

※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 18 年度

食品・添加物等規格基準に関する試験検査等について

残留農薬個別試験法開発研究

ドジン試験法（農産物）

ドジン試験法(農産物)の検討結果

【緒言】

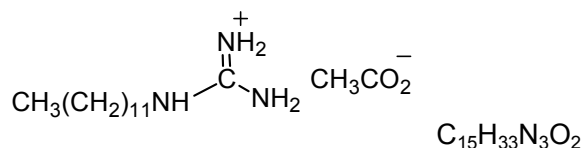
1. 目的

ドジン(1-dodecylguanidinium acetate)は、Doguadine、Cyprex等の名称で欧米において、なし、りんご、もも等果実類の黒星病、実腐病及び縮葉病の防除に使用される殺菌剤である。ドジンの分析法として比色法¹⁾及びGC法^{2),3)}が報告されているが、分析操作が煩雑なうえポジティブリスト制度における一律基準(0.01ppm)レベルの分析に対し、十分な検出感度が確保されていない。そこで、ドジンをLC-MSまたはLC-MS/MSを用いて、誘導体化せずに直接分析する高感度な方法を検討した。

2. 分析対象化合物の構造式及び物理化学的性質

分析対象化合物:ドジン(1-dodecylguanidinium acetate)

構造式



分子量: 287.4

化学名: IUPAC名: 1-dodecylguanidinium acetate、CAS番号: 122-39-4

外観: 白色結晶^{a)}

融点: 136°C^{a)}

蒸気圧: $<1 \times 10^{-2}$ mPa (20°C)^{a)}

溶解性: 水; 630 mg/L (25°C)^{a)}

ブタン 1,4-ジオール、1-ブタノール、シクロヘキサノール、1-プロパノール:

>250 g/L^{a)}

安定性: 常温で安定^{b)}

反応性: なし^{b)}

【出典】

a) Tomlin, C.D.S. ed. The pesticide manual, 12th ed. Farnham, UK, British Crop Protection Council, 2000, p.187-188.

b) 厚生労働省医薬食品局長通知 薬食発第 0815001 号「毒物及び劇物指定令等の一部改正について」、平成 19 年 8 月 15 日 別添 5

<http://www.nihs.go.jp/mhlw/chemical/doku/tuuti/H190815/0815001betten5.pdf>

3. 基準値

食品名	基準値(ppm)
さといも類(やつがしらを含む)	0.2
かんしょ	0.2
やまいも(長いもをいう)	0.2
こんにやくいも	0.2
その他のいも類	0.2
てんさい	0.2
だいこん類(ラディッシュを含む)の根	0.2
だいこん類(ラディッシュを含む)の葉	0.2
かぶ類の根	0.2
かぶ類の葉	0.2
西洋わさび	0.2
クレソン	0.2
はくさい	0.2
キャベツ	0.2
芽キャベツ	0.2
ケール	0.2
こまつな	0.2
きょうな	0.2
チンゲンサイ	0.2
カリフラワー	0.2
その他のあぶらな科野菜	0.2
ごぼう	0.2
サルシフィー	0.2
アーティチョーク	0.2
チコリ	0.2
エンダイブ	0.2
しゅんぎく	0.2
レタス(サラダ菜及びちしやを含む)	0.2
その他のきく科野菜	1
たまねぎ	0.2
ねぎ(リーキを含む)	0.2
にんにく	0.2
にら	0.2
アスパラガス	0.2

わけぎ	0.2
その他のゆり科野菜	0.2
にんじん	0.2
パースニップ	0.2
セロリ	0.2
みつば	0.2
その他のせり科野菜	0.2
トマト	0.2
ピーマン	0.2
なす	0.2
その他のなす科野菜	0.2
きゅうり(ガーキンを含む)	0.2
すいか	0.2
メロン類果実	0.2
ほうれんそう	0.2
しょうが	0.2
未成熟いんげん	0.2
えだまめ	0.2
マッシュルーム	0.2
しいたけ	0.2
その他のきのこ類	0.2
その他の野菜	0.2
みかん	0.2
なつみかんの果実全体	0.2
レモン	0.2
オレンジ(ネーブルオレンジを含む)	0.2
グレープフルーツ	0.2
ライム	0.2
その他のかんきつ類果実	0.2
りんご	5
日本なし	5
西洋なし	5
マルメロ	5
びわ	5
もも	5
ネクタリン	5
あんず(アプリコットを含む)	3
すもも(プルーンを含む)	3

うめ	3
おうとう(チェリーを含む)	3
いちご	3
ラズベリー	0.2
ブラックベリー	0.2
ブルーベリー	0.2
クランベリー	0.2
ハックルベリー	0.2
その他のベリー類果実	0.2
ぶどう	0.2
かき	0.2
バナナ	0.2
キウイ	0.2
アボカド	0.2
パイナップル	0.2
グアバ	0.2
マンゴー	0.2
パッションフルーツ	0.2
その他の果実	1
ぎんなん	0.2
くり	0.2
ペカン	0.3
アーモンド	0.2
くるみ	0.3
その他のナッツ類	0.2
その他のスパイス	1
その他のハーブ	1

【実験方法】

1. 試料

玄米、大豆、ほうれんそう、キャベツ、さといも、オレンジ、りんご、くるみ及び茶は札幌市内の小売店で購入した。

(1)玄米及び大豆

試料を Retsch 社製 ZM1 型超遠心粉碎機を用いて 425 μ m の標準網ふるいを通るように粉碎し、均一化した。

(2)ほうれんそう

試料のひげ根及び変質葉を除去し、細切した後、松下電器産業(株)[現 パナソニック(株)]製スピードカッターMK-K77を用いて細切均一化した。

(3)キャベツ

試料の外側変質葉及びしんを除去し、細切した後、松下電器産業(株)[現 パナソニック(株)]製スピードカッターMK-K77 を用いて細切均一化した。

(4)さといも

試料の泥を軽く洗い流し、細切した後、松下電器産業(株)[現 パナソニック(株)]製スピードカッターMK-K77 を用いて細切均一化した。

(5)オレンジ

試料を細切した後、松下電器産業(株)[現 パナソニック(株)]製スピードカッターMK-K77 を用いて細切均一化した。

(6)りんご

試料の花おち、しん及び果梗の基部を除去し、細切した後、松下電器産業(株)[現 パナソニック(株)]製スピードカッターMK-K77 を用いて細切均一化した。

(7)くるみ

試料の外果皮を除去した後、松下電器産業(株)[現 パナソニック(株)]製スピードカッターMK-K77 を用いて1~3mm のふるいを通るように粉碎し、よく均一化した。

(8)茶

試料を Retsch 社製 ZM1 型超遠心粉碎機を用いて425 μ m の標準網ふるいを通るように粉碎し均一化した。

2. 試薬・試液

ドジン標準品:純度 98.5%、融点 136°C [Dr.Ehrenstorfer GmbH 社製]

アセトニトリル、アセトン、酢酸エチル、*n*-ヘキサン:残留農薬試験用 [関東化学(株)及び和光純薬工業(株)製]

メタノール:LC/MS 用 [関東化学(株)及び和光純薬工業(株)製]

蒸留水:LC/MS 用 [関東化学(株)及び和光純薬工業(株)製]

ケイソウ土:セライト No.545 [和光純薬工業(株)製]をあらかじめ蒸留水及びアセトンで洗浄後使用した。

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:BOND ELUT-PSA(500mg, 3 mL:Agilent 社製)を、あらかじめアセトン及び *n*-ヘキサン(4:1)混液 10 mL でコンディショニングした後、用いた。

グラファイトカーボンミニカラム:Supelclean ENVI-Carb(500 mg, 6 mL:SUPELCO 社製)を、あらかじめギ酸、トルエン及びメタノール(1:25:75)混液 10 mL でコンディショニングした後、用いた。

無水硫酸ナトリウム:残留農薬試験用 [関東化学(株)製]

塩化ナトリウム、塩酸、ギ酸、酢酸アンモニウム:特級 [関東化学(株)及び和光純薬工業(株)製]

桐山ローろ紙:No.707×60 mm [日本理化学器械(株)製]。

ろ紙:150 mm、No.5A [アドバンテック(株)製]

標準原液:ドジン標準品 10.0 mg を精秤し、メタノールに溶解して 1,000 mg/L 溶液を調製した。

添加用標準溶液:標準原液をメタノールで希釈して 0.1、4 及び 100 mg/L 溶液を調製した。

検量線用標準溶液:添加用標準溶液をメタノールで適宜希釈し、回収率 25、50、75、100、125 及び 150% 相当濃度の標準溶液を調製した[玄米及び大豆(基準値 0.01 ppm)は、0.00125~0.0075 mg/L、ほうれんそう、キャベツ、さといも及びオレンジ(基準値 0.2 ppm)は、0.025~0.15 mg/L、くるみ(基準値 0.3 ppm)は

0.0375~0.225 mg/L、茶(基準値 0.01 ppm)は、0.00025~0.0015 mg/L、りんご(添加濃度 5 ppm)は 25 倍希釈し、回収率 100%が 0.2 ppm 相当となるように試験溶液を希釈した後、測定したので 0.025~0.15 mg/L]。

マトリックス添加標準溶液調製用標準溶液: 添加用標準溶液をメタノールで希釈して、0.001 mg/L、0.005 mg/L、0.1 mg/L 及び 0.15 mg/L 溶液を調製した。

3. 装置

ホモジナイザー: エースホモジナイザーAM-7[(株)日本精機製作所製]、ウルトラタラックス T25 デジタル(シヤフト; S25N-18G)(IKA 社製)

粉碎器: ZM1 型(Retsch 社製)。

スピードカッター: MK-K77[松下電器産業(株)(現 パナソニック(株))製]。

濃縮装置: エバポレーター; N-1000[東京理化工械(株)製]、真空ポンプ; FTP-34A[AGC テクノグラス(株)製]、真空コントローラ; NVC-2100[東京理化工械(株)製]、クーリングシステム: CA-112[東京理化工械(株)製]。

LC-MS/MS

装置	型式	会社
MS	LCMS-8040	(株)島津製作所
LC	Prominence	(株)島津製作所
データ処理	LabSolution	(株)島津製作所

4. 測定条件

LC-MS及びLC-MS/MS

LC 条件				
カラム	(株)資生堂製 CAPCELL PAK C18 AQ (3 µm、2.0 mm i.d. × 100 mm)			
移動相流速(mL/min)	0.20			
注入量(µL)	5			
カラム温度(°C)	40			
移動相	A 液: 0.1 vol%ギ酸 B 液: 0.1 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液			
グラジエント条件	時間(分)	A 液(%)	B 液(%)	
	00.00	75	25	
	20.00	50	50	
	20.01	5	95	
	25.00	5	95	
	25.01	75	25	
	40.00	75	25	

MS 条件	
測定モード	SIM 及び SRM
イオン化モード	ESI(+)
インターフェイス電圧 (V)	チューニングファイルの値
DL 温度	250°C
ネブライザー流量	3.0 L/min
ヒートブロック温度	400°C
ドライイングガス流量	15.0 L/min
コリジョンガス	窒素
定量イオン (m/z)	MS: +228 MS/MS: +228.2→43.1[29.0(eV)]
定性イオン (m/z)	MS: +229 MS/MS: +228.2→57.2[25.0(eV)]
保持時間 (min)	11.7

5. 定量

ドジン標準品 10 mg を精秤し、メタノールに溶解して 1,000 mg/L 溶液を調製した。この溶液をメタノールで希釈して玄米及び大豆試料(添加濃度 0.01 mg/kg)では 0.00125、0.0025、0.00375、0.005、0.00625 及び 0.0075 mg/L、ほうれんそう、キャベツ、さといも及びオレンジ試料(添加濃度 0.2 mg/kg)では、0.025、0.05、0.075、0.1、0.125 及び 0.15 mg/L、くるみ試料(添加濃度 0.3 mg/kg)では 0.0375、0.075、0.1125、0.15、0.1875 及び 0.225 mg/L、茶試料(添加濃度 0.01 mg/kg)では 0.00025、0.0005、0.00075、0.001、0.00125 及び 0.0015 mg/kg の標準溶液を調製した。この溶液 5 μ L を LC-MS または LC-MS/MS に注入して、得られたピーク面積を用いて検量線を作成した。試験溶液 5 μ L を LC-MS または LC-MS/MS に注入し、ピーク面積から絶対検量線法によりドジンの含量を算出した。

6. 添加試料の調製

玄米及び大豆(各添加濃度:0.01 ppm): 試料 10.0 g に添加用標準溶液(0.1 mg/L)を 1 mL 添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

ほうれんそう、キャベツ、さといも、オレンジ(各添加濃度:0.2 ppm): 試料 20.0 g に添加用標準溶液(4 mg/L)を 1 mL 添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

りんご(添加濃度:5 ppm): 試料 20.0 g に添加用標準溶液(100 mg/L)を 1 mL 添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

くるみ(添加濃度:0.3 ppm): 試料 10.0 g に添加用標準溶液(4 ppm)を 0.75 mL 添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

茶(各添加濃度:0.01 ppm): 試料 5.00 g に添加用標準溶液(0.1 mg/L)を 0.5 mL 添加し、よく混合した後、30 分間放置した。

7. 試験溶液の調製

概要

ドジンを試料からアセトンで抽出し、ほうれんそう、キャベツ、さといも、オレンジ、りんご及び茶試料はそのまま、玄米、大豆及びくるみ試料はアセトニトリル及び塩酸混液/ヘキサン分配により脱脂した後、酢酸エチルに転溶した。玄米、大豆、キャベツ、さといも、オレンジ、りんご及びくるみ試料はエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム、ほうれんそう及び茶試料はエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム及びグラファイトカーボンミニカラムで精製した後、LC-MS 及び LC-MS/MS で定量及び確認した。

(1)抽出

くるみは 425 µm の標準網ふるいを通るように粉碎することが困難だったため、1~3 mm のふるいを通るように試料を均一化した。他の試料に比べ粉碎が不十分だったため、ポリトロン型ホモジナイザー[ウルトラタラックス T25 デジタル(シャフト; S25N-18G) (IKA 社製)]を用いてホモジナイズ抽出した。その他の試料についてはホモジナイザーカップを用いてホモジナイズ抽出[エースホモジナイザーAM-7{(株)日本精機製作所製}]した。

①玄米、大豆及びくるみの場合

玄米及び大豆の場合は試料 10.0 g をホモジナイザーカップに、くるみの場合は試料 10.0 g をガラス製遠沈管に採り、水 20 mL を加え 30 分間放置した。これにアセトン 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[直径 60 mm, No.707: 日本理化学器械(株)製]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、上記と同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンで 200 mL とした。この 20 mL を採り、エバポレーターを用いて 40°C 以下で約 5 mL に濃縮した。これにアセトニトリル及び 0.1 mol/L 塩酸(9:1)混液 40 mL 及び *n*-ヘキサン 20 mL を加え、振とうし、アセトニトリル層を採った。*n*-ヘキサン層にアセトニトリル及び 0.1 mol/L 塩酸(9:1)混液 40 mL を加え、振とう抽出を 2 回繰り返し、抽出液を合わせ、エバポレーターを用いて 40°C 以下で約 20 mL に濃縮した。これに 1 w/v%炭酸ナトリウムを含む 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL を加え、酢酸エチル 50 mL 及び 25 mL で 2 回振とう抽出した。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液をエバポレーターを用いて 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物をアセトン及び *n*-ヘキサン(4:1)混液 5 mL に溶解した。

②ほうれんそう、キャベツ、さといも、オレンジ及びりんごの場合

試料 20.0 g をホモジナイザーカップに採った。これにアセトン 100 mL を加えてホモジナイズした後、けいそう土を約 1 cm の厚さに敷いたろ紙[直径 60 mm, No.707: 日本理化学器械(株)製]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、上記と同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンで 200 mL とした。この 10 mL を採り、エバポレーターを用いて 40°C 以下で約 5 mL に濃縮した。これに 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL を加え、酢酸エチル 50 mL 及び 25 mL で 2 回振とう抽出した。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液をエバポレーターを用いて 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物をアセトン及び *n*-ヘキサン(4:1)混液 5 mL に溶解した。

③茶の場合

試料 5.00 g をホモジナイザーカップに採り、水 20 mL を加え 30 分間放置した。これにアセトン 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[直径 60 mm, No.707: 日本理化学器械(株)製]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、上記と同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンで 200 mL とした。この 4 mL を採り、これに 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL を加え、酢酸エチル 50 mL 及び 25 mL で 2 回振とう抽出した。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液をエバポレーターを用いて 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残

留物をアセトン及び *n*-ヘキサン(4:1)混液 5 mL に溶解した。

(2)精製

①エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

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 [BOND ELUT-PSA(500mg, 3 mL:Agilent 社製)] にアセトン及び *n*-ヘキサン(4:1)混液 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに(1)で得られた溶液を注入した後、アセトン及び *n*-ヘキサン(4:1)混液 10 mL を注入し、流出液は捨てた。アセトン及びメタノール(4:1)混液 2 mL で(1)で得られた溶液が入っていた容器を洗い、洗液をエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムに注入する操作を2回繰り返し、さらにアセトン及びメタノール(4:1)混液 6 mL を注入し、全溶出液を採り、エバポレーターを用いて 40°C以下で濃縮し、溶媒を除去した。

ほうれんそう及び茶には以下の操作を追加した。

②グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム [Supelclean ENVI-Carb(500 mg, 6 mL:SUPELCO 社製)] にギ酸、トルエン及びメタノール(1:25:75)混液 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに①で得られた残留物をギ酸、トルエン及びメタノール(1:25:75)混液 3 mL に溶解した溶液を注入した後、ギ酸、トルエン及びメタノール(1:25:75)混液 7 mL を注入し、全溶出液を採り、エバポレーターを用いて 40°C以下で濃縮し、溶媒を除去した。

ミニカラム精製により得られた残留物をメタノールに溶解し、玄米、大豆、ほうれんそう、キャベツ、さといも、オレンジ、りんご及びびくるみの場合には正確に 2 mL、茶の場合には正確に 1 mL としたものを試験溶液とした。

[分析法フローチャート]

①玄米、大豆及びびくるみの場合

秤取

↓ 試料 10.0 g に水 20 mL を加え 30 分間放置

アセトン抽出

↓ アセトン 100 mL を加えホモジナイズ
↓ 吸引ろ過
↓ 残留物はアセトン 50 mL を加えホモジナイズ
↓ 吸引ろ過
↓ ろ液を合わせ、アセトンで 200 mL に定容
↓ 抽出液 20 mL を採る

濃縮

↓ 約 5 mL まで濃縮
↓ アセトニトリル-0.1 mol/L 塩酸(9:1)40 mL を加える
↓ *n*-ヘキサン 20 mL を加える

分配

↓ アセトニトリル層を採る
↓ アセトニトリル-0.1 mol/L 塩酸(9:1)40 mL で2回抽出
↓ アセトニトリル層を合わせる

濃縮

- ↓ 約 20 mL まで濃縮
- ↓ 1 w/v%炭酸水素ナトリウムを含む 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL

転溶

- ↓ 酢酸エチル 50 mL、25 mL

脱水

- ↓ 無水硫酸ナトリウムを適量加える
- ↓ 無水硫酸ナトリウムをろ別する

濃縮(溶媒除去)

- ↓ 残留物をアセトン-*n*-ヘキサン(4:1)5 mL に溶解

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[Agilent 社製 BOND ELUT-PSA(500 mg/3 mL)]

- ↓ アセトン-*n*-ヘキサン(4:1)10 mL でコンディショニング
- ↓ 抽出溶液を注入
- ↓ アセトン-*n*-ヘキサン(4:1)10 mL で洗浄
- ↓ アセトン-メタノール(4:1)2 mL で抽出溶液が入っていた容器を洗い、洗液を注入(2 回繰り返し)
- ↓ アセトン-メタノール(4:1)6 mL で溶出(全溶出液を採取)

濃縮(溶媒除去)

- ↓ 残留物をメタノール 2 mL に溶解

試験溶液

↓

LC-MS 及び LC-MS/MS

②ほうれんそう、キャベツ、さといも、オレンジ及びりんご

秤 取

- ↓ 試料 20.0 g

アセトン抽出

- ↓ アセトン 100 mL を加えホモジナイズ
- ↓ 吸引ろ過
- ↓ 残留物はアセトン 50 mL を加えホモジナイズ
- ↓ 吸引ろ過
- ↓ ろ液を合わせ、アセトンで 200 mL に定容
- ↓ 抽出液 10 mL を採る

濃縮

- ↓ 約 5 mL まで濃縮
- ↓ 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL

転溶

- ↓ 酢酸エチル 50 mL、25 mL

脱水

- ↓ 無水硫酸ナトリウムを適量加える
- ↓ 無水硫酸ナトリウムをろ別する

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物をアセトン-*n*-ヘキサン(4:1)5 mL に溶解

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[Agilent 社製 BOND ELUT-PSA(500 mg/3 mL)]

↓ アセトン-*n*-ヘキサン(4:1)10 mL でコンディショニング

↓ 抽出溶液を注入

↓ アセトン-*n*-ヘキサン(4:1)10 mL で洗浄

↓ アセトン-メタノール(4:1)2 mL で抽出溶液が入っていた容器を洗い、洗液を注入(2回繰り返し)

↓ アセトン-メタノール(4:1)6 mL で溶出(全溶出液を採取)

濃縮(溶媒除去)

↓

ほうれんそうのみ操作

↓ 残留物をギ酸-トルエン-メタノール(1:25:75)3 mL に溶解

グラファイトカーボンミニカラム[SPELCO 社製 Supelclean ENVI-Carb(500 mg/6 mL)]

↓ ギ酸-トルエン-メタノール(1:25:75)10 mL でコンディショニング

↓ 抽出溶液を注入

↓ ギ酸-トルエン-メタノール(1:25:75)7 mL で溶出(全溶出液を採取)

濃縮(溶媒除去)

↓

↓

↓ 残留物をメタノール 2 mL に溶解

試験溶液

↓

LC-MS 及び LC-MS/MS

③茶

秤取

↓ 試料 5.00 g に水 20 mL を加え 30 分間放置

アセトン抽出

↓ アセトン 100 mL を加えホモジナイズ

↓ 吸引ろ過

↓ 残留物はアセトン 50 mL を加えホモジナイズ

↓ 吸引ろ過

↓ ろ液を合わせ、アセトンで 200 mL に定容

↓ 抽出液 4 mL を採る

↓ 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL

転溶

↓ 酢酸エチル 50 mL、25 mL

脱水

↓ 無水硫酸ナトリウムを適量加える

↓ 無水硫酸ナトリウムをろ別する

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物をアセトン-*n*-ヘキサン(4:1)5 mL に溶解

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[Agilent 社製 BOND ELUT-PSA(500 mg/3 mL)]

↓ アセトン-*n*-ヘキサン(4:1)10 mL でコンディショニング

↓ 抽出溶液を注入

↓ アセトン-*n*-ヘキサン(4:1)10 mL で洗浄

↓ アセトン-メタノール(4:1)2 mL で抽出溶液が入っていた容器を洗い、洗液を注入(2 回繰り返し)

↓ アセトン-メタノール(4:1)6 mL で溶出(全溶出液を採取)

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物をギ酸-トルエン-メタノール(1:25:75)3 mL に溶解

グラファイトカーボンミニカラム[SPELCO 社製 Supelclean ENVI-Carb(500 mg/6 mL)]

↓ ギ酸-トルエン-メタノール(1:25:75)10 mL でコンディショニング

↓ 抽出溶液を注入

↓ ギ酸-トルエン-メタノール(1:25:75)7 mL で溶出(全溶出液を採取)

濃縮(溶媒除去)

↓ 残留物をメタノール 1 mL に溶解

試験溶液

↓

LC-MS 及び LC-MS/MS

8. マトリックス添加標準溶液の調製

各ブランク試験溶液 200 μ L を採り、窒素気流下溶媒を除去した後、各検討対象食品の添加回収試験における回収率 100%相当濃度または定量限界相当濃度の溶媒標準溶液 200 μ L を加えて溶解したものを、「試料マトリックスの測定への影響」評価用または「定量限界の推定」評価用マトリックス添加標準溶液とした。

[結果及び考察]

(1)MS 条件の検討

ドジンはグアニジン基を有し、極性に富む化合物であるため、イオン化にはエレクトロスプレーイオン化法(ESI)を選択し、感度よくピークを与えたポジティブモードで測定した。図 1 にドジン標準溶液 0.1 μ g/mL のマススペクトルを示した。この結果より、LC-MS 測定用定量イオンには、信号の大きく観察されたドジンの *N*-ドデシルグアニジン部分のプロトン化分子 m/z 228[*n*-C₁₂H₂₅NHC(NH)NH₃]⁺を選択した。また、定性イオンには、定量限界濃度においても良好な検出感度であった、定量イオンの同位体イオンである m/z 229 を選択した。また、MS/MS 測定には、MS 測定用定量イオン m/z 228.2 をプリカーサーイオンに選択した。 m/z 228.2 をプリカーサーイオンとし、フローインジェクション分析により MS パラメータを最適化したところ、+228.2 \rightarrow 43.1 が最も強度が高く、次いで+228.2 \rightarrow 57.2 であった。これらのイオンを用いて各種農産物を測定したところ、妨害ピークも認められず、良好な測定が可能であった。以上のことから、ESI(+)モードで測定し、 m/z +228.2 \rightarrow 43.1 を定量用、 m/z +228.2 \rightarrow 57.2 を定性用の測定イオンとした。図 2 及び 3 に m/z 228.2 をプリカーサーイオンとした場合のプロダクトイオンスペクトルを示した。

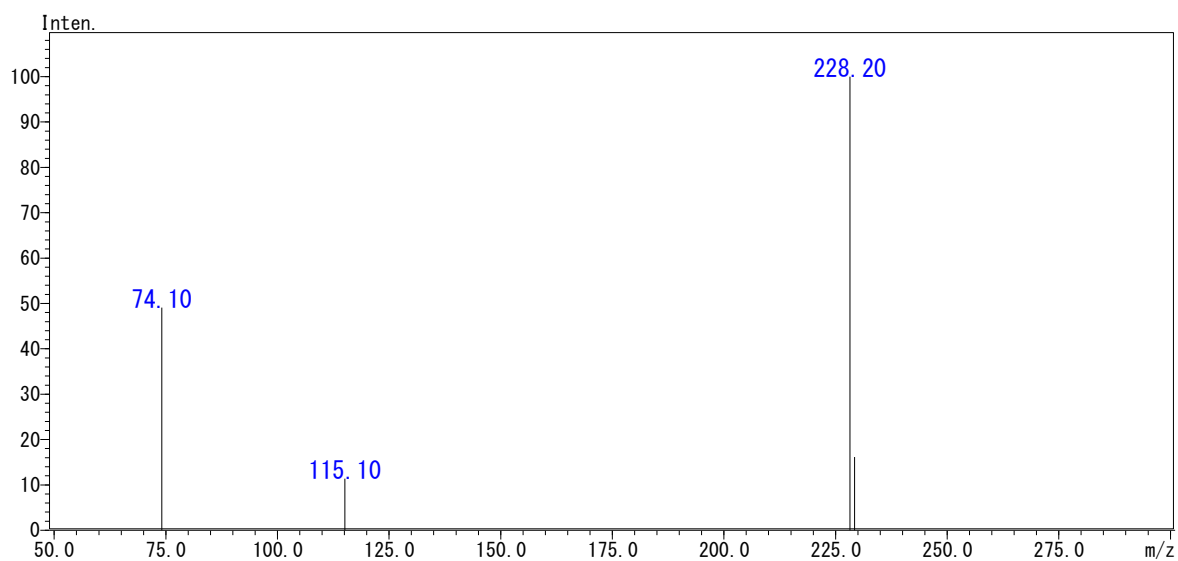


図1 ドジンのマスペクトル

スキャン範囲: 50~350 amu

測定条件: ESI(+), インターフェイス電圧: チューニングファイルの値、

ドジン標準溶液濃度: 0.1 µg/mL

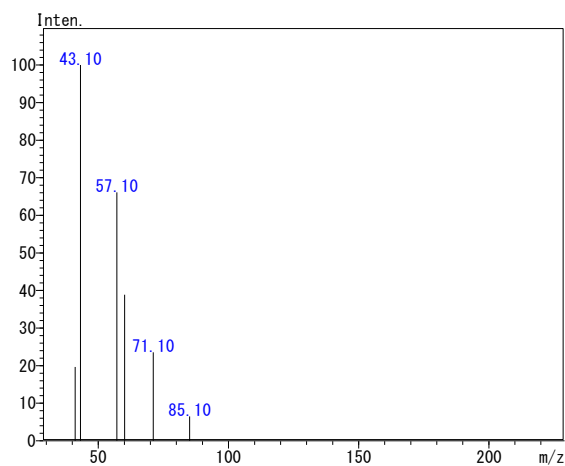


図2 ドジンのプロダクトイオンスペクトル(定量用)

プリカーサーイオン: m/z 228.2

測定条件: ESI(+)

インターフェイス電圧: チューニングファイルの値

CE=29 eV (CE: collision energy)

ドジン標準溶液濃度: 0.1 µg/mL

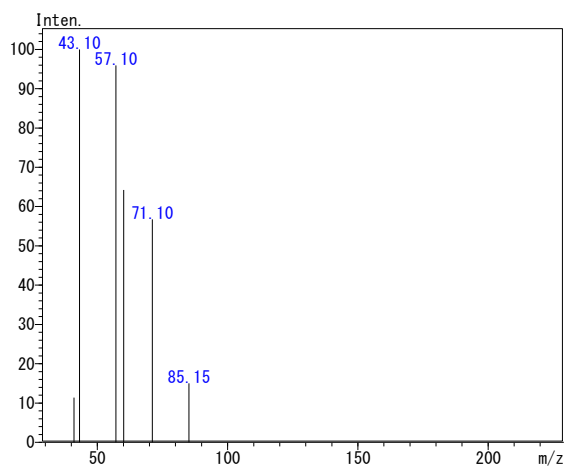


図3 ドジンのプロダクトイオンスペクトル(定性用)

プリカーサーイオン: m/z 228.2

測定条件: ESI(+)

インターフェイス電圧: チューニングファイルの値

CE=25 eV (CE: collision energy)

ドジン標準溶液濃度: 0.1 µg/mL

(2) LC 条件の検討

分析カラムは、LC/MS に一般に使用されている C18 カラムを検討した。ドジンはグアニジン基を有することから、残存シラノール基によりピーク形状等に影響を受けやすいことが考えられた。種々の C18 カラムを検討し、その中でも特にピーク形状に優れていた(株)資生堂製 CAPCELLPAK C18 AQ を選択した。移動相に用いる有機溶媒をメタノール及びアセトニトリルについて検討したところ、メタノールでは非常にブロードな形状のピークしか得られなかったが、アセトニトリルでは良好な形状のピークが得られた。移動相に加える添加剤については、ギ酸、酢酸、ギ酸アンモニウム及び酢酸アンモニウムを検討したところ、ピーク形状及び感度の両面においてギ酸が最も優れていた。また、当初、イソクラティック条件で測定を検討したが、定量限界濃度の感度が不足していたため、イソクラティック条件よりもピーク高さが得られるグラジエント条件を検討した。A 液に 0.1 vol% ギ酸、B 液に 0.1 vol% ギ酸・アセトニトリル溶液を用い検討した結果、検出感度も良好で、マトリックスの妨害ピークとの分離も良好であった B 液濃度 25~50% の濃度勾配を 20 分間で行う条件とした。

(3) 検量線

図 4 に LC-MS 測定、図 5 に LC-MS/MS 測定のドジン検量線の例を示した。0.001~0.2 mg/L の濃度範囲で作成した検量線は、 $r^2 > 0.998$ 以上であり、良好な直線性を示した。

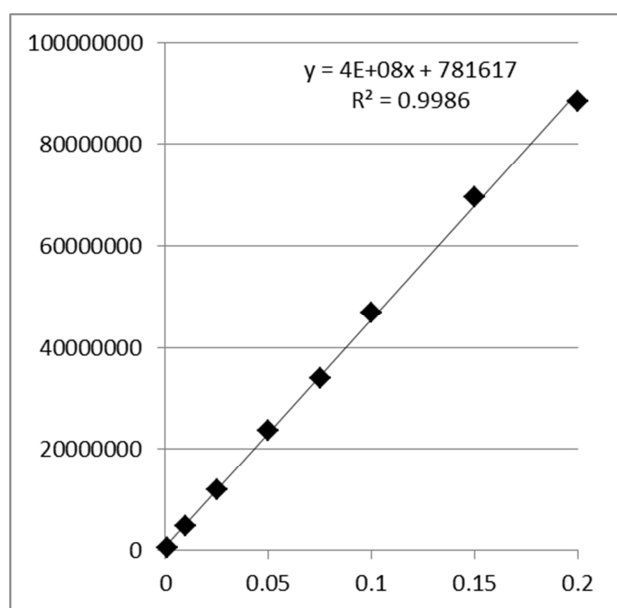


図 4 ドジン検量線 (LC-MS 測定)

$$y = 447320263x + 781617$$

$$r^2 = 0.9986$$

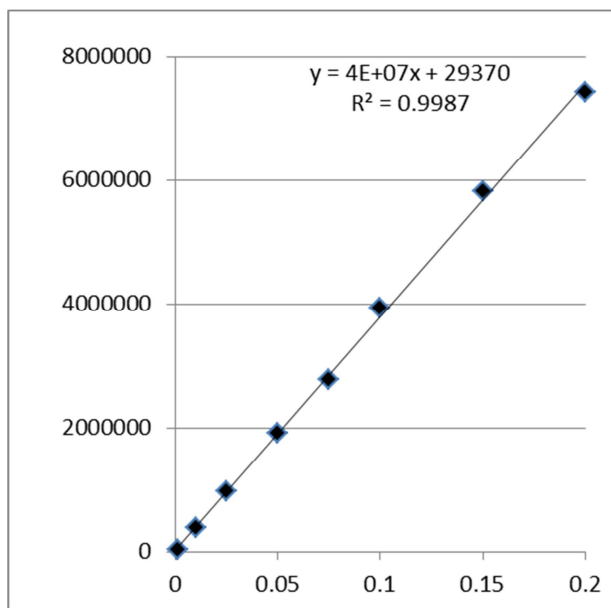


図 5 ドジン検量線 (LC-MS/MS 測定)

$$y = 3703536x + 29370$$

$$r^2 = 0.9987$$

(4) 定量限界の算出

定量限界の算出結果を以下に示した。

茶以外の試料 : 0.01 mg/kg 【[試験溶液量 2 mL / 試験溶液中の試料量 1 g]

× [ドジンの定量限界相当量 0.025 ng] / [注入量 5 μ L]

茶試料 : 0.01 mg/kg 【[試験溶液量 1 mL / 試験溶液中の試料量 0.1 g]

× [ドジンの定量限界相当量 0.005 ng] / [注入量 5 μ L]

2. 試験溶液調製法の検討

(1) 抽出溶媒の検討

アセトンまたはアセトニトリルを抽出溶媒とした場合のドジンの回収率及び試験溶液調製法の操作性を検討した。

くるみ 10 g にドジン 2,000 µg を添加し、30 分間放置した。水を加え 30 分間放置した後、アセトン 100 mL を加え、ホモジナイズ抽出し、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトン 50 mL を加え同様に抽出し、吸引ろ過した後、ろ液を合わせ、アセトンで 200 mL に定容した。また、抽出溶媒をアセトニトリルに変更し、同様に操作した。得られたアセトン及びアセトニトリル抽出液を各々メタノールで 1,000 倍に希釈したものを LC-MS/MS で測定し、回収率を算出した。その結果、くるみからのドジンの回収率は、アセトンでは 95.9%、アセトニトリルでは 95.6%と差は認められなかった。

次に操作性を比較したところ、抽出液を減圧下濃縮する際に、アセトニトリルは突沸が頻繁に発生し、操作性が良くなかった。そこで、抽出溶媒はアセトンを用いることとした。

(2) 転溶溶媒の検討

ドジン 0.1 µg を 10 w/v% 塩化ナトリウム 50 mL に添加し、酢酸エチル 50 mL 及び 25 mL で 2 回振とう抽出を行った。その結果を表 1 に示した。酢酸エチル 1 回の転溶でほぼ全量回収されたことから、転溶操作は、酢酸エチル 50 mL 及び 25 mL の 2 回振とう抽出で行うこととした。

表 1 酢酸エチルへの転溶の検討

溶媒: 酢酸エチル	50 mL (1 回目)	25 mL (2 回目)	合計
回収率 (%)	106.1%	1.9%	108.0%

(3) 脱脂方法の検討

脱脂方法として *n*-ヘキサン及びアセトニトリルによる分配を検討した。試験法ではアセトンを抽出溶媒に選択したが、今回はくるみのアセトニトリル抽出液での検討結果を示す。くるみのアセトニトリル抽出液にドジンを添加し(試料中 0.1 µg/g に相当)、図 6 に示す脱脂方法を検討した。

酢酸エチルへの転溶後、①*n*-ヘキサン 30 mL 及び *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL、②*n*-ヘキサン 20 mL 及び *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 40 mL による分配を行った場合の回収率は、それぞれ 35.1%及び 65.4%と低かった。

また、酢酸エチルへの転溶の前に *n*-ヘキサン 20 mL と③アセトニトリル及び水(9:1)混液 40 mL で分配し、酢酸エチルで転溶した場合、回収率は 44.1%であったが、④アセトニトリル及び 0.1 mol/L 塩酸(9:1)混液で分配し、酢酸エチルへの転溶の際に、1 w/v% 炭酸水素ナトリウムを含む 10 w/v% 塩化ナトリウム溶液を用いる(このときの pH は 8)ことで、回収率は 97.9%と大きく改善した。一方、⑤酢酸エチルへの転溶の際に、炭酸水素ナトリウムを加えなかった場合、15.8%と非常に低い回収率であった(すべて $n=2$)。以上の結果より、脱脂は、アセトン抽出液を濃縮後アセトニトリル及び 0.1 mol/L 塩酸/ヘキサン分配により行うこととし、アセトニトリル抽出液を濃縮後、1 w/v% 炭酸水素ナトリウムを含む 10 w/v% 塩化ナトリウム溶液と混和した後、酢酸エチルへ転溶することとした。

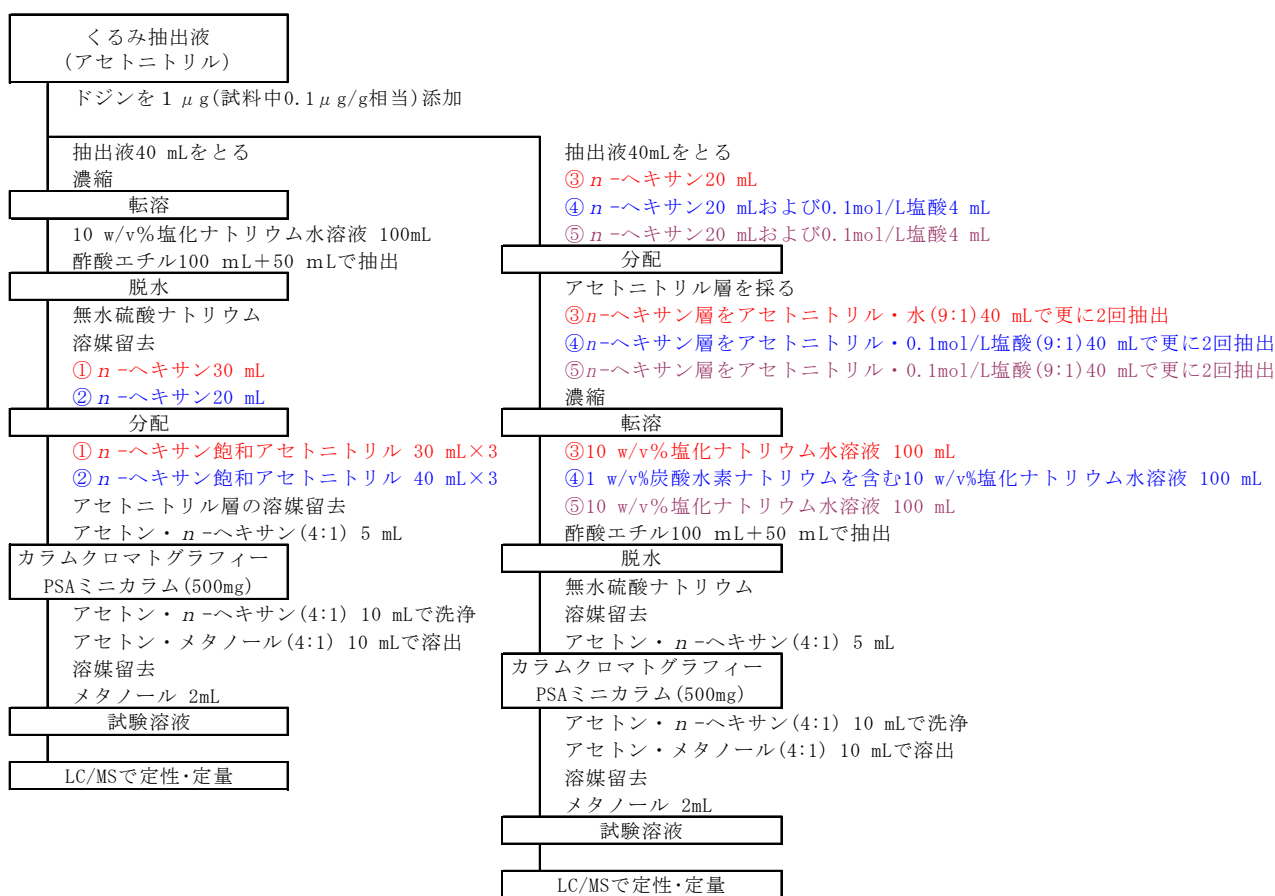


図 6 脱脂条件の検討

(4) カラム精製の検討

① 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 (以下 PSA ミニカラム) による精製

カラムをアセトン及び *n*-ヘキサン (4:1) 混液 10 mL で予備洗浄した後、アセトン及び *n*-ヘキサン (4:1) 混液 5 mL に溶解したドジン 0.1 μg を負荷し、次いでアセトン及び *n*-ヘキサン (4:1) 混液 10 mL、アセトン 10 mL、アセトン及びメタノール (9:1) 混液 10 mL またはアセトン及びメタノール (4:1) 混液 10 mL で溶出し、全溶出液を採ったときの回収率を表 2 に示した。ドジンはアセトン及び *n*-ヘキサン (4:1) 混液、アセトン 10 mL では溶出せず、アセトン及びメタノール (9:1) 混液 10 mL 及びアセトン及びメタノール (4:1) 混液 10 mL で定量的に溶出した。

表 2 PSA ミニカラムからの溶出状況 (ドジン 0.02 mg/L)

溶媒 各 10 mL	アセトン- <i>n</i> -ヘキサン (4:1)	アセトン	アセトン-メタノール (9:1)	アセトン-メタノール (4:1)
回収率 (%)	0	0	103.0	98.5

負荷量: 0.1 μg [アセトン及び *n*-ヘキサン (4:1) 混液 5 mL に溶解]

次にアセトン及びメタノール混液の溶出状況を確認した。カラムをアセトンで予備洗浄した後、ドジン 0.1 µg を負荷し、アセトン及びメタノール(9:1)混液またはアセトン及びメタノール(4:1)混液で溶出したときの溶出状況を表 3 及び表 4 に示した。ドジンはアセトン及びメタノール(9:1)混液及びアセトン及びメタノール(4:1)混液いずれにおいても、6 mL で全量溶出した。

以上の結果より、ドジンは、アセトン及びメタノール(9:1)混液、アセトン及びメタノール(4:1)混液のいずれを用いてもカラムから溶出されたが、ミニカラムのロット間差等も考慮し、ミニカラムから完全に溶出し切るために、メタノール比率の高い条件を選択し、アセトン及び *n*-ヘキサン(4:1)混液 5 mL で抽出液を負荷した後、アセトン及び *n*-ヘキサン(4:1)混液 10 mL で洗浄し、アセトン及びメタノール(4:1)混液 10 mL で溶出することとした。なお、この溶媒を用いたことによる妨害ピーク等は認められなかった。

表 3 PSA ミニカラムからの溶出状況 [アセトン及びメタノール(9:1)混液] (ドジン 1 mg/L)

	アセトン-メタノール(9:1)			合計
	0_3 mL	3_6 mL	6_9 mL	
回収率(%)	95.9	8.9	0.0	104.8

負荷量:0.1 µg [アセトン及びメタノール(9:1)混液 0.1 mL に溶解]

表 4 PSA ミニカラムからの溶出状況 [アセトン及びメタノール(4:1)混液] (ドジン 1 mg/L)

	アセトン-メタノール(4:1)			合計
	0_3 mL	3_6 mL	6_9 mL	
回収率(%)	99.0	3.4	0.0	102.4

負荷量:0.1 µg [アセトン及びメタノール(4:1)混液 0.1 mL に溶解]

②グラファイトカーボン(GC)ミニカラムによる精製

カラムを各溶出溶媒で予備洗浄した後、ドジン 0.1 µg を負荷し、各溶媒 10 mL で溶出したときの溶出状況を表 5 に示した。ドジンは、メタノールでは 9.3%、ギ酸及びメタノール(2:98)混液では 67.1%、トルエン及びメタノール(1:9)混液では 1.9%しか溶出しなかったが、ギ酸、トルエン及びメタノール(1:25:75)混液 10mL で全量溶出された。そこで、グラファイトカーボンミニカラム精製では、ギ酸、トルエン及びメタノール(1:25:75)混液を使用することとした。

表 5 GC ミニカラムからの溶出状況(各溶媒) (ドジン 1 mg/L)

溶媒 各 10 mL	メタノール	ギ酸-メタノール (2:98)	トルエン-メタノール (25:75)	ギ酸-トルエン-メタノール (1:25:75)
回収率(%)	9.3	67.1	1.9	105.4

負荷量:0.1 µg (メタノール 0.1 mL に溶解)

カラムをギ酸、トルエン及びメタノール(1:25:75)混液 10 mL で予備洗浄した後、ギ酸、トルエン及びメタノール(1:25:75)混液 3 mL に溶解したドジン 0.1 µg を負荷し、ギ酸、トルエン及びメタノール(1:35:75)で溶出したときの溶出状況を表 6 に示した。ドジンはギ酸、トルエン及びメタノール(1:25:75)混液 6 mL でほぼ全量溶出したことから、ミニカラムのロット間差等も考慮し、ギ酸、トルエン及びメタノール(1:25:75)混液 3 mL で負荷し

た後、ギ酸、トルエン及びメタノール(1:25:75)混液 7 mL の合計 10 mL で溶出することとした。

表 6 GC ミニカラムからの溶出状況[ギ酸、トルエン及びメタノール(1:25:75)混液](ドジン 0.033 mg/L)

	ギ酸-トルエン-メタノール(1:25:75)			合計
	0_3 mL (負荷液含む)	3_6 mL	6_9 mL	
回収率(%)	86.0	20.1	2.3	109.2

負荷量:0.1 µg[ギ酸、トルエン及びメタノール(1:25:75)混液 3 mL に溶解]

③PSA ミニカラム精製操作時の留意点

PSA ミニカラムに抽出液を負荷する際に使用するアセトン及び *n*-ヘキサン(4:1)混液に対するドジンの溶解性を確認した。100 mL ナス型フラスコ(A)に 2 µg/mL ドジン標準溶液 1.0 mL を採り、濃縮乾固した。このナス型フラスコ(A)をアセトン及び *n*-ヘキサン(4:1)混液 3 mL で 3 回洗い、洗液を別の 100 mL ナス型フラスコ(B)に移した。(A)及び(B)のナス型フラスコ中の溶媒を除去後、それぞれにメタノール 10 mL を加え LC-MS により測定したところ、表 7 に示すとおり、ドジンは(A)のナス型フラスコにも 10.9~23.8% 残留した。アセトン及びメタノール(4:1)混液で同様の操作をしたところ、ドジンのナス型フラスコ(A)への残留は認められず、定量的にナス型フラスコ(B)に移行した。この結果から、アセトン及び *n*-ヘキサン(4:1)混液ではドジンをミニカラムに完全には負荷できないことが判明したので、PSA ミニカラムの精製操作では、溶出溶媒であるアセトン及びメタノール(4:1)混液でナス型フラスコに残ったドジンをカラムに負荷することとした。

表 7 PSA ミニカラムへの負荷溶媒の検討結果

No.	溶媒	ドジン(%)		
		残留	移行	計
1	アセトン及び <i>n</i> -ヘキサン(4:1)混液	23.8	79.8	103.6
2		10.9	91.7	102.6
3	アセトン及びメタノール(4:1)混液	0	104.0	104.0
4		0	104.2	104.2

ナス型フラスコに 2 µg/mL ドジン標準溶液 1 mL を採り、溶媒除去後、上記溶媒でドジンを別のフラスコに移したときの移行率を測定

(5) 試験溶液の溶媒の検討

ミニカラム精製後の残留物を溶解する溶媒について検討した。ミニカラム精製後の残留物にアセトニトリル、ギ酸及び水(80:0.1:20)混液 2 mL を加えたところ、フラスコ表面に薄く膜を張るような不溶物が認められ、アセトニトリル、ギ酸及び水(80:0.1:20)混液の使用は適当でないと思われた。そこでアセトニトリルまたはメタノールでの溶解を検討した。50 mL のナス型フラスコにドジン 0.1 µg(0.1 µg/mL メタノール溶液を 1 mL)を採り、溶媒除去後、アセトニトリルまたはメタノールを加えた後、LC-MS で試験溶液の濃度を確認した。ドジンが完全に溶解しているときを 100%とすると、アセトニトリル溶液は 72.5%、メタノール溶液は 100.0%であった。また、ミニカラム精製後の残留物にメタノールを加えたところ、不溶物は認められなかった。以上の結果から、試験溶液の溶媒をメタノールとした。

3. 添加回収試験

玄米、大豆、ほうれんそう、キャベツ、さといも、オレンジ、りんご、くるみ及び茶の 9 食品を試料に用いて、実験方法の 7. 試験溶液の調製に従って添加回収試験を実施した。

添加回収試験における回収率 100%相当の溶媒標準溶液、各食品のブランク試料及び添加試料の標準的なクロマトグラムを図 7~15 に示した。また、各食品のブランク試料のスクリーン測定による代表的なトータルイオンクロマトグラムを図 22 に示した。

(1) 選択性

選択性の検討結果を表 8 に示した。LC-MS/MS 測定における玄米及び茶で、ドジンの保持時間に妨害ピークが認められたが、妨害ピーク及びドジン標準溶液のピーク面積比は各々 0.009 及び 0.017 とその強度は小さく、選択性に大きな影響はなかった。

表 8 選択性の評価

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (mg/kg)	基準値 ¹ (ppm)	添加濃度 ² (ppm)	妨害ピークの許容範囲		ピーク面積(高さ) ³			選択性の評価 ⁵	備考	
						評価対象濃度 (ppm)	判定基準	面積又は高さの別	ブランク試料 (a)	標準溶液 ⁴ (b)			面積(高さ)比 (a)/(b)
	LC-MS				0.	基準値 0.	< 0.100						
	ドジン	玄米	0.01	0.01	0.01	定量限界 0.01	< 0.333	面積	0		#DIV/0!	○	
	ドジン	大豆	0.01	0.01	0.01	定量限界 0.01	< 0.333	面積	0		#DIV/0!	○	
	ドジン	ほうれんそう	0.01	0.2	0.2	基準値 0.2	< 0.100	面積	0		#DIV/0!	○	
	ドジン	キャベツ	0.01	0.2	0.2	基準値 0.2	< 0.100	面積	0		#DIV/0!	○	
	ドジン	さといも	0.01	0.2	0.2	基準値 0.2	< 0.100	面積	0		#DIV/0!	○	
	ドジン	オレンジ	0.01	0.2	0.2	基準値 0.2	< 0.100	面積	0		#DIV/0!	○	
	ドジン	りんご	0.01	5.	5.	基準値 5.	< 0.100	面積	0		#DIV/0!	○	試験溶液を希釈せず測定
	ドジン	くるみ	0.01	0.3	0.3	基準値 0.3	< 0.100	面積	0		#DIV/0!	○	
	ドジン	茶	0.01	0.01	0.01	定量限界 0.01	< 0.333	面積	0		#DIV/0!	○	
	LC-MS/MS												
	ドジン	玄米	0.01	0.01	0.01	定量限界 0.01	< 0.333	面積	1465	166855	0.009	○	
	ドジン	大豆	0.01	0.01	0.01	定量限界 0.01	< 0.333	面積	0		#DIV/0!	○	
	ドジン	ほうれんそう	0.01	0.2	0.2	基準値 0.2	< 0.100	面積	0		#DIV/0!	○	
	ドジン	キャベツ	0.01	0.2	0.2	基準値 0.2	< 0.100	面積	0		#DIV/0!	○	
	ドジン	さといも	0.01	0.2	0.2	基準値 0.2	< 0.100	面積	0		#DIV/0!	○	
	ドジン	オレンジ	0.01	0.2	0.2	基準値 0.2	< 0.100	面積	0		#DIV/0!	○	
	ドジン	りんご	0.01	5.	5.	基準値 5.	< 0.100	面積	0		#DIV/0!	○	試験溶液を希釈せず測定
	ドジン	くるみ	0.01	0.3	0.3	基準値 0.3	< 0.100	面積	0		#DIV/0!	○	
	ドジン	茶	0.01	0.01	0.01	定量限界 0.01	< 0.333	面積	587	34475	0.017	○	

*1 基準値は、基準値未設定の場合には一律基準(0.01 ppm)を用いる。

2 添加濃度と評価対象濃度が異なる場合(定量限界と基準値との関係が、『定量限界<基準値<定量限界×3』となる場合)には、『』が表示される。『*』が表示された分析対象化合物は、添加濃度と評価対象濃度が異なるため、別途、定量限界濃度相当のマトリックス添加標準溶液を調製して評価する。

*3 ブランク試料及び標準溶液の順に測定した結果から評価する。(必要に応じて起爆注入を行う。)

*4 試料中の濃度が「評価対象濃度(基準値濃度又は定量限界濃度)」相当になるように、ブランク試料の試験溶液で調製した標準溶液(マトリックス添加標準溶液)を用いる。ブランク試料に妨害ピークが観察されなかった場合には、標準溶液のピーク面積(高さ)は求めなくても良い。

*5 面積(高さ)比が、妨害ピークの許容範囲の判定基準に適合する場合には「○」、適合しない場合には「×」を記載する。

(2) 真度、精度及び定量限界

真度及び併行精度の検討結果を表 9 に示した。りんごは基準値が 5 ppm と高かったため、試験溶液をメタノールで 25 倍希釈した後、測定した。LC-MS 測定では、真度は 86.0~100.5%、併行精度は 1.0~5.7%、LC-MS/MS 測定では、真度は 86.5~98.6%、併行精度は 0.9~6.1%であり、良好な結果が得られた。また、定量限界と添加濃度が同じであった玄米、大豆及び茶については、S/N 比の平均値は、LC-MS 測定では 234.5、209.5 及び 43.0、LC-MS/MS 測定では 706.0、228.5 及び 65.0 であり、定量に十分な検出感度が得られていた。

添加濃度が定量限界と異なる試料について、定量限界の推定を行った結果を表 10 に示した。また、定量限界の推定における代表的なクロマトグラムを図 16~21 に示した。りんご試料については、試験溶液を希釈せず測定した。S/N 比の平均値は、LC-MS 測定では 257.0~429.5、LC-MS/MS 測定では 426.0~688.5 であり、測定に十分な感度が得られていた。

表 9 真度、精度及び定量限界の評価

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (mg/kg)	基準値 ¹⁾ (ppm)	添加濃度 (ppm)	定量限界の評価 ²⁾	検量線			回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	S/N比 ³⁾			備考
							傾き	切片	r ² 値	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5			Max.	Min.	平均値	
	LC-MS				0.										#DIV/0!	#DIV/0!				
	ドジン	玄米	0.01	0.01	0.01		23185	40778	0.9942	108.6	92.6	100.3	99.5	101.7	100.5	5.7	233.0	236.0	234.5	
	ドジン	大豆	0.01	0.01	0.01		23444	23212	0.9953	87.5	83.7	84.2	83.6	91.0	86.0	3.7	248.0	171.0	209.5	
	ドジン	ほうれんそう	0.01	0.2	0.2	*	449455	1133352	1.0000	93.5	94.2	94.0	92.2	92.1	93.2	1.0				#DIV/0!
	ドジン	キャベツ	0.01	0.2	0.2	*	459398	902422	0.9997	93.7	95.6	93.6	92.8	93.1	93.8	1.2				#DIV/0!
	ドジン	さといも	0.01	0.2	0.2	*	458866	1162946	0.9996	92.3	91.9	91.3	94.7	93.8	92.8	1.5				#DIV/0!
	ドジン	オレンジ	0.01	0.2	0.2	*	464443	1786253	0.9998	94.7	91.6	96.0	94.3	92.4	93.8	1.9				#DIV/0!
	ドジン	りんご	0.01	5.	5.	*	415445	1396076	0.9987	85.4	88.9	95.4	86.1	83.0	87.8	5.4				#DIV/0!
	ドジン	くるみ	0.01	0.3	0.3	*	666315	912488	0.9997	94.2	91.1	92.5	91.7	89.9	91.8	1.6				試験溶液を25倍希釈して測定
	ドジン	茶	0.01	0.01	0.01		391	522	0.9980	101.9	95.0	89.1	97.8	91.0	95.0	5.4	42.0	44.0	43.0	
	LC-MS/MS				0.															
	ドジン	玄米	0.01	0.01	0.01		1876	5338	0.9916	107.3	90.9	97.5	96.4	100.9	98.6	6.1	699.0	713.0	706.0	
	ドジン	大豆	0.01	0.01	0.01		1835	3009	0.9904	87.3	84.4	84.8	85.4	90.8	86.5	3.0	257.0	200.0	228.5	
	ドジン	ほうれんそう	0.01	0.2	0.2	*	38283	1362	0.9998	91.9	93.0	92.7	91.2	91.0	92.0	0.9				#DIV/0!
	ドジン	キャベツ	0.01	0.2	0.2	*	38565	-11472	0.9995	93.1	94.7	92.1	91.9	91.1	92.6	1.5				#DIV/0!
	ドジン	さといも	0.01	0.2	0.2	*	39103	-22582	0.9992	90.4	90.1	89.6	92.9	93.2	91.2	1.8				#DIV/0!
	ドジン	オレンジ	0.01	0.2	0.2	*	38034	68137	0.9996	93.7	89.4	93.1	92.0	90.5	91.7	2.0				#DIV/0!
	ドジン	りんご	0.01	5.	5.	*	34075	17774	0.9990	85.6	88.4	95.5	85.2	81.9	87.3	5.9				#DIV/0!
	ドジン	くるみ	0.01	0.3	0.3	*	55673	-49405	0.9998	94.2	91.2	92.5	91.3	88.6	91.6	2.2				試験溶液を25倍希釈して測定
	ドジン	茶	0.01	0.01	0.01		4539	3624	0.9987	95.1	85.4	88.1	89.7	87.4	89.1	4.1	58.0	72.0	65.0	

*1 基準値は、基準値未設定の場合には一律基準 (0.01 ppm) を用いる。
 2 添加濃度が定量限界濃度と異なる場合には、『』が表示される。その場合には、S/N比の算出は不要であるが、別途、定量限界の推定を行う。
 *3 得られた回収率の中で最大値を与えるピーク (Max.) 及び最小値を与えるピーク (Min.) のそれぞれのS/N比を求める。

表 10 定量限界の推定

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (mg/kg)	基準値 ¹⁾ (ppm)	添加濃度 (ppm)	定量限界の評価 ²⁾	標準溶液濃度 ³⁾ (mg/L)	ピーク面積 (高さ) ⁴⁾						S/N比		平均値		備考		
								面積又は高さの別	ブランク ⁵⁾	マトリックス添加標準溶液			溶媒標準溶液			n=1	n=2		面積 (高さ) 比 (%) ⁶⁾	S/N比
										n=1	n=2	平均	n=1	n=2	平均					
	LC-MS				0.															
	ドジン	玄米	0.01	0.01	0.01															
	ドジン	大豆	0.01	0.01	0.01															
	ドジン	ほうれんそう	0.01	0.2	0.2	*	0.005	面積	2530252	2599369	2564810.5	2685234	2653612	2669423.0	411.0	448.0	96.1	429.5		
	ドジン	キャベツ	0.01	0.2	0.2	*	0.005	面積	2436474	2457837	2447159.5	2547482	2597366	2572424.0	345.0	432.0	95.1	388.5		
	ドジン	さといも	0.01	0.2	0.2	*	0.005	面積	2618243	2654537	2636390.0	2509889	2514417	2512203.0	269.0	328.0	104.9	298.5		
	ドジン	オレンジ	0.01	0.2	0.2	*	0.005	面積	2521755	2528306	2525030.5	2521671	2536512	2529091.5	258.0	256.0	99.8	257.0		
	ドジン	りんご	0.01	5.	5.	*	0.005	面積	2436111	2382391	2409251.0	2599491	2563441	2561466.0	318.0	326.0	94.1	322.0	試験溶液を希釈せず測定	
	ドジン	くるみ	0.01	0.3	0.3	*	0.005	面積	2449193	2439392	2444292.5	2307281	2298648	2302964.5	329.0	261.0	106.1	295.0		
	ドジン	茶	0.01	0.01	0.01		0.005	面積			0.0								#DIV/0!	
	LC-MS/MS				0.															
	ドジン	玄米	0.01	0.01	0.01						0.0			0.0					#DIV/0!	
	ドジン	大豆	0.01	0.01	0.01						0.0			0.0					#DIV/0!	
	ドジン	ほうれんそう	0.01	0.2	0.2	*	0.005	面積	210096	207441	208788.5	220162	214074	217118.0	472.0	606.0	96.2	539.0		
	ドジン	キャベツ	0.01	0.2	0.2	*	0.005	面積	200505	200070	200287.5	206805	207086	206945.5	804.0	573.0	96.8	688.5		
	ドジン	さといも	0.01	0.2	0.2	*	0.005	面積	209040	215772	212406.0	203071	211471	207271.0	633.0	545.0	102.5	589.0		
	ドジン	オレンジ	0.01	0.2	0.2	*	0.005	面積	204177	205463	204820.0	208767	213454	211110.5	568.0	647.0	97.0	602.5		
	ドジン	りんご	0.01	5.	5.	*	0.005	面積	189786	195175	192480.5	206483	206657	206570.0	454.0	398.0	93.2	426.0	試験溶液を希釈せず測定	
	ドジン	くるみ	0.01	0.3	0.3	*	0.005	面積	192695	190415	191550.0	180839	182570	181704.5	449.0	406.0	105.4	427.5		
	ドジン	茶	0.01	0.01	0.01		0.005	面積			0.0			0.0					#DIV/0!	

*1 基準値は、基準値未設定の場合には一律基準 (0.01 ppm) を用いる。
 2 定量限界の推定を行う対象 (添加濃度と定量限界濃度が異なる場合) には、『』が表示される。
 *3 試料中の濃度が定量限界相当濃度になるように、ブランク試料の試験溶液で調製した標準溶液 (マトリックス添加標準溶液) 及び溶媒で調製した標準溶液 (溶媒標準溶液) を作成する。
 *4 マトリックス添加標準溶液及び溶媒標準溶液の順に交互に2回以上測定する。(必要に応じて起爆注入を行う。)
 *5 ブランクにピークが認められた場合には、マトリックス添加標準溶液の値はブランク値を差し引いた値を用いる。
 *6 マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積 (又は高さ) の比 (%) を求める。

(3) 試料マトリックスの測定への影響

試料マトリックスの測定への影響について検討した結果を表 11 に示した。添加回収試験における回収率 100%相当濃度になるように調製したマトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積比を求めた。りんご試料については、試験溶液をメタノールで 25 倍希釈した後測定した。面積比は、LC-MS 測定では 0.96~1.08、LC-MS/MS 測定では 0.97~1.05 であり、マトリックスの測定への影響は少なかった。

添加回収試験における真度を表 11 で求めたピーク面積比で除して補正真度を求め、表 12 に示した。補正真度は LC-MS 測定では 85.1~101.6%、LC-MS/MS 測定では 86.2~100.0% であり、補正真度も良好であった。

表 11 試料マトリックスの測定への影響

No.	分析対象化合物	食品名	定量限界 (mg/kg)	基準値 ¹ (ppm)	添加濃度 (ppm)	標準溶液 濃度 ² (mg/L)	ピーク面積(高さ) ³									備考			
							面積又は 高さの別	ブランク ⁴	マトリックス添加標準溶液 ⁵			溶媒標準溶液			ピーク面積 (高さ)比 ⁶				
									n=1	n=2	平均	n=1	n=2	平均					
LC-MS					0.														
ドジン	玄米	0.01	0.01	0.01	0.005	面積	0	2109991	2113416	2111703.5	2125752	2143135	2134443.5	0.99					
ドジン	大豆	0.01	0.01	0.01	0.005	面積	0	2216700	2261403	2239051.5	2223244	2203596	2213420.0	1.01					
ドジン	ほうれんそう	0.01	0.2	0.2	0.1	面積	0	51271209	51554247	51412728.0	50231371	49482413	49656892.0	1.03					
ドジン	キャベツ	0.01	0.2	0.2	0.1	面積	0	51170476	51678399	51424437.5	51928245	51885417	51906831.0	0.99					
ドジン	さといも	0.01	0.2	0.2	0.1	面積	0	52026171	52305205	52165688.0	52161461	51887802	52024631.5	1.00					
ドジン	オレンジ	0.01	0.2	0.2	0.1	面積	0	51216033	51630209	51423121.0	51432709	50937955	51185332.0	1.00					
ドジン	りんご	0.01	5	5.	0.1	面積	0	37351385	37759839	3755612.0	39194385	39396496	39295440.5	0.96	試験溶液を25倍 希釈して測定				
ドジン	くるみ	0.01	0.3	0.3	0.1	面積	0	62520693	62474397	62497545.0	59993348	60238569	60115958.5	1.04					
ドジン	茶	0.01	0.01	0.01	0.1	面積	0	432170	416408	424289.0	395859	391898	393878.5	1.08					
LC-MS/MS					0.														
ドジン	玄米	0.01	0.01	0.01	0.005	面積	1465	166855	169990	166957.5	170568	168155	169361.5	0.99					
ドジン	大豆	0.01	0.01	0.01	0.005	面積	0	180033	184728	182380.5	181648	181548	181598.0	1.00					
ドジン	ほうれんそう	0.01	0.2	0.2	0.1	面積	0	4219009	4237408	4228208.5	4124571	4121940	4123255.5	1.03					
ドジン	キャベツ	0.01	0.2	0.2	0.1	面積	0	4193080	4266113	4229596.5	4224693	4340690	4282691.5	0.99					
ドジン	さといも	0.01	0.2	0.2	0.1	面積	0	4256244	4273990	4264617.0	4243186	4270823	4257004.5	1.00					
ドジン	オレンジ	0.01	0.2	0.2	0.1	面積	0	4161732	4180609	4171170.5	4148172	4163312	4155742.0	1.00					
ドジン	りんご	0.01	5	5.	0.1	面積	0	3166524	3181336	3173930.0	3278710	3285163	3281936.5	0.97	試験溶液を25倍 希釈して測定				
ドジン	くるみ	0.01	0.3	0.3	0.1	面積	0	5048740	5045240	5046990.0	4809707	4832389	4821048.0	1.05					
ドジン	茶	0.01	0.01	0.01	0.1	面積	587	34475	35273	34287.0	33293	33109	33201.0	1.03					

*1 基準値は、基準値未設定の場合には一律基準(0.01 ppm)を用いる。
 *2 添加回収試験における回収率100%相当濃度になるように、ブランク試料の試験溶液で調製した標準溶液(マトリックス添加標準溶液)及び溶媒で調製した標準溶液(溶媒標準溶液)を作成する。
 *3 マトリックス添加標準溶液及び溶媒標準溶液の順に交互に2回以上測定した結果から評価する。(必要に応じて起爆注入を行う。)
 *4 ブランクにピークが認められた場合には、マトリックス添加標準溶液の値はブランク値を差し引いた値を用いる。
 *5 マトリックス添加標準溶液は試験当日のブランク試料の試験溶液を用いて調製する。
 *6 マトリックス添加標準溶液の溶媒標準溶液に対するピーク面積(又は高さ)の比を求める。

表 12 補正真度

機器名	食品名	真度(%)	ピーク面積比	補正真度(%)
LC/MS	玄米	100.5	0.99	101.6
	大豆	86.0	1.01	85.1
	ほうれんそう	93.2	1.03	90.4
	キャベツ	93.8	0.99	94.6
	さといも	92.8	1.00	92.6
	オレンジ	93.8	1.00	93.4
	りんご	87.8	0.96	91.8
	くるみ	91.8	1.04	88.3
	茶	95.0	1.08	88.2
LC-MS/MS	玄米	98.6	0.99	100.0
	大豆	86.5	1.00	86.2
	ほうれんそう	92.0	1.03	89.7
	キャベツ	92.6	0.99	93.7
	さといも	91.2	1.00	91.1
	オレンジ	91.7	1.00	91.4
	りんご	87.3	0.97	90.3
	くるみ	91.6	1.05	87.5
	茶	89.1	1.03	86.3

4. その他の試験法に関する検討

(1) 転溶溶媒および *n*-ヘキサン洗浄の検討

ドジン 0.1 μg を 10 w/v%塩化ナトリウム 50 mL に添加し、*n*-ヘキサン 50 mL 及び 25 mL で 2 回振とう抽出を行ったところ、ドジンは全く回収されなかった。一方 2. 試験溶液調製法の検討(2) 転溶溶媒の検討で示したように、酢酸エチルでは、定量的に回収された。そこで、穀類・豆类・種実類の脱脂及びほうれんそう・茶の緑色色素の除去も兼ねて、*n*-ヘキサンで洗浄した後、酢酸エチルで抽出することを考えた。ドジン 0.1 μg を 10 w/v%塩化ナトリウム 50 mL に添加し、*n*-ヘキサン 50 mL で洗浄した後、酢酸エチル 50 mL 及び 25 mL で抽出したところ、回収率は 103.4%と良好であった。そこでドジンを添加した玄米抽出液を濃縮し、10 w/v%塩化ナトリウム 50 mL を加え、*n*-ヘキサン 50 mL で洗浄した後、酢酸エチル 50 mL 及び 25 mL で抽出したところ、回収率は 50.3%と低かった(図 23)。回収率が低かった原因としてドジンが *n*-ヘキサン層に移行した可能性が考えられたため、水層に 0.1 mol/L 塩酸を含む 10 w/v%塩化ナトリウム溶液を用い、中和後酢酸エチルで抽出する方法を検討したところ、回収率は 63.1%であった(図 24)。次に *n*-ヘキサン層からのドジンの回収を向上させるため、0.1 mol/L 塩酸を含む 10 w/v%塩化ナトリウム溶液で 2 回抽出する方法を検討した。すなわち、玄米抽出液またはほうれんそう抽出液を濃縮後、*n*-ヘキサン 50 mL を加え、0.1 mol/L 塩酸を含む 10 w/v%塩化ナトリウム溶液 50 mL 及び 25 mL で抽出し、中和後酢酸エチルで転溶したところ、回収率は、各々 82.1%及び 71.7%であり、回収率の向上が認められた。また、玄米抽出液を用い、0.2 mol/L 塩酸を含む 10 w/v%塩化ナトリウム溶液で同様に操作したときの回収率は 75.1%であった。一方、玄米試料の脱脂をアセトニトリル及び塩酸混液/*n*-ヘキサン分配で行った場合の回収率は 87.0%、ほうれんそう試料の緑色色素の除去をグラファイトカーボンミニカラムにより行った場合の回収率は 91.8%であったため、脱脂操作はアセトニトリル及び塩酸混液/*n*-ヘキサン分配、緑色色素の除去はグラファイトカーボンミニカラムにより行うこととした。

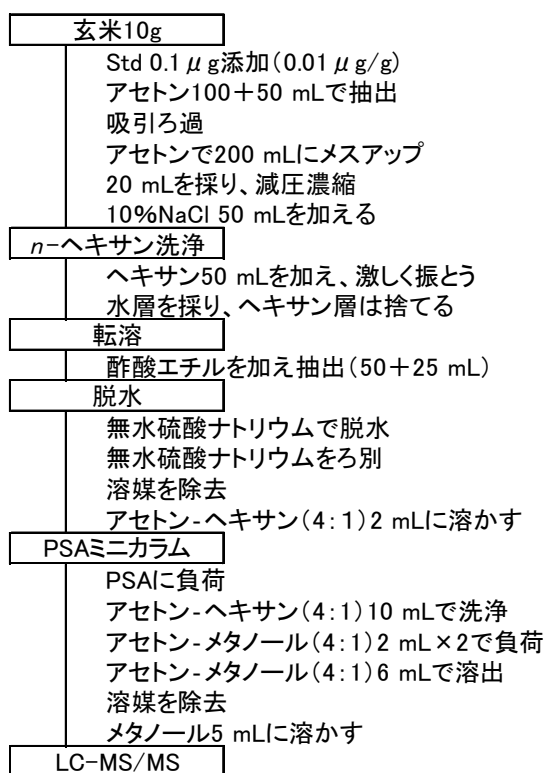


図 23 転溶溶媒及びヘキサン洗浄の検討(1)

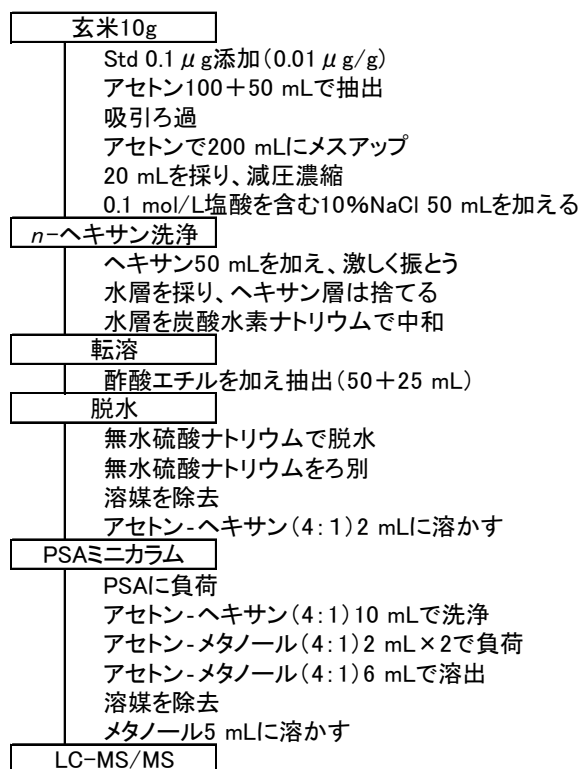


図 24 転溶溶媒及びヘキサン洗浄の検討(2)

(2)ミニカラムの検討

シリカゲルミニカラム及び C18 ミニカラムからの溶出状況を表 13 及び 14 に示した。

シリカゲルミニカラム[waters 社製 Sep-Pak Plus Silica (690 mg/1.6 mL)]をアセトン 10 mL で予備洗浄した後、ドジン 0.1 µg を負荷し、各種溶媒で溶出したときの溶出状況を表 13 に示した。ドジンは、アセトン、アセトン及びメタノール(4:1)混液、アセトン及びメタノール(1:1)混液各 10 mL では溶出せず、メタノール 10 mL でもほとんど溶出しなかった。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム[Agilent 社製 MEGA BE-C18 (1,000 mg/6 mL)]をメタノール 10 mL で予備洗浄した後、ドジン 0.1 µg を負荷し、各種溶媒で溶出したときの溶出状況を表 14 に示した。ドジンはメタノール 10 mL では溶出せず、ギ酸及びメタノール(2:98)混液でほぼ全量溶出した。しかし、ほうれんそうを用いて検討したところ、イオン抑制が大きい、ピーク形状が悪いなどマトリックス除去に対し大きな効果が得られなかったこと、さらに、C18 ミニカラムからの溶出には酸性条件が必要であり、他種類のミニカラムによる追加精製を考えた場合、酸の残留が支障になることなどの理由から C18 ミニカラムでの精製は適当でないと考えられた。

表 13 シリカゲルミニカラムからの溶出状況(ドジン 1 mg/L)

溶媒 各 10 mL	アセトン	アセトン-メタノール (4:1)	アセトン-メタノール (1:1)	メタノール
回収率(%)	0.0	0.0	0.0	1.9

負荷量:0.1 µg(アセトン 0.1 mL に溶解)

表 14 オクタデシルシリル化シリカゲル(C18)ミニカラムからの溶出状況(ドジン 1 mg/L)

溶媒 各 10 mL	メタノール	ギ酸-メタノール (2:98)
回収率(%)	0.0	98.5

負荷量:0.1 µg(メタノール 0.1 mL に溶解)

5. 考察

PSA ミニカラムによる精製は、アセトン及び *n*-ヘキサン(4:1)混液で洗浄後、アセトン及びメタノール(4:1)混液でドジンを溶出する方法を採用した。アセトン及びメタノール(4:1)混液で負荷し溶出させた場合は、溶出溶媒の極性が高いことから、精製効果が低かったが、アセトン及び *n*-ヘキサン(4:1)による洗浄を行うことで、色素の大部分を除去することが可能である(ほうれんそう及び茶試料を除く)など、精製効果が高かった。

玄米、大豆、キャベツ、さといも、オレンジ、りんご及びくるみ試料については、PSA ミニカラムのみの精製で問題がなかった。しかし、ほうれんそう及び茶試料については、アセトン及び *n*-ヘキサン(4:1)混液による洗浄である程度の緑色色素は除去可能であったが、完全に除去することはできなかった。そこで、ほうれんそう及び茶試料についてはグラファイトカーボンミニカラムによる追加精製を検討した。ドジンはグラファイトカーボンに保持されたため、溶出条件を検討した結果、ギ酸、トルエン及びメタノール(1:25:75)混液で定量的に溶出可能であり、また、色素もほぼ完全に除去することが可能であった。以上のことから、PSA ミニカラム精製のみでは緑色色素が完全に除去できない食品については、グラファイトカーボンミニカラムによる追加精製を行うこと

とした。

茶試料 5 g にドジン 0.05 µg (0.01 µg 相当) を添加した後、アセトンで抽出し、200 mL に定容した後、抽出液 20 mL (茶試料 0.5 g 相当) を採り、濃縮後、酢酸エチル転溶し、PSA ミニカラム及びグラファイトカーボンミニカラムで精製したところ、ドジンは回収されなかった。茶は試料マトリックスが多いため、PSA ミニカラム精製において過剰負荷になり、ドジンが PSA ミニカラムに保持されなかった可能性が考えられた。そこでまず、非極性試料マトリックスを除く目的で玄米、大豆及びくるみ試料の試験溶液調製法を用い添加回収試験を行ったが、ドジンは回収されなかった。次に、定容後の抽出液採取量を 4 mL (茶試料 0.1 g 相当) にしたところ、良好な回収率が得られた。このとき、LC-MS における定量限界濃度のピークは S/N=43 であり、ドジンの定量は可能であったことから、今回の方法を採用した。

開発した方法を用いて玄米、大豆、ほうれんそう、キャベツ、さといも、オレンジ、りんご、くるみ及び茶について添加回収試験を行った結果、いずれの食品についても選択性、真度、併行精度及び検出感度は良好であり、試料マトリックスの測定への影響も少ないことから、本試験法は、穀類、豆類、野菜、果実、種実類及び茶の農産物に適用可能であると判断された。

【結論】

農産物中のドジン試験法として、ドジンを試料からアセトンで抽出し、果実、野菜及び茶はそのまま、穀類、豆類及び種実類はアセトニトリル及び塩酸混液/ヘキサン分配により脱脂した後、酢酸エチルに転溶し、緑色色素を多く含む野菜及び茶はエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム及びグラファイトカーボンミニカラム、その他の農産物はエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、LC-MS 又は LC-MS/MS で定量及び確認する方法を開発した。開発した試験法を玄米、大豆、ほうれんそう、キャベツ、さといも、オレンジ、りんご、くるみ及び茶の 9 食品に適用した結果、LC-MS 測定では真度 86.0~100.5%、併行精度 1.0~5.7%、LC-MS/MS 測定では真度 86.5~98.6%、併行精度 0.9~6.1% の良好な結果が得られた。また、定量限界として 0.01 mg/kg を設定可能であることが確認された。

【参考文献】

- 1) Steller, W.A., Klotsas, K., Kuchar, E.J., Norrs, M.V., Colorimetric estimation of dodecylguanidine acetate residue. *J. Agric. Food Chem.*, **8**, 460-464 (1960)
- 2) Newaome, W.H., A Gas-liquid chromatographic method for the determination of dodine residue on food. *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 997-999 (1976)
- 3) Hajšlová, J., Rathouská, Z., Davídek, J., Gas-liquid chromatographic method for the determination of dodine in fruit. *J. Chromatogr.*, **348**, 437-440 (1985)

① 添加回収試験における代表的なクロマトグラム

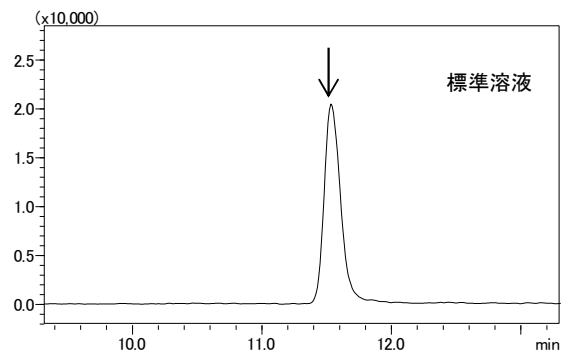
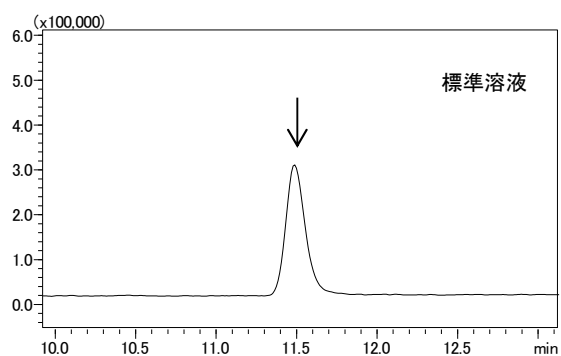
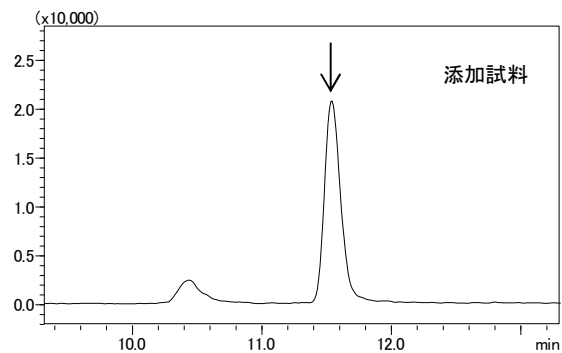
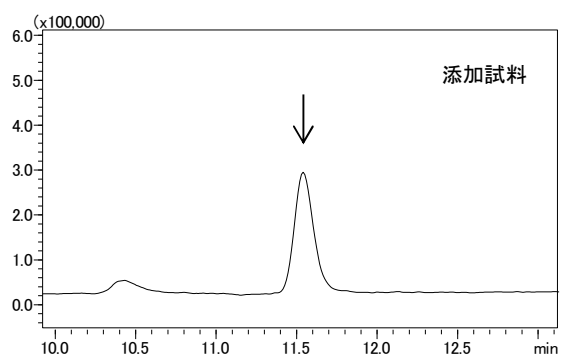
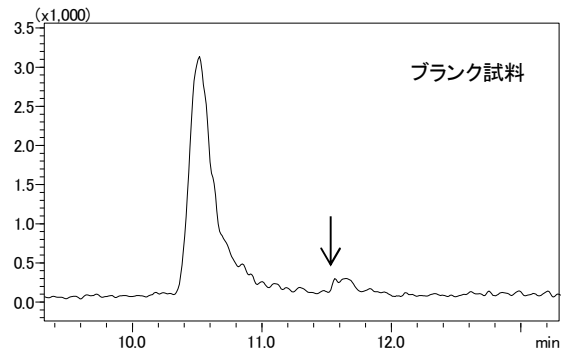
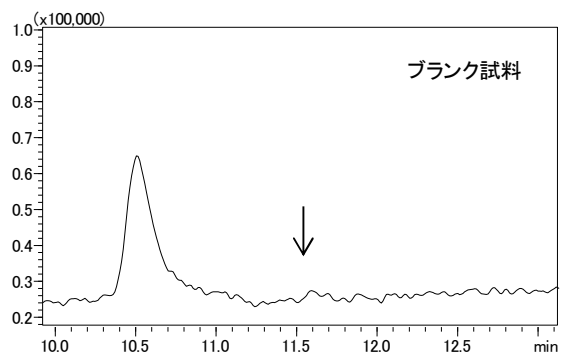


図 7_1 玄米の SIM クロマトグラム
(m/z 228)
添加濃度:0.01 ppm

図 7_2 玄米の SRM クロマトグラム
(m/z +228.2→43.1)
添加濃度:0.01 ppm

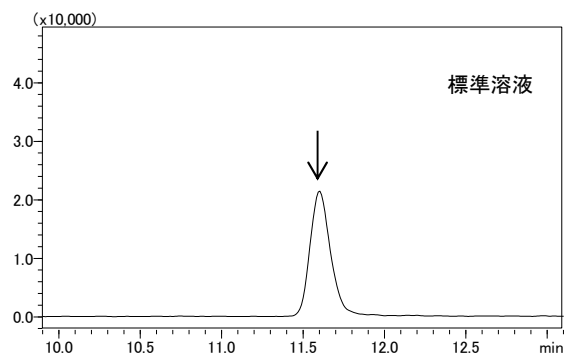
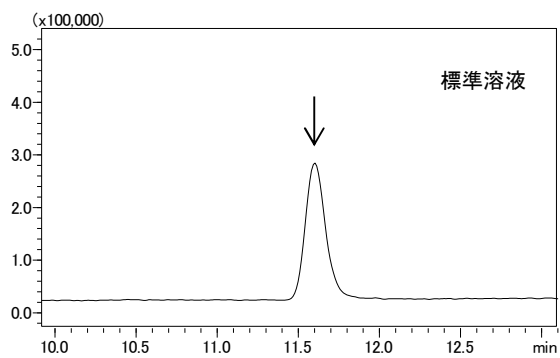
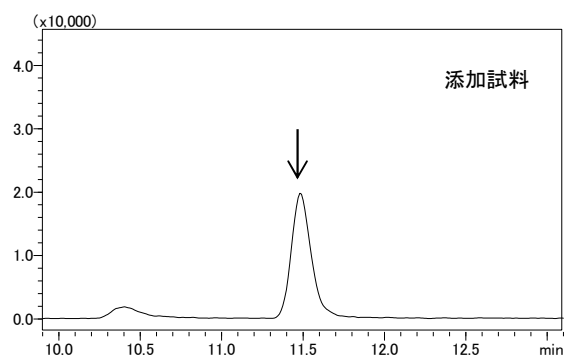
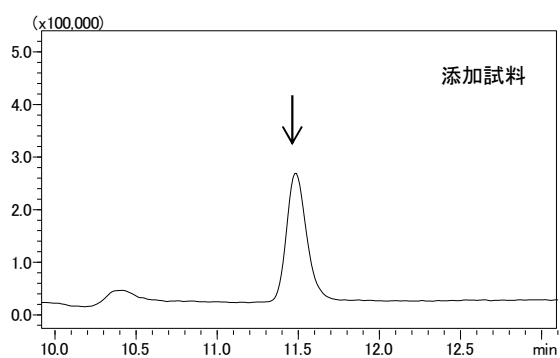
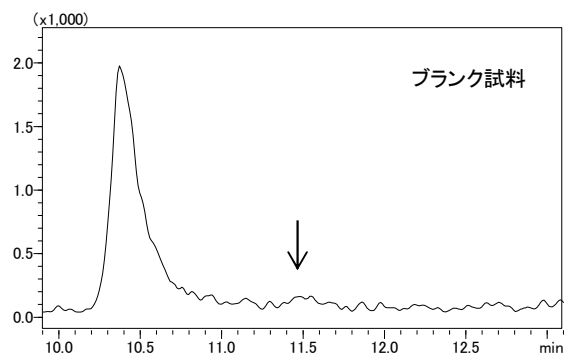
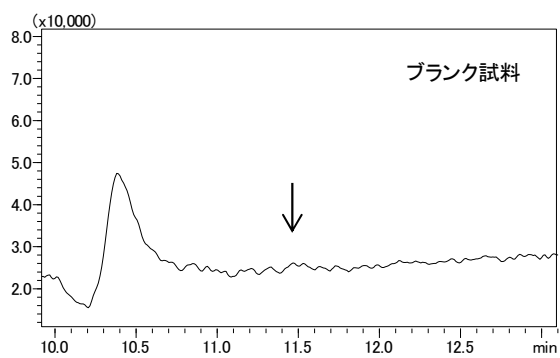


図 8_1 大豆の SIM クロマトグラム
(m/z 228)
添加濃度: 0.01 ppm

図 8_2 大豆の SRM クロマトグラム
(m/z +228.2→43.1)
添加濃度: 0.01 ppm

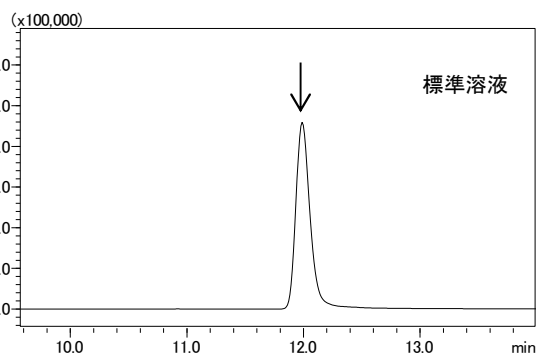
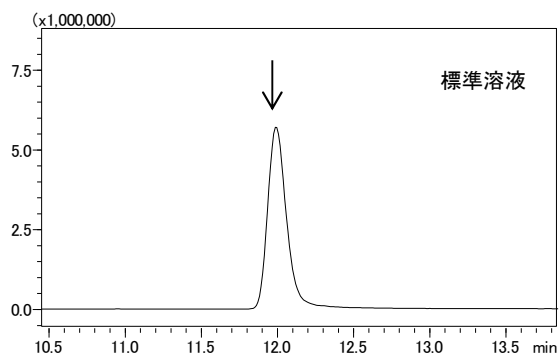
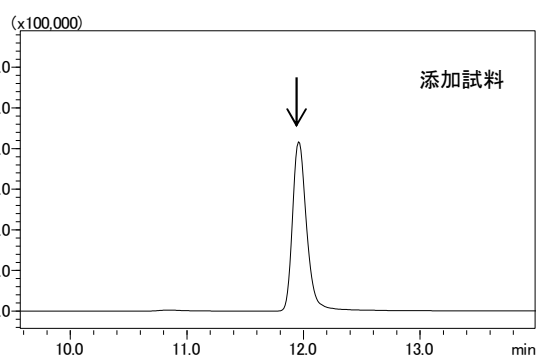
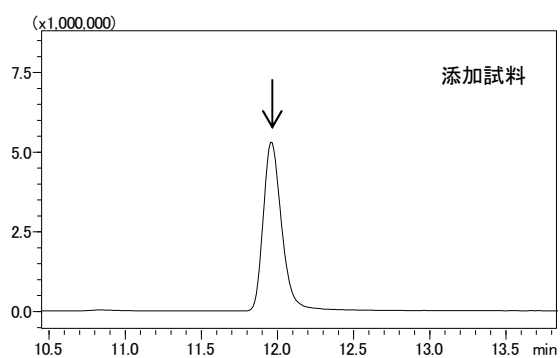
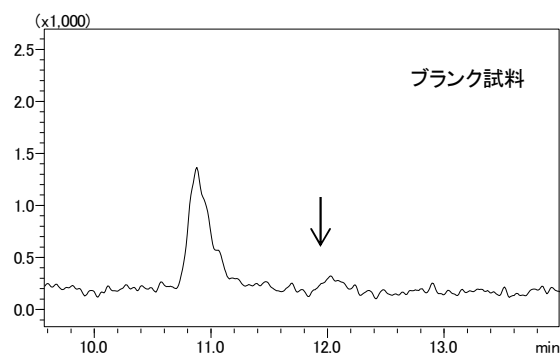
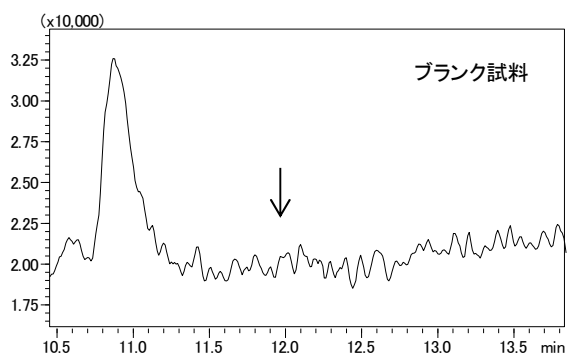


図 9_1 ほうれんそうの SIM クロマトグラム
(m/z 228)
添加濃度: 0.2 ppm

図 9_2 ほうれんそうの SRM クロマトグラム
(m/z +228.2 → 43.1)
添加濃度: 0.2 ppm

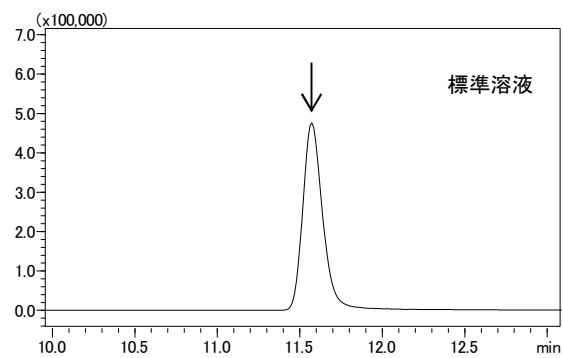
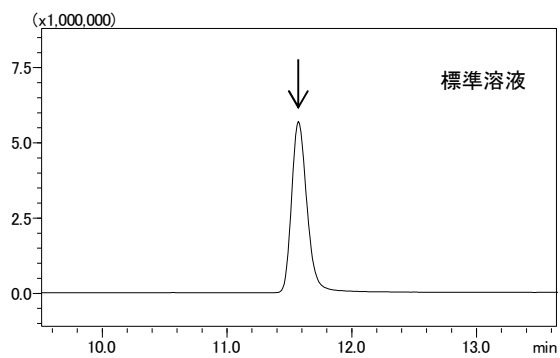
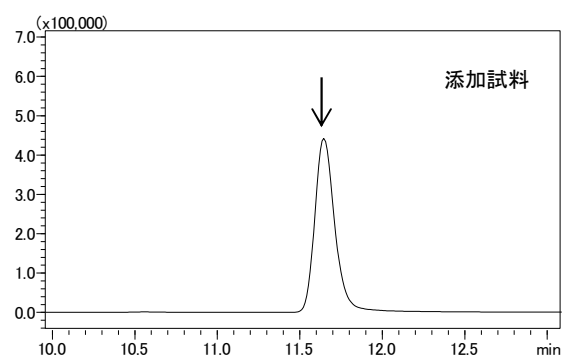
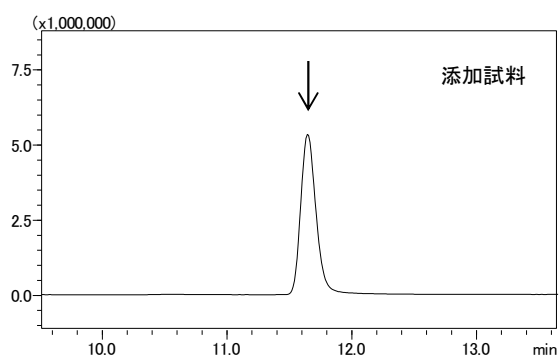
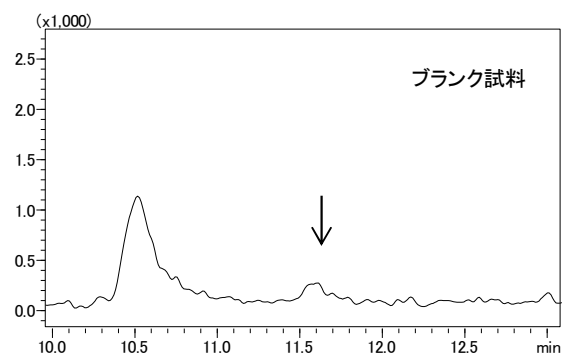
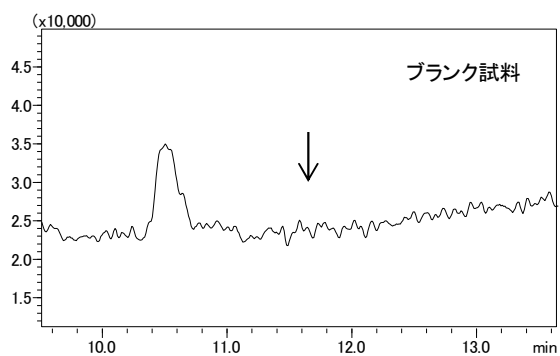


図 10_1 キャベツの SIM クロマトグラム
(m/z 228)
添加濃度: 0.2 ppm

図 10_2 キャベツの SRM クロマトグラム
(m/z +228.2 \rightarrow 43.1)
添加濃度: 0.2 ppm

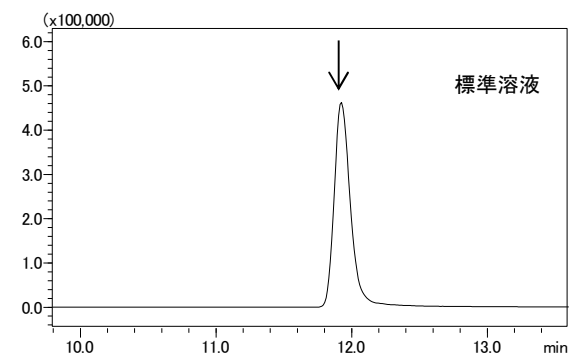
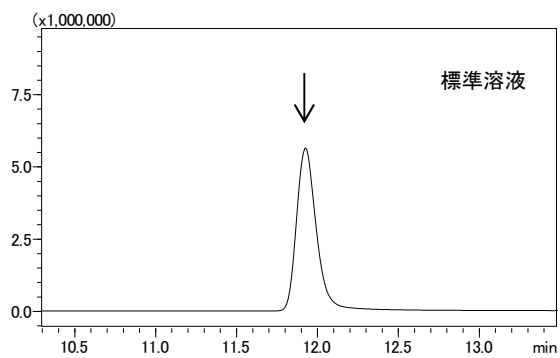
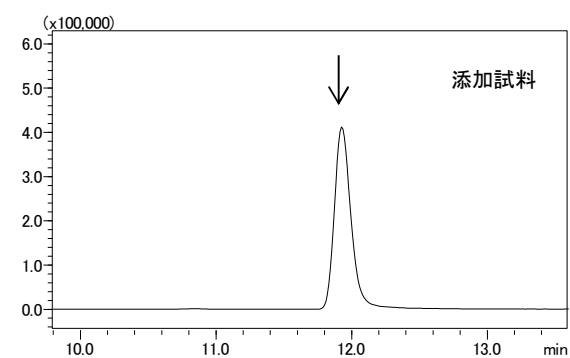
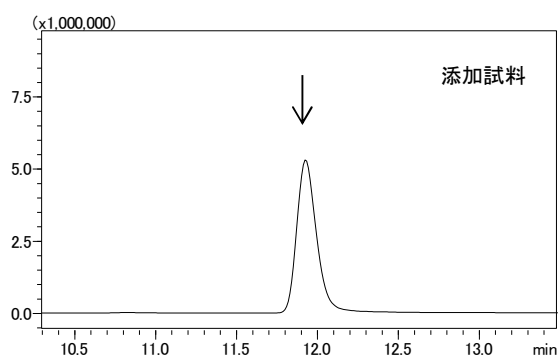
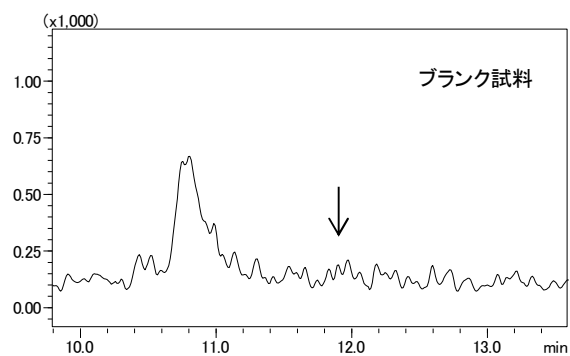
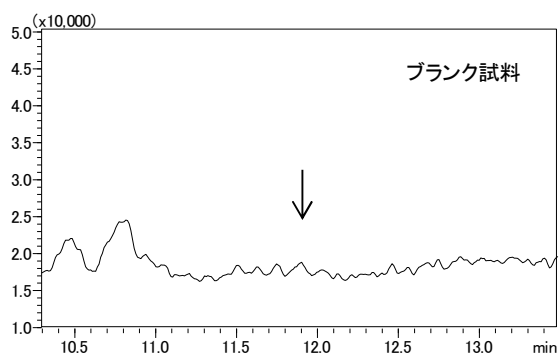


図 11_1 さといもの SIM クロマトグラム
(m/z 228)
添加濃度: 0.2 ppm

図 11_2 さといもの SRM クロマトグラム
(m/z +228.2→43.1)
添加濃度: 0.2 ppm

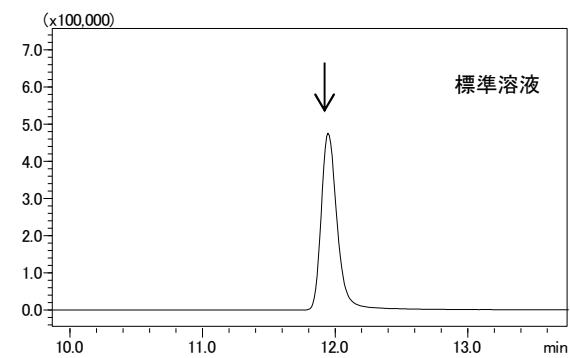
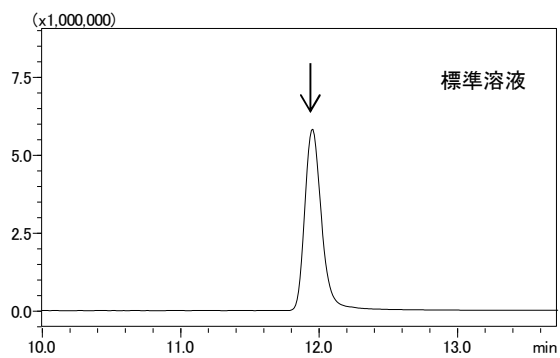
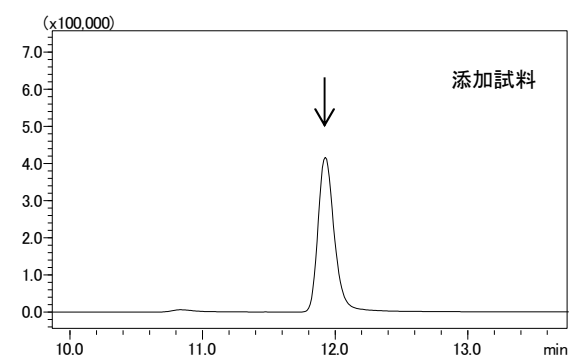
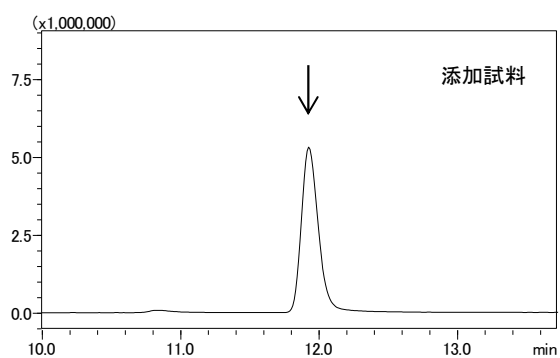
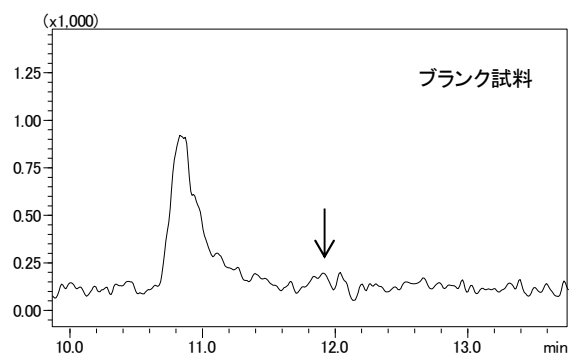
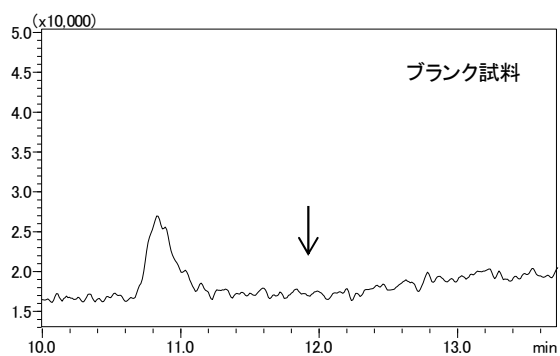


図 12_1 オレンジの SIM クロマトグラム
(m/z 228)
添加濃度: 0.2 ppm

図 12_2 オレンジの SRM クロマトグラム
(m/z +228.2→43.1)
添加濃度: 0.2 ppm

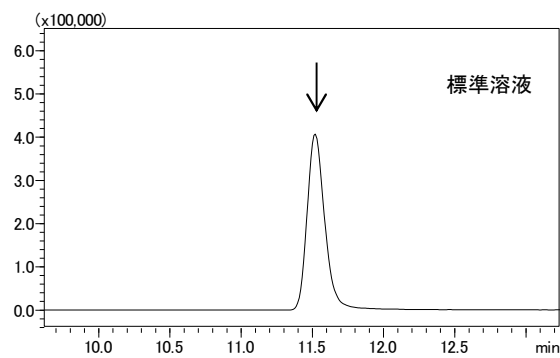
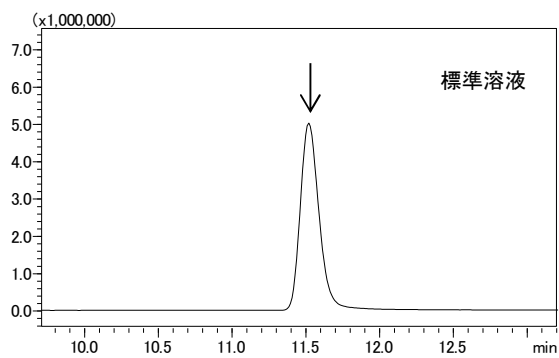
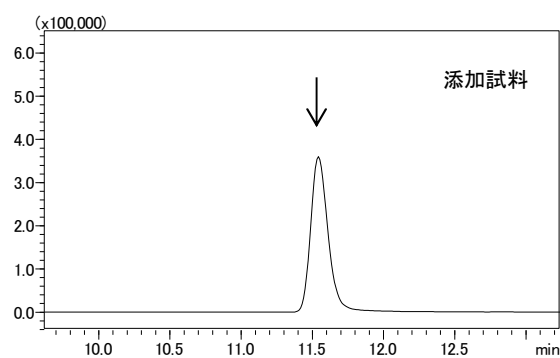
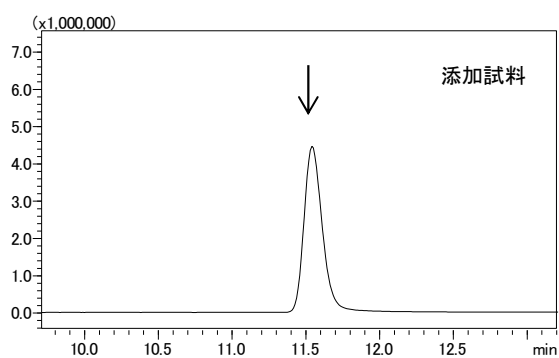
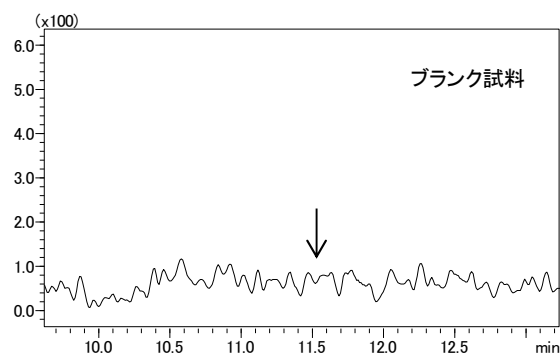
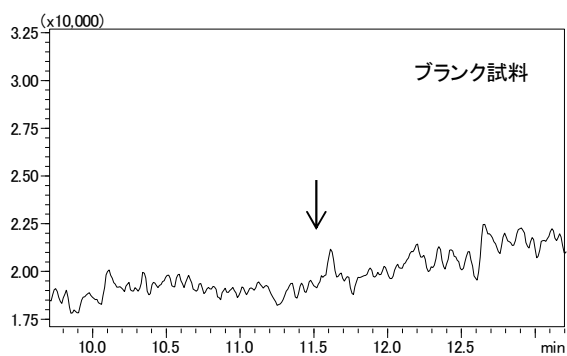


図 13_1 りんごの SIM クロマトグラム
(m/z 228)
添加濃度: 5 ppm
(メタノールで 25 倍希釈して測定)

図 13_2 りんごの SRM クロマトグラム
(m/z +228.2→43.1)
添加濃度: 5 ppm
(メタノールで 25 倍希釈して測定)

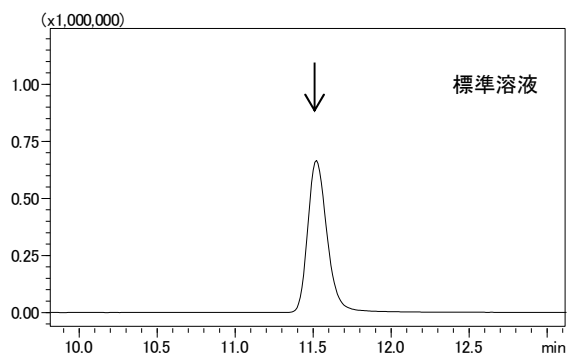
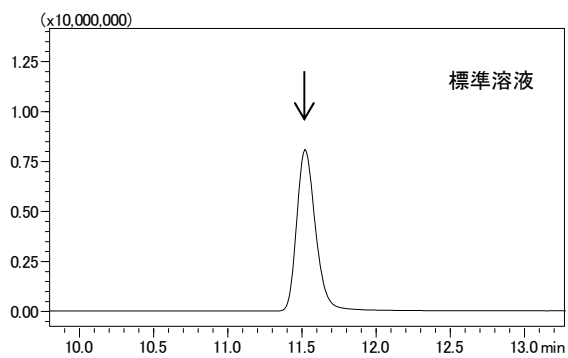
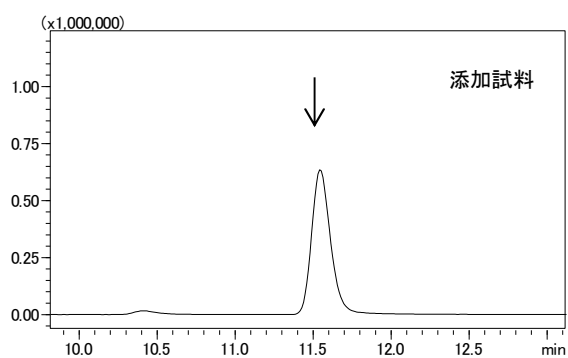
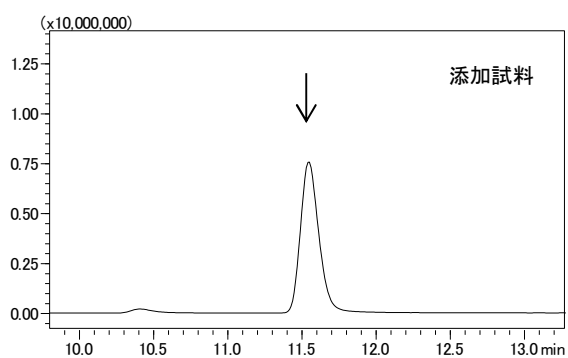
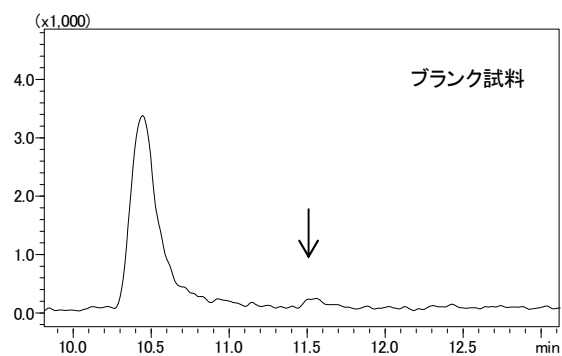
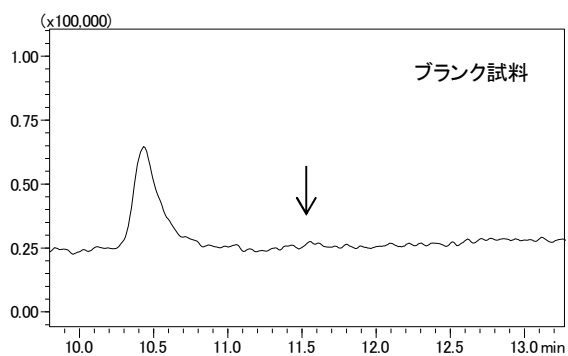


図 14_1 くるみの SIM クロマトグラム
(m/z 228)
添加濃度:0.3 ppm

図 14_2 くるみの SRM クロマトグラム
(m/z +228.2 \rightarrow 43.1)
添加濃度:0.3 ppm

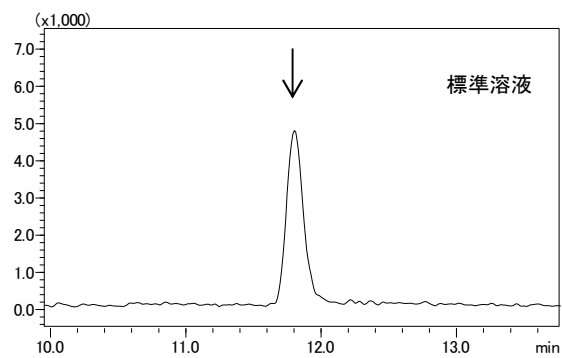
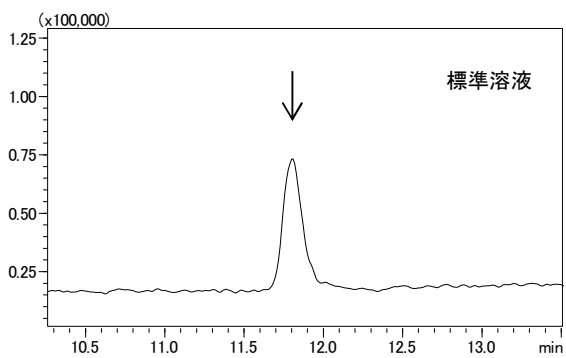
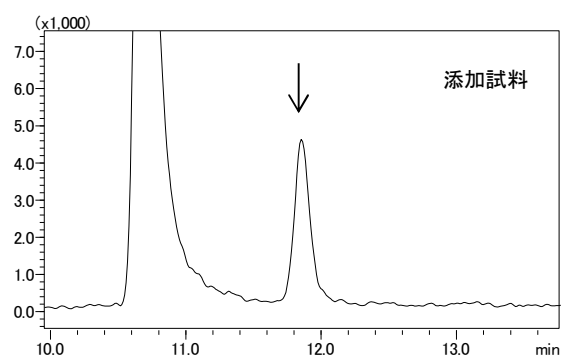
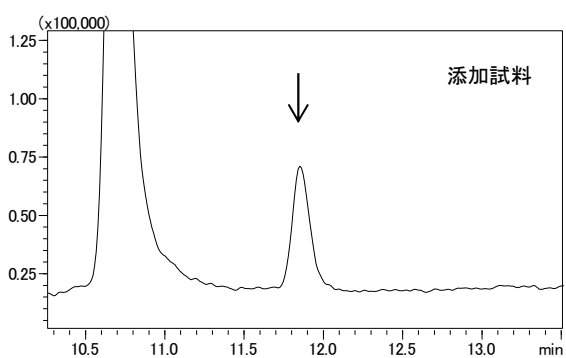
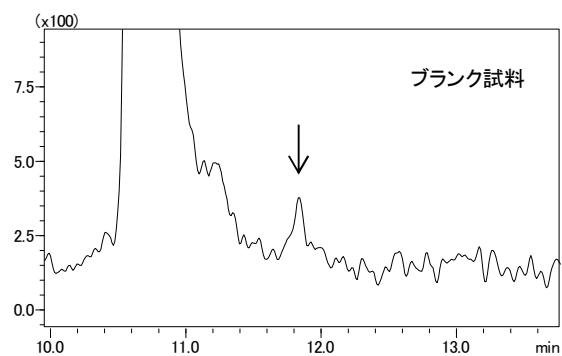
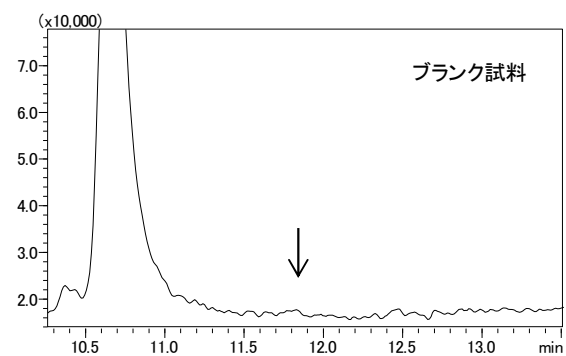
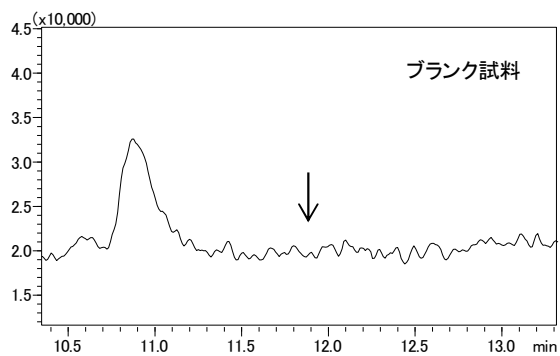


図 15_1 茶の SIM クロマトグラム
(m/z 228)
添加濃度: 0.0.1 ppm

図 15_2 茶の SRM クロマトグラム
(m/z +228.2→43.1)
添加濃度: 0.01 ppm

②定量限界の推定における代表的なクロマトグラム



(定量限界相当濃度)

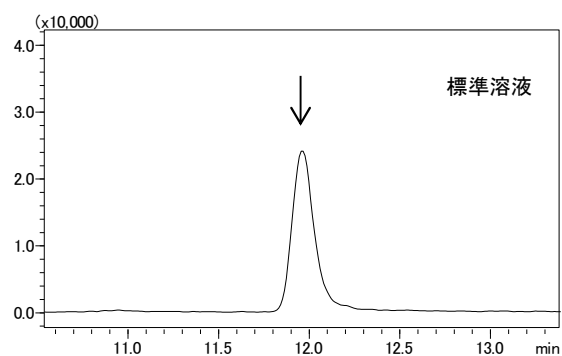
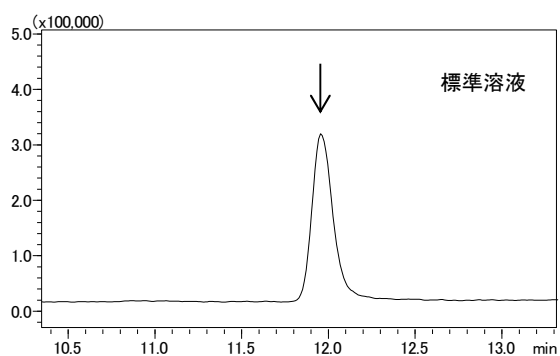
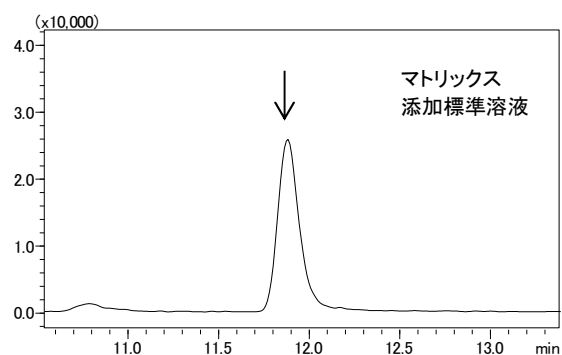
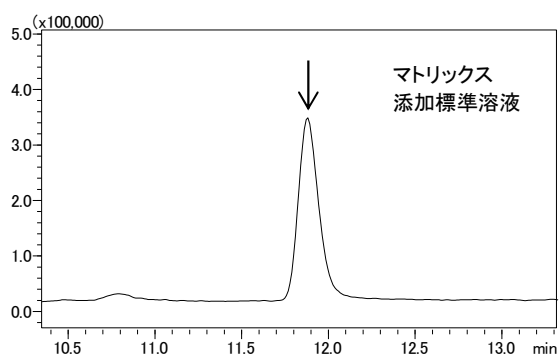
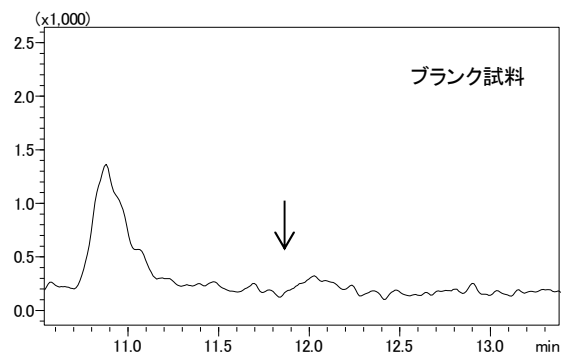


図 16_1 ほうれんそうの SIM クロマトグラム
(m/z 228)
試料中 0.01 ppm 相当

図 16_2 ほうれんそうの SRM クロマトグラム
(m/z +228.2→43.1)
試料中 0.01 ppm 相当

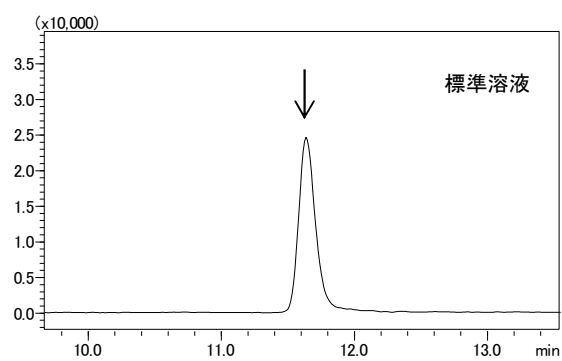
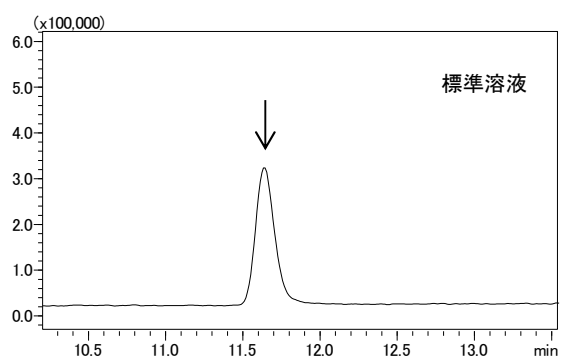
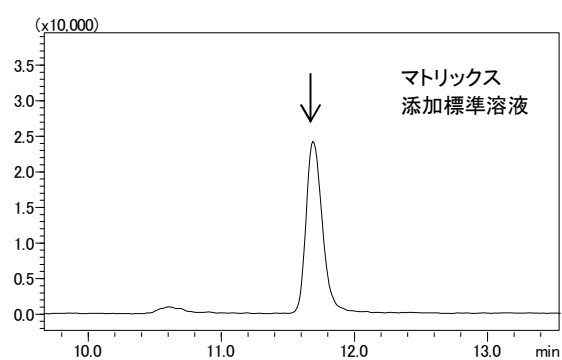
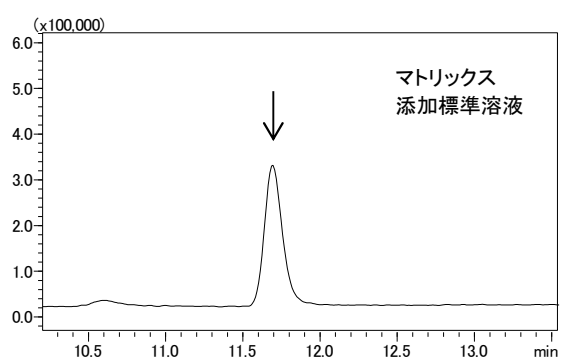
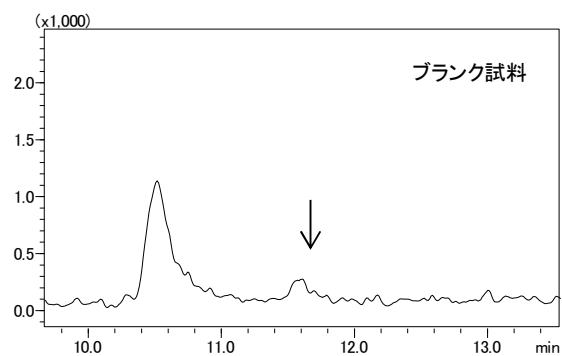
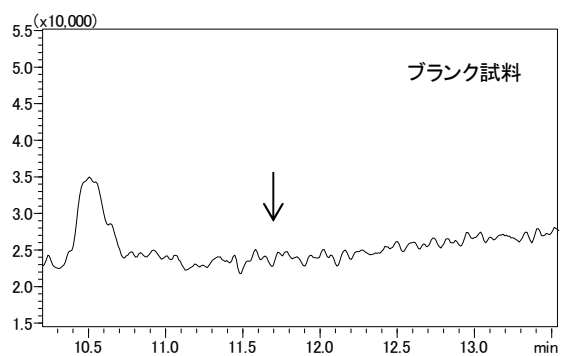


図 17_1 キャベツの SIM クロマトグラム
(m/z 228)
試料中 0.01 ppm 相当

図 17_2 キャベツの SRM クロマトグラム
(m/z +228.2→43.1)
試料中 0.01 ppm 相当

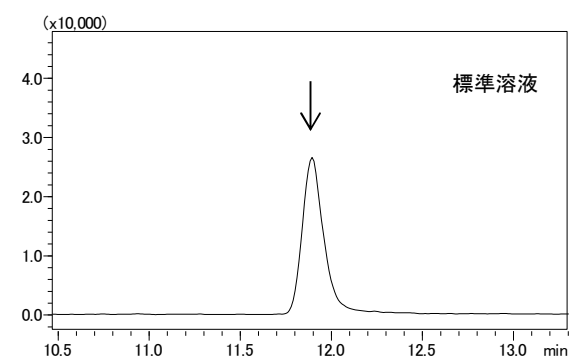
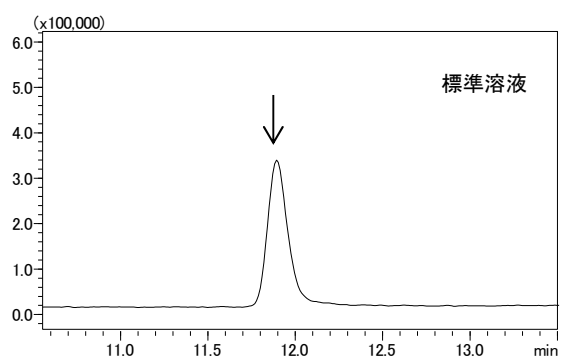
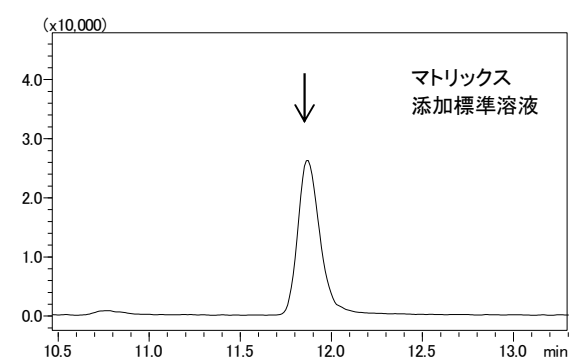
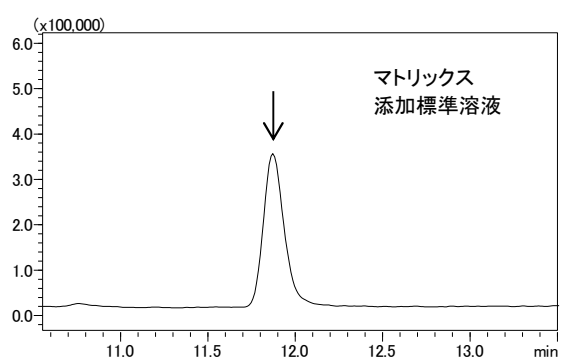
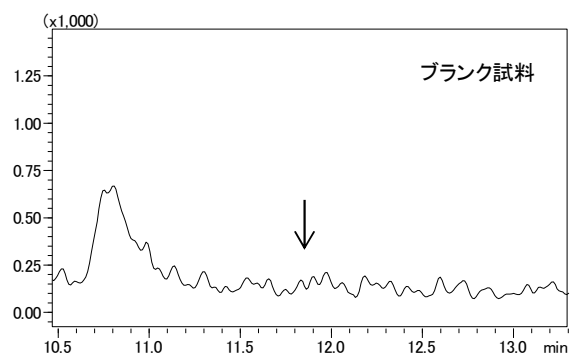
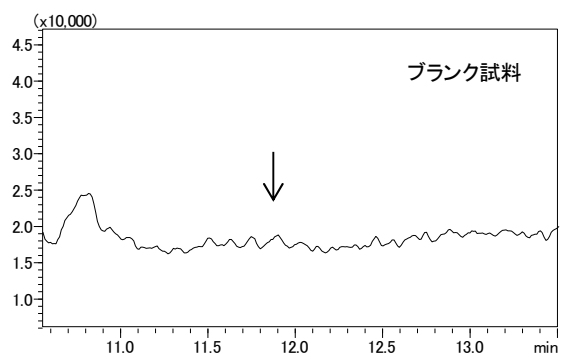


図 18_1 さといもの SIM クロマトグラム
(m/z 228)
試料中 0.01 ppm 相当

図 18_2 さといもの SRM クロマトグラム
(m/z +228.2→43.1)
試料中 0.01 ppm 相当

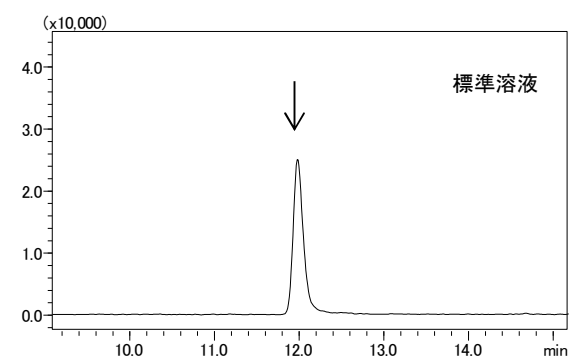
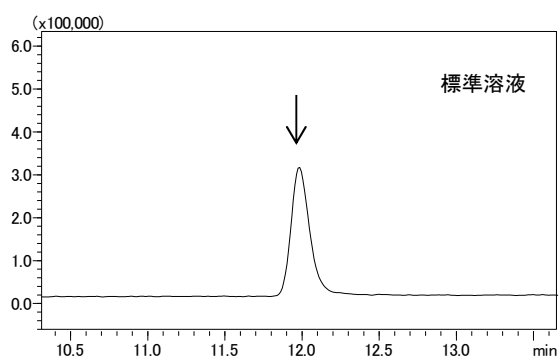
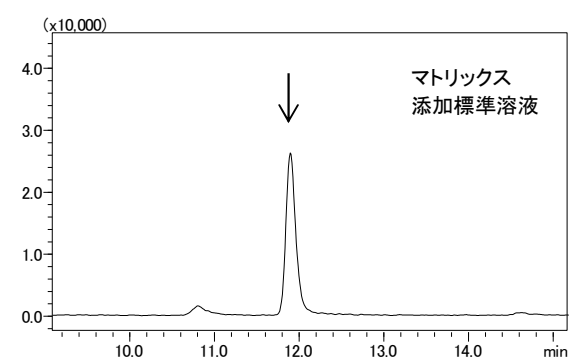
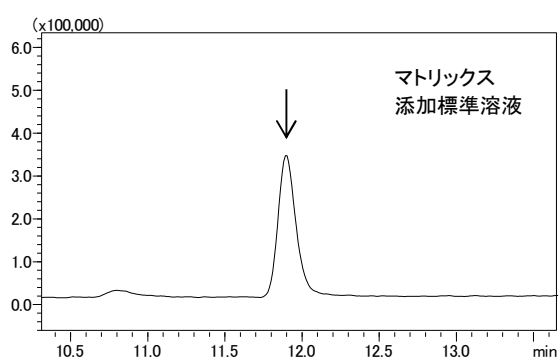
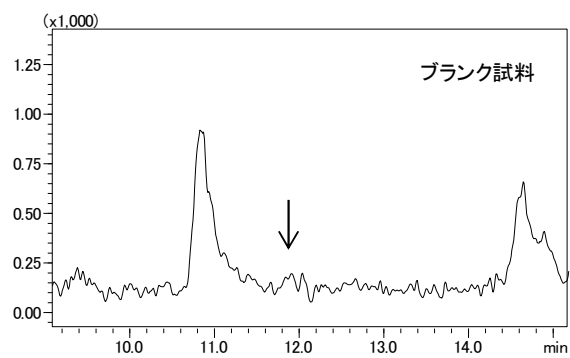
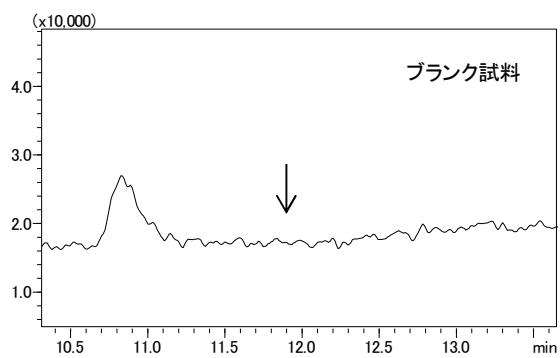


図 19_1 オレンジの SIM クロマトグラム
(m/z 228)
試料中 0.01 ppm 相当

図 19_2 オレンジの SRM クロマトグラム
(m/z +228.2→43.1)
試料中 0.01 ppm 相当

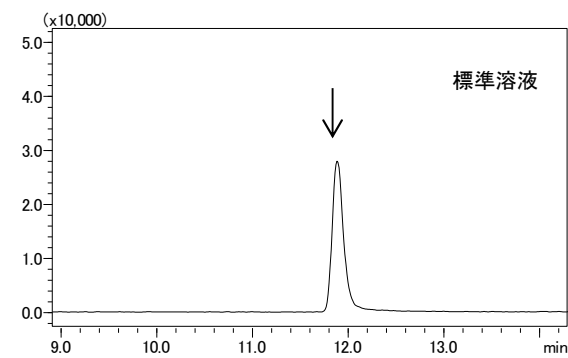
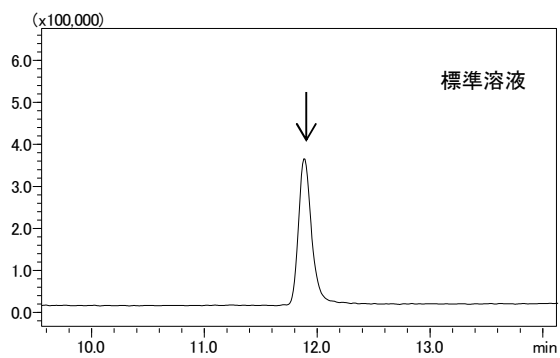
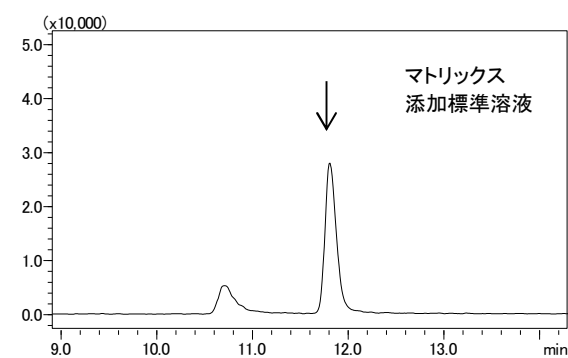
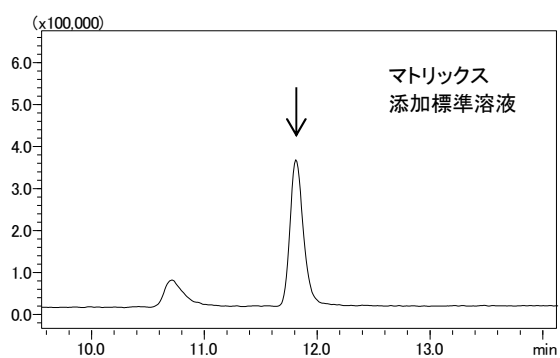
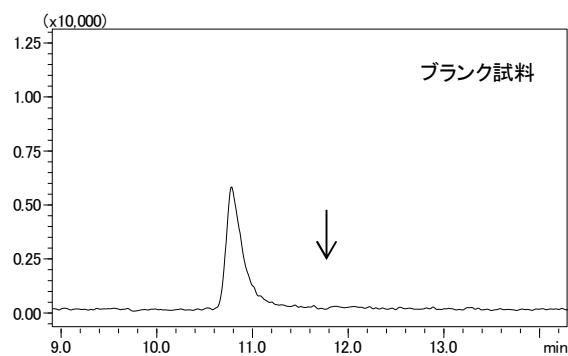
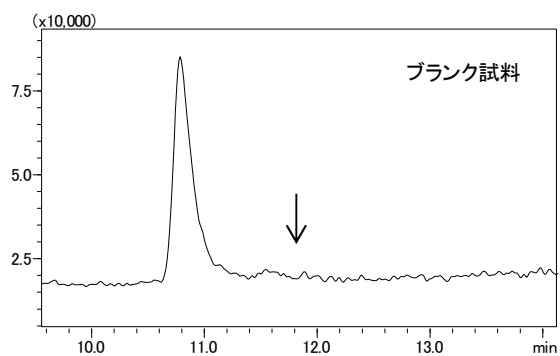


図 20_1 りんごの SIM クロマトグラム
(m/z 228)
試料中 0.01 ppm 相当

図 20_2 りんごの SRM クロマトグラム
(m/z +228.2→43.1)
試料中 0.01 ppm 相当

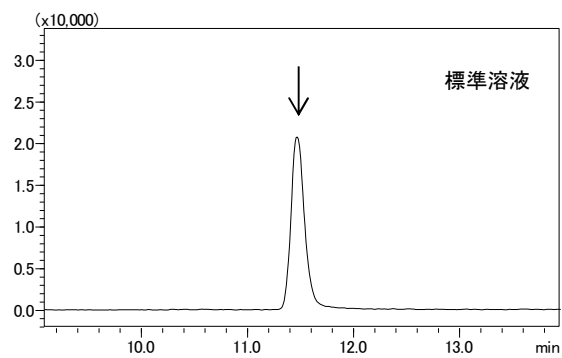
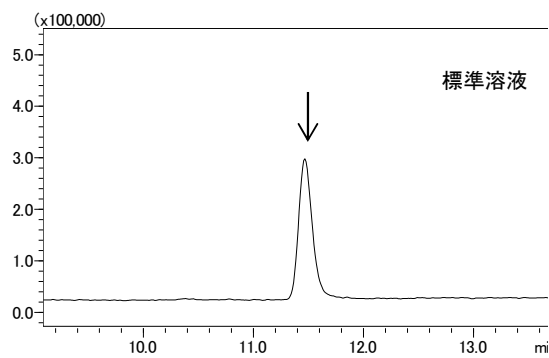
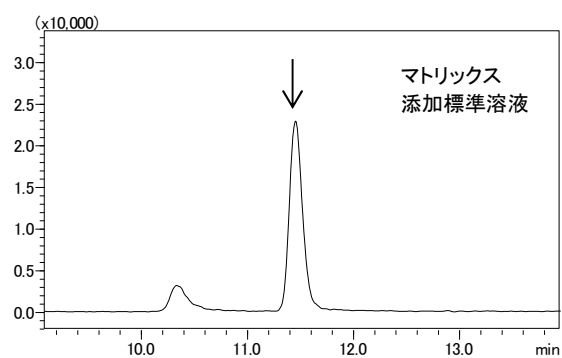
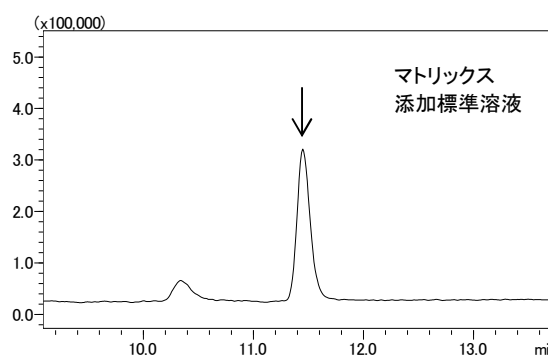
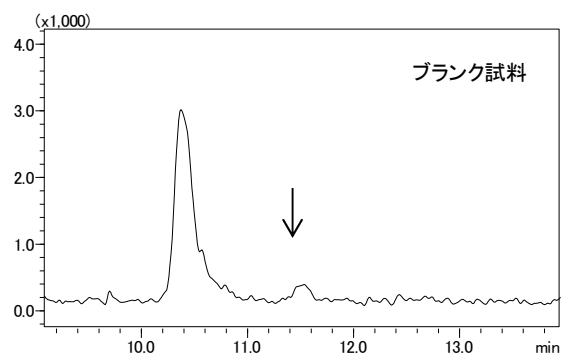
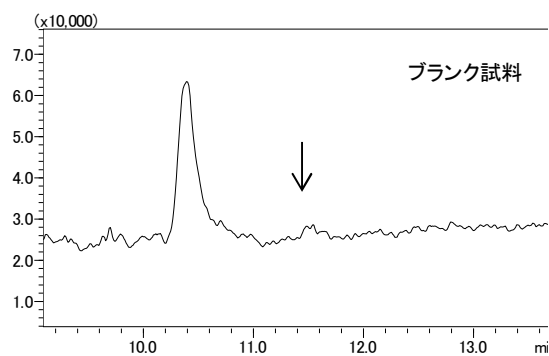


図 21_1 くるみの SIM クロマトグラム
(m/z 228)
試料中 0.01 ppm 相当

図 21_2 くるみの SRM クロマトグラム
(m/z +228.2 \rightarrow 43.1)
試料中 0.01 ppm 相当

③空白試料の代表的なトータルイオンクロマトグラム(TIC)

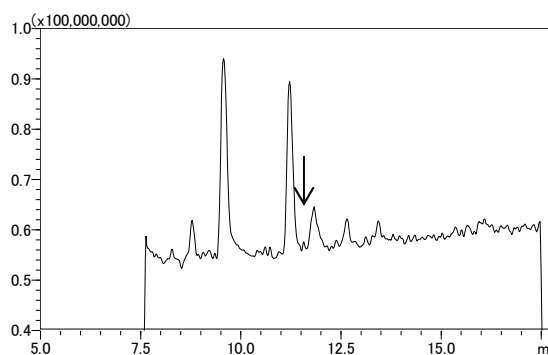


図 22_1 玄米試料の TIC
(スキャン範囲: 50~550 amu)

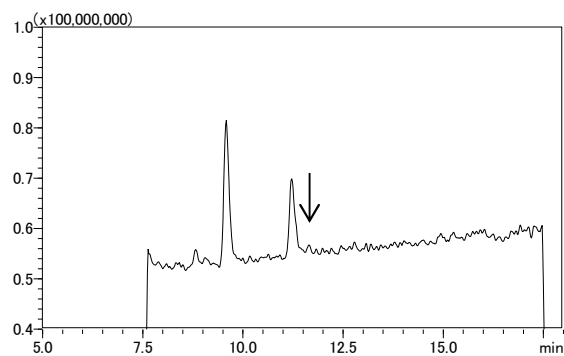


図 22_4 キャベツ試料の TIC
(スキャン範囲: 50~550 amu)

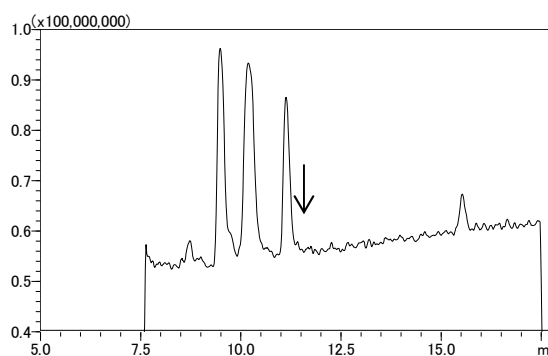


図 22_2 大豆試料の TIC
(スキャン範囲: 50~550 amu)

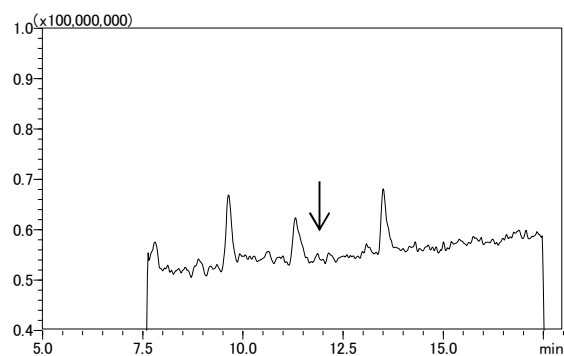


図 22_5 さといも試料の TIC
(スキャン範囲: 50~550 amu)

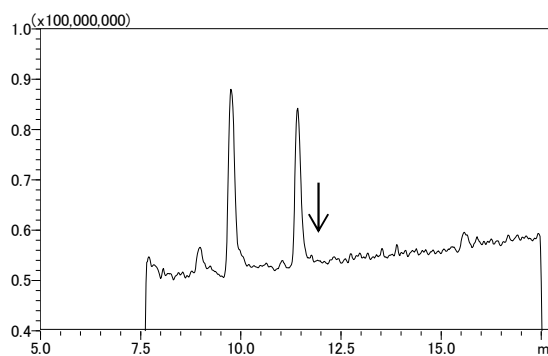


図 22_3 ほうれんそう試料の TIC
(スキャン範囲: 50~550 amu)

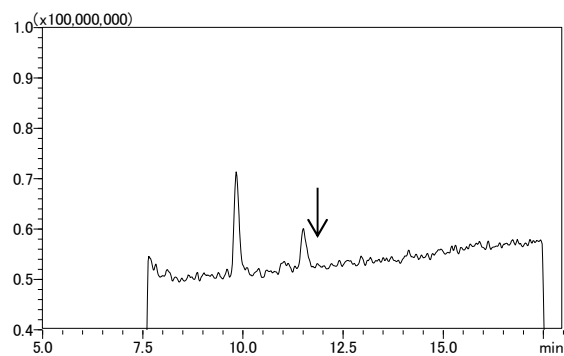


図 22_6 オレンジ試料の TIC
(スキャン範囲: 50~550 amu)

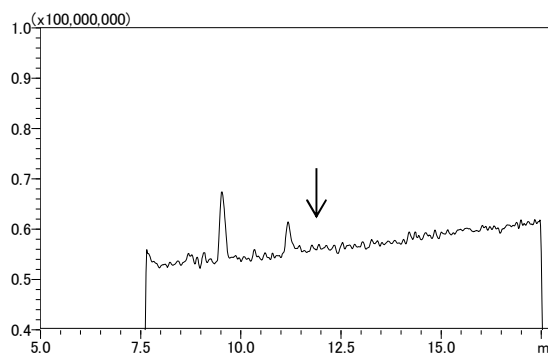


図 22_7 りんご試料の TIC
(スキャン範囲: 50~550 amu)

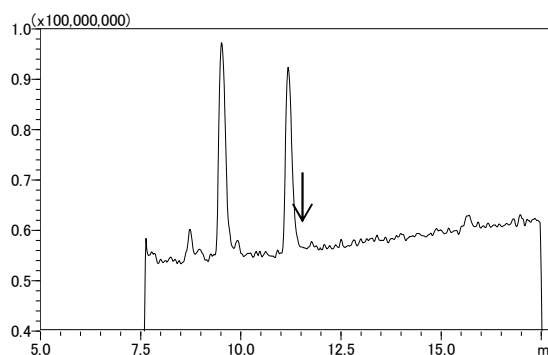


図 22_8 くるみ試料の TIC
(スキャン範囲: 50~550 amu)

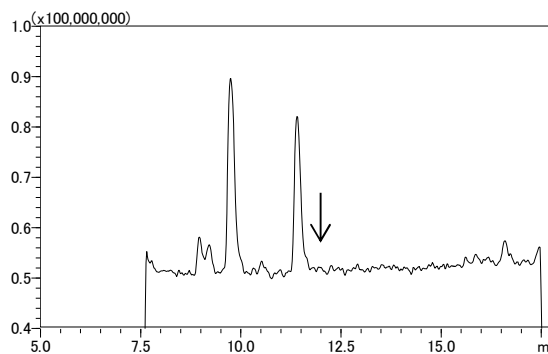


図 22_9 茶試料の TIC
(スキャン範囲: 50~550 amu)