

除草剤セトキシジムおよび代謝物の作物残留分析

誌名	日本農薬学会誌
ISSN	03851559
著者	五明, 健 川上, 肇 時枝, 正則
巻/号	12巻4号
掲載ページ	p. 729-737
発行年月	1987年11月

除草剤セトキシジムおよび代謝物の作物残留分析

五明 健, 川上 肇, 時枝正則
杉岡克己, 小林 茂, 小野成男

日本曹達株式会社安全性研究所
(昭和62年5月22日受理)

Residue Analysis of Herbicide Sethoxydim and Its Metabolites
in Crops

Takeshi GOMYO, Hajime KAWAKAMI, Masanori TOKIEDA,
Katsumi SUGIOKA, Shigeru KOBAYASHI and Shigeo ONO

*Environmental Toxicology Laboratory, Nippon Soda Co., Ltd.,
Takada, Odawara 250-02, Japan*

Two analytical methods for residues of sethoxydim [(±)2-(1-ethoxyiminobutyl)-5-[2-(ethylthio)propyl]-3-hydroxycyclohex-2-enone, STM] and its metabolites in crops, one using HPLC and the other using GC, were investigated. The results by the two method suggested that the HPLC method is more suitable. STM and its metabolites were extracted with methanol. After they were converted into three compounds M2-SO₂, M1-SO₂ and 6-OH-M2-SO₂, the derivatives cleaned up by column chromatography, followed by HPLC determination. The detection limit for STM and its metabolites was 0.05 ppm. The recovery of STM and its metabolites ranged from 70 to 96%. The analyses of crops treated with STM showed that a majority of residue was metabolites unified to M2-SO₂ (mainly M-SO and M-SO₂). Hydroxylated metabolites (mainly 5-OH-M-SO₂) unified to 6-OH-M2-SO₂ were detected in a few crops. The residual amount of the metabolites unified to M1-SO₂ was negligibly small in all crops.

緒 言

選択性除草剤セトキシジム¹⁾ [(±)2-(1-ethoxyiminobutyl)-5-[2-(ethylthio)propyl]-3-hydroxycyclohex-2-enone, 以下 STM と略す] およびその代謝物の作物中での残留実態を把握するために, 分析法を検討した. STM は, 作物中ですみやかに M-SO[2-(1-ethoxyiminobutyl)-5-[2-(ethylsulfinyl)propyl]-3-hydroxycyclohex-2-enone] に代謝され, その後, 一部は M-SO₂[2-(1-ethoxyiminobutyl)-5-[2-(ethylsulfonyl)propyl]-3-hydroxycyclohex-2-enone], M2-SO [6-[2-(ethylsulfinyl)propyl]-4-oxo-2-propyl-4,5,6,7-tetrahydrobenzoxazole], M2-SO₂[6-[2-(ethylsulfonyl)propyl]-4-oxo-2-propyl-4,5,6,7-tetrahydrobenzoxazole] に, また, 作物によっては少量の 5-OH-M-SO [2-(1-ethoxyiminobutyl)-5-[2-(ethylsulfinyl)propyl]-3,5-

dihydroxycyclohex-2-enone], 5-OH-M-SO₂[2-(1-ethoxyiminobutyl)-5-[2-(ethylsulfonyl)propyl]-3,5-dihydroxycyclohex-2-enone] にも代謝された. このほか, 光によって少量の M1-SO[2-(1-aminobutylidene)-5-[2-(ethylsulfinyl)propyl]cyclohexane-1,3-dione], M1-SO₂[2-(1-aminobutylidene)-5-[2-(ethylsulfonyl)propyl]cyclohexane-1,3-dione] が生成した^{2,3)} (Fig. 1). STM の残留分析法を作成し, 各種作物の残留分析を実施したところ, STM は散布後, すみやかに代謝されていることが認められたので⁴⁾, これらの代謝物の残留分析法を作成する必要があると考えられた. これらの化合物を個別に分析することは非常に時間がかかるため, 残留の実態を把握すると同時に分析を迅速に行なうことを検討した. この結果, STM, M-SO, M-SO₂, M2-SO および M2-SO₂ は M2-SO₂ に誘導し, M1-SO, M1-SO₂ は M1-SO₂ に誘導し,

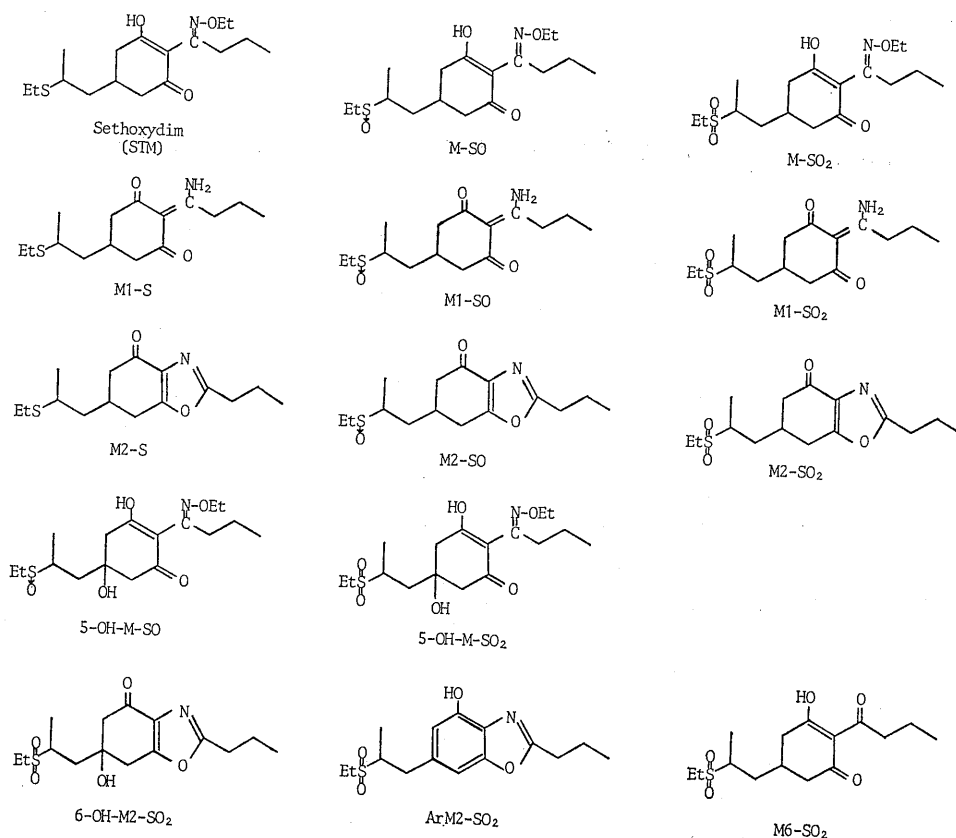


Fig. 1 Structures and abbreviated names of authentic standard compounds.

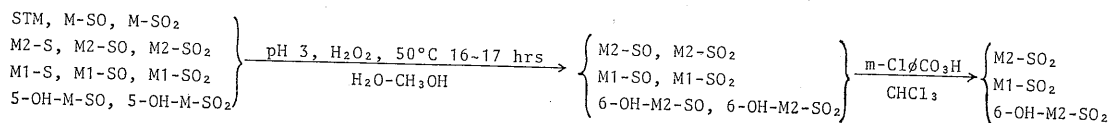


Fig. 2 Principle of the analytical method.

二つの水酸化体は 6-OH-M2-SO₂[6-[2-(ethylsulfonyl)-propyl]-6-hydroxy-4-oxo-2-propyl-4,5,6,7-tetrahydrobenzoxazole] に誘導することにより, 9化合物を最終的に 3化合物に変換して, 高速液体クロマトグラフ (HPLC) により定量する方法を作成することができた (Fig. 2). この方法により, 実際の圃場で収穫した 18種類の作物について残留分析を実施した. このほか, M1-SO₂ および 6-OH-M2-SO₂ をそれぞれ M6-SO₂[2-butyryl-5-[(2-ethylsulfonyl) propyl]-3-hydroxycyclohex-2-enone], ArM2-SO₂[6-[(2-ethylsulfonyl) propyl]-4-hydroxy-2-propylbenzoxazole] に変換後, メチル化して, 蛍光光度検出器 (FPD) 付ガスクロマトグラフ (GC) により定量する方法も作成することができた.

分析法

1. 高速液体クロマトグラフ法

1) 試薬および機器

試薬類は特級品をそのまま使用した.

標品 STM, M-SO, M-SO₂, M1-SO, M1-SO₂, M2-SO, M2-SO₂, 5-OH-M-SO, 5-OH-M-SO₂, 6-OH-M2-SO₂ はいずれも純度 98% 以上の精製品を使用した (Fig. 1).

シリカゲル: Silica Woelm (TSC 04526)

カラムクロマト管: 内径 1.2 cm, 長さ 30 cm

HPLC: 島津 LC-3A (検出器 島津 SPD-IIA)

2) HPLC の条件

分離管: 内径 4.6 mm, 長さ 25 cm, ステンレス製

充填剤: Zorbax SIL

溶離液: 2.5% メタノール/ジクロロメタン

流速: 1.0 ml/min

検出条件: 波長 254 nm, 感度 0.04 AUFS, フローセル容量 8 μ l, 室温

記録紙速度: 5 mm/min

3) 検量線の作成

M2-SO₂, M1-SO₂ および 6-OH-M2-SO₂ の精製品を別に秤り取り, クロロホルムに溶解し, 1, 2, 3, 4 および 5 ppm の溶液を調製する. 各溶液 20 μ l を HPLC に注入し, ピーク高さを縦軸に, それぞれの化合物の重量を横軸にとり, 検量線を作成する.

4) 分析操作

均質化した試料 25 g を秤取りし, メタノール 100 ml を加え磨砕抽出する. あらかじめケイソウ土を敷いた (層高 1~2 cm) 漏斗でスラリーを吸引濾過したのち, 容器および残渣をメタノール 50 ml で洗い, 同様に濾過して濾液を合わせる. 濾液に水 150 ml を加えたのち, 水酸化カルシウム 10 g を加え, 攪拌する. これに少量のケイソウ土を加え吸引濾過し, 容器および残渣を 50% メタノール溶液 25 ml で洗い, 同様に濾過して濾液を合わせる. この濾液に塩酸を添加して, pH 3.0 \pm 0.1 に調整し, 過酸化水素水 (30%) 0.5 ml を加えたのち, 50°C のインキュベーター内に一夜 (16~17 時間) 放置する. 放置後, 溶液に塩化ナトリウム約 5 g を加え, ヘキサソール 100 ml で洗浄する. 洗浄液は捨てる. その後, 100 ml のジクロロメタンで 3 回振とう抽出し, 水・メタノール層は捨てる. ジクロロメタン層を合わせ, 0.05 N 水酸化ナトリウム溶液 (10% 塩化ナトリウム含有) 100 ml で洗浄する. ジクロロメタン層を別の容器に移し, アルカリ層をジクロロメタン 100 ml で振とう抽出する. ジクロロメタン層を合わせ無水硫酸ナトリウムで乾燥後, 減圧濃縮し乾固する. 乾固物を 30 ml のクロロホルムに溶解し, 20 mg の *m*-クロロ過安息香酸を加えて溶解後, 30°C の水浴中で 10 分間放置する. 放置後, このクロロホルム溶液に 2% チオ硫酸ナトリウム溶液 (10% 塩化ナトリウム含有) 30 ml を加え 10 分間振とうする. この混合物を分液漏斗に移し, クロロホルム層を別の容器に入れ, 水層をクロロホルム 20 ml で振とう抽出する. 水層は捨てる. クロロホルム層を合わせ, 無水硫酸ナトリウムで乾燥し濾過後, 減圧濃縮し乾固する. 乾固物を酢酸エチル+ヘキサソール (4+6, v/v) の混合溶媒 5 ml に溶解し, あらかじめシリカゲル 5 g をヘキサソールを用いて充填したクロマト管中に加える. さらに同混合溶媒 5 ml で容器を洗い, カラムに加える. 同混合溶媒 140 ml を流し捨て

る. 次にヘキサソール+アセトン (7+3, v/v) 200 ml で M2-SO₂, M1-SO₂ および 6-OH-M2-SO₂ を溶出させる. 溶出液を濃縮乾固したのち, クロロホルムで定容し, その 20 μ l を前記条件の HPLC に注入しピーク高さを測定し, あらかじめ作成してある各化合物の検量線より M2-SO₂, M1-SO₂ および 6-OH-M2-SO₂ の量を求め, STM としての残留量を算出する. Fig. 3 に操作法の概要を示す.

2. ガスクロマトグラフ法

試薬類は HPLC 法の場合と同様であるが, このほか M6-SO₂, ArM2-SO₂ およびジアゾメタンエチルエーテル溶液が必要である. 分析操作はカラムクロマトグラフィーの前までは HPLC 法と同様である. Fig. 4 に示すように, カラムクロマトグラフィーで M2-SO₂ のフラクションと M1-SO₂ および 6-OH-M2-SO₂ のフラクションに分離し, M2-SO₂ のフラクションは乾固後, アセトンに溶解し, GC に注入する. M1-SO₂ と 6-OH-M2-SO₂ のフラクションは, 乾固後, メタノール 15 ml, 0.1 N 水酸化ナトリウム 15 ml を加え 30 分間加熱還流する. この操作により M1-SO₂ は M6-SO₂ に変換され, 6-OH-M2-SO₂ は ArM2-SO₂ に変換される. クロロホルム抽出後, ジアゾメタンでメチル化し, 乾固後, アセトンで定容して GC に注入する. 検量線は M2-SO₂, M6-SO₂, ArM2-SO₂ から, それぞれ分析操作に従って操作し作成する.

実 験

1. 残留分析法の検討

1) 抽出溶媒

STM を散布した各種作物を用いて, 抽出溶媒の検討を行なった. メタノール, 50% メタノール溶液, アセトン, 50% アセトン溶液で抽出し比較した結果, ダイズ等の乾物を除き, 分析値に差が認められなかったので, 操作の容易なメタノールを抽出溶媒に採用した. ダイズの場合はメタノールのみによる抽出では不十分であり, 50% メタノール溶液で抽出するか, 等量の水で膨潤させたのちメタノールで抽出する必要がある. 両者について検討した結果, 前者では濾過性が悪いため, 後者の方法を採用した.

2) オキサゾール化反応条件

STM, M-SO, M-SO₂, 5-OH-M-SO, 5-OH-M-SO₂ は, プロパノールなどのアルコール溶液中で加熱還流するか, 希塩酸または希塩酸・メタノール混合液中で加熱することにより, ベックマン転位反応後脱エタノール反応によりオキサゾール化することができた. 多数の作物の残留分析の場合, 時間を有効に使うことを考え, 夜間に

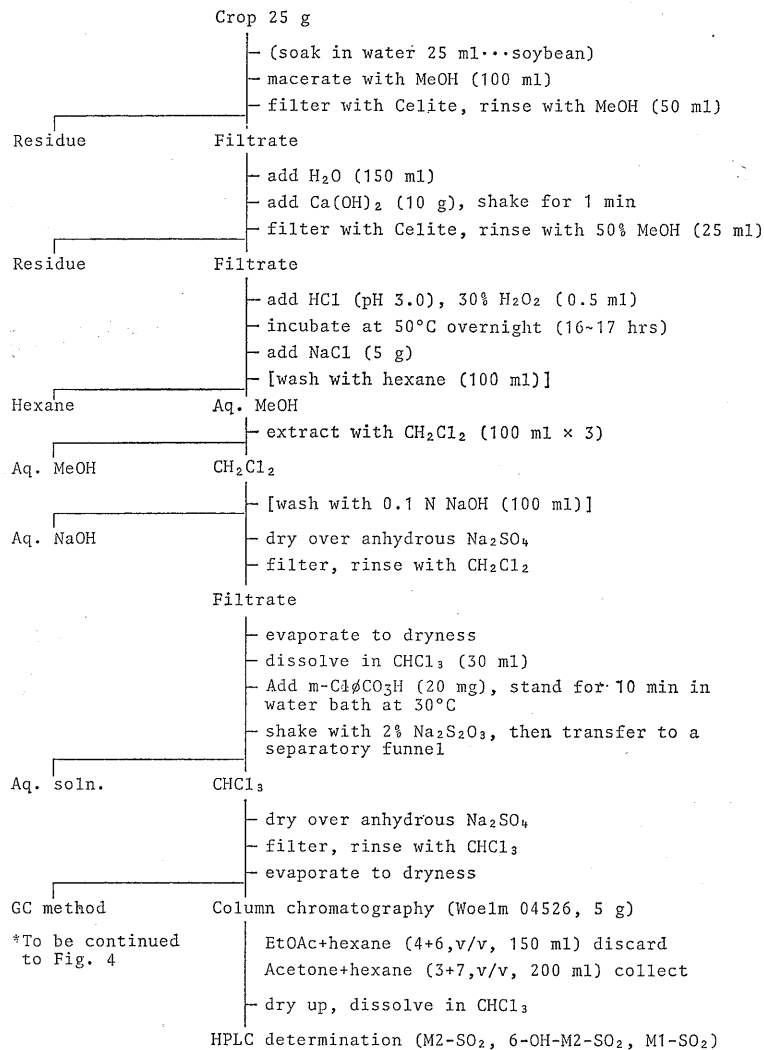


Fig. 3 Analytical flow sheet of sethoxydim and its metabolites.

Conditions of HPLC; Instrument: Shimadzu LC-3A Column: Zorbax SIL 4.6 mm i.d. × 25 cm, Mobile phase: 2.5% MeOH/CH₂Cl₂ 1 ml/min, Detector: UV 254 nm, 0.04 AUFS.

オキサゾール化を行なわせることを検討した。M-SO₂ および 5-OH-M-SO₂ を 50% メタノール溶液中で 50°C で 17 時間反応させた場合、pH 3 でオキサゾール化が 95% 以上進行したがこれより pH が大きくても小さくてもオキサゾールの収率は低下した。この条件下で M2-SO, M2-SO₂, M1-SO, M1-SO₂ は安定であった。

3) 酸化反応

STM は過酸化水素の希薄溶液中で容易にスルホキシドに酸化されたが、スルホンまでは酸化されなかった。このため、オキサゾール化反応の際に少量の過酸化水素

を添加し、一旦スルホキシド化したのち、クロロホルム中で *m*-クロロ過安息香酸によるスルホン化反応について検討した。この結果、スルホキシド化は酸性で行なう必要があり、アルカリ性では回収率は極端に低下した。また、50% メタノール溶液 300 ml 中、pH 3.0 で反応する場合、過酸化水素を 0.5 ml 用いた場合の反応率が最もよく 95% であった。過酸化水素濃度が高すぎても反応率は低下した。30 ml のクロロホルム中で 20 mg の *m*-クロロ過安息香酸による M2-SO から M2-SO₂ への酸化反応は室温でも定量的に進行したが、M1-SO から M1-

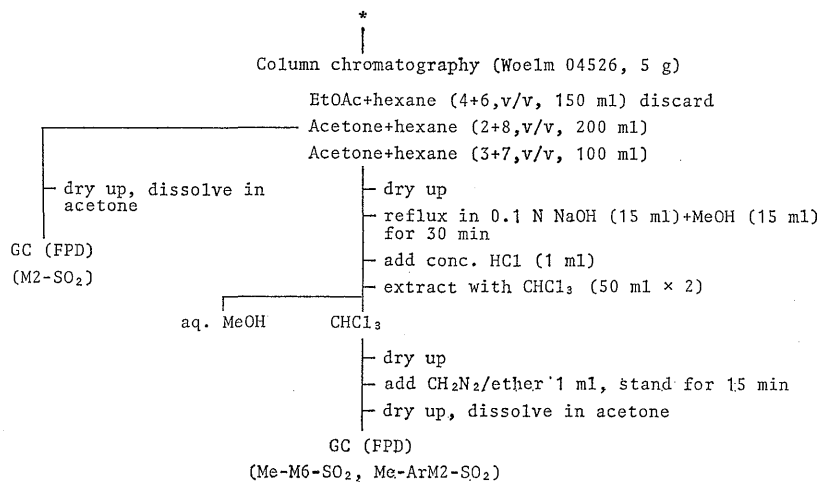


Fig. 4 Analytical flow sheet of sethoxydim and its metabolites by GC (*Continued from Fig. 3).

Conditions of GC (FPD); Instrument: Shimadzu GC-7A, Column: 5% OV-210 on Uniport HP 80-100 mesh packed in 3 mm i.d. × 50 cm length glass column, Column temperature: 270°C (M2-SO₂), 250°C (Me-M6-SO₂, Me-ArM2-SO₂), Injection temperature: 280°C (M2-SO₂), 270°C (Me-M6-SO₂, Me-ArM2-SO₂), Carrier gas: N₂ 70 ml/min (M2-SO₂), 45 ml/min (Me-M6-SO₂, Me-ArM2-SO₂), Air: 0.6 kg/cm², H₂: upper 0.3 kg/cm², lower 0.6 kg/cm², Attenuation: 32, Range 10.

SO₂ への酸化は 30°C の水浴中で 10 分間の加温条件が最適であった。この場合、反応後、ただちにチオ硫酸ナトリウム溶液と激しく振とうすることにより、反応停止を行なう必要があった。また、反応温度が低い場合は、酸化不十分で反応率は低下した。Table 1 に *m*-クロロ過安息香酸による反応率の温度による影響を示した。

4) クリンアップ条件

① 液液分配

STM は酸性 50% メタノール溶液からヘキサンに転溶されたが、オキサゾール体および酸化体は転溶されなかったため、オキサゾール化・酸化反応後ヘキサン洗浄することができた。この操作はとくに油状物質の多い作物（ダイズ、ナタネ、アズキ、ラッカセイ、ミカン果皮など）や、葉緑素の多い作物（ホウレンソウ、テンサイ葉など）の場合有効であったが、作物（ニンジン、パレイシヨ、テンサイ根、ダイコンなど）によっては、この操作は必要なかった。50% メタノール溶液からジクロロメタンに転溶する場合、水酸化体は 3 回の液液分配が必要であった。ニンジン、パレイシヨ、テンサイ根、ダイコンなどでは、アルカリ洗浄は行なわなくても分析できた。

Table 1 Effect of temperature on oxidation of M1-SO and M2-SO with *m*-chloroperbenzoic acid.

Temp. (°C)	Yield (%)	
	M1-SO ₂	M2-SO ₂
20	64-90	100
30	89-95	100
40	40-56	100

② 水酸化カルシウム沈殿処理

水酸化カルシウム沈殿によるクリンアップを採用した。この処理により、水酸化ナトリウム溶液での洗浄時、および酸化後のチオ硫酸ナトリウムとの振とう時に乳濁がなく、操作しやすくなったほか、オキサゾール化反応後の沈殿物を濾過する必要がなくなった。M1-SO、M1-SO₂ はアルカリ性下で長く放置しておくで分解するので、この操作は短時間（10 分以内）で行ない、ただちに塩酸を加え、pH 3 に調整する必要があった。ただし、ナタネの分析は、この水酸化カルシウム沈殿処理を行わないほうが妨害成分が少なく、クロマトグラムがきれいであった。

③ カラムクロマトグラフィー

シリカゲルを用いてカラムクロマトグラフィーの検討を行なった。シリカゲルは Woelm TSC-04526, 和光純薬 C-200 を用い、展開溶媒としてアセトン-ヘキサン系および酢酸エチル-ヘキサン系を用いて検討した結果、分析法に示した条件で各種作物の妨害成分の大部分が除去され、各誘導体は定量的に回収された。Fig. 4 に示した M2-SO₂ のフラクションと M1-SO₂ と 6-OH-M2-SO₂ のフラクションに分離したのち、それぞれ HPLC 定量する方法も、妨害成分が多いナタネなどでは有効である。

④ 特殊な作物のクリンアップ

大多数の作物の場合、前記のクリンアップで十分であるが、ミカン果皮、ナタネのような妨害成分の多い特殊な作物の場合は、前記のカラムクロマトグラフィーの後次のような Sep-pak® C₁₈ (Waters 社製) を用いるクリンアップを行なう。すなわち、Sep-pak® C₁₈ をアセトニトリル 10 ml、次に蒸留水 10 ml であらかじめ洗浄したのち、カラムクロマトグラフィー後の濃縮乾固物の入った容器を蒸留水 10 ml で洗浄して、この Sep-pak® C₁₈ に加え流下する。このフラクションは捨てる。次に水+アセトニトリル (9+1, v/v) 10 ml で容器を洗い、Sep-pak® に加え流下する。このフラクションは捨てる。次に水+アセトニトリル (8+2, v/v) 20 ml で容器を洗い、Sep-pak® に加え流下する。このフラクションに各誘導体が溶出される。これを減圧乾固後、クロロホルムに溶解し、高速液体クロマトグラフに注入する。

5) HPLC による定量

M2-SO₂ および 6-OH-M2-SO₂ はいずれも二つの不斉炭素を有するため、異性体の混合物である。異性体を個別に定量する必要のない場合は、異性体が分離しないような条件で定量するほうが分析が簡単になる。逆相系の Zorbax ODS, Zorbax CN, μ Bondapak C₁₈, Spherisorb S5P では M2-SO₂ の異性体が分離し、ツインピークとなった。順相系の Zorbax SIL, μ Porasil, Micropak SI-10 のような吸着型カラムで、流速 1 ml/min, 溶出時間 12 分以内の測定条件下では両化合物ともシングルピークであった。Zorbax NH₂ を順相系で使用した場合は、M2-SO₂ は分離しないが、6-OH-M2-SO₂ がツインピークに分離した。

以上の検討により、作物からの妨害成分との分離がよく、また、異性体が分離しない Zorbax SIL を採用した。M2-SO₂ および 6-OH-M2-SO₂ は、247 nm に極大吸収を示し (それぞれ ϵ : 0.88×10^4 , 0.82×10^4)、M1-SO₂ は 290 nm (ϵ : 1.58×10^4) および 246 nm (ϵ : 1.64×10^4) に極大吸収を示した。実際に高速液体クロマトグラフにこ

れらの化合物を注入し、247 nm と 254 nm で比較したところ、感度にほとんど差がみられなかったので、波長可変検出器、固定波長検出器のいずれでも測定可能な 254 nm を測定波長とした。作物成分が分析を妨害する場合は、溶離液中のメタノール濃度を変動させると多くの場合、作物成分と誘導体が分離した。また、溶離液をエタノール/ジクロロメタン系とするとよい場合 (ナタネ) もあった。

6) GC による定量

M2-SO₂ は GC での定量が可能であったが、6-OH-M2-SO₂, M1-SO₂ は OV-17, DC-11, PEG-HT, OV-1, DC-200, OV-210 を用いて検討したが、ピークが現われなかった。カラムに対する吸着性を弱めるために、6-OH-M2-SO₂ の OH 基のアセチル化、メチル化について検討したが、これらの反応はほとんど進行しなかった。6-OH-M2-SO₂ はクロロホルム中で五酸化リンと反応するか、またはアルカリ溶液中で加熱することにより脱水して芳香族化し、ArM2-SO₂ に変化した。五酸化リンとの反応では反応時間を長くしても反応率は 85% 程度で一定であり、それ以上は進まなかった。分析法に示したアルカリ加水分解条件下では加熱還流 30 分間で反応は定量的に進行した。ArM2-SO₂ はフェノール性 OH 基を有するため、GC に注入してもピークが現われなかった。この OH 基のトリメチルシリルイミダゾールを用いるシリル化、ジアゾメタンによるメチル化を検討した。シリル化剤と混合しただけでは反応は進行しなかったが、GC 中で反応することが認められた。しかし、この試薬は反応溶媒のアセトン中の水分で分解されやすく回収率が一定しなかった。ジアゾメタンでは、室温で 15 分間放置することにより定量的にメチル化され、Me-Ar-M2-SO₂ に誘導された。M1-SO₂ は 6-OH-M2-SO₂ とまったく同様に操作することにより、M6-SO₂ を経て Me-M6-SO₂ に変化した。GC で定量可能であることが認められた。

7) 検出限界および回収率

① HPLC 法

各誘導体をそれぞれ 5 ng 注入した時、ピーク高さ 4~5 mm の明瞭なピークが認められたので、これを最小検出量とした。試料秤取量を 25 g, 最終液量を 2 ml, 注入量を 20 μ l とした場合、検出限界は 0.02 ppm となる。

② GC 法

各誘導体の最小検出量は 5 ng であった。試料量を 25 g, 最終液量を 1 ml, 注入量を 10 μ l とした場合、検出限界は 0.02 ppm となる。

作物に STM およびその代謝物を添加して分析し、回収率を求めた結果を Table 2 に示す。いずれの場合も

Table 2 Fortified recovery of sethoxydim and its metabolites.

Crop	Compound added		Recovery (%)	
	Name	Conc. (ppm)	Found	Average
Soybean seed	STM	0.2	88.2, 88.0	88.1
	STM	0.05	72.4, 70.0	71.2
	M-SO	0.2	88.0, 88.0	88.0
	M-SO ₂	0.2	94.3, 93.7	94.0
	M2-SO	0.2	92.4, 87.8	90.1
	M2-SO ₂	0.2	95.3, 96.4	95.9
	M1-SO	0.2	75.5, 70.5	73.0
	M1-SO	0.05	80.2, 77.1	78.7
	M1-SO ₂	0.2	88.0, 86.9	87.5
	5-OH-M-SO ₂	0.2	80.3, 78.2	79.3
	5-OH-M-SO ₂	0.05	80.4, 77.8	79.1
5-OH-M-SO	0.2	80.1, 75.0	77.6	
Green soybean	STM	0.2	82.3, 79.6	81.0
	M1-SO	0.2	75.0, 71.5	73.3
	5-OH-M-SO ₂	1.0	89.2, 85.4	87.3
Sugar beet root	STM	0.2	83.4, 80.7	82.1
	M1-SO	0.2	77.1, 75.7	76.4
	5-OH-M-SO ₂	0.2	82.5, 80.5	81.5
Sugar beet leaf	STM	0.2	83.2, 80.9	82.1
	M1-SO	0.2	77.0, 75.5	76.3
	5-OH-M-SO ₂	0.2	85.8, 80.3	83.1
Carrot	STM	0.2	77.5, 76.8	77.2
	M1-SO	0.2	88.0, 86.5	87.3
	5-OH-M-SO ₂	0.2	74.3, 74.3	74.3
Potato	STM	0.2	84.0, 80.0	82.0
	M1-SO	0.2	80.7, 80.0	80.4
	5-OH-M-SO ₂	0.2	92.3, 90.2	91.3
Cabbage	STM	0.2	76.2, 74.8	75.5
	M1-SO	0.2	74.4, 72.6	73.5
	5-OH-M-SO ₂	0.2	79.0, 75.6	77.3
Strawberry	STM	0.2	89.2, 86.9	88.1
	M1-SO	0.2	76.7, 76.0	76.4
	5-OH-M-SO ₂	0.2	93.8, 91.7	92.8

70%以上の回収率が得られた。また、ダイズに STM, M1-SO, 5-OH-M-SO₂を、各0.2 ppm 添加した場合の変動係数は、それぞれ 2.1, 4.1, 5.2% (各 n=5) であった。クロマトグラム例を Fig. 5 に示す。

2. 残留分析

各地の農業試験場および当社の圃場でナブ乳剤 (STM 20% 含有) を散布した、ダイズ、エダマメ、テンサイ、ニンジン、パレイシヨ、ミカン、キャベツ、イチゴ、トマト、タマネギ、ダイコン、スイカ、ハクサイ、ホウレ

ンソウ、サヤインゲン、カンショ、アズキ、ナタネを分析し、STM および関連化合物の残留量を調べた。残留分析の結果の一部を Table 3 に示す。これらの結果により、主たる残留物は M2-SO₂ に誘導される化合物であり、M1-SO₂ に誘導される化合物は、ほとんど無視できる程度であった。6-OH-M2-SO₂ に誘導される化合物はダイズで比較的多く、このほか、パレイシヨ、イチゴなどにも、わずかながら残留が認められた。

Table 3 Crop application history and the residual amount of STM and its metabolites.

Crop	Location	Dosage (kg ai/ha)	PHI ^{a)} (days)	Residue (ppm as STM) ^{b)}		
				M2-SO ₂	M1-SO ₂	6-OH-M2-SO ₂
Soybean seed	Nagano	0.5	49	1.32	0.04	0.68
		0.5	63	0.44	<0.02	0.46
	Shizuoka	0.5	51	1.17	0.04	1.17
		0.5	58	0.44	<0.02	0.43
		0.5	72	0.02	<0.02	<0.02
Sugar beet root	Hokkaido	0.5	95	<0.02	<0.02	<0.02
		0.5	102	<0.02	<0.02	<0.02
	Hokkaido	0.5	95	<0.02	<0.02	<0.02
		0.5	102	<0.02	<0.02	<0.02
Carrot	Yamanashi	0.5	7	0.24	<0.02	<0.02
			21	0.18	<0.02	0.02
			35	0.07	<0.02	<0.02
Potato	Yamanashi	0.5	31	0.12	<0.02	0.11
			92	0.04	<0.02	0.04
Cabbage	Kanagawa	0.5	7	0.17	<0.02	<0.02
			21	0.30	<0.02	<0.02
			35	0.12	<0.02	0.03
Strawberry	Hyogo	0.5	30	0.13	<0.02	0.22
	Kanagawa	0.5	31	<0.02	<0.02	0.02

^{a)} Preharvest interval.

^{b)} Average of duplicate analyses.

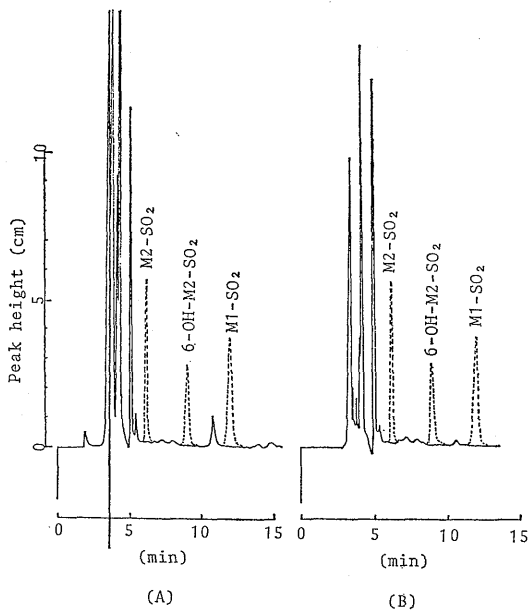


Fig. 5 Examples of liquid chromatogram.
Solid line: Unfortified sample, Dotted line: Standard chemicals (50 ng). (A) Soybean seed, (B) Sugar beet root, Amount of sample: 25 g, Final volume: 2 ml, Injection volume: 20 μ l.

考 察

STM, M-SO, M-SO₂などは、エノール構造を有するため順相系 HPLC ではテーリングしやすかった。逆相系 HPLC ではオキシム位の *E, Z* 異性体が生成し、水系溶媒やアルコール中ではその比が変動しやすかった。また、M-SO や M2-SO は側鎖メチル基のついた炭素の不斉、スルホキシドのイオウの不斉による異性体のため、HPLC でそのまま分析するとツインピークとなった。このように多数の代謝物があり、また、それぞれが異性体を有するため、これらをそのまま定量するのは非常に困難であった。そこで、これらの残留成分をできるだけ

少数の化合物に誘導し、定量することを考えた。これらの対象化合物を酸性下で加熱し、さらに酸化することにより、M2-SO₂、M1-SO₂ および 6-OH-M2-SO₂ に誘導されることが認められ、これらは順相系の HPLC ではそれぞれシャープな単一ピークとして現われ、残留分析法を確立することができた。しかし、M2-SO₂、6-OH-M2-SO₂ ともにそれぞれ、二つの不斉炭素を有するため異性体の混合物であり、これらが分離しない条件を用いることが必要であった。さらに誘導化を行えば、GC による残留分析も可能であった。検出器は選択性の点で炎光光度検出器が優れていたが、電子捕獲検出器、熱イオン検出器、質量選択検出器でも妨害成分が少ない場合は分析可能と考えられた。HPLC 法のほうが GC 法より操作が短く簡単であった。土壌の残留分析も本法と同様な原理で分析できるが、その場合、土壌では水酸化物は生成しないので 6-OH-M2-SO₂ の定量は不要であった。STM 単独の残留分析法も確立されているが、STM はきわめて短時間に消失し、代謝物に変換されてしまうので⁴⁾、残留実態を考慮すると、作物、土壌とも本分析法で分析するのが好ましいと考えられた。本分析法で作物残留実態を調べたところ、M1-SO₂ に誘導される化合物はまったく検出されないか、検出されたとしても、その残留量は、ほとんど無視できる程度であり、通常の残留分析の場合には M1-SO₂ の分析の必要性はないものと判断された。また、本分析法を応用し、各代謝物を液液分配による分離、オキサゾール化反応の有無、酸化の有無により分離定量した結果、M2-SO₂ に誘導される代謝物の大部分は M-SO と M-SO₂ であり、6-OH-M2-SO₂ に

誘導される代謝物は 5-OH-M-SO₂ と 5-OH-SO の比が 8 対 2 程度であり、6-OH-M2-SO₂ は検出されなかった。

要 約

作物中に残留している セトキシジム (STM) およびその代謝物の分析法を検討した。STM は数多くの代謝物に分解するため、これらの代謝物を M2-SO₂、M1-SO₂ および 6-OH-M2-SO₂ の三つの化合物に誘導化して HPLC (紫外線検出器) で定量する方法を作成した。GC 法 (FPD) についても検討したが、HPLC 法が優れていた。この方法を用いて、圃場で収穫した 18 種類の作物について残留分析を行なった結果、残留物の多くは M2-SO₂ に誘導される化合物であり、これらは M-SO、M-SO₂ と推定された。ダイズ等、数種類の作物中に 6-OH-M2-SO₂ に誘導化される水酸化体 (主として 5-OH-M-SO₂) の存在が認められたが、いずれの作物中でも M1-SO₂ に誘導される代謝物は、まったく検出されなかったか、検出されてもきわめてわずかな量で分析の必要性は認められなかった。

引用文献

- 1) 石川尚雄・岩滝 功・佐脇幹夫: 農薬誌 10, 301 (1985)
- 2) K. Ishihara, T. Gomyo, Y. Soeda & S. Ono: Abstr. 5th Int. Congr. Pestic. Sci., Vd-6, 1982.
- 3) 五明 健・岩滝 功・添田吉則・小野成男: 日本農薬学会第 12 回大会講演要旨集, p. 140, 1987
- 4) 五明 健・小野成男: 農薬誌 12, 741 (1987)