

LC-MS / MS による農産物中のピンドン分析法

誌名	食品衛生学雑誌
ISSN	00156426
著者名	齋藤, 静夏 根本, 了 松田, りえ子
発行元	[日本食品衛生学会]
巻/号	52巻4号
掲載ページ	p. 237-243
発行年月	2011年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



報 文

LC-MS/MS による農産物中のピンドン分析法

(平成 23 年 2 月 22 日受理)

齊藤 静夏* 根本 了 松田りえ子

Determination of Pindone in Agricultural Products by LC-MS/MS

Shizuka SAITO*, Satoru NEMOTO and Rieko MATSUDA

National Institute of Health Sciences: 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

A sensitive and selective analytical method for the determination of pindone in agricultural products by LC-MS/MS was developed. Pindone was extracted with acetone, and an aliquot of the crude extract was re-extracted with hexane. For lipid-rich samples, the crude extract was further cleaned up by acetonitrile-hexane partitioning. The extract was cleaned up on a tandem graphitized carbon-silica gel column. For brown rice, soybean, and tea, PSA column cleanup was added prior to LC-MS/MS determination. Average recoveries of pindone from brown rice, soybean, potato, spinach, cabbage, apple, orange, tomato, cucumber, and tea fortified at 0.001 mg/kg were 81-93%, and the relative standard deviations were 2-7%. The limit of quantitation ($S/N \geq 10$) of the developed method was 0.001 mg/kg for all the tested agricultural products.

(Received February 22, 2011)

Key words: ピンドン pindone; 殺鼠剤 rodenticide; インダンジオン indandione; 液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計 LC-MS/MS; 分析法 analytical method

緒 言

ピンドンはインダンジオン骨格を有する殺鼠剤である (Fig. 1). ワルファリンやプロディファコウムなどの 4-ヒドロキシマリン系殺鼠剤と同様, 血液凝固抑制作用を示す¹⁾. わが国では農産物および畜水産物に 0.001 ppm の暫定基準値が設定されているが, 公示試験法が未整備であり, 高感度な残留分析法が必要とされている.

これまでに血清^{2)~4)}や血漿⁵⁾, 肝臓⁶⁾中のピンドンの分析例は複数報告されている. しかしながら, 食品中の残留基準の判定に用いることができる高感度かつ選択性に優れた分析法はほとんど報告されていない. 最近, Jin らはイオンクロマトグラフィー-質量分析 (IC-MS) 法を用いた肝臓中のピンドン分析法を報告した⁷⁾. また, Marek らはピンドンを含めたインダンジオン系および 4-ヒドロキシマリン系殺鼠剤について, LC-MS/MS 法を用いた飼料, 牛肉および飲料中の分析法を報告した⁸⁾. いずれの方法も ppb レベルまで測定可能ではあるものの, 農産物では植物性色素やタンニンなどの夾雑成分が多いことから, そのまま適用できる分析法ではないと考えられた. 本研究では, LC-MS/MS を用いた農産物中のピンドンの高感度な残留分析法を開発し, 10 種類の農産物 (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,

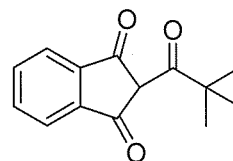


Fig. 1. Chemical structure of pindone

トマト, きゅうりおよび茶) への適用を検討したので報告する.

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, きゅうりおよび茶を用いた. 果実および野菜の場合はフードカッターで細切均一化した. 穀類, 豆類および茶の場合は, 425 μm の標準網ふるいを通して均一化した.

2. 試薬・試液

有機溶媒および試薬は, 関東化学(株)または和光純薬工業(株)の残留農薬試験用試薬を用いた. ケイソウ土は, 和光純薬工業(株)製のセライト 545 を用いた. 試験溶液の調製で用いた水は, 超高純度蒸留水精製装置で蒸留したものをを用いた. LC-MS/MS の移動相溶媒は, 関東化学(株)製の LC-MS 用蒸留水およびメタノールを用いた.

ピンドン標準品は Dr. Ehrenstorfer 社製 (純度 98.5%,

* 連絡先: shizsaito@nihs.go.jp

国立医薬品食品衛生研究所: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

融点 109.8°C) の残留農薬試験用試薬を用いた。標準原液 (1,000 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。検量線作成用およ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 (充てん量 500 mg) は、SUPELCO 社製 Supelclean ENVI-Carb (充てん量 500 mg) を用いた。シリカゲルミニカラムは、Waters 社製 Sep-Pak Vac Silica (充てん量 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 (PSA ミニカラム, 充てん量 500 mg) は、Varian 社製 Bond Elut Jr-PSA (充てん量 500 mg) およびジューエルサイエンス社製 Inertsep Slim-J PSA (充てん量 500 mg) を用いた。

3. 装置

フードカッターは Retsch 社製 Grindomix GM200, 遠心粉碎機は Retsch 社製 ZM 200, ホモジナイザーは Kinematica 社製 Polytron PT 10-35 GT を用いた。蒸留水精製装置は、藤原製作所(株)製の超高純度蒸留水精製装置 NZJ-2DSYW を用いた。LC-MS/MS は、Waters 社製高速液体クロマトグラフ Alliance 2695 および同社製質量分析計 Micromass Quattro Premier を使用した。

4. LC-MS/MS 測定条件

4.1 LC 条件

カラム: Inertsil ODS-4 (内径 2.1 mm, 長さ 150 mm, 粒子径 3 μ m, ジューエルサイエンス社製), ガードカラム: Inertsil ODS-4 (内径 1.5 mm, 長さ 10 mm, 粒子径 3 μ m, ジューエルサイエンス社製), カラム温度: 40°C, 注入量: 5 μ L, 移動相: 10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 (A 液) および 10 mmol/L 酢酸アンモニウム-メタノール溶液 (B 液), 移動相流速: 0.20 mL/min, グラジエント条件: 0 分 (A:B=80:20)→15 分 (A:B=5:95)→25 分 (A:B=5:95)→25.1 分 (A:B=0:100)→35 分 (A:B=0:100)→35.1 分 (A:B=80:20), 保持時間: 14.1 分

4.2 MS 条件

イオン化モード: エレクトロスプレーイオン化法ネガティブモード (ESI(-)), 測定モード: multiple reaction monitoring (MRM), キャピラリー電圧: 0.5 kV, ソース温度: 120°C, コーンガス: 50 L/h (N₂), 脱溶媒温度: 400°C, 脱溶媒ガス: 800 L/h (N₂), コリジョンガス: $\pm 3.1 \times 10^{-3}$ mbar (Ar), 測定イオン (*m/z*): 229→116 (定量イオン, コーン電圧 50 (V), コリジョンエネルギー 35 (eV)) および 229→172 (定性イオン, コーン電圧 50 (V), コリジョンエネルギー 21 (eV))

5. 試験溶液の調製

試験溶液調製方法の概略を Fig. 2 に示した。

5.1 抽出

5.1.1 穀類, 豆類および種実類の場合

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 μ g/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。残留物を採り, 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 およびヘキサン 100 mL で分液漏斗に移し, 5 分間振とうした。ヘキサン層を採り, 水層にヘキサン 50 mL を加え, 5 分間振とうした。ヘキサン層を合わせ, 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, 残留物をヘキサン-酢酸エチル-ギ酸 (180:20:1) 2 mL に溶解した。

5.1.2 果実, 野菜および茶の場合

果実および野菜の場合は, 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 μ g/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 μ g/L 標準溶液 0.5 mL を添加して 30 分間放置し, 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 およびヘキサン 100 mL で分液漏斗に移し, 5 分間振とうした。ヘキサン層を採り, 水層にヘキサン 50 mL を加え, 5 分間振とうした。ヘキサン層を合わせ, 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, 残留物をヘキサン-酢酸エチル-ギ酸 (180:20:1) 2 mL に溶解した。

5.2 精製

5.2.1 果実および野菜の場合

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, ヘキサン-酢酸エチル-ギ酸 (180:20:1) 10 mL で洗浄した。この連結カラムに, 5.1 で得られた溶液を負荷し, さらにヘキサン-酢酸エチル-ギ酸 (180:20:1) 18 mL を注入した。負荷液を含む全溶出液の溶媒を 40°C 以下で除去し, 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。

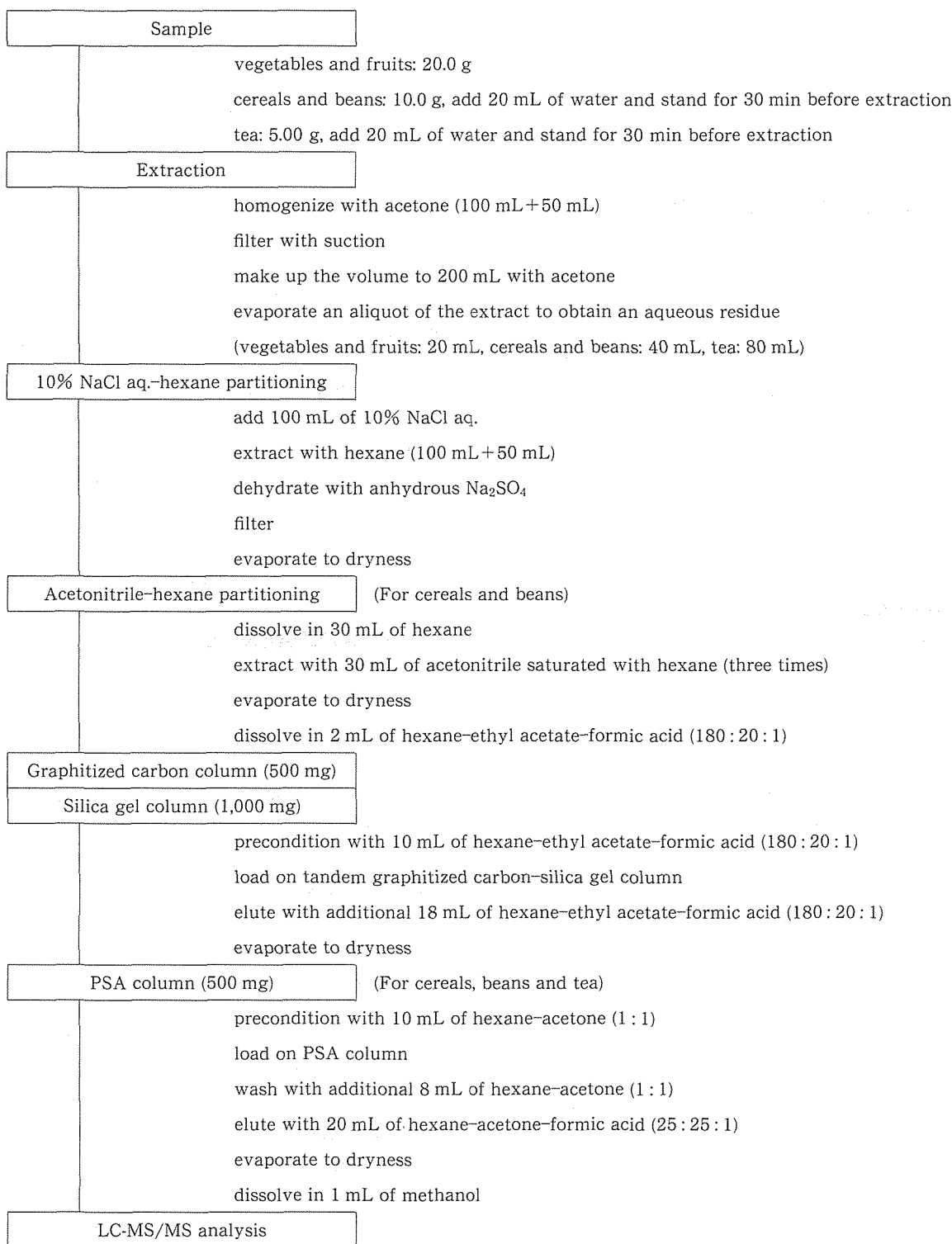


Fig. 2. Schematic representation of the analytical procedure

5.2.2 穀類, 豆類, 種実類および茶の場合

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, ヘキサン-酢酸エチル-ギ酸 (180:20:1) 10 mL で洗浄した. この連結カラムに, 5.1 で得られた溶液を負荷し, さらにヘキサン-酢酸エチル-ギ酸 (180:20:1) 18 mL を注入した. 負荷液を含む全溶出液の溶媒を 40°C 以下で除去し, 残留物をヘキサン-アセトン (1:1) 2 mL に溶解した.

この溶液を, あらかじめヘキサン-アセトン (1:1) 10 mL で洗浄した PSA ミニカラム (Bond Elut Jr-PSA, 500 mg) に負荷し, さらにヘキサン-アセトン (1:1) 8 mL を注入して流出液は捨てた. 次いで, ヘキサン-アセトン-ギ酸 (25:25:1) 20 mL を注入し, 溶出液の溶媒を 40°C 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.

6. 定 量

標準溶液 0.25, 0.50, 1.0, 1.5, 2.0 および 3.0 $\mu\text{g/L}$ 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、検量線から絶対検量線法により濃度を求めた。

7. 試料マトリックスの測定への影響

ブランク試験溶液（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、きゅうりおよび茶の各ブランク試料を用いて分析法に従って調製した試験溶液）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、溶媒標準溶液のピーク面積の平均値に対するマトリックス標準溶液のピーク面積の平均値の比を求めて試料マトリックスの測定への影響を評価した。

実験結果および考察

1. 測定条件の検討

1.1 LC-MS/MS

1.1.1 MS 条件

ピンドンは GC-MS による測定では十分な感度が得られず、基準値レベルでの測定はできなかった。高感度な分析法を開発するため、LC-MS/MS を用いた測定を検討した。移動相として、20 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-メタノール (1:1) または 20 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-アセトニトリル (1:1) を用いて、フローインジェクションで MS 条件およ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の移動相では、生成イオンや感度に大きな違いは見られなかった。ESI (+) および 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 $[\text{M}-\text{H}]^-$ m/z 229 が観察され、50 V で強度が最大となった。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 などが観察され、強度の大きい 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。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。

1.1.2. LC 条件

酢酸アンモニウム溶液-アセトニトリル、または酢酸アンモニウム溶液-メタノールを用いて、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く、酸性条件でも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推測された。そこで、種々の ODS カラムを検討したところ、残存シラノール基および金属不純物が少ない Inertsil ODS-4 (ジューエルサイエンス社製) で良好なピーク形状が得られ、測定感度が向上した。このカラムを用いて、さらに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含む移動相のほうが保持時間は長くなったが、ピーク形状が改善し、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および 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。

1.2 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 $\mu\text{g/L}$ で、検量線を作成したところ、良好な直線性 ($r=0.999$) が得られた。また、濃度範囲を高濃度側に延長した 0.5~20 $\mu\text{g/L}$ の範囲においても、検量線は良好な直線性 ($r=0.999$) が認められた。

2. 試験溶液調製方法の検討

2.1 抽出溶媒

残留農薬の通知試験法では、抽出溶媒として幅広い極性の化合物を抽出することが可能なアセトンが汎用されている。ピンドンは水に難溶であるが、ほとんどの有機溶媒に易溶であることから、アセトンを用いて抽出したところ、問題なく回収可能であった。よって本分析法では、抽出溶媒としてアセトンを用いることとした。

2.2 転溶溶媒

ヘキサン、ヘキサン-酢酸エチル (1:1) およ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 (Table 1)。いずれの溶媒でも、良好な回収率が得られたが、一般に、低極性溶媒を用いた転溶のほう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。

2.3 精製方法

2.3.1 アセトニトリル-ヘキサン分配

穀類、豆類およ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

Table 1. Recovery of pindone from 100 mL of 10% sodium chloride aqueous solution

Extraction solvent	Recovery		
	1st 100 mL	2nd 50 mL	Total
Hexane	105	2	107
Hexane-ethyl acetate (1:1)	98	1	99
Ethyl acetate	101	1	102

Table 2. Recovery of pindone from silica gel and graphitized carbon columns

Column	Recovery (%)					Total
	Hexane-ethyl acetate-formic acid (180:20:1)					
	0-5 mL	5-10 mL	10-15 mL	15-20 mL	20-25 mL	
Silica gel	81	16	1	0	0	98
Graphitized carbon	76	19	1	0	0	96
Graphitized carbon-silica gel	0	101	1	1	0	103

Table 3. Recovery of pindone from PSA columns

Column	Recovery (%)						Total
	Hexane-acetone (1:1) 0-15 mL	Hexane-acetone-formic acid (25:25:1)					
		0-5 mL	5-10 mL	10-15 mL	15-20 mL	20-25 mL	
A *1	0	92	0	0	0	0	92
B *2	0	87	3	1	1	0	92

*1 Bond Elut Jr-PSA (500 mg, Varian)

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

3回抽出を行った時の回収率は、1回目が90%、2回目が8%、3回目が2%であり、3回抽出でほぼ100%の良好な回収率が得られた。よって、ヘキササン30 mLから、ヘキサ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。

2.3.2 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。ピンドンはヘキササン-酢酸エチル (9:1) では溶出しなかったが、ヘキササン-酢酸エチル-ギ酸 (180:20:1) 15 mL でほぼ100%溶出した (Table 2)。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、オレンジおよびトマトでは、残留物のほとんどない無色の試験溶液が得られた。しかしながら、茶、ほうれんそうおよびきゅうりでは緑色色素およ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することとした。

2.3.3 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 (ヘキササン-酢酸エチル-ギ酸 (180:20:1)) 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 でほぼ100%溶出した (Table 2)。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 (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、ヘキササン-酢酸エチル-ギ酸 (180:20:1) 15 mL で良好な回収率が得られた。食品マトリックスによって若干の溶出位置のずれはあるものの、20 mL 以降の画分には溶出されなかったことから、溶出溶媒量を20 mLとした。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で、ほうれんそうおよびきゅうりの緑色色素および黄色色素の除去が可能であったが、茶では黄色色素の溶出が見られた。

2.3.4 玄米、大豆および茶の追加精製

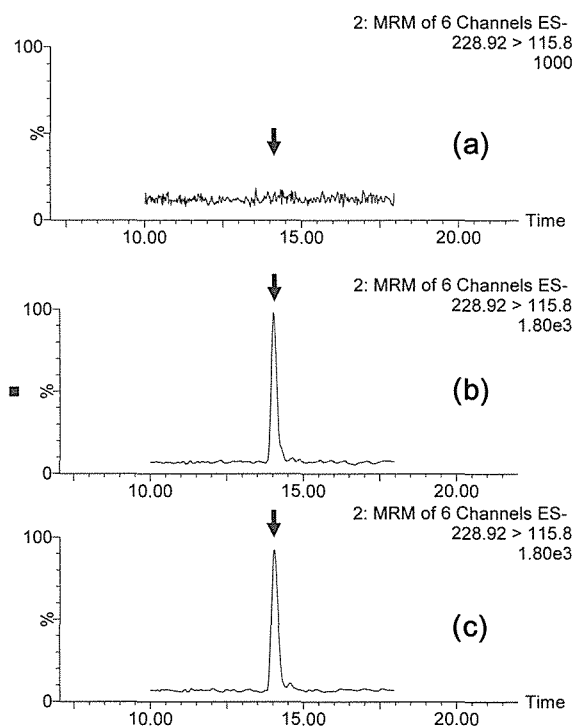
玄米、大豆および茶では、グラファイトカーボンミニカラムとシリカゲルミニカラムの連結カラムによる精製のみでは夾雑成分の除去が不十分であり、溶媒除去後に残留物が認められた。この残留物はメタノール (最終試験溶液の溶解溶媒) への溶解が不十分であった。そこで PSA ミニカラム (500 mg) を用いた精製を検討した (Table 3)。Bond Elut Jr-PSA (Varian 社製) を用いたところ、ピンドンはヘキササン-アセトン (1:1) 15 mL では溶出せず、ヘキササン-アセトン-ギ酸 (25:25:1) 5 mL でほぼ100%溶出した。Inertsep Slim-J PSA (500 mg, ジーエルサイエンス社製) 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ヘキササン-アセトン-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、ヘキササン-アセトン (1:1) 10 mL で洗浄し、ヘキササン-アセトン-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、大豆および茶では無色で濃縮残留物のほとんどない試験溶液が得られた。

なお、未検討ではあるが、残留物の状況から判断して、色素の少ない農産物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および野菜ではシリカゲルミニカラム精製のみで、また、玄米および大豆など脂肪を含む農産物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 ミニカラムによる精製のみで、LC-MS/MS で測定可能な試験溶液が得られると推測される。しかし、多種多様な農産物に適用できる方法とするため、果実およ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、種実類およ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

Table 4. Recoveries of pindone from agricultural products

Sample	Recovery* (% mean)	RSD (%)
Brown rice	84	4
Soybean	81	7
Potato	91	2
Spinach	91	3
Cabbage	83	4
Apple	87	4
Orange	88	2
Tomato	93	2
Cucumber	90	3
Tea	81	5

* Spiked level: 0.001 mg/kg, n=5

**Fig. 3.** Chromatograms of (a) extract of tea, (b) extract of tea spiked with 0.001 mg/kg of pindone, (c) standard solution of pindone (2 µg/L)

採用した。

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, きゅうりおよび茶を用いて, 添加濃度として基準値と同じ 0.001 mg/kg における, 5 併行の添加回収試験を行った。その結果, 検討した 10 種類の農産物では, 真度 81~93%, 併行精度 2~7% の良好な結果が得られた (Table 4)。定量イオン, 定性イオンともに, いずれの農産物でもブランク試料に定量を妨害するピークはなかった (Fig. 3)。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 Table 5 に示した。検討した 10 種類の農産物のピーク面積比は, 90~106% 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。また, 10 種類の農産

Table 5. Matrix effect of pindone in agricultural products

Sample	Matrix effect* (% mean, n=2)
Brown rice	97
Soybean	106
Potato	97
Spinach	102
Cabbage	99
Apple	90
Orange	96
Tomato	91
Cucumber	94
Tea	100

* Matrix effect expressed as the ratio of the mean peak area of matrix standard to the mean peak area of standard in solvent multiplied by 100. A value of >100% indicates ionization enhancement, and value of <100% indicates ionization suppression.

物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。本法を用いた試料中のピンドンの定量限界 ($S/N \geq 10$) として, 検討したいずれの農産物においても 0.001 mg/kg を設定可能であった。

まとめ

農産物中のピンドン分析法として, アセトンで抽出し, ヘキサンで転溶後 (穀類, 豆類およ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およ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, 種実類および茶の場合は PSA ミニカラムで追加精製する), LC-MS/MS で定量およ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, きゅうりおよび茶の 10 種類の農産物に適用した結果, 真度 81~93%, 併行精度 2~7% の良好な結果が得られた。

本研究は「平成 20 年度厚生労働省医薬食品局食品安全部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開発事業」により実施した。

参考文献

- 1) Valchev, I., Binev, R., Yordanova, V., Nikolov, Y. Anticoagulant rodenticide intoxication in animals—A review. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, **32**, 237-243 (2008).
- 2) Jin, M. C., Cai, M. Q., Chen, X. H. Simultaneous measurement of indandione-type rodenticides in human serum by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *J. Anal. Toxicol.*, **33**, 294-300 (2009).
- 3) Palazoglu, M. G., Tor, E. R., Holstege, D. M., Galey, F. D. Multiresidue analysis of nine anticoagulant rodenticides in serum. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 4260-4266 (1998).
- 4) Chen, X. H., Cai, M. Q., OuYang, X. K., Jin, M. C. Ion chromatography tandem mass spectrometry for simul-

- taneous confirmation and determination of indandione rodenticides in serum. *Biomed. Chromatogr.*, **23**, 1217–1226 (2009).
- 5) Chen, X. H., Cai, M. Q., Jin, M. C. Analysis and confirmation of rodenticide pindone in human plasma by IC-ESI-IT-MS. *Chromatographia*, **70**, 1201–1206 (2009).
 - 6) Vudathala, D., Cummings, M., Murphy, L. Analysis of multiple anticoagulant rodenticides in animal blood and liver tissue using principles of QuEChERS method. *J. Anal. Toxicol.*, **34**, 273–279 (2010).
 - 7) Jin, M. C., Chen, X. H., Ye, M. L., Zhu, Y. Analysis of indandione anticoagulant rodenticides in animal liver by eluent generator reagent free ion chromatography coupled with electrospray mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, **1213**, 77–82 (2008).
 - 8) Marek, L. J., Koskinen, W. C. Multiresidue analysis of seven anticoagulant rodenticides by high-performance liquid chromatography/electrospray/mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 571–576 (2007).

LC-MS/MSによる農産物中のピンドン分析法(報文)

齊藤静夏* 根本 了 松田りえ子

食衛誌 52(4), 237~243 (2011)

農産物中のピンドン分析法として、アセトンで抽出し、ヘキサンで転溶後(穀類、豆類およ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およ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、種実類および茶の場合はPSAミニカラムで追加精製する)、LC-MS/MSで定量および確認する方法を開発した。開発した方法を、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、トマト、きゅうりおよび茶の10種類の農産物に適用した結果、真度81~93%、併行精度2~7%の良好な結果が得られた。本法を用いた試料中のピンドンの定量限界($S/N \geq 10$)は、いずれの農産物でも0.001 mg/kgであった。

* 国立医薬品食品衛生研究所