

原 著

GCによる農産物中のアイオキシニル, クロメプロップ及び ブロモキシニルの同時分析法について

杉村 光永, 豊田 安基江, 金森 久幸

Simultaneous Determination of Ioxynil, Clomeprop and Bromoxynil in Agricultural Products by Gas-chromatography

MITSUNORI SUGIMURA, AKIE TOYOTA and HISAYUKI KANAMORI

(Received Oct. 4, 2004)

This paper report a simultaneous analysis method of ioxynil octanoate (IOX-O), clomeprop (CLO), bromoxynil octanoate (BRO-O) and its transformation-based products including ioxynil (IOX), clomeprop acid (CLO-A) and bromoxynil (BRO), those components are inside herbicide in agricultural products.

Agricultural product samples were well homogenized with acidified acetone, and residual herbicides were extracted by n-hexane·ethyl acetate mixture solution. BRO-O and IOX-O were hydrolyzed by ammonia water, and then was methylated with trimethylsilyl-diazomethane (TMS-DM) together CLO-A. These three methylated components were purified by Silica gel column and Florisil column chromatography, then were analyzed by ECD-GC.

IOX-O, CLO, BRO-O, IOX, CLO-A and BRO with concentration of 0.05 μ g/g were added into 11 agricultural product samples. A recovery rate of about 80%~110% (<10% of CV) was obtained. The detection limits were 0.01 μ g/g in samples.

Key word : Ioxynil octanoate, Clomeprop, Bromoxynil octanoate, Ioxynil, Clomeprop acid, Bromoxynil, trimethylsilyl- diazomethane (TMS-DM), ECD-GC, GC-MS.

緒 言

平成15年5月30日の食品衛生法改正に伴い、647の農薬や動物用医薬品等と共に、暫定基準値(第一次案)が定められた。この改正で残留農薬基準に、ポジティブリスト制が導入され、その移行が公布後3年以内と定められた。このため厚生労働省では、平成15年2月に地方衛生研究所を含めた全国の28研究機関の協力を得て、「残留農薬等分析法検討会」を組織し、これらの暫定基準値(第一次案)が定められた農薬の分析法の検討を行っている。

今回、この研究の一環として、除草剤であるアイオキシニルオクタノエート(IOX-O)、クロメプロップ(CLO)及びブロモキシニルオクタノエート(BRO-O)並びにその変化生成物であるアイオキシニル(IOX)、クロメプロップ酸(CLO-A)及びブロモキシニル(BRO)のECD-GCによる同時分析法を検討したので報告する。

実験方法

1 試料

広島県内で購入した玄米, 大麦, 大豆, ばれいしょ, キャベツ, ほうれんそう, たまねぎ, オレンジ, りんご, なたね及びぎんなんの計11農産物。

2 試薬等

- (1) 標準物質
 - ・CLO及びCLO-A：林純薬工業(株)製
 - ・IOX-O, IOX, BRO-B及びBRO：シグマアルドリッチ社製。
- (2) TMS-DM：Aldrich Chem.Co.製。
- (3) N-メチル-N-ニトロソ-p-トルエンスルホンアミド：東京化成工業(株)製。
- (4) その他の試薬等：食品衛生法告示分析法に準じた。

3 装置

- (1) ECD-GC装置：Hewlett Packerd社製HP-6890
- (2) GC-MS装置：Hewlett Packerd社製HP-5972

4 分析条件

次の条件で、ECD-GCによる定性・定量及びGC-MSによる定性分析を行った。分析対象6物質の構造式を図1に、また標準物質(メチル化物質)のガスクロマトグラムを図2、3に示した。

(1) ECD-GC分析条件

・column: ENV-8MS (関東化学(株)製), 0.25mm×30m (d.f.: 0.25μm)

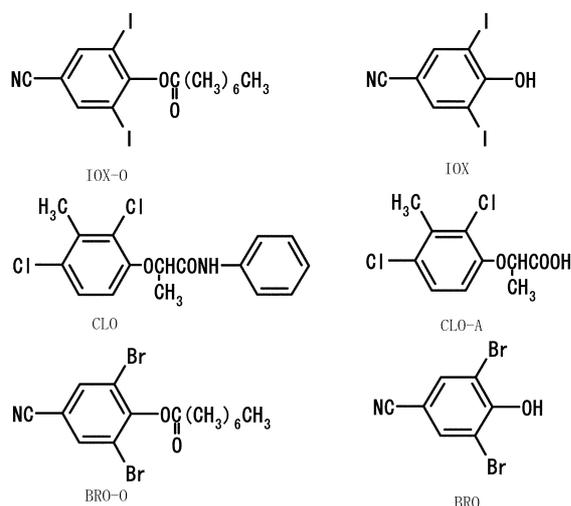


Fig.1 Chemical structures of herbicides and transformation-based products

herbicides: ioxynil octanoate (IOX-O), clomeprop (CLO) and bromoxynil octanoate (BRO-O) transformation-based products: ioxynil (IOX), clomeprop acid (CLO-A) and bromoxynil (BRO)

・column temperature (IOX, CLA-A, BRO): 80°C (1min) - 35°C/min - 165°C (11min) - 1°C/min - 168°C - 30°C/min - 200°C (4.5min) - 50°C/min - 340°C (1min)

・column temperature (CLO): 80°C (1min) - 30°C/min - 240°C (15min) - 40°C/min - 340°C (2min)

・injection temperature: 250°C, detector temperature: 320°C, injection method: splitless, injection volume: 1μL

(2) GC-MS分析条件

・column: ENV-8MS (関東化学(株)製), 0.25mm×30m (d.f.: 0.25μm)

・column temperature (IOX, CLA-A, BRO): 80°C (1min) - 35°C/min - 160°C (14.5min) - 30°C/min - 210°C (5min) - 30°C/min - 340°C (2min)

・column temperature (CLO): 80°C (1min) - 30°C/min - 240°C (15min) - 30°C/min - 340°C (2min)

・injection temperature: 250°C, detector temperature: 280°C, ionization voltage: 70eV, injection method: splitless, injection volume: 2μL

5 分析方法

分析方法は図4に示した。また、分析法の検討には次の条件を用いた。

(1) メチル化

・TMS-DM反応溶媒: 酢酸エチル・メタノール混液 (1:1) 2mL

・TMS-DM濃度: 10% n-ヘキサン溶液

・ジアゾメタン (DM) の調製方法: N-メチル-N-ニトロ

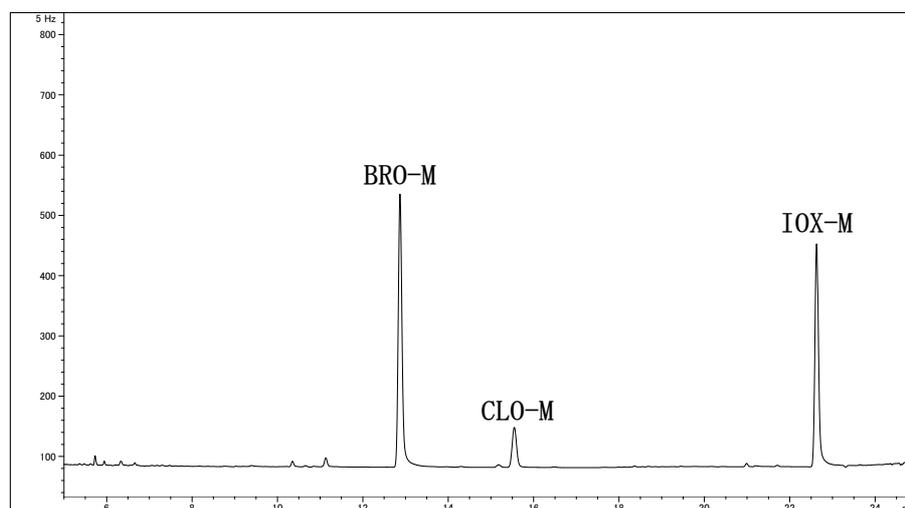


Fig.2 Gas chromatogram of BRO-M, CLO-M and IOX-M

Conditions: column: ENV-8MS, 0.25mm×30m (d.f.: 0.25μm)

column temperature: 80°C (1min) - 35°C/min - 165°C (11min) - 1°C/min - 168°C - 30°C/min - 200°C (4.5min) - 50°C/min - 340°C (1min)

injection temperature: 250°C, detector temperature: 320°C, injection method: splitless, Injection volume: 1μL, 0.1ng

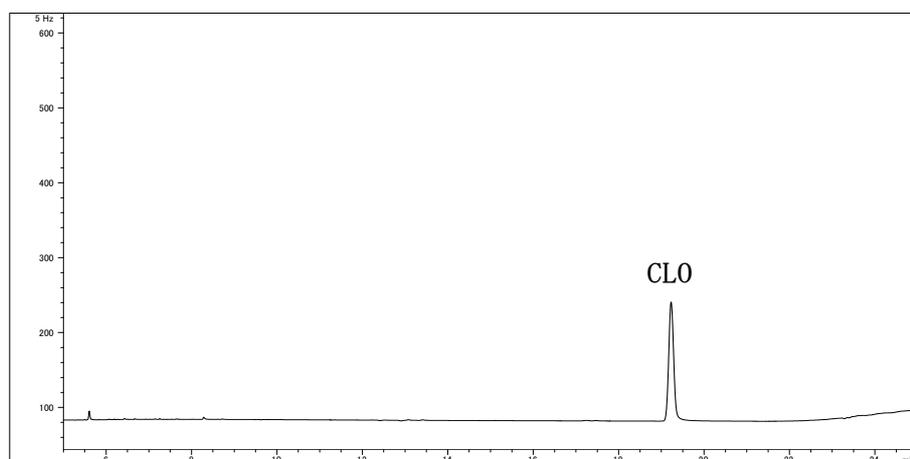


Fig.3 Gas chromatogram of CLO

Conditions : column : ENV-8MS, 0.25mm×30m (d.f.: 0.25 μ m)
 column temperature CLO : 80 $^{\circ}$ C (1min) -30 $^{\circ}$ C/min-240 $^{\circ}$ C (15min) -40 $^{\circ}$ C/min-340 $^{\circ}$ C (2min)
 injection temperature : 250 $^{\circ}$ C, detector temperature : 320 $^{\circ}$ C, injection method : splitless,
 Injection volume : 1 μ L, 0.1ng

- ソ-p-トルエンスルホンアミドを定法に従い調製した.
- ・DMの添加量 : 10mL
- ・標準物質質量 : IOX, CLO-A及びBROの各10 μ g

(2) 転溶溶媒

①アセトン抽出後

- ・溶媒の種類 : n-ヘキサン及び酢酸エチル・n-ヘキサン混液 (2 : 3)
- ・抽出溶媒量 : 100mL+50mL
- ・水層の液性 : 20%塩化ナトリウム溶液100mLを4mol/L塩酸溶液でpH2以下とし, 用いた.
- ・標準物質質量 : IOX-O, IOX, CLO, CLO-A, BRO-O及びBROの各10 μ g添加

②加水分解後

- ・溶媒の種類 : 酢酸エチル・n-ヘキサン混液 (2 : 3)
- ・水層の液性 : メタノール50mLにアンモニア水10mLを加え, さらに, 4mol/L塩酸溶液で中和し, メタノールを除去後, 20%塩化ナトリウム溶液100mLを加え, 4mol/L塩酸溶液でpH2以下とした.
- ・抽出溶媒量 : 50mL+50mL
- ・標準物質質量 : IOX-M, CLO, CLO-M及びBRO-Mの各10 μ g添加

(3) 精製

①負荷量

- ・IOX-M, CLO-M, BRO-M及びCLO : 各2 μ g
- ・実試料 : 玄米, 穀類, 豆類及び種実類は10g/5mL (n-ヘキサン溶液), その他の農産物は20g/10mL (n-ヘキサン溶液) とし, この2mLをカラムに負荷.

②充填剤の活性化 : 130 $^{\circ}$ C, 12時間

③充填方法

- ・シリカゲル5gに無水硫酸ナトリウム5gを積層した.

充填溶媒はジエチルエーテル・n-ヘキサン混液 (1 : 1) とした.

- ・フロリジルPR10gに無水硫酸ナトリウム5gを積層した. 充填溶媒はn-ヘキサンとした.

結果及び考察

1 TMS-DMによるメチル化の検討

環境省告示分析法等 [1] [2] [3] には, IOX及びCLO-Aをジアゾメタンでメチル化し, ECD-GCで分析する方法が示されている. 今回, これに加えて, BROもメチル化し, 同時に分析する方法を検討した. メチル化剤には, ジアゾメタンに比べて, 取り扱いが簡便なTMS-DMを用いてメチル化することとし, 以下の検討を行った.

(1) 添加量

メチル化剤の添加量を検討するため, IOX, CLO-A及びBROの3物質 (メチル化3物質) をTMS-DMの添加量 (0.05~0.6mL) を変えて, 60分間室温で反応させた. その結果を表1に示すように0.2mL以上でメチル化が完了した.

しかし, 本法の加水分解後の溶媒転溶は, 塩酸性で行っているため, 転溶溶媒に残留する塩酸の除去が不十分な場合, 塩酸によってTMS-DMが消費される. また, 試料の夾雑物によっても消費されることを考慮して, メチル化剤の添加量を0.5mLとした.

(2) 反応時間

反応時間を検討するため, メチル化3物質を反応溶媒に溶解した後, TMS-DMを0.5mL添加し, 反応時間 (5~90分間) を変えて室温で反応させた. 表2に示すよう

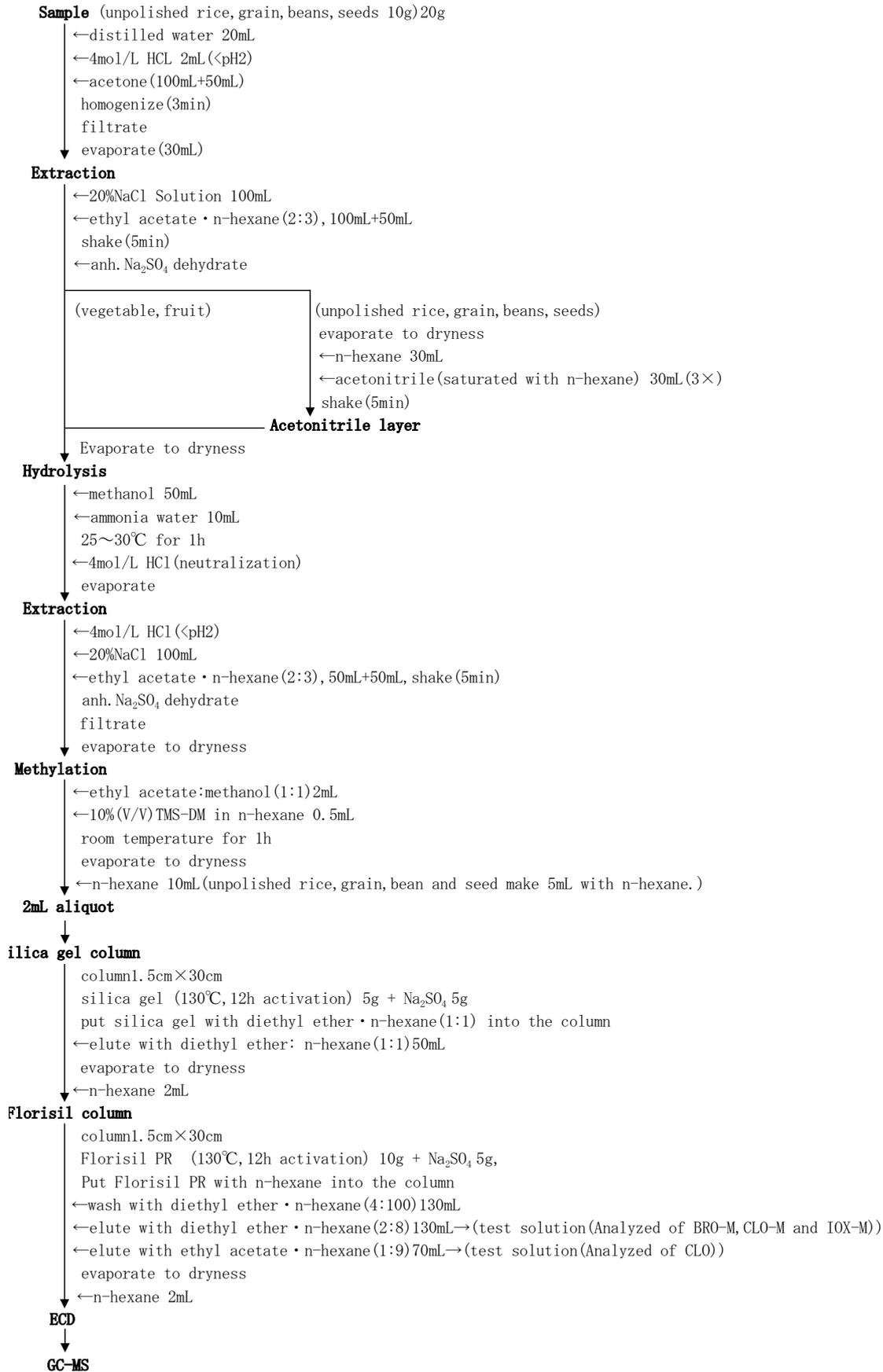


Fig.4 analytical method

Table 1 The produced ratio of IOX-M, CLO-M and BRO-O by methylated with various amount of TMS-DM (%)

TMS-DM(mL)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
IOX-M	88	90	101	100	101	100	100
CLO-M	97	96	101	101	101	100	101
BRO-M	83	87	100	97	99	100	99

・ Reaction conditions : room temperature for one hour

・ TMS-DM : 10% (V/V) TMS-DM in n-hexane

Table 2 The produced ratio of IOX-M, CLO-M and BRO-O by methylation for various reaction time (%)

reaction time(min)	5	15	30	45	60	90
IOX-M	66	77	85	93	100	99
CLO-M	87	92	96	96	100	98
BRO-M	73	88	91	102	100	105

Reaction conditions : added to 0.5mL 10% (V/V) TMS-DM in n-hexane at room temperature

にTMS-DM添加から60分後でメチル化が完了したことから、反応時間を60間とした。

(3) メチル化物の面積値の比較

メチル化3物質を、それぞれTMS-DMとジアゾメタンでメチル化したときの面積値 (ECD-GC分析) の変動を調べた。3回の平行試験と5回の繰り返し分析を行った結果から、面積値の変動係数 (CV%) を算出した。ジアゾメタンではIOX, CLO-M及びBRO-Mが、それぞれCV%=3.4%, 3.0%及び3.8%で、TMS-DMでは、それぞれCV%=3.9%, 3.2%及び4.3%と、両者ともにCV%=5%以下と、ほぼ同様の結果が得られた。

(4) ガスクロマトグラム

メチル化剤にTMS-DMを用いたときのメチル化3物質のクロマトグラム (ECD-GC分析) を見ると、分析の支障となるピークは現れなかった。

以上のことから、TMS-DMによるメチル化は、反応溶媒 (メタノール・酢酸エチル (1 : 1)) 2mLに、TMS-DM 0.5mLを加え、反応時間を室温で60分間とした。

2 転溶溶媒の検討

本法では、図4に示すとおり、試料からアセトン抽出後と加水分解後の2回の溶媒転溶を行う。この転溶溶媒について検討した。

(1) アセトン抽出後

環境省告示法等では、転溶溶媒にジクロロメタン、ジエチルエーテルまたはn-ヘキサン等を使用している。本法では、分析対象6物質が試料に残留していることを想定し、転溶溶媒の検討を行った。-COOHを持つCLO-Aも同時に抽出するため、液性を塩酸でpH 2以下とした。これに分析対象6標準物質を添加し、有機溶媒で抽

出後、メチル化3物質についてはTMS-DMでメチル化し分析した。

n-ヘキサンでは、CLO-Aの回収率 (n=3) が、45.8%であったが、酢酸エチル・n-ヘキサン混液 (2 : 3) とすることで、IOX-O, CLO, BRO-O, IOX, CLO-A及びBROの回収率 (n=3) が、それぞれ98.7%, 99.1%, 101.9%, 103.0%, 101.1%及び103.3%と良好な結果が得られた。

したがって、今回、酢酸エチル・n-ヘキサン (2 : 3) 混液を用いて2回抽出した。

(2) 加水分解後

IOX-O及びBRO-Oは、抽出後のアルカリ加水分解でIOX及びBROとなる。この段階で、分析対象物質は、IOX, CLO, CLO-A及びBROの4物質 (加水分解4物質) となっている。加水分解後の転溶溶媒も酢酸エチル・n-ヘキサン (2 : 3) 混液で抽出可能か検討した。

IOX, CLO, CLO-A及びBROの回収率 (n=3) が、それぞれ105.4%, 98.7%, 99.1%及び104.2%と良好な結果が得られた。

したがって、加水分解後の転溶溶媒も酢酸エチル・n-ヘキサン (2 : 3) 混液を用いて2回抽出することにした。

3 加水分解

環境省告示法等には、IOX-Oの加水分解方法が示されている。本法での分析対象物質であるBRO-Oも、同様に加水分解が可能か検討した。

BRO-Oを図4に示す方法で、加水分解した。BRO-Oの加水分解率 (n=3) が98.1%と良好な結果であった。

4 加水分解及びメチル化操作による影響

今回の試験法には、加水分解とメチル化操作行程があり、これらの操作段階で、同時抽出するCLOは加水分解及びメチル化の、また、CLO-Aは加水分解の、それぞれ損失が無いことを確認するため、以下の検討を行った。

(1) 加水分解による影響

CLO及びCLO-Aを図4に示す方法で加水分解し、溶媒抽出後、CLO-AはTMS-DMでメチル化し分析した。

CLO及びCLO-Aの回収率 (n=3) が、それぞれ102.0%及び99.3%と、特に加水分解による損失は認められなかった。

(2) CLOのメチル化操作による影響

CLOをTMS-DMでメチル化し、反応時間毎のCLO量を分析した。最大240分間反応させたところ、特に分析値に損失はなかった。

また、加水分解及びメチル化操作後のCLOのマススペクトルにも特に変化は認められなかった。

5 脱脂操作の検討

環境省告示法等での脱脂操作は、炭酸水素ナトリウム溶液転溶としているが、CLOとの同時抽出法とするため、食品衛生法の告示分析法に従って、アセトニトリル/n-ヘキサン分配法を検討した。試料から抽出、転溶後、加水分解前に脱脂操作を行った。このため対象物質は分析対象6物質であり、これらをn-ヘキサンに添加し、n-ヘキサン飽和アセトニトリル30mLで3回抽出し、回収率を求めた。

IOX-O, CLO, BRO-O, IOX, CLO-A及びBROの回収率(n=3)が、101.4%, 98.0%, 100.9%, 97.4%, 97.1%及び、96.5%と良好な結果であった。

6 精製操作の検討

環境省告示法等のCLO分析法を参考に、フロリジルカラムによる精製を行い、メチル化3物質とCLOの計4物質(精製4物質)を同時分析する精製操作条件を検討したが、夾雑物の影響が大きく分析できなかった。

このため、シリカゲルカラムとフロリジルカラムを用いて精製することとし、それぞれの精製条件を検討した。

(1) シリカゲルカラム精製条件

酢酸エチル・n-ヘキサン混液(2:8)100mLでは、精製4物質は溶出するが、ほとんどの試料で着色成分が溶出した。酢酸エチルの比率を下げると、CLOの回収率が悪くなった。

そこで、ジエチルエーテル・n-ヘキサンによる精製

条件を検討した。ジエチルエーテル・n-ヘキサン混液(1:1)50mLで、精製4物質が溶出した。この溶媒比では、ほうれんそうとオレンジのみ、着色成分の溶出が見られ、着色成分の溶出は、酢酸エチル・n-ヘキサン混液に比べて少量であったので、エチル・n-ヘキサン混液(1:1)50mLで溶出することにした。

(2) フロリジルカラム精製条件

環境省告示法等のクロメプロップ分析法では、フロリジルを130℃、4時間で活性化している。食品衛生法の告示分析法では、130℃、12時間で活性化することから、この告示分析法の条件で活性化し、溶出条件の検討を行った。

ジエチルエーテル・n-ヘキサン混液によるカラム洗浄の溶媒比について検討した。ジエチルエーテル・n-ヘキサン混液(4:100)の溶媒比150mLでは、精製4物質のうち、何れの物質も溶出しなかった。

たまねぎは、ECD-GC分析で夾雑物の影響が大きく、分析が困難な農産物の1つである。そこで、たまねぎを試料として、洗浄溶媒量の検討を行なった。洗浄溶媒を50mL~150mLの範囲で流下し、ECD-GC分析でのクロマトグラムの変化を調べた。130mL以上の流下でクロマトグラムの変化が見られなくなった。

次に、精製4物質の同時溶出条件では、十分な精製効果が得られなかったため、この4物質の中で極性の一番強い溶媒で溶出するCLOと他のメチル化3物質とが分離・精製可能か検討した。

Table 3 Recoveries of herbicides and its transformation-based products added to Agricultural products

	Recovery (%)					
	IOX	IOX-O	CLO	CLO-A	BRO	BRO-O
Unpolished rice	102.7	105.7	82.7	99.3	100.1	107.7
	6.0	3.4	7.3	3.2	4.3	3.7
Barley	90.8	106.8	81.9	104.2	92.0	108.2
	5.4	2.1	3.2	4.2	4.5	3.2
Soybean	94.1	85.9	82.7	96.7	99.7	96.8
	3.8	4.4	9.7	4.7	4.1	5.9
Potato	99.7	93.3	93.6	92.5	91.8	99.0
	4.8	8.9	6.8	2.3	5.5	6.9
Spinach	87.2	96.8	86.2	97.5	88.9	97.4
	4.5	7.3	8.9	8.4	6.3	8.0
Cabbage	94.8	96.7	98.3	98.0	94.9	99.6
	6.9	6.6	5.6	3.9	9.3	5.8
Onion	100.9	94.7	99.5	90.6	99.7	103.6
	7.4	4.7	3.6	3.0	2.7	4.5
Orange	94.4	99.2	98.3	96.6	97.6	102.2
	6.8	4.0	7.6	8.2	6.0	3.3
Apple	100.8	98.4	94.7	100.8	98.0	102.7
	3.2	3.4	2.1	3.0	3.2	4.0
Rapessed	95.4	103.2	82.4	108.9	101.8	105.9
	2.4	4.6	5.0	5.3	4.5	6.6
Rapeseed	86.6	86.0	83.2	106.9	104.6	105.0
	5.0	3.0	5.2	4.2	5.4	4.3

herbicides : IOX-O, CLO and BRO-O

transformation-based products : IOX-O, CLO-A and BRO

Samples were spiked at 0.05 µg/g of each herbicides and its transformation-based products.

The values indicated the average of 3 trials.

*Coefficient of variation=Standard deviation/Average×100

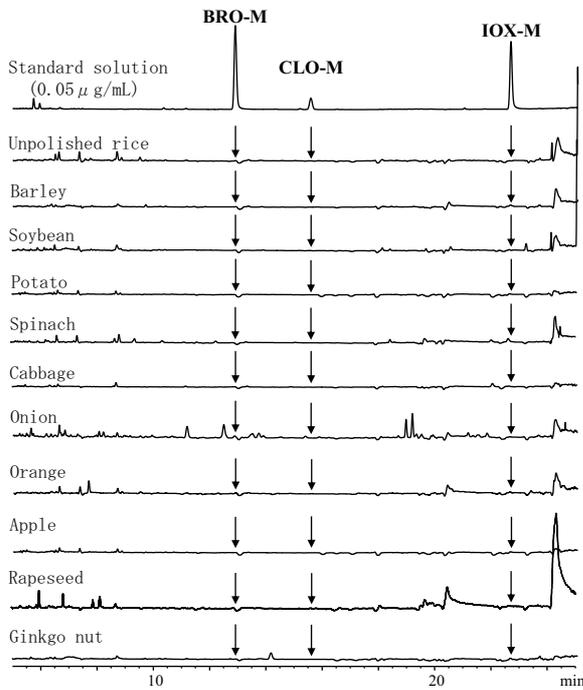


Fig.5 Gas chromatogram BRO-M, CLO-M and IOX-M in agricultural products

The arrows indicate retention time of standard substances. Chromatographic Condition are shown in Fig.2.

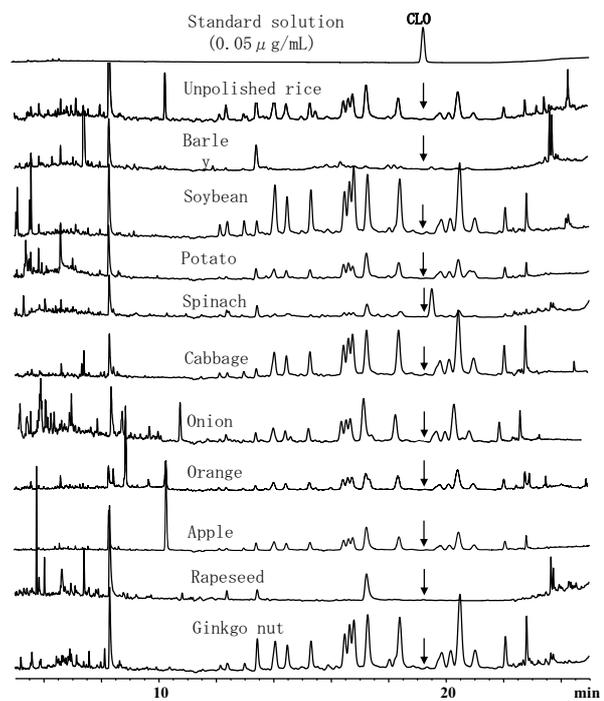


Fig.6 GC chromatogram of CLO in agricultural products

The arrows indicate retention time of standard substances. Chromatographic Condition are shown in Fig.3.

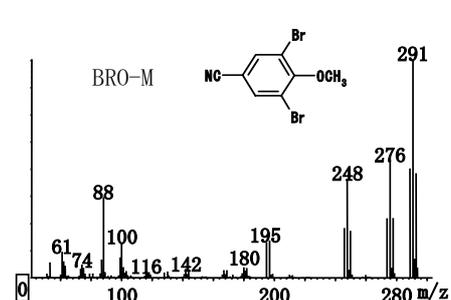
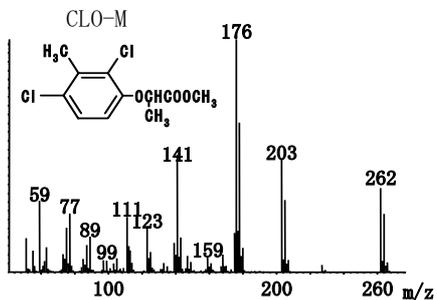
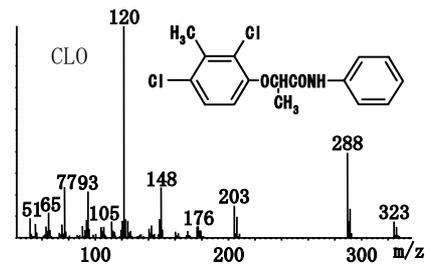
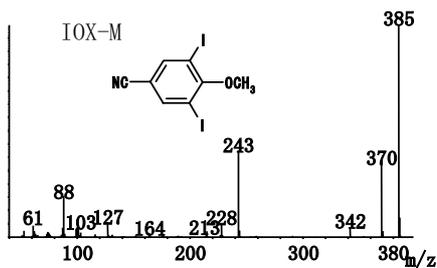


Fig.7 Mass spectra of IOX-M, CLO-M, CLO and BRO-M by GC-MS

Conditions :

column : ENV-8MS, 0.25mm×30m (d.f.: 0.25 µm)

column temperature (IOX, CLA-A and BRO): 80°C (1min) -35°C/min-160°C (14.5min) -30°C/min-210°C (5min) -30°C/min-340°C (2min)

column temperature (CLO): 80°C (1min) -30°C/min-240°C (15min) -30°C/min-340°C (2min)

injection temperature : 250°C, detector temperature : 280°C, ionization voltage : 70eV

環境省告示法等のアイオキシニルの分析法を参考に、ジエチルエーテル・n-ヘキサン混液の溶媒比と溶出量について検討した。

精製4物質をジエチルエーテル・n-ヘキサン混液(2:8)130mLで溶出すると、メチル化3物質が97.0%以上で、CLOの溶出量が1.7%に留まった。

CLOの溶出条件を検討したところ、酢酸エチル・n-ヘキサン混液(1:9)70mL以上で溶出が完了した。

以上のことから、今回、精製・分離操作は、玄米、穀類、豆類及び種実類の場合10g/5mL、その他の農産物は20g/10mL(n-ヘキサン溶液)とした後、この2mLをシリカゲルカラムに負荷し、ジエチルエーテル・n-ヘキサン混液(1:1)50mLで溶出した。次いで、ジエチルエーテル・n-ヘキサン混液(4:100)130mLでカラムを洗浄し、ジエチルエーテル・n-ヘキサン混液(2:8)130mLで、メチル化3物質を溶出し、さらに、酢酸エチル・n-ヘキサン混液(1:9)70mLでCLOを溶出した。

7 検量線

IOX-M, CLO-M, BRO-M及びCLOは、0.02~0.2ngの範囲で良好な検量線($r=0.999$ 以上)が得られた。この時の最小検出量は0.02ngであった。

今回の検量線は、定量下限濃度(0.02ng)がECD-GCでのS/N比が10倍以上で、 $r=0.999$ 以上となる範囲とした。

この検量線から、検体採取量を穀類、豆類及び種実類の場合10g、その他の農産物は20gとし、試料濃度をそれぞれ10g/5mLと20g/10mLとすると、定量限界値は、IOX, CLO-A, CLO及びBROとして、 $0.01\mu\text{g/g}$ であった。

8 GCカラムの選択

DB-5msカラムを用いて、実施試料を分析したところCLO-Mの回収率($n=3$)が、GC-MSの確認では、ほぼ回収されていたが、ECD-GC分析では、キャベツ、ほうれんそう及びオレンジで、それぞれ66.4%、71.1%及び57.6%と良好な結果が得られなかった。また、他の試料でも同様の結果が得られた。

そこで、GCカラムをENV-8MSに換えて分析したところ、ほうれんそうで、回収率($n=3$)が97.5%と良好な結果となり、他の試料でも同様の結果が得られた。

以上のことから、今回、ENV-8MSカラムを用いて分析することにした。

9 添加回収試験

各試料に、定量下限値と基準値の中央値付近の $0.05\mu\text{g/g}$ となるよう分析対象6物質を添加し、図4に示す方法で試験溶液を調製し、添加回収試験を行った。回収率81.9~108.9%($\text{CV}\%=2.1\sim 9.7$, $n=3$)と良好な結果が得られた(表3)。

また、各試料のECD-GCのガスクロマトグラムを見ると、分析に支障となるピークは現れなかった(図5, 図6)。

10 GC-MSによる定性試験

各試料に分析対象6物質を $0.1\mu\text{g/g}$ となるよう添加し、図4に示す方法で試験溶液を調製し、GC-MSで分析した。その結果、何れの試料においても、標準品とほぼ一致するマススペクトルが得られた。標準物質のGC-MSスペクトルを図9に示した。

11 まとめ

農産物に残留する除草剤であるアイオキシニルオクタノエート、クロメプロップ及びプロモキシニルオクタノエート並びにその変化生成物であるアイオキシニル、クロメプロップ酸及びプロモキシニルの同時分析法を検討した。農産物を酸性下アセトンと共に均質化し、アセトンを除去した後、n-ヘキサン・酢酸エチル混合液(2:4)で抽出した。アイオキシニルオクタノエート及びプロモキシニルオクタノエートは、アンモニア水で加水分解した後、クロメプロップ酸とともにトリメチルシリルジアゾメタンでメチル化した。このメチル化した3物質を、同時に抽出したクロメプロップと共にシリカゲルカラム、次いでフロリジルカラムで精製し、ECD-GCで分析した。

これらの分析対象6物質を $0.05\mu\text{g/g}$ の濃度で、11農産物に添加した試験で、回収率が概ね80%~110%($\text{CV}\%=2\sim 10$)であった。また、この試験の検出限界濃度は、 $0.01\mu\text{g/g}$ であった。

文 献

- [1] 今月の農薬編集室「改訂4版農薬登録保留基準ハンドブック」p.12-14, p.246-250, 化学工業日報社(1998)
- [2] 上路ら編「2002年度版残留農薬分析法」p.320-322, ソフトサイエンス社(2001)
- [3] 残留農薬分析研究班「最新農薬残留分析法」p.156-158, p.364-365, 中央法規出版(1995)