

厚生労働科学研究費補助金

厚生労働科学特別研究事業

スギヒラタケ中の有害成分の分析に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

平成17（2005）年4月

主任研究者

国立医薬品食品衛生研究所 食品部

米谷 民雄

分担研究者

国立医薬品食品衛生研究所 食品部

佐々木久美子

国立医薬品食品衛生研究所 食品部

亀山 浩

国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部

小西 良子

目 次

I. 総括研究報告書

- スギヒラタケ中の有害成分の分析に関する研究 ----- 1
米谷 民雄

II. 分担研究報告書

1. 農薬及び金属の分析 ----- 7
佐々木久美子
2. きのこと成分の分析 ----- 27
穂山 浩
3. カビ毒の分析 ----- 99
小西 良子

I．総括研究報告書

スギヒラタケ中の有害成分の分析に関する研究

主任研究者 米谷 民雄

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）
平成16年度総括研究報告書

スギヒラタケ中の有害成分の分析に関する研究
主任研究者 米谷民雄 国立医薬品食品衛生研究所 食品部長

研究要旨：平成16年秋に原因不明の急性脳症が疑われる患者の報告が多数あり、共通因子としてスギヒラタケ摂取と腎障害が浮かび上がってきた。そこで、スギヒラタケ摂取が原因であるとの前提のもとに、スギヒラタケについてその原因物質を追求することが喫緊の課題になったため、平成16年度の特別研究において、緊急的に汚染物質や当該キノコに元来含まれる成分等について、3つの観点から化学分析を実施した。その結果、①外部汚染が考えられた農薬及び有害金属については、分析対象とした項目では、他の食品と比べて高い濃度を示すものはなかった。その中では水銀濃度が注目された。②カビについては、*Cladobotryum* と *Trichoderma* を分離した。カビ毒では、LC/MSによりトリコテセン系マイコトキシンを一部の試料から検出した。また、腎毒性があるオクラトキシンAとシトリニンに対する抗体に交差反応性を示す物質を検出した。③キノコに元々含まれている成分については、各地からのスギヒラタケについての逆相HPLC-UV分析で共通の数ピークを検出し、それらを単離・精製し、tryptophan, linoleic acid, oleic acid, isoamylamine と同定した。一方、原因物質候補であったムシモール、ペタイン、イボテン酸、カイニン酸、ドウモイ酸、 α -アマニチン、ファロイジンは含まれていなかったが、ドウモイ酸に対する抗体と交差反応性を示す画分を見出した。二次元HPLCでは、スギヒラタケに特徴的なピークを検出した。また、スギヒラタケのレクチン解析では、耐熱性の特徴的なレクチンを検出した。さらに、分析した6試料のうち3検体から高濃度のシアン化物イオンを検出した。

このように、3つの観点からの化学分析を広範囲に実施したが、化合物の評価方法が確立されていないこともあり、未だ原因物質の究明には至っていない。そのため、今後とも引き続き③のスギヒラタケ成分の化学分析を中心として研究を継続し、原因物質を究明することが重要と考えられた。

分担研究者（番号は以下の研究内容に対応している）

- ①佐々木久美子（国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長）
②小西良子（国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部第四室長）

③亀山 浩（国立医薬品食品衛生研究所食品部第三室長）

研究協力者

- ①武藤倫子、鈴木 憲（秋田県衛生研究所）、
根本 了、高附 巧（国立衛研食品部）
②酒井綾子（国立衛研衛生微生物部）、杉

浦義紹（神戸市環境保健研究所）、児玉幸夫（国立衛研毒性部）

③天倉吉章 近藤一成、吉岡靖雄（国立衛研食品部）、小川温子、吉田奈央（お茶の水女子大学大学院）、笠原義正（山形県衛生研究所）、戸井田敏彦、酒井信夫（千葉大学大学院薬学研究科）

A. 研究目的

平成 16 年秋に、東北・北陸地方を中心に原因不明の急性脳症が疑われる患者の報告が多数あり、その患者の共通因子を調べていくと、現段階でスギヒラタケ摂取と腎透析（腎障害）が浮かび上がってきた。そこで、スギヒラタケ摂取が原因であるとの前提のもと、スギヒラタケについてその原因物質を追求することが喫緊の課題になったため、平成 16 年度の特別研究において、汚染物質や当該キノコに元来含まれる成分等について、緊急的に 3 つの観点から化学分析を実施した。対象物質としては、①外部からの汚染が考えられる農薬および環境から吸収した有害金属、②カビおよびカビが生産するカビ毒、③キノコに元々含まれている成分、を対象とすることにした。

B. 研究方法

①急性脳症の患者が摂取したものまたはそれらと同一地域で採取したスギヒラタケを中心に、残留農薬および重金属を分析した。GC-MS 一斉分析法で 235 農薬（代謝物、異性体を含む）、LC/MS 一斉分析法で 49 農薬、個別法でカーバマナトリウム塩について、スギヒラタケに対する添加回収実験を行った後、試料を分析した。重金属は

水銀、ヒ素、鉛、カドミウム、セレン、銅、鉄、マンガン、亜鉛およびタリウムを対象に、試料を分解後、フレイム原子吸光法、水素化物変換原子吸光法または還元気化原子吸光法で測定した。

②カビの分離方法は、スギヒラタケを空の滅菌シャーレの中またはポテトデキストロース寒天（PDA）培地上に置いて 25℃で培養し、スギヒラタケの子実体または PDA 培地上に出現したカビを実体顕微鏡下で釣菌して PDA 培地に移した。形態観察と DNA 塩基配列によって同定した。カビ毒の分析は *Trichoderma* 属菌が産生すると予想されるトリコテセン系マイコトキシンについては LC/MS で一斉分析を行った。その他、主要なカビ毒であるアフラトキシン、T-2 トキシン、デオキシニバレノール、フモニシン、オクラトキシン A、シトリニン は酵素免疫測定法で分析したのち、確認実験は LC/MS/MS を用いて行った。

③スギヒラタケ含有成分について、逆相 HPLC により主に低分子化合物を対象に分析を行った。現在、UV 検出におけるメインピークを単離・精製中である。また、ドウモイ酸に対する抗体と交差反応性を示す画分を絞り込み、物質の同定および *in vitro* での生物学的活性評価を試みている。アルカロイド画分に関しては分画後、各フラクションについて LC/MS による分析を行い、さらに、主要なフラクションについては化学構造、生化学的性質の解明を行った。シアンの検出においては、酸性条件下拡散性のシアン化物イオン（無機シアン化物）として定量した。また、スギヒラタケ生食抽出液から特殊な少糖結合糖鎖プローブ

により、耐熱性の特徴的なレクチンを検出し、糖結合性を利用して精製を行った。

C. 研究結果

①スギヒラタケ中の残留農薬および重金属を分析した。GC/MS 一斉分析法で分析した 8 試料のすべてから DDT 類が 0.006～0.019 ppm 検出され、7 試料からディルドリンが 0.003～0.006 ppm 検出され、また、2 試料からクロルデンが痕跡量～0.004 ppm 検出された。個別法で分析したカーバムサトリウム塩および LC/MS 一斉分析法で分析した 49 農薬はいずれも検出されなかった。重金属は、水銀、ヒ素、鉛、カドミウム、セレン、銅、鉄、マンガン、亜鉛およびタリウムを分析した結果、タリウム以外のすべての重金属が検出された。検出された農薬および重金属は、一般食品に比べて特筆すべき濃度ではなかったが、その中では水銀濃度が注目された。

②スギヒラタケに付着・着生しているカビの分離とカビ毒の分析を行った。7 試料中 3 試料の子実体から *Cladobotryum* が、1 試料の子実体から *Trichoderma* が分離された。また、試料を PDA 培地上に置いて培養した 6 件のうち 4 件から *Trichoderma* が分離された。カビ毒は、分析した 6 検体のうち 1 検体からトリコセン系マイコトキシンであるフザレノン X が検出された。また、オクラトキシン A およびシトリニンは酵素免疫測定法において低濃度ではあるが検出されたが、LC/MS/MS を用いた確認実験では検出されなかったことから、オクラトキシン A およびシトリニンと似た構造を持つ物質が存在する可能性が示唆された。

③日本各地から採取したスギヒラタケについて、UV 検出逆相 HPLC による含有成分の検討を行った結果、数ピークが共通して検出された。それらを同定する目的で、カラムクロマトによる単離・精製を繰り返し、tryptophan、linoleic acid、oleic acid、isoamylamine を同定した。また、スギヒラタケ中にはキノコ毒や、症状から原因と考えられるような既知物質であるムシモール、ベタイン、イボテン酸、カイニン酸、ドウモイ酸、 α -アamaniチン、ファロイジンは、含まれていないことが判明した。しかし、スギヒラタケの抽出画分にドウモイ酸に対する抗体と交差反応性を示す画分が見出された。また、二次元 HPLC による分析により、スギヒラタケに特徴的なピークが検出された。また、スギヒラタケの糖結合性タンパク質（レクチン）を検出し、その少糖結合特異性を解明し精製した。さらに、シアニ化物イオンの分析を実施したところ、分析した 6 試料のうち 3 検体から高濃度のシアニ化物イオンが、1 検体から微量のシアニ化物イオンが検出されたが、2 検体では検出限界以下であった。

D. 考察

①今回分析対象とした農薬及び重金属には、他の食品と比べて高い濃度を示すものは検出されなかったことから、農薬及び重金属が急性脳症発生に関与した可能性は低いと推察された。今後は、その他の要因に重点を置いた原因究明が妥当であろう。

②本研究から、*Cladobotryum* が本邦でスギヒラタケの菌寄生体菌となっている可能性が示唆されたが、毒素産生性については現在のところ不明である。*Trichoderma* は、

スギヒラタケの生育環境中に広く分布していることが示唆された。*Trichoderma* が産生するカビ毒、トリコテセン系マイコトキシンは、ヒトに免疫毒性を示すことが知られている。また、オクラトキシン A およびシトリニンはそれぞれ腎障害を起こすカビ毒であり、共汚染の場合には相乗効果があると報告されている。本研究の結果、オクラトキシン A およびシトリニンと似た構造を持つ物質の存在が示唆されたので、今後その物質の構造を明らかにすると共に、発症患者が摂食したスギヒラタケおよび来年度生育するスギヒラタケ中のカビおよびカビ毒を詳細に検討することにより、急性脳症との因果関係の有無が明らかになるであろう。

③UV 検出逆相 HPLC 分析、LC-TOF 分析及び二次元 HPLC 分析におけるスギヒラタケ特有の主ピークをはじめとする多成分について、現在も単離・精製・同定中である。また今後、ドウモイ酸に対する抗体と交差反応性を示す画分をさらに追跡し、物質の同定を行い、生物学的活性を *in vitro* で評価する予定である。さらに、アルカロイド抽出においては、酢酸エチル層の特徴的成分について化学的性質を明らかにする予定である。また、スギヒラタケレクチンの簡便な精製法の基礎を確立したので、毒性研究への精製レクチンの提供が可能となった。一方、シアン検出においては高濃度のシアン化物イオンが遊離体としてスギヒラタケ中に存在するとは考え難いが、シアノ配糖体などの存在も考慮しなければならないこと、今後新たにシアン化物イオンの存在状態及び多検体のシアン化物イオンの分析法を早急に確立する必要がある

あると考えられた。スギヒラタケの成分に関する報告は極めて少ないため、本研究により得られた化学的情報は、スギヒラタケとその毒性の関係を追及する上で、重要な科学的データになり得ると考えられた。

E. 結 論

①分析対象とした農薬及び重金属には、他の食品と比べて高い濃度を示すものは検出されず、農薬及び重金属が急性脳症発生に関与した可能性は低いと推察された。対象の重金属の中では、水銀濃度が注目された。

②スギヒラタケに付着・着生している主要なカビは、*Cladobotryum* と *Trichoderma* であった。一部の分析試料から、カビ毒としてトリコテセン系マイコトキシンが検出された。また、腎毒性を呈するオクラトキシン A およびシトリニンと免疫化学的構造が類似したものが、比較的多くの試料から検出された。これらのカビ毒およびその類似物質と脳症との関与を検討する必要があると考えられた。

③キノコ成分の分析では、スギヒラタケ特有の成分を検出し、その中でレクチンを含む数種の化合物を同定した。また、一般毒性和関連するものとしてシアン化物イオンを検出した。シアン化物イオンと急性脳症との関与を今後検討する必要がある。

④以上のように、汚染物質やスギヒラタケの成分等について、3つの観点から緊急的に化学分析を実施したが、原因物質の追究に役立つ化合物の評価法が確立されていないこともあり、原因物質の究明には至っていない。そのため、今後ともスギヒラタケ成分の分析を中心として、研究を継続し、

本事例の原因を究明すべきと考えられた。
その際、単離した化合物の評価法の確立が
非常に重要と考えられた。

F. 健康危険情報

スギヒラタケによると思われる脳症の
原因が未解明であるため、平成 17 年のス
ギヒラタケ摂取の時期の前に、スギヒラタ
ケ摂取についての注意喚起を、再度行う必
要があると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

Ⅱ．分担研究報告書

1．農薬及び金属の分析

分担研究者 佐々木久美子

厚生労働科学研究費補助金(厚生労働科学特別研究事業)
分担研究報告書

スギヒラタケ中の有害成分の分析に関する研究
(1) 農薬及び重金属の分析

分担研究者 佐々木久美子 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

スギヒラタケ中の有害成分の検索を目的として、残留農薬及び重金属を分析した。

農薬については、航空防除に使用される農薬、松くい虫防除のために伐倒木に使用される農薬、殺鼠剤及びこれらの農薬と同時に GC-MS または LC-MS で分析可能な農薬の合計約 260 種を対象に、患者に関連するスギヒラタケ試料を分析した。その結果、GC-MS 一斉分析法で分析した 8 試料のすべてから DDT 類が $0.006 \sim 0.019 \mu\text{g/g}$ 検出され、7 試料からディルドリンが $0.003 \sim 0.006 \mu\text{g/g}$ 、2 試料からクロルデンが痕跡量 $\sim 0.004 \mu\text{g/g}$ 検出された。カーバムナトリウム塩については 9 試料を分析したが、いずれの試料からも検出されなかった。また、LC-MS 一斉分析法で分析した 8 試料からは、対象とした 49 農薬はいずれも検出されなかった。

重金属については、水銀、ヒ素、鉛、カドミウム、セレン、銅、鉄、マンガン及び殺鼠剤の成分でもある亜鉛及びタリウムを対象に、患者に関連しないものも含めスギヒラタケ 14 試料及び対照としてその他の市販キノコ類を分析した。タリウムは全ての試料から検出されなかったが、その他の重金属が検出された。スギヒラタケ中の総水銀濃度は他のキノコの分析値及び文献値と比較して高かったが、魚類に含まれる総水銀に比べれば低かった。また、患者関連スギヒラタケとその他のスギヒラタケ間に重金属濃度の顕著な差は認められなかった。

研究協力者

秋田県衛生研究所

武藤倫子、鈴木 憲

国立医薬品食品衛生研究所

根本 了、高附 巧

GC-MS 一斉分析法または LC-MS 一斉分析法で同時分析が可能な約 260 農薬とした。

重金属は有害重金属に重点を置き、水銀、ヒ素、鉛、カドミウム、セレン、銅、鉄、マンガン及び殺鼠剤の成分でもある亜鉛及びタリウムを分析した。

A. 研究目的

急性脳症の発症とスギヒラタケ摂取に因果関係があると推定されている。そこで、スギヒラタケ中の有害物質の検索を目的として、残留農薬及び重金属を分析した。

分析対象農薬は、森林において使用されている代表的な薬剤について林野庁等から情報提供を受け(表1)、表中に○印を付けた農薬、及び

B. 研究方法

1. 試料

分析したスギヒラタケ試料を表2に示した。試料は平成 16 年 10～12 月に厚生労働省を通じて各都道府県から入手し、分析に供するまで、 -20°C で冷凍保存した。

農薬の分析対象としたスギヒラタケは、急性脳症患者が食したもの及びそれらと同一地域で採取されたものである。添加回収実験には患者と無

関係のスギヒラタケを用いた。

重金属の分析対象には、患者と無関係のスギヒラタケも加えた。塩漬けのものは分析前に、蒸留水で数回塩抜きを行った。重金属分析の対照試料として秋田市内で購入したスギタケ、ナラタケ、ムキタケ、ナメコ、天然ユキノシタ、天然エノキ及びムラサキシメジを用いた。

いずれも試料は細切後均一化したのち分析に用いた。

2. 農薬の分析法

2-1. GC-MS 一斉分析法

① 試薬及び試液

試薬：*n*-ヘキサン（ヘキサン）、アセトニトリル、アセトン、塩化ナトリウム（NaCl）及び無水硫酸ナトリウム（Na₂SO₄）は残留農薬試験用試薬（和光純薬工業㈱または関東化学㈱製）を使用した。リン酸水素二カリウム（K₂HPO₄）及びリン酸二水素カリウム（KH₂PO₄）は特級試薬（和光純薬工業㈱製）を使用した。セライトは和光純薬工業㈱製のセライト No.545 を使用した。PSA ミニカラムは、Bond Elut Jr. PSA（担体量 500 mg, Varian 社製）を使用した。

リン酸緩衝液（0.5 mol/L, pH 7.0）：K₂HPO₄ 52.3 g と KH₂PO₄ 30.6 g を水約 500 mL で溶解し、1 mol/L 塩酸または 1 mol/L NaOH で pH 7.0 に調整し、水を加えて 1000 mL とした。

農薬標準品：いずれも林純薬工業㈱、関東化学㈱、和光純薬工業㈱、Riedel-de Haën 社または Dr. Ehrenstorfer 社製の残留農薬試験用試薬を用いた。表 3-1 及び表 3-2 に検討に用いた農薬を示した。なお、アルジカルブ及びアルドキシカルブは GC 注入時に容易に分解するため分解物を測定した。

農薬標準原液：各農薬標準品をヘキサンで溶解して（溶解しにくい場合にはできるだけ少量のアセトンで溶解後ヘキサンで希釈して）1 mg/mL の濃度に調製し冷凍庫（-30℃）に保存した。

農薬標準混液：表 3-1 及び表 3-2 に示したよう

にグループ 1 及びグループ 2 の 2 つに分けて農薬標準混液を調製した。各農薬標準原液をとり、アセトンを加えて 2 mg/L（3-ヒドロキシカルボフラン、ピレトリン、フルメトリンは 4 mg/L、ジフェンゾコート、チアクロプリド、チアクロプリドアミド、ベンタゾン、メトリブジン DADK、メトリブジン DK、メトリブジン DA は 8 mg/L、アセフェート、アミラズ代謝物、アルジカルブ、イプロジオン、イマザリル、カブタホール、ジエトフェンカルブ、チアベンダゾール、メタミドホス、プロパモカルブは 10 mg/L、シロマジン は 16 mg/L、アセタミプリド、イプロジオン代謝物、イミベンコナゾール脱ベンジル体、オキサミル、トリシクラゾール、バミドチオンは 20 mg/L 及びモランテルは 24 mg/L）の濃度に調製し、冷凍庫（-30℃）に保存した。

② 装置

GC-MS：Agilent Technologies 社製ガスクロマトグラフ GC6890（Gerstel 製のオートサンプラー MPS2 付）及び同社製質量分析計 5973MSD を使用した。

ホモジナイザー：ポリトロ（Kinematic AG 社製）。

濃縮装置：ESC2000（Savant 社製）。

③ GC-MS 条件

GC カラム：J&W Scientific 社製のキャピラリーカラム DB-5MS（内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm）、ガードカラム：Agilent Technologies 社製の不活性化キャピラリーカラム（内径 0.25 mm、長さ 2.0 m）、オープン温度：50℃（1 min）→25℃/min→125℃→10℃/min→300℃（18.5 min）、注入口温度：250℃、トランスファーライン温度：300℃、イオン源温度：230℃、四重極温度：150℃、キャリアーガス：ヘリウム（1 mL/min）、注入量：2 μL、注入方法：パルスドスプリットレス（注入時圧力 40 psi）、イオン化電圧：70 eV（EI モード）、測定方法：SIM（selected ion monitoring）モード（モニターイオンは表 3-1 及び表 3-2 参照）及びスキャン（スキャン範囲 50～550 amu、スキャンスピード 2.94 scans/sec）、エレクトロンマルチプライヤ（EM）電

圧:SIM 測定では 2800 V, スキャン測定ではオートチューニングでの設定値を用いた。

④ 試験溶液の調製

試験法の概略を図 1 に示した。試料 20.0 g にアセトニトリル 50 mL を加えて、ホモジナイザーで 2 分間ホモジナイズした後、ろ過助剤にセライトを用いて吸引ろ過した。残渣及び抽出容器をアセトニトリル 20 mL で洗浄後吸引ろ過し、ろ液を先のろ液に合わせ、アセトニトリルで 100 mL 定容とした。抽出液 20 mL (試料 4.0 g 相当) を分液ロートに取り、NaCl 10 g 及びリン酸緩衝液 20 mL を添加し 5 分間振とう後、10 分間放置した。分離した水層を除き、得られたアセトニトリル層に適量の無水硫酸ナトリウムを添加し、振とうして脱水した。ろ過で無水硫酸ナトリウムを除去し、少量のアセトニトリルで無水硫酸ナトリウムを洗浄した。ロータリーエバポレーターを用いて 40℃以下で減圧濃縮後、窒素ガスで乾固した。残留物をアセトン-ヘキサン(1:1) 2 mL を用いて超音波処理により溶解した。この溶液を予めアセトン-ヘキサン(1:1) 5 mL でコンディショニングした PSA ミニカラムに負荷し、アセトン-ヘキサン(1:1) 20 mL で溶出した。溶出液を濃縮装置を用いて濃縮後、窒素ガスで乾固し、アセトン-ヘキサン(1:1) 1.0 mL で溶解し試験溶液とした。

⑤ 添加回収実験

試料 20.0 g にグループ 1 またはグループ 2 の各農薬標準混液 0.5 mL を添加し、30 分放置したものを試料とした。

⑥ 定量、確認及び検出限界

定量は SIM 測定により得られたピーク面積を用いて絶対検量線法で行った。確認はスキャン測定ではマススペクトルを、低濃度でマススペクトルが得られない場合には SIM 測定によりフラグメントイオンの相対強度比を標準品と比較することにより行った。各農薬の検出限界(LOD)は、実際の試料のベースラインノイズを用いて $S/N=3$ を与える試料中濃度として求めた。また、 $S/N=10$ を与える試料中濃度を定量限界(LOQ)とし、LOD 以上で

LOQ 未満の値は痕跡量(tr)とした。

2-2. カーバムナトリウム塩の分析法

① 試薬及び試液

試薬:塩化ナトリウム(NaCl)及び酢酸エチルは残留農薬試験用試薬(和光純薬工業(株)または関東化学(株)製)を使用した。シリコンは消泡剤 KM-72(信越シリコン社製)を使用した。液相分離ろ紙は Whatman 社製の IPS (直径 90 mm)を使用した。リン酸二水素カリウム(KH_2PO_4)及びリン酸水素二ナトリウム・十二水塩($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$)は特級試薬(和光純薬工業(株)製)を使用した。沸騰石は和光純薬工業(株)製の水質試験用を使用した。

0.2 mol/L リン酸緩衝液(pH 5):0.2 mol/L KH_2PO_4 溶液に 0.2 mol/L Na_2HPO_4 溶液を加えて pH を 5 に調整した。

蒸留水:水道水をイオン交換樹脂に通し、これをガラス製の蒸留装置を用いて 2 回蒸留したものを使用した。

農薬標準品:カーバムナトリウム三水和物(Dr. Ehrenstorfer 社製、純度 98.0%)及びメチルイソチオシアネート(関東化学(株)製、純度 99%以上)を使用した。

農薬標準原液:カーバムナトリウム三水和物はメタノールで溶解して 1 mg/mL の濃度に調製し冷凍庫(-30℃)に保存した。メチルイソチオシアネートは少量のアセトンに溶解後ヘキサンで希釈して 1 mg/mL の濃度に調製し冷凍庫(-30℃)に保存した。農薬標準原液は酢酸エチルで適宜希釈して使用した。

② 装置

GC-MS:2-1. GC-MS 一斉分析法に同じ。

ホモジナイザー:2-1. GC-MS 一斉分析法に同じ。

水蒸気蒸留装置:Nielsen-Kryger 装置(前田製作所製、図 2 参照)を使用した。装置は使用後上部から蒸留水を流して水洗した後、アセトン約 100 mL を用いて加熱還流して洗浄後、更に装置

内をアセトンで洗浄した。

③ GC-MS 条件

GC カラム: J&W Scientific 社製のキャピラリーカラム DB-WAX (内径 0.25 mm, 長さ 30 m, 膜厚 0.25 μ m), ガードカラム: Agilent Technologies 社製の不活性化キャピラリーカラム (内径 0.25 mm, 長さ 2.0 m), オープン温度: 50°C (1 min) $\rightarrow$ 15°C /min $\rightarrow$ 230°C, 注入口温度: 250°C, トランスファーライン温度: 240°C, イオン源温度: 230°C, 四重極温度: 150°C, キャリヤーガス: ヘリウム (1 mL/min), 注入量: 2 μ L, 注入方法: スプリットレス注入, イオン化電圧: 70 eV (EI モード), 測定方法: SIM (selected ion monitoring) モード (m/z 73.1 を定量用イオンとし, m/z 72.0, 74.0, 45.1, 35.6 及び 75.0 を定性用イオンとした) 及びスキャン (スキャン範囲 20 ~ 550 amu, スキャンスピード 2.78 scans/sec), エレクトロンマルチプライヤ (EM) 電圧: SIM 測定では 2800 V, スキャン測定ではオートチューニングでの設定値を用いた。

④ 試験溶液の調製

試料 20.0 g を水蒸気蒸留装置の丸底フラスコに量り取り, 0.2 mol/L リン酸緩衝液 200 mL, 酢酸エチル 10 mL, シリコン約 0.2 mL 及び沸騰石 5 個を加え, 40 分間加熱還流した。終了後, トラップ部分の水及び酢酸エチルを 100 mL の分液ロートにとり, NaCl 15 g を加え, 振とう機を用いて 5 分間激しく振とうし, 暫時放置した後, 酢酸エチル層を液相分離ろ紙を用いて分取し, 酢酸エチルで 10 mL 定容とし, 試験溶液とした。

⑤ 添加回収実験

試料に 0.05 μ g/g になるようにカーバムナトリウムを添加して 30 分放置したものを試料とした。

⑥ 定量, 確認及び検出限界

2-1. GC-MS 一斉分析法に同じ。また, メチルイソチオシアネート標準品の 0.005 ~ 0.08 mg/L 酢酸エチル溶液を 5 点調製し, メチルイソチオシアネートの検量線を作成したところ, 相関係数 (r) = 1.0000 の良好な直線性が得られた。検量線によりメチルイソチオシアネートの重量を求め, これに係

数 1.77 を乗じてカーバムナトリウム塩の重量に換算し, これに基づき試料中のカーバムナトリウム塩の濃度を算出した。

2-3. LC-MS 一斉分析法

① 試薬

アセトニトリル, メタノールは残留農薬試験用または LC-MS 用, アセトン, 塩化ナトリウム及び無水硫酸ナトリウムは残留農薬試験用, 蒸留水は高速液体クロマトグラフ用のものを使用した。リン酸水素二ナトリウム十二水和物, リン酸二水素ナトリウム二水和物及び酢酸アンモニウムは特級試薬を使用した。

リン酸緩衝液 (0.5 mol/L, pH 7.0): リン酸水素二ナトリウム十二水和物 136.85 g 及びリン酸二水素ナトリウム二水和物 17.92 g を水に溶解して, 1000 mL とした。

農薬標準原液: 各農薬標準品をアセトニトリルに溶解し, 溶解しないときはメタノールに溶解して 1 mg/mL の溶液を調製した。冷蔵庫 (5°C) に保存した。

農薬標準混液: 各農薬標準原液をとり, アセトニトリルで 2 mg/L の濃度に調製し冷蔵庫に保存した。

② 装置

LC-MS-MS: Waters 社製 Separations Module 2695 及び同社製 Quattro Premier

③ LC-MS-MS 条件

HPLC 条件

LC カラム: XTerra MS C18 (3.5 μ m) 内径 2.1 mm 長さ 150 mm (Waters 社製)

カラム温度: 40°C

注入量: 5 μ L

移動相流速: 0.20 mL/min

移動相: A 蒸留水, B メタノール, C 100 mmol/L 酢酸アンモニウム

グラジエント条件 (総分析時間: 47 分)

時間 (分)	A (%)	B (%)	C (%)
0	80	15	5

1	55	40	5
3.5	55	40	5
6	45	50	5
8	40	55	5
17.5	0	95	5
30	0	95	5
30	80	15	5

MS/MS 条件

イオン化モード:ESI, キャピラリー電圧:0.85 kV,
イオン源温度:120°C, コーンガス: 窒素, 50 L/hr,
脱溶媒温度:350°C, 脱溶媒ガス:窒素, 650 L/hr,
コリジョンガス:(Ar) 圧力 $\pm 3.3 \times 10^{-3}$ m bar, マ
ス取込時間: 10~50 msec, チャンネル間隔: 10
msec, スキャン間隔: 10 msec.

④ 試験溶液の調製

試料 20.0 g(試料 No.5-14 は 10.0 g, No. 8 は
4.0 g)を容器にとり, アセトニトリル 50 mL(No.
5-14 は 25 mL, No. 8 は 10 mL)を加え, ホモジナ
イザーで 1~2 分間ホモジナイズした. ホモジネー
トを吸引ろ過し, 残渣をアセトニトリルで洗浄し, ろ
液に合わせた. これにアセトニトリルを加え正確に
100 mL(No. 5-14 は 50 mL, No. 8 は 20 mL)とし
た. 抽出液 20 mL(試料 4.0 g 相当)を予め塩化ナト
リウム 8 g 及び 0.5 mol/L リン酸緩衝液 20 mL を
入れた分液ロートに移し, 15 分間激しく振とうした.
暫時静置して分離した水層を除き, 得られたアセ
トニトリル層に無水硫酸ナトリウムを添加し, 振とう
して脱水した. ろ過で無水硫酸ナトリウムを除去し,
少量のアセトニトリルで無水硫酸ナトリウムを洗浄
した. この抽出液を 40°C 以下で 1 mL 以下に減圧
濃縮し, 窒素気流中で乾固した. 残留物をメタノ
ールに溶解し, 8 mL(試料 0.5 g/mL)として試験
溶液とした.

⑤ 測定結果の確認

各農薬につき 2 つのプロダクトイオンを測定し,
保持時間, 面積値比をメタノールで調製した標準
溶液と比較することにより確認した.

⑥ 添加回収実験

試料 20.0 g に農薬標準混液 1.0 mL(添加濃
度:100 ng/g)を添加し, 30 分間放置したものを試

料とした.

3. 重金属の分析法

① 装置

原子吸光光度計:日立偏光ゼーマン原子吸光
光度計 Z-5000

水素化物発生装置:日立水素化物発生装置
HFS-3形

水銀分析付属装置:日立水銀分析付属装置
0180-0450形

② 分析法

銅, 亜鉛, 鉛, カドミウム, 鉄及びマンガンは,
硝酸過塩素酸分解後, フレーム原子吸光法で測
定した. ヒ素及びセレンは, 硫硝酸分解後, 水素
化原子吸光法で測定した. 総水銀は, 硫硝酸過
マンガン酸カリ分解後, 還元気化原子吸光法で
測定した. タリウムは硫硝酸分解後, フレームレス
原子吸光法で測定した.

C. 研究結果

1. 農薬の分析結果

1-1. GC-MS 一斉分析

① 添加回収実験

有機塩素系農薬 31, ピレスロイド系農薬 20, カ
ーバメート系農薬 21, 有機リン系農薬 61, 有機窒
素系農薬 91 及びその他の農薬 11 の合計 235 農
薬を用いてスギヒラタケからの添加回収実験を行
い, その結果を表 3-1(グループ 1)及び表 3-2(グ
ループ 2)に示した. 検討した 235 農薬のうち 211
農薬については, 70~120%の良好な回収率が
得られ, 相対標準偏差も概ね 5%未満の良好な
結果が得られた. 一方, グループ 1 のクロロタロニ
ル, アミトラズ, キノメチオネート, カプタホール, プ
ロパモカルブ, 2,4-ジクロロアニリン, メタミドホス
及びグループ 2 のベンタゾン, クマテトラリル, モラ
ンテル, メトリブシン DA, メトリブシン DK, シロマジ
ン, エトキシキン, ナレド, ジフェンゾコートの合計
16 農薬は回収率が 50%未満と低かったことから,
分析対象から除外した. また, グループ 1 のアセ

フェート、ジクロフルアニド、オメトエート、ビフェニル及びグループ 2 のメトリブシン DADK の 5 農薬は、回収率が 50~70%とやや低回収率であり、グループ 2 のファムフル及びフェンチオンスルホキシド(メスルフェンホス)の 2 農薬は回収率が 120%より大きな値になった。回収率が 50~70%の農薬及び 120%より大きくなった農薬については、半定量的な分析は可能と考え分析対象とした。ジコホールについては、ジコホール自体は検出されなかったが、その分解物である 4,4'-ジクロロベンゾフェノンは 135%回収されたため、ジコホールは分析中に 4,4'-ジクロロベンゾフェノンに分解していることがわかった。4,4'-ジクロロベンゾフェノンを測定することでジコホールを半定量的に分析できると思われたことから、4,4'-ジクロロベンゾフェノンを分析対象とした。以上の結果から、70~120%の良好な回収率が得られた 211 農薬に半定量的な分析が可能と思われる 8 農薬を加えた合計 219 農薬を分析対象とした。

② 試料の分析結果

GC-MS 一斉分析法を用いて、表 2 に示したスギヒラタケ 8 試料を分析した結果を表 4 に示した。その結果、DDT 類が 8 試料すべてから 0.006~0.019 $\mu\text{g/g}$ 検出され、ディルドリンが 7 試料から 0.003~0.006 $\mu\text{g/g}$ 検出され、また、クロルデンが 2 試料から痕跡量~0.004 $\mu\text{g/g}$ 検出された。

1-2. カーバムナトリウム塩の分析

カーバムナトリウムは加熱還流により定量的にメチルイソチオシアネートに変換する。本分析法は、生成したメチルイソチオシアネートを水蒸気蒸留により捕集し、カーバムナトリウムをメチルイソチオシアネートとして定量する方法である。試料 20.0 g に 0.05 $\mu\text{g/g}$ になるようにカーバムナトリウムを添加して添加回収率を求めたところ、72.9% (相対標準偏差 4.6%, $n=4$) の回収率が得られた。また、分析法の検出限界 (LOD) 及び定量限界 (LOQ) は、カーバムナトリウムとして、それぞれ LOD = 0.001 $\mu\text{g/g}$ 及び LOQ = 0.004 $\mu\text{g/g}$ であった。

表 2 に示した 9 試料を分析したところ、いずれの試料からもカーバムナトリウム塩は検出されなかった。

1-3. LC-MS 一斉分析

① 添加回収実験

表 1 に示した農薬のうち、チアクロプリド、アセタミプリド、エマメクチン安息香酸、ミルベメクチン、び酒石酸モランテルの 5 農薬並びに LC-MS でそれらと同時分析が可能な農薬、計 50 農薬を対象に、試料をアセトニトリルで抽出し、リン酸緩衝液-塩化ナトリウムで塩析後、Envi-Carb/LC-NH₂ ミニカラム(500 mg/ 500 mg, スペルコ社製、25%トルエン-アセトニトリル 20 mL で溶出)で精製する方法の適用を検討した。

農薬標準混液を用いて塩析及びカラム精製工程の回収実験を行った結果、各工程の回収率は概ね良好であったが、塩析では塩酸ホルメタネート及びチオフアネートメチル、カラム精製ではジメチリモル、エマメクチン B1a、ピリチオバックナトリウム及びチオフアネートメチルの回収率がそれぞれ 50%未満であった(表 5)。そこで、より多くの農薬を測定対象とするためにカラム精製を行わずに試験溶液を調製することとし、塩析で全く回収されなかったチオフアネートメチルを除く農薬についてスギヒラタケに対する添加回収実験を行った。

その結果、モランテル以外は回収率 54~144%, 相対標準偏差 0.3~5.6%の結果を得た。モランテルは塩析工程の回収率が 96.1%であったにもかかわらず、スギヒラタケからの回収率は 36.3%であった。添加回収実験の測定にはメタノールで調製した標準溶液を使用したため、スギヒラタケ成分によるイオン化抑制が原因として考えられた。そこで、スギヒラタケ抽出溶液に農薬を添加した標準溶液(マトリックス標準溶液)とメタノール標準溶液を測定して比較したところ、塩酸ホルメタネートなど一部の農薬ではイオン強度がマトリックスの影響で増減した。そのため、これらの農薬では標準溶液による塩析の回収率とスギヒラタケから

の回収率が一致しなかったものと考えられる。しかし、モランテルはマトリックス標準溶液のイオン強度がメタノール標準溶液と差がないにもかかわらず添加回収実験での回収率が低かったことから、MS 測定時のイオン化阻害ではなく、試験溶液調製時にスギヒラタケの成分などによる分解、吸着等が起きたと推定された。

以上の結果から、チオファネートメチルを除く 49 農薬を対象に本法によりスギヒラタケの分析を行った。

② 試料の分析結果

スギヒラタケ 8 試料の分析を行った。その結果、No.27-20 及び 30 を除く 6 試料からミルベメクチン A4 の溶出位置付近にピークを得たが、他の農薬は不検出であった。

ミルベメクチン A4 と保持時間が一致する 2 つのプロダクトイオンの面積比は標準品とは異なったことから、試料由来成分によるシグナルが重なっている可能性があった。その確認のために試験溶液をさらに Envi-Carb/LC-NH₂ ミニカラムにより精製した。その結果ミルベメクチン A4 付近の 2 つのプロダクトイオンシグナルが消失した。一方、試験溶液に添加したミルベメクチン A4 は同ミニカラムから 96% 回収された。これらの結果から試料から検出されたピークはミルベメクチン A4 ではないことが確認された。

よって、今回分析対象とした 49 農薬は全て不検出であった。

2. 重金属の分析結果

重金属の分析結果を表 6 に示した。表には、スギヒラタケ 14 試料の各分析値と平均値、秋田市内で購入したその他のキノコ類の分析値及び文献から引用したシイタケとエノキダケの重金属濃度を示した。

スギヒラタケについては、患者関連試料と他の試料との間に重金属濃度の差は認められなかった。

スギヒラタケとその他のキノコ類とを比較すると、

総水銀以外の重金属については、大きな差は認められなかった。総水銀はスギヒラタケで高い結果が得られた。

D. 考察

今回分析した各スギヒラタケを 100 g 摂取したと仮定した場合の農薬摂取量とトータルダイエツト調査(TDS)で得られた各農薬一日摂取量¹⁾を表 7 に示した。スギヒラタケ 100 g からの DDT 及びディルドリン摂取量はそれぞれ 1 µg 及び 0.45 µg であり、TDS における一日摂取量のそれぞれ 2.4 倍及び 2 倍に相当したが、体重 50 kg の人の一日摂取許容量(ADI)に比較するとそれぞれ 1/250 及び 1/11 であった。

スギヒラタケ中の総水銀(平均 0.073 mg/kg)は、その他のキノコ類の分析値やシイタケ、エノキダケの文献値より高かったが、魚類中の総水銀に比較すると、低かった。魚類中の総水銀平均濃度は、本マグロ: 1.43 mg/kg (n=12)、銀ダラ: 0.22 mg/kg (n=7)、キンメダイ: 0.55 mg/kg (n=10) 等が報告されている¹⁾。

各スギヒラタケを 100 g 摂取したと仮定した場合の重金属摂取量と TDS で得られた各重金属一日摂取量¹⁾を表 8 に示した。スギヒラタケ 100 g からの総水銀、鉛及びカドミウム摂取量は TDS における一日摂取量のそれぞれ 82.3%、25.6% 及び 34.5% に相当した。

E. 結論

急性脳症の患者が摂取したもののまたはそれらと同一地域で採取したスギヒラタケについて、残留農薬及び重金属を分析したが、他の一般食品の汚染レベルに比較して特異的な測定結果は得られなかった。

引用文献

1) 厚生労働科学研究「食品中の有害物質等の評価に関する研究」平成 13~15 年度総合研究報告書 主任研究者 松田りえ子

表1. 森林において使用される代表的な薬剤

種類及び用途	薬剤名	使用法	分析対象	分析法
殺虫剤（松食い虫被害予防 及び被害駆除）	フェニトロチオン	散布	○	GC/MS一斉分析
	チアクロプリド	散布	○	GC/MS一斉分析, LC/MS一斉分析
	アセタミプリド	散布	○	GC/MS一斉分析, LC/MS一斉分析
	プロチオホス	散布	○	GC/MS一斉分析
	フェンチオン	散布	○	GC/MS一斉分析
	カーバム	燻蒸剤	—	
	カーバムナトリウム塩	燻蒸剤	○	カーバム試験法(GC/MS)
	エマメクチン安息香酸	樹幹注入	○	LC/MS一斉分析
	ミルベメクチン	樹幹注入	○	LC/MS一斉分析
	ネマデクチン	樹幹注入	—	
	酒石酸モランテル	樹幹注入	○	LC/MS一斉分析
殺鼠剤（野そ駆除）	リン化亜鉛		○(亜鉛)	重金属試験法
忌避剤（シカ等食害防止）	チウラム		—	
	ジラム		—	
除草剤（林地除草）	テトラピオン		—	

表2. 分析した試料の一覧

No.	試料番号	採取地 (県)	採取日(2004年)	患者との関連 の有無	分析項目		備考
					農薬	重金属	
1	2-1	秋田	8月2日	×		◎	カーバムナトリウム塩のみ分析
2	2-3	秋田	10月28日	×	◎		
3	2-7	秋田	9月11日	×		◎	
4	3-c	新潟	10月27日	×		◎	
5	5-14	秋田	—	○	◎		
6	8	秋田	9月19日	○	◎	◎	
7	19-1	福井	11月2日	△	◎	◎	
8	19-2	福井	11月2日	△	◎	◎	
9	21	京都	10月20日	×		◎	
10	22-1	京都	11月2日	×		◎	
11	24-1	福島	9月18日	×		◎	
12	25	秋田	2003年9月中旬	×		◎	
13	27-20	新潟	8月末～9月24日	○	◎	◎	
14	28-15	新潟	10月19日	×		◎	
15	28-27	新潟	10月20日	△	◎	◎	
16	28-34	新潟	10月10日	○	◎		
17	30	福島	—	○	◎	◎	2004年産缶詰

患者との関連: ○患者が摂取したもの, △患者が摂取したものと同一地域で採取したもの,

×患者との関連がないもの

表3-1 検討対象農薬の保持時間及びモニターイオン、スギヒラタケ試料を用いた添加回収実験結果
[グループ1]

No.	農 薬	RT (min)	モニターイオン(amu)			添加 濃度 (μg/g)	回収率(%), n=3			LOD	LOQ
			1	2	3		平均	SD	RSD	(μg/g) S/N=3	(μg/g) S/N=10
有機塩素系農薬											
1	aldrin	14.69	260.8	262.8		0.05	87.4	3.2	3.7	0.0007	0.002
2	alpha-BHC	11.79	218.9	182.9		0.05	89.2	3.0	3.4	0.0006	0.002
3	beta-BHC	12.30	218.9	182.9		0.05	93.9	2.3	2.5	0.001	0.004
4	gamma-BHC	12.48	218.9	182.9		0.05	94.5	3.9	4.2	0.0007	0.002
5	delta-BHC	13.05	218.9	182.9		0.05	97.5	3.7	3.8	0.001	0.003
6	captafol	18.49	79.0	183.0		0.25	30.6	19.6	64.1	0.02	0.07
7	captan	15.61	79.0	149.0		0.05	76.4	15.8	20.7	0.008	0.03
8	chlordane-cis	16.14	372.8			0.05	97.4	3.8	3.9	0.0001	0.0003
9	chlordane-trans	15.89	372.8			0.05	97.5	2.4	2.5	0.0001	0.0003
10	chlorobenzilate	17.16	250.9			0.05	109.1	3.9	3.5	0.0003	0.001
11	chlorothalonil	12.80	265.9	263.9		0.05	nd			0.009	0.03
12	chlorthal-dimethyl	14.66	300.9			0.05	97.6	3.2	3.3	0.00006	0.0002
13	p,p'-DDD	17.34	235.0			0.05	107.7	7.3	6.8	0.0003	0.0009
14	p,p'-DDE	16.54	317.9			0.05	93.4	5.3	5.6	0.0001	0.0002
15	o,p'-DDT	17.39	235.0			0.05	97.3	4.5	4.6	0.0003	0.001
16	p,p'-DDT	18.05	235.0			0.05	98.2	4.0	4.1	0.0006	0.002
17	dicofol	19.18	251.0			0.05	nd			nd	nd
17	dicofol-dec*	14.89	139.0			0.05	134.6	6.2	4.6	0.003	0.01
18	dieldrin	16.69	262.8			0.05	96.6	6.9	7.1	0.0006	0.002
19	alpha-endosulfan	16.17	240.9	242.9		0.05	100.5	6.3	6.3	0.002	0.007
20	beta-endosulfan	17.29	240.9	160.0		0.05	101.6	4.0	3.9	0.003	0.01
21	endosulfan sulfate	18.01	271.8	273.8		0.05	96.8	2.4	2.5	0.0002	0.0008
22	endrin	17.09	262.8			0.05	101.7	4.1	4.1	0.0005	0.002
23	heptachlor	13.97	271.7			0.05	92.2	4.3	4.6	0.0002	0.0005
24	heptachlor epoxide	15.44	352.8			0.05	96.2	3.8	3.9	0.0001	0.0004
25	hexachlorobenzene	11.86	283.8	285.8		0.05	78.2	3.0	3.9	0.0001	0.0004
26	methoxychlor	19.07	227.1			0.05	100.3	2.1	2.1	0.0002	0.0005
27	oxychlordane	15.43	388.8			0.05	94.3	1.7	1.8	0.0004	0.001
28	pentachlorophenol	12.36	265.8	267.8		0.05	86.2	2.1	2.5	0.01	0.04
29	quintozone	12.36	236.8	248.8		0.05	86.9	2.7	3.1	0.0004	0.001
ピレスロイド系農薬											
1	acrinathrin-1,2	19.80	181.0	289.0		0.05	74.1	3.1	4.1	0.0009	0.003
		20.02	181.0	289.0							
2	bifenthrin	18.90	181.1			0.05	100.8	2.6	2.5	0.0002	0.0007
3	bioresmethrin-1,2	18.34	123.1	171.0		0.05	91.7	2.9	3.2	0.002	0.006
		18.46	123.1	171.0							
4	cyfluthrin-1,2,3,4	21.23	206.0	226.0	199.0	0.05	99.9	0.4	0.4	0.003	0.01
		21.33	206.0	226.0	199.0						
		21.39	206.0	226.0	199.0						
		21.43	206.0	226.0	199.0						
5	cyhalothrin-1,2	19.70	197.0	181.0		0.05	98.4	3.5	3.6	0.001	0.004
		19.88	197.0	181.0							
6	cypermethrin-1,2,3,4	21.56	162.9	181.0	164.9	0.05	92.3	2.5	2.8	0.006	0.02
		21.66	162.9	181.0	164.9						
		21.72	162.9	181.0	164.9						
		21.76	162.9	181.0	164.9						
7	deltamethrin-1,2	23.28	181.0	252.9		0.05	95.6	6.8	7.1	0.002	0.008
		23.55	181.0	252.9							
8	etofenprox	21.92	163.0	164.0		0.05	94.7	2.6	2.7	0.0002	0.0007

表3-1 つづき

No.	農 薬	RT (min)	モニターイオン(amu)			添加 濃度 (μ g/g)	回収率(%), n=3			LOD (μ g/g) S/N=3	LOQ (μ g/g) S/N=10
			1	2	3		平均	SD	RSD		
9	fenpropathrin	19.10	<u>181.1</u>			0.05	94.6	5.9	6.2	0.001	0.005
10	fenvalerate-1,2	22.58	<u>167.0</u>	181.0	225.0	0.05	83.5	3.0	3.6	0.002	0.008
		22.82	<u>167.0</u>	181.0	225.0						
11	flucythrinate-1,2	21.73	<u>199.0</u>	157.0	181.0	0.05	96.9	1.7	1.8	0.0009	0.003
		21.94	<u>199.0</u>	157.0	181.0						
12	fluvalinate-1,2	22.69	<u>250.0</u>	252.0	181.0	0.05	89.9	4.6	5.2	0.0008	0.003
		22.77	<u>250.0</u>	252.0	181.0						
13	halfenprox	21.66	<u>262.9</u>	264.9		0.05	92.4	3.0	3.2	0.0004	0.001
14	permethrin-1,2	20.71	<u>183.0</u>	184.0		0.05	99.1	2.4	2.5	0.0007	0.002
		20.84	<u>183.0</u>	184.0							
15	pyrethrins					0.1	89.2	2.0	2.2	0.02	0.07
	cinerin I	16.67	<u>123.1</u>	150.1		0.1	98.4	3.6	3.7	0.02	0.07
	cinerin II	19.52	<u>107.0</u>	121.0	167.0	0.1	94.7	10.5	11.1	0.05	0.2
	jasmolin I	17.37	<u>123.0</u>	164.1	133.0	0.1	97.0	7.2	7.4	0.1	0.4
	jasmolin II	20.13	<u>163.1</u>	107.0	167.1	0.1	76.6	6.5	8.5	0.09	0.3
	pyrethrin I	17.62	<u>123.1</u>	133.0	160.0	0.1	80.5	6.1	7.6	0.06	0.2
	pyrethrin II	20.16	<u>160.0</u>	107.0	133.0	0.1	nd			0.08	0.3
16	silaflofen	22.07	<u>286.0</u>	258.0	181.0	0.05	94.4	3.3	3.4	0.0003	0.0009
17	tefluthrin	12.91	<u>177.0</u>	197.0		0.05	96.9	3.3	3.4	0.0003	0.001
カーバメート系農薬											
1	aldicarb	3.75	<u>115.0</u>	100.0		0.25	92.5	4.8	5.2	0.001	0.005
2	bendiocarb	11.40	<u>151.0</u>	166.0		0.05	96.3	3.0	3.1	0.0006	0.002
3	butylate	8.72	<u>146.0</u>	174.0		0.05	75.5	3.7	4.9	0.0005	0.002
4	carbaryl	13.89	<u>144.0</u>	115.0		0.05	104.4	5.4	5.2	0.002	0.008
5	carbofuran	12.13	<u>164.1</u>	149.0		0.05	98.4	3.2	3.2	0.0004	0.001
6	chlorpropham	11.25	<u>213.0</u>	127.0		0.05	99.1	3.1	3.2	0.001	0.004
7	diethofencarb	14.57	<u>267.2</u>			0.25	102.1	4.5	4.4	0.001	0.004
8	EPTC	7.94	<u>128.1</u>	132.1	86.0	0.05	70.3	5.2	7.5	0.0003	0.001
9	esprocarb	14.43	<u>222.1</u>	162.1		0.05	100.1	2.6	2.6	0.0005	0.002
10	ethiofencarb	13.34	<u>107.0</u>	168.0		0.05	98.9	6.0	6.0	0.002	0.007
11	fenobucarb	10.69	<u>121.0</u>	150.0		0.05	93.9	2.9	3.1	0.001	0.004
12	isoprocarb	9.91	<u>121.0</u>	136.0		0.05	92.1	2.9	3.2	0.001	0.004
13	methiocarb	14.28	<u>168.0</u>	153.0		0.05	110.6	3.3	3.0	0.001	0.003
14	methomyl oxime	5.09	<u>88.0</u>	105.0		0.05	74.9	4.4	5.9	0.01	0.04
15	oxamyl	9.85	<u>72.0</u>	161.9		0.25	100.5	5.9	5.9	0.03	0.1
16	pirimicarb	13.15	<u>166.1</u>	238.1		0.05	99.8	3.8	3.8	0.0004	0.001
17	propamocarb	8.55	<u>58.0</u>	188.1		0.25	37.7	0.4	1.0	0.01	0.05
18	propoxur	10.71	<u>110.0</u>	152.0		0.05	92.1	3.0	3.2	0.0007	0.002
19	thiobencarb	14.61	<u>100.1</u>	257.0		0.05	99.4	2.7	2.7	0.002	0.005
有機リン系農薬											
1	acephate	8.79	<u>136.0</u>	94.0	141.9	0.25	52.5	1.2	2.4	0.003	0.01
2	azinphos-ethyl	20.27	<u>160.0</u>	132.0		0.05	102.5	3.9	3.8	0.001	0.005
3	azinphos-methyl	19.68	<u>160.0</u>	132.0		0.05	105.6	4.2	4.0	0.01	0.03
4	bromophos-ethyl	15.81	<u>358.9</u>			0.05	102.7	3.2	3.1	0.0003	0.0008
5	butamifos	16.14	<u>286.0</u>			0.05	111.0	7.5	6.7	0.0008	0.003
6	cadusafos	11.58	<u>158.9</u>	157.9	126.9	0.05	89.8	4.0	4.5	0.002	0.008
7	(E)-chlorfenvinphos	15.20	<u>322.9</u>	266.9		0.05	106.7	3.9	3.6	0.0003	0.001
8	(Z)-chlorfenvinphos	15.41	<u>322.9</u>	266.9		0.05	107.2	4.2	3.9	0.0002	0.0008
9	chlorpyrifos	14.56	<u>313.9</u>			0.05	98.9	4.7	4.7	0.0003	0.001
10	chlorpyrifos-methyl	13.63	<u>285.9</u>	289.9		0.05	96.9	2.9	3.0	0.0001	0.0003
11	cyanophos	12.55	<u>243.0</u>			0.05	99.9	3.3	3.3	0.0002	0.0007
12	diazinon	12.65	<u>304.1</u>			0.05	95.0	3.5	3.7	0.0002	0.0007

表3-1 つづき

No.	農 薬	RT (min)	モニターイオン(amu)			添加 濃度 (μ g/g)	回収率(%), n=3			LOD (μ g/g) S/N=3	LOQ (μ g/g) S/N=10
			1	2	3		平均	SD	RSD		
13	dichlorvos	6.75	184.9	109.0	186.9	0.05	93.1	3.8	4.1	0.002	0.007
14	dimethoate	12.03	87.0	125.0	93.0	0.05	109.0	1.0	0.9	0.002	0.007
15	(Z)-dimethylvinphos	14.61	294.9			0.05	100.6	3.2	3.1	0.0003	0.001
16	dioxabenzofos	11.44	215.9	183.0		0.05	93.6	3.7	4.0	0.0003	0.001
17	disulfoton	12.90	88.0	89.0		0.05	90.8	2.6	2.8	0.0004	0.001
18	edifenphos	17.92	310.0	173.0	201.0	0.05	104.0	2.2	2.1	0.0005	0.002
19	EPN	18.96	169.0	157.0		0.05	91.8	2.8	3.1	0.001	0.005
20	ethion	17.32	384.0	230.9		0.05	107.9	3.4	3.1	0.0004	0.001
21	etoprophos	11.03	157.9	199.9		0.05	90.7	2.9	3.2	0.0005	0.002
22	etrimfos	12.99	292.0			0.05	97.0	3.2	3.2	0.0001	0.0003
23	fenamiphos	16.21	303.1			0.05	110.2	4.6	4.2	0.0004	0.001
24	fenitrothion	14.25	277.0			0.05	99.4	3.2	3.3	0.0008	0.003
25	fensulfothion	17.20	293.0	292.0		0.05	111.7	1.5	1.3	0.0003	0.001
26	fenthion	14.65	278.0			0.05	97.4	3.4	3.5	0.0002	0.0007
27	fosthiazate-1,2	15.04	194.9	103.9		0.05	113.1	9.2	8.2	0.003	0.011
		15.09	194.9	103.9							
28	isofenphos	15.38	213.0			0.05	101.9	3.4	3.4	0.0005	0.002
29	isofenphos oxon	14.74	228.9	314.1		0.05	109.1	3.6	3.3	0.0003	0.001
30	isoxathion	16.89	313.0	177.0		0.05	105.7	3.6	3.4	0.001	0.004
31	malaoxon	13.67	127.0	267.9		0.05	105.1	6.0	5.7	0.005	0.02
32	malathion	14.42	173.1	127.0		0.05	106.9	4.4	4.1	0.002	0.007
33	methamidophos	6.61	141.0	94.0		0.25	45.0	1.1	2.5	0.01	0.04
34	methidathion	15.83	144.9	85.0		0.05	110.7	9.1	8.2	0.002	0.007
35	monocrotophos	11.49	127.0	192.0		0.05	73.6	3.7	5.1	0.008	0.03
36	omethoate	10.55	156.0	110.0		0.05	65.2	1.5	2.2	0.004	0.01
37	parathion	14.72	291.0	139.0		0.05	107.3	5.3	5.0	0.0004	0.001
38	parathion-methyl	13.76	262.9	263.9		0.05	98.6	5.2	5.3	0.0005	0.002
39	phenthoate	15.52	273.9			0.05	104.3	2.7	2.6	0.0003	0.001
40	phorate	11.67	260.0	75.0		0.05	89.7	2.8	3.1	0.0003	0.001
41	phosalone	19.59	181.9	366.9		0.05	107.4	5.5	5.1	0.001	0.004
42	phosmet	18.92	160.0	316.9		0.05	106.9	5.8	5.4	0.002	0.006
43	(E)-phosphamidon	12.67	264.0			0.05	104.0	2.3	2.3	0.002	0.006
44	(Z)-phosphamidon	13.45	264.0	127.0		0.05	103.8	3.7	3.6	0.0008	0.003
45	pirimiphos-methyl	14.18	290.0			0.05	100.7	4.0	4.0	0.0002	0.0005
46	profenofos	16.45	336.9			0.05	109.2	4.4	4.0	0.0004	0.001
47	prothiofos	16.37	309.0			0.05	100.9	2.5	2.4	0.0002	0.0007
48	pyraclofos	20.39	360.0	362.0		0.05	97.7	2.3	2.4	0.0005	0.002
49	pyridaphenthion	18.74	340.1			0.05	93.7	3.9	4.2	0.0007	0.002
50	quinalphos	15.55	298.0	146.0		0.05	101.3	2.0	2.0	0.0009	0.003
51	terbufos	12.55	231.0			0.05	92.3	2.3	2.4	0.0001	0.0005
52	thiometon	11.93	88.0	125.0		0.05	90.5	4.3	4.8	0.0003	0.0009
53	tolclofos-methyl	13.78	264.9			0.05	98.9	3.2	3.2	0.0002	0.0006
54	vamidothion	15.97	145.0	87.0		0.25	83.3	3.9	4.7	0.009	0.03
有機窒素系農薬											
1	acetamiprid	18.80	126.0	152.0		0.25	95.5	3.5	3.7	0.01	0.04
2	amitraz	19.87	293.2	132.0	121.1	0.05	3.6	1.1	31.6	0.0006	0.002
3	amitraz-metabolite	10.12	162.1	132.1		0.25	75.8	3.3	4.4	0.008	0.03
4	benalaxyl	17.78	206.1	148.1		0.05	105.7	1.7	1.7	0.0007	0.002
5	bitertanol-1,2	20.67	170.1	171.1		0.05	103.2	3.1	3.0	0.0002	0.0008
		20.77	170.1	171.1							
6	chinomethionat	15.93	233.9	205.9		0.05	7.9	4.2	53.0	0.001	0.004