

※ 本報告書は、試験法開発における検討結果を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ください。

平成 20 年度

残留農薬等に関するポジティブリスト制度導入に係る分析法の開発・検証に関する試験

ピンドン試験法(農産物)の検討

ピンドン試験法(農産物)の検討結果

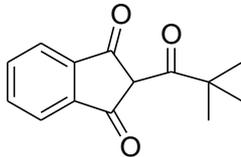
[緒言]

1. 目的

ピンドンは血液凝固抑制作用を示すインダンジオン系殺鼠剤であり、農産物及び畜水産物に 0.001 ppm の暫定基準値が設定されている。本研究では、農産物中のピンドン試験法を開発することを目的とした。

2. 分析対象化合物の物理化学的性質及び構造

ピンドン(pindone)



IUPAC 名: 2-pivaloylindan-1,3-dione

分子式: $C_{14}H_{14}O_3$

分子量: 230.3

外観: 黄色結晶

Log P_{ow} : 1.57²⁾

pK_a: 4.81 ± 0.20²⁾

蒸気圧: 3.76×10^{-6} Torr²⁾

融点: 108.5-110.5°C¹⁾

安定性: 非常に安定¹⁾

¹⁾ The e-Pesticide Manual 14th ed., ver.4

²⁾ SciFinder

3. 基準値(暫定)

0.001 ppm(すべての農産物)

[実験方法]

1. 試料

市販の玄米、大豆、ばれいしょ、ほうれんそう、キャベツ、りんご、オレンジ、トマト、きゅうり及び茶を用いた。

果実及び野菜の場合はフードカッターで細切均一化した。穀類、豆類及び茶の場合は、425 μm の標準網ふるいを通して均一化した。

2. 試薬・試液

有機溶媒及び試薬は、関東化学㈱または和光純薬工業㈱の残留農薬試験用試薬を用いた。

ピンドン標準品はDr. Ehrenstorfer GmbH社製(純度98.5%、融点109.8°C)の残留農薬試験用試薬を用いた。

標準原液(1000 mg/L)は、ピンドン10 mgを精秤し、アセトニトリル10 mLに溶解して調製した。検量線作成用及び添加回収試験用の標準溶液は、標準原液をメタノールで適宜希釈して調製した。

グラファイトカーボンミニカラム(500 mg)は、SUPELCO社製Supelclean ENVI-Carb(担体量500 mg)を用いた。シリカゲルミニカラムは、Waters社製 Sep-Pak Vac Silica(担体量1,000 mg)を用いた。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(500 mg)は、Varian社製 Bond Elut Jr-PSA(担体量500 mg)を用いた。

3. 装置及び測定条件

(1) LC-MS/MS

Waters 社製高速液体クロマトグラフ Alliance 2695 及び同社製質量分析計 Micromass Quattro Premier を使用した。

1) LC 条件

カラム: Inertsil ODS-4 (内径 2.1 mm, 長さ 150 mm, 粒子径 3 μm , GL Sciences 社製)

ガードカラム: Inertsil ODS-4 (内径 1.5 mm, 長さ 10 mm, 粒子径 3 μm , GL Sciences 社製)

カラム温度: 40°C

注入量: 5 μL

移動相

A 液: 10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B 液: 10 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液

移動相流速: 0.20 mL/min

グラジエント条件:

時間 (分)	A 液 (%)	B 液 (%)
0.0	80	20
15.0	5	95
25.0	5	95
25.1	0	100
35.0	0	100
35.1	80	20

Total run time: 47 min

保持時間: 14.1 分

2) MS 条件

イオン化モード: ESI(-)

測定モード: 選択反応モニタリング (SRM)

キャピラリー電圧: 0.5 kV

ソース温度: 120 °C

コーンガス: N₂, 50 L/hr

脱溶媒温度: 400 °C

脱溶媒ガス: N₂, 800 L/hr

コリジョンガス: Ar, $\pm 3.1 \times 10^{-3}$ mbar

測定イオン:

	<i>m/z</i>	コーン電圧 (V)	コリジョン エネルギー (eV)
定量イオン	-228.9→115.8	50	35
定性イオン	-228.9 →171.8	50	21

(2) フードカッター

Retsch 社製 Grindomix GM200 を使用した。

(3) 遠心粉砕機

Retsch 社製 ZM200 を使用した。

(4) ホモジナイザー

Kinematica 社製 Polytron PT 10-35 GT を使用した。

4. 試験溶液の調製

(1) 抽出

①穀類、豆類及び種実類の場合

試料 10.0 g を量り採り、添加回収試験において標準溶液を添加する場合は 10 µg/L 標準溶液 1 mL を添加して 30 分間放置した。これに、水 20 mL を加えてさらに 30 分間放置した。

アセトン 100 mL を加えてホモジナイズした後、ケイソウ土を約 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトン 50 mL を加えてホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に 200 mL とした。

抽出液 40 mL (試料 2.0 g 相当) を採り、40°C 以下で約 6 mL に濃縮した。これを 10% 塩化ナトリウム溶液 100 mL 及びヘキサン 100 mL で分液漏斗に移し、5 分間振とうした。有機層を採り、水層にヘキサン 50 mL を加え、5 分間振とうした。有機層を合わせ、適量の無水硫酸ナトリウムを加えて 15 分間放置後、無水硫酸ナトリウムをろ別し、40°C 以下で溶媒を除去した。

残留物にヘキサン 30 mL を加え、ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL で 3 回振とう抽出した。アセトニトリル層を合わせ、40°C 以下で溶媒を除去し、残留物を酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸 (20:180:1) 2 mL に溶解した。

②果実、野菜及び茶の場合

果実及び野菜の場合は、試料 20.0 g を量り採り、添加回収試験において標準溶液を添加する場合は 20 µg/L 標準溶液 1 mL を添加して 30 分間放置した。茶の場合は、試料 5.00 g を量り採り、添加回収試験において標準溶液を添加する場合は 10 µg/L 標準溶液 0.5 mL を添加して 30 分間放置した。これに、水 20 mL を加えてさらに 30 分間放置した。

アセトン 100 mL を加えてホモジナイズした後、ケイソウ土を約 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトン 50 mL を加えてホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に 200 mL とした。

抽出液 20 mL (茶の場合は 80 mL、試料 2.0 g 相当) を採り、40°C 以下で約 3 mL (茶の場合は約 12 mL) に濃縮した。これを 10% 塩化ナトリウム溶液 100 mL 及びヘキサン 100 mL で分液漏斗に移し、5 分間振とうした。有機層を採り、水層にヘキサン 50 mL を加え、5 分間振とうした。有機層を合わせ、適量の無水硫酸ナトリウムを加えて 15 分間放置した。無水硫酸ナトリウムをろ別後、40°C 以下で溶媒を除去し、残留物を酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸 (20:180:1) 2 mL に溶解した。

(2) 精製

①果実及び野菜の場合

グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) の下にシリカゲルミニカラム (1,000 mg) を連結したカラムを、酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸 (20:180:1) 10 mL で洗浄した。この連結カラムに、(1) で得られた溶液を負荷し、さらに酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸 (20:180:1) 18 mL を注入

した。全溶出液を40℃以下で濃縮して溶媒を除去し、残留物をメタノールに溶解して正確に1 mLとしたものを試験溶液 (2.0 g 試料/mL) とした。

②穀類、豆類、種実類及び茶の場合

グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) の下にシリカゲルミニカラム (1,000 mg) を連結したカラムを、酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸 (20:180:1) 10 mL で洗浄した。この連結カラムに、(1) で得られた溶液を負荷し、さらに酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸 (20:180:1) 18 mL を注入した。全溶出液を 40℃以下で濃縮して溶媒を除去し、残留物をアセトン/ヘキサン (1:1) 2 mL に溶解した。

この溶液を、予めアセトン/ヘキサン (1:1) 10 mL で洗浄したPSAミニカラム (500 mg) に負荷し、さらにアセトン/ヘキサン (1:1) 8 mL を注入して流出液は捨てた。次いで、アセトン/ヘキサン/ギ酸 (25:25:1) 20 mL を注入し、溶出液の溶媒を40℃以下で除去した。残留物をメタノールに溶解し、正確に1 mLとしたものを試験溶液 (2.0 g 試料/mL) とした。

5. 定量

標準溶液 0.25、0.50、1.0、1.5、2.0 及び 3.0 µg/L をメタノールで調製し、それぞれ 5 µL を LC-MS/MS に注入して、ピーク面積法で検量線を作成した。試験溶液 5 µL を LC-MS/MS に注入し、検量線から濃度を求めた。

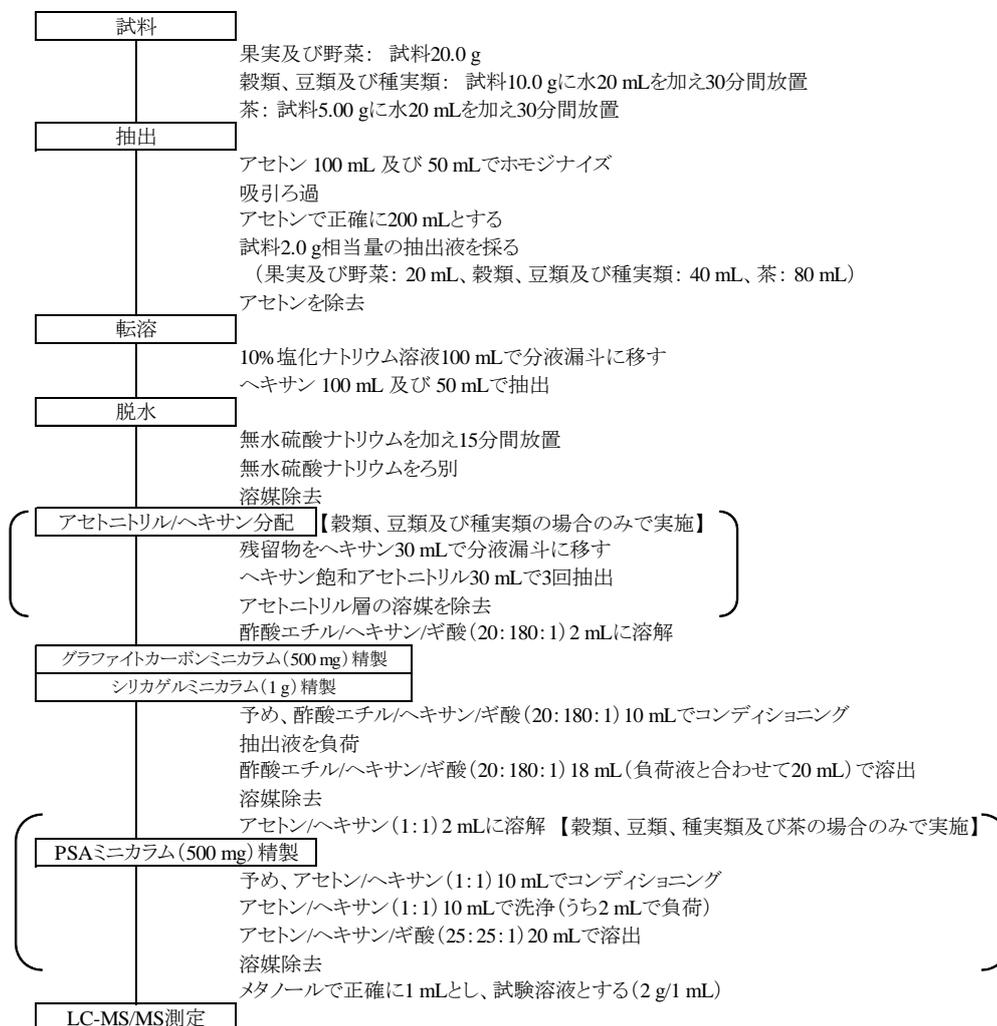
6. 試料マトリックスの測定への影響

ブランク試験溶液 100 µL をバイアルに採り、窒素を吹き付けて乾固した後、残留物を添加回収試験における回収率 100%相当濃度の標準溶液 100 µL に溶解してマトリックス標準溶液とした。マトリックス標準溶液と溶媒標準溶液をこの順番で交互に各 2 回測定し、溶媒標準溶液に対するマトリックス標準溶液のピーク面積比の平均値を求めて試料マトリックスの測定への影響を評価した。

7. 定量限界の評価

真度及び併行精度は、添加回収試験の結果を用いて評価した。また、添加回収試験で得られた回収率の中で最大値を与えたピーク (Max.) 及び最小値を与えたピーク (Min.) のそれぞれの S/N 比の平均値を求めた。

<スキーム>



[結果及び考察]

1. 測定条件の検討

(1) LC-MS/MS

1) MS 条件

移動相として、20 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液及びメタノール(1:1)混液または 20 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液及びアセトニトリル(1:1)混液を用いてフローインジェクションで MS 条件及び測定イオンの最適化を行った。メタノール系とアセトニトリル系とでは、生成イオンや感度に大きな違いは見られなかった。ESI(+)及び ESI(-)での測定を検討した結果、ESI(-)で高い S/N 比が得られた。コーン電圧について 20~60(V)の範囲で 10 V 刻みで検討した結果、プリカーサーイオンとして脱プロトン化分子[M-H]⁻ m/z 229 が観察され、50 V で強度が最大となった(図 1-1)。また、コリジョンエネルギーについて 7~49(eV)の範囲で 7 eV 刻みで検討した結果、プロダクトイオンとして m/z 116、144、172 等が観察され、強度の強い m/z 116(コリジョンエネルギー 35 eV)を定量イオン、m/z 172(コリジョンエネルギー 21 eV)を定性イオンとした(図 1-2)。キャピラリー電圧について、0.5、1、1.5、2、2.5、3 kV を検討した結果、0.5 kV でイオン強度が最大となった。よって、測定は ESI(-)で行い、キャピラリー電圧は 0.5 kV を用いることとした。

2) LC 条件

酢酸アンモニウム溶液及びアセトニトリル混液、または酢酸アンモニウム溶液及びメタノール混液を用いて、分析カラムの検討を行った。ピンドンは ODS カラムではテーリングしやすかった。ピンドンは酸性化合物であるため、酸性条件での測定も検討したがピーク形状は改善されなかった。ピンドンはβ-ジケトン構造を有するため、金属不純物との結合がテーリングの原因と予想された。そこで、種々の ODS カラムを検討したところ、残存シラノール基及び金属不純物が少ない Inertsil ODS-4(GL Sciences 社製)で良好な測定感度及びピーク形状が得られた。移動相条件を検討した結果、アセトニトリルよりもメタノールを用いて測定を行った方がピーク形状が良く、高いピーク強度が得られた。また、酢酸アンモニウムの濃度について 5、10、20 mmol/L を比較したところ、10 mmol/L でピーク強度が最大となった。

これらの結果から、分析カラムには Inertsil ODS-4、移動相には 10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液及び 10 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液混液を用いて測定を行うこととした。

なお、10 食品の添加回収試験においては、ピンドンのピーク形状に大きな変化は見られなかった。

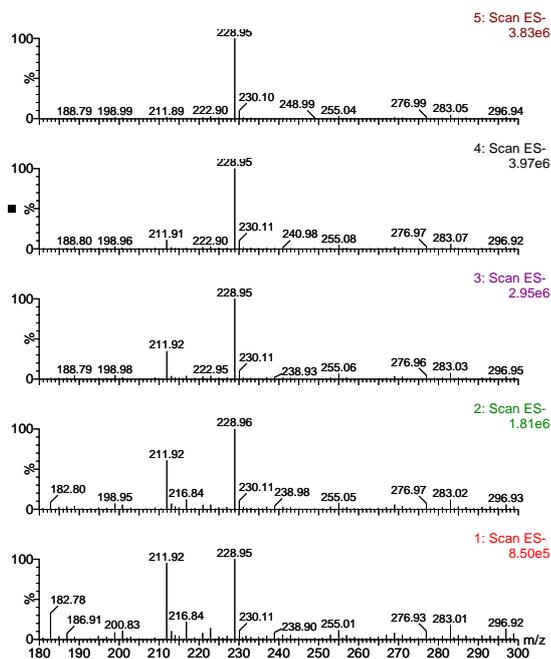


図 1-1 マススペクトル

コーン電圧 (V) : 下から 20、30、40、50、60

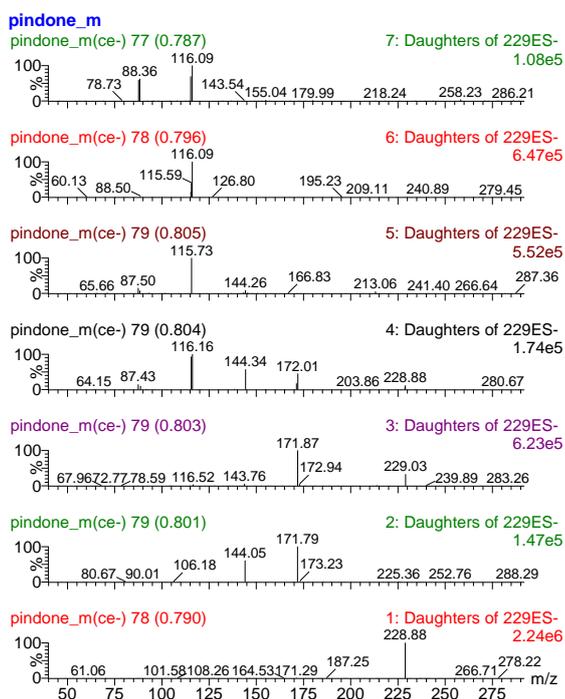


図 1-2 プロダクトイオンキャンスペクトル

プリカーサーイオン : m/z 229

コーン電圧 (V) : 50

コリジョンエネルギー (eV) : 下から 7、14、21、28、35、42、49

(2) 検量線

添加回収試験で定量に用いた濃度範囲である0.25～3.0 µg/L(図2)で、良好な直線性が認められた。また、濃度範囲を高濃度側に延長した0.5～20 µg/L(図3)の範囲においても良好な直線性が認められた。

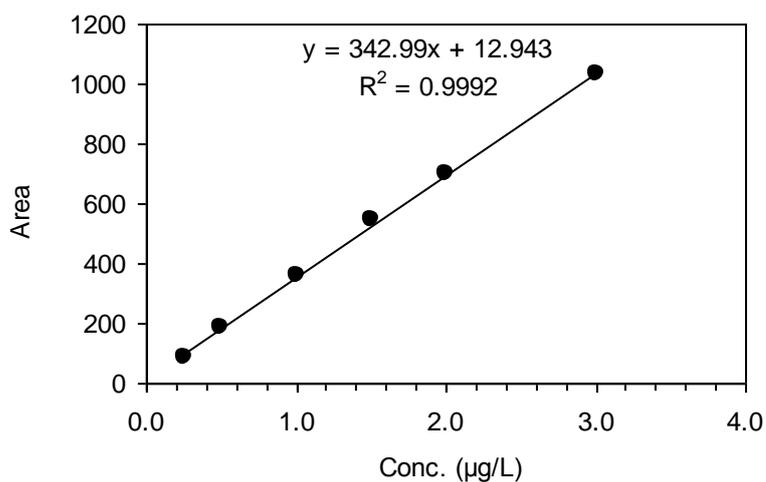


図2 ピンドンの検量線 (0.25～3.0 µg/L)

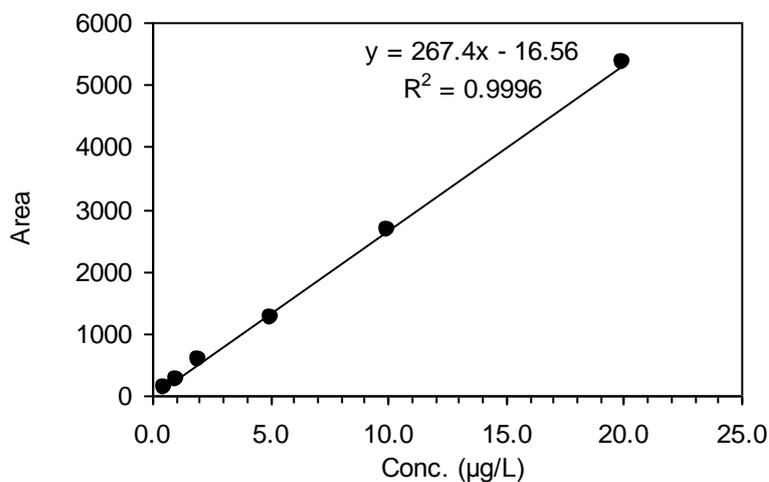


図3 ピンドンの検量線 (0.5～20 µg/L)

2. 試験溶液調製方法の検討

(1) 抽出溶媒

抽出溶媒としてアセトンを用いたところ、ピンドンは問題なく回収可能であった。

(2) 転溶溶媒

ヘキサン、酢酸エチル/ヘキサン(1:1)及び酢酸エチルを用いて、10%塩化ナトリウム溶液からの回収率を比較した(表1)。いずれの溶媒でも、良好な回収率が得られた。一般に、低極性溶媒での転溶の方が精製効果が高いことから、10%塩化ナトリウム溶液 100 mL からヘキサンで2回(100 mL、50 mL)抽出を行うこととした。

表1 10%塩化ナトリウム溶液 100 mL からのピンドン*の回収率(%)

転溶溶媒	1回目	2回目	合計
	100 mL	50 mL	
ヘキサン	105	2	107
酢酸エチル/ヘキサン(1:1)	98	1	99
酢酸エチル	101	1	102

* ピンドン 0.1 µg

(3) 精製方法

1) アセトニトリル/ヘキサン分配

穀類、豆類及び種実類の脱脂方法としてアセトニトリル/ヘキサン分配を検討した。ピンドン 0.1 µg をヘキサン 30 mL に溶解し、ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL で3回抽出を行ったところ、良好な回収率が得られた(表2)。よって、ヘキサン 30 mL から、ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL で3回抽出することとした。

表2 アセトニトリル/ヘキサン分配におけるピンドン*の回収率(%)

ヘキサン	ヘキサン飽和アセトニトリル			合計
	1回目	2回目	3回目	
30mL	30mL	30mL	30mL	
0	90	8	2	100

* ピンドン 0.1 µg

2) シリカゲルミニカラムによる精製

シリカゲルミニカラム(1,000 mg)での精製を検討した。ピンドンは酢酸エチル/ヘキサン(1:9)では溶出しなかったが、ギ酸を加えたところ良好な回収率が得られた(表3)。ギ酸の添加濃度について、酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸(20:180:1)及び(20:180:0.2)を検討した。その結果、いずれの溶媒でも良好な回収率が得られたが、酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸(20:180:0.2)では、酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸(20:180:1)と比較して溶出されにくかった。マトリックス存在下、酢酸エチル/ヘキサン(1:9)で洗浄後に酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸(20:180:1)で溶出したところ、洗浄画分に約5%溶出されたため、酢酸エチル/ヘキサン(1:9)での洗浄は行わず、酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸(20:180:1) 2 mL でカラムに負荷し、18 mL(負荷液と合わせて 20 mL)で溶

出することとした。シリカゲルミニカラム精製により、高極性の夾雑成分はカラムに保持され、ばれいしょ、キャベツ、りんご、オレンジ及びトマトでは、残留物のほとんど無い、無色の試験溶液が得られた。しかし、茶、ほうれんそう及びきゅうりでは緑色色素及び黄色色素の除去が不十分であったことから、色素の除去について検討した。

表3 シリカゲルミニカラム(1,000 mg)からのピンドン*の回収率(%)

溶出溶媒	0-5 mL	5-10 mL	10-15 mL	15-20 mL	20-25 mL	合計
酢酸エチル/ヘキサン (1:9)	0	0	0	0	0	0
酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸 (20:180:1)	81	16	1	0	0	98

* ピンドン 0.1 µg

3) 色素の除去

グラファイトカーボンミニカラム(500 mg)を用いて色素の除去方法を検討した。シリカゲルミニカラムからの溶出に用いた溶媒(酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸(20:180:1))で、グラファイトカーボンミニカラムからの溶出を検討したところ、ピンドンは 15 mL で良好な回収率が得られた(表4)。また、グラファイトカーボンミニカラム(500 mg)の下にシリカゲルミニカラム(1,000 mg)を連結したカラムからの溶出を検討したところ、酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸(20:180:1) 15 mL で良好な回収率が得られた(表5)。よって、色素を除去後に高極性の夾雑成分を除去するため、グラファイトカーボンミニカラムの下にシリカゲルミニカラムを連結したカラムから、酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸(20:180:1)で溶出することとした。溶出溶媒量は食品マトリックスによる溶出位置のずれを考慮して 20 mL とした。本溶出条件で、ほうれんそう及びきゅうりの緑色色素及び黄色色素の除去が可能であったが、茶では溶出液に黄色色素の溶出が見られた。

表4 グラファイトカーボンミニカラム(500 mg)からのピンドン*の回収率(%)

酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸 (20:180:1)					合計
0-5 mL	5-10 mL	10-15 mL	15-20 mL	20-25 mL	
76	19	1	0	0	96

* ピンドン 0.1 µg

表5 グラファイトカーボンミニカラム(500 mg)とシリカゲルミニカラム(1,000 mg)の連結カラムからのピンドン*の回収率(%)

溶出溶媒	0-5 mL	5-10 mL	10-15 mL	15-20 mL	20-25 mL	合計
酢酸エチル/ヘキサン/ギ酸 (20:180:1)	0	101	1	1	0	103

* ピンドン 0.1 µg

4) 玄米、大豆及び茶の追加精製

玄米、大豆及び茶では、グラファイトカーボンミニカラムとシリカゲルミニカラムの連結カラムによる精製のみでは夾雑成分の除去が不十分であり、溶媒除去後に残留物が認められた。この残留物はメタノール(最終試験溶液の溶解溶媒)への溶解が不十分であった。そこで PSA ミニカラム(500 mg)を用いた精製を検討した(表6)。Bond Elut Jr-PSA (Varian 社製)を用いたところ、ピンドンはアセトン/ヘキサン(1:1) 15 mL では溶出せず、アセトン/ヘキサン/ギ酸 (25:25:1) 5 mL で良好な回収率が得られた。ギ酸の添加濃度が1/2濃度のアセトン/ヘキサン/ギ酸(50:50:1)では、若干、溶出されにくくなり、10 mL で良好な回収率が得られた。Inertsep Slim-J PSA (500 mg, GL Sciences 社製)からの溶出についても検討したところ、Bond Elut Jr-PSA を用いた場合と同様にアセトン/ヘキサン/ギ酸(25:25:1) 5 mL で大部分が溶出されたものの、5-20 mL の画分にも溶出が見られた。これらの結果から、アセトン/ヘキサン(1:1) 10 mL で洗浄し、アセトン/ヘキサン/ギ酸 (25:25:1) 20 mL で溶出することとした。なお、添加回収試験においては Bond Elut Jr-PSA (500 mg, Varian 社製)を用いた。PSA ミニカラム精製を追加することにより、茶の黄色色素も除去され、玄米、大豆及び茶では残留物のほとんど無い無色の試験溶液が得られた。

表6 PSA ミニカラムからのピンドン*の回収率(%)

	アセトン/ヘキサン (1:1)		アセトン/ヘキサン/ギ酸 (25:25:1)				合計
	0-15 mL	0-5 mL	5-10 mL	10-15 mL	15-20 mL	20-25 mL	
①	0	92	0	0	0	0	92
②	0	87	3	1	1	0	92

①Bond Elut Jr-PSA (500 mg, Varian 社製)

②Inertsep Slim-J PSA (500 mg, GL Sciences 社製)

* ピンドン 0.1 µg

なお、残留物の状況から判断して、色素の少ない食品ではグラファイトカーボンミニカラム精製を省略できると推察された。すなわち、ばれいしょなど色素の少ない果実及び野菜では、シ

リカゲルミニカラムのみで、また、玄米及び大豆など脂肪を含む食品でも、色素が少ないものであれば、シリカゲルミニカラムと PSA ミニカラムで精製可能と思われる。しかし、多種多様な食品に適用できる方法とするために、果実及び野菜ではグラファイトカーボンミニカラムとシリカゲルミニカラムの連結カラムで精製し、穀類、豆類、種実類及び茶では連結カラムに加えて PSA ミニカラムで精製する方法を採用した。色素の少ない食品では、グラファイトカーボンミニカラムによる精製を省略しても良いことについては注意点に記載した。

3. 添加回収試験

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、トマト、きゅうり及び茶を用いて、添加濃度0.001 mg/kg、5併行の添加回収試験を行った。

(1) 選択性

検討した 10 食品では、ブランク試料に定量を妨害するピークはなかった(図 4 ①~⑩)。

(2) 真度及び精度

検討した 10 食品では、真度 81~93%、併行精度 2~7%が得られ、真度の目標値(70~120%)及び併行精度の目標値(30%未満)を満足する良好な結果が得られた(表 7)。

表 7 添加回収試験結果

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率(%)					真度 (平均)	RSD(%)
		1	2	3	4	5		
玄米	0.001	81	88	86	80	85	84	4
大豆	0.001	89	82	85	76	76	81	7
ばれいしょ	0.001	92	89	93	90	90	91	2
ほうれんそう	0.001	93	94	93	88	88	91	3
キャベツ	0.001	82	85	87	81	79	83	4
りんご	0.001	93	85	88	88	82	87	4
オレンジ	0.001	90	88	85	88	86	88	2
トマト	0.001	93	92	93	95	91	93	2
きゅうり	0.001	86	92	91	88	90	90	3
茶	0.001	85	76	82	83	79	81	5

(3) 定量限界

添加濃度 0.001 mg/kg で添加回収試験を行った結果、検討したすべての食品において真度及び併行精度の目標値を満足していた(表 7)。また、得られた回収率の中で最大値を与えたピーク(Max.)及び最小値を与えたピーク(Min.)のそれぞれの S/N 比の平均値も S/N \geq 10であった(表 8)。よって、定量限界を 0.001 mg/kg と設定した。

表 8 添加試料から得られたピークの S/N 比

試料	S/N比		
	Max.	Min.	平均
玄米	57	30	44
大豆	67	48	58
ばれいしょ	51	41	46
ほうれんそう	65	47	56
キャベツ	40	30	35
りんご	69	36	53
オレンジ	62	52	57
トマト	63	62	63
きゅうり	54	67	61
茶	58	41	50

(4) 試料マトリックスの測定への影響

溶媒標準溶液に対するマトリックス標準溶液のピーク面積比を表 9 に示した。また、各食品のブランク試料のトータルイオンクロマトグラムを図 5 に示した。検討した 10 食品のピーク面積比は、0.90～1.06 であり、ピンドンは試料マトリックスによる大きな影響を受けることなく測定可能であった。

表 9 試料マトリックスの測定への影響

試料	ピーク面積比 (マトリックス標準溶液 /溶媒標準溶液)
玄米	0.97
大豆	1.06
ばれいしょ	0.97
ほうれんそう	1.02
キャベツ	0.99
りんご	0.90
オレンジ	0.96
トマト	0.91
きゅうり	0.94
茶	1.00

4. その他（標準品について）

各試薬メーカーのピンドン標準品の純度及び融点を表 10 に示す。融点の情報がない標準品があったため、通知試験法本文では、ピンドン標準品の純度は 98%以上とし、融点は記載しないこととした。

表 10 各試薬メーカーのピンドン標準品の純度及び融点

試薬メーカー	純度(%)	融点(°C)
Dr. Ehrenstorfer GmbH	98.5	108 ~ 110
AccuStandard	100	-
Riedel-de Haën	98.3	107.8 ~ 109.8

[まとめ]

農産物中のピンドン試験法として、アセトンで抽出し、ヘキサンで転溶後(穀類、豆類及び種実類の場合はアセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂する)、グラファイトカーボンミニカラム及びシリカゲルミニカラムを連結したカラムで精製し(穀類、豆類、種実類及び茶の場合は PSA ミニカラムで追加精製する)、LC-MS/MS で定量及び確認する方法を開発した。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、トマト、きゅうり及び茶の 10 食品に適用した結果、真度 81~93%、併行精度 2~7%の良好な結果が得られた。また、定量限界として、0.001 mg/kg を設定可能であることが確認された。

[参考文献]

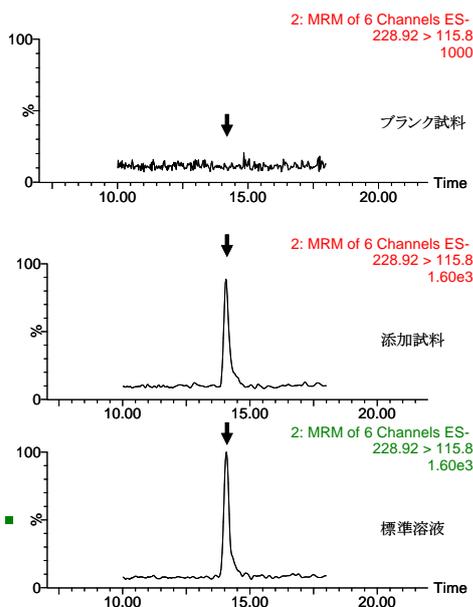
なし

図4 添加回収試験における代表的なクロマトグラム

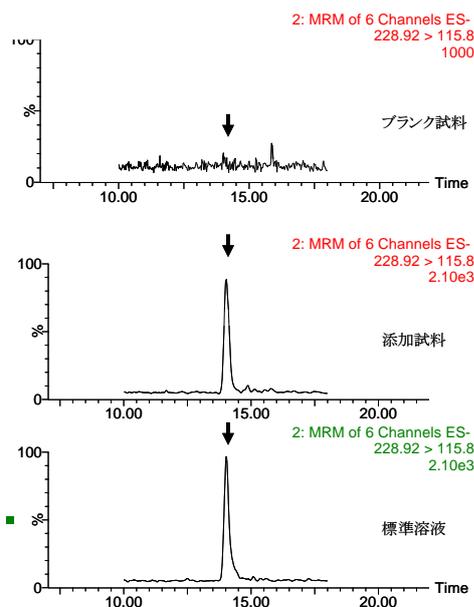
ピンドン (ESI(-), m/z 228.9→115.8)

添加濃度 0.001 mg/kg

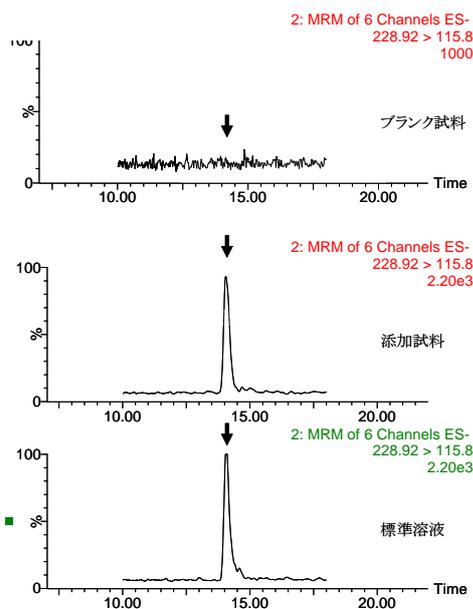
①玄米



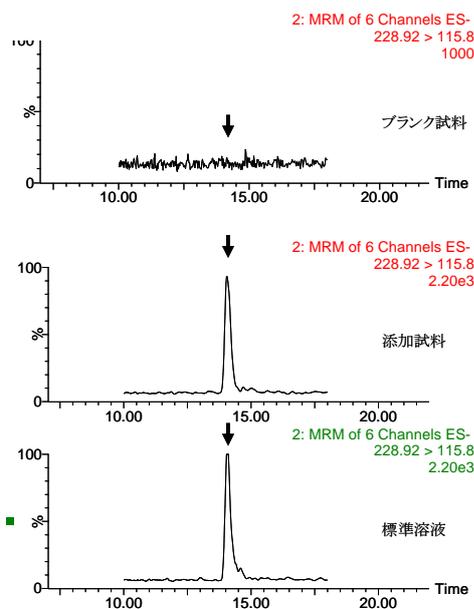
②大豆



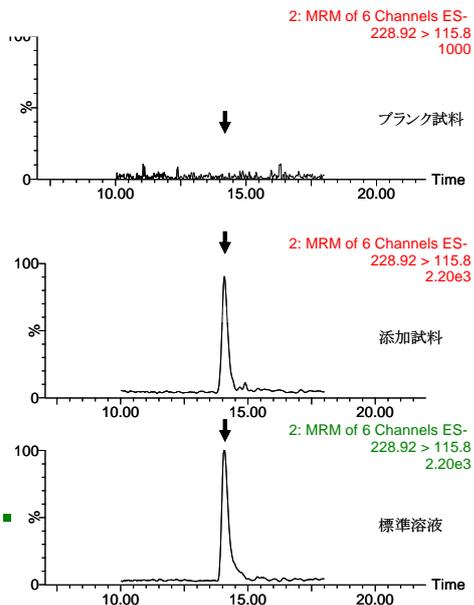
③ばれいしょ



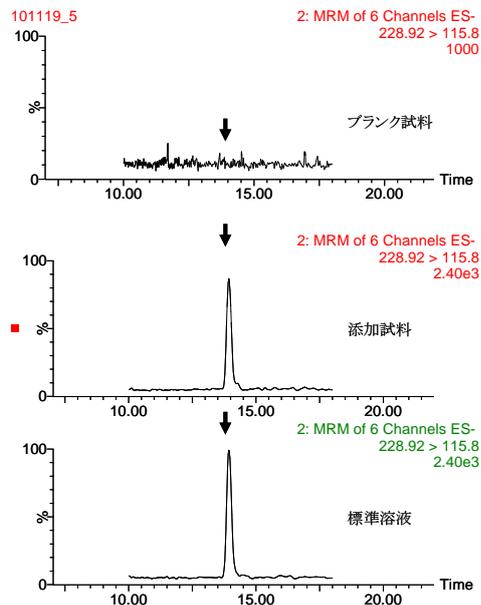
④ほうれんそう



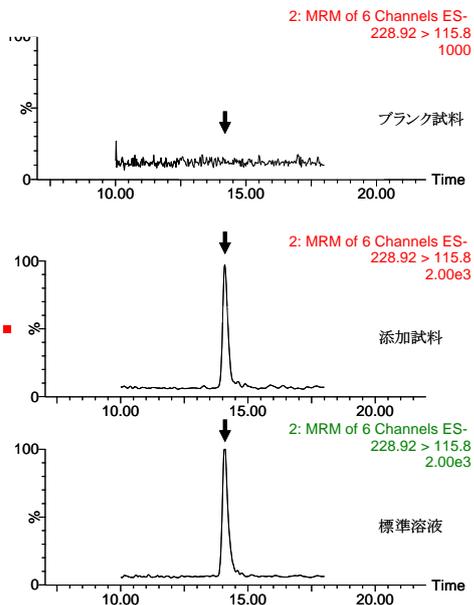
⑤キャベツ



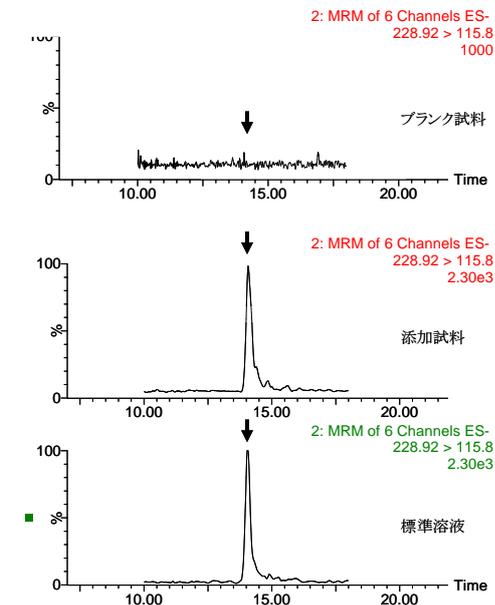
⑥りんご



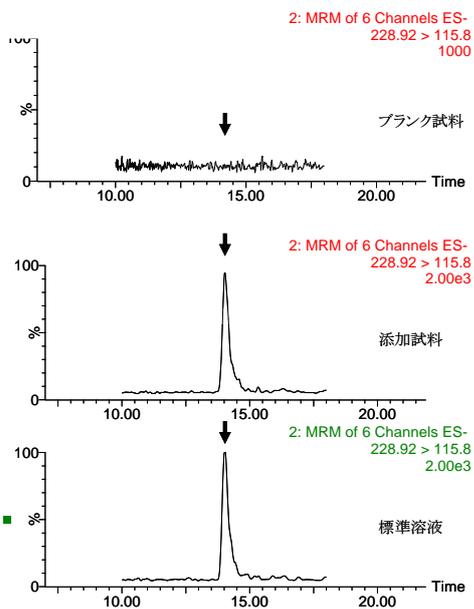
⑦オレンジ



⑧トマト



⑨きゅうり



⑩茶

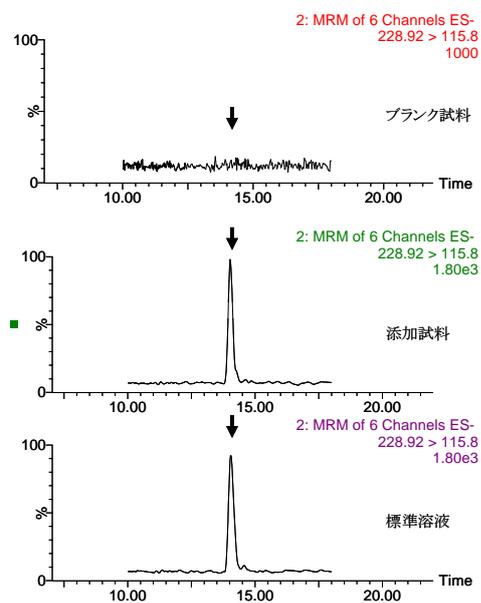


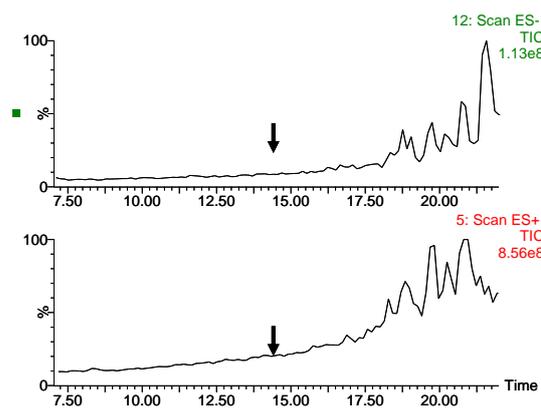
図5 各食品のブランク試料のトータルイオンクロマトグラム

スキャン範囲(m/z):50~1000

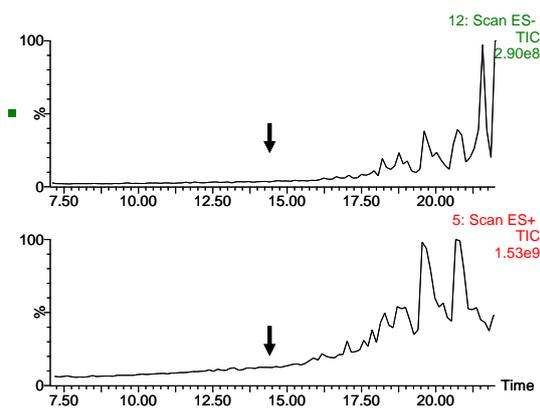
上: ESI(-)、コーン電圧 50 V

下: ESI(+)、コーン電圧 50 V

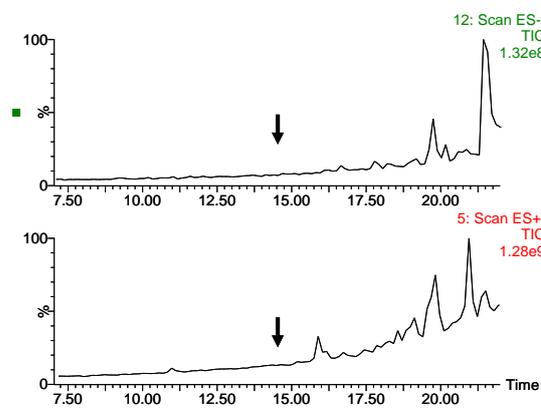
①玄米



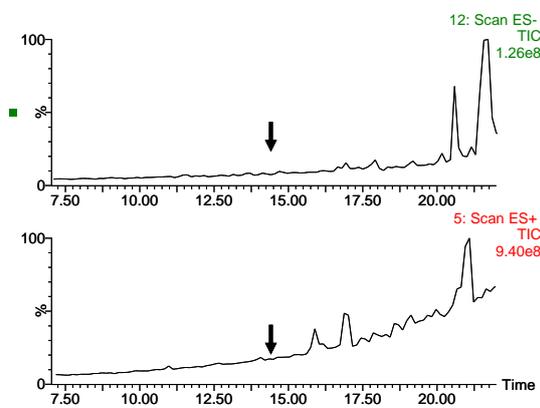
②大豆



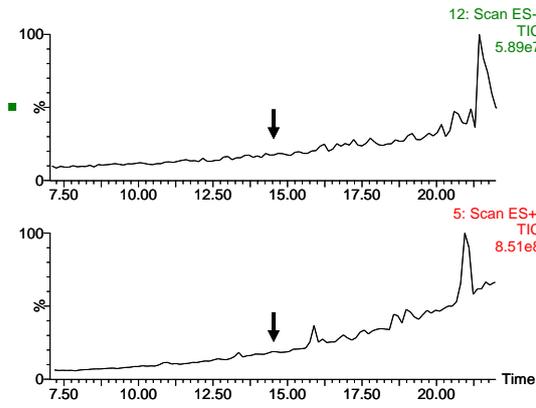
③ばれいしょ



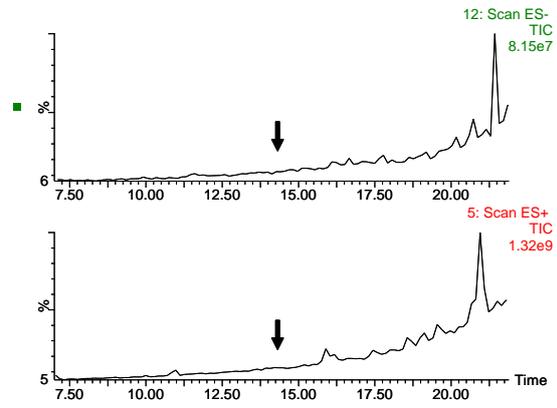
④ほうれんそう



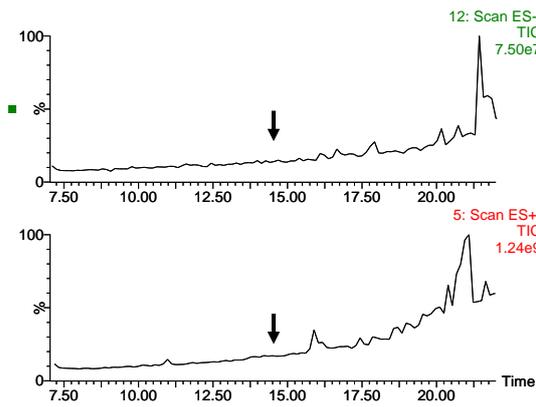
⑤キャベツ



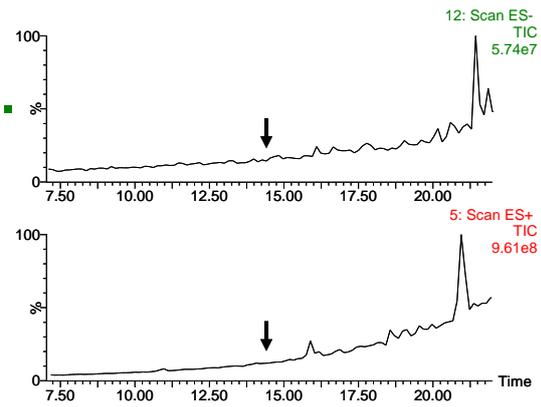
⑥りんご



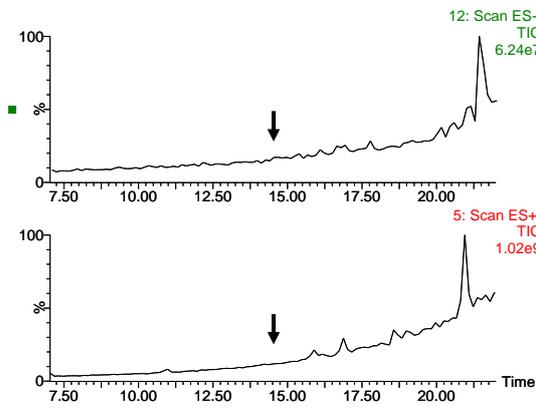
⑦オレンジ



⑧トマト



⑨きゅうり



⑩茶

