

※本報告書は、試験法開発における検討結果を取りまとめたものであり、試験法の実施に際して参考として下さい。なお、報告書の内容と通知または告示試験法との間に齟齬がある場合には、通知または告示試験法が優先することをご留意下さい。

食品に残留する農薬等の成分である物質の 試験法開発事業報告書

デメトン-S-メチル及びオキシデメトンメチル試験法
(農産物)

デメトン-*S*-メチル及びオキシデメトンメチル試験法（農産物）の検討結果

【諸言】

1. 目的及び試験法の検討方針

デメトン-*S*-メチル及びオキシデメトンメチル（デメトン-*S*-メチルスルホキシド）は、浸透移行性の有機リン系殺虫剤であり、日本では農薬として登録されていない。デメトン-*S*-メチルは1974年に登録が失効したメチルデメトンの成分として知られており、急性毒性が高く、皮膚から吸収されやすいことから毒物劇物取締法により特定毒物に指定されている。その構造にチオエーテルを有し、植物体内でオキシデメトンメチル、さらにデメトン-*S*-メチルスルホンに酸化される。

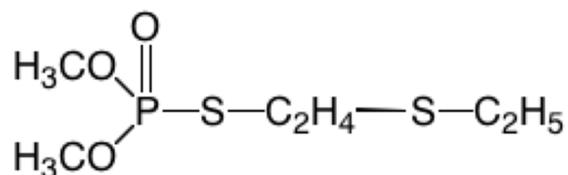
当研究所では、平成19年度にデメトン-*S*-メチル、オキシデメトンメチル及びデメトン-*S*-メチルスルホンの和をオキシデメトンメチルに換算して規制しているCODEXの基準に対応する試験法として、試料からアセトンで抽出したのち、多孔性ケイソウ土カラムで酢酸エチルに転溶し、ヘキサン/アセトニトリル分配により脱脂し、グラファイトカーボンミニカラム及びエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムの連結カラムで精製し、LC-MSにより3成分をそれぞれ定量して換算する方法を提案した。

しかし、我が国ではデメトン-*S*-メチル及びオキシデメトンメチルの両方に基準値が設定されたため、抗酸化剤を用いて変換を防止しながら試験溶液を調製したのち、現在、汎用されているLC-MS/MSによりデメトン-*S*-メチル及びオキシデメトンメチルをそれぞれ定量及び確認できる試験法（案）について追加検討を行った。

2. 分析対象化合物の構造式及び物理化学的性質

分析対象化合物：デメトン-*S*-メチル

構造式：



分子量： 230.29

CAS 番号： 919-86-8

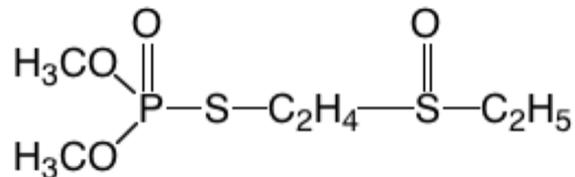
IUPAC 名： *S*-2-ethylthioethyl *O,O*-dimethyl phosphorothioate

外観： 白黄色油

蒸気圧： 40 mPa (20 °C)
溶解性： 水：22 g/L (20 °C)、アルコール類、ケトン類など極性有機溶媒に可溶
logPow： 1.32 (20 °C)
安定性： スルホキシド、さらにスルホンに酸化される

分析対象化合物：オキシデメトンメチル (デメトン-*S*-メチルスルホキシド)

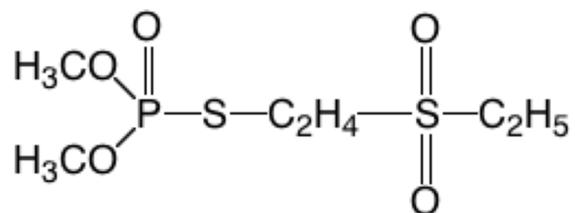
構造式：



分子量： 246.29
CAS 番号： 301-12-2
IUPAC 名： *S*-2-ethylsulfinyethyl *O,O*-dimethyl phosphorothioate
外観： 琥珀色液体
蒸気圧： 3.8 mPa (20 °C)
溶解性： 水に可溶、石油エーテルを除いて有機溶媒に可溶
logPow： -0.74 (21 °C)
安定性： —

分析対象化合物：デメトン-*S*-メチルスルホン

構造式：



分子量： 262.29
CAS 番号： 17040-19-6
IUPAC 名： *S*-2-ethylsulfonylethyl *O,O*-dimethyl phosphorothioate
外観： 白黄色粉末
蒸気圧： 0.056 Pa (20 °C)
溶解性： 水 200 g/L、トルエン 50-200 g (20 °C)
logPow： —
安定性： —

[出典]

The Pesticide Manual 17th Edition

最新農薬データブック 第3版（1997年）、ソフトサイエンス社
安全データシート、富士フイルム和光純薬

3. 基準値

デメトン-*S*-メチル及びオキシデメトンメチルの基準値の一例を、それぞれ表1及び表2に示した。

表1 デメトン-*S*-メチルの基準値の一例

分析対象化合物	食品名	基準値 (ppm)
デメトン- <i>S</i> -メチル	玄米	0.4
	大豆	0.4
	ばれいしょ	0.4
	ほうれんそう	0.4
	キャベツ	0.4
	りんご	0.4
	オレンジ	0.4
	茶	0.05

表2 オキシデメトンメチルの基準値の一例

分析対象化合物	食品名	基準値 (ppm)
オキシデメトンメチル	玄米	0.02
	大豆	0.05
	ばれいしょ	0.02
	ほうれんそう	0.02
	キャベツ	0.5
	りんご	0.5
	オレンジ	0.5
	茶	0.05

[実験方法]

1. 試料

玄米、大豆、ばれいしょ、ほうれんそう、キャベツ、りんご、オレンジ及び茶（緑茶）は、愛知県内の小売店にて購入した。

- ① 玄米は、約1 kgを425 μm の標準網ふるいを通るように粉碎し均一化した。
- ② 大豆は、約1 kgを425 μm の標準網ふるいを通るように粉碎し均一化した。
- ③ ばれいしょは、泥を水で軽く洗い落して細切した約1 kgに、重量比で等量の0.2 w/v%チオ尿素溶液を加え、磨砕し均一化した。
- ④ ほうれんそうは、赤色根部を含み、ひげ根及び変質葉を除去して細切した約1 kgに、重量比で等量の0.2 w/v%チオ尿素溶液を加え、磨砕し均一化した。
- ⑤ キャベツは、外側変質葉及びしんを除去して細切した約1 kgに、重量比で等量の0.2 w/v%チオ尿素溶液を加え、磨砕し均一化した。
- ⑥ りんごは、花おち、しん及び果梗の基部を除去して細切した約1 kgに、重量比で等量の0.2 w/v%チオ尿素溶液を加え、磨砕し均一化した。
- ⑦ オレンジ：果実全体を細切した約1 kgに、重量比で等量の0.2 w/v%チオ尿素溶液を加え、磨砕し均一化した。
- ⑧ 茶は、約500 gを425 μm の標準網ふるいを通るように粉碎し均一化した。

2. 試薬・試液

デメトン-*S*-メチル標準品（純度93.5%）はDr. Ehrenstofer GmbH社、オキシデメトンメチル標準品（純度99.9%）及びデメトン-*S*-メチルスルホン標準品（純度97.5%）は林純薬工業（株）の残留農薬試験用を用い、メタノールに溶解して1 mg/mL標準原液とし、水及びメタノール（4：1）混液で適宜希釈して検量線作成用の混合標準溶液とした。また、標準原液をアセトンで希釈し、添加回収試験用の標準溶液とした。

試薬は、原則として富士フィルム和光純薬（株）又は関東化学（株）の残留農薬試験用又はLC/MS用を用いた。チオ尿素は、富士フィルム和光純薬（株）のチオ尿素（特級）を用いた。

ろ過助剤は、関東化学（株）のセライト545を水、次いでアセトニトリルで洗浄したのち、乾燥させて用いた。

多孔性ケイソウ土カラムは、ジーエルサイエンス（株）のInertSep K-solute（5 mL保持用）を用いた。

グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム（以下、グラファイトカーボン/PSAミニカラム）は、Merck社製ENVI-Carb II/PSA（500 mg/500 mg/6 mL容ポリプロピレンチューブ）を用いた。

3. 装置

ホモジナイザー：IKA 社製 T25Digital ウルトラタラックスに、S25N-18G シャフトジェネレータを装着して用いた。

遠心分離機：久保田商事（株）のユニバーサル冷却遠心機 5930 にスイングロータ RS-3012M、チューブラック 350ML×1 又は 50ML×4+15ML×1 を装着して用いた。

濃縮装置：Büchi 社製 Rotavapor R-200 ロータリーエバポレーター及び V-500 ポンプを用いた。

LC-MS/MS

装置	型式	メーカー
MS	QTRAP4500	SCIEX 社
LC	Nexera	(株) 島津製作所
データ処理	Analyst及びMultiQuantソフトウェア	SCIEX社

4. 測定条件

LC 条件																			
カラム	CAPCELL PAK C18 AQ サイズ：内径 2 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 µm メーカー：(株) 大阪ソーダ																		
移動相流速 (mL/min)	0.2																		
注入量 (µL)	3																		
カラム温度 (°C)	40																		
移動相	A液：5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液 B液：5 mmol/L 酢酸アンモニウムメタノール溶液																		
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間(分)</th> <th>A液(%)</th> <th>B液(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>1</td> <td>99</td> </tr> <tr> <td>20</td> <td>1</td> <td>99</td> </tr> <tr> <td>20.01</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>28</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> </tbody> </table>	時間(分)	A液(%)	B液(%)	0	80	20	10	1	99	20	1	99	20.01	80	20	28	80	20
時間(分)	A液(%)	B液(%)																	
0	80	20																	
10	1	99																	
20	1	99																	
20.01	80	20																	
28	80	20																	
MS 条件																			
測定モード	MRM (多重反応モニタリング)																		
イオン化モード	Turbo Spray (ESI) (+)																		
キャピラリ電圧	5.5 kV																		
コーンガス (窒素)	50 psi																		
ターボガス (窒素)	80 psi																		
ターボガス温度	300 °C																		
コリジョンガス (窒素)	4 (単位なし)																		
定量イオン (m/z)	デメトン-S-メチル：+230.8→89.2 [コーン電圧：11 V、コリジョンエネルギー：21 eV] オキシデメトンメチル：+246.8→169.2 [コーン電圧：52 V、コリジョンエネルギー：19 eV] デメトン-S-メチルスルホン：+262.8→169.2 [コーン電圧：70 V、コリジョンエネルギー：22 eV]																		

定性イオン (m/z)	デメトン-S-メチル : +230.8→61.2 [コーン電圧 : 11 V、コリジョンエネルギー : 44 eV] オキシデメトンメチル : +246.8→109.2 [コーン電圧 : 52 V、コリジョンエネルギー : 36 eV] デメトン-S-メチルスルホン : +262.8→109.2 [コーン電圧 : 70 V、コリジョンエネルギー : 40 eV]
デュエルタイム ポーズタイム	各イオン100 m秒 10 m秒 (660 m秒/サイクル)
分解能 Q1/Q3	Unit/ Unit
保持時間	デメトン-S-メチル : 8.3分 オキシデメトンメチル : 4.6分 デメトン-S-メチルスルホン : 4.9分

5. 定量

デメトン-S-メチル、オキシデメトンメチル及びデメトン-S-メチルスルホン標準品は、それぞれメタノールに溶解して1 mg/mL標準原液を調製した。各標準原液から水及びメタノール (4 : 1) 混液で希釈した溶液を数点調製し (表3)、それぞれ3 µLをLC-MS/MSに注入し、ピーク面積法で検量線を作成した。なお、分析品目により農薬の残留基準値が異なるため、分析品目ごとに適した検量線の濃度範囲を設定した。

それぞれの検量線を用い、絶対検量線法によりデメトン-S-メチル、オキシデメトンメチル及びデメトン-S-メチルスルホンの含量を求めた。

表3 各標準品の検量線濃度範囲

農薬	分析品目	希釈溶液濃度 (ng/mL)					
		1.25	2.5	3.75	5	6.25	7.5
デメトン-S-メチル	定量下限 : 0.01 ppm	1.25	2.5	3.75	5	6.25	7.5
	基準値 : 0.05 ppm (茶)	6.25	12.5	18.75	25	31.25	37.5
	基準値 : 0.4 ppm (玄米、大豆、ばれい しよ、ほうれんそう、キャ ベツ、りんご、オレンジ) *1	12.5	25	37.5	50	62.5	75
オキシデメトンメチル	定量下限 : 0.01 ppm	1.25	2.5	3.75	5	6.25	7.5
	基準値 : 0.02 ppm (玄米、ばれいしよ、ほう れんそう)	2.5	5	7.5	10	12.5	15
	基準値 : 0.05 ppm (大豆、茶)	6.25	12.5	18.75	25	31.25	37.5
	基準値 : 0.5 ppm (キャベツ、りんご、オレ ンジ) *2	12.5	25	37.5	50	62.5	75
デメトン-S-メチルスルホン	定量下限 : 0.01 ppm	1.25	2.5	3.75	5	6.25	7.5

*1 : 試験溶液を4倍希釈、*2 : 試験溶液を5倍希釈

6. 試験溶液の調製

1) 抽出

①穀類、豆類及び茶の場合

試料10.0 g (茶は5.00 g) を250 mL容ガラス製遠心管に量り採り、0.2 w/v%チオ尿素溶液20 mLを加えて30分間放置した。これにアセトン100 mLを加えて2分間ホモジナイズ抽出した後、250 mL容メスシリンダー中にセライト545を約1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過した。残留物は、アセトン50 mLを加えて同様にホモジナイズ抽出し、上記のメスシリンダー中に吸引ろ過した。抽出液は、アセトンを加えて正確に200 mLとして振とう後、その20 mLを100 mL容ナスフラスコに採り、40℃以下で5 mL以下まで減圧濃縮した。

これに塩化ナトリウム1 gを加えて超音波処理により溶かした後、多孔性ケイソウ土カラムに負荷し、10分間放置した。このナスフラスコを酢酸エチル5 mLで2回洗い込み、洗液をこのカラムに注入し、さらに酢酸エチル30 mLで同様に洗い込み、注入した。ケイソウ土カラムからの流速を4~5 mL/分として全溶出液を100 mL容ナスフラスコに採り、40℃以下で約1 mLまで減圧濃縮し、わずかな窒素気流により溶媒を除去した。

残留物に*n*-ヘキサン20 mLを加えて溶解し、50 mL容ポリプロピレン製遠心管に移した。このナスフラスコに*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル20 mLを加えて洗い込み、先のポリプロピレン製遠心管に移した。このポリプロピレン製遠心管を3分間振とうしたのち毎分3,000回転で5分間遠心分離し、アセトニトリル層を100 mL容ナスフラスコに分取した。ヘキサン層は、さらに*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル20 mLを加えて同様に振とうしたのち遠心分離し、アセトニトリル層を合わせて40℃以下で約1 mLまで減圧濃縮し、わずかな窒素気流により溶媒を除去した。残留物にアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液2 mLを加えて溶かしたものを試験原液とした。

②果実及び野菜の場合

試料20.0 gに相当する量 (40.0 g) を250 mL容ガラス製遠心管に量り採った。これにアセトン100 mLを加えて2分間ホモジナイズ抽出した後、250 mL容メスシリンダー中にセライト545を約1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過した。残留物は、アセトン50 mLを加えて同様にホモジナイズ抽出し、上記のメスシリンダー中に吸引ろ過した。抽出液は、アセトンを加えて正確に200 mLとして振とう後、その20 mLを100 mL容ナスフラスコに採り、40℃以下で5 mL以下まで減圧濃縮した。

これに塩化ナトリウム1 gを加えて超音波処理により溶かした後、多孔性ケイソウ土カラムに負荷し、10分間放置した。このナスフラスコを酢酸エチル5 mLで2回洗い込み、洗液をこのカラムに注入し、さらに酢酸エチル30 mLで同様に洗い込み、注入した。ケイソウ土カラムからの流速を4~5 mL/分として全溶出液を100 mL容ナスフラスコに採り、40℃以下で約1 mLまで減圧濃縮し、わずかな窒素気流により溶媒を除去した。

残留物に*n*-ヘキサン20 mLを加えて溶解し、50 mL容ポリプロピレン製遠心管に移した。このナスフラスコに*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル20 mLを加えて洗い込み、先のポリプロピレン製遠心管に移した。このポリプロピレン製遠心管を3分間振とうしたのち毎分3,000回転で5分間遠心分離し、アセトニトリル層を100 mL容ナスフラスコに分取した。ヘキサン層は、さらに*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル20 mLを加えて同様に振とうしたのち遠心分離し、アセトニトリル層を合わせて40°C以下で約1 mLまで減圧濃縮し、わずかな窒素気流により溶媒を除去した。残留物にアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液2 mLを加えて溶かしたものを試験原液とした。

2) 精製

グラファイトカーボン/PSAミニカラムをアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液10 mLで洗浄後、このカラムに1)で得られた試験原液を負荷し、このナスフラスコをアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液2 mLで洗い込み、洗液をこのカラムに注入し、さらにアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液10 mLで溶出した。負荷液を含む全溶出液を採り、40°C以下で約1 mLまで減圧濃縮し、わずかな窒素気流により溶媒を除去した。この残留物に水及びメタノール（4：1）混液を加えて超音波処理により溶かし、穀類及び豆類は正確に2 mL、茶は正確に1 mL、果実及び野菜は正確に4 mLとしたものを試験溶液（0.5 g試料/mL）とした。

均一化

穀類・豆類、茶：425 µm 標準網ふるいを通るように粉碎均一化

果実・野菜：重量比で等量の0.2 w/v%チオ尿素溶液を加えて摩砕均一化

採取

穀類・豆類 10 g（茶 5 g）に0.2 w/v%チオ尿素溶液 20 mLを加えて30分間放置

果実・野菜 40 g（試料 20 g相当）

アセトン抽出

アセトン 100 mLを加えてホモジナイズ抽出後、吸引ろ過

残留物にアセトン 50 mLを加えてホモジナイズ抽出後、吸引ろ過

ろ液を合わせ、アセトンで200 mLに定容

抽出液 20 mLを分取して5 mL以下まで減圧濃縮

多孔性ケイソウ土カラム（5 mL保持用）転溶

濃縮液に塩化ナトリウム 1 gを加えて溶かし、負荷、10分間放置

酢酸エチル 40 mLを注入（5 mL×2回、30 mL×1回濃縮容器洗い込み）

全溶出液を40°C以下で減圧濃縮、窒素ガスで乾固

アセトニトリル/ヘキサン分配

残留物を*n*-ヘキサン 20 mLに溶解し、ポリプロピレン製遠心管に分取

n-ヘキサン飽和アセトニトリル 20 mLで容器を洗い込み、先の*n*-ヘキサンと

合わせ振とうし、遠心分離後、アセトニトリル層を分取
n-ヘキサン層に *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 20 mL を加え振とうし、遠心分
離後、アセトニトリル層を分取
アセトニトリル層を合わせて 40°C以下で減圧濃縮、窒素ガスで乾固

グラファイトカーボン(500 mg)/PSA(500 mg)ミニカラム精製

カラムをあらかじめアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 10 mL で洗浄
残留物をアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 2 mL で 2 回洗い込み、負
荷
アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 10 mL で溶出
全溶出液を 40°C以下で減圧濃縮、窒素ガスで乾固
水及びメタノール (4 : 1) 混液で定容 (穀類・豆類 2 mL、茶 1 mL、果実・野菜
4 mL)

LC-MS/MS 0.5 g 試料/mL

7. マトリックス添加標準溶液の調製

ブランク試験溶液0.5 mLを採り、窒素気流下で溶媒を除去した後、各試料の添加回収試
験における回収率100%相当濃度の溶媒標準溶液0.5 mLを加えて溶かしたものをマトリッ
クス添加標準溶液とした。なお、玄米、大豆、ばれいしょ、ほうれんそう、キャベ
ツ、りんご及びオレンジのデメトン-*S*-メチルの基準値濃度では、マトリックス添加標
準溶液をさらに4倍希釈、キャベツ、りんご及びオレンジのオキシデメトンメチルの
基準濃度では、マトリックス添加標準溶液をさらに5倍希釈して測定した。

[結果及び考察]

1. 測定条件の検討

1) MS 条件

デメトン-*S*-メチル、オキシデメトンメチル及びデメトン-*S*-メチルスルホン標準品のメ
タノール溶液 (0.01~0.1 mg/L) について、インフュージョンによりスキャン測定を行っ
たところ、ESI(+)モードでいずれも *m/z* 231 (デメトン-*S*-メチル)、*m/z* 247 (オキシデ
メトンメチル) 及び *m/z* 263 (デメトン-*S*-メチルスルホン) のプロトン付加分子が検出さ
れた (図 1~3)。なお、ESI(-)モードでは、いずれも脱プロトン分子が検出されたが、
ESI(+)モードと比較して低い強度であった。

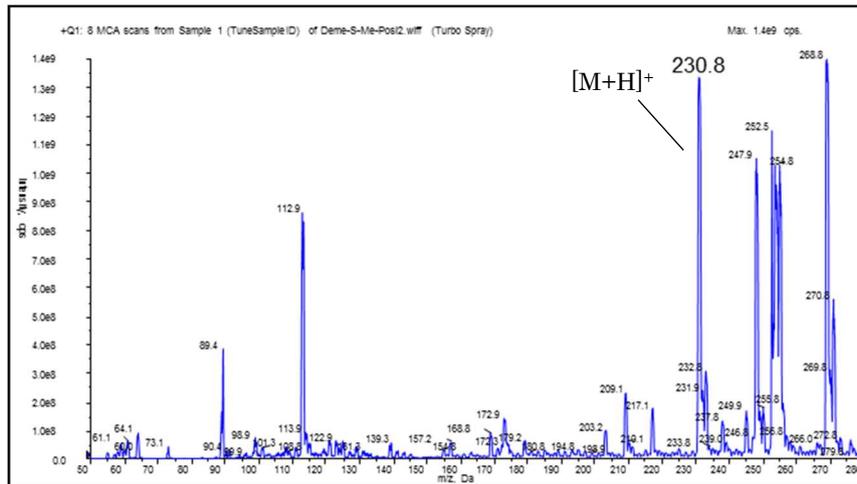


図1 デメトン-S-メチルのマススペクトル
 スキャン範囲： 50～280 m/z 、ESI(+)、コーン電圧：11 V

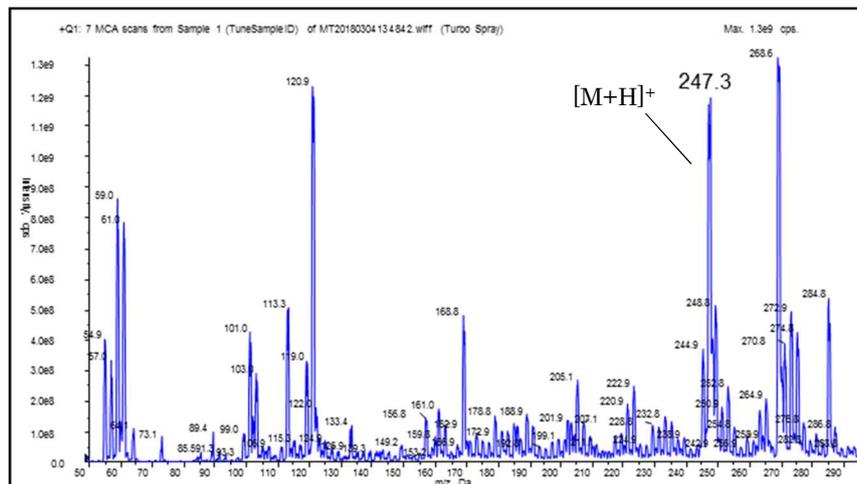


図2 オキシデメトンメチルのマススペクトル
 スキャン範囲： 50～300 m/z 、ESI(+)、コーン電圧：52 V

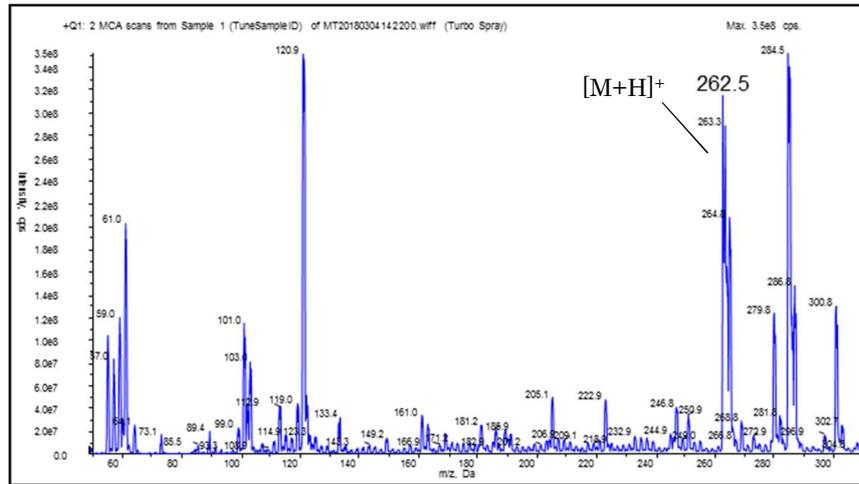


図3 デメトン-S-メチルスルホンのマススペクトル
 スキャン範囲：50～310 m/z 、ESI(+)、コーン電圧：70 V

次に、プロトン付加分子をプリカーサーイオンとして、インフュージョンによりプロダクトイオンスキャン測定を行ったところ、 m/z 231→89 (デメトン-S-メチル)、 m/z 247→169 (オキシデメトンメチル)、 m/z 263→169 (デメトン-S-メチルスルホン) が高い強度で検出されたので、それぞれ定量イオンとした。次いで、 m/z 231→61 (デメトン-S-メチル)、 m/z 247→109 (オキシデメトンメチル)、 m/z 263→109 (デメトン-S-メチルスルホン) が高い強度で検出されたので、それぞれ定性イオンとした (図4～6)。

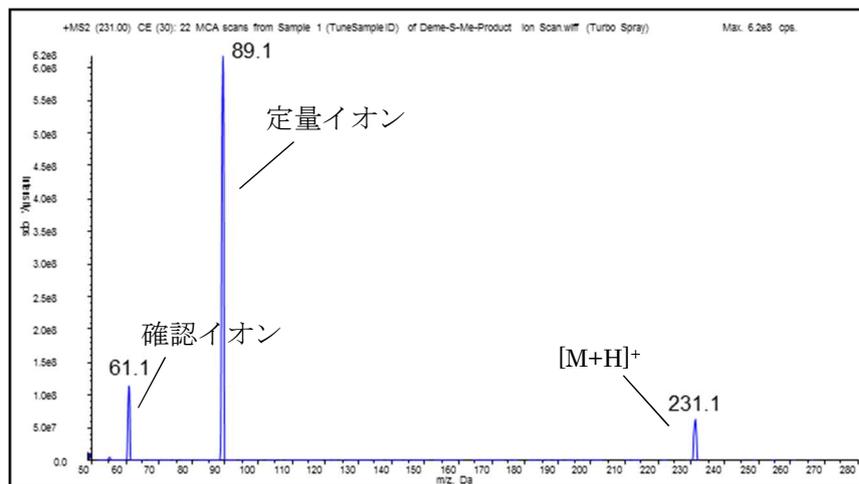


図4 デメトン-S-メチルの積算プロダクトイオンスペクトル
 プリカーサーイオン： m/z 231、ESI(+)、コーン電圧：11 V
 コリジョンエネルギー：5～180 eV (ステップ 5 eV)

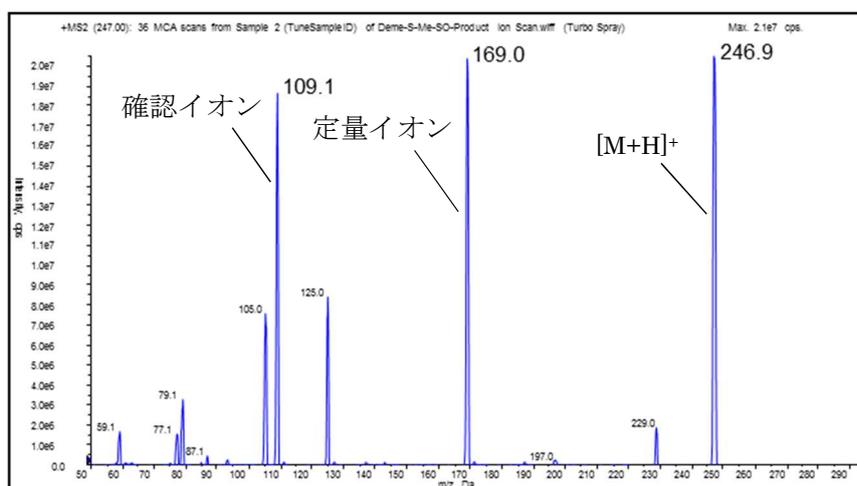


図5 オキシデメトンメチルの積算プロダクトイオンスペクトル
 プリカーサーイオン： m/z 247、ESI(+)、コーン電圧：52 V
 コリジョンエネルギー：5~180 eV（ステップ 5 eV）

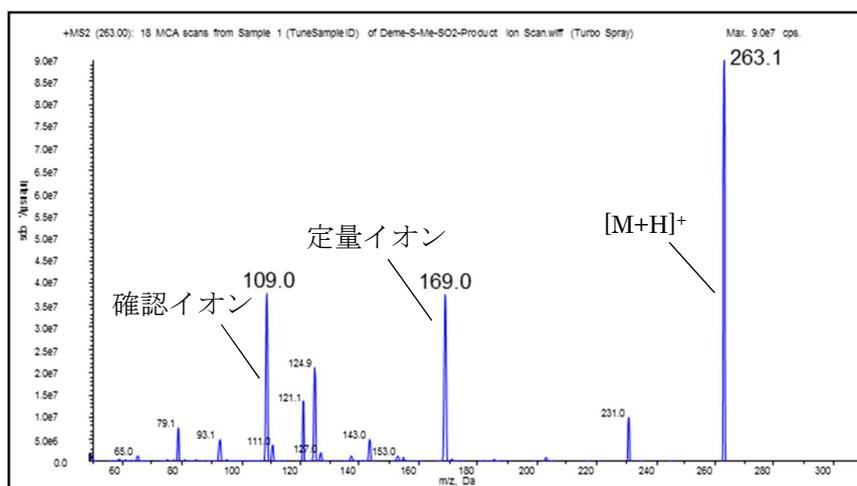


図6 デメトン-S-メチルスルホンの積算プロダクトイオンスペクトル
 プリカーサーイオン： m/z 263、ESI(+)、コーン電圧：70 V
 コリジョンエネルギー：5~180 eV（ステップ 5 eV）

なお、イオン源ターボガスのデフォルト温度（600℃）では、オキシデメトンメチル及びデメトン-S-メチルスルホンに比べてデメトン-S-メチルのイオン強度が低かったことから、ターボガス温度を 500℃、400℃、300℃、250℃と下げて 3 化合物のイオン強度を比較した。その結果、オキシデメトンメチル及びデメトン-S-メチルスルホンはいずれの温度でも十分な強度が得られたが、デメトン-S-メチルは温度を下げるに従って強度が顕著に上昇した（表 3）。そこで、脱溶媒効率も考慮してターボガス温度を 300℃に設定することにした。その他の MS 条件は、マニュアルチューニングにより【実験方法】に示した条件に最適化した。

表3 ターボガス温度と3化合物のイオン強度 (Intensity, cps)

ターボガス温度	デメトン- <i>S</i> -メチル	オキシデメトンメチル	デメトン- <i>S</i> -メチルスルホン
600 °C	7.5e ³	4.3e ⁶	3.2e ⁶
500 °C	3.5e ⁴	4.5e ⁶	3.3e ⁶
400 °C	1.2e ⁵	4.6e ⁶	3.5e ⁶
300 °C	1.3e ⁶	5.4e ⁶	4.9e ⁶
250 °C	1.4e ⁶	5.4e ⁶	5.0e ⁶

各 0.01 mg/L×3 μL 注入

2) LC 条件

厚生労働省通知のLC/MSによる農薬等の一斉試験法 I (農産物) (以下、I 法)¹⁾ のLC条件をベースにして検討を進めた。前報で採用した(株)大阪ソーダのCAPCELL PAK C18 AQカラム(内径2 mm、長さ150 mm、粒子径3 μm)と厚生労働省のI 法検証事業(妥当性評価試験)に採用されたWaters社製Xterra MS C18カラム(内径2.1 mm、長さ150 mm、粒径3.5 μm)で比較したところ、デメトン-*S*-メチルはいずれのカラムもシャープなピークが得られたが、極性の高いオキシデメトンメチル及びデメトン-*S*-メチルスルホンはCAPCELL PAK C18 AQの方がよりシャープなピークが得られた。また、カラム圧もCAPCELL PAK C18 AQの方が低かった。

次に、CAPCELL PAK C18 AQ を用いて3成分を10分程度で分離できるグラジエント条件等を検討し、**【実験方法】**に示した条件とした。

3) 検量線

図7~14にデメトン-*S*-メチル、オキシデメトンメチル及びデメトン-*S*-メチルスルホンの検量線の例を示した。回収率25、50、75、100、125及び150%相当濃度の標準溶液を調製し、デメトン-*S*-メチルは1.25~7.5 ng/mL(定量下限:0.01 mg/kg用)、6.25~37.5 ng/mL(茶の基準値:0.05 mg/kg用)及び12.5~75 ng/mL(玄米、大豆、ばれいしょ、ほうれんそう、キャベツ、りんご、オレンジの基準値:0.4 mg/kg用、試験溶液を4倍希釈)の濃度範囲で、オキシデメトンメチルは1.25~7.5 ng/mL(定量下限:0.01 mg/kg用)、2.5~15 ng/mL(玄米、ばれいしょ、ほうれんそうの基準値:0.02 mg/kg用)、6.25~37.5 ng/mL(大豆、茶の基準値:0.05 mg/kg用)及び12.5~75 ng/mL(キャベツ、りんご、オレンジの基準値:0.5 mg/kg用、試験溶液を5倍希釈)の濃度範囲で、デメトン-*S*-メチルスルホンは1.25~7.5 ng/mL(定量下限:0.01 mg/kg用)の濃度範囲で作成した。それぞれ各濃度範囲で、作成した検量線の相関係数はいずれも0.998以上の良好な直線性を示した。

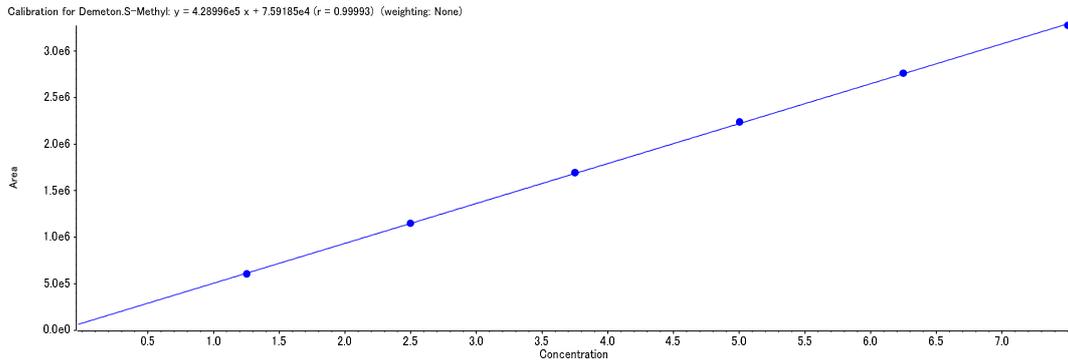


図7 デメトン-S-メチルの検量線の例 (濃度範囲 : 1.25~7.5 ng/mL)

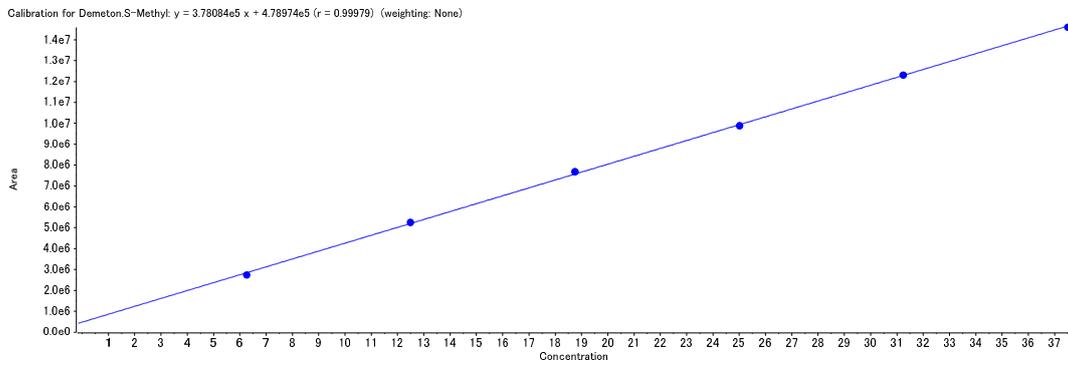


図8 デメトン-S-メチルの検量線の例 (濃度範囲 : 6.25~37.5 ng/mL)

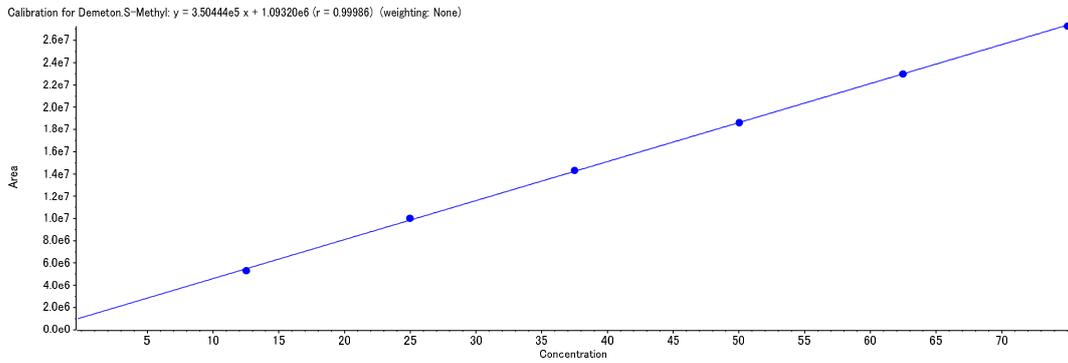


図9 デメトン-S-メチルの検量線の例 (濃度範囲 : 12.5~75 ng/mL)

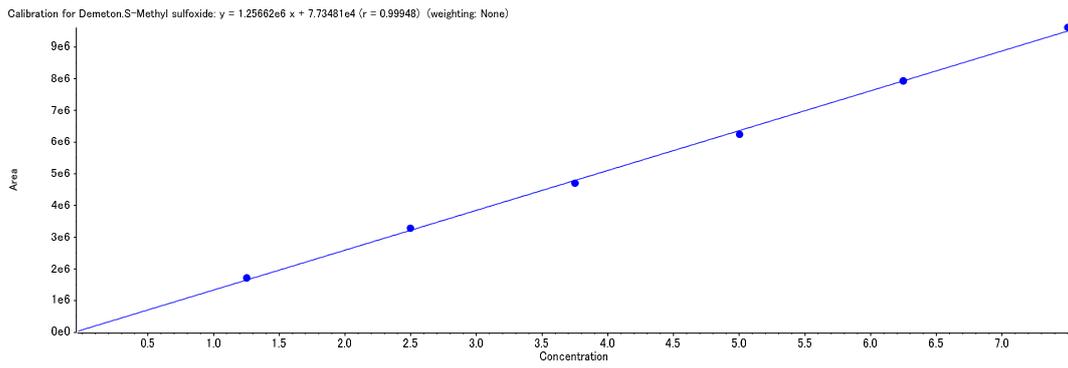


図 10 オキシデメトンメチルの検量線の例 (濃度範囲 : 1.25~7.5 ng/mL)

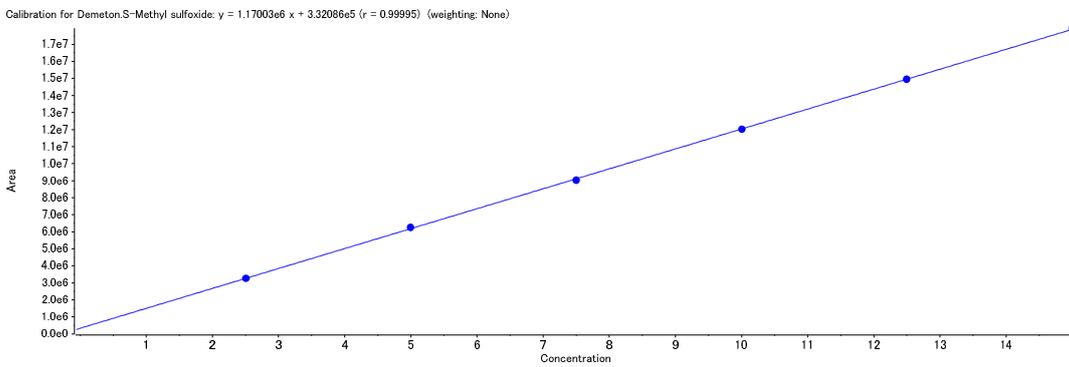


図 11 オキシデメトンメチルの検量線の例 (濃度範囲 : 2.5~15 ng/mL)

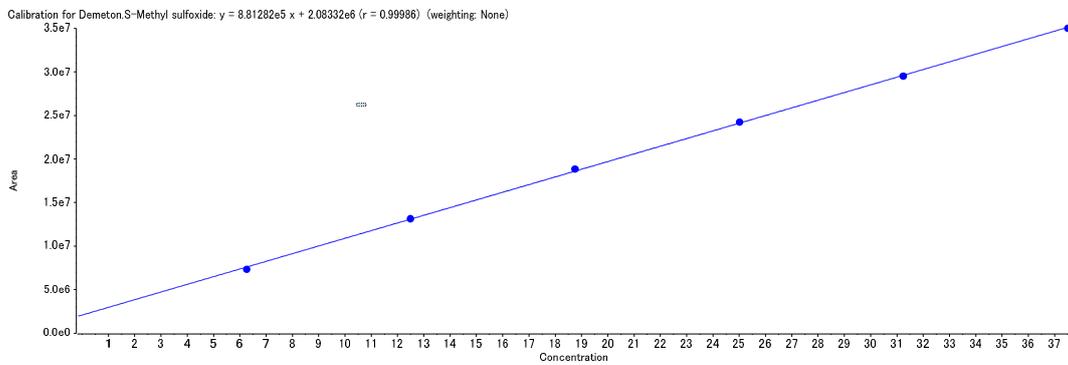


図 12 オキシデメトンメチルの検量線の例 (濃度範囲 : 6.25~37.5 ng/mL)

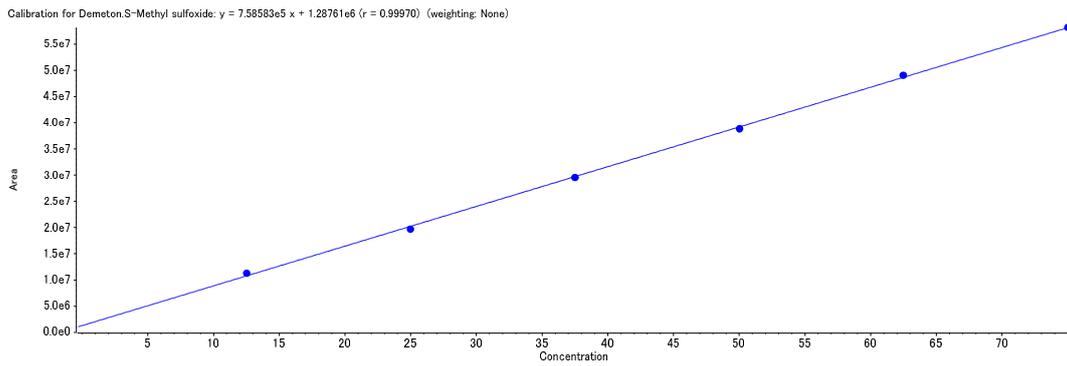


図 13 オキシデメトンメチルの検量線の例（濃度範囲：12.5～75 ng/mL）

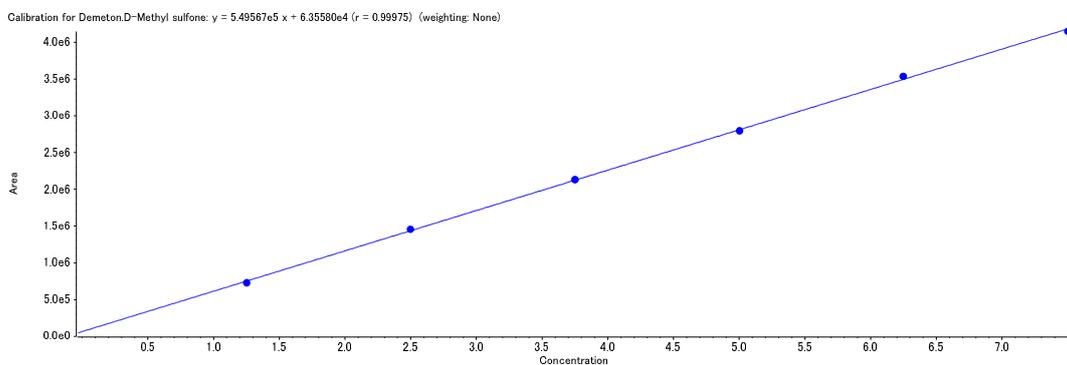


図 14 デメトン-S-メチルスルホンの検量線の例（濃度範囲：1.25～7.5 ng/mL）

4) 定量限界

デメトン-S-メチル及びオキシデメトンメチルの定量限界の算出結果を示した。

① 穀類及び豆類の場合

$$0.01 \text{ mg/kg} = [2 \text{ mL}/1 \text{ g} \times 0.015 \text{ ng}/3 \text{ } \mu\text{L}]$$

② 茶の場合

$$0.01 \text{ mg/kg} = [1 \text{ mL}/0.5 \text{ g} \times 0.015 \text{ ng}/3 \text{ } \mu\text{L}]$$

③ 果実及び野菜の場合

$$0.01 \text{ mg/kg} = [4 \text{ mL}/2 \text{ g} \times 0.015 \text{ ng}/3 \text{ } \mu\text{L}]$$

2. 試験溶液調製法の検討

1) 均一化・採取

前報では、デメトン-S-メチル、オキシデメトンメチル及びデメトン-S-メチルスルホンをそれぞれ定量できる試験法が望ましいことから、デメトン-S-メチルの添加回収試験において酸化体の割合が高かったほうれんそう（表4）で、抗酸化剤としてL-アスコルビン酸及びブチルヒドロキシトルエン（以下、BHT）を用いた試験溶液調製法を検討した²⁾。以下に、そのフローチャートを示した。

均一化	ほうれんそう 500 g 10 w/v%L-アスコルビン酸溶液 100 g を加えて摩砕均一化
採取	試料 24 g (ほうれんそう 20 g 相当)
アセトン抽出	アセトン 100 mL でホモジナイズ抽出後、吸引ろ過 残留物をアセトン 50 mL でホモジナイズ抽出後、吸引ろ過 ろ液を合わせ、アセトンで 200 mL に定容 抽出液 80 mL を 20 mL 以下まで減圧濃縮
多孔性ケイソウ土カラム (20 mL 保持用) 抽出	塩化ナトリウム 4 g を加え、残留物を負荷 0.01 w/v%BHT 含有酢酸エチル 20+20+110 mL で洗い込み、注入 溶出液を 40°C以下で約 1 mL まで減圧濃縮、窒素乾固
アセトニトリル/ヘキサン分配	残留物を <i>n</i> -ヘキサン 30 mL に溶解 <i>n</i> -ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL で 2 回抽出 アセトニトリル層を合わせ、40°C以下で約 1 mL まで減圧濃縮、窒素乾固
グラファイトカーボン (1,000 mg) /PSA (500 mg) 連結ミニカラム精製	カラムをアセトン- <i>n</i> -ヘキサン (1 : 1) 10 mL で洗浄 残留物をアセトン- <i>n</i> -ヘキサン (1 : 1) 5 mL で洗いこみ、負荷 アセトン- <i>n</i> -ヘキサン (1 : 1) 10 mL で溶出 負荷液および溶出液を合わせ、40°C以下で約 1 mL まで減圧濃縮、窒素乾固 メタノールに溶解して 4 mL に定容
LC-MS/MS	

この方法による添加回収試験結果 (表5) から、L-アスコルビン酸及びBHTは抗酸化剤としての効果が期待できたことから、前報では試験法 (案) の注意点に、“試料によっては、試験溶液の調製中にデメトン-S-メチルの一部がオキシデメトンメチルに徐々に酸化することから、すみやかに操作を行う。酸化を抑制するために、試料中1~2%になるように10 w/v%L-アスコルビン酸溶液を加えて細切し、また、多孔性ケイソウ土カラムから0.01 w/v%BHT含有酢酸エチルで溶出するとよい。”を加えた。しかし、この方法でもデメトン-S-メチルの酸化が少なからず進行したことから、より効果の高い抗酸化剤が必要と考えられた。

表4 ほうれんそうの添加回収試験結果 (抗酸化剤無添加)

添加成分	検出成分 (%)			合計		
	S	SO	SO ₂			
1回目 (デメトン-S-メチル)	83.7	6.8	0.0	90.0		
2回目 (デメトン-S-メチル)	61.8	21.2	4.9	85.8		
3回目 (デメトン-S-メチル)	84.4	<0.1	0.0	84.4		
4回目 (デメトン-S-メチル)	26.0	64.9	0.0	86.6	平均	86.4
5回目 (デメトン-S-メチル)	24.0	65.6	0.0	85.3	変動係数	2.5
1回目 (オキシデメトンメチル)	0.0	80.1	0.0	80.1		
2回目 (オキシデメトンメチル)	0.0	77.1	0.0	77.1		
3回目 (オキシデメトンメチル)	0.0	77.3	0.0	77.3		
4回目 (オキシデメトンメチル)	0.0	80.4	0.0	80.4	平均	78.5
5回目 (オキシデメトンメチル)	0.0	77.8	0.0	77.8	変動係数	2.0
1回目 (デメトン-S-メチルスルホン)	0.0	0.0	91.1	91.1		
2回目 (デメトン-S-メチルスルホン)	0.0	0.0	86.9	86.9		
3回目 (デメトン-S-メチルスルホン)	0.0	0.0	84.5	84.5		
4回目 (デメトン-S-メチルスルホン)	0.0	0.0	87.7	87.7	平均	88.0
5回目 (デメトン-S-メチルスルホン)	0.0	0.0	89.9	89.9	変動係数	3.0

デメトン-S-メチル: S、オキシデメトンメチル: SO、デメトン-S-メチルスルホン: SO₂

添加濃度: デメトン-S-メチル 0.05 mg/kg、オキシデメトンメチル、デメトン-S-メチルスルホン 0.02 mg/kg

表5 ほうれんそうの添加回収試験結果 (抗酸化剤添加)

添加成分	検出成分 (%)			合計		
	S	SO	SO ₂			
1回目 (デメトン-S-メチル)	88.2	1.8	0.0	89.9		
2回目 (デメトン-S-メチル)	91.2	2.5	0.0	93.5		
3回目 (デメトン-S-メチル)	92.3	5.4	0.0	97.3		
4回目 (デメトン-S-メチル)	98.5	2.6	0.0	100.9	平均	95.6
5回目 (デメトン-S-メチル)	93.2	3.5	0.0	96.5	変動係数	4.3
1回目 (オキシデメトンメチル)	0.0	86.9	0.0	86.9		
2回目 (オキシデメトンメチル)	0.0	95.8	0.0	95.8		
3回目 (オキシデメトンメチル)	0.0	86.7	0.0	86.7		
4回目 (オキシデメトンメチル)	0.0	85.2	0.0	85.2	平均	89.2
5回目 (オキシデメトンメチル)	0.0	91.5	0.0	91.5	変動係数	4.9
1回目 (デメトン-S-メチルスルホン)	0.0	0.0	88.5	88.5		
2回目 (デメトン-S-メチルスルホン)	0.0	0.0	96.2	96.2		
3回目 (デメトン-S-メチルスルホン)	0.0	0.0	83.5	83.5		
4回目 (デメトン-S-メチルスルホン)	0.0	0.0	89.9	89.9	平均	91.1
5回目 (デメトン-S-メチルスルホン)	0.0	0.0	97.3	97.3	変動係数	6.3

デメトン-S-メチル: S、オキシデメトンメチル: SO、デメトン-S-メチルスルホン: SO₂

添加濃度: デメトン-S-メチル 0.05 mg/kg、オキシデメトンメチル、デメトン-S-メチルスルホン 0.02 mg/kg

厚生労働省通知のカルボキシシン試験法（農産物）¹⁾では、カルボキシシンの抗酸化剤として5 w/v%チオ尿素溶液を用いた方法を採用している。そこで、前報をベースとする【実験方法】に示した試験溶液調製法についてほうれんそうで検証した。

その結果、1 w/v%チオ尿素溶液でも酸化は認められず、抗酸化剤として高い効果が期待された（表6）。なお、チオ尿素は有機溶媒への溶解性が高く、最終残留物に多くが残存した。LC-MS/MSイオン源の汚染等を考慮すると、より低い濃度が望ましいと考えられたことから再度検証したところ、0.2 w/v%チオ尿素溶液でも酸化は認められなかった（表7）。

表6 ほうれんそうからのデメトン-S-メチルの回収率

チオ尿素濃度	検出成分 (%)			合計
	S	SO	SO ₂	
水添加	87.6	8.6	0.0	96.2
1 w/v%チオ尿素溶液	94.6	0.0	0.0	94.6
2 w/v%チオ尿素溶液	96.2	0.0	0.0	96.2
5 w/v%チオ尿素溶液	96.8	0.0	0.0	96.8
10 w/v%チオ尿素溶液	96.4	0.0	0.0	96.4

デメトン-S-メチル: S、オキシデメトンメチル: SO、デメトン-S-メチルスルホン: SO₂

デメトン-S-メチル 0.4 mg/kg 添加

表7 ほうれんそうからのデメトン-S-メチルの回収率

チオ尿素濃度	検出成分 (%)			合計
	S	SO	SO ₂	
水添加	86.6	8.2	0.0	94.8
0.1 w/v%チオ尿素溶液	91.1	1.4	0.0	92.5
0.2 w/v%チオ尿素溶液	92.1	0.0	0.0	92.1
0.5 w/v%チオ尿素溶液	94.0	0.0	0.0	94.0
1.0 w/v%チオ尿素溶液	91.2	0.0	0.0	91.2

デメトン-S-メチル: S、オキシデメトンメチル: SO、デメトン-S-メチルスルホン: SO₂

デメトン-S-メチル 0.4 mg/kg 添加

そこで、本法について、玄米を始めとする8試料を用いて基準値濃度でのデメトン-S-メチルの添加回収試験を行ったところ、一部の試料を除いて酸化は認められなかった（表14）。ただし、ばれいしょ及び茶でオキシデメトンメチルの痕跡ピークを認める試料があった。これらの試料では、試料溶液の減圧濃縮の際に乾固させてしまい、大気圧に戻す操作等において酸化が進行したものと推察された。従って、本法を適用する場合には、分析操作中にデメトン-S-メチルのオキシデメトンメチルへの変換、さらにデメトン-S-メチルスルホンへの変換がないことを確認する必要があると考えられた。

2) 溶媒転溶

アセトン抽出後の溶媒転溶について検討した。その結果、通常の液々分配において、*n*-ヘキサン、ジエチルエーテル及び酢酸エチルでは満足すべき転溶率は得られなかった（表8～表10）。

表8 *n*-ヘキサンへの転溶率 (%)

成分	水層	<i>n</i> -ヘキサン			合計
		1回目 (20 mL)	2回目 (20 mL)	3回目 (20 mL)	
デメトン-S-メチル	10% NaCl溶液20 mL	27	6	1	34
	飽和NaCl溶液20 mL	34	12	3	49
オキシデメトンメチル	10% NaCl溶液20 mL	3	1	0	4
	飽和NaCl溶液20 mL	4	1	0	5
デメトン-S-メチルスルホン	10% NaCl溶液20 mL	4	1	0	5
	飽和NaCl溶液20 mL	5	1	0	6

水層に各0.4 µg添加

表9 ジエチルエーテルへの転溶率 (%)

成分	水層	ジエチルエーテル			合計
		1回目 (20 mL)	2回目 (20 mL)	3回目 (20 mL)	
デメトン-S-メチル	10% NaCl溶液20 mL	39	11	4	54
	飽和NaCl溶液20 mL	48	14	5	67
オキシデメトンメチル	10% NaCl溶液20 mL	4	1	0	5
	飽和NaCl溶液20 mL	9	4	1	14
デメトン-S-メチルスルホン	10% NaCl溶液20 mL	11	4	1	16
	飽和NaCl溶液20 mL	26	9	3	38

水層に各0.4 µg添加

表10 酢酸エチルへの転溶率 (%)

成分	水層	酢酸エチル			合計
		1回目 (20 mL)	2回目 (20 mL)	3回目 (20 mL)	
デメトン-S-メチル	10% NaCl溶液20 mL	69	14	4	87
	飽和NaCl溶液20 mL	85	7	3	95
オキシデメトンメチル	10% NaCl溶液20 mL	14	10	3	27
	飽和NaCl溶液20 mL	37	10	5	52
デメトン-S-メチルスルホン	10% NaCl溶液20 mL	48	9	4	61
	飽和NaCl溶液20 mL	67	6	1	74

水層に各0.4 µg添加

次に、厚生労働省通知のLC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅱ（畜水産物）¹⁾に採用されている多孔性ケイソウ土カラムを用いたオンカラム液々分配による酢酸エチ

ルへの転溶について検討した。【実験方法】に示したようにInertSep K-solute (5 mL保持用) カラムを用いて、水5 mLに各標準品を添加し、塩化ナトリウム1 gを加えて溶かし、カラムに負荷して10分間放置後、酢酸エチル10 mLずつで順次溶出した。その結果、酢酸エチル30 mLで十分な溶出率が得られた(表11)。なお、InertSep K-solute (5 mL保持用) カラムは流速が早くなりがちで、その場合、カラムから水分が溶出することがあったことから、カラム出口にストップコックを付けて流速を5 mL/分以下に調整する必要があった。

表11 多孔性ケイソウ土カラムからの溶出率 (%)

成分	酢酸エチル				合計
	0~10 mL	~20 mL	~30 mL	~40 mL	
デメトン-S-メチル	93	4	0	0	97
オキシデメトンメチル	71	22	5	0	98
デメトン-S-メチルスルホン	84	10	2	0	96

各0.4 µg添加

3) ヘキサン/アセトニトリル分配

ヘキサン/アセトニトリル分配による脱脂について検討した。*n*-ヘキサン20 mLから*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル20 mLずつで順次抽出した。その結果、2回抽出で十分な抽出率が得られた(表12)。

表12 ヘキサン/アセトニトリル分配での抽出率 (%)

項目	<i>n</i> -ヘキサン飽和アセトニトリル			合計
	1回目 (20 mL)	2回目 (20 mL)	3回目 (20 mL)	
デメトン-S-メチル	94	3	0	97
オキシデメトンメチル	98	1	0	99
デメトン-S-メチルスルホン	96	1	0	97

各0.4 µg添加

4) グラファイトカーボン/PSAミニカラムによる精製

主に色素及び脂肪酸の除去を目的として、グラファイトカーボン/PSAミニカラムによる精製について検討した。【実験方法】に示したように、ENVI-Carb II/PSA (500 mg/500 mg/6 mL容ポリプロピレンチューブ) を用いて、あらかじめカラムをアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液10 mLで洗浄してから、ほうれんそうの濃緑色の残留物をアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液2 mLずつで2回洗い込んで負荷し、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液5 mLずつで順次溶出した。その結

果、溶出液10 mLで十分な溶出率と共に透明な試験溶液が得られた（表13）。

表13 グラファイトカーボン/PSAミニカラムからの溶出率（%）

項目	アセトニトリル及びトルエン（3：1）混液				合計
	負荷液	溶出液			
	2+2 mL	0~5 mL	~10 mL	~15 mL	
デメトン-S-メチル	31	65	2	0	98
オキシデメトンメチル	25	61	9	0	95
デメトン-S-メチルスルホン	27	63	6	0	96

各0.4 µg添加

3. 添加回収試験

【実験方法】に示した試験溶液調製法により、玄米、大豆、ばれいしょ、ほうれんそう、キャベツ、りんご、オレンジ及び茶を用いて添加回収試験を行った。なお、LC-MS/MSによる定量において高濃度では検量線が二次曲線になる傾向があったことから、デメトン-S-メチルの玄米、大豆、ばれいしょ、ほうれんそう、キャベツ、りんご及びオレンジの基準値濃度（0.4 mg/kg）添加における試験溶液は4倍希釈、オキシデメトンメチルのキャベツ、りんご及びオレンジの基準値濃度（0.5 mg/kg）添加における試験溶液は5倍希釈して測定した。その結果を表14、代表的なMRMクロマトグラムを図15及びトータルイオンクロマトグラム（スキャン範囲： m/z 50~1000）を図16に示した。

すべての試料で、対象成分ピークの近傍に定量を妨害するようなピークは見当たらず選択性は良好であった。デメトン-S-メチル添加におけるオキシデメトンメチル及びデメトン-S-メチルスルホンの回収率、及びオキシデメトンメチル添加におけるデメトン-S-メチルスルホンの回収率は、デメトン-S-メチル及びオキシデメトンメチルそれぞれに換算してすべて0.1%未満であった。真度（併行精度）は、基準値添加ではデメトン-S-メチルで84.0~99.9%（2.2~7.6%）、オキシデメトンメチルで85.1~97.1%（2.0~5.8%）、定量下限値添加ではデメトン-S-メチルで80.3~93.8%（1.6~6.3%）、オキシデメトンメチルで80.5~93.8%（2.3~9.8%）、デメトン-S-メチルスルホンで82.2~91.9%（2.1~6.5%）と両条件ともに目標値を満たした。また、S/Nも目標値を満足することが確認されたことから、0.01 mg/kgの定量限界を設定可能であることが示された。

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (mg/kg)	基準値 (ppm)	添加濃度 (ppm)	定量限界の評価 ¹⁾	検量線		回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	S/N ²⁾		備考			
							傾き	切片	r ² 値	n=1	n=2	n=3	n=4			n=5	Max.		Mn.	平均値	
1	デメトン-S-メチル	玄米	0.01	0.4	0.4	—	350444	1093200	0.9997	81.2	83.5	84.6	83.7	87.1	84.0	2.5	—	—	4倍希釈して測定		
		大豆	0.01	0.4	0.4	—	352952	570880	0.9996	83.6	85.1	87.3	84.4	88.7	85.8	2.5	—	—	4倍希釈して測定		
		ばれいしょ	0.01	0.4	0.4	—	347463	749832	0.9991	99.6	101.9	103.9	95.9	98.2	99.9	3.1	—	—	4倍希釈して測定		
		ほうれんそう	0.01	0.4	0.4	—	337332	719575	0.9992	94.9	94.2	99.5	96.7	99.1	96.1	2.2	—	—	4倍希釈して測定		
		キャベツ	0.01	0.4	0.4	—	345678	1875678	0.9995	91.4	89.2	82.2	88.3	89.0	88.0	3.9	—	—	4倍希釈して測定		
		りんご	0.01	0.4	0.4	—	349999	1078320	0.9995	91.0	88.9	94.0	82.5	87.0	88.7	4.9	—	—	4倍希釈して測定		
		オレンジ	0.01	0.4	0.4	—	353653	999891	0.9998	101.4	94.1	96.0	101.6	94.3	97.5	3.8	—	—	4倍希釈して測定		
		茶	0.01	0.05	0.05	0.05	—	376084	478974	0.9996	97.8	93.6	85.6	101.5	85.9	92.9	7.6	10211.0	85452.0	93331.5	—
		玄米 (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	428996	75919	0.9999	96.3	94.6	98.1	88.1	91.7	93.8	4.2	96043.0	85643.0	90843.0	—
		大豆 (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	461707	30215	0.9987	91.3	89.7	92.3	90.1	86.1	89.9	2.6	96043.0	85643.0	90843.0	—
		ばれいしょ (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	446949	69052	0.9996	80.2	81.8	80.0	79.2	84.0	81.0	2.4	98432.0	86987.0	89709.5	—
		ほうれんそう (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	467168	59667	0.9993	92.1	92.3	87.0	90.3	91.2	90.6	2.4	103280.0	86075.0	95677.5	—
		キャベツ (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	432786	78923	0.9999	79.6	82.3	79.4	80.8	79.2	80.3	1.6	12845.0	96674.0	112509.5	—
		りんご (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	415440	144053	0.9995	86.2	87.4	90.4	79.0	83.4	85.3	5.1	119385.0	90763.0	105074.0	—
オレンジ (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	455993	7043	0.9979	80.8	79.0	80.8	86.0	83.4	82.0	3.3	10899.0	89907.0	96383.0	—		
茶 (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	450726	28031	0.9988	75.8	81.6	88.8	77.8	84.0	81.6	6.3	90394.0	79098.0	84746.0	—		
2	オキシデメトンメチル	玄米	0.01	0.02	0.02	—	1170030	3320960	0.9999	95.7	93.5	94.1	89.8	91.3	92.9	2.5	—	—	—		
		大豆	0.01	0.02	0.02	—	881282	2083320	0.9997	93.6	90.5	96.8	99.1	96.5	95.3	3.5	—	—	—		
		ばれいしょ	0.01	0.02	0.02	—	790432	2049392	0.9992	93.4	97.6	99.2	98.3	96.9	97.1	2.3	—	—	—		
		ほうれんそう	0.01	0.02	0.02	—	807010	212956	0.9999	93.4	95.3	97.5	97.7	94.1	95.6	2.0	—	—	—		
		キャベツ	0.01	0.5	0.5	—	779863	124945	0.9998	82.3	84.1	83.8	87.7	87.5	85.1	2.8	—	—	5倍希釈して測定		
		りんご	0.01	0.5	0.5	—	768683	128761	0.9994	86.1	91.1	93.6	93.4	96.2	92.1	4.1	—	—	5倍希釈して測定		
		オレンジ	0.01	0.5	0.5	—	760356	1445120	0.9991	97.5	100.8	102.6	89.9	91.5	96.5	5.8	—	—	5倍希釈して測定		
		茶	0.01	0.05	0.05	—	795321	2003431	0.9991	91.0	93.2	87.3	95.0	83.8	90.1	5.0	—	—	—		
		玄米 (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	1256620	77248	0.9990	96.2	91.7	94.9	93.1	91.0	93.4	2.3	99054.0	89086.0	94070.0	—
		大豆 (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	1241480	121550	0.9995	96.4	95.7	93.1	88.6	95.0	93.8	3.3	112840.0	97898.0	105369.0	—
		ばれいしょ (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	1196010	239443	0.9999	79.6	80.2	87.6	79.4	80.6	81.5	4.2	103958.0	87953.0	95955.5	—
		キャベツ (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	1227340	141198	0.9996	88.2	83.0	89.0	88.6	91.2	88.0	3.4	112994.0	93451.0	102772.5	—
		りんご (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	1256620	77248	0.9990	80.8	84.4	83.8	76.0	79.2	80.8	4.3	139495.0	119077.0	124786.0	—
		オレンジ (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	1286560	12376	0.9989	85.8	88.8	72.8	89.0	95.8	86.4	9.8	108495.0	95432.0	101963.5	—
茶 (LOQ)	0.01	0.01	0.01	0.01	S/N	1282780	10996	0.9994	89.8	84.6	88.4	82.8	85.8	86.3	3.3	110945.0	92785.0	101865.0	—		
3	デメトン-S-メチル スルホン	玄米 (LOQ)	0.01	0.01	0.01	S/N	549867	63558	0.9995	93.7	94.1	91.2	89.7	90.6	91.9	2.1	—	—	—		
		大豆 (LOQ)	0.01	0.01	0.01	S/N	589157	57507	0.9999	88.3	91.2	86.1	85.7	87.1	87.7	2.5	—	—	—		
		ばれいしょ (LOQ)	0.01	0.01	0.01	S/N	547532	88814	0.9993	84.6	79.6	82.8	81.4	82.4	82.2	2.2	—	—	—		
		ほうれんそう (LOQ)	0.01	0.01	0.01	S/N	577360	15134	0.9990	86.6	84.0	87.2	84.0	88.8	86.3	2.8	—	—	—		
		キャベツ (LOQ)	0.01	0.01	0.01	S/N	557687	79875	0.9991	85.6	87.2	79.6	83.6	81.6	83.5	3.6	—	—	—		
		りんご (LOQ)	0.01	0.01	0.01	S/N	558763	63443	0.9995	87.4	83.6	84.0	86.6	81.6	84.6	2.8	—	—	—		
		オレンジ (LOQ)	0.01	0.01	0.01	S/N	568764	23854	0.9996	83.6	84.8	90.2	88.6	91.8	87.8	4.0	—	—	—		
		茶 (LOQ)	0.01	0.01	0.01	S/N	536078	12383	0.9993	86.2	81.6	88.6	95.2	81.8	86.7	6.5	—	—	—		

*1 S/Nを求める必要がある場合には『S/N』と表示される。

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

4. 試料マトリックスの測定値に与える影響

試料マトリックスの測定への影響について検討するために、添加回収試験における回収率100%相当濃度になるように調製したマトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積比を求めた。添加濃度が基準値濃度の場合（デメトン-S-メチル及びオキシデメトンメチル）の結果を表15に、定量下限値相当濃度の場合（デメトン-S-メチル、オキシデメトンメチル及びデメトン-S-メチルスルホン）の結果を表16に示した。その結果、ピーク面積比は、デメトン-S-メチルでは、基準値濃度添加で95.0~100.8%及び定量限界相当濃度添加で95.2~100.0%であった。オキシデメトンメチルでは、基準値濃度添加で95.1~103.1%及び定量限界相当濃度添加で96.3~103.0%であった。また、デメトン-S-メチルスルホンでは、定量限界相当濃度添加で96.9~105.4%であった。以上のことから、いずれの化合物も、検討したすべての食品において試料由来のマトリックスの影響はほとんど受けずに測定することが可能と考えられた。

表 15 マトリックス標準溶液/溶媒標準溶液（基準値、2 併行の平均、%）

	S	SO
玄米	95.0	96.1
大豆	98.7	98.5
ばれいしょ	95.1	100.2
ほうれんそう	98.7	95.4
キャベツ	95.3	96.8
りんご	100.8	103.1
オレンジ	95.1	97.2
茶	97.2	95.1

デメトン-S-メチル: S、オキシデメトンメチル: SO

表 16 マトリックス標準溶液/溶媒標準溶液（定量下限値、2 併行の平均、%）

	S	SO	SO ₂
玄米	95.2	96.6	96.9
大豆	98.8	99.1	99.9
ばれいしょ	98.9	96.3	98.0
ほうれんそう	100.0	97.9	96.9
キャベツ	99.0	101.0	97.2
りんご	99.7	103.0	105.4
オレンジ	98.7	97.7	99.7
茶	97.5	96.8	97.5

デメトン-S-メチル: S、オキシデメトンメチル: SO、デメトン-S-メチルスルホン: SO₂

[結論]

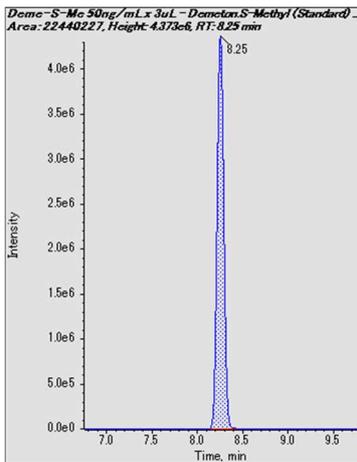
農産物中のデメトン-*S*-メチル及びオキシデメトンメチルの試験法として、試料からチオ尿素存在下アセトンで抽出し、多孔性ケイソウ土カラムで酢酸エチルに転溶する。ヘキサン/アセトニトリル分配により脱脂した後、グラファイトカーボン/PSA積層ミニカラムで精製し、LC-MS/MSで定量及び確認する方法を開発した。本法を玄米、大豆、ばれいしょ、ほうれんそう、キャベツ、りんご、オレンジ及び茶に適用した結果、選択性、真度及び併行精度はいずれの試料でも良好であり、定量限界は0.01 mg/kgを設定可能であると考えられた。以上の結果から、農産物中のデメトン-*S*-メチル及びオキシデメトンメチル試験法として、開発した方法を適用可能（定量限界は0.01 mg/kg）であると判断された。

[参考文献]

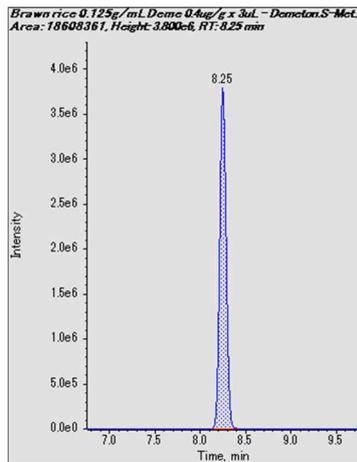
- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知“食品に残留する農薬，飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について”平成17年1月24日，食安発第0124001号（2005）
- 2) 上野英二ら、LC-MSによる農産物中デメトン-*S*-メチル、オキシデメトンメチルおよびデメトン-*S*-メチルスルホンの分析、食衛誌、50、64-69（2009）

<玄米>

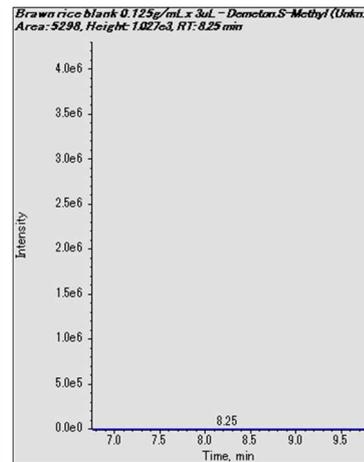
デメトン-S-メチル 基準値濃度 (0.4 mg/kg)



標準溶液

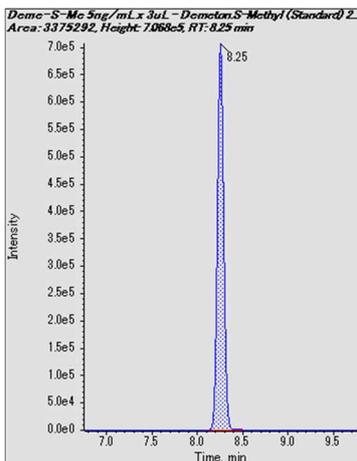


添加試料

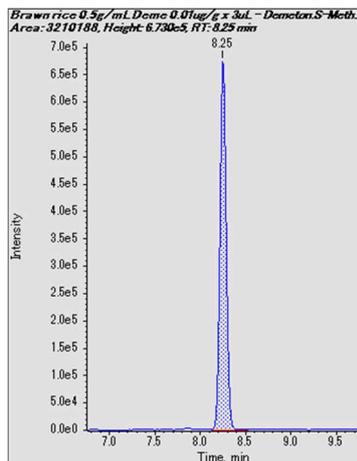


ブランク

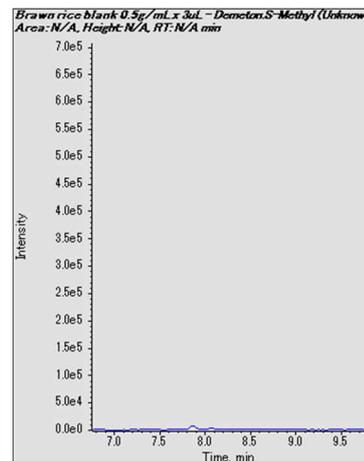
デメトン-S-メチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)



標準溶液

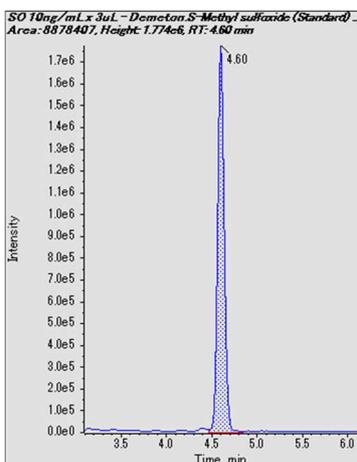


添加試料

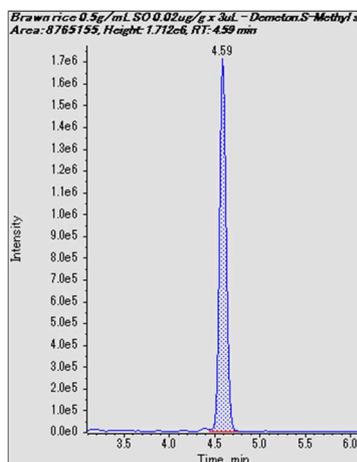


ブランク

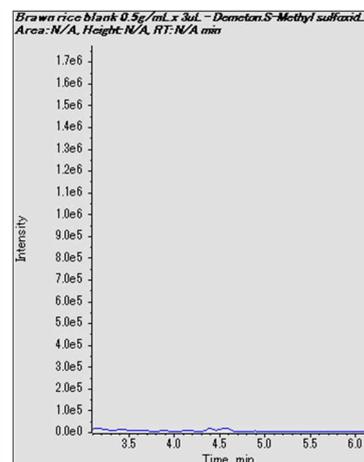
オキシデメトンメチル 基準値濃度 (0.02 mg/kg)



標準溶液

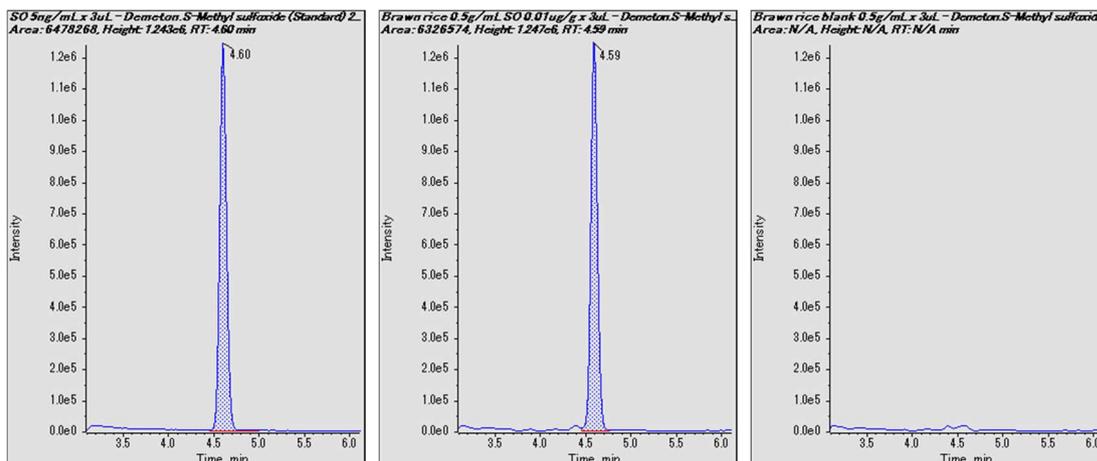


添加試料



ブランク

オキシデメトンメチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)

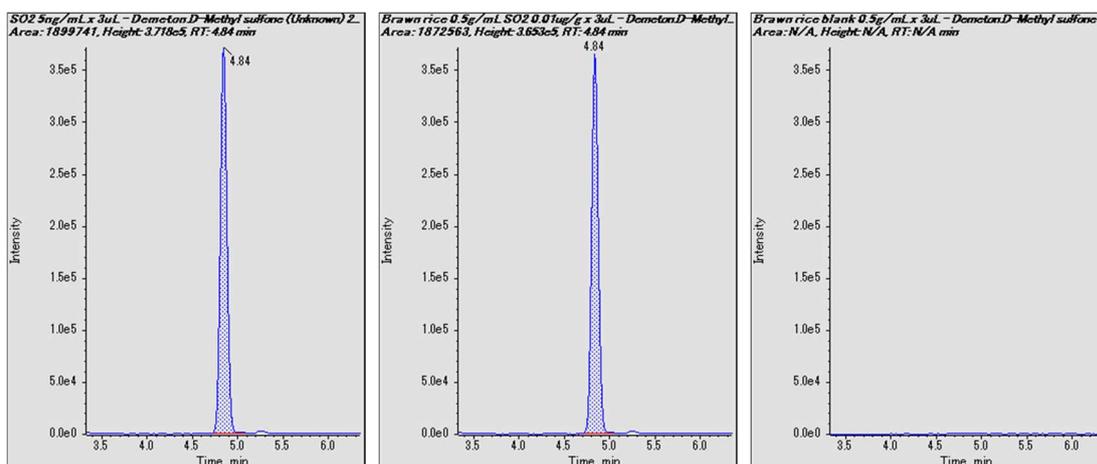


標準溶液

添加試料

ブランク

デメトン-S-メチルスルホン 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)



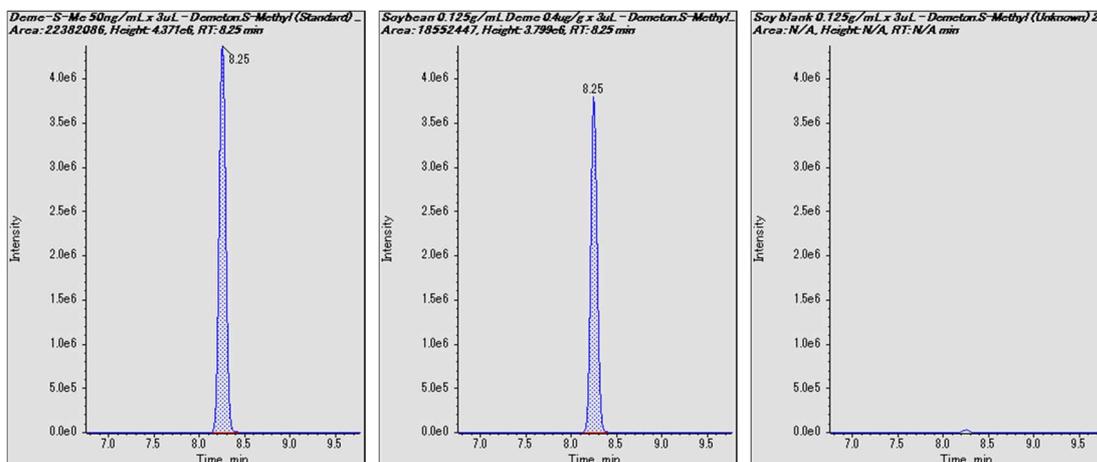
標準溶液

添加試料

ブランク

<大豆>

デメトン-S-メチル 基準値濃度 (0.4 mg/kg)

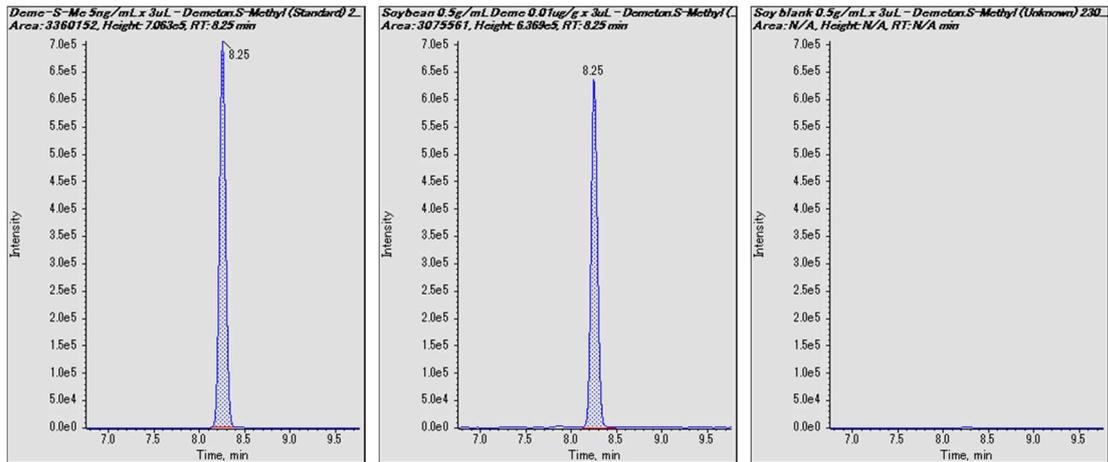


標準溶液

添加試料

ブランク

デメトン-S-メチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)

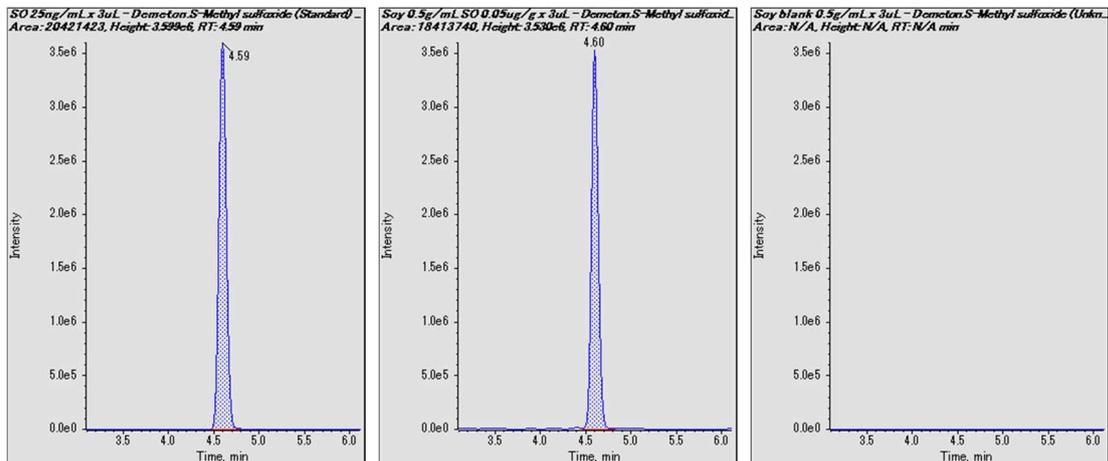


標準溶液

添加試料

ブランク

オキシデメトンメチル 基準値濃度 (0.05 mg/kg)

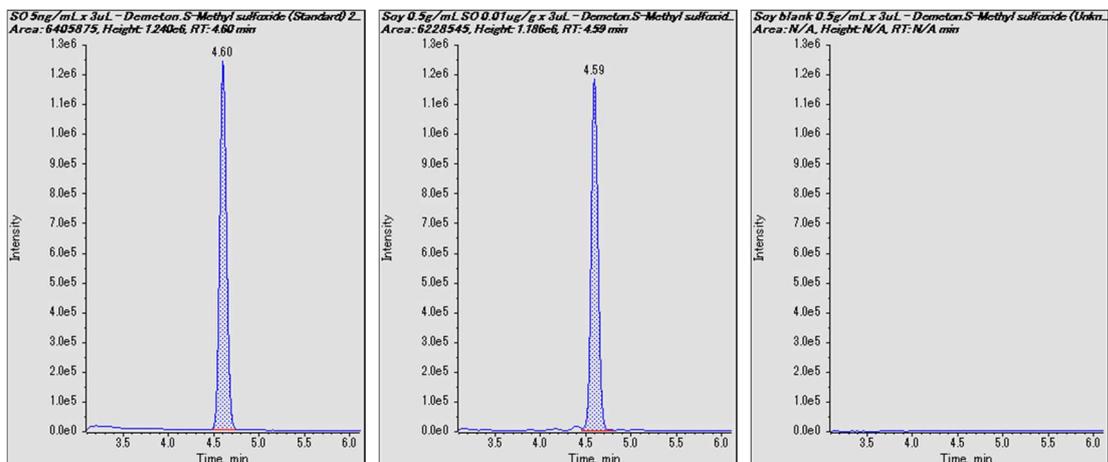


標準溶液

添加試料

ブランク

オキシデメトンメチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)

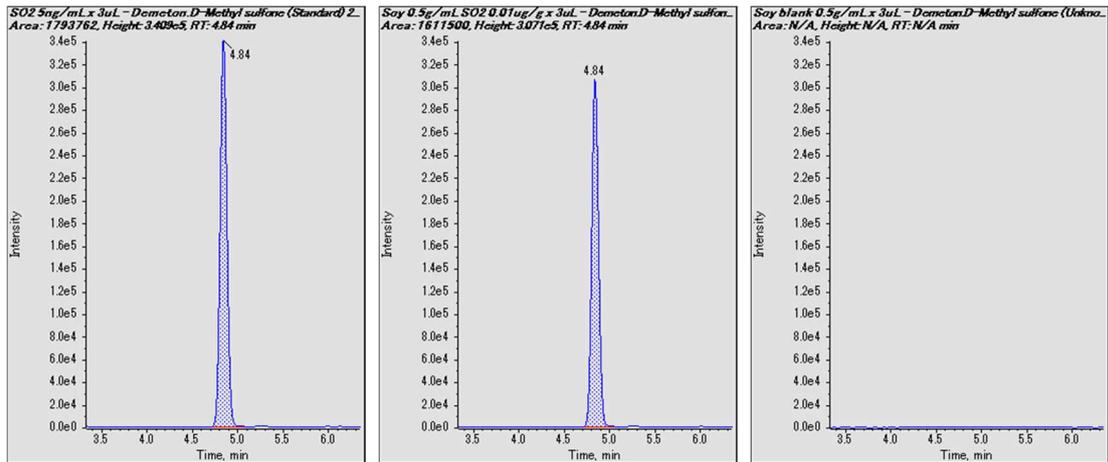


標準溶液

添加試料

ブランク

デメトン-S-メチルスルホン 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)



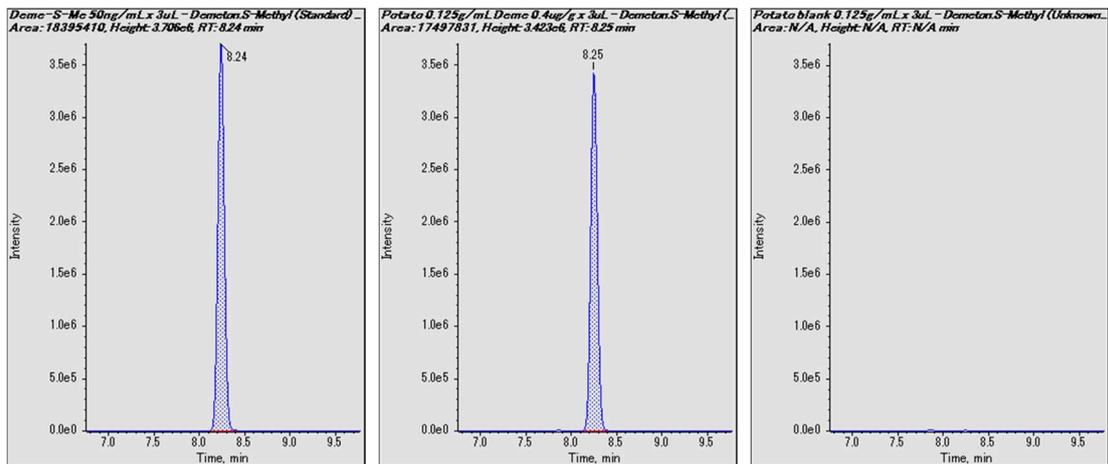
標準溶液

添加試料

ブランク

<ばれいしょ>

デメトン-S-メチル 基準値濃度 (0.4 mg/kg)

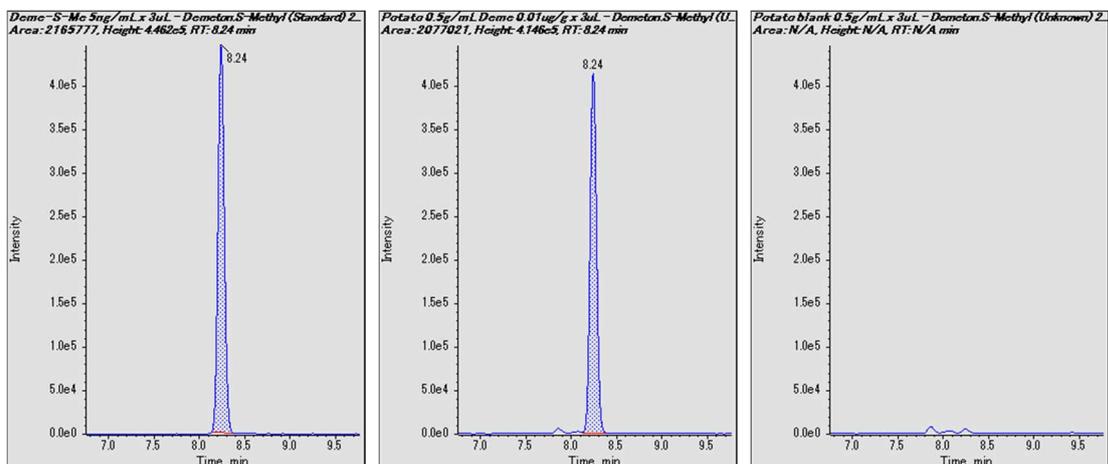


標準溶液

添加試料

ブランク

デメトン-S-メチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)

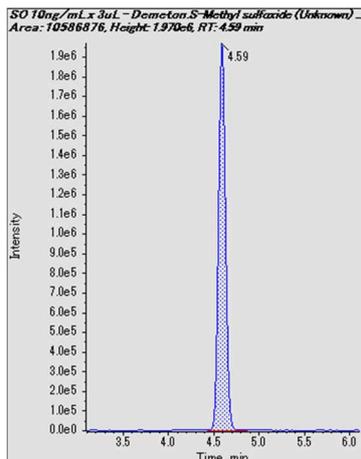


標準溶液

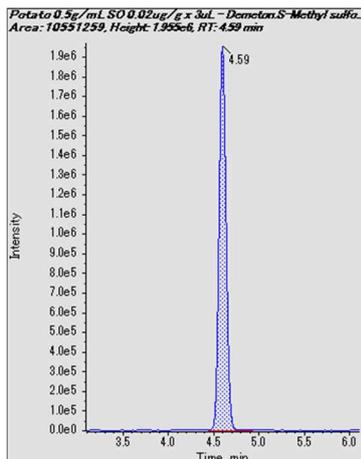
添加試料

ブランク

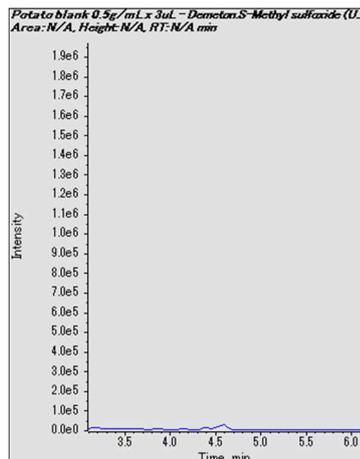
オキシデメトンメチル 基準値濃度 (0.02 mg/kg)



標準溶液

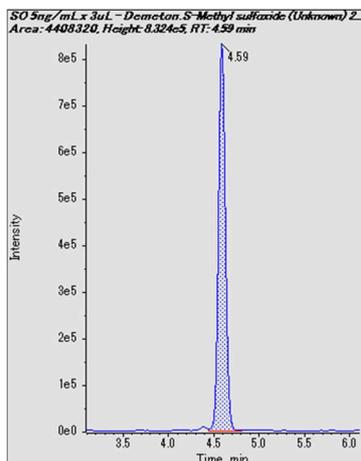


添加試料

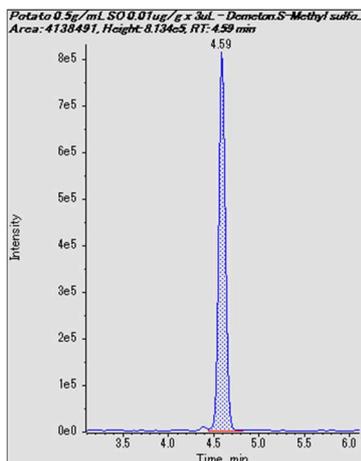


ブランク

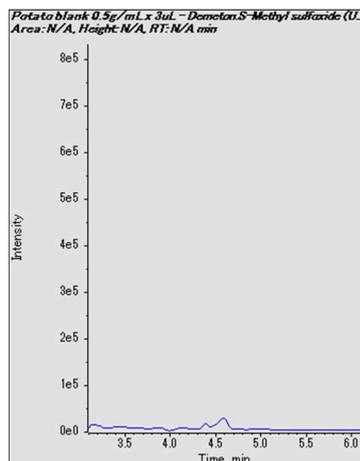
オキシデメトンメチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)



標準溶液

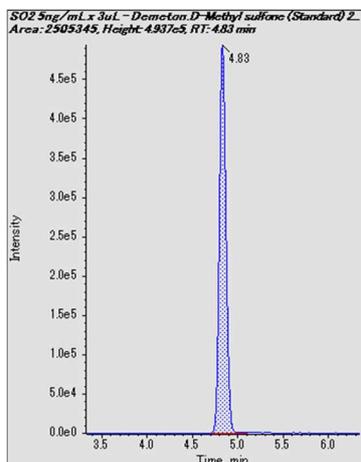


添加試料

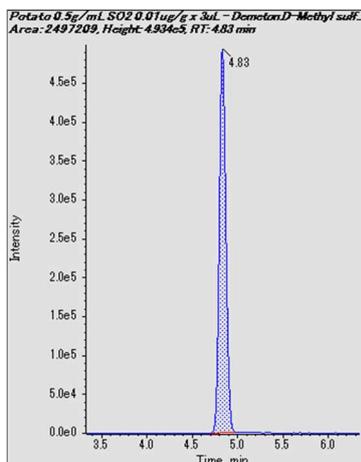


ブランク

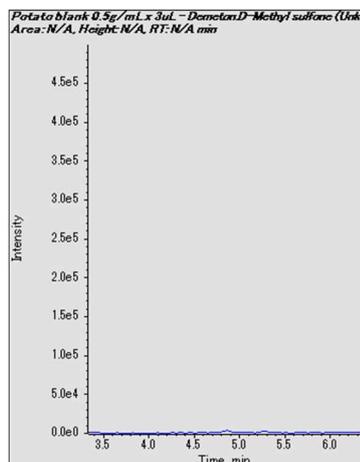
デメトン-S-メチルスルホン 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)



標準溶液



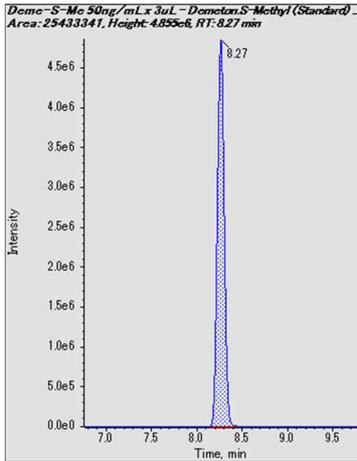
添加試料



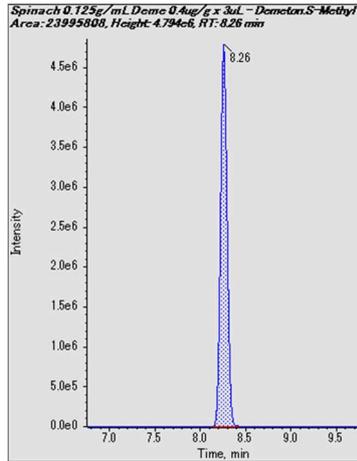
ブランク

<ほうれんそう>

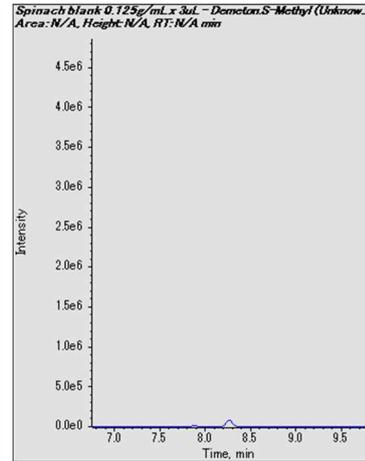
デメトン-S-メチル 基準値濃度 (0.4 mg/kg)



標準溶液

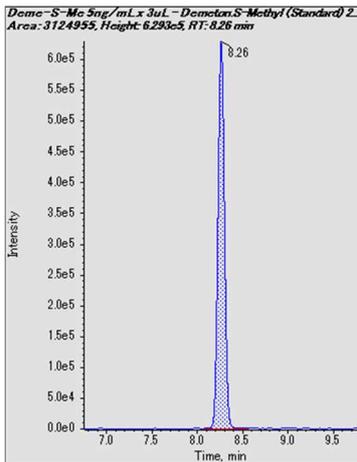


添加試料

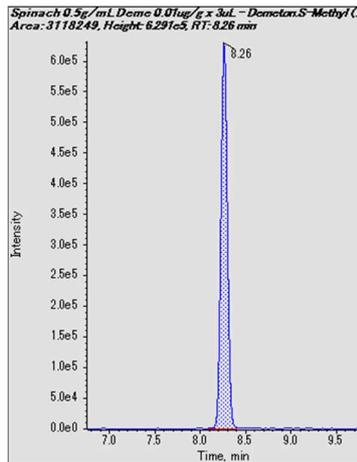


ブランク

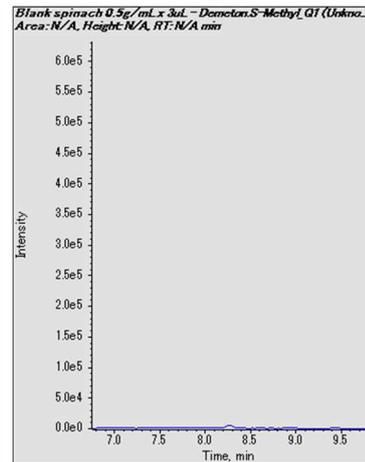
デメトン-S-メチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)



標準溶液

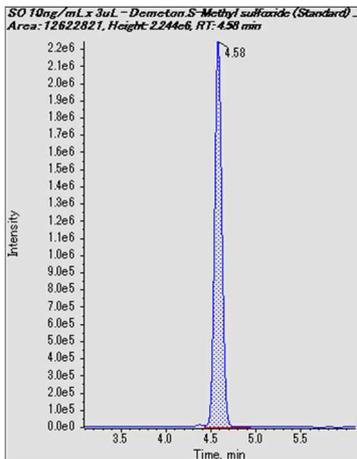


添加試料

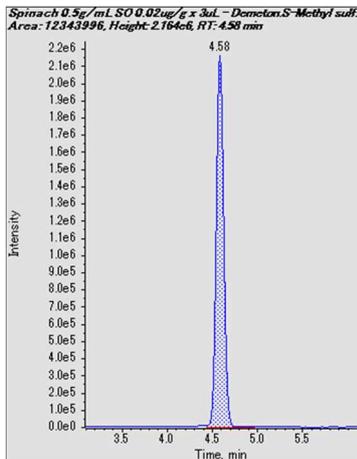


ブランク

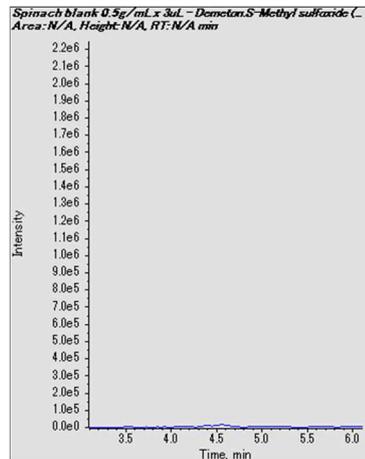
オキシデメトンメチル 基準濃度 (0.02 mg/kg)



標準溶液

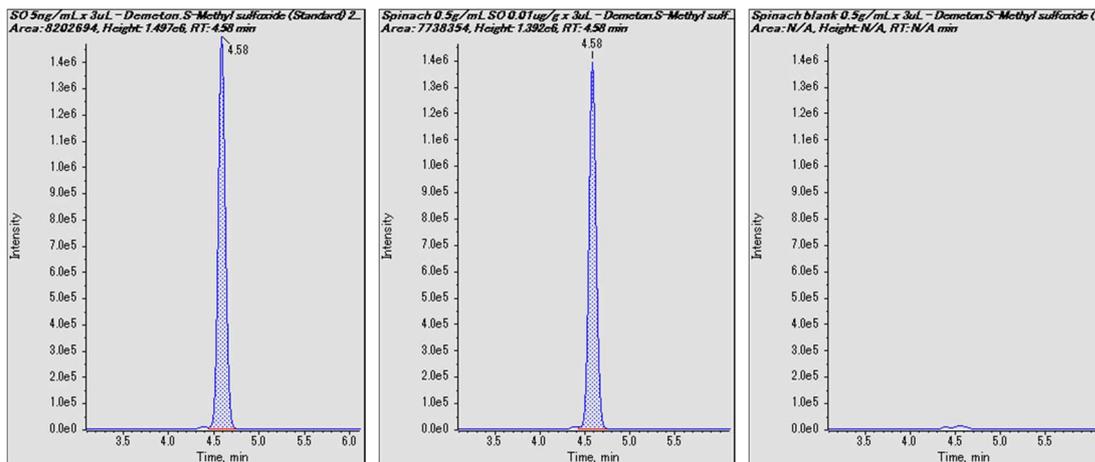


添加試料



ブランク

オキシデメトンメチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)

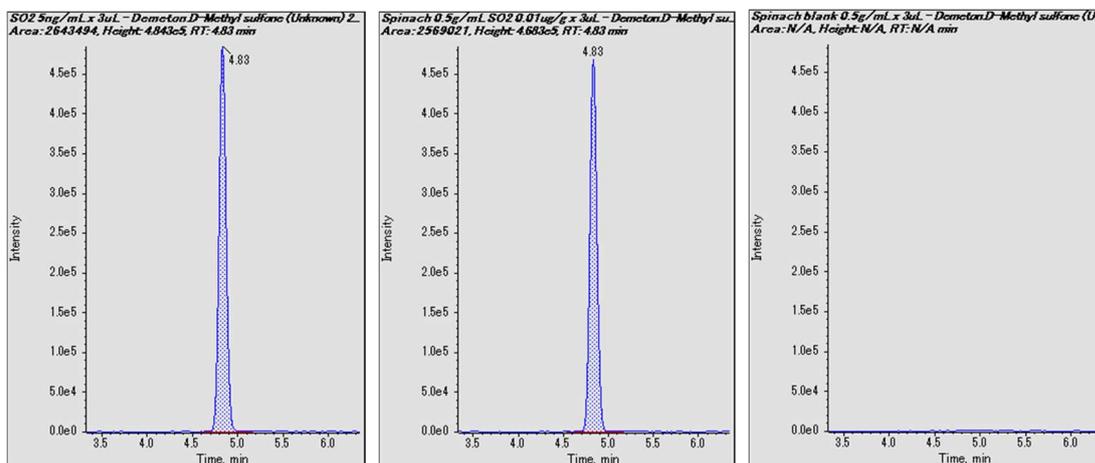


標準溶液

添加試料

ブランク

デメトン-S-メチルスルホン 定量下濃度 (0.01 mg/kg)



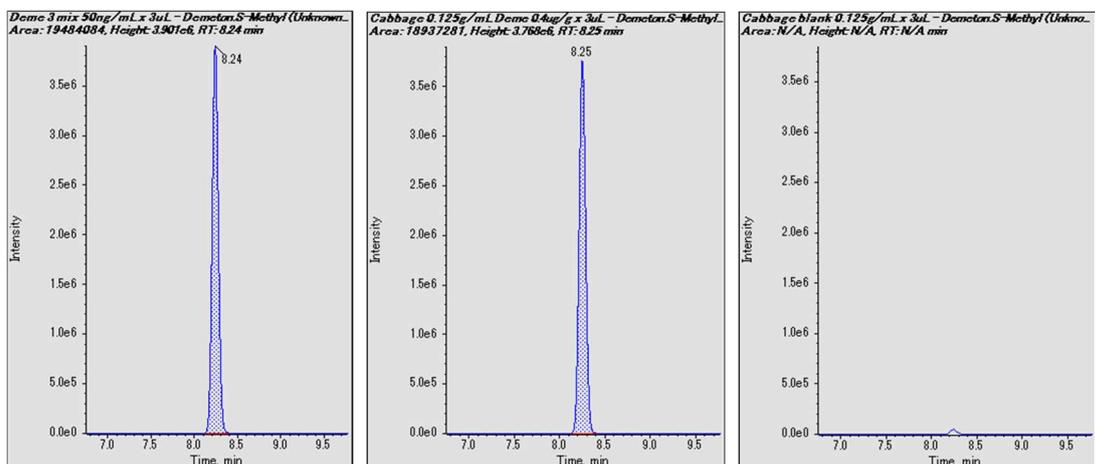
標準溶液

添加試料

ブランク

<キャベツ>

デメトン-S-メチル 基準値濃度 (0.4 mg/kg)

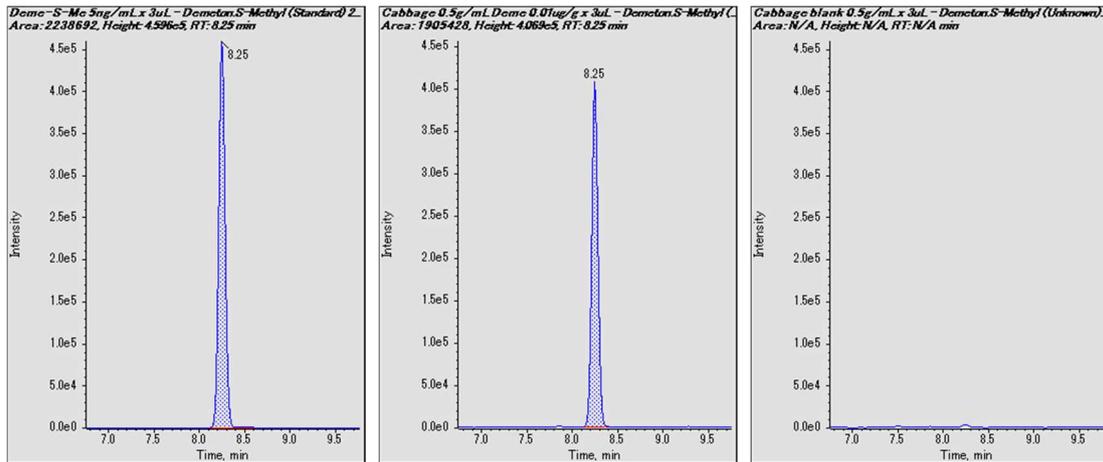


標準溶液

添加試料

ブランク

デメトン-S-メチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)

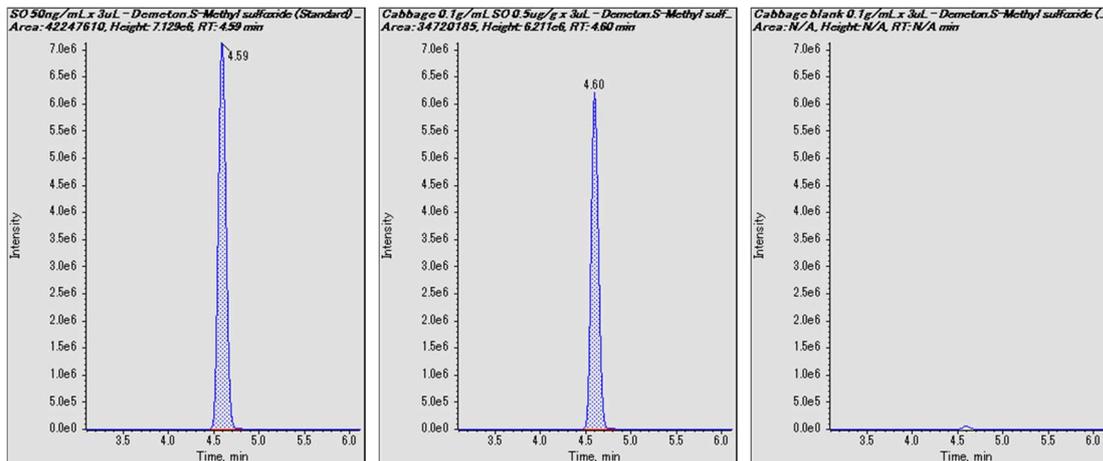


標準溶液

添加試料

ブランク

オキシデメトンメチル 基準値濃度 (0.5 mg/kg)

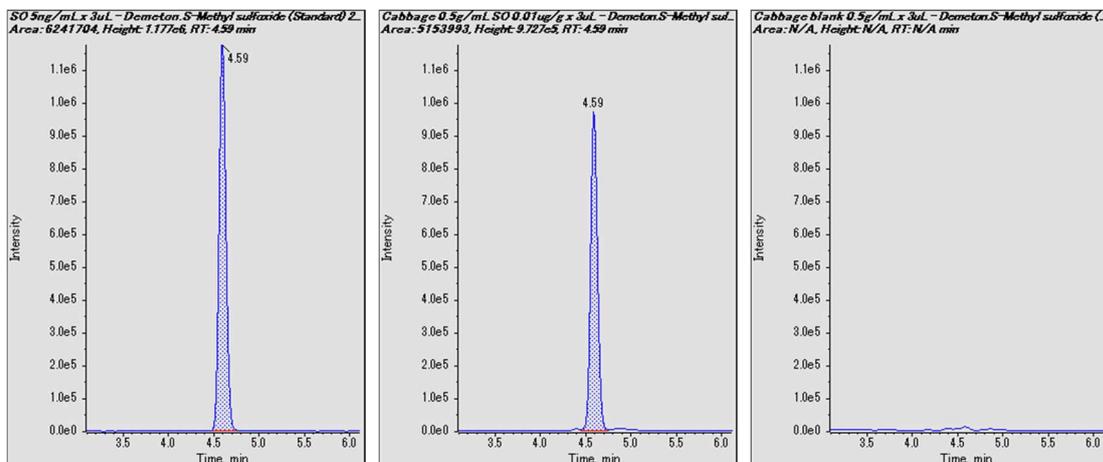


標準溶液

添加試料

ブランク

オキシデメトンメチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)

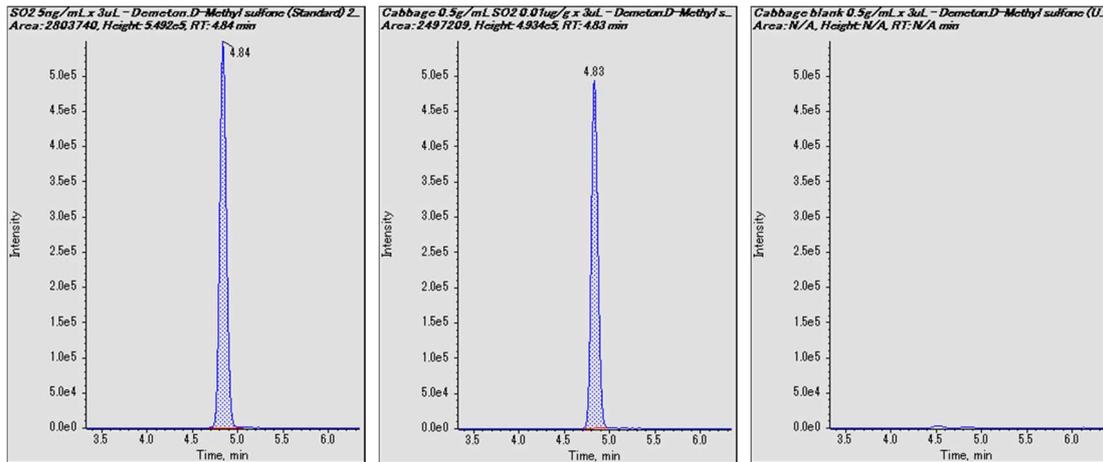


標準溶液

添加試料

ブランク

デメトン-S-メチルスルホン 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)



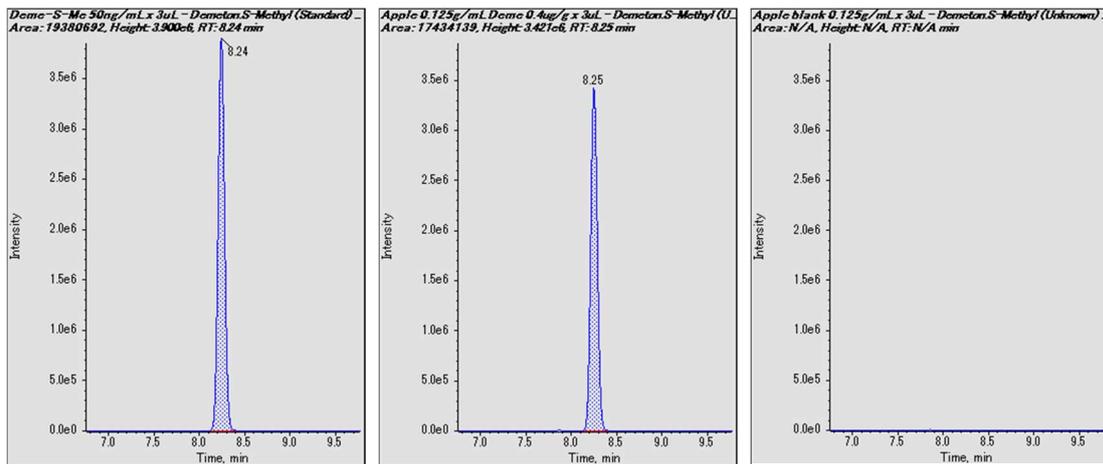
標準溶液

添加試料

ブランク

<りんご>

デメトン-S-メチル 基準値濃度 (0.4 mg/kg)

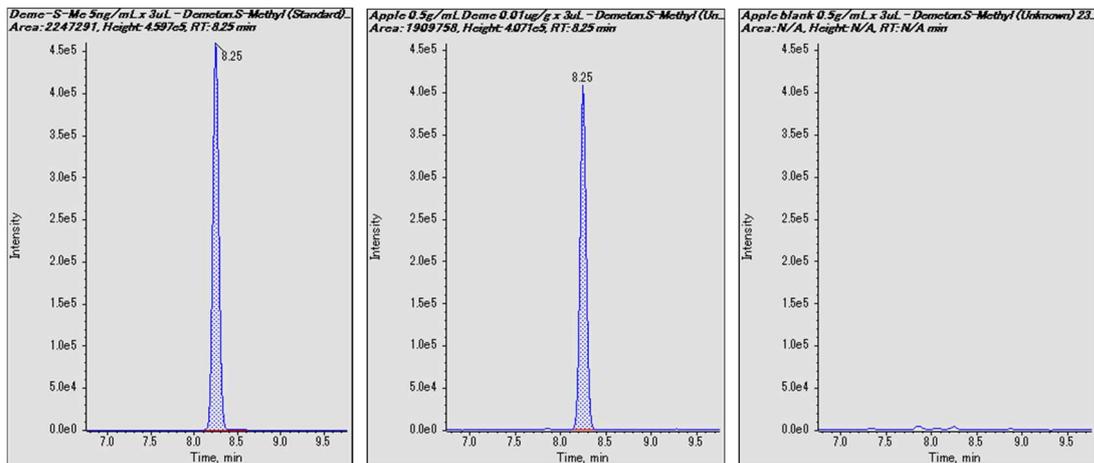


標準溶液

添加試料

ブランク

デメトン-S-メチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)

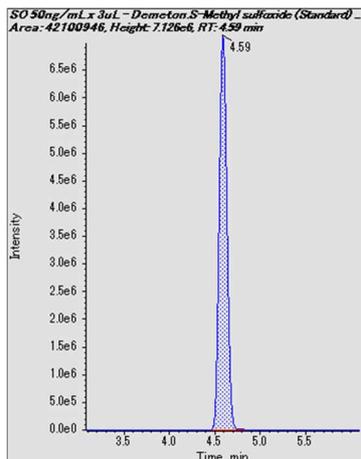


標準溶液

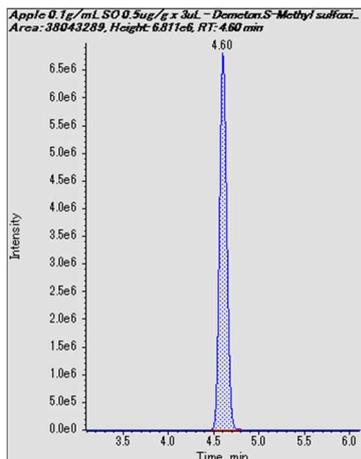
添加試料

ブランク

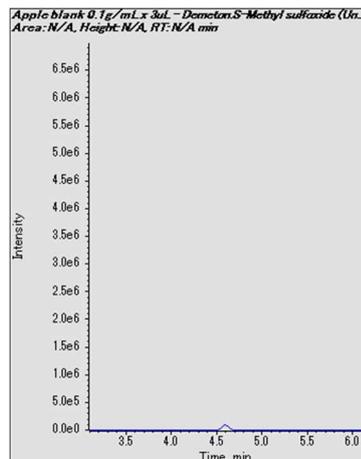
オキシデメトンメチル 基準値濃度 (0.5 mg/kg)



標準溶液

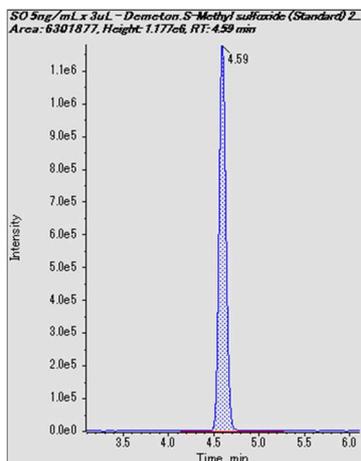


添加試料

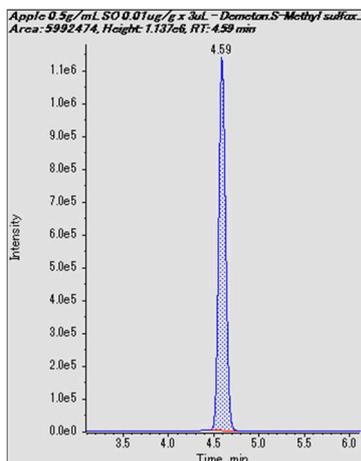


ブランク

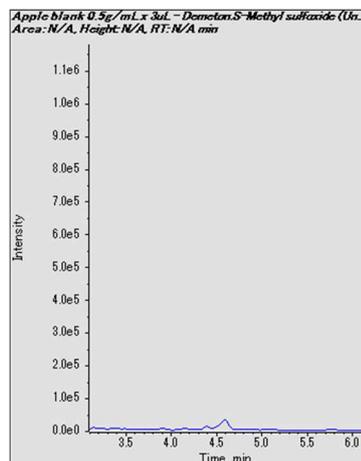
オキシデメトンメチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)



標準溶液

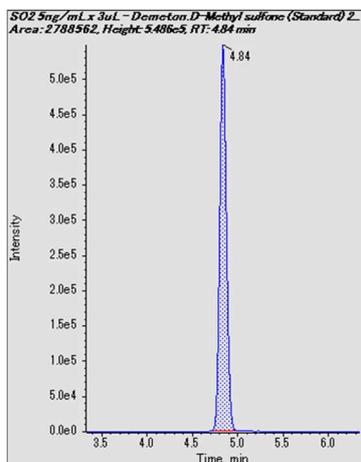


添加試料

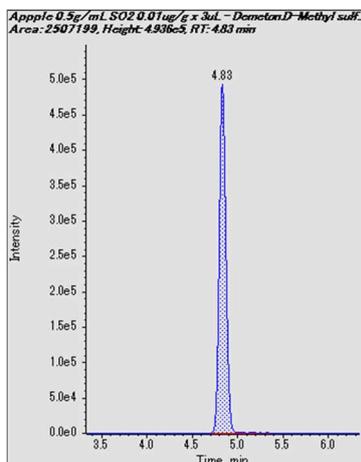


ブランク

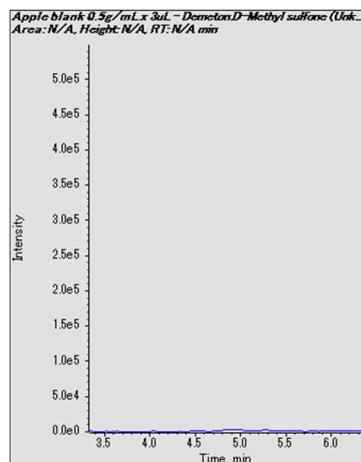
デメトン-S-メチルスルホン 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)



標準溶液



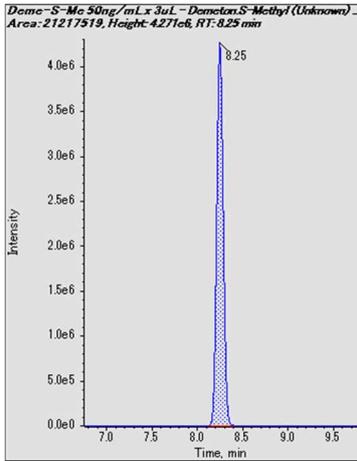
添加試料



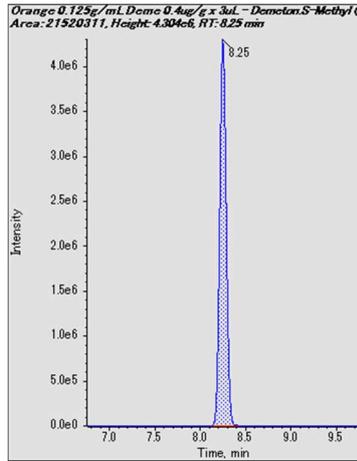
ブランク

<オレンジ>

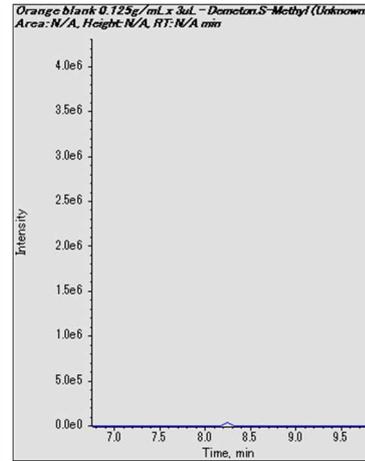
デメトン-S-メチル 基準値濃度 (0.4 mg/kg)



標準溶液

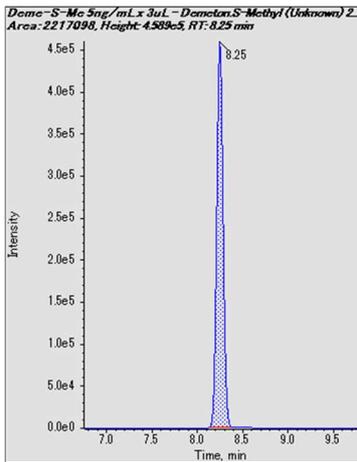


添加試料

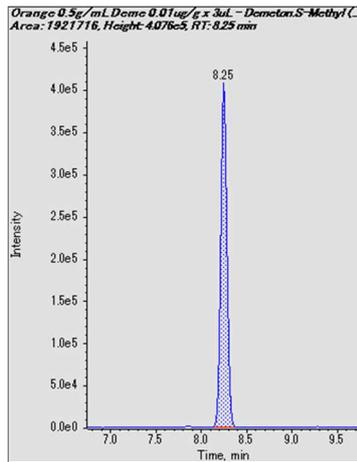


ブランク

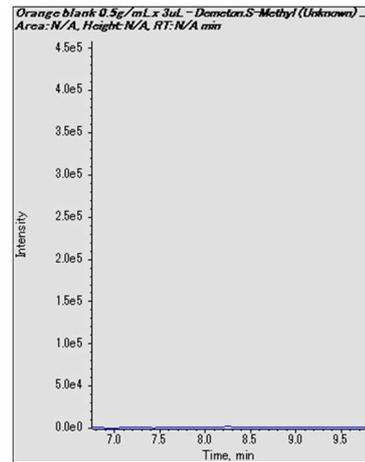
デメトン-S-メチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)



標準溶液

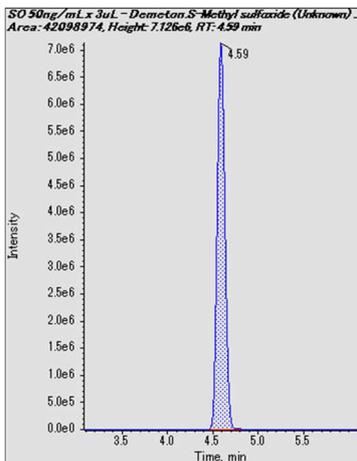


添加試料

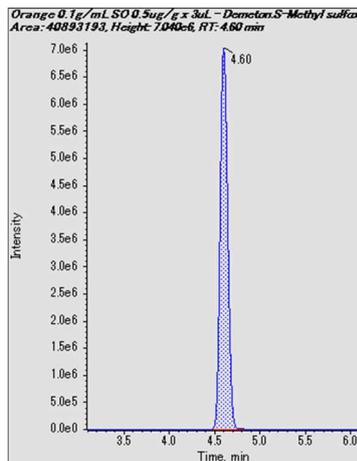


ブランク

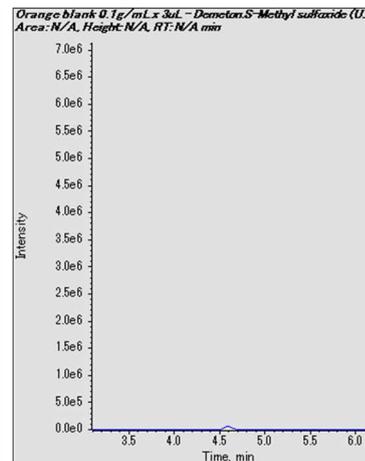
オキシデメトンメチル 基準値濃度 (0.5 mg/kg)



標準溶液

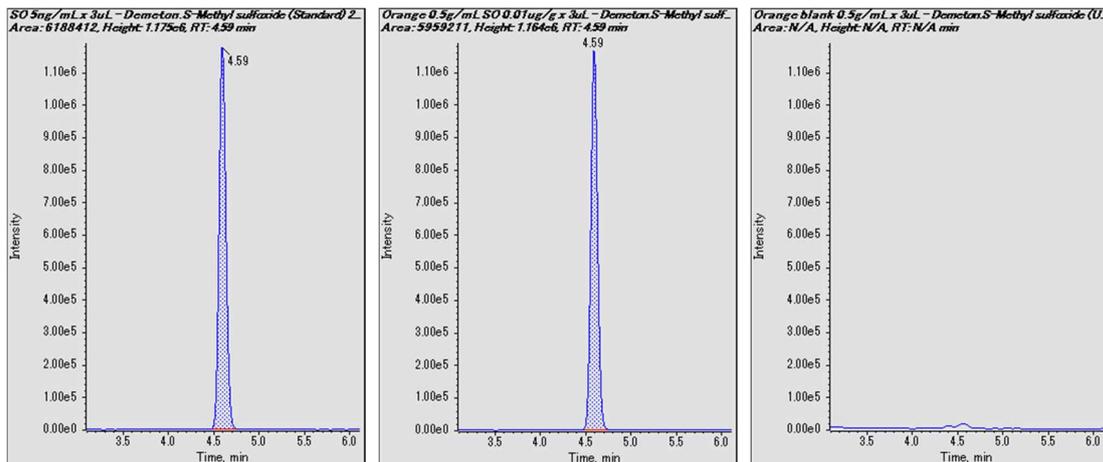


添加試料



ブランク

オキシデメトンメチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)

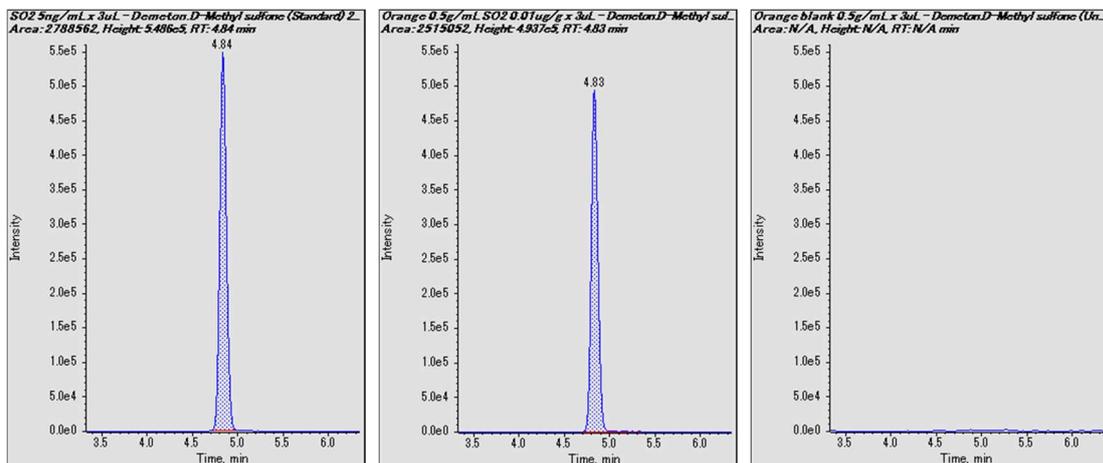


標準溶液

添加試料

ブランク

デメトン-S-メチルスルホン 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)



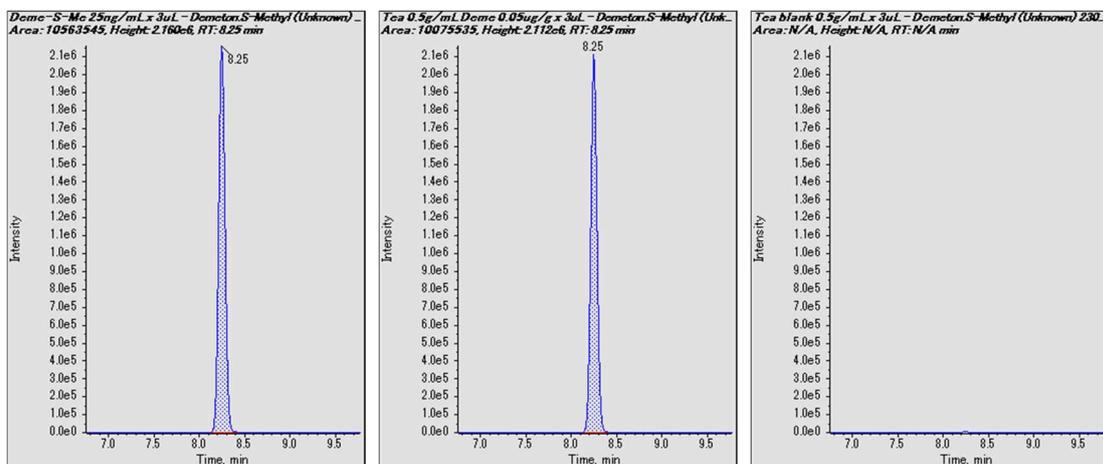
標準溶液

添加試料

ブランク

<茶>

デメトン-S-メチル 基準値濃度 (0.05 mg/kg)

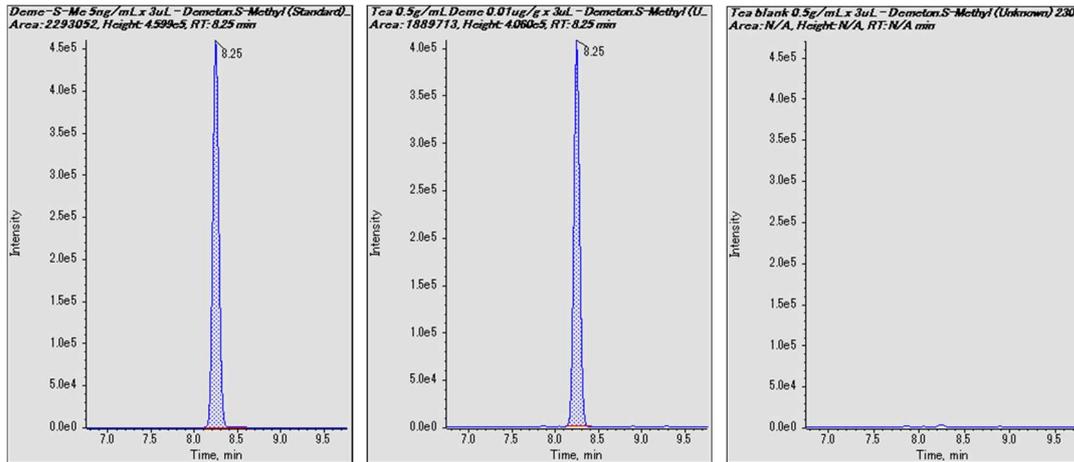


標準溶液

添加試料

ブランク

デメトン-S-メチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)

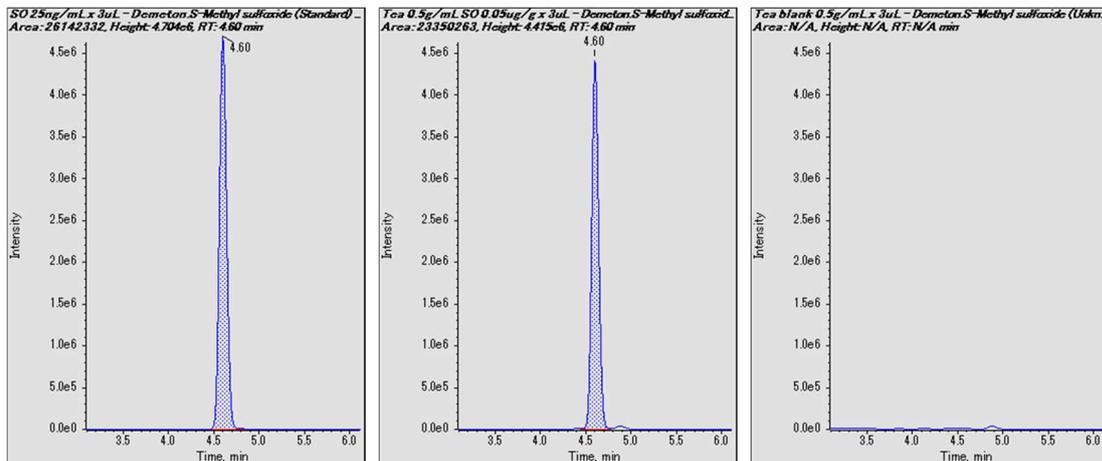


標準溶液

添加試料

ブランク

オキシデメトンメチル 基準値濃度 (0.05 mg/kg)

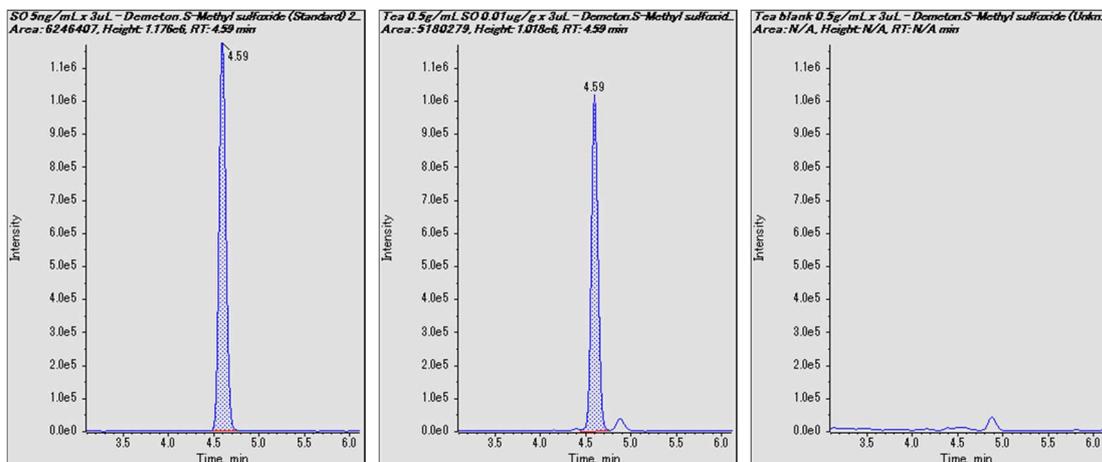


標準溶液

添加試料

ブランク

オキシデメトンメチル 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)



標準溶液

添加試料

ブランク

デメトン-S-メチルスルホン 定量下限濃度 (0.01 mg/kg)

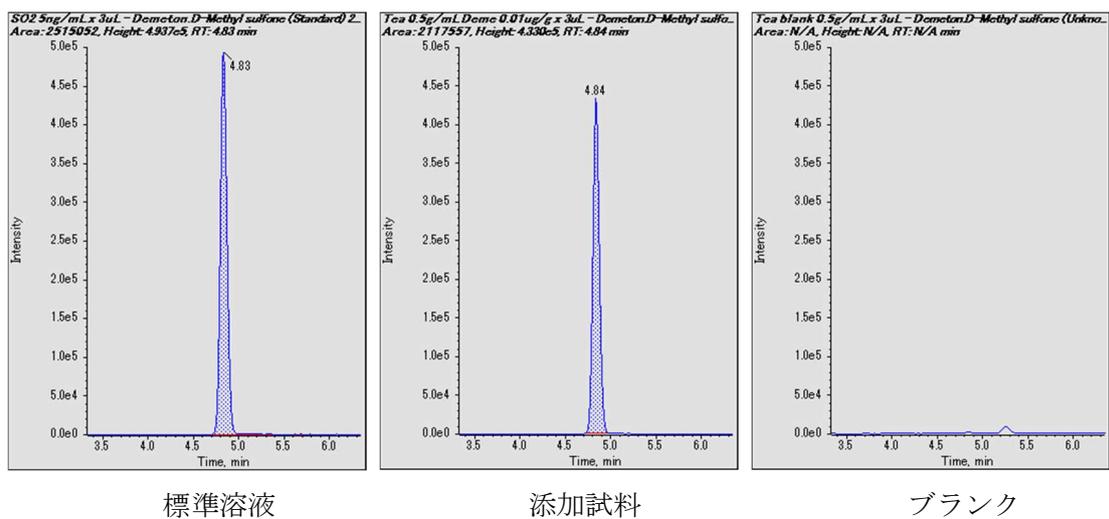
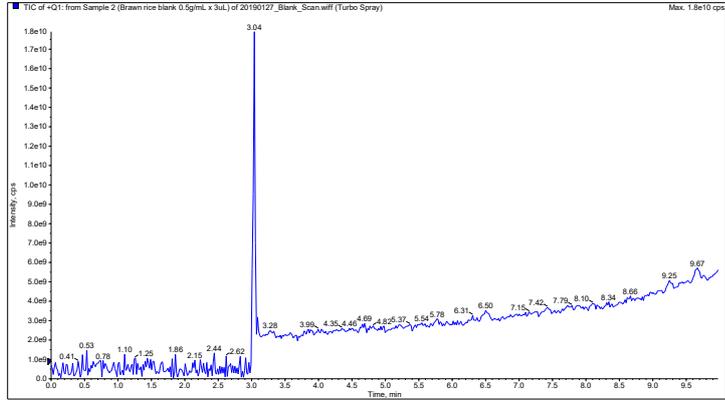
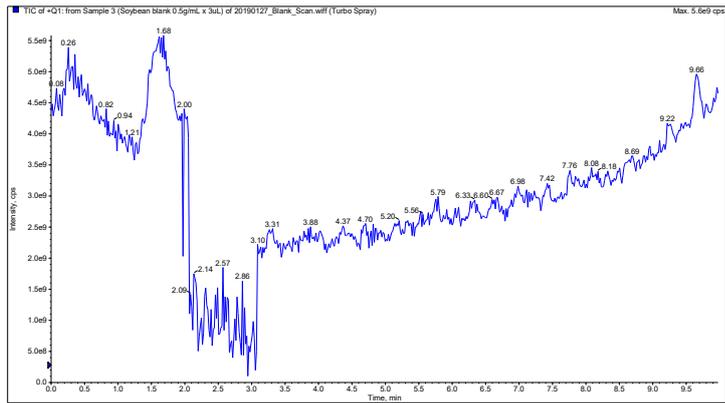


図15 添加回収試験における代表的なクロマトグラム

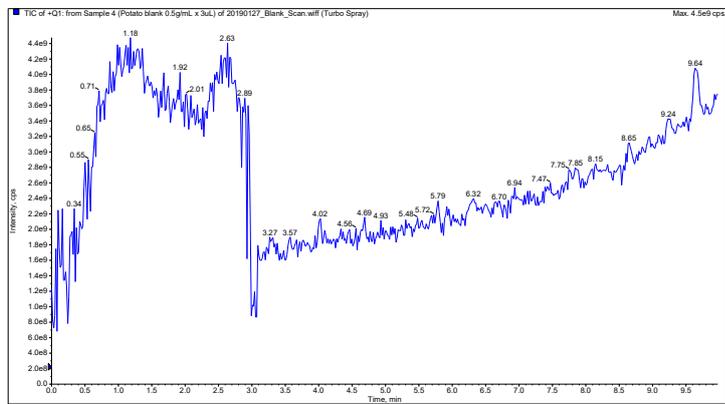
< 玄米 >



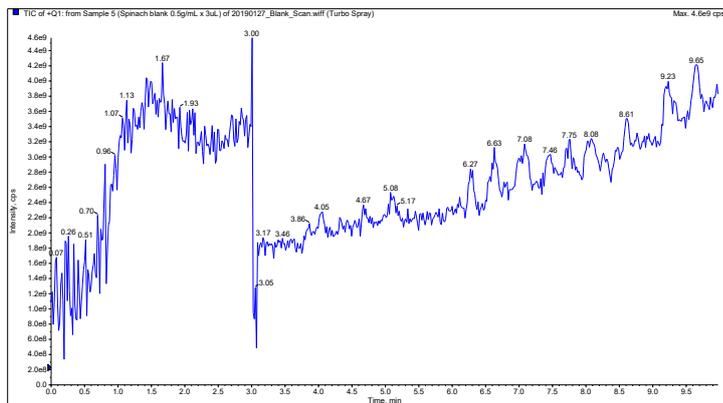
< 大豆 >



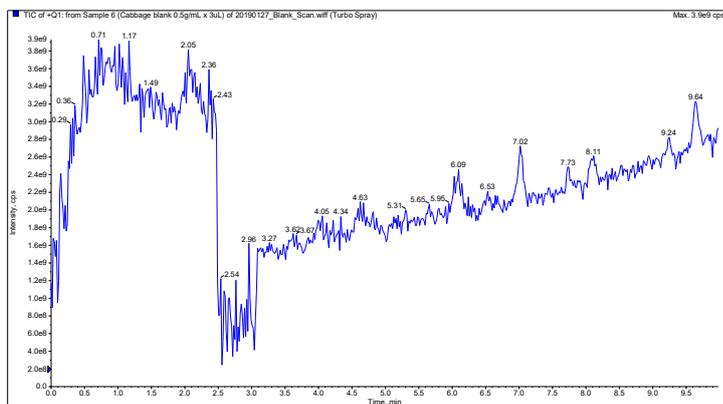
< ばれいしょ >



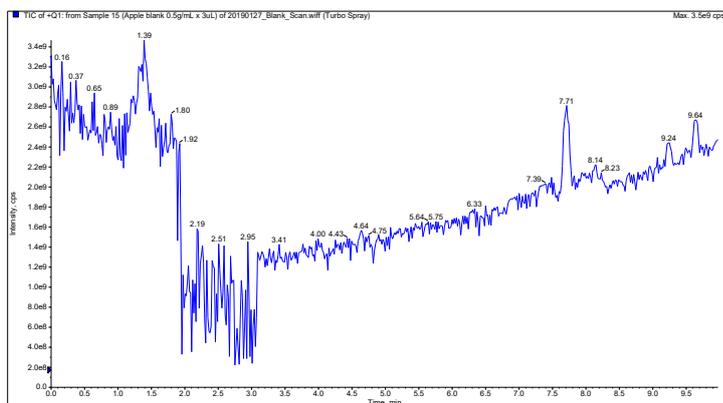
<ほうれんそう>



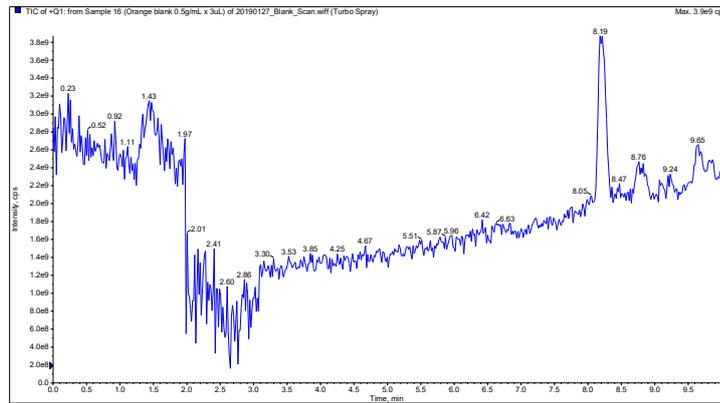
<キャベツ>



<りんご>



<オレンジ>



<茶>

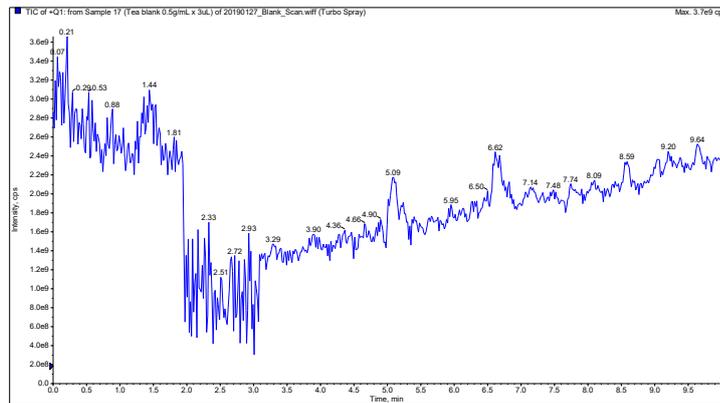


図16 トータルイオンクロマトグラム (スキャン範囲: m/z 50~1000)