

## 5 稲わら中のベンフラカルブ及びカルボスルファンの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法の開発

顯谷 久典<sup>\*1</sup>, 近藤 勝<sup>\*2</sup>, 船水 悦子<sup>\*2</sup>, 荒木 愛<sup>\*3</sup>, 青山 幸二<sup>\*4</sup>

### Development of Simultaneous Determination Method of Benfuracarb and Carbosulfan in Rice Straw by LC-MS/MS

ARAYA Hisanori<sup>\*1</sup>, KONDO Masaru<sup>\*2</sup>, FUNAMIZU Etusko<sup>\*2</sup>, ARAKI Ai<sup>\*3</sup> and AOYAMA Koji<sup>\*4</sup>

(\*<sup>1</sup> Sapporo Regional Center, Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC) (Now Fertilizer and Feed Inspection Department, FAMIC),

<sup>\*2</sup> Sapporo Regional Center, FAMIC,

<sup>\*3</sup> Sapporo Regional Center, FAMIC (Now Food Labeling Monitoring Department),

<sup>\*4</sup> Fertilizer and Feed Inspection Department, FAMIC)

We have developed a simultaneous quantitative determination method of the concentration of benfuracarb and carbosulfan in rice straw using a liquid-chromatograph electrospray-ionization tandem mass spectrometer (LC-ESI-MS/MS).

Having added silver nitrate solution and phosphate buffer (pH 8.0) to a sample, benfuracarb and carbosulfan were extracted with acetone, and the extracted solution was filtered. The filtrate was then diluted with acetone. The diluted solution was purified with a solid phase extraction (SPE) column I (Bond Elut Jr C18, Agilent Technologies Inc.; Santa Clara, CA, USA), and injected into an LC-MS/MS to determine the concentration of benfuracarb and carbosulfan. LC separation was then carried out on a ODS column (Mightysil RP-18GP, 2.0 mm i.d. × 150 mm, 5 μm, Kanto Chemical Inc.; Tokyo, Japan) with a gradient of 2 mmol/L ammonium acetate solution and acetonitrile as a mobile phase. In the MS/MS analysis, the positive mode electrospray ionization (ESI+) was used.

An elution pattern study of benfuracarb and carbosulfan from the SPE column I was conducted. A sample solution prepared by adding pesticides to acetone was applied to the SPE column I and eluted with acetonitrile, acetone, and hexane. As a result, benfuracarb was not sufficiently eluted.

Elution pattern and matrix effect studies of the pesticides were then conducted using the SPE column II (InertSep PLS-2, GL Sciences Inc.; Tokyo, Japan) instead of the SPE column I. A sample solution prepared by adding the pesticides to a rice straw extract was applied to the SPE column II and eluted with hexane. As a result, it was confirmed that the pesticides were sufficiently eluted with hexane and the eluate with hexane effectively determined the pesticides without being affected by matrix.

In addition, an elution pattern study of the pesticides from the SPE column III (ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub>, Sigma-Aldrich Co. LLC.; St. Louis, MO, USA) was conducted for adding a procedure of purification. A sample solution prepared by adding the pesticides to hexane was applied to the SPE column III, and eluted with different kinds of organic solvents. As a result, it was confirmed that the pesticides

---

\*1 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター, 現 肥飼料安全検査部

\*2 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

\*3 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター, 現 表示監視部

\*4 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

were sufficiently eluted with hexane-ethyl acetate (7:3).

**Key words:** benfuracarb; carbosulfan; liquid-chromatograph tandem mass spectrometer (LC-MS/MS); electrospray ionization (ESI); rice straw

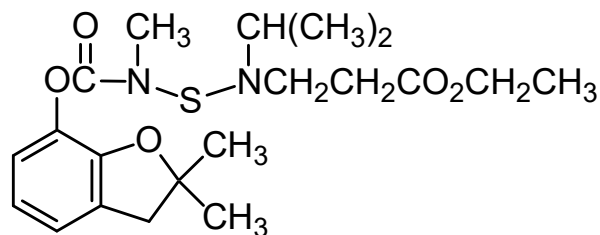
**キーワード:** ベンフラカルブ ; カルボスルファン ; 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 ; エレクトロスプレーイオン化法 ; 稲わら

## 1 緒 言

ベンフラカルブは大塚化学, カルボスルファンは FMC (米国) により開発されたカーバメート系殺虫剤であり, 昆虫の神経伝達系に存在するアセチルコリンエステラーゼの活性を阻害することにより殺虫活性を示すと考えられている<sup>1)</sup>. 我が国では, ベンフラカルブは 1986 年に, カルボスルファンは 1983 年に初回農薬登録されている. カルボスルファンについては, 飼料中の管理基準値<sup>2)</sup>として, 稲わらで 0.7 mg/kg, 稲発酵粗飼料 (以下「WCRS」という.) で 1 mg/kg が設定されているが, 分析法が飼料分析基準<sup>3)</sup>に記載されていない. また, ベンフラカルブについては飼料中の基準値は設定されていないものの, ベンフラカルブ及びカルボスルファンの共通代謝・分解物であるカルボフラン又は 3-OH カルボフランが検出された場合, その親化合物を確認するため, ベンフラカルブとカルボスルファンは同時に分析できることが望ましいと考えられる.

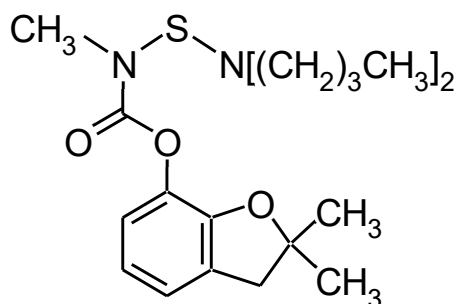
そこで, 財団法人日本食品分析センターが平成 21 年度及び平成 23 年度に「飼料中の有害物質等分析法開発委託事業」において開発した分析法<sup>4), 5)</sup> (以下「JFRL 法」という.) を基に, 飼料用稲 (稲わら, WCRS) を対象とするベンフラカルブ及びカルボスルファンの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 (以下「LC-MS/MS」という.) による同時定量法の飼料分析基準への収載の可否を検討したので, その概要を報告する.

参考にベンフラカルブ及びカルボスルファンの構造式等を Fig. 1 に示した.



Benfuracarb

ethyl N-[2,3-dihydro-2,2-dimethylbenzofuran-7-  
yloxycarbonyl(methyl)-aminothio]-N-isopropyl-β-alaninate  
C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S MW: 410.5 CAS No.: 82560-54-1



Carbosulfan

2,3-dihydro-2,2-dimethylbenzofuran-7-  
yl(dibutylaminothio)methylcarbamate  
C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S MW: 380.5 CAS No.: 55285-14-8

Fig. 1 Chemical structures of benfuracarb and carbosulfan

## 2 実験方法

### 2.1 試料

稲わらは目開き 1 mm のスクリーンを装着した粉砕機で粉砕した。

### 2.2 試薬

- 1) アセトン, 酢酸エチル及びヘキサンは残留農薬・PCB 試験用を用いた。アセトニトリルは残留農薬・PCB 試験用 (LC-MS/MS の溶離液のみ LC-MS 用 (関東化学製)) を用いた。1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液は高速液体クロマトグラフ用 (関東化学製) を用いた。硝酸銀, リン酸水素二ナトリウム及びリン酸二水素カリウムは試薬特級を用いた。水は Milli-Q Advantage (Merck Millipore 製) により精製した超純水 (JIS K0211 の 5218 に定義された超純水) を用いた。
- 2) 1/15 mol/L リン酸緩衝液 (pH 8.0)  
1/15 mol/L リン酸水素二ナトリウム溶液に 1/15 mol/L リン酸二水素カリウム溶液を加えて pH 8.0 に調整した。
- 3) ベンフラカルブ標準原液  
ベンフラカルブ標準品 (富士フィルム和光純薬製, 純度 99.6 %) 25 mg を正確に量って 50 mL の全量フラスコに入れ, アセトンを加えて溶かし, 更に標線まで同溶媒を加えてベンフラ

カルブ標準原液を調製した（この液 1 mL は、ベンフラカルブとして 0.5 mg を含有）。

#### 4) カルボスルファン標準原液

カルボスルファン標準品（富士フィルム和光純薬製，純度 99.8 %）25 mg を正確に量って 50 mL の全量フラスコに入れ，アセトンを加えて溶かし，更に標線まで同溶媒を加えてカルボスルファン標準原液を調製した（この液 1 mL は，カルボスルファンとして 0.5 mg を含有）。

#### 5) 混合標準液

各標準原液 1 mL を 50 mL の全量フラスコに入れて混合し，更に標線までアセトンを加えて混合標準原液を調製した（この液 1 mL は，ベンフラカルブ及びカルボスルファンとして各 10 µg を含有）。

使用に際して，混合標準原液の一定量を，アセトニトリルで正確に希釈し，1 mL 中にベンフラカルブ及びカルボスルファンとして 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 3, 4 及び 5 ng を含有する各混合標準液を調製した。

### 2.3 装置及び器具

- 1) 粉碎機：SM 100 Retsch 製（目開き 1 mm スクリーン，回転数（仕様）1430 rpm）
- 2) 振り混ぜ機：レシプロシェーカーSR-2W タイテック製（使用時振とう数 300 rpm）
- 3) オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（以下「ミニカラム I」という。）：Bond Elut Jr C18（500 mg）Agilent Technologies 製
- 4) スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム（以下「ミニカラム II」という。）：InertSep PLS-2（270 mg）ジーエルサイエンス製
- 5) グラファイトカーボン／アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム（以下「ミニカラム III」という。）：ENVI-Carb/LC-NH2（500 mg/500 mg）Sigma-Aldrich 製
- 6) メンブランフィルター：DISMIC-13HP（孔径 0.45 µm，直径 13 mm，親水性 PTFE）東洋濾紙製
- 7) LC-MS/MS：  
LC 部：ACQUITY UPLC System Waters 製  
MS 部：Quattro Premier XE Waters 製

### 2.4 定量方法（JFRL 法）

#### 1) 抽出

分析試料 10.0 g を量って 300 mL の共栓三角フラスコに入れ，0.1 mol/L 硝酸銀溶液 2 mL 及び 1/15 mol/L リン酸緩衝液 30 mL を加え，30 分間静置後，更にアセトン 120 mL を加え，30 分間振り混ぜて抽出した。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き，抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後，先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 40 mL で洗浄し，同様に吸引ろ過した。さらに全量フラスコの標線までアセトンを加えた。この液を，カラム処理に供する試料溶液とした。

#### 2) カラム処理

ミニカラム I をアセトニトリル 5 mL 及び水 5 mL で洗浄した。試料溶液 2 mL をあらかじめ水 20 mL を入れた容器に正確に加え混和し，ミニカラム I に入れ，液面が充てん剤の上端に達するまで流出（流速が 1~2 mL/min 程度になるよう吸引した。以下同様。）させた。試料溶液の入っていた容器をアセトニトリル-水（2+3）10 mL で洗浄し，洗液をミニカラム I に加え，

全量を流出させた。10 mL の全量フラスコをミニカラム I の下に置き、アセトニトリル 10 mL をミニカラム I に加えてベンフラカルブ及びカルボスルファンを溶出させた後にメンブランフィルターでろ過し、LC-MS/MS による測定に供する試料溶液とした。

### 3) LC-MS/MS による測定

試料溶液及び各混合標準液各 2  $\mu$ L を LC-MS/MS に注入し、選択反応検出（以下「SRM」という。）クロマトグラムを得た。測定条件を Table 1 及び 2 に示した。

Table 1 Operation conditions of LC-MS/MS

Column	Mightysil RP-18GP (2 mm i.d. $\times$ 150 mm, 5 $\mu$ m), Kanto Chemical
Mobile phase	2 mmol/L ammonium acetate – acetonitrile (1:1) $\rightarrow$ 3 min $\rightarrow$ (1:19) (hold for 15 min)
Flow rate	0.2 mL/min
Column temperature	40 $^{\circ}$ C
Ionization	Electrospray ionization (ESI)
Mode	Positive
Source temperature	120 $^{\circ}$ C
Desolvation gas	N <sub>2</sub> (800 L/h, 400 $^{\circ}$ C )
Cone gas	N <sub>2</sub> (50 L/h)
Capillary voltage	2.5 kV
Collision gas	Ar (0.25 mL/min)

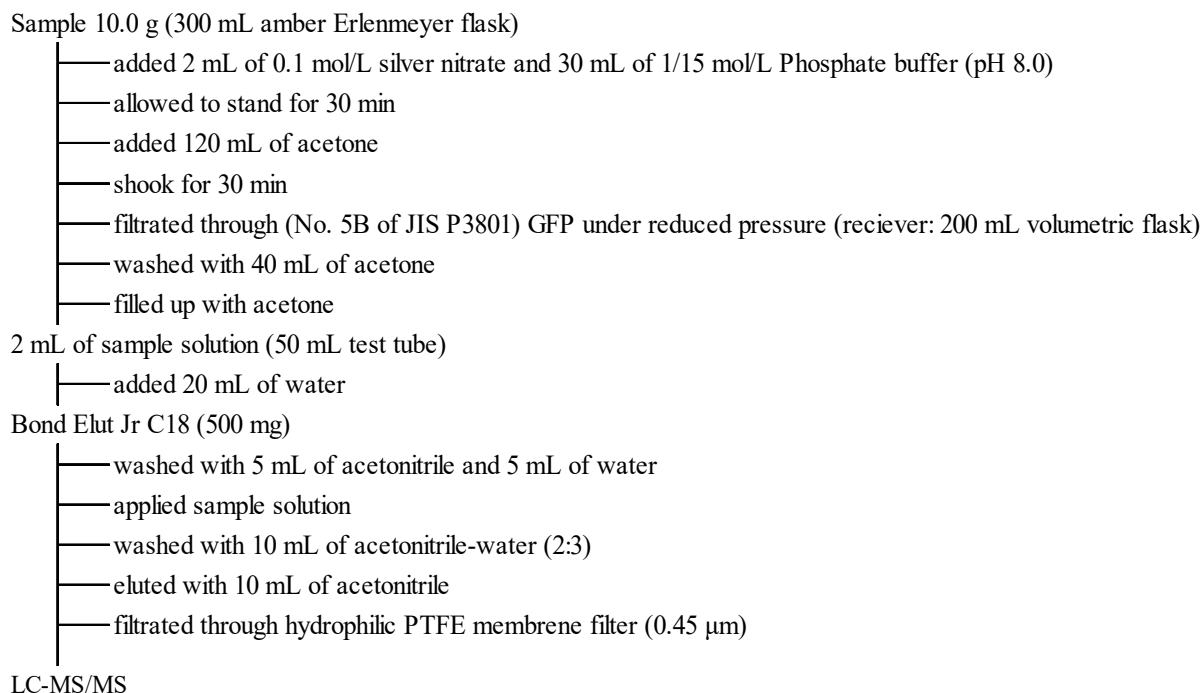
Table 2 MS/MS parameters

Target	Precursor ion ( <i>m/z</i> )	Product ion		Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
		Quantifier ( <i>m/z</i> )	Qualifier ( <i>m/z</i> )		
Benfuracarb	411	195	-	46	31
		-	190	46	17
Carbosulfan	381	118	-	21	27
		-	160	21	21

### 4) 計 算

得られた SRM クロマトグラムからピーク面積及び高さを求めて検量線を作成し、試料中のベンフラカルブ量及びカルボスルファン量を算出した。

なお、定量法の概要を Scheme 1 に示した。



Scheme 1 Analytical procedure for benfuracarb and carbosulfan (developed by JFRL)

## 2.5 ミニカラム I (Bond Elut Jr C18) からの溶出画分の確認

ベンフラカルブ及びカルボスルファンとしてそれぞれ 0.07 mg/kg 相当量となるよう添加したアセトン 2 mL を、あらかじめ水 20 mL を入れた容器に加え混和し、カラム処理に供する標準液を調製した。以降、異なる 2 ロットのミニカラム I について、以下のとおり溶出画分の確認を実施した。

- 1) ヘキサン 5 mL, アセトン 5 mL, アセトニトリル 5 mL 及び水 5 mL の順にミニカラム I を洗浄後、標準液を加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させ、その全量を採取した。
- 2) 1)の後、標準液の入っていた容器をアセトニトリル-水 (2+3) 10 mL で洗浄し、洗液をミニカラム I に加え流出させ、その全量を採取した。
- 3) 2)の後、アセトニトリルをミニカラム I に加え、0~5 mL, 5~10 mL, 10~15 mL, 15~20 mL の溶出画分を採取した。
- 4) 3)でアセトニトリルを加えた後、更にアセトン 5 mL, ヘキサン 5 mL を順次ミニカラム I に加え、20~25 mL 及び 25~30 mL の溶出画分を採取した。

1), 2)及び 4)については、溶媒をアセトニトリルに置換後、また 3)についてはそのまま 2.4 の 3)及び 4)に従って定量した。

## 2.6 ミニカラム II (InertSep PLS-2) からの溶出画分の確認

ベンフラカルブ及びカルボスルファンとしてそれぞれ 0.07 mg/kg 相当量となるよう添加したアセトン 2 mL を、あらかじめ水 20 mL を入れた容器に加え混和し、カラム処理に供する標準液を調製した。ミニカラム II をヘキサン 5 mL, アセトン 5 mL, アセトニトリル 5 mL 及び水 5 mL の順に洗浄後、標準液をミニカラム II に入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた。その後、標準液の入っていた容器をアセトニトリル-水 (2+3) で洗浄し、洗液をミニカラム II に加え、液面が充填剤の上端に達するまで流出させ 10 mL を採取し画分液とした。その後、アセト

ニトリル-水 (3+2) , アセトニトリル-水 (7+3) , アセトニトリル-水 (4+1) , アセトニトリル-水 (9+1) , アセトニトリル, アセトン及びヘキサンの順に各 10 mL を順次ミニカラム II に加え, 流出液を 10 mL ごとに採取し画分液とした. 採取した画分液の溶媒をアセトニトリルに置換後, 2.4 の 3)及び 4)に従って定量した.

#### 2.7 ミニカラム II (InertSep PLS-2) からの溶出画分の確認 (稲わら試料溶液)

稲わらを用いて 2.4 の 1)により抽出し, これにベンフラカルブ及びカルボスルファンとしてそれぞれ 0.7 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中でそれぞれ 1.4 ng/mL 相当量) を添加した抽出液 0.2 mL を, あらかじめ 1/15 mol/L リン酸緩衝液 20 mL を入れた容器に加え混和し, カラム処理に供する試料溶液を調製した. ミニカラム II をヘキサン 5 mL, アセトニトリル 5 mL 及び 1/15 mol/L リン酸緩衝液 5 mL の順に洗浄後, 試料溶液をミニカラム II に入れ, 液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた. さらにアセトニトリル-水 (2+3) 10 mL を試料溶液の入っていた容器に加えて洗浄し, 洗液をミニカラムに加えて全量を流出させた. その後, ヘキサンをミニカラム II に加え, 0~5 mL, 5~10 mL, 10~15 mL, 15~20 mL の溶出画分を採取した. 採取した画分液の溶媒をアセトニトリルに置換後, 2.4 の 3)及び 4)に従って定量した.

一方, 農薬を添加しない抽出液についても同様に処理し, 採取した画分液にベンフラカルブ及びカルボスルファンとしてそれぞれ 0.7 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中でそれぞれ 1.4 ng/mL 相当量) を加え, 溶媒をアセトニトリルに置換後, 2.4 の 3)及び 4)に従って定量し, マトリックス効果を確認した.

#### 2.8 ミニカラム III (ENVI-Carb/LC-NH2) からの溶出画分の確認

ベンフラカルブ及びカルボスルファンとしてそれぞれ 45 ng をヘキサンに添加した標準液 10 mL を調製した. ミニカラム III を酢酸エチル 10 mL 及びヘキサン 10 mL で洗浄後, ミニカラム III に試料溶液, ヘキサン-酢酸エチル (9+1) , ヘキサン-酢酸エチル (7+3) , ヘキサン-酢酸エチル (1+1) , ヘキサン-酢酸エチル (3+7) , ヘキサン-酢酸エチル (1+9) , 酢酸エチルの順に各 10 mL を加え, 溶出画分を採取した. 採取した画分液の溶媒をアセトニトリルに置換後, 2.4 の 3)及び 4)に従って定量した.

### 3 結果及び考察

#### 3.1 検量線

2.2 の 5)により調製した各混合標準液各 2  $\mu$ L を LC-MS/MS に注入し, 得られた SRM クロマトグラムからピーク面積及び高さを用いて検量線を作成した.

得られた検量線の一例は Fig. 2-1 及び Fig. 2-2 のとおりであり, 各 0.05~5 ng/mL (注入量として 0.0001~0.01 ng 相当量) の範囲で直線性を示した.

なお, 当該検量線の濃度範囲は, JFRL 法としてベンフラカルブ及びカルボスルファンを各 0.005~0.5 mg/kg 含有する分析用試料を本法に従い調製した最終試料溶液中の各農薬濃度範囲に相当する.

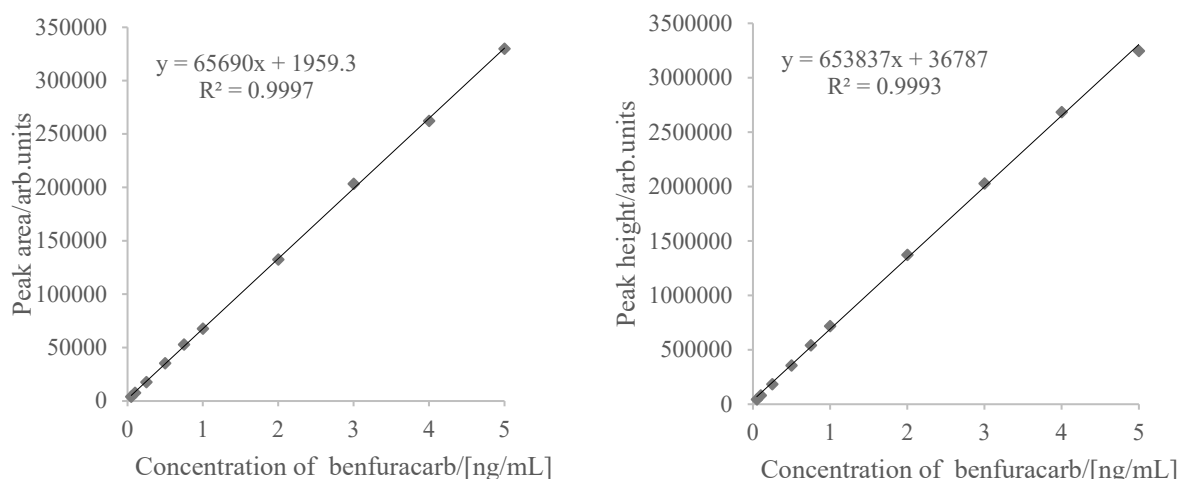


Fig. 2-1 Calibration curves of benfuracarb by peak area (left) and peak height (right)

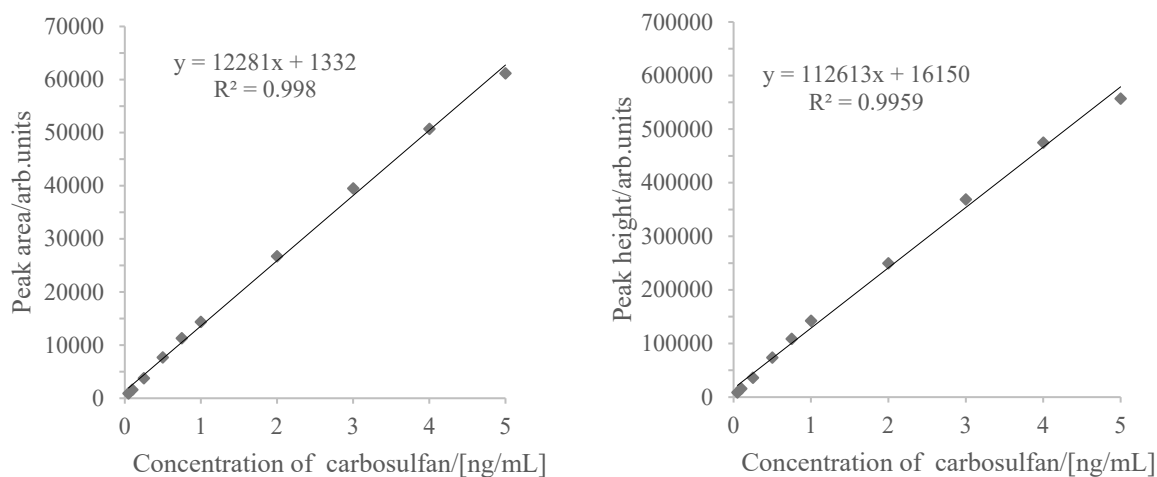


Fig. 2-2 Calibration curves of carbosulfan by peak area (left) and peak height (right)

### 3.2 ミニカラム I (Bond Elut Jr C18) からの溶出画分の確認

JFRL 法により稲わらを用いた添加回収試験等の予備検討を行ったところ、いずれも良好な結果が得られなかった。そこで、ミニカラム I の 2 ロットについて、2.5 に従い溶出画分を確認した。その結果は Table 3 のとおりであり、いずれの農薬も JFRL 法の溶出溶媒であるアセトニトリルでは十分に溶出されておらず、特にベンフラカルブはヘキサンでも十分に溶出されないことが判明した。



Table 3 Elution patterns of benfuracarb and carbosulfan from Bond Elut Jr C18  
(standard solution)

Pesticides	Serial/Lot No.	Recovery (%)								Total	
		Acetone-water (2:20)		Acetonitrile-water (2:3)		Acetonitrile			Acetone		Hexane
		about 20 mL	10 mL	0~5 mL	5~10 mL	10~15 mL	15~20 mL	20~25 mL	25~30 mL		
Benfuracarb	6577167-02	2	0	39	1	1	3	1	3	50	
	6593655-01	0	1	45	1	4	2	2	4	59	
Carbosulfan	6577167-02	4	1	38	3	3	6	4	19	77	
	6593655-01	0	2	39	6	3	5	7	32	93	

$n = 1$

### 3.3 ミニカラム II (InertSep PLS-2) からの溶出画分の確認

ミニカラム I ではベンフラカルブが溶出されないことが判明したため、JFRL 法検討時にミニカラム I との精製の差が認められなかったと報告されているミニカラム II について、2.6 に従い溶出画分を確認した。その結果は Table 4 のとおりであった。ミニカラム II は低極性のカラムであり、溶出溶媒の極性が低くなるほど各農薬は溶出されやすくなる。Table 4 より、アセトニトリル-水 (2+3) では各農薬が溶出されず、ヘキサンではほぼすべて溶出されたことから、各農薬を負荷後、アセトニトリル-水 (2+3) で洗浄し、ヘキサンにより溶出することが適当と考えられた。

次に、2.7 に従い、稲わらの試料溶液を用い、各農薬のヘキサンの溶出画分及び各画分の試料マトリックスによる測定値への影響を確認した。なお、マトリックスの影響を少なくするため試料溶液は 0.2 mL とした。また、試料溶液を水で希釈した場合、良好な結果が得られなかったことから、試料溶液は 1/15 mol/L リン酸緩衝液で希釈することとした。その結果は Table 5 のとおり、各農薬はヘキサン 20 mL で溶出され、いずれの画分も試料マトリックスによる大きな影響を受けることなく測定可能であった。

Table 4 Elution patterns of benfuracarb and carbosulfan from InertSep PLS-2 (standard solution)

Pesticides	Recovery (%)									Total
	Acetone-water		Acetonitrile-water				Acetonitrile	Acetone	Hexane	
	(2:20)	(2:3)	(3:2)	(7:3)	(4:1)	(9:1)				
	about 20 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL	
Benfuracarb	0	0	5	77	3	1	0	0	0	87
Carbosulfan	0	0	0	4	71	6	0	3	22	105

$n = 1$

Table 5 Elution patterns and matrix effects of benfuracarb and carbosulfan from InertSep PLS-2 (matrix: rice straw)

	Pesticides	Recovery (%)				Total
		Hexane				
		0~5 mL	5~10 mL	10~15 mL	15~20 mL	
Elution pattern	Benfuracarb	87	12	4	1	103
	Carbosulfan	89	17	12	11	129
Matrix effect	Benfuracarb	88	90	89	85	-
	Carbosulfan	116	117	115	115	-

n=3

### 3.4 ミニカラム III (ENVI-Carb/LC-NH2) からの溶出画分の確認

ミニカラム II からヘキサンで各農薬を溶出する場合、精製が不十分であることが考えられたため、他の精製カラムの追加を検討した。厚生省医薬食品局食品安全部長通知試験法<sup>6)</sup>（以下「通知法」という。）を参考に、ミニカラム III からの溶出画分を、2.8 に従って確認した。その結果は Table 6 のとおり、各農薬のヘキサン溶液を負荷し、ヘキサン-酢酸エチル (7+3) で溶出することにより 70 %以上の農薬が回収できたことから、同様の溶媒組成であるミニカラム II からのヘキサン溶出液についてもミニカラム III で精製が可能であることが示唆された。

Table 6 Elution patterns of benfuracarb and carbosulfan from ENVI-Carb/LC-NH2 (standard solution)

Pesticides	Hexane	Recovery (%)						Total
		Hexane-ethyl acetate					Ethyl acetate	
		(9:1)	(7:3)	(1:1)	(3:7)	(1:9)		
10 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL		
Benfuracarb	0	69	4	1	1	1	1	76
Carbosulfan	0	97	2	1	0	1	0	101

n=1

## 4 まとめ

飼料用稲に残留するベンフラカルブ及びカルボスルファンについて、LC-MS/MS を用いた同時定量法 (JFRL 法) の飼料分析基準への収載の可否について検討したところ、以下の結果が得られた。

1) 検量線はそれぞれ JFRL 法として各 0.05~5 ng/mL 相当量 (注入量として各 0.0001~0.01 ng 相当量) の範囲で直線性を示した。

なお、当該検量線の濃度範囲は、ベンフラカルブ及びカルボスルファンを各 0.005~0.5 mg/kg 含有する分析用試料を本法に従い調製した最終試料溶液中の各農薬濃度範囲に相当する。

2) ミニカラム I (Bond Elut Jr C18) のロット間差による影響及び溶出パターンを確認するため、試料溶液を導入せず、アセトニトリル-水、アセトニトリル、アセトン及びヘキサンで溶出画分を確認した結果、確認した 2 ロットともに、ベンフラカルブの十分な溶出が認められなかった。

- 3) JFRL 法検討時にミニカラム I との精製の差が認められなかったと報告されているミニカラム II (InertSep PLS-2) について、溶出画分を確認した。その結果、各農薬の溶出にはヘキサンが適当と考えられた。
- 4) ミニカラム II を使用し、稲わらの試料溶液 0.2 mL を用い、試料溶液は 1/15 mol/L リン酸緩衝液で希釈し、各農薬のヘキサンの溶出画分及び各画分のマトリックス効果を確認した。その結果ヘキサン 20 mL で各農薬が十分に溶出された。
- 5) ミニカラム II による精製後、さらに追加のミニカラムによる精製を検討するため、通知法を参考に、ミニカラム III (ENVI-Carb/LC-NH2) からの溶出画分を確認した。その結果、ミニカラム II からのヘキサン溶出液を負荷し、ヘキサン-酢酸エチル (7+3) により溶出することにより、70 %以上の農薬が回収できることが示唆された。

## 文 献

- 1) 環境省中央環境審議会土壌農薬部会農薬小委員会 (第 78 回) : 水質汚濁に係る農薬登録基準として環境大臣の定める基準の設定に関する資料, 令和 2 年 11 月 17 日 (2020).
- 2) 農林水産省畜産局長通知: 飼料の有害物質の指導基準及び管理基準について, 昭和 63 年 10 月 14 日, 63 畜 B 第 2050 号 (1988).
- 3) 財団法人日本食品分析センター: 平成 21 年度飼料中の有害物質等分析法開発委託事業 飼料中の有害物質等の分析法の開発 (2009).
- 4) 財団法人日本食品分析センター: 平成 23 年度飼料中の有害物質等分析法開発委託事業 飼料中の有害物質等の分析法の開発 (2011).
- 5) 農林水産省消費・安全局長通知: 飼料分析基準の制定について, 平成 20 年 4 月 1 日, 19 消安第 14729 号 (2008).
- 6) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知: 食品に残留する農薬, 飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法, 平成 17 年 1 月 24 日, 食安発第 0124001 号 (2005).