates, "ACCELERATED DEGRADATION OF METHYL ISOTHIOCYANATE IN SOIL", *Water, Air, and Soil Pollution*, **142**, 299-310 (2003)
- 5) N. Shiga, O. Matano, S. Goto, "A Method for Determination of Dazomet Residues in Crops by High Performance Liquid Chromatography", *J. Pesticide Sci.*, **7**, 357-362 (1982)
- 6) 厚生労働省, "ダゾメット、メタム及びメチルイソチオシアネート試験法", 医薬食品局通知, 第 0124001 号
- 7) 米山, "ジチオカーバメート系殺菌剤の作用点と作用機構", 日本農薬学会誌, **6**, 452-453 (1981)
- 8) 大内新興化学工業株式会社東京第 2 営業部, "ジラムの毒性試験の概要", 日本農薬学会誌, **17**, S155-158 (1992)
- 9) 大内新興化学工業株式会社, "チウラムの毒性試験の概要", 日本農薬学会誌, **15**, 507-510 (1990)
- 10) H. Kumagai, C. Kiyohara, S. Komiyama, Y. Guo, S. Hirose, Y. Ichikawa, J. Endo, H. Ikari, "Absorption, Translocation and Metabolism of Polycarbamate, a Dithiocarbamate Fungicide, in Kidney Bean Seedlings", *J. Pesticide Sci.*, **16**, 641-649 (1991)
- 11) 環境庁水質保全局土壌農薬課, "農薬等の環境残留実態調査分析法", 平成 11 年 10 月, 52-57 (1999)
- 12) K. H. Gustafsson, R. A. Thompson, "High-Pressure Liquid Chromatographic Determination of Fungicidal Dithiocarbamates", *J. Agric. Food Chem.*, **29**, 729-732 (1981)

- 13) R. J. Cassella, V. A. Salim, S. Garrigues, R. E. Santelli, M. Guardia, "Flow Injection/Atomic Absorption Spectrometric Determination of Zineb in Commercial Formulations of Pesticide Based on Slurry Sampling", *Anal. Sci.*, **18**, 1253-1256 (2002)
- 14) 宇野、陰地、農澤、中平、谷川, "プロピネブとプロピレンチオウレアの農作物残留分析法", *食衛誌*, **24**, 201-206 (1983)
- 15) 牧野、柏平、桐田、渡部, "低温濃縮-ガスクロマトグラフ法によるジチオカルバマート系殺菌剤の定量法", *分析化学*, **31**, 417-422 (1982)
- 16) 木船、東阪、中村、前川, "高速液体クロマトグラフィーによる農産物中のジチオカーバメート系農薬の迅速分析法", *食衛誌*, **36**, 244-251 (1995)



## 第 5 章

# LC/MS による塩中の残留農薬等 の個別分析法



## 第 5 章 LC/MS による塩中の残留農薬等の個別分析法

本章では、3 章での LC/MS による一斉分析法において分析が出来なかった物質について、個別分析法の検討を行った。イミノクタジン類、ジクワット、メソミルオキシムは、ガラス容器を用いることにより、容器壁面等への吸着が懸念される物質群であった。また、LC/MS による一斉分析法で用いたオクタデシル基を有するシリカゲル担体での分析カラム(ODS)では、分離が困難である物質群である、グリホサート類、グルホシネート類、ホセチル類は、イオン性の有機リン系農薬物質群であった。本検討では、これら二つの物質について個別分析を検討した。

### 5.1 イミノクタジン系分析法（個別分析法）

#### 5.1.1 緒言

イミノクタジンは、その塩類も含めて、イミノクタジン、イミノクタジン三酢酸塩、イミノクタジンアルベシル酸塩の 3 種類の農薬で構成され、殺菌剤、防かび剤、防汚染剤として用いられている<sup>1)</sup> グアニジノ基を有する農薬であり、アルカリ性では解離が抑えられ容器等へ吸着する。また、難揮発性物質であるため、GCでは直接分析できず、誘導体化が必要である<sup>2)</sup>。誘導体化操作をLCオンラインで行える方法として、ニンヒドリン反応によるポストカラム蛍光誘導体化が開発された<sup>3,4)</sup>。しかし、誘導体化が必要なこと、反応液がアルカリ性であるため、機器への負荷があること等から、LC/MSでの分析法<sup>5-8)</sup>が開発されている。

一方、ジクワットは、アルカリ性条件下で錯体を形成し、容器表面への相互作用的な吸着が起きる<sup>9)</sup>。また、イミノクタジンと同様に、GCでの直接分析が行えず、水素化ホウ素ナトリウムと塩化ニッケルによる還元による誘導体化が必要であった<sup>10)</sup>。しかし、近年LC/MSにより誘導体化を行わずに測定する方法が検討されている<sup>11)</sup>。

さらにLC/MS一斉分析法を開発した時に、ポリマー系固相抽出カラムでの回収が行えなかったメソミルオキシムは、メソミルの分解物であるが、容器等への吸着が懸念されている<sup>12)</sup>。

本研究では、イミノクタジン類、ジクワット、メソミルオキシムが LC/MS での測定が必要であること、容器への吸着が懸念される物質であることから、これらをイミノクタジン系という名称でグループ化して分析する方法を検討した。

## 5.1.2 方法

### 5.1.2.1 装置

LC/MS は、Waters 製 ACQUITY + TQD を使用した。分析カラムは、Waters 製 BEH HILIC (2.1 mm × 50 mm, 粒子径 1.7 μm) を使用した。移動相は、0.1%ギ酸含有 125 mM ギ酸アンモニウム/アセトニトリル (2:8)を毎分 0.5 mL で流した。スキャンモードでは、 $m/z$  50 から 400 を 0.25 秒でモニターした。選択イオンモニタリング (SIM) モードでは、イミノクタジンは、 $m/z$  356.5 を、ジクワットは  $m/z$  183.1、メソミルオキシムは  $m/z$  106.2 をモニターした。

固相抽出カラムは、GLサイエンス製 INERTSEP CBA、PLS-2、Waters 製 WCX を検討した。コンディショニングは、メタノール、水の順で 5 mL ずつ通過させた。

### 5.1.2.2 試薬

イミノクタジン三酢酸塩、メソミルオキシムは、Dr. Ehrenstofer 製を使用し、ジクワット二臭化物塩は和光純薬工業製を使用した。アセトニトリルはハネウエル製 LC 用を使用し、その他の試薬は和光純薬工業製の特級を用いた。水はミリポア製 MilliQ 水を使用した。

### 5.1.2.3 固相抽出条件の検討

ポリプロピレン製 (PP) 容器を用いて、試料 5 g を 100 mL の水で溶解し、イミノクタジン三酢酸塩、ジクワット、メソミルオキシムを各 1 mg/L の濃度になるように混合したメタノール溶液を 1 mL 添加した。この溶液をコンディショニングした CBA、PLS-2、WCX へ通液した後、固相抽出カラムに空気を吸引して脱水した。溶離液として 1 M ギ酸含有メタノール、もしくはアセトニトリルの 5 mL を通液し、得られた溶出液は、PP 製試験管に捕集し、窒素でパージして 2 mL に定容した後 LC/MS で測定した。

#### 5.1.2.4 標準分析方法

試料 0.5 g を 10 mL の水により PP 製容器で溶解した。メタノール、水(各 5 mL)の順でコンディショニングした PLS-2 と WCX を直列接続した固相抽出カラムへ通液し、30 分間吸引して脱水後、1 M ギ酸含有メタノール 5 mL で溶出した。溶出液は、PP 製試験管に採取し、窒素パーズにより 0.5 mL へ定容し、LC/MS で測定した。

#### 5.1.3. 結果と考察

##### 5.1.3.1 LC/MS による測定

イミノクタジンとジクワットを誘導体化せずに測定するため、LC/MS による測定条件を検討した。一般的に LC/MS の測定では、分離カラムとしてオクタデシル基を修飾したシリカゲル系カラムを使用する逆相クロマトグラフィーが用いられる。しかし、イミノクタジン、ジクワットはイオン性の物質である。アルカリ性の移動相を使用することにより、解離を抑えることにより、イオン性を抑制することにより、逆相クロマトグラフィーで分離することが考えられるが、通常のシリカゲル系カラムでは、アルカリ性では耐久性がなく、適用が困難である。そこで、近年、開発されている親水性相互作用クロマトグラフィー(HILIC)カラムを検討した。HILIC は、順相クロマトグラフィーの分離モードに対して、移動相に水を加えることにより、カラム表面に形成された水和相に対して移動相との間で起こる分配を利用している。よって、対象物質が極性物質であると保持が強くなり、極性が少ないと保持が弱くなる。物質の保持順序に対しては順相と同様になるが、移動相に水が存在すること、親水性物質を排除するような分配方式でないことから、逆相系の移動相、試料溶液を使用することができるため、逆-逆相といわれることもある。この HILIC カラムによる LC 分離を検討した。

移動相としてアセトニトリル、125 mM ギ酸アンモニウム 8:2 混合溶液を用いた。イミノクタジンの保持時間が死容量であったため、1%ギ酸を 125 mM ギ酸アンモニウムに 10%混合させ pH を 3.5 とした。この溶液とアセトニトリルを 2:8 で混合した移動相を使用したところ、0.01 mg/L の各標準溶液について Fig. 1 のクロマトグラムが得られた。ジク

ワットのピークが少しブロードであるが十分な分離が得られた。それぞれのマススペクトルより、定量用のモニターイオンをメソミルオキシムは  $m/z$  106.2、イミノクタジンは  $m/z$  356.3、ジクワットは  $m/z$  183.2 とした。これらのモニターイオンを使用して SIM 法で検量線を作成した。S/N=10 となる濃度はイミノクタジン 0.26  $\mu\text{g/L}$ 、ジクワット 0.3  $\mu\text{g/L}$ 、メソミルオキシム 5  $\mu\text{g/L}$  であった。標準分析法の定量下限は 0.01 mg/kg とした。

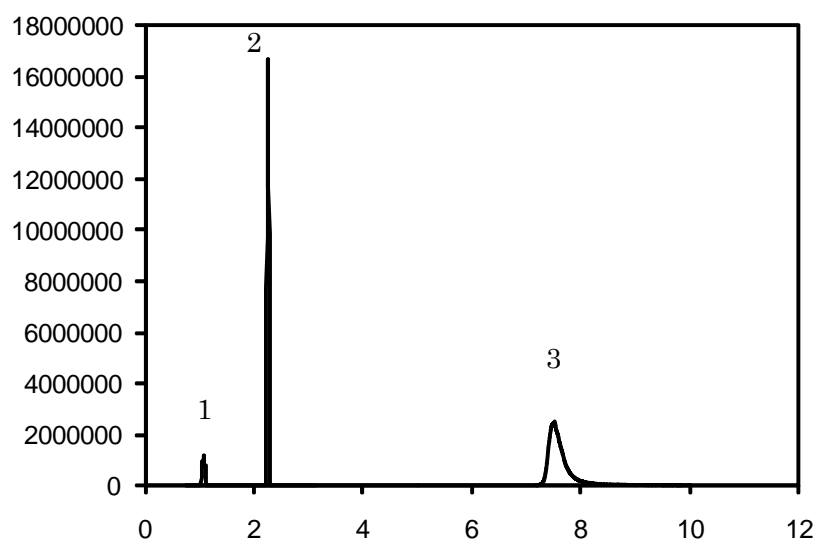


Fig. 1 Chromatogram of target analytes by LC/MS

1. mesomyl-oxime
2. iminoctadine
3. diquat

#### 5.1.3.2 固相抽出による回収率の検討

我々は既報<sup>12)</sup>、LC/MSによる一斉分析法の開発において、イミノクタジン類、メソミルオキシムの分析を検討した。10 gの塩試料を100 mLの水に溶解し、メタクリレート系ポリマー固相抽出カラムで抽出した。アセトニトリルで溶出してLC/MSで測定した。試料溶液を酸性(pH3.5)に調整したところ、回収率はイミノクタジンが42%、メソミルオキシム20%であり十分な結果が得られなかった。回収率が低い原因は、ガラス容器等の壁面への吸着による損失であると予想した。

イミノクタジン系の農薬は、ガラス壁面に吸着すると報告<sup>13)</sup>されている。また、ガラス、テフロン製容器と比較してポリプロピレン製(PP)容器への吸着が少ないことが報告されているため、試料をPP容器で調製し、固相抽出カラムにおける抽出を検討した。検討した固相抽出カラムはCBAとWCX、PLS-2で、CBA、WCXは弱イオン交換カラムであり、PLS-2は逆相カラムである。イミノクタジン系農薬3物質0.1 mg/Lを10%塩化ナトリウム溶液に添加し、固相抽出カラムで処理し、溶出液をアセトニトリルと1 Mギ酸含有メタノール溶液としたときに得られた回収率をFig. 2に示す。

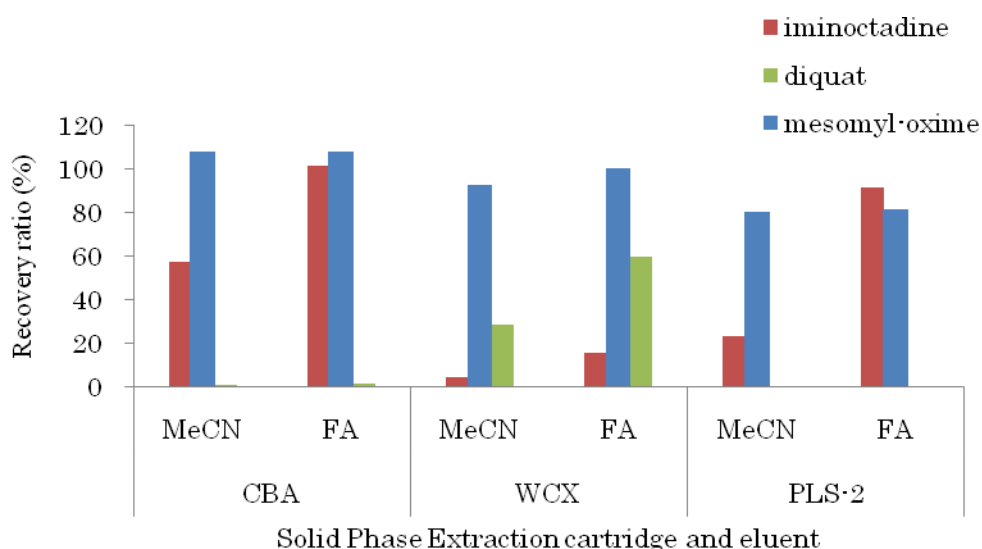


Fig. 2 Recovery rate by each Solid Phase Extraction cartridge and eluent  
 MeCN: Acetonitrile  
 FA: 1 M Formic Acid / Methanol

メソミルオキシムは、すべての固相抽出カラムで抽出され、溶離液の違いによる抽出効率の差は、アセトニトリル、1 Mギ酸含有メタノールでは検出されなかった。このことは、メソミルオキシムは、逆相的な吸着作用により抽出され、有機溶媒で溶出することで回収することが可能な物質であり、容器等をPP製にすることで試験器具等への吸着を防止するだけで、効率的な抽出が行えたと考えられた。イミノクタジンはCBAとPLS-2で回収され、その溶離液は1 Mギ酸含有メタノールが適していた。このことは、抽出されたイミノクタジンは酸性条件でイオン化するために、溶出が効率的になると考えられた。ま

た、PLS-2 カラムは、3 章での LC/MS での一斉分析法の試験と比較して、固相抽出カラムの性質は変化していないにもかかわらず、90%の回収率となったのは、容器等を PP 製へ変更した効果であると考えられた。ジクワットは WCX で 60%の回収率であるが、他の CBA、PLS-2 では回収されなかった。弱イオン交換カラムである WCX で抽出されたことは、ジクワットは pKa が 10 であり、中性ではイオン状態になっているためにイオン交換作用により抽出されたと考えられる。一方で、同様の弱イオン交換カラムである CBA では抽出できていないのは、WCX がポリマー基材にイオン交換基を導入しているために、逆相作用とイオン交換作用が相補的に作用しているため、イオン交換作用のみである CBA では抽出できなかったと考えられた。塩試料を溶解した溶液は塩濃度の影響が考えられるため、CBA を選択せず、固相抽出カラムとしては WCX 及び PLS-2 を選択した。溶離液はギ酸含有メタノールとした。

次に、回収率が 70%以下であったジクワットについて検討した。2 章及び 3 章での試験では、試料水溶液中の塩化ナトリウム濃度を 10%として検討しているが、本検討で使用する固相抽出カラム WCX は、イオン交換作用を有することから、塩濃度がイオン交換作用に影響すると考え、本実験では 5%としている。WCX におけるジクワットの回収率が 70%以下であったことは、試料水溶液中の塩量が影響していると考え、試料量を 5 g から 0.5 g へ変更すると同時に、溶解に用いる水を 10 mL とした。結果として、ジクワットは、91%の回収率となり、塩化ナトリウムの固相抽出カラムへの負荷量が回収率に影響している事が示唆された。WCX カラムを使用することによりジクワットを回収することができるようになったが、WCX カラムでは、Fig. 2 に示したように、イミノクタジンは 15%しか回収できていない。そこで、WCX の前段に PLS-2 カラムを接続し、2 種類の固相抽出カラムにより抽出することを検討した。溶出においても、2 本のカラムを接続した状態で溶離液を通液し、溶出液とした。このときの回収率を Table 1 に示す。3 種類の農薬とも高い回収率が得られ、本方法で分析できることを確認した。

Table 1 Recovery rate in 0.5 g NaCl / 10 mL water solution by solid



phase extraction, WCX + PLS-2.

	Recovery ratio (%)	RSD (%)
iminocytidine	110	9
mesomyl-oxime	98	8
diquat	89	11

#### 5.1.3.3 トリエチルアミンによる吸着の防止効果

PP 容器を試料調製に使用することで、農薬等の吸着が防げることが検討できたが、洗浄などにより生じた微小な傷による再現性への影響が心配され、PP 製容器は高価であるためディスプレイに使用できない。そこで、トリエチルアミンを使用してガラス容器の吸着点を除去することを検討した。

50 mL 容量のガラスビーカーに 10 mL の試料水溶液 (5% 塩化ナトリウム) を入れ、トリエチルアミンを 50  $\mu$ L 添加した後に 1 mg/L のイミノクタジンを 1 mL 添加して測定した。回収率は 10% 以下となり、吸着防止効果は得られなかったため、本分析法で用いることはできなかった。分析法のコスト面においては、今後の課題である。

#### 5.1.3.4 実試料の分析

標準分析法により、実試料として「食塩 1 kg」へ、0.1 mg/L のイミノクタジン、ジクワット、メソミルオキシムを添加して試験した。回収率として、イミノクタジン  $94 \pm 11\%$ 、ジクワット  $86 \pm 6\%$ 、メソミルオキシム  $92 \pm 11\%$  が得られ、十分な回収率であり、実用的な分析法であることが確認できた。

#### 5.1.4. 結言

ガラス壁面等への吸着により分析が困難な物質であるイミノクタジン類、ジクワット、メソミルオキシムを試料前処理に使用する容器をポリプロピレン製へ変更することで吸着を防止して、弱イオン交換カラムと逆相カラムを組み合わせた固相抽出を行い、HILIC を使用した LC/MS で測定する分析法を開発した。本方法を適用して実試料で

ある「食塩 1 kg」へ添加試験を行い、イミノクタジン  $94 \pm 11\%$ 、ジクワット  $86 \pm 6\%$ 、メソミルオキシム  $92 \pm 11\%$ を得た。

本方法により、塩事業センターが選定した、食用塩に対する安全性を確認するための農薬等 116 項目 162 物質のうち、3 項目 5 物質の分析が可能となった。

## 5.2 グリホサート系分析法

### 5.2.1 緒言

グリホサート類は、グリホサート、グリホサートアンモニウム塩、グリホサートイソプロピルアミン、グリホサートトリメシウム、グリホサートナトリウム塩で構成される除草剤<sup>14)</sup>である。厚生労働省の通知法では天川ら<sup>15)</sup>の開発した 9-フルオレニルメチルクロロホルマーによる誘導体化後に蛍光検出器付き HPLC で測定する方法が採用されている。その他、次亜塩素酸と反応させてアミンを生成させて、連続して 0-フタルアルデヒドを反応させるポストカラム HPLC 法<sup>16)</sup>やオルト酢酸トリメチルによる誘導体化による GC-FPD による分析法が報告<sup>17)</sup>されている。

グルホシネート類は、グルホシネート、グルホシネートアンモニウム塩とグルホシネートの代謝物である 3-メチルホスフィニコプロピオン酸(MPPA)で構成される除草剤<sup>18)</sup>である。グルホシネート類は、グリホサート類と同時に分析される方法<sup>19)</sup>や前述したオルト酢酸トリメチルによる方法<sup>17)</sup>が報告されている。また、前処理を行わずに LC/MS で分析する報告<sup>20)</sup>もある。

ホセチル類は、ホセチルと亜リン酸で構成される殺菌剤<sup>21)</sup>である。厚生労働省告示食品、添加物等の規格基準第 370 号では、透析チューブによる抽出を行いジアゾメタンによるメチル化法<sup>22)</sup>が示されている。

これら 3 種類の農薬は、既報の一斉分析法では親水性であるため水溶液からの固相抽出が困難であった物質である。すべてがリンアミノ酸系農薬であり、イオン性の農薬であることが共通しているため、グリホサート系という名称でグループ化し、同時分析法を検討した。同

時に分析する方法としては、ゴルフ場排水を対象とした報告<sup>23)</sup>、河川水を対象とした報告<sup>24)</sup>ある。いずれも陰イオン交換カラムを使用して固相抽出し、イオン交換カラムを使用したクロマトグラフィーにより分離し、質量分析計で検出している。

本研究では、これらのイオン交換カラムを用いた分析法の報告を参考として、塩を試料とした場合の塩化ナトリウムによる固相抽出カラムでの抽出効率や LC での分離等への影響について検討した。

## 5.2.2 方法

### 5.2.2.1 装置

LC/MS は、Waters 製 ACQUITY + TQD を使用し、分析カラムは、TOSOH 製 IC-AZ (2.0 mm × 150 mm, 粒子径 2.1 μm) を使用した。移動相は、125 mM ギ酸アンモニウム/アセトニトリル (9:1) を毎分 0.25 mL で流した。スキャンモードでは、 $m/z$  50 から 400 を 0.25 秒でモニターした。選択イオンモニタリング (SIM) モードでは、グルホシネートは  $m/z$  182.3、MPPA は  $m/z$  153.4 をポジティブイオンモードでモニターし、グリホサートは  $m/z$  167.9、ホセチルは  $m/z$  108.9、亜リン酸は  $m/z$  80.9 をネガティブイオンモードでモニターした。

固相抽出カラムは、Waters 製 OASIS WAX、Varian 製 PSA、SAX を比較、検討した。また、プレカラムとして、Varian 製 CBA を検討した。すべての固相抽出カラムのコンディショニングは、メタノール、水の順で 5 mL ずつ通過させて行った。

### 5.2.2.2 試薬

グリホサート、グルホシネート、MPPA は、Dr. Ehrenstofer 製を使用し、ホセチル、亜リン酸は和光純薬工業製を使用した。アセトニトリルはハネウェル製の LC 用を使用し、その他の試薬は和光純薬工業製の特級を用いた。水はミリポア製 MilliQ 水を使用した。

グリホサート、グルホシネート、ホセチル、亜リン酸は 10.0 mg を水 100 mL に溶解して 100 mg/L として保存溶液とした。MPPA は 10 mg/L の濃度のアセトニトリル溶液の状態で購入した。各保存溶液を、水で希釈して 1 mg/L (MPPA は 0.1 mg/L) に調製した。

調整苦汁は、6.7 g の塩化カルシウム、19.1 g の塩化マグネシウム、

0.01 g の硫酸マグネシウム、2.2g の塩化カリウム、2.3 g の塩化ナトリウムを 69.7 g の水に溶解して、調製した。

### 5.2.2.3 固相抽出試験

メタノール、水、各 5 mL を通液してコンディショニングした固相抽出カラムに、標準混合溶液を 1 mL 添加した 1 g の塩化ナトリウムを溶解した 20 mL の試料水溶液を通液した。固相抽出カラムは、Varian 製 Bond Elut SAX (強陰イオン交換カラム)、Varian 製 PSA (弱陰イオン交換カラム)、Waters 製 WAX (弱陰イオン交換カラム、ポリマー疎水性カラム混合)を検討した。

試料水溶液通液後、固相抽出カラムに溶離液を通液し、溶出液を窒素パージにより、濃縮して 1 mL に定容したものを LC/MS で測定した。溶離液は、SAX には 10%ギ酸メタノール溶液、PSA と WAX には 25%アンモニア水/アセトニトリル(1:9) 5 mL を使用した。

固相抽出法におけるプレカラムとして、Varian 製 Bond Elut CBA (弱陽イオン交換カラム)を SAX 陰イオン交換固相抽出カラムの前段に接続して同様の抽出試験を行った。

## 5.2.3 結果と考察

### 5.2.3.1 LC/MS による測定条件の検討

通常の LC/MS における分離カラムは移動相の質量分析計でのイオン化を考慮して、逆相系カラムが使用される。しかし、グリホサート系の農薬等はイオン性物質であるため逆相系カラムへの相互作用が少なく、保持しない。イオン性物質に対する LC においては、イオン交換クロマトグラフィーが用いられる。このイオン交換作用による分離においては、無機塩等の濃度を変化させて溶離させ、保持時間を調整する。しかし、質量分析計においては、無機塩等の不揮発性物質は、装置内部へ導入することはできない。よって、揮発性物質による pH 等の調整が必要となる。本検討ではギ酸アンモニウムを使用した。また、イオン交換カラムでは、交換容量が大きく、カラムからの溶離が困難である場合が多い。そこで、イオン交換容量の少ないイオンクロマトグラフィーに用いられる分離カラムを使用し、さらに有機溶媒を移動相に混合することが可能な分離カラムで測定を検討した。

有機溶媒を移動相として使用できるイオンクロマトグラフィー用カラムである TOSOH 製 Super IC-AP(粒子径 6  $\mu\text{m}$ 、内径 4.6 mm、長さ 75 mm)を選定した。しかし、このカラムは、カラム内径が太く、充填剤の粒子径も大きい。LC/MS での測定では、移動相の流速が 0.25 mL/min 以下であるため、1 mL/min の流速を想定した構造のカラムでは、カラム内部での拡散が生じる。そこで、同じ充填剤を粒子径 4  $\mu\text{m}$  とし、内径 2.0mm、長さ 150mm のカラムに充填した TOSOH 製 IC-AZ を用いて測定した。得られたクロマトグラフを Fig. 3 に示す。この測定においては、ポジティブイオンモードとネガティブイオンモードの測定を同時に行っている。Fig. 3 ではこれらのマスクロマトグラムを重ねて表示している。

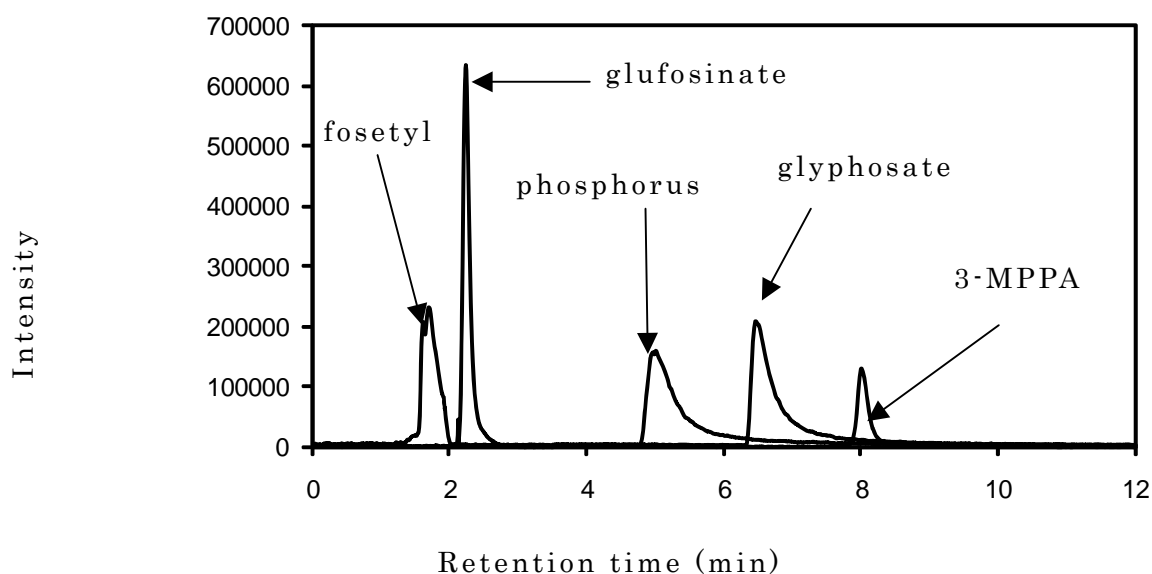


Fig. 3 Chromatogram of glyphosates by IC/MS

#### 5.2.3.2 固相抽出による回収率の検討

イオン性物質であるグリホサート系物質は、液液抽出等による無極性溶媒への抽出は困難であり、固相抽出を行う場合においても、逆相系のカラムでの抽出は困難となる。そこで、イオン交換作用による抽出を検討した。

グリホサート系物質は陰イオンであるため、イオン交換カラムとして、陰イオン交換カラムを選定した。5.2.2.3 で示した SAX、PSA、WAX の 3 種類の固相抽出カラムを検討した。検討したカラムは強陰イオン交換カラムと、弱陰イオン交換カラム 2 種類である。

抽出結果を Fig. 4 に示す。強イオン交換カラムである SAX では、50% 以上の回収率が得られたが、弱イオン交換カラムである PSA と WAX では抽出されていなかった。一般的に、弱イオン交換カラムは、試料溶液の pH を調整して、カラムへ吸着させ、溶出時に目的物質の pKa を変化させて溶出を行う。本試験では、中性付近でグリホサート系物質は、イオン形態であり、抽出されているが、2.5%アンモニウム含有のアセトニトリル溶液での溶出において、イオン形態が変化せずに溶出してこなかった、もしくは、試料水溶液が塩化ナトリウム溶液であるために、イオン交換作用そのものが阻害され、抽出されなかったことも考えられた。

これらの結果より、固相抽出カラムとしては、強陰イオン交換カラムである SAX を選択した。

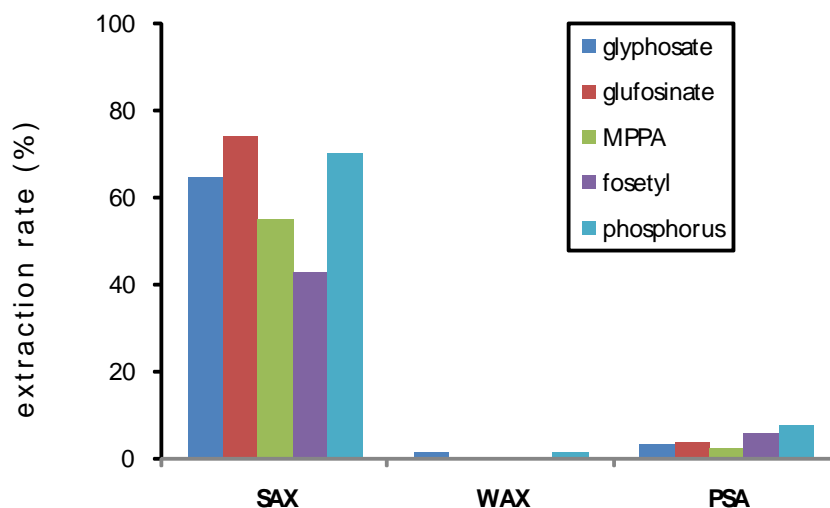


Fig. 4 Extraction rate of glyphosates

SAX: strong anion exchanger

WAX: weak anion exchanger (polymer base)

PSA: weak anion exchanger (primary-secondary amine complex)

### 5.2.3.3 SAX カラムを使用した固相抽出条件の検討

グリホサート等は、塩化ナトリウム水溶液中では、ナトリウム塩の形態で存在すると予想される。ナトリウムイオンが存在することによるグリホサート等の陰イオン交換カラムとの相互作用が、抽出効率へ影響していると考え、抽出のための陰イオン交換カラムの前段に、陽イオン交換カラムを接続することで、陽イオンを分離することを検討した。試料溶液の通液方向に対して、Varian 製 CBA(弱陽イオン交換カラム)を SAX カラムの前段に直列に接続し、グリホサート等を添加した試料水溶液を通液した。この添加回収試験の結果を Fig. 5 に示す。

CBA カラムを接続しない場合は、ホセチルの 43%からグルホシネートの 73%の範囲の回収率であったが、CBA カラムを接続することで、回収率はすべて 70%以上となり、すべての物質で若干であるが、回収率が向

上していた。

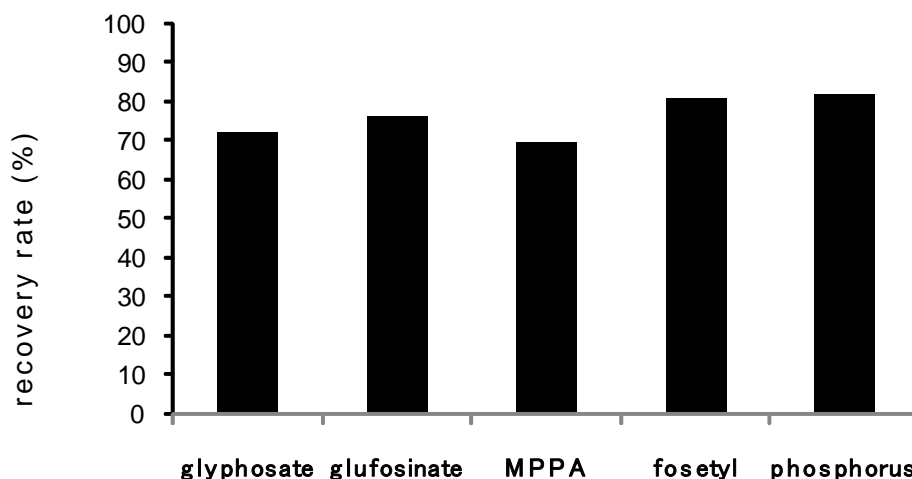


Fig. 5 Effect of recovery rate by CBA column that weak cation exchanger jointed forward to SAX column

#### 5.2.3.4 実試料への適用

近年、国内で販売されている食用塩は、苦汁成分を含む商品が多い。苦汁成分を試料とした時、試料水溶液中のマトリクス成分となるマグネシウムやカルシウムの抽出効率への影響について、調製苦汁にグリホサート等を添加して、CBA+SAXによる抽出試験を行った。

また、塩事業センターの販売する商品の中で、苦汁成分を4%含む「新家庭塩」を実試料とし、グリホサート系農薬の添加回収試験を行った。両試験の結果をTable 2に示す。

Table 2 Recovery rate (%) of glyphosates spiked to a bittern and the commercially salt, “Shin-katei-en” with method of the CBA+SAX solid phase extraction

	glyphosate	glufosinate	MPPA	fosetyl	phosphous
bittern	74 ± 11	73 ± 9	70 ± 15	78 ± 7	76 ± 9
Shin -katei-en	74 ± 11	71 ± 8	70 ± 10	73 ± 20	73 ± 7

±:relative standard deviation (%) of n=3



苦汁を試料とした場合においても、70%以上の回収率が得られ、マトリクスが、回収率へ影響することなく分析できることが示唆された。また、実試料への添加回収試験においても十分な回収率が得られ、本分析法が食用塩の分析法に適用することができることが示唆された。

#### 5.2.4. 結言

イオン性物質であるために塩濃度の高い試料から抽出、脱塩が困難な物質であるグリホサート類、グルホシネート類、ホセチル類をイオン交換カラムにより固相抽出、LCによる分離を行い、MSで検出する方法を開発した。本方法を適用して実試料である「新家庭塩」へ添加試験を行い、グリホサート 74%、グルホシネート 71%、3-メチルホスフィニコプロピオン酸 70%、ホセチル 73%、亜リン酸 73%の回収率を得た。本方法により、塩事業センターが選定した、食用塩に対する安全性を確認するための農薬等 116 項目 162 物質のうち、3 項目 10 物質の分析が可能となった。

文献

- 1) 伊藤, “HPLC によるイミノクタジン酢酸塩の直接測定法の検討”, *Chromatography*, **27**, 127-128 (2006)
- 2) H. Kobayashi, O. Matano, S. Goto, “Gas Chromatographic Determination of Guanidino Fungicide, Guazatine, in Rice Grain”, *J. Pesticide Sci.*, **2**, 427-430 (1982)
- 3) 厚生労働省告示, “イミノクタジン試験法” 平成 9 年 9 月 1 日告示
- 4) 高尾、石川、鈴木, “イミノクタジン酢酸塩のポストカラム反応蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフによる分析法の検討”, 香川県環境保健研究センター所報, **3**, 141-144 (2004)
- 5) 芝、島田, “農薬分析における前処理法の検討”, 愛媛県環境研究所年報, **7**, 52-55 (2004)
- 6) 小林, “液体クロマトグラフィー/質量分析及び液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法による残留農薬分析”, *分析化学*, **58**, 985-997 (2009)
- 7) T. Kawamoto, M. Yano, N. Makihata, “Analytical Method for determination Iminoctadine Triacetate by LC/ESI/MS Using Hydrophilic Interaction Chromatography”, *Anal. Sci.*, **22**, 489-490 (2006)
- 8) 古川, “LC/MS を用いたイミノクタジン酢酸塩分析法の検討”, 三重県環境保全事業団研究報告, **3**, 41-46 (2006)
- 9) S. Kanno, Y. Takekoshi, S. Kawase, S. Ukai, “Gas Liquid Chromatography - Mass Spectrometry of Paraquat and Diquat Reduction Products. A Reductive Cleavage of Paraquat and Diquat by  $\text{NaBH}_4$  in the Presence of a Transition Metal Salt ( $\text{Ni}^{2+}$ )”, *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 956-963 (1991)
- 10) 巻幡, 山崎, 英保, “安定同位体標識化合物を用いる固相抽出/親水性相互作用液体クロマトグラフィー/質量分析計による水試料中ジクワットの定量”, *分析化学*, **56**, 579-585 (2007)
- 11) M. Takino, S. Daishima, K. Yamaguchi, “Determination of Diquat and Paraquat in Water by Liquid Chromatography/Electrospray-Mass Spectrometry Using Volatile Ion-Pairing Reagents”, *Anal. Sci.*, **16**,

707-711 (2000)

- 12) Y. Noda, T. Asada, K. Kobayashi, "Multiresidue Analysis for Agricultural Chemicals in Edible Salts by LC/MS", 日本海水学会誌, submitted
- 13) 伊吹、梅林、兎本、青木, "イミノクタジンの固相抽出による分析の検討", 奈良県保健環境研究センター年報, **37**, 85-89 (2002)
- 14) ファーマー、脇森, "グリホサートの毒性試験の概要", 日本農薬学会誌, **25**, 343-349 (2000)
- 15) 天川、萩原、永山, "食品中に混入されたグリホサートおよびグルホシネートの迅速分析", 東京都健康安全研究センター年報, **57**, 235-238 (2006)
- 16) 吉岡、鈴木、石川、横倉、白崎, "高速液体クロマトグラフィー/ポストカラム誘導体化法を用いる河川水及び水道水中のグリホサートとその主要代謝物アミノメチルリン酸の定量", 分析化学, **55**, 177-184 (2006)
- 17) M. Tsuji, Y. Akiyama, M. Yano, "Simultaneous Determination of Glufosinate and Glyphosate in Crops", Anal. Sci., **13**, 283-285 (1997)
- 18) E. Ebert, K.H. Leist, D. Mayer, "Summary of safety evaluation toxicity studies of glufosinate ammonium", Food Chem. Toxic., **28**, 339-349 (1990)
- 19) 砺波、中村, "食品に混入した毒物等に係る迅速分析法", 石川県保健環境センター研報, **40**, 27-35 (2003)
- 20) 梶田、畠山, "LC/MS/MSによるほうれん草およびみつば中グルホシネート及び代謝物 3-メチルホスフィニコプロピオン酸の迅速分析法の検討", 岩手県環境保健研究センター年報, **9**, 平成 20 年度版報文
- 21) 日本食品衛生協会, "ホセチル", 食品衛生研究, **49**, 99-103 (1999)
- 22) 厚生労働省告示第 370 号, "食品、添加物等の規格基準", 昭和 34 年一部改正
- 23) 京都市衛生公害研究所環境部門, "ゴルフ場排水中のグリホサート、グルホシネート及びホセチルの同時分析法に関する検討",

京都市衛生公害研究所年報， 74， 平成 19 年度

- 24) 鎌田、島崎、相澤、伊藤、内田，“LC/MS を用いた水道水源における解離性有機リン系農薬とその分解物の一斉分析法の開発”，第 6 回日本水環境学会シンポジウム講演集，74-75 (2003)



## 第 6 章

# GC/MS による塩中の残留農薬等 の個別分析法

## 第 6 章 GC/MS による塩中の残留農薬等の個別分析法

本章では、2 章での GC/MS による一斉分析法において分析が出来なかった物質について、個別分析法の検討を行った。アセフェート、メタミドホス、オメトエートは、親水性が高い有機リン系の農薬であり、GC/MS の一斉分析では、固相抽出カラムによる抽出効率が悪かった物質群である。また、カルタップ類中のカルタップは、溶液中での安定性が悪く、一部が分解してしまうため、検量線を作成できないなどの定量に支障があった物質であった。本検討では、これら二つの物質群について個別分析を検討した。

### 6.1 アセフェート系の個別分析法

#### 6.1.1 緒言

アセフェートは有機リン系の殺虫剤<sup>1)</sup>で、 $\log P_{ow}$ が $-0.9$ と親水性の物質である。メタミドホスも有機リン系の殺虫剤であり、アセフェートが加水分解しても生ずる<sup>2)</sup>。この物質も $\log P_{ow}$ が $-0.8$ と親水性の物質である。オメトエートも有機リン系の殺虫剤<sup>3)</sup>で、 $\log P_{ow}$ は $-0.7$ である。これら 3 物質は親水性のため、GC/MSによる一斉分析法を開発した時(2 章参照)に、ポリマー系固相抽出カラム(Waters製PS-2)では捕集されなかった。

アセフェート、メタミドホス、オメトエートのグループ分析については、厚生労働省通知法<sup>4)</sup>や小川らの報告では<sup>5)</sup>、果物などを試料として水抽出し、無水硫酸ナトリウムで脱水し、酢酸エチルで抽出している。木口と斎藤は、ディスク型固相抽出において、ポリスチレンゲルディスクと活性炭ディスクを重ねることで抽出し、溶出液をGC/MSで分析する方法<sup>6)</sup>を報告している。また、黒澤ら<sup>7)</sup>は、充填剤を大容量(5 g)としたC18固相抽出カラムで250 mLの河川水中からアセフェートを抽出している。一方、逆相系の固相抽出カラムでは抽出ができないとする報告<sup>8)</sup>もある。活性炭カラムによる固相抽出法は、水道法<sup>9)</sup>

でも採用され、いくつかの報告<sup>10-11)</sup>もあるため活性炭による塩試料中からの抽出を検討した。

また、これらの親水性物質は、高極性であるためGC/MSにおいて、注入口などでの分解などが報告<sup>12-13)</sup>されている。これらについても検討し、塩試料中のアセフェート、メタミドホス、オメトエートのグループ分析法を開発した。

## 6.1.2 分析条件と方法

### 6.1.2.1 装置

GC/MSはVarian製450GC+320MSを使用した。カラムはVF-5msもしくはVF-17(30 m × 0.25 mm i.d., 液相厚 0.25 μm)を使用し、50℃で2分間保持した後、毎分20℃で昇温し、300℃で5分間保持した。測定試料は2 μLを注入し、質量分析計はスキャンモード、もしくは選択イオンモニタリングモード(SIM法)で測定し、アセフェートは $m/z$  135.9 (93.9)、メタミドホスは $m/z$  93.9 (140.9)、オメトエートは $m/z$  155.8 (109.9)を定量イオンとしてモニターし、カッコ内を参照イオンとした。

分析カラムの検討においては、6.1.2.2で調製した各農薬の保存溶液を混合し、各1 mg/Lにした標準混合溶液を使用して比較、検討した。

### 6.1.2.2 試薬

アセフェートは和光純薬工業製を、メタミドホス、オメトエートはDr.Ehrenstofer製を使用した。各農薬の標準品10 mgをメタノールで溶解して100 mLとし、100 mg/Lの保存溶液とした。試験時は、保存溶液を適宜希釈して使用した。

ジクロロメタン、メタノール、30%塩酸は残留農薬試験用、その他の試薬は特級の和光純薬工業製を使用した。水はMilli-Q水を使用した。

### 6.1.2.3 固相抽出条件の検討

試料10 gを水100 mLに溶解、もしくは試料1 gを水10 mLに溶解し、pHを調整する場合には硝酸(1+10)で約3.5とした。メタノール、



水の順でそれぞれ 5 mL 通過させてコンディショニングした活性炭カラム(Waters 製 AC-2)に通液し、続けて水 5 mL で洗浄した。この固相抽出カラムにポンベからの乾燥窒素を 30 分間通気(窒素加圧)し、固相抽出カラム内の水分を除去した。乾燥した固相抽出カラムには、試料溶液通液方向とは逆方向から溶離液(メタノール)を 5 mL 流した。溶出液は窒素により濃縮し、1 mL に定容し、GC/MS のスキャンモードで測定した。

### 6.1.3 結果と考察

#### 6.1.3.1 GC/MS の測定条件

対象物質とした 3 物質は、中極性物質であるため、ガスクロマトグラフィーに一般的に使用される微極性カラムでは、クロマトグラフィーにおける分離に適さない場合が予想されたため、GC における分離カラムを 5%フェニルメチルシリコン-95%メチルシリコンの微極性カラムである VF-5ms と 50%フェニルメチルシリコン-50%メチルシリコンの中極性カラムである VF-17 として測定し、ピーク形状を比較した。メタミドホスのピークについて、Fig. 1 に示す。

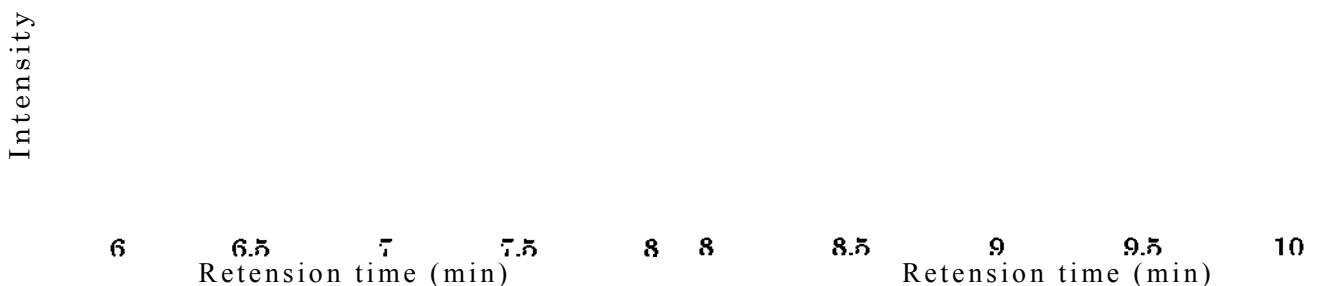


Fig. 1 Mass chromatogram of methamidophos

GC column: LEFT; VF-5ms, RIGHT; VF-17

Methamidophos was diluted to 1 mg/L by methanol

微極性カラムである VF-5ms で、ピークのテーリングがみられた。

中極性カラムである VF-17 では、若干のリーディングが見られたが、VF-5ms と比較して、より適切なピーク形状であった。ピーク形状の比較は 1 mg/L の濃度で行ったが、濃度が低くなるとリーディングは少なくなったため、GC カラムとしては、VF-17 を使用することとした。

VF-17 を使用した GC/MS におけるアセフェート、メタミドホス、オメトエートの各 1 mg/L の混合標準液のクロマトグラム(TIC)を Fig. 2 に示す。

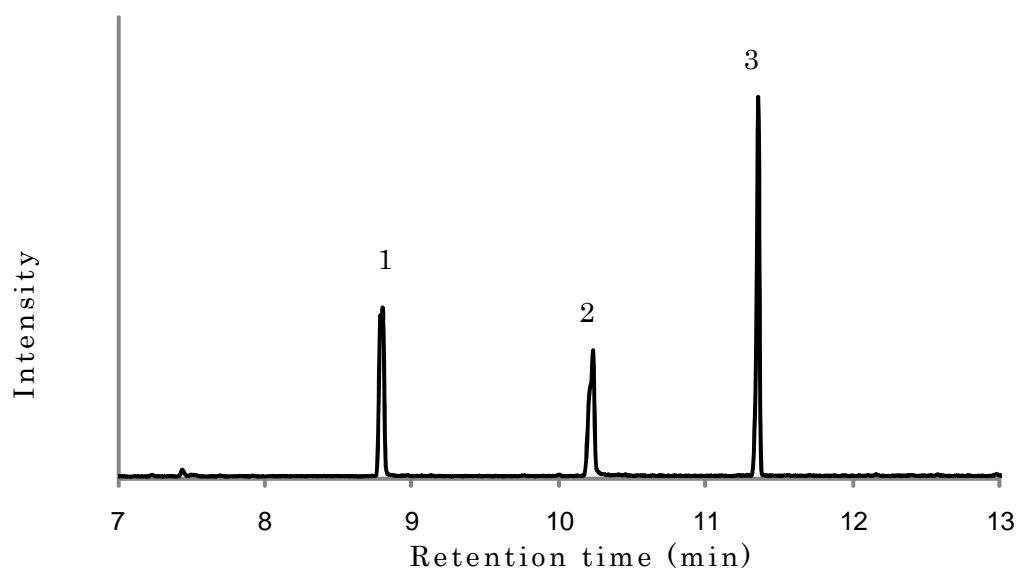


Fig. 2 Chromatogram of target analytes with VF-17 GC column

1. acephate
2. methamidophos
3. omethoate

#### 6.1.3.2 固相抽出条件の検討

親水性物質の固相抽出においては、活性炭カラムを検討した。活性炭カラムは、吸着力が高いため溶出時に回収が困難である。カラム内部における物質の吸着ポイントがカラム入口付近となり、溶出時に大量の溶離液が必要となるからである。そこで、試料溶液通液後の溶離

液での溶出時に、対象物質のカラム内の移動距離を短縮させ、効率的

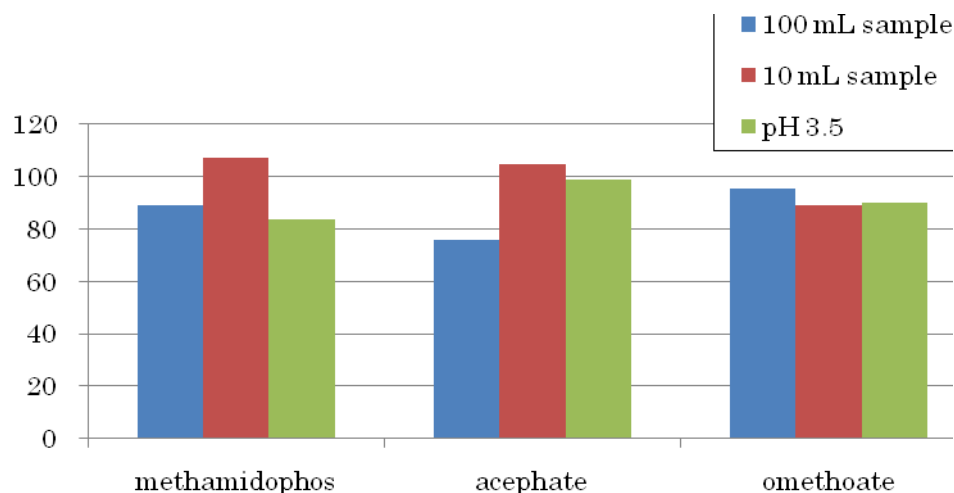


Fig. 2 Recovery rate to differ from the sample solutions

に溶出させるためにバックフラッシュ法により溶出することが一般的となっている。本検討でもバックフラッシュ法を採用し、試料通液方向と逆方向から溶離液を通液して溶出液を捕集した。

活性炭カラムからの抽出条件を検討した。試料 10 g を水 100 mL で溶解した試料、試料 1 g を水 10 mL で溶解した試料、試料 10 g を水 100 mL で溶解し、pH を硝酸により 3.5 に調整した試料の 3 点に 1 mg/L の混合標準溶液を 1 mL 添加し、AC-2 カラムに通液し、5 mL メタノールでバックフラッシュ法により溶出した。回収率の結果を Fig. 2 に示す。

10 mL の試料水溶液を通液する場合は最も回収率が高かったが、試料量が 1 g なので、濃縮倍率で不利となる。また、100 mL の試料水溶液を通液する場合は、アセフェートにおいて、pH を調整した方が、回収率が高くなった。しかし、pH 未調整でも十分な回収率が得られている事、効率的な処理には手順が少ない方が良い。これらにより、試料水溶液は 100 mL とし、pH は未調整で行うこととした。

### 6.1.3.3 実試料の分析

実試料として、「食塩 1 kg」を使用し、添加回収試験を行った。この

試料 10 g に各 0.1 mg/L に調製したアセフェート、メタミドホス、オメトエートの混合溶液を 1 mL 添加した。これを標準分析方法で分析した。結果として、アセフェート  $72 \pm 4\%$ 、メタミドホス  $112 \pm 14\%$ 、オメトエート  $71 \pm 4\%$  の回収率が得られ、本章で検討した標準分析方法により、良好に定量できる事が確認された。

#### 6.1.4 結言

親水性であるために一斉分析が困難であった物質であるアセフェート、メタミドホス、オメトエートを活性炭固相抽出カラムで抽出し、GC/MS で測定するグループ分析法を開発した。本方法を適用して実試料として「食塩 1 kg」への添加試験を行い、アセフェート  $72 \pm 4\%$ 、メタミドホス  $112 \pm 14\%$ 、オメトエート  $71 \pm 4\%$  の回収率を得た。

本方法により、塩事業センターが選定した、食用塩に対する安全性を確認するための農薬等 116 項目 162 物質のうち、3 項目 3 物質の分析が可能となった。

## 6.2 カルタップ類分析法

### 6.2.1 緒言

カルタップ類は、カルタップ、チオシクラム、ベンスルタップで構成される農薬で、細胞の Ach レセプターへ結合し、神経系の伝達を遮断するため、神経筋遮断や痙攣を起こす<sup>14)</sup>。Fig. 3 に示すように、カルタップは水質中で、ジヒドロネライストキシンを經由してネライストキシンへと分解する<sup>15-16)</sup>。また、チオシクラムも一部がネライストキシンへ分解する。ベンスルタップも同様に一部がネライストキシンへ分解すると報告されている<sup>17)</sup>。

3 章で報告した LC/MS での一斉分析法を開発する際に、カルタップは標準溶液が、測定中に分解したために、安定した測定が行えず、検量線を作成できなかった。このため一斉分析法に適用できず、個別分析法を開発する必要があった。

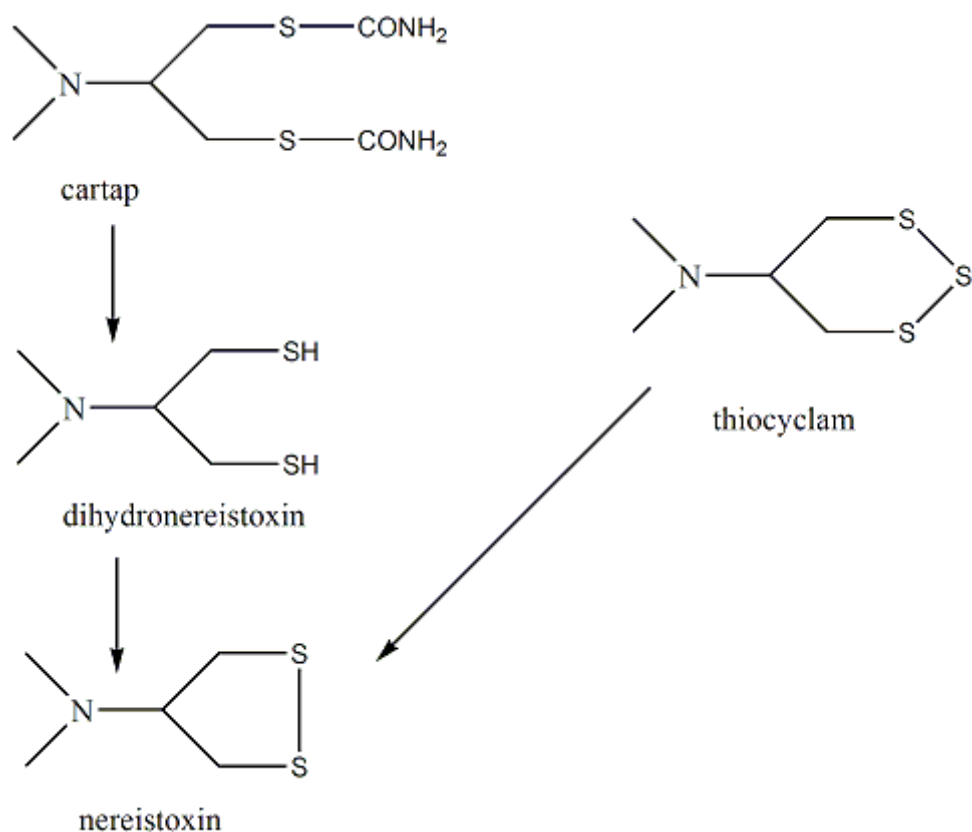


Fig. 3 Degradation pathway of cartaps

カルタップ類の個別分析法としては、農薬残留基準法<sup>18)</sup>では、カルタップ類を野菜や茶などから水抽出し、酸性として妨害成分の除去を行った後に、アルカリ加水分解によってすべてネライストキシンへ分解し、ケイソウ土カラムを使用してヘキサン溶液で抽出、溶媒転換を行った後、GC-FPD(炎光光度型検出器)により定量している。塩の分析においては、食品の分析法が適用できない例が多いが、カルタップ類は、水抽出であるため塩試料への適用が可能であると考えられた。本章では、塩を試料とした場合のカルタップ類の分析における、加水分解でのネライストキシンへの分解、および抽出効率の確認を行った。

## 6.2.2 分析条件と方法

### 6.2.2.1 装置

GC/MS は島津製 GCMS-QP-2010 を使用した。カラムは、VF-5ms (0.25

mm i.d. × 30 m, 液厚 0.25 μm, Varian 製)を使用し、50℃で2分間保持した後、毎分10℃で昇温し、250℃で5分間保持した。測定試料は2μLを注入し、質量分析計はスキャンモードで測定し、*m/z* 70を定量イオンとしてモニターし、*m/z* 149を参照イオンとした。

#### 6.2.2.2 試薬

カルタップ塩酸塩、チオシクラムシュウ酸塩、ベンスルタップ、ネライストキシシンシュウ酸塩は和光純薬工業製を使用した。カルタップ塩酸塩、チオシクラムシュウ酸塩はメタノールで溶解し、ベンスルタップは、ジクロロメタンで溶解した。ネライストキシシンシュウ酸塩は1%塩酸含有メタノール溶液で溶解し、100 mg/kgに調整した溶液を保存溶液とした。試験時は、保存溶液を適宜希釈して使用した。

ジクロロメタン、メタノール、10%塩酸は残留農薬試験用、EDTA、水酸化ナトリウムは特級の和光純薬工業製を使用した。水は Milli-Q 水を使用した。

一般的な苦汁の1/2希釈溶液相当の溶液として、8.3%塩化カルシウム、19.8%塩化マグネシウム、1.9%塩化カリウムと2.5%塩化ナトリウムを200 gになるように水に溶解し、調製苦汁とした。

#### 6.2.2.3 ネライストキシシンの抽出

1 mg/Lのネライストキシシン溶液1 mLを、10%塩化ナトリウム溶液100 mLに添加し、塩酸、もしくは水酸化ナトリウムにより水溶液のpHを2から11へ調整し、ジクロロメタン50 mLで2回液々抽出し、1 mLまで濃縮した後、GC/MSで測定した。

#### 6.2.2.4 ネライストキシシンへの分解

1 mg/Lに調製したカルタップの標準溶液1 mLを水100mLに添加し、水酸化ナトリウムでpHを9以上に調整した。この溶液を30分、1時間放置し、ジクロロメタンで液々抽出し、GC/MSによりネライストキシシンを測定した。同様の試験を、カルタップを添加する溶液を水から10%塩化ナトリウム水溶液100mLに変更し、塩化ナトリウムの影響を比較した。さらに、pH9に調整した塩化ナトリウム水溶液に、2%塩化

ニッケルを 10mL 添加して 15 分間攪拌する行程を追加した試験を行った。

チオシクロラムとベンスルタップは、1 mg/L に調整した標準溶液を 10%塩化ナトリウム水溶液 100 mL へ、1 mL 添加し、1%L-システイン含有 2 M 塩酸 10mL を加え、1 時間攪拌した。この溶液を 8 M 水酸化ナトリウムにより pH を 9 へ調整した。この溶液をジクロロメタン 50 mL で攪拌抽出を 2 回行い、抽出液を濃縮し、1 mL とした後に GC/MS で測定した。

#### 6.2.2.5 標準分析方法

試料 10g を水 100mL に溶解し、1%L-システイン含有 2M 塩酸 10mL を加えて 1 時間攪拌した。8M 水酸化ナトリウムで pH を 9 へ調整し、1 時間放置した。溶液を分液ロートに移し、ジクロロメタン 50mL を加えて 10 分間攪拌し、ジクロロメタン層をナスフラスコに移した。この抽出操作を再度行い、抽出溶液を合わせて、無水硫酸ナトリウムで脱水してから、ロータリーエバポレーターで約 2mL まで濃縮した。濃縮液は遠心管に移し、窒素を穏やかに吹きつけて 1mL に濃縮した。この溶液を GC/MS で測定した。

### 6.2.3 結果と考察

#### 6.2.3.1 ネライストキシンの抽出

ネライストキシンのクロマトグラムを、Fig. 3 に示す。質量分析計における  $m/z$  70 を定量イオンとしてピークが  $S/N=10$  となる濃度は、0.007mg/L であったため、0.01 mg/L を検出下限とした。

次に、ネライストキシンの水溶液中からの抽出を検討した。ネライストキシンの 1  $\mu$ g を添加した 10%塩化ナトリウム水溶液の pH を 2 から 11 まで変化させ、ジクロロメタンで抽出した時の回収率を Fig. 4 に示す。中性から塩基性の pH 領域で、定量的に抽出されることを確認した。このことから pH は 9 に調整することとした。

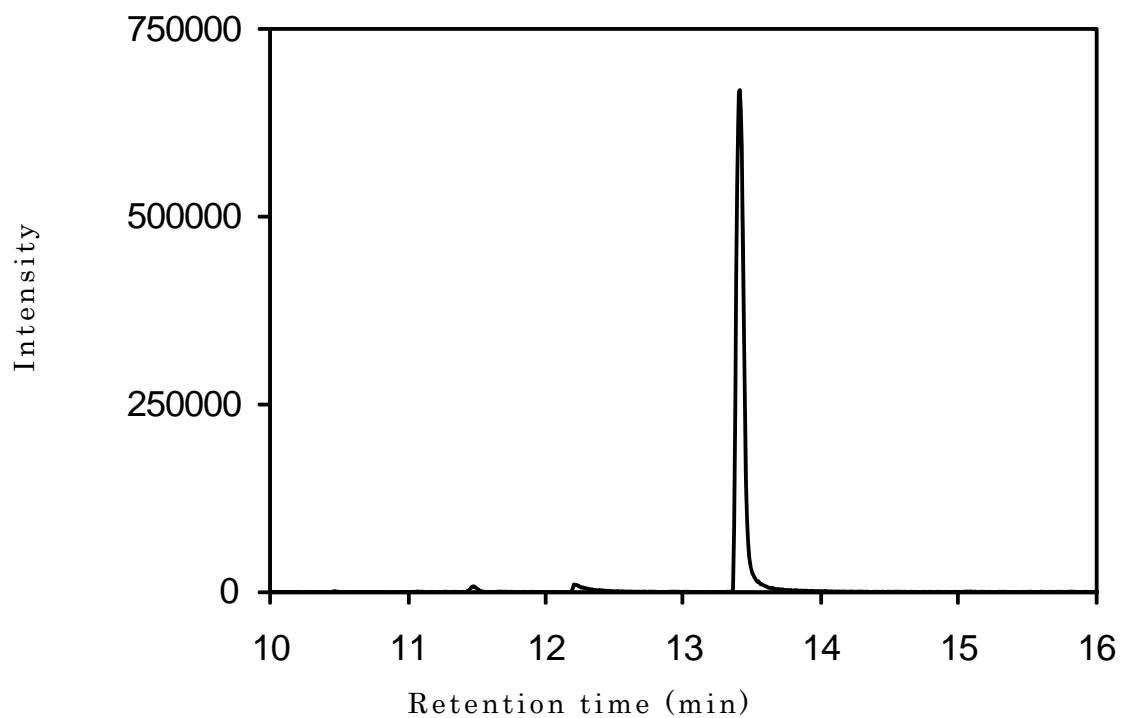


Fig. 3 Chromatogram of nereistoxin

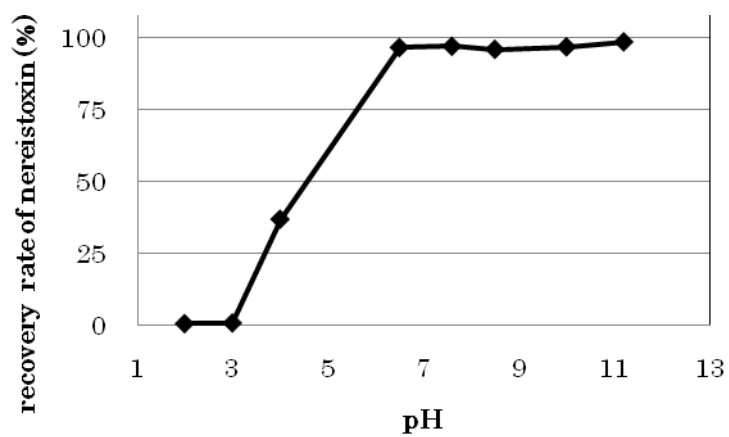


Fig. 4 Recovery rate of different from solution pH



### 6.2.3.2 ネライストキシシンへの分解

カルタップ類の 3 物質のうち、LC/MS による一斉分析法で検量線が作成できなかったのはカルタップであったため、まず、カルタップについて、アルカリ性水溶液中での分解を検討した。

塩基性水溶液中では、30 分間攪拌(Fig. 5 条件 A)では、約 70%が検出されたのに対して、60 分間攪拌(Fig. 5 条件 B)することで、加水分解によって 92%がネライストキシシンとして検出された。

水溶液中に塩化ナトリウムを加えることで塩斥効果によりジクロロメタンによる抽出効率が向上すると予想し 10%塩化ナトリウム水溶液で抽出したがネライストキシシンの回収率は 86%であり、効果は観測できなかった。

加水分解を促進するために、2%塩化ニッケルを 10mL 添加した(Fig. 5 条件 C)。また、加水分解中に 65°C へ加温(Fig. 5 条件 D)したが、両試験とも 67%の分解率であり効果は観測できなかった。カルタップは、水、もしくはメタノール溶液中で容易に分解し、ネライストキシシンとなるが、アルカリ性水溶液で 60 分間攪拌することで、ネライストキシシンへ分解することを確認した。

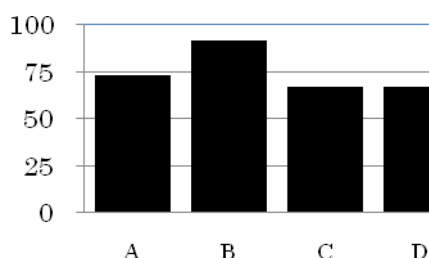


Fig. 5 Degradation rate of cartap

A: 30 min shake, B: 60 min shake, C: 15 min shake + 2% NiCl

E: 60 min heat at 65° C

次にチオシクラム、ベンスルタップを 1 µg 添加(1 mg/L, 1 mL)した 10%塩化ナトリウム水溶液を pH9 に調整し、60 分間攪拌した。分解率はそれぞれ 10%、28%であった。チオシクラム、ベンスルタップは、ア

ルカリ性水溶液中でも一部分しかネライストキシシンへ分解しないことが確認された。しかし、一部は分解すること、また、カルタップと同時に分析する方法を検討するために、アルカリ性条件下での抽出の前に、塩酸酸性下でのL-システインによる酸加水分解を前処理に追加することで完全に分解させることが可能であるとの報告<sup>19)</sup>があったので、試験を行った。

チオシクラム、ベンスルタップを 1 µg 添加した 10%塩化ナトリウム水溶液 100 mL に 1%の L-システインを溶解した 2 M 塩酸 10 mL を加えた。1 時間放置後、8 M の水酸化ナトリウムにより、pH 9 に調整した。この溶液をジクロロメタンで抽出し、窒素をパージして濃縮した溶液を GC/MS で測定した。分解率は、チオシクラムが 98%、ベンスルタップが 102%であった。カルタップは容易にネライストキシシンへ分解するが、チオシクラム、ベンスルタップは加水分解に L-システインの添加が必要であることが示唆された。これらの検討により、L-システインを添加して酸加水分解した後に、アルカリ性条件下での抽出を行ってネライストキシシンを定量することでカルタップ類の個別分析が行えることが確認できた。

#### 6.2.3.3 苦汁の影響について

国内で市販される食用塩には苦汁を含むものが多数販売されている。本方法においては、加水分解等の反応時に苦汁成分が反応を阻害する可能性があると考え、分析方法における苦汁の影響について検討した。10g の調製苦汁を標準分析方法に従って測定した。結果、カルタップ 98%、チオシクラム 88%、カルタップは 96%の回収率であった。

試料溶液中の pH を 9 以上とした時に、苦汁中マグネシウムの沈殿が生じるが、調製苦汁中のマグネシウムは約 1g であるため、沈殿物は極微量で、共沈による損失は少ないと考えられた。よって、本方法は、苦汁を大量に含有する食用塩にも適用できることを確認した。

#### 6.2.3.4 実試料の分析

実試料として、塩化ナトリウム純度が 90%で、苦汁を 4%添加してある「新家庭塩」を実試料とした。この試料 10 g に 0.1 mg/L のカルタ

ップ標準溶液、もしくはチオシクラム標準溶液、ベンスルタップ標準溶液を 1 mL 添加した。これを標準分析方法で分析した。結果として、カルタップ  $95 \pm 2\%$ 、チオシクラム  $98 \pm 2\%$ 、ベンスルタップ  $90 \pm 5\%$  の回収率が得られ、本章で検討した標準分析方法により、良好に定量できる事が確認された。

#### 6.2.4 結言

カルタップ、チオシクラム、ベンスルタップは、分解するとネライストキシンとなる同類の殺菌剤である。これらのうち、カルタップは標準物質が溶液中で分解し、安定して測定できない。そこで、カルタップ類を前処理により L-システインを補助剤とした酸加水分解により、ネライストキシンへ分解させ、アルカリ性条件下によりジクロロメタンで抽出する方法を開発した。本方法は、苦汁による回収率への影響はなかった。苦汁添加塩である「新家庭塩」に各物質を添加して回収試験を行い、回収率 90%以上、相対変動係数 5%以下の結果であった。本方法により、塩事業センターが選定した、食用塩に対する安全性を確認するための農薬等 116 項目 162 物質のうち、1 項目 3 物質の分析が可能となった。

## 文献

- 1) 福永編, “農薬ハンドブック”, 日本植物防疫協会, 55-359 (1976)
- 2) 山崎、堺、後藤, “水和剤施用後のタバコ植物中のアセフェートおよびメタミドホスの挙動”, 日本農薬学会誌, 7, 167-173 (1982)
- 3) K-Y. Wang, Q-L. Guo, X-M. Xia, H-Y. Wang, T-X. Liu, “Resistance of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) to selected insecticides on cotton from five cotton production regions in Shandong, China”, J. Pestic. Sci., 32, 372-378 (2007)
- 4) 厚生労働省, “アセフェート、オメトエート及びメタミドホス試験法（農作物）”, 医薬食品局通知, 第 0124001 号
- 5) 小川、岡本、谷口、山下、西口、樋口, “GC による農作物中のアセフェート及びメタミドホスの定量法”, 食衛誌, 38, 204-210 (1997)
- 6) 木口、斎藤, “ポリスチレンゲルと活性炭系ディスクを多層化した固相抽出/ガスクロマトグラフィー/質量分析法による水中の親水性及び疎水性農薬の同時定量”, 分析化学, 49, 575-582 (2000)
- 7) 黒澤、斉藤、小山田, “固相抽出-ガスクロマトグラフィー法による水中のアセフェートの定量”, 衛生化学, 38, 554-559 (1992)
- 8) B. A. Ingelse, R. Dam, R. J. Vreeken, H. Mol, O. M. Steijger, “Determination of polar organophosphorus pesticides in aqueous samples by direct injection using liquid chromatography-tandem mass spectrometry”, J. Chromatogr. A, 918, 67-78 (2001)
- 9) 山下, “ゴルフ場農薬の分析”, 和歌山市衛生研究所報, 12, 62-67 (2002)
- 10) 中根、角脇, “LC/MS/MS による水質試料中の農薬分析法の検討”, 愛知県環境センター所報, 34, 71-78 (2006)
- 11) 環境庁, “ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止に係る暫定指導指針”, 平成 2 年 5 月 24 日環水土第 77 号
- 12) T. Ling, M. Xiaodong, L. Chongjiu, “Application of Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (GC-MS-MS) with

Pulsed Splitless Injection for the Determination of Multiclass Pesticides in Vegetables”, *Anal. Lett.*, **39**, 985-996 (2006)

- 13) 鈴木, “ガスクロマトグラフ/化学イオン化質量分析法による大気中アセフェート及びトリクロロホンの分析”, *分析化学*, **44**, 41-48 (1995)
- 14) S. Chiba, Y. Saji, Y. Takeo, T. Yui, Y. Aramaki, “Nereistoxin and its derivatives, their neuromuscular blocking and convulsive actions”, *Jap. J. Pharmacol.*, **17**, 491-492 (1967)
- 15) 大林、朝加, “カルタップの水中での光分解生成物”, *武田研究所報*, **42**, 338-343 (1983)
- 16) R. Tsao, M. Eto, “Chemical and photochemical transformation of the insecticide cartap hydrochloride into nereistoxin”, *J. Pesticide Sci.*, **14**, 47-51 (1989)
- 17) 光武, 原崎, 犬塚, 池田, “食品中の殺虫剤カルタップ・ベンスルタップ及びチオシクラムの同時分析法の検討”, *佐賀県衛生研究所報*, **19**, 62-65 (1993)
- 18) 後藤, 加藤, “残留農薬分析法”, ソフトサイエンス社 (1987)
- 19) 西, 富名腰, 丹, 服部, “土壤中カルタップ塩酸塩の微量分析法”, *日本農薬学会誌*, **4**, 29-35 (1979)

# 第 7 章

## 総括

## 第 7 章 総括

近年、食品の安全性に対する社会的な要望は高い。さらに、食品衛生法の改正によりすべての食品に残留農薬等に関するポジティブリスト制度が施行された。このような背景から、食品業界は安全な食品を提供し、これらのデータを公表していかなければならない。このことは食用塩についても例外ではなく、その製造において農薬等は使用しないが、残留農薬等に関する安全性を証明していかなければならない。この証明には科学的根拠が必要であり、塩における農薬等の分析法を開発する必要がある。

このような背景から、食用塩の安全性評価技術として、残留農薬等に関する分析技術の開発を行った。

他の食品と異なり、食用塩は、農薬等を使用することがない。このため対象となる残留農薬等は、原料である海水、食用塩を比較的多量に使用する加工食品の食用塩以外の食品を対象として検討し、116項目を選定した。

これらの農薬等は、様々な性質を有するため、いくつかの分析法を組み合わせる必要がある。そこで、多くの農薬等を分析することができる一斉分析法を検討した。農薬等の適正により、測定においてGC/MSを使用する方法、LC/MSを使用する方法をそれぞれ開発した。これらの一斉分析法で分析することができなかった農薬等については、個別に分析法を開発した。その際にも、できるだけ同様の前処理、測定が行えると思われる農薬等については、グループ化して開発した。

本研究によって、食用塩を試料とした農薬等の分析法が開発された。本方法を用いて、塩事業センターが販売する食用塩であるTable 1に示す14商品について検査を行い、すべての商品において、農薬等が検出されないことが証明している<sup>1)</sup>。日本が輸入している食用塩の輸入先であるメキシコ、オーストラリアの塩田において、本方法を用いた検査を行い、農薬等が混入していないことを証明している<sup>2)</sup>。国内の工場においても、製品、工場周辺環境について、本方法を用いた検査、調査を実施している。

農薬等に関しては、新規農薬等が開発され、さらに、使用される農薬等についても年々更新されているのが現実である。調査対象としている農薬等についても、今後、定期的に検討し、分析法を開発する必要がある。新たな枠組みにおける調査対象農薬の選定が行われても、本研究の開発手法を適用することで、対応が可能であると思われる。

食用塩の安全性を確認するためには、今後も安全性評価技術として、農薬等をはじめとする、さらに多くの対象項目に対する分析法の開発が必要であり、本研究がその一助になれば幸いである。

Table 1 検査に用いた財団法人塩事業センターが販売する食用塩

商品名と量目	概要
食塩 1kg、5kg、25kg	イオン交換膜法で製造
並塩 20kg、25kg	イオン交換膜法で製造、苦汁含有
精製塩 1kg、25kg	輸入天日塩を溶解再製して製造
食卓塩、キッチンソルト、クッキングソルト、ニュークッキングソルト	輸入天日塩を溶解再製して製造、炭酸マグネシウム添加
新家庭塩	イオン交換膜法で製造、苦汁添加
つけもの塩	輸入天日塩にクエン酸、リンゴ酸、塩化マグネシウム、塩化カルシウムを添加
原塩、粉碎塩	輸入天日塩

1) 塩事業センター海水総合研究所，“食品中に残留する農薬等の基準に係るポジティブリスト制度への対応—塩事業センター販売商品における農薬等の検査結果(2008)—”，テクニカルノート No. 8, [http://www.shiojigyo.com/a060laboratory/07\\_technicalnote/img/technicalnote\\_no8.pdf](http://www.shiojigyo.com/a060laboratory/07_technicalnote/img/technicalnote_no8.pdf)

2) 塩事業センター海水総合研究所，“食品中に残留する農薬等の基準に係るポジティブリスト制度への対応”，テクニカルノート No. 3~7, [http://www.shiojigyo.com/a060laboratory/07\\_technicalnote/index.html](http://www.shiojigyo.com/a060laboratory/07_technicalnote/index.html)



## 謝辞

本研究の遂行にあたり、終始ご懇切なるご指導を受け賜わり、また、細部に渡りご指導下さいました横浜国立大学大学院工学研究院教授小林憲正先生に、心より感謝の意を表します。本論文を審査していただき貴重なご意見を受け賜わりました横浜国立大学大学院工学研究院内藤晶教授、同 榊原和久教授、同 迫村勝准教授、横浜国立大学環境情報研究院横山幸男教授に厚く御礼申し上げます。

本研究は、財団法人塩事業センターに席を置く筆者が、横浜国立大学大学院工学府博士課程後期に入学して行ったものである。実験を伴う部分は、主に塩事業センター海水総合研究所において行った。

博士課程での研究に対して、快くご許可を下された財団法人塩事業センターの方々に感謝申し上げます。

研究においては、財団法人塩事業センター海水総合研究所長谷川正巳所長、吉川直人副所長、ならびに共同研究者として、本研究にご協力下さいました麻田拓矢氏、横浜国立大学小林研究室 金子竹男先生、大林由美子先生、研究室の皆様には、研究のみならず、精神的にも常にご支援を頂きました。皆様に感謝申し上げます。また、本研究に対し、ご理解、ご支援下さった研究所の方々をはじめとする、多くの方々に感謝の意を表します。

野田 寧

## 発表論文リスト

本論文を構成する公表論文

1) 野田 寧, 麻田 拓矢, 小林 憲正, GC/MS による塩中の残留農薬等の一斉分析, *分析化学*, **59**, pp. 579-587 (2010)

2) Y. Noda, T. Asada, K. Kobayashi, "Multiresidue Analysis for Agricultural Chemicals in Edible Salts by LC/MS", *日本海水学会誌*, submitted

参考論文

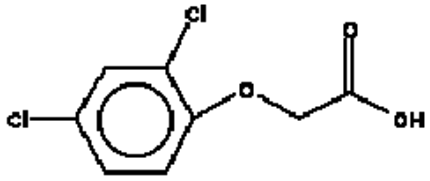
1) 野田 寧, 食品に残留する農薬等のポジティブリスト制度について, *日本海水学会誌* **60**, 358-364 (2006)

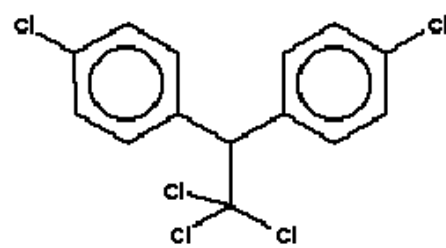
2) 野田 寧, 食用塩の安全性への取り組み, *日本海水学会誌*, **62**, 148-151 (2008)

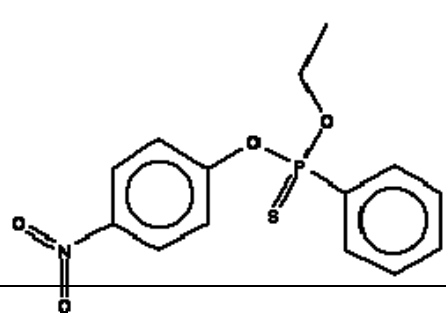


## Appendix

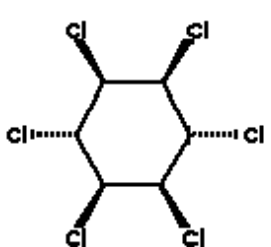
### 調査対象農薬等一覧

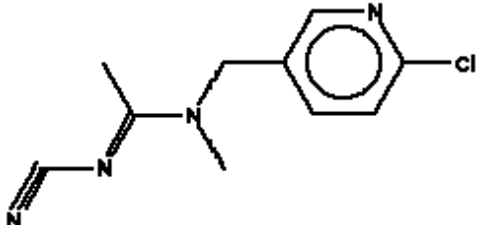
1. 項目名 ; 2,4-D	
代表物質名 ; 2,4-D	
(2,4-Dichlorophenoxy)acetic acid	
CAS ; 94-75-7	
$C_8H_6Cl_2O_3$	
分子量 ; 221.04	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 2.81	
備考 ; pKa = 2.73 2,4-D には、2,4-D および 2,4-D ナトリウム塩、2,4-D ジメチルアミン塩、2,4-D エチル、2,4-D イソプロピル、2,4-D ブトキシエチルが対象となる。	

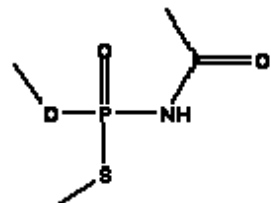
2. 項目名 ; DDT	
代表物質名 ; p,p'-DDT	
p,p'-DDT	
CAS ; 50-29-3	
$C_{14}H_9Cl_5$	
分子量 ; 354.48	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 6.91	
備考 ; DDT とは、p,p'-DDD、p,p'-DDE、p,p'-DDT 及び o,p'-DDT の総和をいう。	

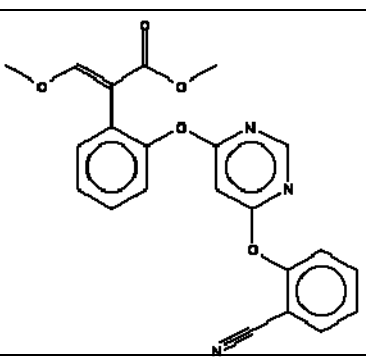
3. 項目名 ; EPN	
-	
EPN	
CAS ; 2104-64-5	
$C_{14}H_9NO_4PS$	
分子量 ; 318.27	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	

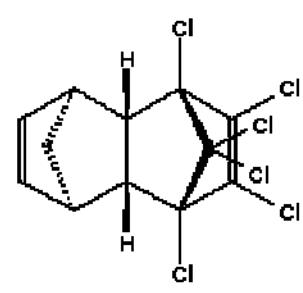
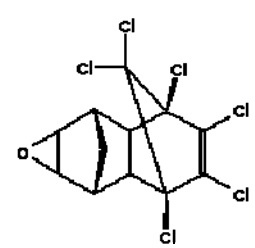
log $P_{ow}$ ; 4.78	
備考 ;	

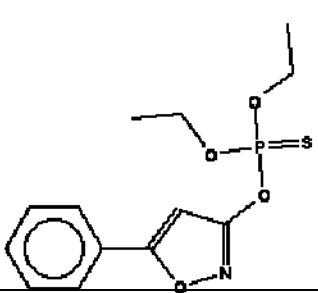
4. 項目名 ; リンデン	
-	
Lindane, $\gamma$ -BHC	
CAS ; 58-89-9	
$C_6H_6Cl_6$	
分子量 ; 290.83	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log $P_{ow}$ ; 3.72	
備考 ; BHC は、 $\alpha$ -体、 $\beta$ -体、 $\gamma$ -体、 $\delta$ -体の総和であるが、リンデンとは異なる規格である。	

5. 項目名 ; アセタミプリド	
-	
Acetamipride	
CAS ; 135410-20-7	
$C_{10}H_{11}ClN_4$	
分子量 ; 222.67	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log $P_{ow}$ ; 0.80	
備考 ; pKa = 0.7	

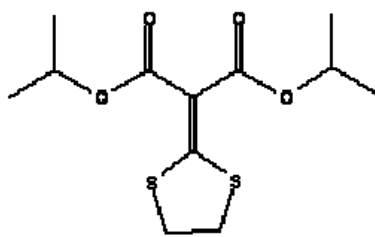
6. 項目名 ; アセフェート	
-	
Acephate	
CAS ; 30560-19-1	
$C_4H_{10}NO_3PS$	
分子量 ; 183.17	
分析法 ; アセフェート系分析法	
log $P_{ow}$ ; -0.85	
備考 ; 代謝物はメタミドホスとなる	

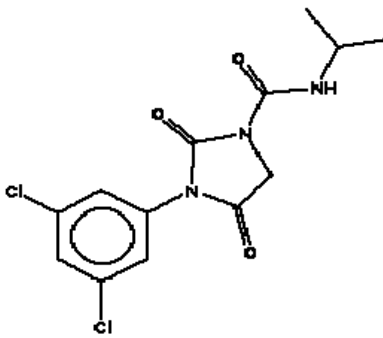
7. 項目名 ; アゾキシストロビン	
-	
Azoxystrobin	
CAS ; 131860-33-8	
$C_{22}H_{17}N_3O_5$	
分子量 ; 403.39	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 2.50	備考 ;

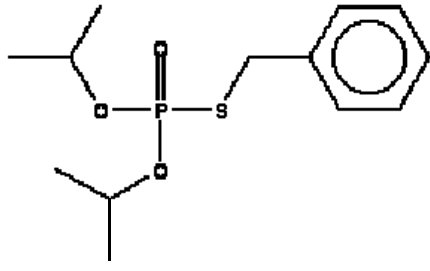
8. 項目名 ; アルドリン及びディルドリン	
代表物質名 ; アルドリン	
Aldrin	
CAS ; 309-00-2	
$C_{12}H_8Cl_6$	
分子量 ; 364.91	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 6.50	備考 ; ディルドリン (Dieldrin, $C_{12}H_8Cl_6O$ , $\log Pow=5.4$ )
	

9. 項目名 ; イソキサチオン	
-	
Isoxathion	
CAS ; 18854-01-8	
$C_{13}H_{16}NO_4PS$	
分子量 ; 313.31	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	

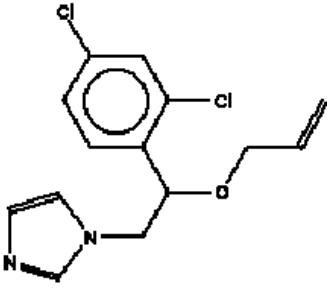
log $P_{ow}$ ; 3.73	
備考 ;	

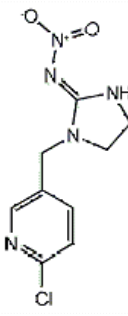
10. 項目名 ; イソプロチオラン	
-	
Isoprothiolane	
CAS ; 50512-35-1	
$C_{12}H_{18}O_4S_2$	
分子量 ; 290.40	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log $P_{ow}$ ; 2.88	
備考 ;	

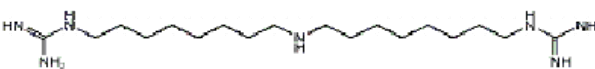
11. 項目名 ; イプロジオン	
代表物質名 ; イプロジオン	
Iprodione	
CAS ; 36734-19-7	
$C_{13}H_{13}Cl_2N_3O_3$	
分子量 ; 330.17	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log $P_{ow}$ ; 3.00	
備考 ; イプロジオンは、イプロジオンとその代謝物である N-(3,5-ジクロロフェニル)-3-イソプロピル-2,4-ジオキサソイミダゾリジン-1-カルボキサミドの和である。	

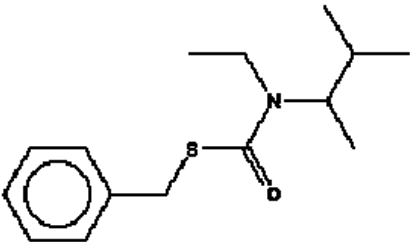
12. 項目名 ; イプロベンホス	
-	
Iprobenfos	
CAS ; 26087-47-8	
$C_{13}H_{21}O_3PS$	
分子量 ; 288.34	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log $P_{ow}$ ; 3.34	
備考 ;	

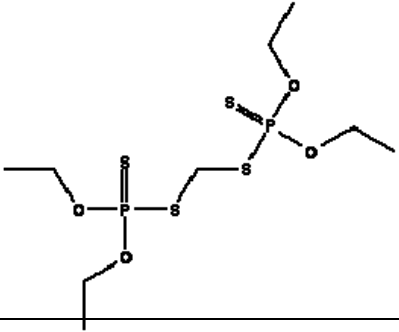


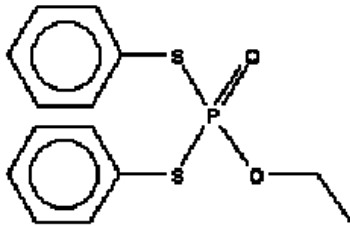
13. 項目名 ; イマザリル	
-	
Imazalil	
CAS ; 35554-44-0	
$C_{14}H_{14}Cl_2N_2O$	
分子量 ; 297.18	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.82	
備考 ; pKa = 6.53	

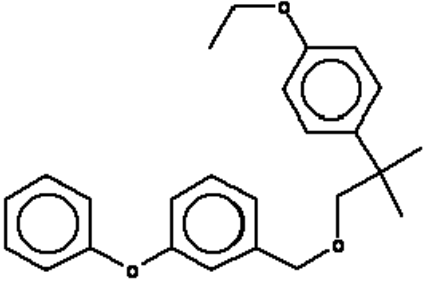
14. 項目名 ; イミダクロプリド	
-	
Imidacloprid	
CAS ;	
$C_9H_{10}ClN_5O_2$	
分子量 ; 255.67	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 0.57	
備考 ; pKa = 11.1	

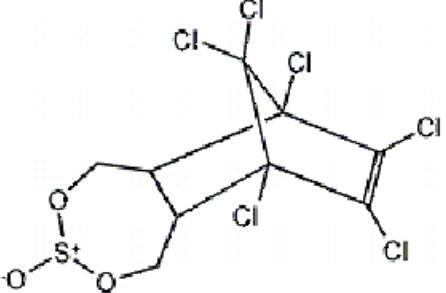
15. 項目名 ; イミノクタジン	
代表物質名 ; イミノクタジン	
Iminoctadine	
CAS ; 13516-27-3	
$C_{18}H_{41}N_7$	
分子量 ; 355.57	
分析法 ; イミノクタジン系分析法	
$\log P_{ow}$ ; 2.71	
備考 ; イミノクタジンは、イミノクタジン、イミノクタジン三酢酸塩、イミノクタジンアルベシル塩が含まれる。	

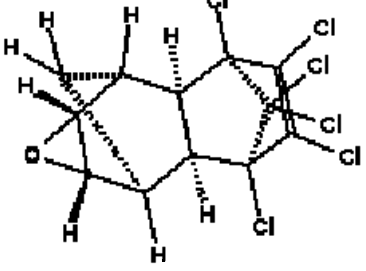
16. 項目名 ; エスプロカルブ	
-	
Esprocarb	
CAS ; 13516-27-3	
$C_{15}H_{23}NOS$	
分子量 ; 265.42	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.60	
備考 ;	

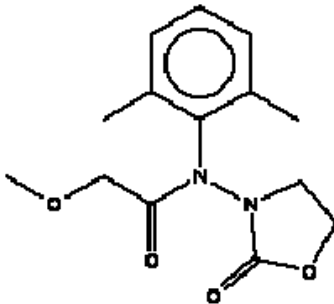
17. 項目名 ; エチオン	
-	
Ethion	
CAS ; 563-12-2	
$C_9H_{22}O_4P_2S_4$	
分子量 ; 384.48	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 5.07	
備考 ;	

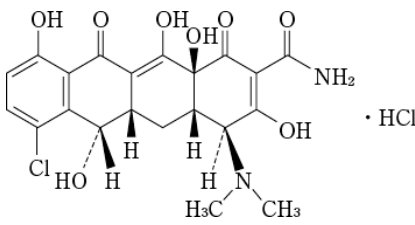
18.項目名 ; エディフェンホス	
-	
Edifenfos	
CAS ; 17109-49-8	
$C_{14}H_{15}O_2PS_2$	
分子量 ; 310.37	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.48	
備考 ;	

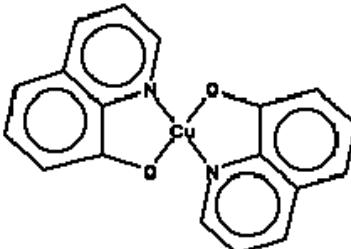
19.項目名 ; エトフェンプロックス	
-	
Etofenprox	
CAS ; 80844-07-1	
$C_{25}H_{28}O_3$	
分子量 ; 376.49	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 7.05	
備考 ;	

20. 項目名 ; エンドスルファン	
代表物質名 ; $\beta$ -エンドスルファン	
beta-Endsulfan	
CAS ; 33213-65-9	
$C_9H_6Cl_6O_3S$	
分子量 ; 406.93	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.83	
備考 ; エンドスルファンとは $\alpha$ -体と $\beta$ -体の和である。	

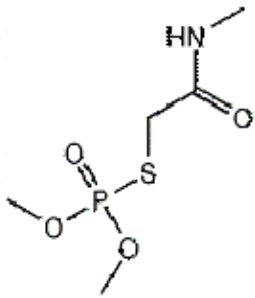
21. 項目名 ; エンドリン	
-	
Endrin	
CAS ; 72-20-8	
$C_{12}H_8Cl_6O$	
分子量 ; 380.91	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 5.20	
備考 ;	

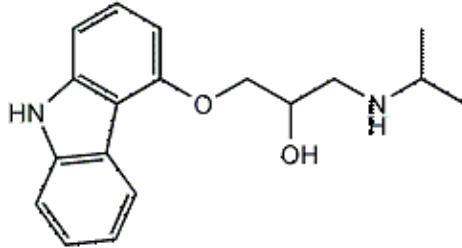
22.項目名 ; オキサジキシル	
-	
Oxadixyl	
CAS ; 77732-09-3	
$C_{14}H_{18}N_2O_4$	
分子量 ; 278.30	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 0.80	
備考 ;	

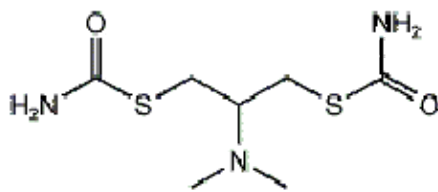
23.項目名 ; オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン及びテトラサイクリン	
代表物質名 ; オキシテトラサイクリン	
Oxytetracycline	
CAS ; 79-57-2	
$C_{22}H_{24}N_2O_9$	
分子量 ; 460.44	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; -0.90	
備考 ; pKa = 3.27	
<ul style="list-style-type: none"> <li>・クロルテトラサイクリン (Chlortetracycline, <math>C_{22}H_{23}ClN_2O_8</math>, <math>\log P_{ow} = -0.62</math>, pKa = 3.3)</li> <li>・テトラサイクリン (Tetracycline, <math>C_{22}H_{24}N_2O_8</math>, <math>\log P_{ow} = -1.30</math>, pKa = 3.3)</li> </ul>	

24. 項目名 ; オキシシン銅	
-	
Oxine copper	
CAS ; 10380-28-6	
$C_{18}H_{12}CuN_2O_2$	
分子量 ; 351.85	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 2.46	

備考；

25. 項目名；オメトエート	
-	
Omethoate	
CAS ; 1113-02-6	
C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>4</sub> PS	
分子量 ; 213.19	
分析法 ; アセフェート系分析法	
log P <sub>ow</sub> ; -0.74	
備考；	

26. 項目名；カラゾロール	
-	
Carazolol	
CAS ; 57775-29-8	
C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	
分子量 ; 298.39	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; 3.59	
備考；	

27. 項目名；カルタップ、チオシクラム及びベンスルタップ	
代表物質名；カルタップ	
Cartap	
CAS ; 15263-53-3	
C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	
分子量 ; 237.34	
分析法 ; カルタップ類分析法	
log P <sub>ow</sub> ; -0.95	
備考；チオシクラム (Thiocyclam, C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NS <sub>3</sub> ) ベンスルタップ (Bensultap, C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub> S <sub>4</sub> , log P <sub>ow</sub> = 3.36) チオシクラム及びベンスルタップをカルタップ換算して総和をいう。 実際には、3物質共通の代謝物であるネライストキシンも測定す	

る必要がある。

28. 項目名 ; カルバリル

-

Carbaril

CAS ; 63-25-2

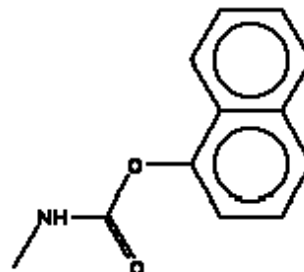
$C_{12}H_{11}NO_2$

分子量 ; 201.22

分析法 ; GC/MS 一斉分析法

$\log P_{ow}$  ; 2.36

備考 ;



29. 項目名 ; カルベンダジム、チオファネート、チオファネートメチル及びベノミル

代表物質名 ; カルベンダジム

Carbendazim

CAS ; 10605-21-7

$C_9H_9N_3O_2$

分子量 ; 191.19

分析法 ; LC/MS 一斉分析法

$\log P_{ow}$  ; 1.52



備考 ;  $pK_a = 4.2$

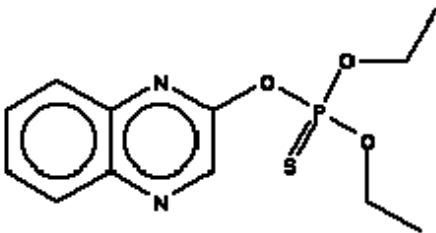
チオファネート (Thiophanate,  $C_{14}H_{18}N_4O_3$ ,  $\log P_{ow}$  ; 2.08)

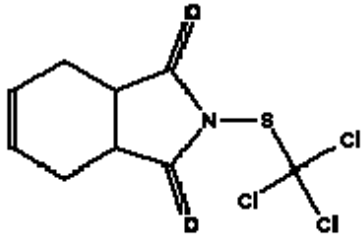
チオファネートメチル (Thiophanate-methyl,  $C_{12}H_{14}N_4O_4S_2$ ,  $\log P_{ow}$  ; 1.40)

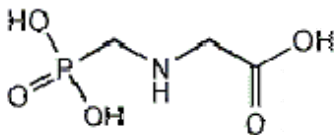
ベノミル (Benomyl,  $C_{14}H_{18}N_4O_3$ ,  $\log P_{ow}$  ; 2.12)

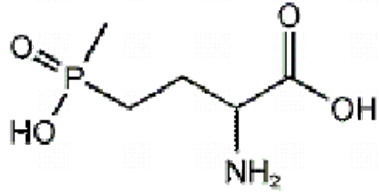
すべての物質は、カルベンダジム相当量へ換算した総和とする。チオファネートメチルとベノミルはカルベンダジムへ代謝される。

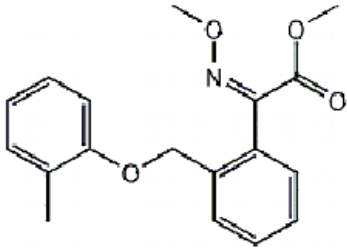
実際には、ethyl 1H-benzimidazol-2-ylcarbamate もチオファネートの代謝物として分析する必要がある。

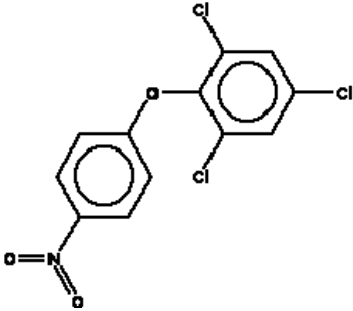
30.項目名 ; キナルホス	
-	
Quinalphos	
CAS ; 13593-03-8	
$C_{12}H_{15}N_2O_3PS$	
分子量 ; 298.30	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.44	
備考 ;	

31.項目名 ; キャプタン	
-	
Captan	
CAS ; 133-06-2	
$C_9H_8Cl_3NO_2S$	
分子量 ; 300.59	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 2.8	
備考 ;	

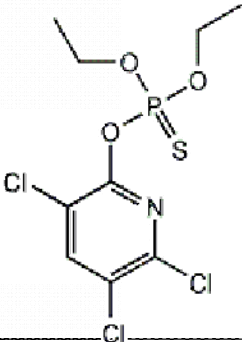
32.項目名 ; グリホサート	
代表物質名 ; グリホサート	
Glyphosate	
CAS ; 1071-83-6	
$C_3H_8NO_5P$	
分子量 ; 169.07	
分析法 ; グリホサート系分析法	
$\log P_{ow}$ ; -3.40	
備考 ; $pK_a = 0.80$ グリホサートには、グリホサートとグリホサートアンモニウム塩、グリホサートイソプロピルアミン塩、グリホサートトリメシウム塩、グリホサートナトリウム塩が含まれる。	

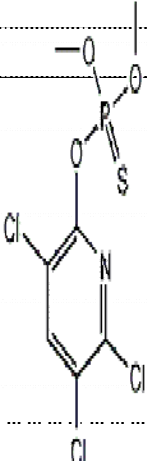
33.項目名 ; グルホシネート	
代表物質名 ; グルホシネート	
Glufosinate	
CAS ; 51276-47-2	
$C_5H_{12}NO_4P$	
分子量 ; 181.13	
分析法 ; グリホサート系分析法	
$\log P_{ow}$ ; -3.96	
備考 ; グルホシネートには、グルホシネートとグルホシネートアンモニウム塩、また代謝物である 3-メチルホスフィニコプロピオン酸 ( $C_4H_7O_4P$ )を含む。	

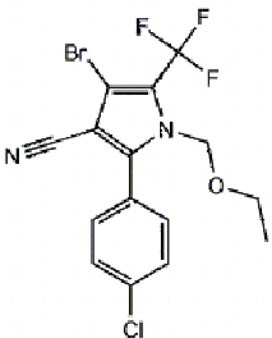
34. 項目名 ; クレソキムメチル	
-	
Kresoxim-methyl	
CAS ; 143390-89-0	
$C_{18}H_{19}NO_4$	
分子量 ; 313.35	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.40	
備考 ;	

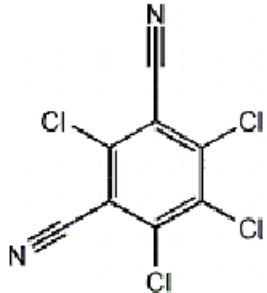
35. 項目名 ; クロルニトロフェン	
-	
Chlornitrofen , CNP	
CAS ; 1836-77-7	
$C_{12}H_6Cl_3NO_3$	
分子量 ; 318.54	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.97	
備考 ;	

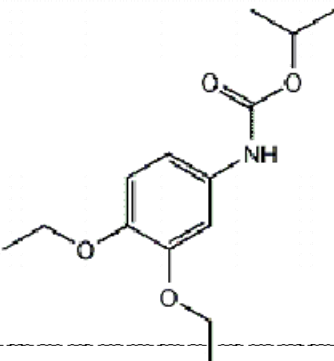


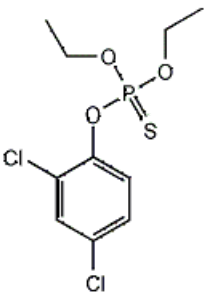
36. 項目名 ; クロルピリホス	
-	
Chloropyrifos	
CAS ; 2921-88-2	
$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$	
分子量 ; 350.58	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.96	
備考 ;	

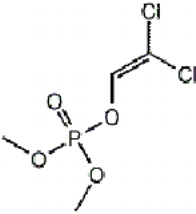
37. 項目名 ; クロルピリホスメチル	
-	
Chloropyrifos-methyl	
CAS ; 5598-13-0	
$C_7H_7Cl_3NO_3PS$	
分子量 ; 322.53	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.31	
備考 ;	

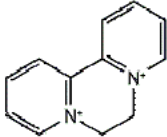
38. 項目名 ; クロルフェナピル	
-	
Chlorfenapyr	
CAS ; 122453-73-0	
$C_{15}H_{11}BrClF_3N_2O$	
分子量 ; 407.62	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.83	
備考 ;	

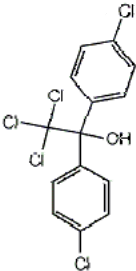
39.項目名 ; クロロタロニル	
-	
Chlorothalonil	
CAS ; 1897-45-6	
$C_8Cl_4N_2$	
分子量 ; 265.91	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.05	
備考 ;	

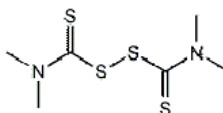
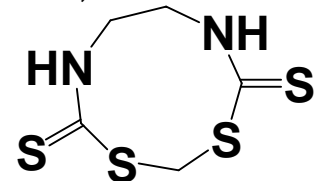
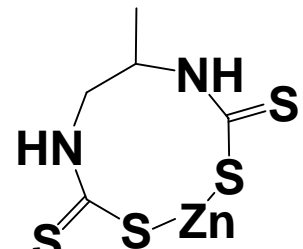
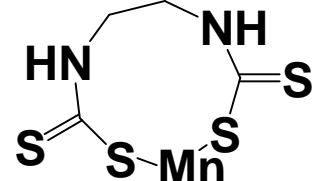
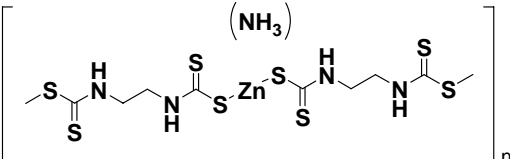
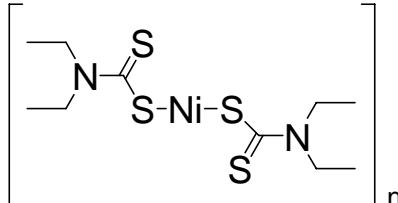
40.項目名 ; ジエトフェンカルブ	
-	
Diethofencarb	
CAS ; 87130-20-9	
$C_{14}H_{21}NO_4$	
分子量 ; 267.33	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 2.91	備考 ;
備考 ;	

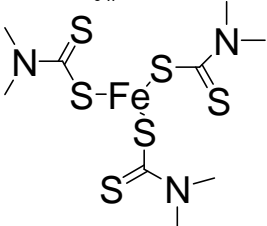
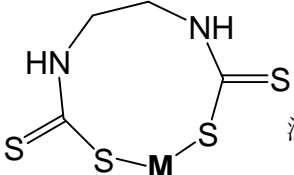
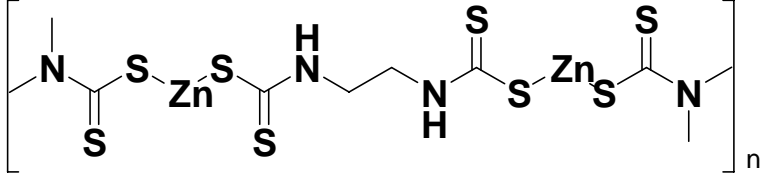
41.項目名 ; ジクロフェンチオン	
-	
Dichlofenthion (ECP)	
CAS ; 97-17-6	
$C_{10}H_{13}Cl_2O_3PS$	
分子量 ; 315.15	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 5.14	備考 ;
備考 ;	

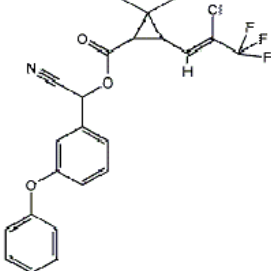
4 2 . 項目名 ; ジクロルボス及びナレド	
代表物質名 ; ジクロルボス	
Dichlorvos	
CAS ; 62-73-7	
$C_4H_7Cl_2O_4P$	
分子量 ; 220.98	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 1.43	
備考 ; ナレド (Naled, $C_4H_7Br_2Cl_2O_4P$ , $\log P_{ow} = 1.38$ ) ジクロルボス及びナレドをジクロルボス換算した含量。	

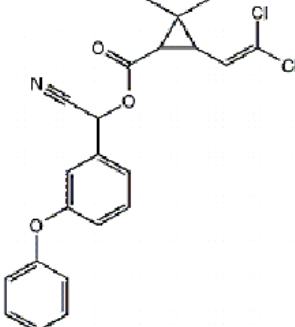
4 3 . 項目名 ; ジクワット	
-	
Diquat	
CAS ; 2764-72-9	
$C_{12}H_{12}N_2$	
分子量 ; 184.24	
分析法 ; イミノクタジン系分析法	
$\log P_{ow}$ ; 2.36	
備考 ;	

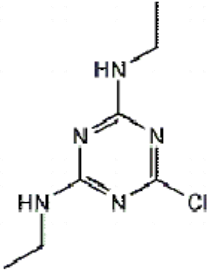
4 4 . 項目名 ; ジコホール (ケルセン)	
-	
Dicofol (Kelthane)	
CAS ; 115-32-2	
$C_{14}H_9Cl_5O$	
分子量 ; 370.49	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 5.02	
備考 ;	

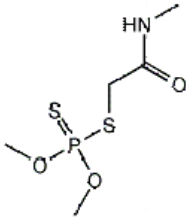
45. 項目名 ; ジチオカーバメート	
代表物質名 ; チウラム	
Thiuram	
CAS ; 137-26-8	
$C_6H_{12}N_2S_4$	
分子量 ; 240.42	
分析法 ; ジチオカーバメート類 分析法	
$\log P_{ow}$ ; 1.73	
備考 ; ジネブ (Zineb, $C_4H_6N_2S_4Zn$ , $\log P_{ow} = 1.30$ )	プロピネブ (Propineb, $C_5H_8N_2S_4Zn$ , $\log P_{ow} = 2.06$ )
	
ジラム (Ziram, $C_6H_{12}N_2S_4Zn$ , $\log P_{ow} = 1.23$ )	マンネブ (Maneb,  $C_4H_6MnN_2S_4$ , $\log P_{ow} = 0.62$ )
ニッケルビスジチオカーバメート (Nickel diethyldithiocarbamate, $C_{10}H_{20}N_2NiS_4$ )	メチラム (Metiram, $C_8H_{16}N_5S_8Zn$ , $\log P_{ow} = 0.30$ ) 
	

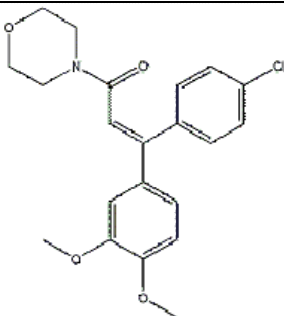
<p>フェルバム (Ferbam,  <math>C_9H_{18}FeN_3S_6</math>, <math>\log P_{ow} = -1.60</math>)</p> 	<p>マンコゼブ (Mancozeb,  <math>C_8H_{12}MnN_4S_8Zn</math>, <math>\log P_{ow} = 1.33</math>)</p>  <p>M が Mn と Zn の 1 : 1 混合物</p>
<p>ポリカーバメート (Polycarbonate,  <math>C_{10}H_{18}N_4S_8Zn_2</math>)</p> 	

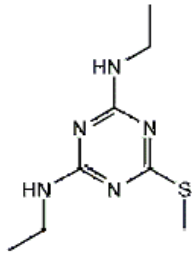
<p>46. 項目名 ; シハロトリン</p>	
<p>-</p>	
<p>Cyhalothrin</p>	
<p>CAS ; 68085-85-8</p>	
<p><math>C_{23}H_{19}ClF_3NO_3</math></p>	
<p>分子量 ; 449.86</p>	
<p>分析法 ; GC/MS 一斉分析法</p>	
<p><math>\log P_{ow}</math> ; 6.80</p>	
<p>備考 ; 異性体数(2)</p>	

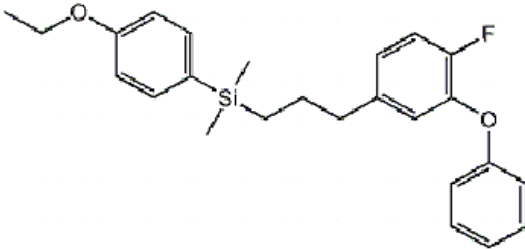
<p>47. 項目名 ; シペルメトリン</p>	
<p>-</p>	
<p>Cypermethrin</p>	
<p>CAS ; 52315-07-8</p>	
<p><math>C_{22}H_{19}Cl_2NO_3</math></p>	
<p>分子量 ; 416.30</p>	
<p>分析法 ; GC/MS 一斉分析法</p>	
<p><math>\log P_{ow}</math> ; 6.60</p>	
<p>備考 ; 異性体数(4)</p>	

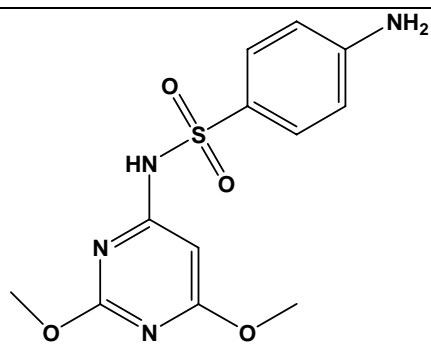
48.項目名 ; シマジン	
-	
Simazine, CAT	
CAS ; 122-34-9	
$C_7H_{12}ClN_5$	
分子量 ; 201.66	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 2.18	
備考 ; $pK_a = 1.62$	

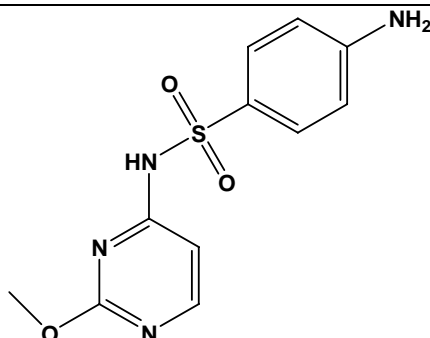
49.項目名 ; ジメトエート	
-	
Dimethoate	
CAS ; 60-51-5	
$C_5H_{12}NO_3PS_2$	
分子量 ; 229.25	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 0.78	
備考 ;	

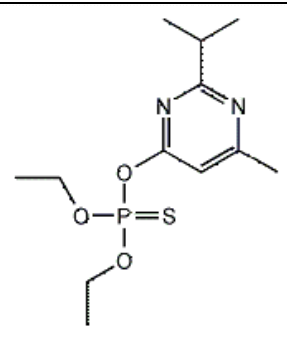
50.項目名 ; ジメトモルフ	
-	
Dimethomorph	
CAS ; 110488-70-5	
$C_{21}H_{22}ClNO_4$	
分子量 ; 387.86	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 2.68	
備考 ; 異性体数(2)	

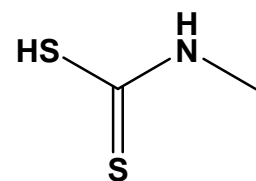
51. 項目名 ; シメトリン	
-	
Simetryn	
CAS ; 1014-70-6	
$C_8H_{15}N_5S$	
分子量 ; 213.30	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 2.80	
備考 ; pKa = 4 異性体数 (2)	

52. 項目名 ; シラフルオフェン	
-	
Silafluofen	
CAS ; 105024-66-6	
$C_{25}H_{29}FO_2Si$	
分子量 ; 408.59	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 8.20	
備考 ;	

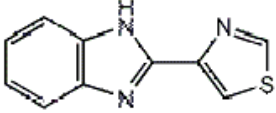
53. 項目名 ; スルファジメトキシ	
-	
Sulfadimethoxine	
CAS ; 122-11-2	
$C_{12}H_{14}N_4O_4S$	
分子量 ; 310.33	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 1.63	
備考 ;	

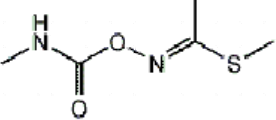
54. 項目名 ; スルファモノメトキシシ	
-	
Sulfamonomethoxine	
CAS ; 1220-83-3	
$C_{11}H_{12}N_4O_3S$	
分子量 ; 280.30	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 0.70	
備考 ;	

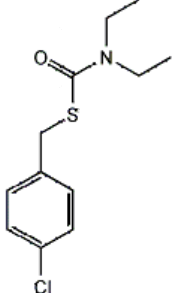
55. 項目名 ; ダイアジノン	
-	
Diazinon	
CAS ; 333-41-5	
$C_{12}H_{21}N_2O_3PS$	
分子量 ; 304.35	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.81	
備考 ;	

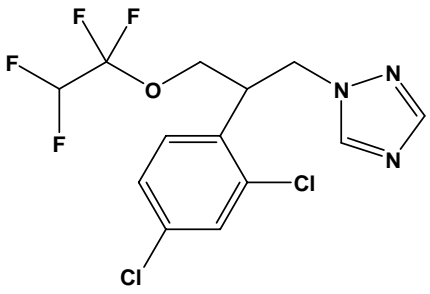
56. 項目名 ; ダゾメット、メタム及びメチルイソチオシアネート	
代表物質名 ; メタム	
Metam	
CAS ; 144-54-7	
$C_2H_3NS_2$	
分子量 ; 107.19	
分析法 ; メタム類似分析法	
$\log P_{ow}$ ;	
備考 ; メチルイソチオシアネート (Methyl isothiocyanate, $C_2H_3NS_2$ ) ダゾメット (Dazomet, $C_5H_{10}N_2S_2$ , $\log P_{ow} = 0.63$ )	

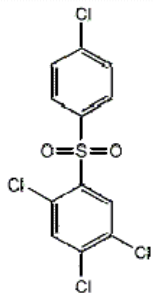


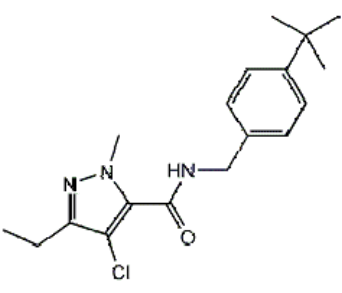
57. 項目名 ; チアベンダゾール	
-	
Thiabendazole	
CAS ; 148-79-8	
C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> S	
分子量 ; 201.25	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; 2.47	
備考 ; pKa = 4.64	

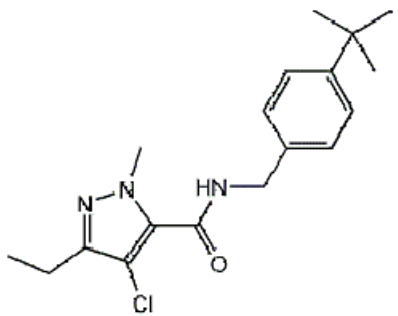
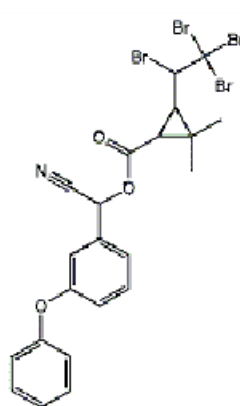
58. 項目名 ; チオジカルブ及びメソミル	
代表物質名 ; メソミル	
Methomyl	
CAS ; 16752-77-5	
C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	
分子量 ; 162.21	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; 0.60	
備考 ; チオジカルブ (Thiodicarb, C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S <sub>3</sub> , log P <sub>ow</sub> = 1.70)	
メソミルの代謝物であるメソミルオキシム (Methomyl-oxim) も対象となる。	

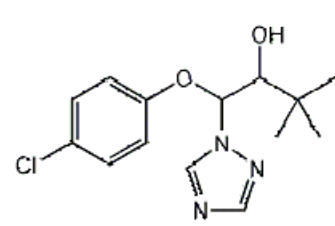
59. 項目名 ; チオベンカルブ	
-	
Thiobencarb	
CAS ; 28249-77-6	
C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> ClNOS	
分子量 ; 257.78	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; 3.40	
備考 ;	

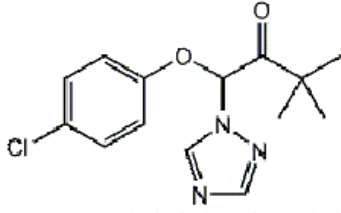
60. 項目名 ; テトラコナゾール	
-	
Tetraconazole	
CAS ; 131320-41-7	
$C_{13}H_{11}Cl_2F_4N_3O$	
分子量 ; 372.15	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ;	
備考 ;	

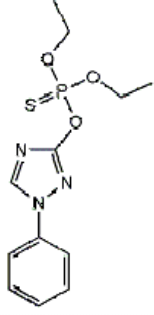
61. 項目名 ; テトラジホン	
-	
Tetradifon	
CAS ; 116-29-0	
$C_{12}H_6Cl_4O_2S$	
分子量 ; 356.05	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.61	
備考 ;	

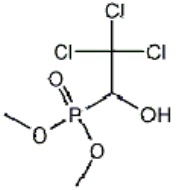
62. 項目名 ; テブフェンピラド	
-	
Tebufenpyrad	
CAS ; 119168-77-3	
$C_{18}H_{24}ClN_3O$	
分子量 ; 333.86	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.61	
備考 ;	

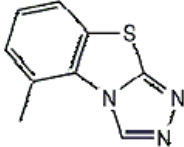
6 3 . 項目名 ; デルタメトリン及びトラロメトリン	
代表物質名 ; デルタメトリン	
Deltamethrin	
CAS ; 52918-63-5	
$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$	
分子量 ; 505.21	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 6.20	
備考 ; トラロメトリン (Tralomethrin, $C_{22}H_{19}Br_4NO_3$ , $\log P_{ow} = 7.56$ )	
	

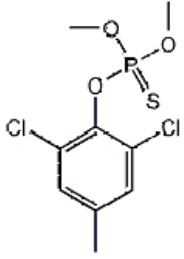
6 4 . 項目名 ; トリアジメノール	
-	
Triadimenol	
CAS ; 55219-65-3	
$C_{14}H_{18}ClN_3O_2$	
分子量 ; 295.77	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 2.90	
備考 ; トリアジメホンの代謝物	

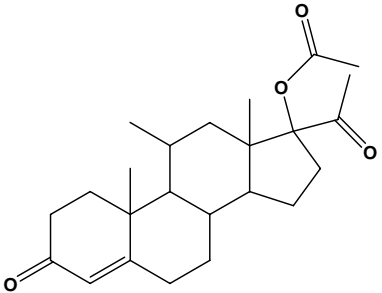
65. 項目名 ; トリアジメホン	
-	
Triadimefon	
CAS ; 43121-43-3	
$C_{14}H_{16}ClN_3O_2$	
分子量 ; 295.77	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 2.77	
備考 ;	

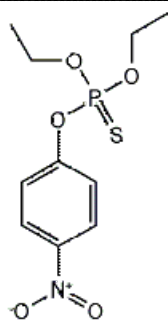
66. 項目名 ; トリアゾホス	
-	
Triazophos	
CAS ; 24017-47-8	
$C_{12}H_{16}N_3O_3PS$	
分子量 ; 313.31	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.34	
備考 ;	

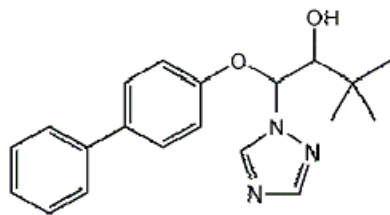
67. 項目名 ; トリクロルホン	
-	
Trichlorfon (DEP)	
CAS ; 52-68-6	
$C_4H_8Cl_3O_4P$	
分子量 ; 257.44	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 0.51	
備考 ;	

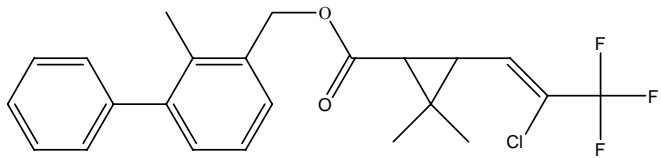
68. 項目名 ; トリシクラゾール	
-	
Tricyclazole	
CAS ; 41814-78-2	
$C_9H_7N_3S$	
分子量 ; 189.24	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 1.70	
備考 ;	

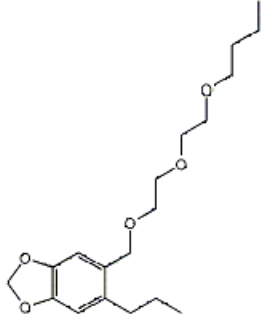
69. 項目名 ; トルクロホスメチル	
-	
Tolclofos-methyl	
CAS ; 57018-04-9	
$C_9H_{11}Cl_2O_3PS$	
分子量 ; 301.12	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.56	
備考 ;	

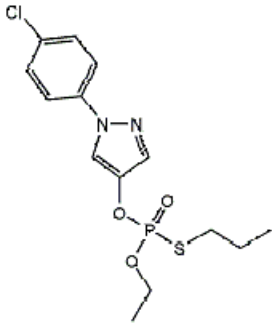
70. 項目名 ; ノルジェストメット	
-	
Norgestomet	
CAS ; 25092-41-5	
$C_{23}H_{32}O_4$	
分子量 ; 372.51	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ;	
備考 ;	

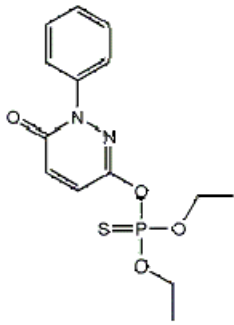
7 1 . 項目名 ; パラチオン	
-	
Parathion	
CAS ; 56-38-2	
$C_{10}H_{14}NO_5PS$	
分子量 ; 291.26	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.83	
備考 ;	

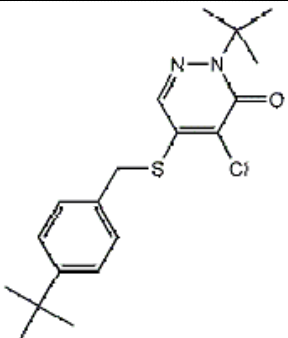
7 2 . 項目名 ; ビテルタノール	
-	
Bitertanol	
CAS ; 55179-31-2	
$C_{20}H_{23}N_3O_2$	
分子量 ; 337.42	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.16	
備考 ;	

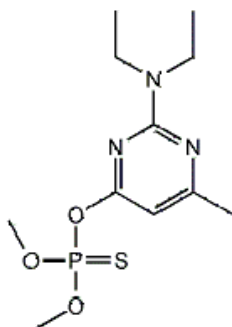
7 3 . 項目名 ; ビフェントリン	
-	
Bifenthrin	
CAS ; 82657-04-3	
$C_{23}H_{22}ClF_3O_2$	
分子量 ; 422.87	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 6.00	
備考 ;	


74. 項目名 ; ピペロニルブトキシド	
-	
Piperonyl butoxide	
CAS ; 51-03-6	
C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	
分子量 ; 338.44	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; 4.75	
備考 ;	

75. 項目名 ; ピラクロホス	
-	
Pyraclofos	
CAS ; 77458-01-6	
C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS	
分子量 ; 360.80	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; 3.77	
備考 ;	

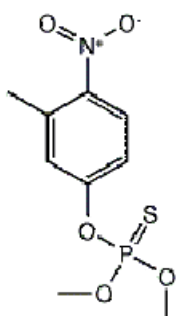
76. 項目名 ; ピリダフェンチオン	
-	
Pyridaphenthion	
CAS ; 119-12-0	
C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> PS	
分子量 ; 340.33	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; 3.20	
備考 ;	

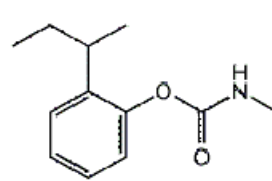
77. 項目名 ; ピリダベン	
-	
Pyridaben	
CAS ; 96489-71-3	
C <sub>19</sub> H <sub>25</sub> ClN <sub>2</sub> OS	
分子量 ; 364.94	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; 6.37	
備考 ;	

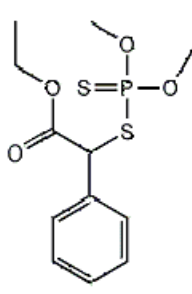
78. 項目名 ; ピリミホスメチル	
-	
Pirimiphos-methyl	
CAS ; 29232-93-7	
C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS	
分子量 ; 305.33	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; 4.20	
備考 ;	

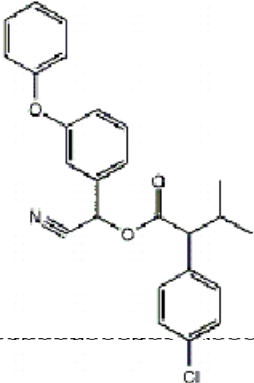
79. 項目名 ; フィプロニル	
-	
Fipronil	
CAS ; 120068-37-3	
C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>6</sub> N <sub>4</sub> OS	
分子量 ; 437.15	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; 4.00	
備考 ;	

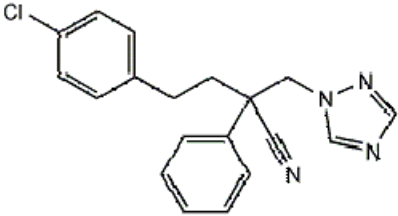


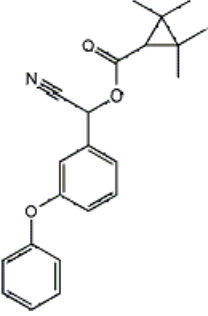
80. 項目名 ; フェニトロチオン	
-	
Fenitrothion, MEP	
CAS ; 122-14-5	
$C_9H_{12}NO_5PS$	
分子量 ; 277.23	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.30	
備考 ;	

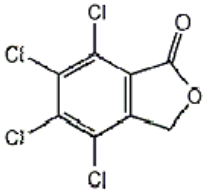
81. 項目名 ; フェノブカルブ	
-	
Fenobucarb, BPMC	
CAS ; 3766-81-2	
$C_{12}H_{17}NO_2$	
分子量 ; 207.27	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 2.78	
備考 ;	

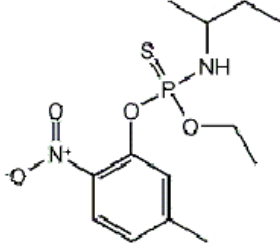
82. 項目名 ; フェントエート	
-	
Phenthoate, PAP	
CAS ; 2597-03-7	
$C_{12}H_{17}O_4PS_2$	
分子量 ; 320.36	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.69	
備考 ;	

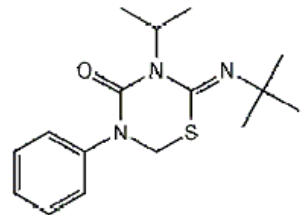
8 3 . 項目名 ; フェンバレレート	
-	
Fenvalerate	
CAS ; 51630-58-1	
$C_{25}H_{22}ClNO_3$	
分子量 ; 419.91	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 6.20	
備考 ; 異性体数 (2)	

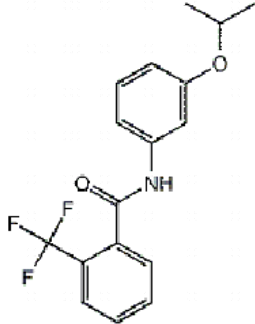
8 4 . 項目名 ; フェンブコナゾール	
-	
Fenbuconazole	
CAS ; 114369-43-6	
$C_{19}H_{17}ClN_4$	
分子量 ; 336.83	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.23	
備考 ;	

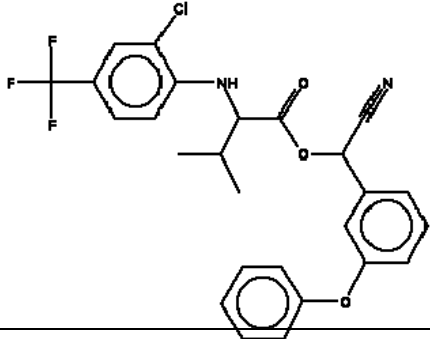
8 5 . 項目名 ; フェンプロパトリン	
-	
Fenpropathrin	
CAS ; 39515-41-8	
$C_{22}H_{23}NO_3$	
分子量 ; 349.43	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 5.70	
備考 ;	

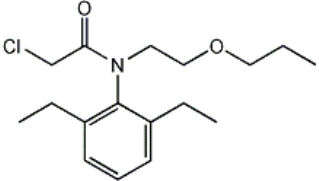
86. 項目名 ; フサライド	
-	
Fthalide	
CAS ; 27355-22-2	
$C_8H_2Cl_4O_2$	
分子量 ; 271.91	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.20	
備考 ;	

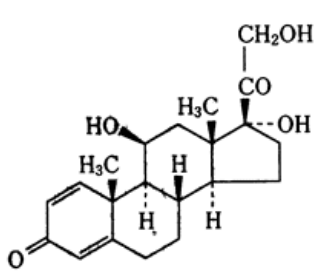
87. 項目名 ; ブタミホス	
-	
Butamifos	
CAS ; 36335-67-8	
$C_{13}H_{21}N_2O_4PS$	
分子量 ; 332.36	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.62	
備考 ;	

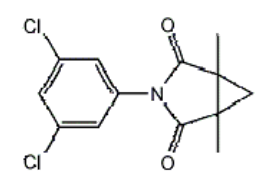
88. 項目名 ; ブプロフェジン	
-	
Buprofezin	
CAS ; 69327-76-0	
$C_{16}H_{23}N_3OS$	
分子量 ; 305.44	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.30	
備考 ;	

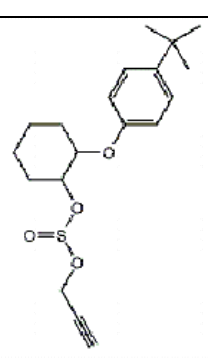
89. 項目名 ; フルトラニル	
-	
Flutolanil	
CAS ; 66332-96-5	
$C_{17}H_{16}F_3NO_2$	
分子量 ; 323.31	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.70	
備考 ;	

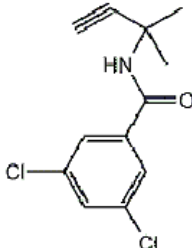
90. 項目名 ; フルバリネート	
-	
Fluvalinate	
CAS ; 69409-94-5	
$C_{26}H_{22}ClF_3N_2O_3$	
分子量 ; 502.92	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 6.81	
備考 ; 異性体数 (2)	

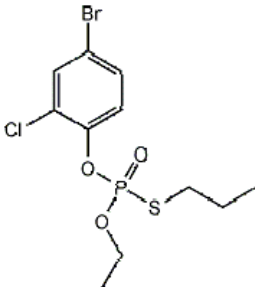
91. 項目名 ; プレチラクロール	
-	
Pretalachlor	
CAS ; 51218-49-6	
$C_{17}H_{26}ClNO_2$	
分子量 ; 311.85	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.08	
備考 ;	

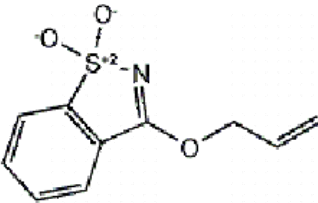
9 2 . 項目名 ; プレドニゾロン	
-	
Prednisolone	
CAS ; 50-24-8	
$C_{22}H_{28}O_5$	
分子量 ; 360.45	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 1.62	
備考 ;	

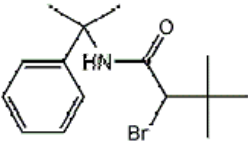
9 3 . 項目名 ; プロシミドン	
-	
Procymidone	
CAS ; 32809-16-8	
$C_{13}H_{11}Cl_2NO_2$	
分子量 ; 284.14	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.08	
備考 ;	

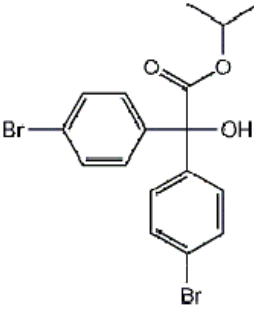
9 4 . 項目名 ; プロパルギット	
-	
Propargite, BPPS	
CAS ; 2312-35-8	
$C_{19}H_{26}O_4S$	
分子量 ; 350.47	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 5.00	
備考 ; 異性体数 (2)	

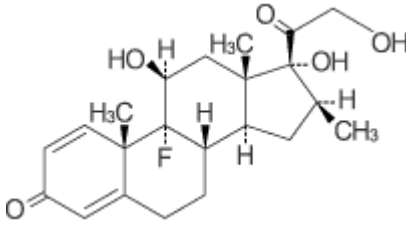
95. 項目名 ; プロピザミド	
-	
Propyzamide	
CAS ; 23950-58-5	
$C_{12}H_{11}Cl_2NO$	
分子量 ; 256.13	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.43	
備考 ;	

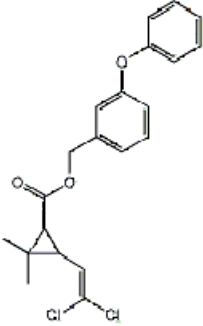
96. 項目名 ; プロフェノホス	
-	
Profenofos	
CAS ; 41198-08-7	
$C_{11}H_{15}BrClO_3PS$	
分子量 ; 373.63	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.68	
備考 ;	

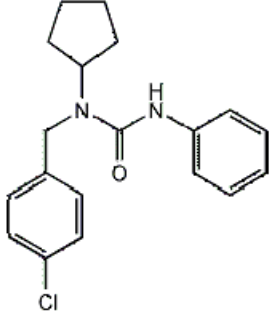
97. 項目名 ; プロベナゾール	
-	
Probenazole	
CAS ; 27605-76-1	
$C_{10}H_9NO_3S$	
分子量 ; 223.25	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 1.40	
備考 ;	

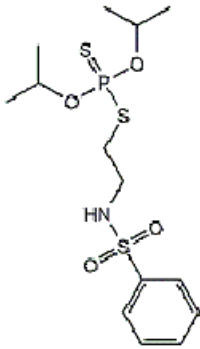
98. 項目名 ; プロモブチド	
-	
Bromobutide	
CAS ; 74712-19-9	
$C_{15}H_{22}BrNO$	
分子量 ; 312.25	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.47	
備考 ;	

99. 項目名 ; プロモプロピレート	
-	
Bromopropylate	
CAS ; 18181-80-1	
$C_{17}H_{16}Br_2O_3$	
分子量 ; 428.12	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 5.40	
備考 ;	

100. 項目名 ; ベタメタゾン	
-	
Betamethasone	
CAS ; 378-44-9	
$C_{22}H_{29}FO_5$	
分子量 ; 392.47	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 1.94	
備考 ;	

101. 項目名 ; ペルメトリン	
-	
Permethrin	
CAS ; 52645-53-1	
$C_{21}H_{20}Cl_2O_3$	
分子量 ;	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 6.50	
備考 ; 異性体数 (2)	

102. 項目名 ; ペンシクロン	
-	
Pencycuron	
CAS ; 66063-05-6	
$C_{19}H_{21}ClN_2O$	
分子量 ; 328.84	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.82	
備考 ;	

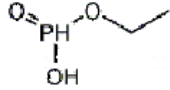
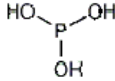
103. 項目名 ; ベンスリド	
-	
Bensulide, SAP	
CAS ; 741-58-2	
$C_{14}H_{24}NO_4PS_3$	
分子量 ; 397.50	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.20	
備考 ;	

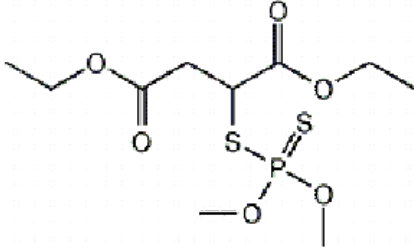


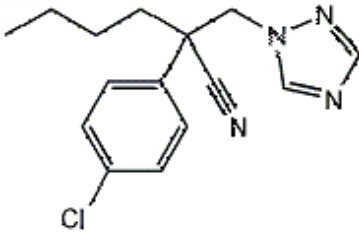
104. 項目名 ; ベンタゾン	
-	
Bentazon	
CAS ; 25057-89-0	
$C_{10}H_{12}N_2O_3S$	
分子量 ; 240.28	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 2.34	
備考 ; pKa = 2.92	

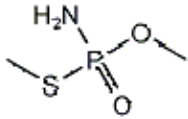
105. 項目名 ; ペンディメタリン	
-	
Pendimethalin	
CAS ; 40487-42-1	
$C_{13}H_{19}N_3O_4$	
分子量 ; 281.31	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 5.18	
備考 ;	

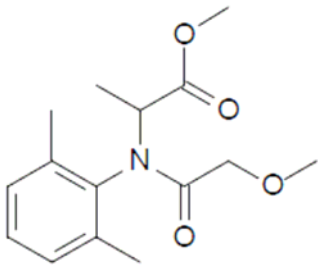
106. 項目名 ; ベンフラカルブ、カルボフラン、3-OHカルボフラン	
代表物質名 ベンフラカルブ	
Benfuracarb	
CAS ; 82560-54-1	
$C_{20}H_{30}N_2O_5S$	
分子量 ; 410.53	
分析法 ; LC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 4.30	
備考 ; カルボフラン Carbofuran : 1563-66-2	

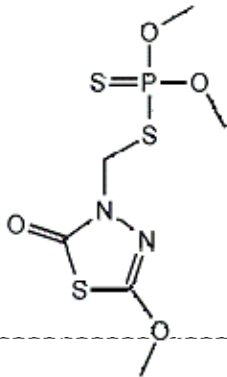
107. 項目名 ; ホセチル及び亜リン酸	
代表物質 : ホセチル	
Fosetyl	
CAS ; 39148-24-8	
C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> O <sub>3</sub> P	
分子量 ; 110.05	
分析法 ; グリホサート系分析法	
log P <sub>ow</sub> ; -2.40	
備考 ; 亜リン酸 Phosphorous acid : 10294-86-1	
	

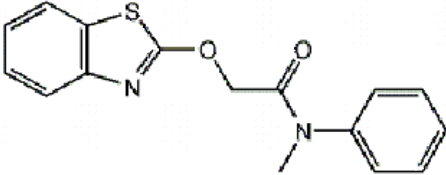
108. 項目名 ; マラチオン	
-	
Malathion	
CAS ; 121-75-5	
C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O <sub>6</sub> PS <sub>2</sub>	
分子量 ; 330.35	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; 2.36	
備考 ;	

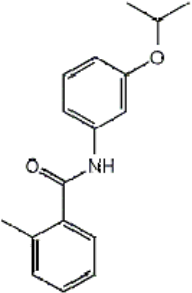
109. 項目名 ; ミクロブタニル	
-	
Myclobutanil	
CAS ; 88671-89-0	
C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>4</sub>	
分子量 ; 288.78	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; 2.94	
備考 ;	

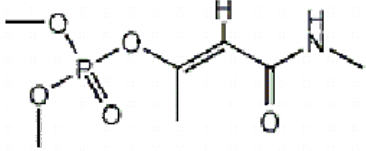
110. 項目名 ; メタミドホス	
-	
Methamidophos	
CAS ; 10265-92-6	
C <sub>2</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>2</sub> PS	
分子量 ; 141.13	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; -0.80	
備考 ;	

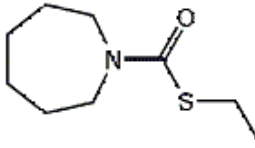
111. 項目名 ; メタラキシル、メフェノキサム	
代表物質 ; メタラキシル	
Metalaxyl	
CAS ; 57837-19-1	
C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	
分子量 ; 279.34	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; 1.75	
備考 ; メフェノキサム(メタラキシル M)	

112. 項目名 ; メチダチオン	
-	
Methidathion	
CAS ; 950-37-8	
C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> PS <sub>3</sub>	
分子量 ; 302.32	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
log P <sub>ow</sub> ; 2.20	
備考 ;	

1 1 3 . 項目名 ; メフェナセット	
-	
Mefenacet	
CAS ; 73250-68-7	
$C_{16}H_{14}N_2O_2S$	
分子量 ; 298.36	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.23	
備考 ;	

1 1 4 . 項目名 ; メプロニル	
-	
Mepronil	
CAS ; 55814-41-0	
$C_{17}H_{19}NO_2$	
分子量 ; 269.34	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.66	
備考 ;	

1 1 5 . 項目名 ; モノクロトホス	
-	
Monocrotophos	
CAS ; 6923-22-4	
$C_7H_{14}NO_5P$	
分子量 ; 223.17	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; -0.20	
備考 ;	

116. 項目名 ; モリネート	
-	
Molinate	
CAS ; 2212-67-1	
$C_9H_{17}NOS$	
分子量 ; 187.30	
分析法 ; GC/MS 一斉分析法	
$\log P_{ow}$ ; 3.21	
備考 ;	