

※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。

食品に残留する農薬等の成分である物質 (ピラスルホトール)の試験法開発事業報告書

ピラスルホトール試験法の検討結果

[緒言]

1. 目的及び試験法の検討方針

ピラスルホトールはバイエルクロップサイエンス株式会社により開発された麦類の広葉雑草用除草剤である。「薬事食品衛生審議会 食品衛生分科会報告書」に記載されている規制対象物質及び残留基準値案を踏まえ、試験法の開発を行った。

1) 農産物の規制対象物質

- ・ピラスルホトール
- ・(5-ヒドロキシ-3-メチル-1*H*-ピラゾール-4-イル) [2-(メチルスルホニル) -4-(トリフルオロメチル) フェニル] メタノン (以下、「代謝物M1」という。)
- ・3-メチル-4-{ [2-(メチルスルホニル) -4-(トリフルオロメチル) フェニル] カルボニル}-1*H*-ピラゾール-5-イル*D*-グルコピラノシド (以下、「代謝物M2」という。)

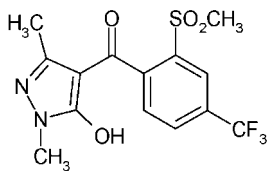
2) 畜水産物の規制対象物質

- ・ピラスルホトール
- ・代謝物M1

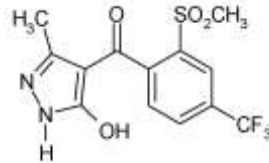
2. 分析対象化合物の構造式、物理化学的性質、基準値等に関する情報

1) 構造式及び物理化学的性質

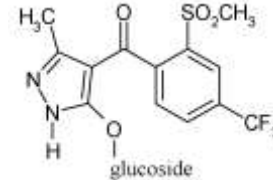
ピラスルホトール



代謝物 M1



代謝物 M2



ピラスルホトール

化学式：C₁₄H₁₃F₃N₂O₄S

分子量：362.3

化学名 (IUPAC)：

(5-hydroxy-1,3-dimethylpyrazole-4-yl) (α, α, α-trifluoro-2-mesylyl-*p*-tolyl) methanone

外 観：ベージュ粉末

融 点：201°C

蒸気圧：2.7×10⁻⁴ mPa (20°C)

溶解性：水 2.3 g/L (蒸留水)、4.2 g/L (pH 4)、69.1 g/L (pH 7)、49.0 g/L (pH 9)

エタノール 21.6 g/L、*n*-ヘキサン 0.038 g/L、トルエン 6.86 g/L、アセトン 89.2 g/L

ジクロロメタン 120~150 g/L、酢酸エチル 37.2 g/L

(以上 20°C)

オクタノール/水分係数：log Pow (23°C) =0.276 (pH 4)、-1.362 (pH 7)、-1.580 (pH 9)

酸解離定数(pKa)：4.2

安定性：pH 5、7及び9の水溶液中で安定。pH 7の水溶液中で光に対し安定。

(出典：The e-Pesticide Manual 15th ed.,ver.5.0)

代謝物M1

化学式：C₁₃H₁₁F₃N₂O₄S

分子量：348.3

2) 基準値

小麦、ライ麦 0.02 ppm

牛の筋肉、脂肪 0.02 ppm

牛の肝臓 0.35 ppm

鶏の筋肉 0.02 ppm

牛乳 0.01 ppm

鶏卵 0.02 ppm

[実験方法]

1. 試料

1) 購入先

うなぎは愛知県の業者にて、その他の試料については都内のスーパーにて購入した。

2) 試料の採取方法

(農産物)

- ①玄米は425 μmの標準網ふるいを通るように粉砕し均一化した。
- ②大豆は425 μmの標準網ふるいを通るように粉砕し均一化した。
- ③ばれいしょは泥を水で軽く洗い落とし、細切均一化した。
- ④ほうれんそうはひげ根及び変質葉を除き、細切均一化した。
- ⑤キャベツは外側変質葉及びしんを除き、細切均一化した。
- ⑥りんごは花おち、しん及び果梗の基部を除き、細切均一化した。
- ⑦オレンジは細切均一化した。
- ⑧茶は425 μmの標準網ふるいを通るように粉砕し均一化した。
- ⑨小麦は425 μmの標準網ふるいを通るように粉砕し均一化した。
- ⑩ライ麦は425 μmの標準網ふるいを通るように粉砕し均一化した。
- ⑪ごまは粉砕し均一化した。

(畜水産物)

- ①牛の筋肉は可能な限り脂肪層を除き、細切均一化した。
- ②牛の脂肪は可能な限り筋肉部を除き、細切均一化した。
- ③牛の肝臓は全体を細切均一化した。
- ④鶏の筋肉は可能な限り脂肪層を除き、細切均一化した。
- ⑤鶏卵は殻を除き、卵白と卵黄を合わせてよく混合し均一化した。
- ⑥牛乳は全体をよく混合して均一化した。
- ⑦はちみつはそば蜜を使用し、加温(40℃以下)してから、よく混合して均一化した。
- ⑧うなぎは活鰻を使用し、頭部を除いた可食部(内臓、骨及び皮を含む)を細切均一化した。
- ⑨さけは可食部(皮を含む)を細切均一化した。
- ⑩しじみは貝殻を除き、約5分間水切りを行った後、細切均一化した。

2. 試薬・試液

1) 標準品

ピラスルホトール標準品：純度99.8% (SIGMA-ALDRICH製)

代謝物M1標準品：純度99.6% (Bayer Crop Science社提供品)

2) 試薬

アセトニトリル、アセトン、酢酸エチル、*n*-ヘキサン、無水硫酸ナトリウム、メタノール
(以上、残留農薬試験用)

メタノール (高速液体クロマトグラフィー用)

塩化ナトリウム、塩酸、酢酸アンモニウム (試薬特級)

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム：InertSep GC/NH₂
(充てん量500 mg/500 mg、ジーエルサイエンス製)

3) 標準溶液、試液の調製方法

① 標準溶液調製方法

標準原液：ピラスルホトール標準品10 mgを精秤し、アセトンに溶解して50 mLに定容し、200 mg/L溶液を調製した。

代謝物M1標準品10 mgを精秤し、アセトンに溶解して50 mLに定容し、200 mg/L溶液を調製した。

検量線用標準溶液：ピラスルホトール標準原液及び代謝物M1標準原液をメタノールで希釈し、ピラスルホトール及び代謝物M1、0.0005～0.02 mg/Lの濃度の混合標準溶液を調製した。

② 試液の調製方法

アセトニトリル、水及び塩酸 (10 : 5 : 1) 混液

アセトニトリル300 mL、水150 mL及び塩酸30 mLを混合した。

10 w/v%塩化ナトリウム溶液

塩化ナトリウム100 gに水を加えて溶解し、1000 mLとした。

メタノール及び塩酸 (99 : 1) 混液

メタノール495 mL及び塩酸5 mLを混合した。

1 mol/L酢酸アンモニウム溶液

酢酸アンモニウム15.43 gを水に溶解し、200 mLとした。

5 mmol/L酢酸アンモニウム溶液

1 mol/L酢酸アンモニウム溶液5 mLに水を加えて1,000 mLとした。

1 mol/L酢酸アンモニウム・メタノール溶液

酢酸アンモニウム15.43 gをメタノールに溶解し、200 mLとした。

5 mmol/L酢酸アンモニウム・メタノール溶液

1 mol/L酢酸アンモニウム・メタノール溶液5 mLにメタノールを加えて1,000 mLとした。

3. 装置

	型式	会社
MS 装置	API-3200	SCIEX 社
LC 装置	Prominence	島津製作所

4. 測定条件

LC 条件																					
カラム	X Bridge MS C18 サイズ：内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μm 会社：Waters 株式会社																				
移動相流速 (mL/min)	0.2																				
注入量 (μL)	5																				
カラム温度 (°C)	40																				
移動相	A液：5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 B液：5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液																				
グラジエント条件	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間(分)</th> <th>A液 (%)</th> <th>B液 (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>85</td> <td>15</td> </tr> <tr> <td>14</td> <td>50</td> <td>50</td> </tr> <tr> <td>14.1</td> <td>5</td> <td>95</td> </tr> <tr> <td>19</td> <td>5</td> <td>95</td> </tr> <tr> <td>19.1</td> <td>85</td> <td>15</td> </tr> </tbody> </table>			時間(分)	A液 (%)	B液 (%)	0.0	85	15	14	50	50	14.1	5	95	19	5	95	19.1	85	15
時間(分)	A液 (%)	B液 (%)																			
0.0	85	15																			
14	50	50																			
14.1	5	95																			
19	5	95																			
19.1	85	15																			
MS 条件																					
測定モード	MS/MS、SRM (選択反応モニタリング)																				
イオン化モード	ESI (+)																				
キャピラリ電圧 (V)	5500																				
ソース温度 (°C)	700																				
コーンガス	窒素 15																				
脱溶媒ガス	窒素 70 psi																				
コリジョンガス	窒素																				
定量イオン (m/z)	ピラスルホトール： +363→251[コーン電圧：31(V)、コリジョンエネルギー：79(eV)] 代謝物 M1： +349→251[コーン電圧：36(V)、コリジョンエネルギー：73(eV)]																				
定性イオン (m/z)	ピラスルホトール： +363→144[コーン電圧：31(V)、コリジョンエネルギー：31(eV)] 代謝物 M1： +349→144[コーン電圧：36(V)、コリジョンエネルギー：27(eV)]																				
保持時間	ピラスルホトール：12.3分 代謝物M1：11.3分																				

5. 定量

[実験方法] 2.3) ①に従い調製した標準溶液5 μL をLC-MS/MSに注入し、得られたピーク面積から絶対検量線法で検量線を作成した。試験溶液5 μL をLC-MS/MSに注入し、得られたピーク面積と作成した検量線からピラスルホトール及び代謝物M1の含量を算出した。

1) 検量線の直線性 (図2)

4. の測定条件において、濃度0.0005 mg/L (0.0025 ng) ~0.02 mg/L (0.1 ng) の範囲で良好な直線性を示した。

2) 標準溶液の検出感度 (図3)

定量限界相当の検出量：0.005 ng (0.001 mg/L \times 5 μL) のピークのS/N比は10以上であった。

6. 試験溶液の調製

1) 試験法の分析操作(農産物)

ピラスルホトールを試料からアセトニトリル、水及び塩酸混液で抽出し、60 $^{\circ}\text{C}$ で30分間加熱した。*n*-ヘキサンで洗浄した後、酢酸エチルに転溶した。グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製した後、LC-MS/MSで定量及び確認した。

① 抽出

a 穀類及び種実類の場合

試料10.0 gを200 mL遠心管に採り、水20 mLを加え、30分間放置した。これにアセトニトリル、水及び塩酸 (10 : 5 : 1) 混液100 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分2,500回転で5分間遠心分離を行い、上澄液を200 mL容メスフラスコに採取した。残留物にアセトニトリル、水及び塩酸 (10 : 5 : 1) 混液 50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離した。上澄液を採り、先の上澄液に合わせた後、アセトニトリル、水及び塩酸 (10 : 5 : 1) 混液を加えて正確に200 mLとした。

この溶液から正確に10 mLを50 mL遠心管に採り、60 $^{\circ}\text{C}$ の水浴中で30分間加熱した後、300 mL分液漏斗に移した。10 w/v%塩化ナトリウム溶液100 mL、塩酸5 mL及び*n*-ヘキサン50 mLを加え、振とうし、ヘキサン層を除去した。

水層を酢酸エチル100 mL及び50 mLで2回振とう抽出した。抽出液を300 mL三角フラスコに採り、無水硫酸ナトリウムを加えて、時々振り混ぜながら15分間放置した。200 mLなす形フラスコにろ過した後、40 $^{\circ}\text{C}$ 以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物にアセトン5 mLを加えて溶かした。

b 豆類の場合

試料10.0 gを200 mL遠心管に採り、水20 mLを加え、30分間放置した。これにアセトニトリル、水及び塩酸 (10 : 5 : 1) 混液100 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分2,500回転で5分間遠心分離を行い、上澄液を200 mL容メスフラスコに採取した。残留物にアセトニトリル、水及び塩酸 (10 : 5 : 1) 混液 50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離した。上澄液を採り、先の上澄液に合わせた後、アセトニトリル、水及び塩酸 (10 : 5 : 1) 混液を加えて正確に200 mLとした。

この溶液から正確に2 mLを50 mL遠心管に採り、60 $^{\circ}\text{C}$ の水浴中で30分間加熱した後、300 mL分液漏斗に移した。10 w/v%塩化ナトリウム溶液100 mL、塩酸5 mL及び*n*-ヘキサン50 mLを加え、振とうし、ヘキサン層を除去した。

水層を酢酸エチル100 mL及び50 mLで2回振とう抽出した。抽出液を300 mL三角フラスコに採り、無水硫酸ナトリウムを加えて、時々振り混ぜながら15分間放置した。200 mLなす形フラスコにろ過した後、40 $^{\circ}\text{C}$ 以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物にアセトン5 mLを加えて溶かした。

c 果実及び野菜の場合

試料20.0 gを200 mL遠心管に採り、アセトニトリル、水及び塩酸（10：5：1）混液100 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分2,500回転で5分間遠心分離を行い、上澄液を200 mL容メスフラスコに採取した。残留物にアセトニトリル、水及び塩酸（10：5：1）混液 50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離した。上澄液を採り、先の上澄液に合わせた後、アセトニトリル、水及び塩酸（10：5：1）混液を加えて正確に200 mLとした。

この溶液から正確に5 mLを50 mL遠心管に採り、60°Cの水浴中で30分間加熱した後、300 mL分液漏斗に移した。10 w/v%塩化ナトリウム溶液100 mL、塩酸5 mL及び*n*-ヘキサン50 mLを加え、振とうし、ヘキサン層を除去した。

水層を酢酸エチル100 mL及び50 mLで2回振とう抽出した。抽出液を300 mL三角フラスコに採り、無水硫酸ナトリウムを加えて、時々振り混ぜながら15分間放置した。200 mLなす形フラスコにろ過した後、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物にアセトン5 mLを加えて溶かした。

d 茶の場合

試料5.00 gを200 mL遠心管に採り、水20 mLを加え、30分間放置した。これにアセトニトリル、水及び塩酸（10：5：1）混液100 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分2,500回転で5分間遠心分離を行い、上澄液を200 mL容メスフラスコに採取した。残留物にアセトニトリル、水及び塩酸（10：5：1）混液 50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離した。上澄液を採り、先の上澄液に合わせた後、アセトニトリル、水及び塩酸（10：5：1）混液を加えて正確に200 mLとした。

この溶液から正確に4 mLを50 mL遠心管に採り、60°Cの水浴中で30分間加熱した後、300 mL分液漏斗に移した。10 w/v%塩化ナトリウム溶液100 mL、塩酸5 mL及び*n*-ヘキサン50 mLを加え、振とうし、ヘキサン層を除去した。

水層を酢酸エチル100 mL及び50 mLで2回振とう抽出した。抽出液を300 mL三角フラスコに採り、無水硫酸ナトリウムを加えて、時々振り混ぜながら15分間放置した。200 mLなす形フラスコにろ過した後、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物にアセトン5 mLを加えて溶かした。

② 精製

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム（500 mg/500 mg）にメタノール及びアセトン各10 mLを順次注入し、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、さらにアセトン10 mLを注入し、流出液は捨てた。次いでメタノール及び塩酸（99：1）混液 30 mLを注入し、溶出液を50 mL遠心管に採り、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物をメタノールに溶解し、正確に5 mLとしたものを試験溶液とした。

秤 取

- | 穀類、豆類及び種実類：試料10.0 gに水20 mLを加え30分間放置
- | 果実及び野菜：試料20.0 g
- ↓ 茶：試料5.00 gに水20 mLを加え30分間放置

アセトニトリル、水及び塩酸（10：5：1）混液抽出

- | アセトニトリル、水及び塩酸（10：5：1）混液100 mLを加え、ホモジナイズ
- | 遠心分離、アセトニトリル・水・塩酸混液層を採る
- | 残留物にアセトニトリル、水及び塩酸（10：5：1）混液50 mLを加え、ホモジナイズ
- | 遠心分離、アセトニトリル・水・塩酸混液層を採る
- | アセトニトリル・水・塩酸混液層を合わせて、アセトニトリル、水及び塩酸（10：5：1）混液を加え、正確に200 mLとする

加水分解

- | 穀類及び種実類：抽出液10 mL分取
- | 豆類：抽出液2 mL分取
- | 果実及び野菜：抽出液5 mL分取
- | 茶：抽出液4 mL分取
- ↓ 60°Cの水浴中で30分間加熱

n-ヘキサン洗浄

- | 10 w/v%塩化ナトリウム溶液100 mL、塩酸5 mL及び
- | n-ヘキサン50 mLを加え、5分間振とう
- ↓ 水層を採る

酢酸エチル転溶

- | 酢酸エチル100 mLを加え、5分間振とう
- | 酢酸エチル層を採る
- | 水層に酢酸エチル50 mLを加え、5分間振とう
- | 酢酸エチル層を合わせ脱水し、減圧濃縮、窒素乾固
- ↓ アセトン5 mLに溶解

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム

- | メタノール及びアセトン各 10 mL で予備洗浄
- | 全量負荷
- | アセトン 10 mL で洗浄
- | メタノール及び塩酸（99：1）混液 30 mL で溶出
- | 溶出液を減圧濃縮、窒素乾固
- ↓ メタノールで正確に 5 mL とし、試験溶液とする

LC-MS/MS定量

5 µL注入

2) 試験法の分析操作(畜水産物)

ピラスルホトールを試料からアセトンで抽出した。*n*-ヘキサンで洗浄した後、酢酸エチルに転溶した。グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製した後、LC-MS/MSで定量及び確認した。

① 抽出

a 筋肉、肝臓、腎臓、乳、卵及び魚介類の場合

試料10.0 gを200 mL遠心管に採り、アセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分2,500回転で5分間遠心分離を行い、アセトン層を200 mL容メスフラスコに採取した。残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離した。アセトン層を採り、先のアセトン層と合わせた後、アセトンを加えて正確に200 mLとした。

この溶液から正確に10 mLを300 mL分液漏斗に採り、10 w/v%塩化ナトリウム溶液100 mL、塩酸5mL及び*n*-ヘキサン50 mLを加え、5分間振とうし、ヘキサン層を除去した。

水層を酢酸エチル100 mL及び50 mLで2回振とう抽出した。抽出液を300 mL三角フラスコに採り、無水硫酸ナトリウムを加えて、時々振り混ぜながら15分間放置した。200 mLなす形フラスコにろ過した後、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物にアセトン5 mLを加えて溶かした。

b はちみつの場合

試料10.0 gを200 mL遠心管に採り、水20 mLを加えて溶かす。これにアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分2,500回転で5分間遠心分離を行い、アセトン層を200 mL容メスフラスコに採取した。残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離した。アセトン層を採り、先のアセトン層と合わせた後、アセトンを加えて正確に200 mLとした。

この溶液から正確に10 mLを300 mL分液漏斗に採り、10 w/v%塩化ナトリウム溶液100 mL、塩酸5mL及び*n*-ヘキサン50 mLを加え、5分間振とうし、ヘキサン層を除去した。

水層を酢酸エチル100 mL及び50 mLで2回振とう抽出した。抽出液を300 mL三角フラスコに採り、無水硫酸ナトリウムを加えて、時々振り混ぜながら15分間放置した。200 mLなす形フラスコにろ過した後、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物にアセトン5 mLを加えて溶かした。

c 脂肪の場合

試料5.00 gを200 mL遠心管に採り、アセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分2,500回転で5分間遠心分離を行い、アセトン層を200 mL容メスフラスコに採取した。残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離した。アセトン層を採り、先のアセトン層と合わせた後、アセトンを加えて正確に200 mLとした。

この溶液から正確に20 mLを300 mL分液漏斗に採り、10 w/v%塩化ナトリウム溶液100 mL、塩酸5mL及び*n*-ヘキサン50 mLを加え、5分間振とうし、ヘキサン層を除去した。

水層を酢酸エチル100 mL及び50 mLで2回振とう抽出した。抽出液を300 mL三角フラスコに採り、無水硫酸ナトリウムを加えて、時々振り混ぜながら15分間放置した。200 mLなす形フラスコにろ過した後、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物にアセトン5 mLを加えて溶かした。

② 精製

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (500 mg/500 mg) にメタノール及びアセトン各10 mLを順次注入し、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、さらにアセトン10 mLを注入し、流出液は捨てた。次いでメタノール及び塩酸 (99 : 1) 混液 30 mLを注入し、溶出液を50 mL遠心管に採り、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物をメタノ

ールに溶解し、正確に5 mLとしたものを試験溶液とした。

秤 取

- | はちみつ及び脂肪以外：試料10.0 g
- | はちみつ：試料10.0 gに水20 mLを加え、溶解する
- ↓ 脂肪：試料5.00 g

アセトン抽出

- | アセトン100 mLを加え、ホモジナイズ
- | 遠心分離、アセトン層を採る
- | 残留物にアセトン50 mLを加え、ホモジナイズ
- | 遠心分離、アセトン層を採る
- ↓ アセトンを加え、正確に200 mLとする

n-ヘキサン洗浄

- | 脂肪以外：抽出液10 mL分取
- | 脂肪：抽出液20 mL分取
- | 10 w/v%塩化ナトリウム溶液100 mL、塩酸5 mL及び
- | n-ヘキサン50 mLを加え、5分間振とう
- ↓ 水層を採る

酢酸エチル転溶

- | 酢酸エチル100 mLを加え、5分間振とう
- | 酢酸エチル層を採る
- | 水層に酢酸エチル50 mLを加え、5分間振とう
- | 酢酸エチル層を合わせ脱水し、減圧濃縮、窒素乾固
- ↓ アセトン5 mLに溶解

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム

- | メタノール及びアセトン各 10 mL で予備洗浄
- | 全量負荷
- | アセトン 10 mL で洗浄
- | メタノール及び塩酸 (99 : 1) 混液 30 mL で溶出
- | 溶出液を減圧濃縮、窒素乾固
- ↓ メタノールで正確に 5 mL とし、試験溶液とする

LC-MS/MS定量

5 µL注入

7. マトリックス添加標準溶液の調製

牛肝臓以外は試験溶液から1 mL分取し溶媒を除去した後、0.001 mg/Lの標準溶液1 mLに溶解したものを、マトリックス添加標準溶液とした。牛肝臓は試験溶液から1 mL分取し溶媒を除去した後、0.0175 mg/Lの標準溶液1 mLに溶解したものを、マトリックス添加標準溶液とした。

[結果及び考察]

1. 測定条件の検討

1) LC 条件の検討

移動相について酢酸アンモニウム溶液及びギ酸溶液を検討したところ、酢酸アンモニウム溶液の方が感度が良好であったため、5 mmol/L酢酸アンモニウム水溶液及び5 mmol/L酢酸アンモニウム・メタノール溶液の混液を用いることとした。

2) MS 条件の検討

イオン源の温度を450℃から700℃まで設定したところ、温度を上げるにつれて感度が若干向上したため、700℃で測定することとした。

ネガティブモードでも測定可能であったが、ピラسلホトール及び代謝物M1とも2イオンを測定できるポジティブモードを選択した。モニターイオンは4. の主なイオン (m/z) に示した。スペクトルを図1に示した。なお、ネガティブモードでは、ピラسلホトールについてはプリカーサーイオン361、プロダクトイオン79、代謝物M1についてはプリカーサーイオン347、プロダクトイオン267、64で測定可能であった。ピラسلホトール及び代謝物M1の標準溶液 (0.001 mg/L) におけるS/NをTable1及び2に示した。

Table1 ピラسلホトールのS/N (0.001 mg/L)

プリカーサーイオン	プロダクトイオン	イオン化モード	S/N	Area (counts)
363	251	ESI (+)	46	4135
363	144	ESI (+)	9	823
361	79	ESI (-)	36	784

Table2 代謝物M1のS/N (0.001 mg/L)

プリカーサーイオン	プロダクトイオン	イオン化モード	S/N	Area (counts)
349	251	ESI (+)	74	6472
349	144	ESI (+)	16	822
347	267	ESI (-)	83	2197
347	64	ESI (-)	49	394

3) 定量限界

①大豆及び茶以外

$$0.01 \text{ mg/kg} [(5 \text{ mL}/0.5 \text{ g}^{*1}) \times (0.005 \text{ ng}/5 \text{ }\mu\text{L})]$$

*¹ 20.0 g × 5 mL/200 mL (果実及び野菜類の場合)

10.0 g × 10 mL/200 mL (穀類及び種実類、脂肪以外の畜水産物の場合)

5.00 g × 20 mL/200 mL (脂肪の場合)

②大豆及び茶

$$0.05 \text{ mg/kg} [(5 \text{ mL}/0.1 \text{ g}^{*2}) \times (0.005 \text{ ng}/5 \text{ }\mu\text{L})]$$

*² 10.0 g × 2 mL/200 mL (豆類の場合)

5.00 g × 4 mL/200 mL (茶の場合)

2. 試験溶液調製法の検討

1) 抽出方法の検討

①抽出溶媒の選択

農産物はバイエルクロップサイエンス株式会社の情報を元に、アセトニトリル、水及び塩酸（10：5：

1) 混液を用いて抽出した。

畜水産物は試料との混和性を考慮し、アセトンを用いた。

②ケイソウ土吸着

アセトン150 mLにピラスルホトール及び代謝物M1各0.1 µgを添加し、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。減圧濃縮及び窒素乾固後、メタノールで定容し回収率を求めた。結果をTable3に示した。顕著な吸着が認められたため、ケイソウ土を用いた吸引ろ過ではなく、遠心分離後に上清を直接分取する方法とした。

Table3 ケイソウ土への吸着

	回収率 (%)
ピラスルホトール	2
代謝物 M1	1

③分離

農産物の場合、試料によってはケイソウ土を使用しないと目詰まりすることがあり、吸引ろ過が困難であったため、農産物、畜水産物ともホモジナイズ後、遠心分離することとした。なお、残留物が舞い上がった場合は、綿栓でのろ過を実施した。

2) 加水分解

農産物は代謝物M2も規制対象物質であるため、バイエルクロップサイエンス株式会社の情報を元に、アセトニトリル、水及び塩酸（10：5：1）混液を用いて抽出した抽出液を60°Cで30分間加熱し、代謝物M2を代謝物M1に加水分解した。

3) 精製方法の検討

① 分配

a 転溶時の酸濃度の検討

低濃度の塩酸酸性下で転溶率の確認を行ったところ、転溶率が低かったため、塩酸の濃度を検討した。

ピラスルホトール及び代謝物M1各0.1 µgに、塩酸、10 w/v%塩化ナトリウム及び*n*-ヘキサン50 mLを加え、*n*-ヘキサン洗浄を行った後、酢酸エチル100 mL及び50 mLで2回振とう抽出を行った。

塩酸の量はTable4の通りとした。結果をTable4に示した。塩酸5 mL以上を加えた場合、回収率が良好だったため、塩酸5 mLを加えることとした。

Table4 *n*-ヘキサン及び酢酸エチルへの転溶率 (%)

	水層 pH	1 mol/L 塩酸		塩酸	
		1 mL (pH 2)	1 mL (pH 1)	5 mL (pH 0.5)	10 mL (pH 0.3)
ピラスルホトール	<i>n</i> -ヘキサン	4	5	3	3
	酢酸エチル	50	79	86	86
代謝物 M1	<i>n</i> -ヘキサン	0	0	0	0
	酢酸エチル	62	101	101	104

b *n*-ヘキサン及び酢酸エチルへの転溶

ピラسلホトール及び代謝物M1各0.1 µgに塩酸5 mL、10 w/v%塩化ナトリウムを加え、*n*-ヘキサン50 mL、酢酸エチル100 mL及び50 mLで3回振とう抽出を行った。結果をTable5に示した。*n*-ヘキサンでは転溶されず、酢酸エチルでの2回転溶で良好な回収率が得られた。

Table5 *n*-ヘキサン及び酢酸エチルへの転溶 (%)

	<i>n</i> -ヘキサン		酢酸エチル		合計
	50 mL	100 mL (1回目)	50 mL (2回目)	50 mL (2回目)	
ピラسلホトール	2	85	2	0	89
代謝物 M1	0	95	2	0	97

c アセトニトリル/ヘキサン分配

ピラسلホトール及び代謝物M1各1 µgを窒素乾固後、*n*-ヘキサン30 mLに溶解し、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLで3回抽出を行った。結果をTable6に示した。アセトニトリル/ヘキサン分配では十分な回収率が得られなかった。

Table6 アセトニトリル/ヘキサン分配 (%)

	<i>n</i> -ヘキサン飽和アセトニトリル			合計
	30 mL (1回目)	30 mL (2回目)	30 mL (2回目)	
ピラسلホトール	45	8	4	57
代謝物 M1	9	3	0	12

上記検討結果より、転溶時に塩酸5 mLを加えることとした。また、アセトニトリル/ヘキサン分配では十分な回収率が得られなかったため、転溶時に予め*n*-ヘキサン洗浄を行うことで脱脂操作とした。

② 無水硫酸ナトリウム吸着

[実験方法]6の分析法に従い、酢酸エチル転溶を行った後、酢酸エチル層にピラسلホトール及び代謝物M1各0.1 µgを添加し、適量の無水硫酸ナトリウムを加え15分間放置した。減圧濃縮及び窒素乾固後、メタノールで定容し回収率を求めた。結果をTable7に示した。無水硫酸ナトリウムへの顕著な吸着が認められなかったため、脱水操作に無水硫酸ナトリウムを用いることとした。

Table7 無水硫酸ナトリウムへの吸着

	回収率 (%)
ピラسلホトール	90
代謝物 M1	93

③ 減圧濃縮及び窒素乾固

メタノール10 mLにピラسلホトール及び代謝物M1各0.1 µgを添加し、減圧濃縮後窒素乾固し、メタノールで定容し回収率を求めた。結果をTable8に示した。減圧濃縮及び窒素乾固操作による影響は認められなかった。

Table8 減圧濃縮及び窒素乾固

	回収率 (%)
ピラسلホトール	97
代謝物 M1	97

④ カラム精製

a グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムによる精製

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムをメタノール及びアセトン各10 mLで予備洗浄した後、アセトン5 mLで負荷した。溶出状況をTable9に示した。塩酸-メタノール (1 : 99) 0-30 mLで良好な回収率が得られた。

Table9 グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムからの溶出状況 (%)

	アセトン		塩酸-メタノール (1 : 99)			合計
	5 mL (負荷)	+10 mL	0-20 mL	20-30 mL	30-40 mL	
代謝物 M1	0	83	5	0	88	

Inert Sep GC/NH₂ (充てん量 500 mg、ジーエルサイエンス製)

添加量 : 0.1 µg

b ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムによる精製

ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムをメタノール及び水各10 mLで予備洗浄した後、水5 mLで負荷した。溶出状況をTable10に示した。メタノール0-20 mLで溶出されたが、十分な回収率は得られなかった。

Table10 ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムからの溶出状況 (%)

	水		メタノール		合計
	5 mL (負荷)	+5 mL	0-20 mL	20-30 mL	
ピラスルホトール	0	83	0	83	
代謝物 M1	0	81	0	81	

Oasis HLB (充てん量 500mg、ウォーターズ製)

添加量 : 0.1 µg

c オクタデシルシリカ化シリカゲルミニカラムによる精製

オクタデシルシリカ化シリカゲルミニカラムをアセトニトリル及び水各10 mLで予備洗浄した後、アセトニトリル-水 (1 : 9) 5 mLで負荷した。溶出状況をTable11に示した。アセトニトリル-水 (5 : 5) で大部分が溶出された。

Table11 オクタデシルシリカ化シリカゲルミニカラムからの溶出状況 (%)

	アセトニトリル-水				合計
	(1 : 9)	(3 : 7)	(5 : 5)	(7 : 3)	
	5 mL (負荷) +5 mL	10 mL	10 mL	10 mL	
ピラスルホトール	82	11	4	4	101
代謝物 M1	87	14	2	0	103

MEGA Bond Elut C18 (充てん量 1 g、アジレントテクノロジー製)

添加量 : 1 µg

d 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をメタノール及びアセトン各10 mLで予備洗浄した後、アセトン5 mLで負荷した。溶出状況をTable12に示した。アセトン-メタノール（3：7）で大部分が溶出された。

Table12 シリカゲルミニカラムからの溶出状況 (%)

	アセトン		アセトン-メタノール		メタノール	合計
			(5 : 5)	(3 : 7)		
	5 mL (負荷)	+5 mL	10 mL	10 mL	10 mL	
ピラスルホトール	2		98	4	2	106
代謝物 M1	0		80	17	3	100

Presep-C Silica Gel (充てん量 800 mg、ジーエルサイエンス製)

添加量 : 1 µg

e 強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラムによる精製

強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラムをメタノール及び水各10 mLで予備洗浄した後、アンモニア水-水（5：95）5 mLで負荷した。溶出状況をTable13に示した。ぎ酸-メタノール（2：98）で溶出されたが、代謝物M1は十分な回収率が得られなかった。

Table13 強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラムからの溶出状況 (%)

	アンモニア水		ぎ酸-		塩酸-	合計
	-水	メタノール	メタノール	メタノール	メタノール	
	(5 : 95)		(2 : 98)		(1 : 99)	
	5 mL (負荷)	10 mL	0-10 mL	10-20 mL	20 mL	
	+5 mL					
ピラスルホトール	0	0	93	1	0	94
代謝物 M1	0	0	78	1	0	79

Oasis MAX (充てん量 500mg、ウォーターズ製)

添加量 : 0.1 µg

カラムによる精製の検討では、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム、オクタデシルシリカ化シリカゲルミニカラム及びシリカゲルミニカラムで良好な回収率が得られた。これらのカラムの中で、試料共存下ではシリカゲルミニカラムからの回収が安定的に得られなかったことやオクタデシルシリカ化シリカゲルミニカラムでは精製効果が高くなかったことから、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムを用いることとした。

⑤大豆及び茶についての追加精製の検討

大豆及び茶においては、夾雑成分によるイオン化阻害の影響で0.01 ppm相当添加では十分な回収率が得られなかったため、追加精製として加水分解前に*n*-ヘキサン洗浄を行った。

抽出液を大豆は10 mL、茶は20 mLを分取し、大豆のみアセトニトリル、水及び塩酸（10：5：1）混液を10 mL加えた。さらに*n*-ヘキサン10 mLを加え、5分間振とうした。アセトニトリル・水・塩酸混液層を採り、60℃の水浴中で30分間加熱した。加水分解以降は前述の方法に従い行った。結果をTable14～16に示した。追加精製により回収率は向上したものの、十分な真度は得られなかったため、大豆及び茶については抽出後の分取量を減らし、定量下限を0.05 ppmとした。

Table14 ピラスルホトール（大豆及び茶）添加回収試験結果
（加水分解前に*n*-ヘキサン洗浄を行った場合）

試料	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)
		1	2	3	4	5		
大豆	0.01	67	57	56	61	58	60	7.4
茶	0.01	47	41	43	44	37	42	8.8

Table15 代謝物M1（大豆及び茶）添加回収試験結果
（加水分解前に*n*-ヘキサン洗浄を行った場合）

試料	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)
		1	2	3	4	5		
大豆	0.01	84	83	85	75	83	82	4.9
茶	0.01	66	60	87	75	52	68	19.9

Table16 試料マトリックスの測定への影響（農産物）
（加水分解前に*n*-ヘキサン洗浄を行った場合）

試料	添加濃度 (ppm)	ピラスルホトール	代謝物 M1
大豆	0.01	54	88
茶	0.01	38	93

3. 添加回収試験

農産物は玄米、大豆、ばれいしょ、ほうれんそう、キャベツ、りんご、オレンジ及び茶の8項目に小麦、ライ麦及びごまを加えた11品目を試料とした。畜水産物は牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、サケ、うなぎ、しじみ、牛乳、鶏卵及びはちみつの9項目に鶏の筋肉を加えた10品目を試料とした。

ピラスルホトール及び代謝物M1を0.01 ppm（牛の肝臓のみ0.175 ppm）相当添加し、[実験方法]6の分析法に従って添加回収試験を行った。なお、代謝物M2は標準品を入手できなかったため、添加回収試験は行えなかった。

大豆及び茶以外の農産物において、ピラスルホトールの真度は73～93%、代謝物M1の真度は74～93%であった。また、畜水産物において、ピラスルホトールの真度は72～99%、代謝物M1の真度は80～97%であった。大豆及び茶以外の試料について、良好な回収率が得られた。

一方、大豆のピラスルホトールの真度は23%、代謝物M1の真度は41%であった。また、茶のピラスルホトールの真度は26%、代謝物M1の真度は74%であった。追加精製を検討したが、良好な回収率は得られなかった。そこで、添加濃度を0.05 ppm相当に上げて試験を行ったところ良好な回収率が得られた。0.05 ppm相当添加の場合、大豆のピラスルホトールの真度は71%、代謝物M1の真度は74%であった。また、茶のピラスルホトールの真度は70%、代謝物M1の真度は102%であった。

なお、大豆及び茶以外の農産物並びに畜水産物においては0.01 ppm相当、大豆及び茶においては0.05 ppm相当の添加回収試験でのクロマトグラムのS/Nはいずれも10以上を十分に満たした結果であった。結果をTable17～20に示した。

Table17 ピラスルホトール（農産物）添加回収試験結果

試料	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)
		1	2	3	4	5		
玄米	0.01	87	92	85	85	85	87	3.5
大豆	0.01	28	23	15	38	11	23	46.5
ばれいしょ	0.01	85	79	73	72	82	78	7.2
ほうれんそう	0.01	76	71	65	75	80	73	7.8
キャベツ	0.01	96	84	109	87	90	93	10.6
りんご	0.01	67	88	70	72	80	75	11.4
オレンジ	0.01	78	86	80	84	79	81	4.2
茶	0.01	25	25	26	26	27	26	3.2
小麦	0.01	83	87	75	77	78	80	6.1
ライ麦	0.01	85	89	81	87	86	86	3.4
ごま	0.01	77	87	81	72	85	80	7.6
大豆	0.05	71	67	77	66	72	71	6.2
茶	0.05	67	70	70	68	73	70	3.3

Table18 代謝物M1（農産物）添加回収試験結果

試料	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)
		1	2	3	4	5		
玄米	0.01	94	89	98	90	87	92	4.8
大豆	0.01	39	34	32	73	26	41	45.3
ばれいしょ	0.01	81	94	84	66	81	81	12.4
ほうれんそう	0.01	84	90	81	83	73	82	7.5
キャベツ	0.01	72	70	84	72	99	79	15.5
りんご	0.01	71	103	68	64	84	78	20.3
オレンジ	0.01	87	89	93	99	89	91	5.2
茶	0.01	64	73	78	78	79	74	8.5
小麦	0.01	75	85	98	88	93	88	9.9
ライ麦	0.01	75	70	69	73	85	74	8.6
ごま	0.01	94	96	87	95	94	93	3.8
大豆	0.05	71	72	79	76	71	74	4.8
茶	0.05	102	94	112	90	114	102	10.4

Table19 ピラスルホトール（畜水産物）添加回収試験結果

試料	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)
		1	2	3	4	5		
牛の筋肉	0.01	80	78	64	87	88	79	12.2
牛の脂肪	0.01	86	81	73	99	91	86	11.5
牛の肝臓	0.175	81	76	69	63	70	72	9.6
サケ	0.01	74	73	68	85	75	75	8.3
うなぎ	0.01	71	72	82	93	80	80	11.1
しじみ	0.01	77	84	83	75	70	78	7.4
牛乳	0.01	101	100	99	98	95	99	2.3
鶏卵	0.01	77	81	86	90	71	81	9.2
はちみつ	0.01	80	82	100	75	80	83	11.6
鶏の筋肉	0.01	110	81	95	69	91	89	17.3

Table20 代謝物M1（畜水産物）添加回収試験結果

試料	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)
		1	2	3	4	5		
牛の筋肉	0.01	82	95	66	88	87	84	12.9
牛の脂肪	0.01	107	88	68	94	104	92	16.9
牛の肝臓	0.175	85	83	76	76	81	80	5.1
サケ	0.01	91	67	69	100	85	82	17.3
うなぎ	0.01	84	83	99	84	74	85	10.6
しじみ	0.01	78	90	85	86	77	83	6.7
牛乳	0.01	96	98	104	93	95	97	4.3
鶏卵	0.01	78	89	83	78	81	82	5.5
はちみつ	0.01	86	95	96	79	81	87	9.0
鶏の筋肉	0.01	97	80	91	59	82	82	17.7

4. 試料マトリックスの測定への影響

試料由来の夾雑物質による測定への影響を把握するために、[実験方法]7に従ってマトリックス添加標準溶液を調製し、溶媒標準溶液に対するマトリックス添加標準溶液のピーク面積の比を求めた。

茶で添加濃度 0.01 ppm 相当に設定した場合、ピラسلホトールにおいて試料マトリックスの影響による阻害が認められた。そこで、添加濃度 0.05 ppm 相当に上げたところ、阻害は軽減されたが、代謝物 M1 において試料マトリックスの影響による促進が確認された。その他の試料では良好な結果が得られた。結果をTable21及び22に示した。

Table21 試料マトリックスの測定への影響（農産物）

試料	添加濃度 (ppm)	ピラسلホトール	代謝物 M1
玄米	0.01	100	95
大豆	0.01	74	102
ばれいしょ	0.01	86	95
ほうれんそう	0.01	91	93
キャベツ	0.01	102	93
りんご	0.01	85	83
オレンジ	0.01	79	94
茶	0.01	41	108
小麦	0.01	93	86
ライ麦	0.01	97	108
ごま	0.01	96	108
大豆	0.05	97	97
茶	0.05	75	121

数値 (%) : (マトリックス標準溶液のピーク面積/標準溶液のピーク面積) × 100

Table22 試料マトリックスの測定への影響（畜水産物）

試料	添加濃度 (ppm)	ピラسلホトール	代謝物 M1
牛の筋肉	0.01	96	111
牛の脂肪	0.01	95	100
牛の肝臓	0.175	99	99
サケ	0.01	88	99
うなぎ	0.01	78	100
しじみ	0.01	90	97
牛乳	0.01	94	106
鶏卵	0.01	92	108
はちみつ	0.01	93	101
鶏の筋肉	0.01	91	108

数値 (%) : (マトリックス標準溶液のピーク面積/標準溶液のピーク面積) × 100

5. 無添加試料の妨害状況

農産物11品目及び畜水産物10品目の何れの試料においても妨害ピークは認められなかった。ピラسلホトール及び代謝物M1のクロマトグラムを図4に示した。

[結論]

農産物についてはピラスルホトールを試料からアセトニトリル、水及び塩酸混液で抽出し、加熱し、代謝物M2を代謝物M1に加水分解する。*n*-ヘキサンで洗浄した後、酢酸エチルに転溶する。グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製した後、LC-MS/MSで定量及び確認する方法を提案する。

この試験法を玄米、ばれいしょ、ほうれんそう、キャベツ、りんご、オレンジ、小麦、ライ麦及びごまに適用した場合、ピラスルホトールの真度は73～93%、代謝物M1の真度は74～93%であり、定量限界は0.01 mg/kgが可能であることが確認できた。

なお、定量限界を0.01 mg/kgに設定した試験では、大豆及び茶では添加回収率が低く、茶では試料由来の夾雑物による測定への影響を大きく受けた。試料由来の夾雑物による影響を軽減させるため、定量限界を0.05 mg/kgに設定し、試料分取量を減らして試験を行ったところ、大豆のピラスルホトールの真度は71%、代謝物M1の真度は74%であった。また、茶のピラスルホトールの真度は70%、代謝物M1の真度は102%であり、大豆及び茶にこの試験を適用した場合、定量限界は0.05 mg/kgが可能であることが確認できた。

また、畜水産物についてはピラスルホトールを試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンで洗浄した後、酢酸エチルに転溶する。グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製した後、LC-MS/MSで定量及び確認する方法を提案する。

この試験法を牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、サケ、うなぎ、しじみ、牛乳、鶏卵、はちみつ及び鶏の筋肉に適用した場合、ピラスルホトールの真度は72～99%、代謝物M1の真度は80～97%であり、定量限界は0.01 mg/kgが可能であることが確認できた。

[参考文献]

Study No.:P612050574 一部抜粋：バイエルクロップサイエンス株式会社、未公開

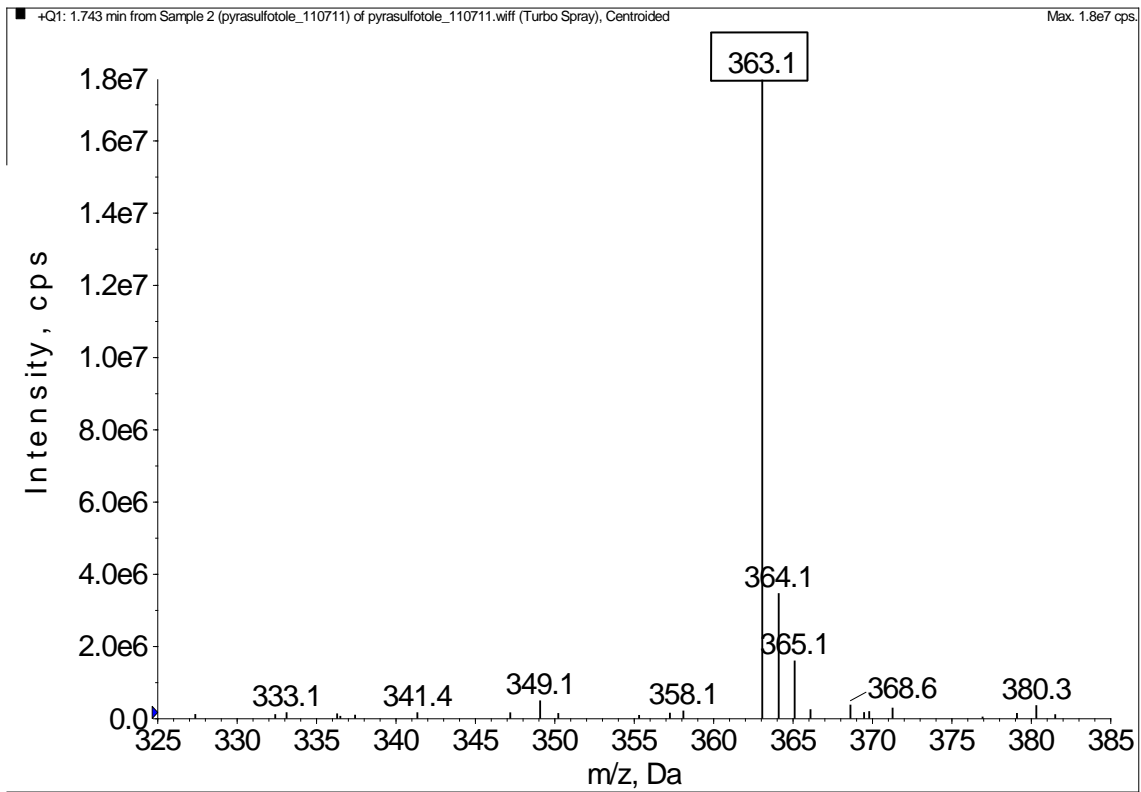


図 1-1 ピラスルホトールのプリカーサーイオンのマススペクトル

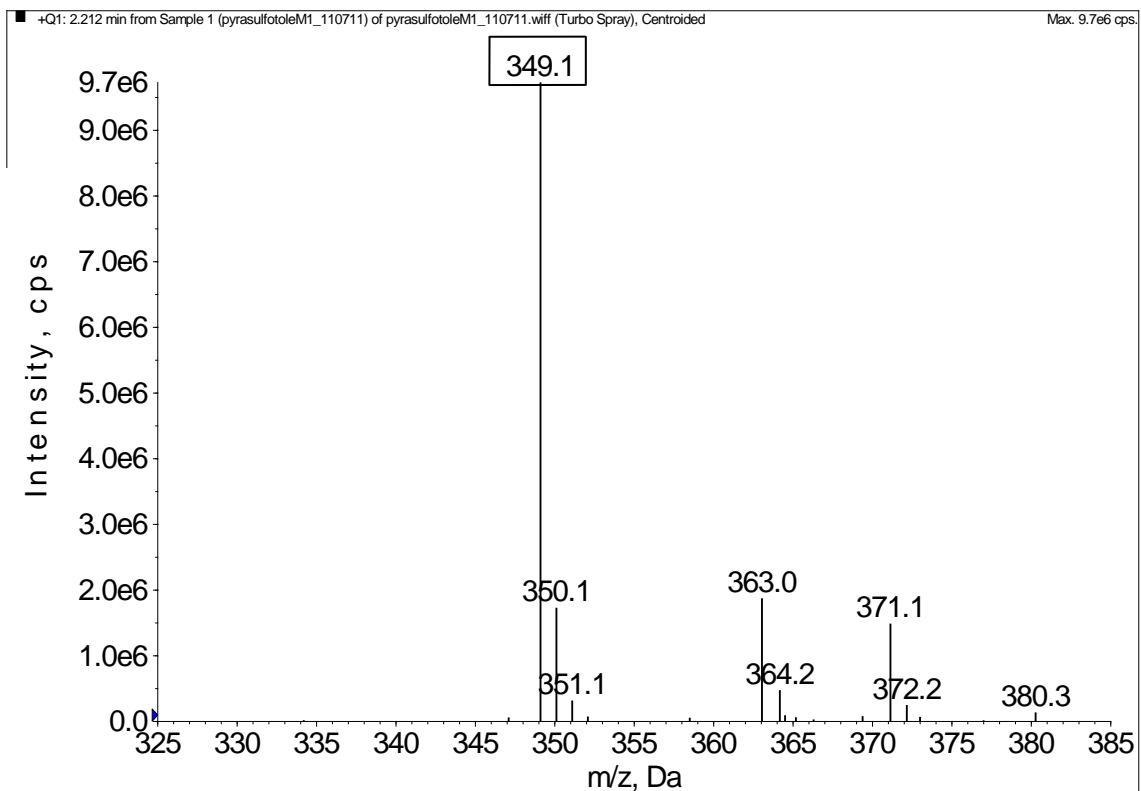


図 1-2 代謝物 M1 のプリカーサーイオンのマススペクトル

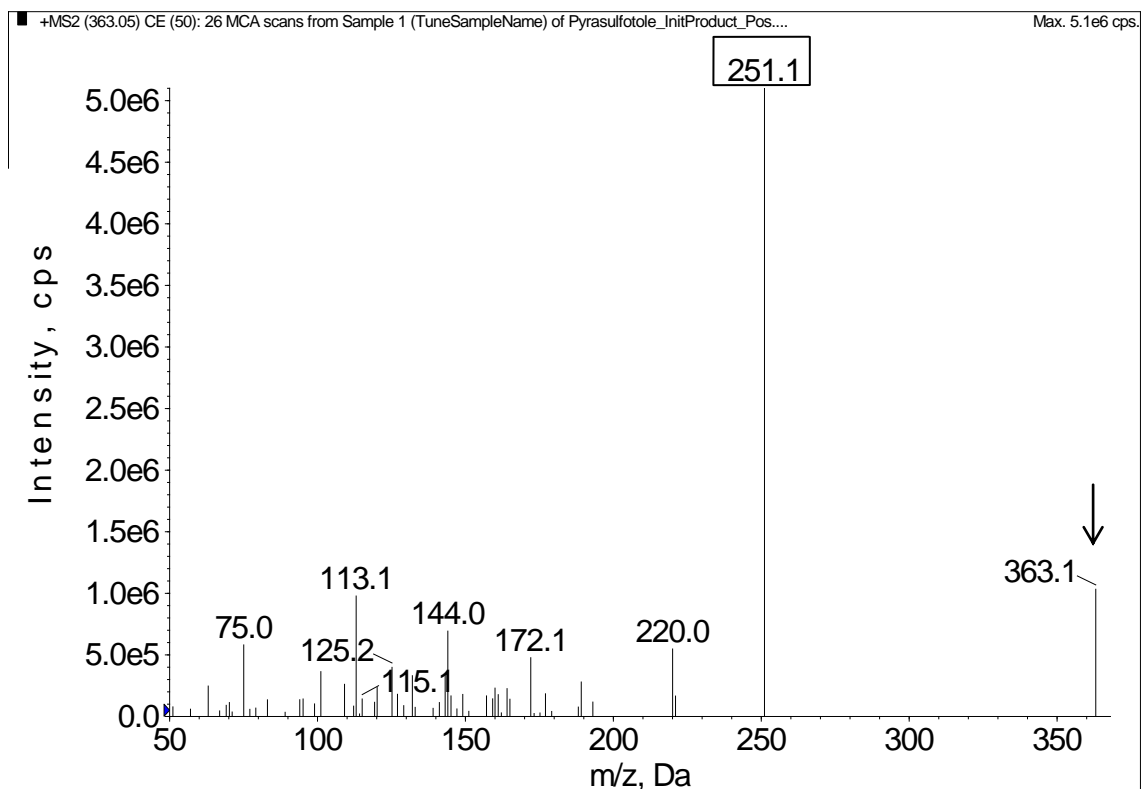


図 1-3 ピラスルホトールのプリカーサーイオン m/z 363 のマススペクトル

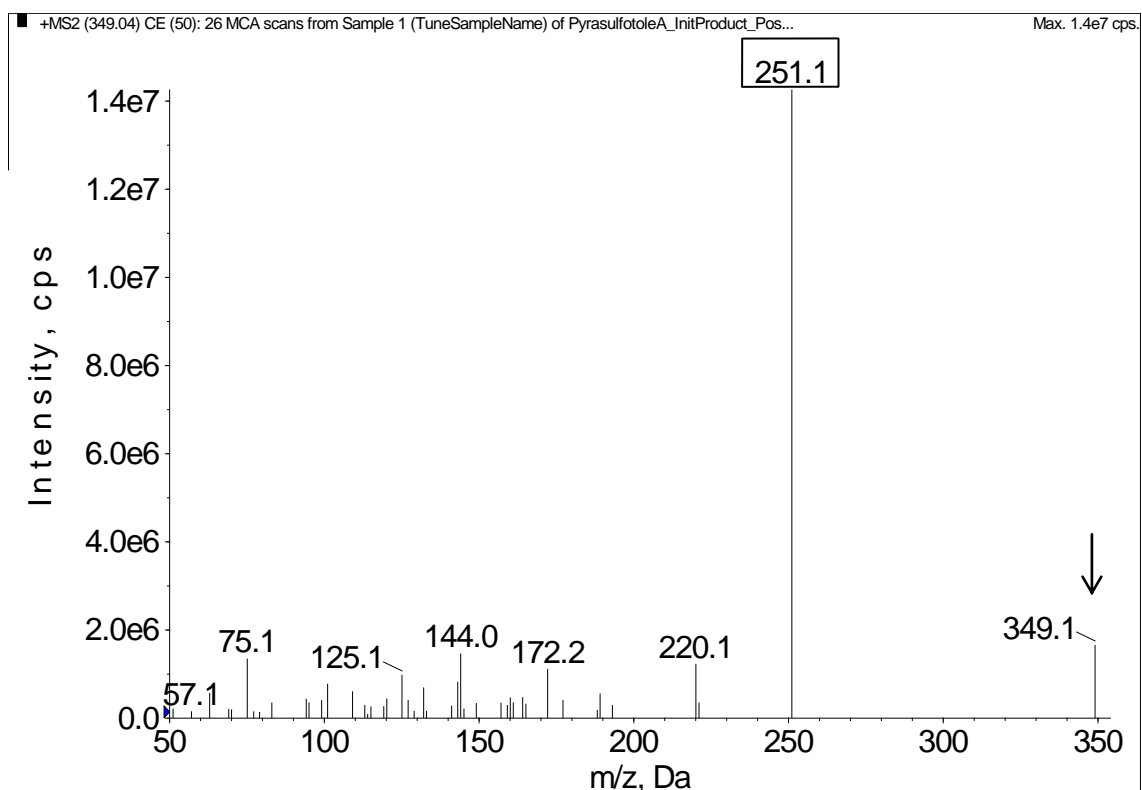
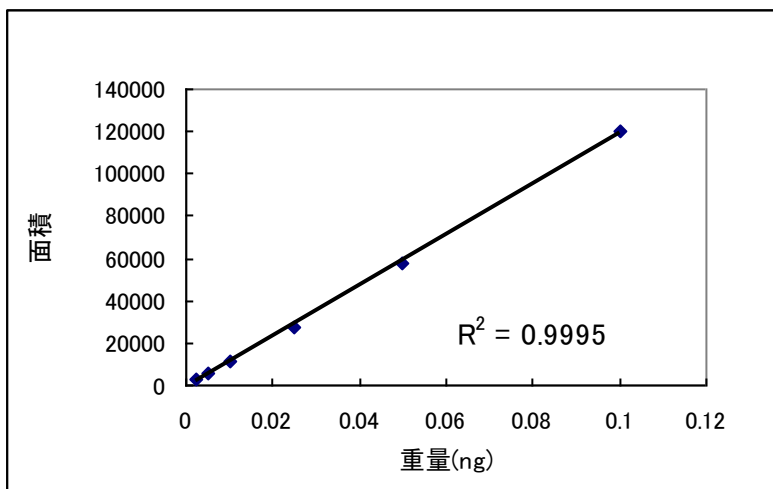
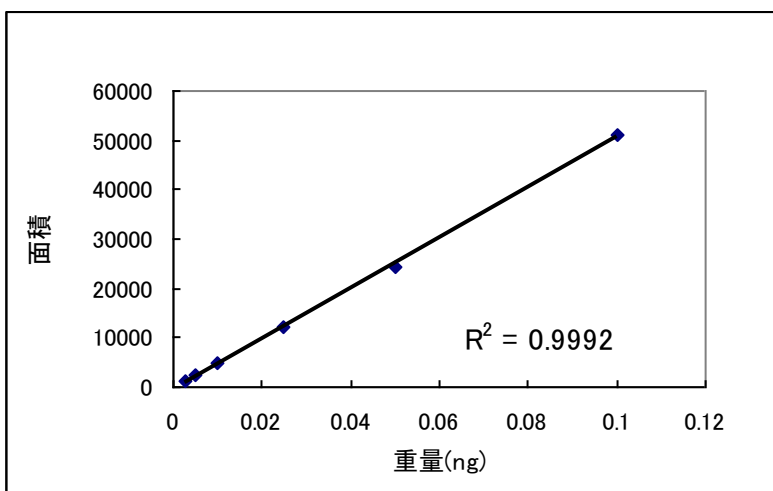


図 1-4 代謝物 M1 のプリカーサーイオン m/z 349 のマススペクトル



データ処理装置設定条件の一例
 機種（メーカー）：Analyst
 （アプライドバイオシステムズ株式会社製）
 ピークの定量方法：ピーク面積法
 検量線の種類：最小二乗法
 検量線基準ピークの重量：0.0025 ng～0.1 ng
 検量線傾き (a) : a=1205331.018
 検量線切片 (b) : b=-1263.321342

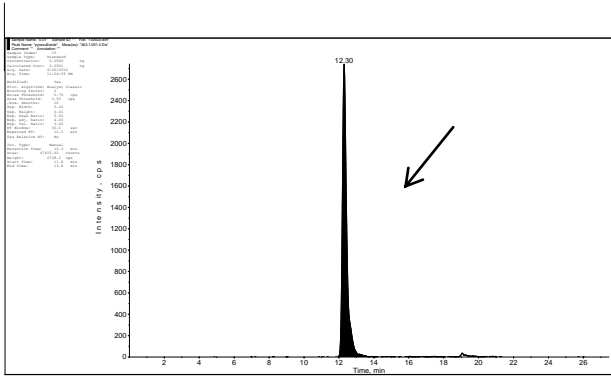
図2-1 ピラスルホトール検量線（一例）



データ処理装置設定条件の一例
 機種（メーカー）：Analyst
 （アプライドバイオシステムズ株式会社製）
 ピークの定量方法：ピーク面積法
 検量線の種類：最小二乗法
 検量線基準ピークの重量：0.0025 ng～0.1ng
 検量線傾き (a) : a=511472.6306
 検量線切片 (b) : b=-462.1443975

図2-2 代謝物M1検量線（一例）

標準品0.05 ng



標準品0.005 ng (定量限界相当)

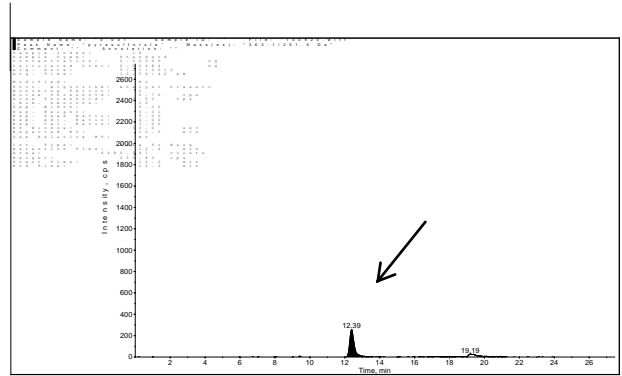
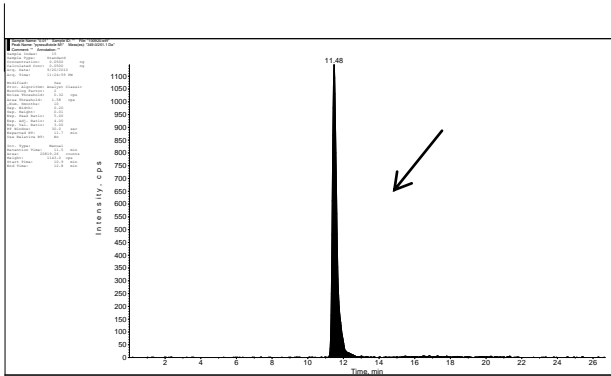


図3-1 ピラスルホトール標準溶液のクロマトグラム (一例)

標準品0.05 ng



標準品0.005 ng (定量限界相当)

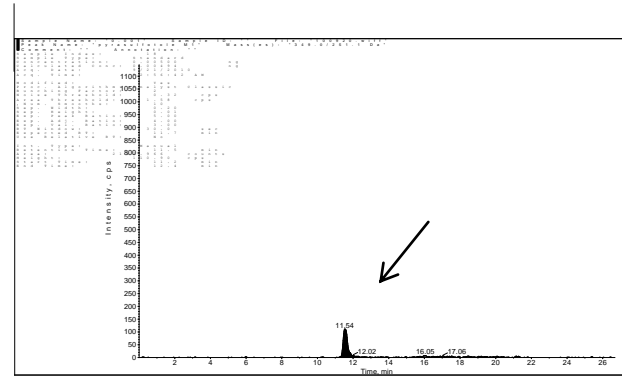
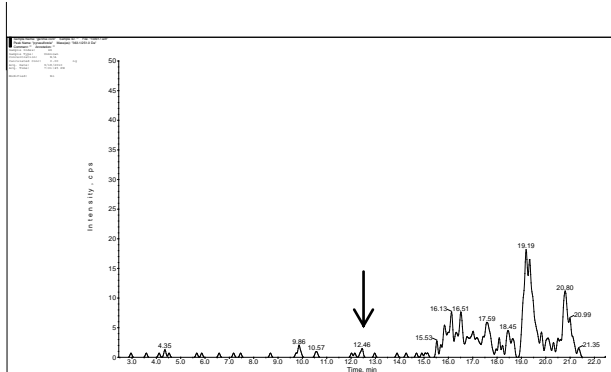
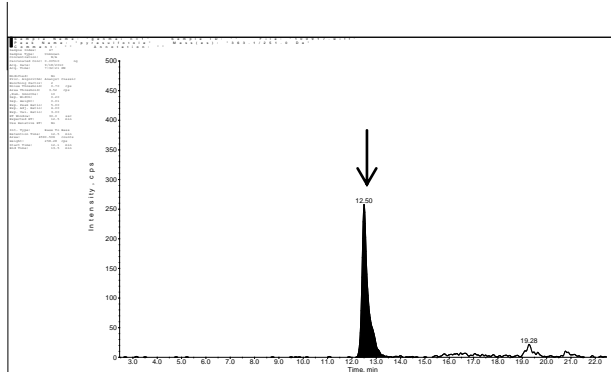


図 3-2 代謝物 M1 標準溶液のクロマトグラム (一例)

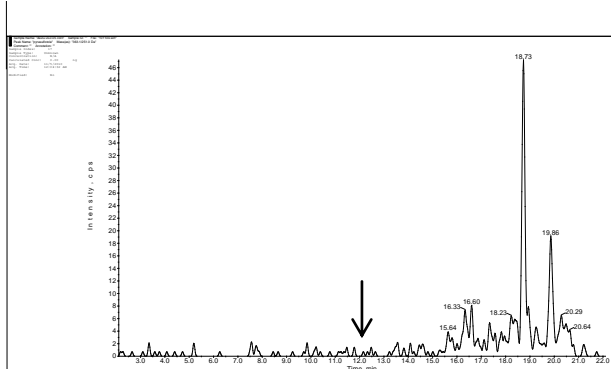
玄米 無添加



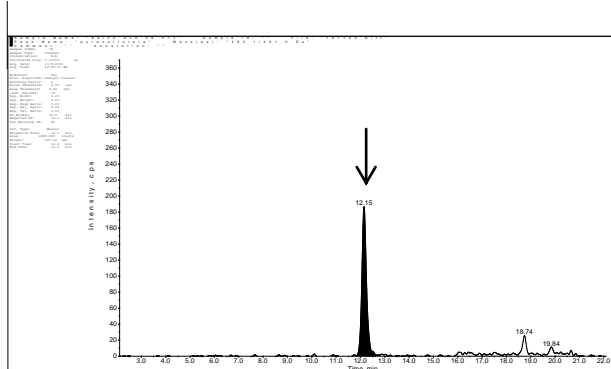
玄米 0.01 ppm 添加



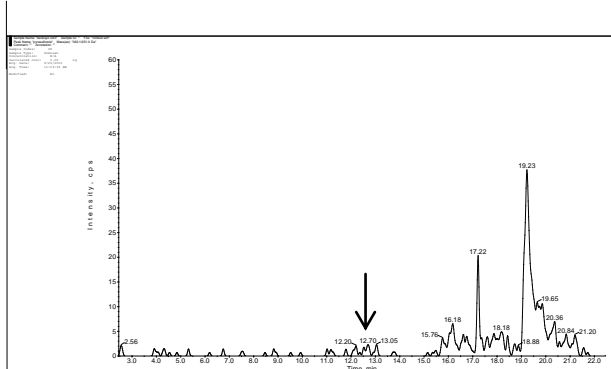
大豆 無添加



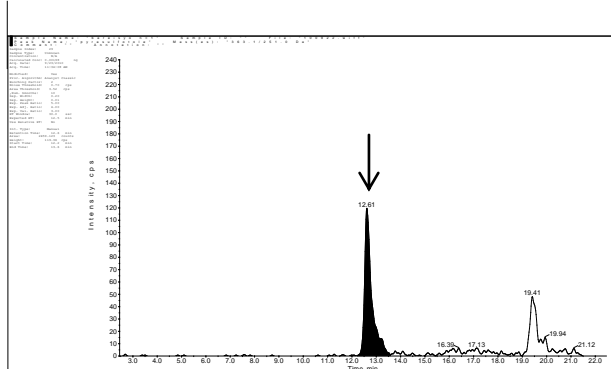
大豆 0.05 ppm 添加



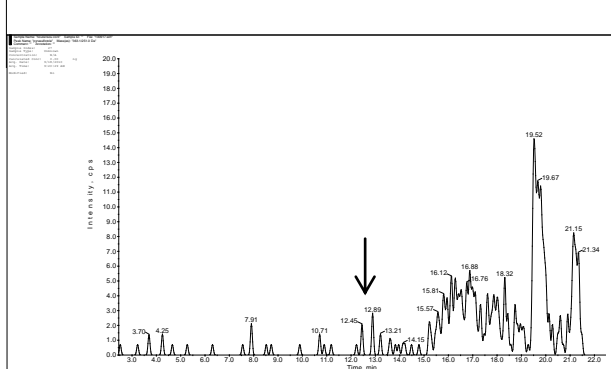
ばれいしょ 無添加



ばれいしょ 0.01 ppm 添加



ほうれんそう 無添加



ほうれんそう 0.01 ppm 添加

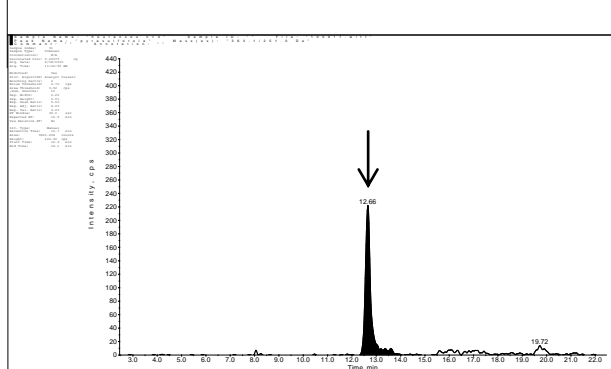
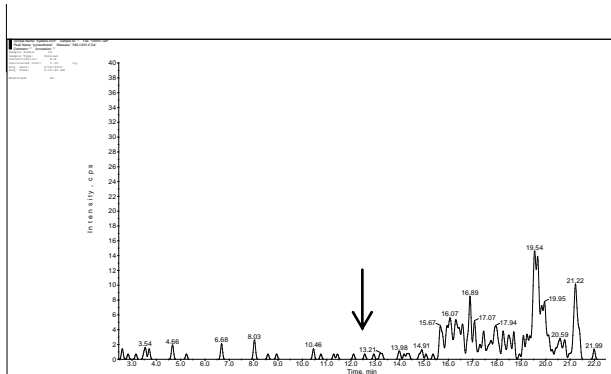
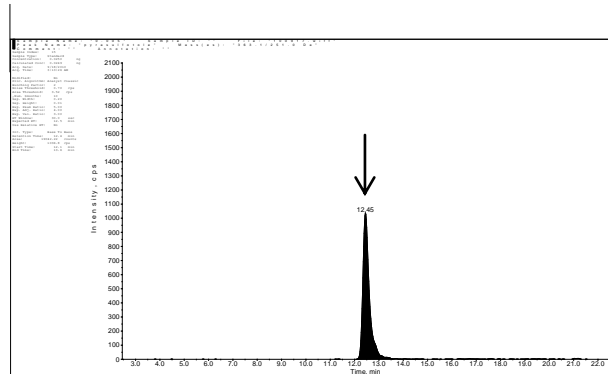


図 4-1-1 ピラスルホトールの試料のクロマトグラム (農産物)

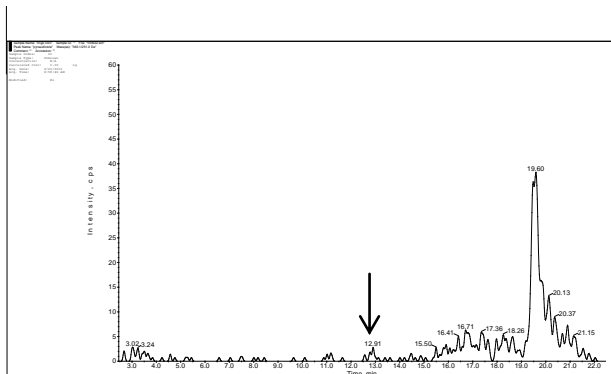
キャベツ 無添加



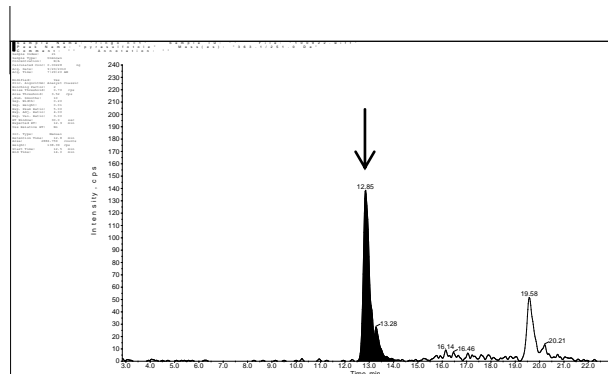
キャベツ 0.01 ppm 添加



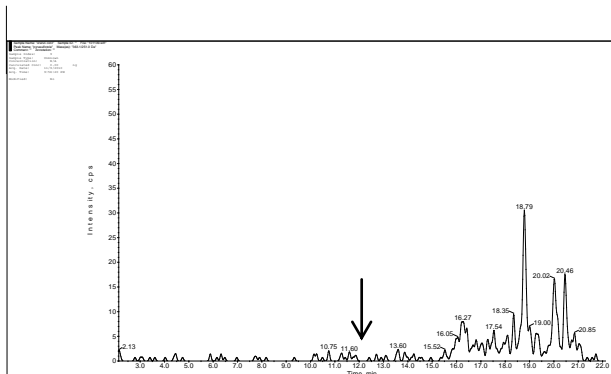
りんご 無添加



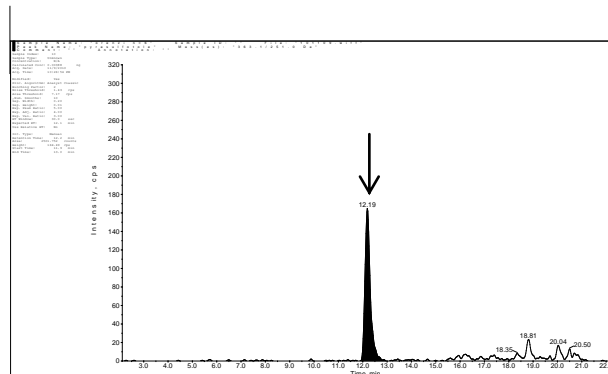
りんご 0.01 ppm 添加



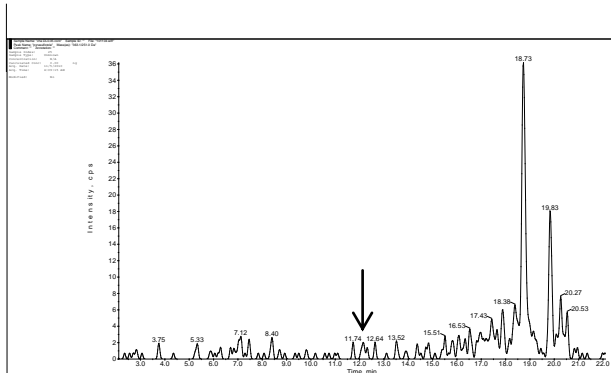
オレンジ 無添加



オレンジ 0.01 ppm 添加



茶 無添加



茶 0.05 ppm 添加

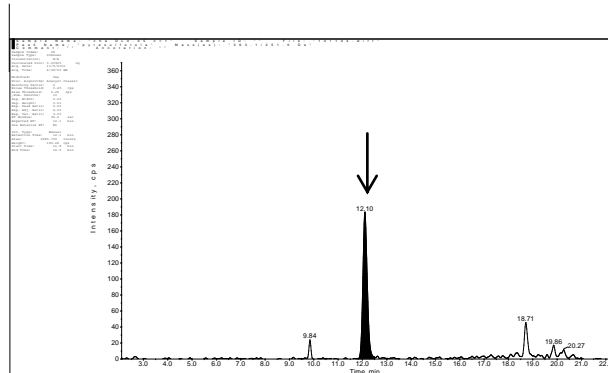
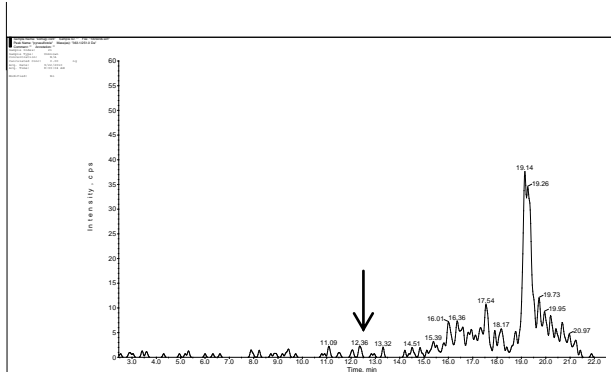
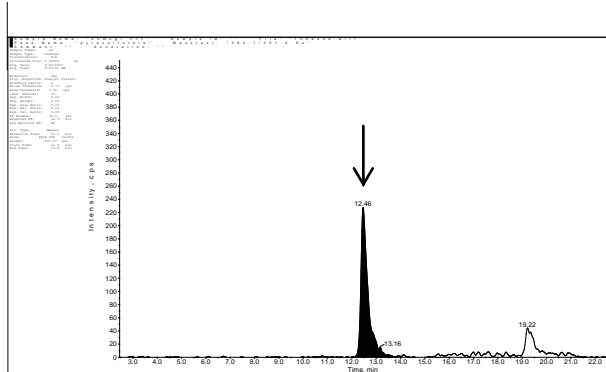


図 4-1-2 ピラスルホトールの試料のクロマトグラム (農産物)

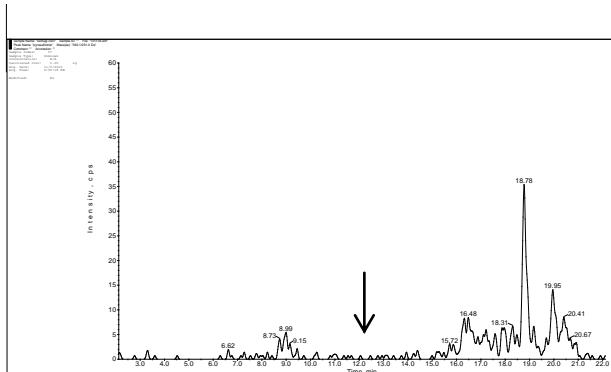
小麦 無添加



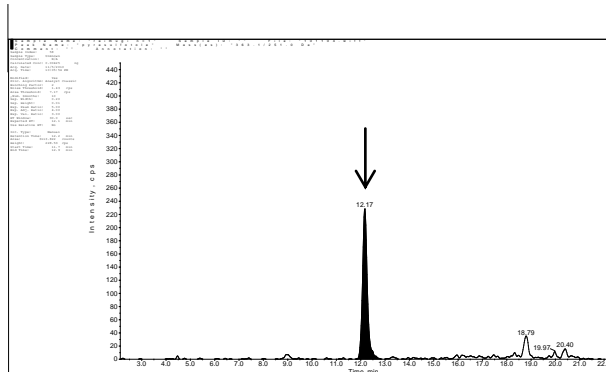
小麦 0.01 ppm添加



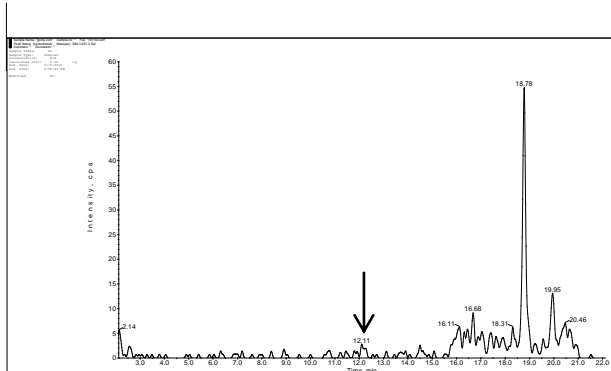
ライ麦 無添加



ライ麦 0.01 ppm添加



ごま 無添加



ごま 0.01 ppm添加

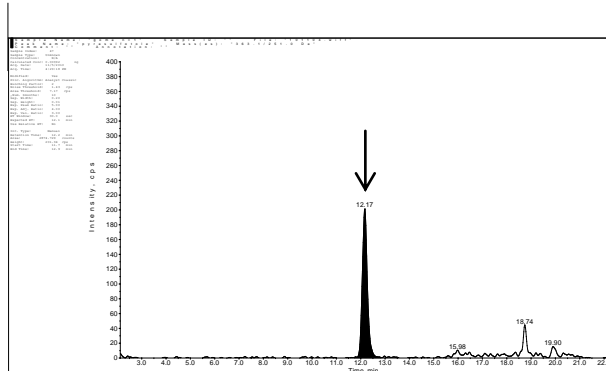
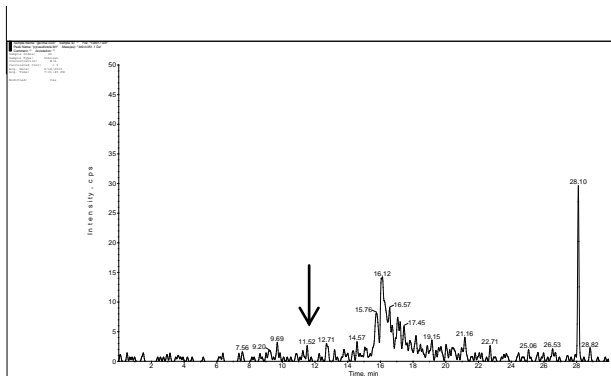
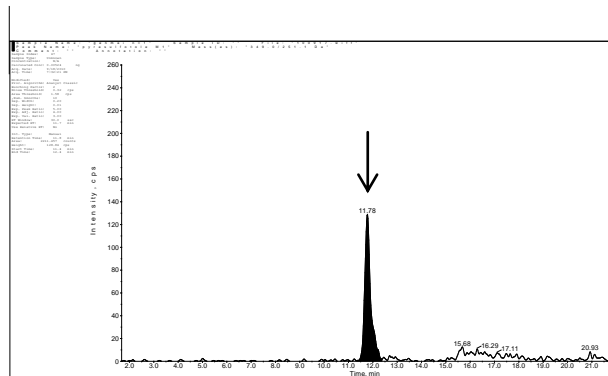


図 4-1-3 ピラスルホトールの試料のクロマトグラム (農産物)

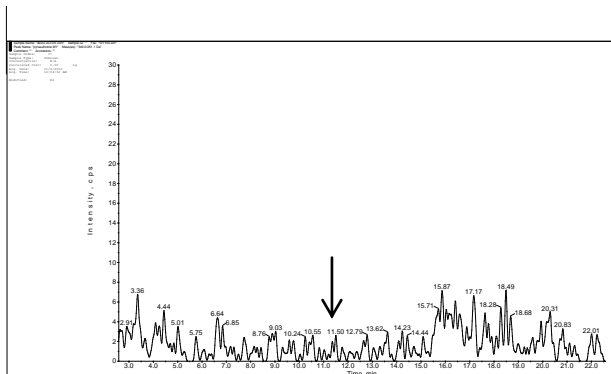
玄米 無添加



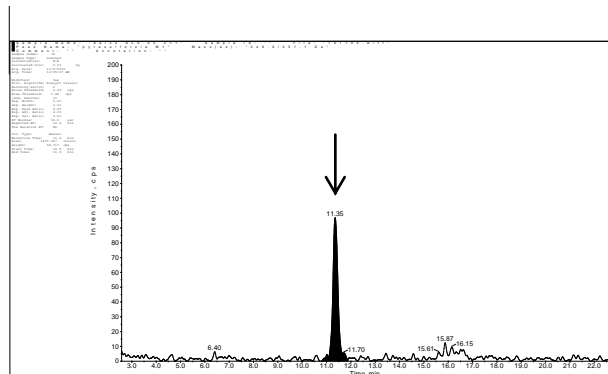
玄米 0.01 ppm 添加



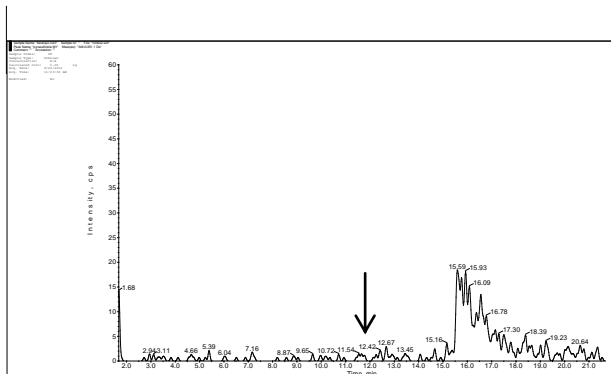
大豆 無添加



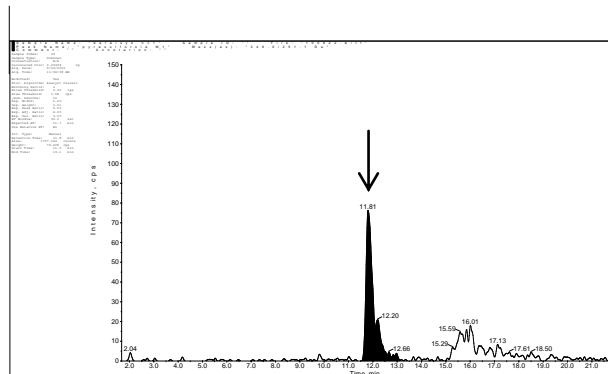
大豆 0.05 ppm 添加



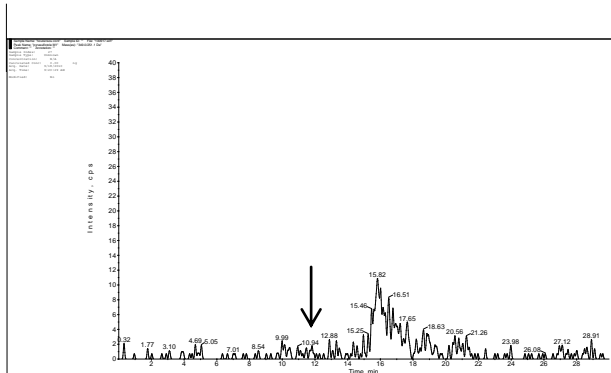
ばれいしょ 無添加



ばれいしょ 0.01 ppm 添加



ほうれんそう 無添加



ほうれんそう 0.01 ppm 添加

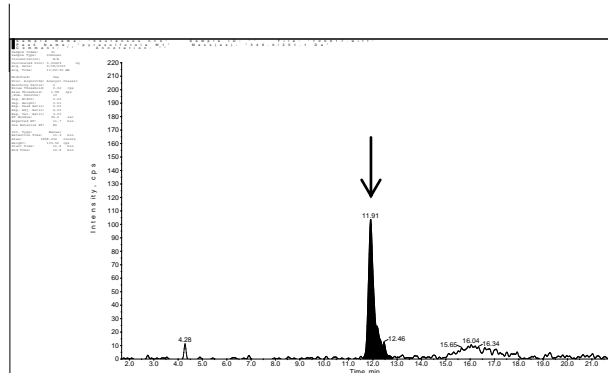
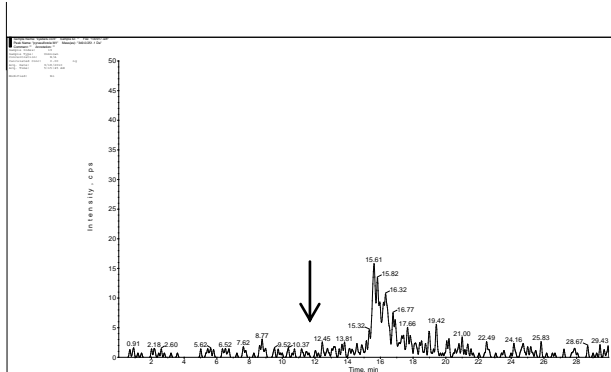
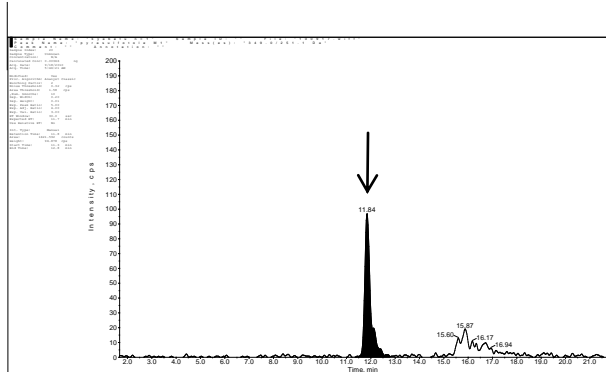


図 4-2-1 代謝物 M1 の試料のクロマトグラム (農産物)

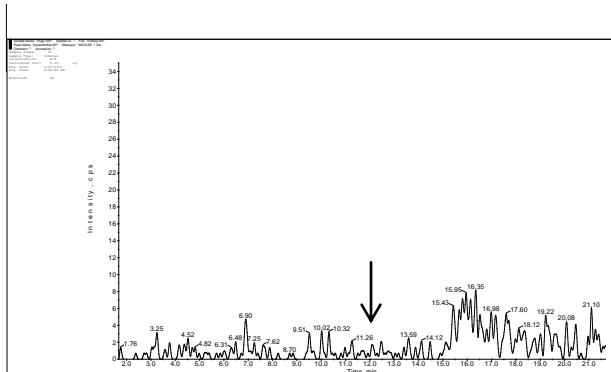
キャベツ 無添加



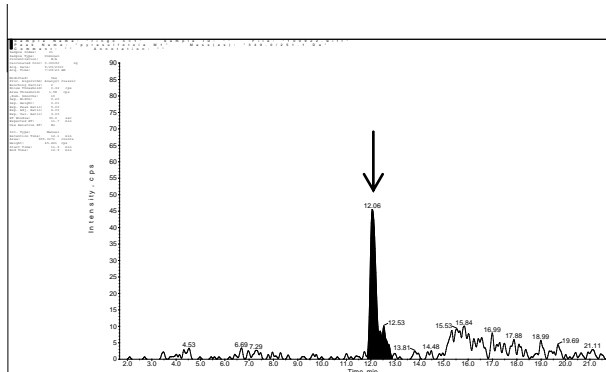
キャベツ 0.01 ppm 添加



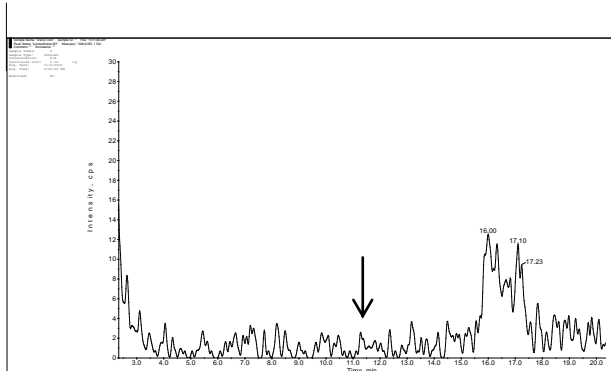
りんご 無添加



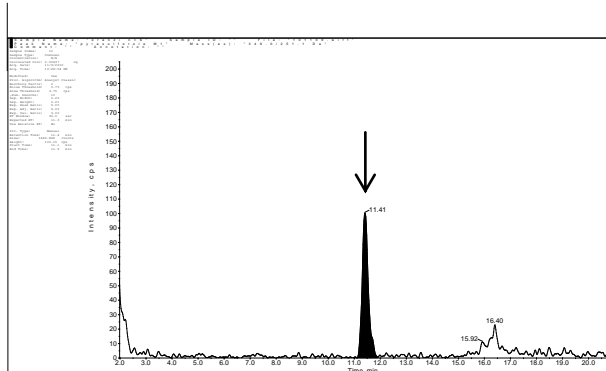
りんご 0.01 ppm 添加



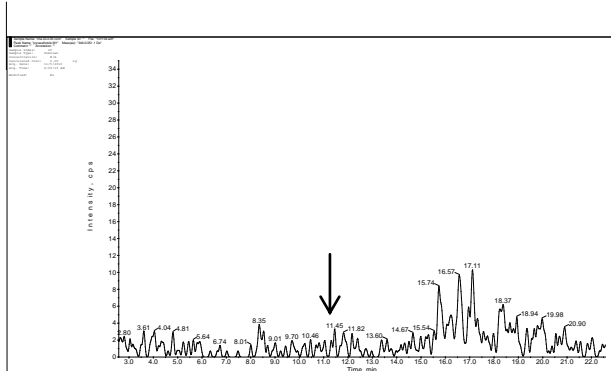
オレンジ 無添加



オレンジ 0.01 ppm 添加



茶 無添加



茶 0.05 ppm 添加

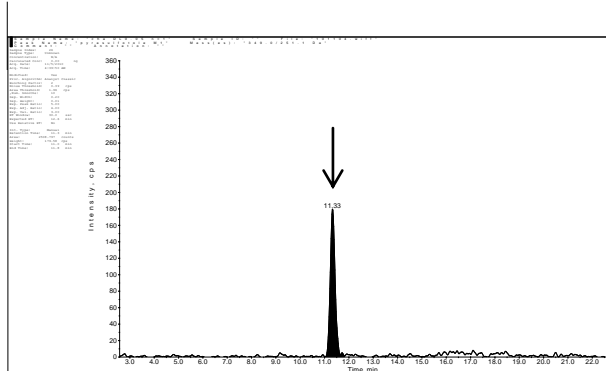
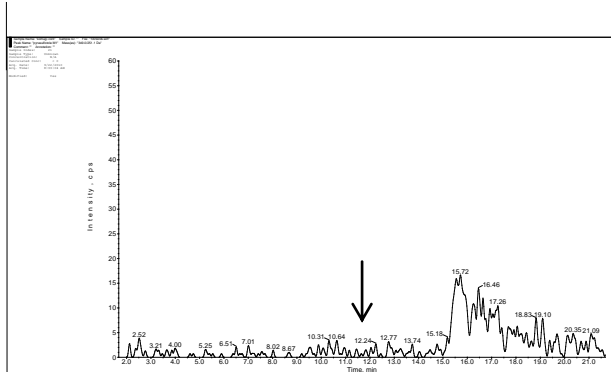
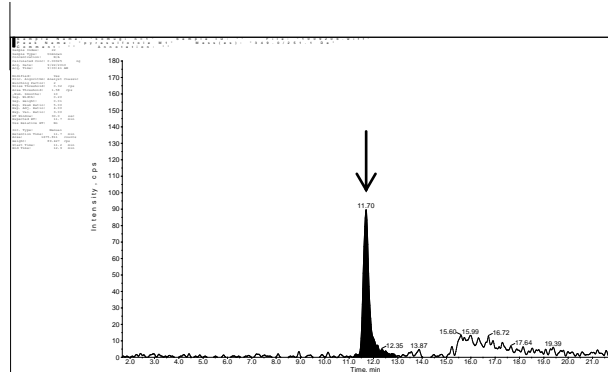


図 4-2-2 代謝物 M1 の試料のクロマトグラム (農産物)

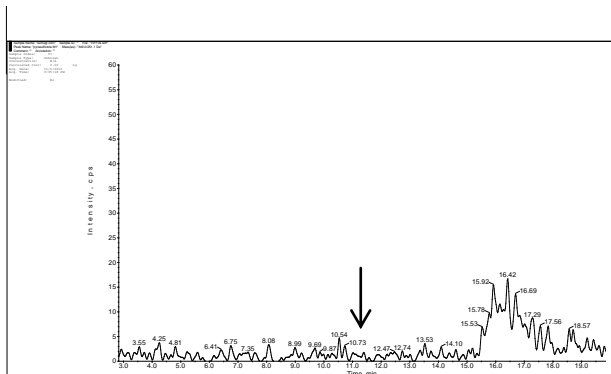
小麦 無添加



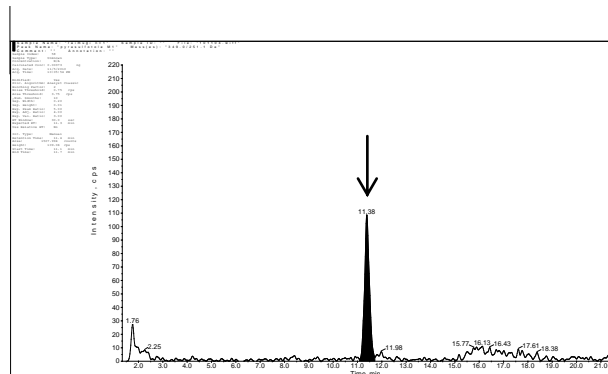
小麦 0.01 ppm添加



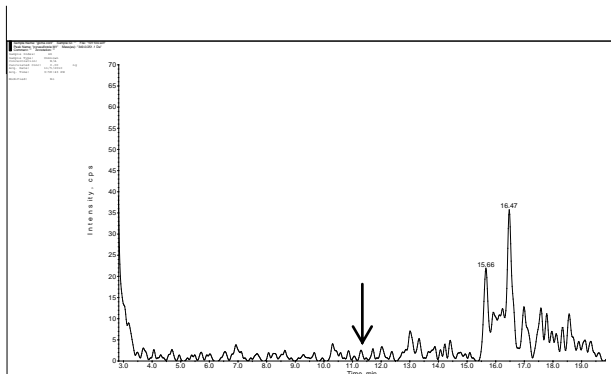
ライ麦 無添加



ライ麦 0.01 ppm添加



ごま 無添加



ごま 0.01 ppm添加

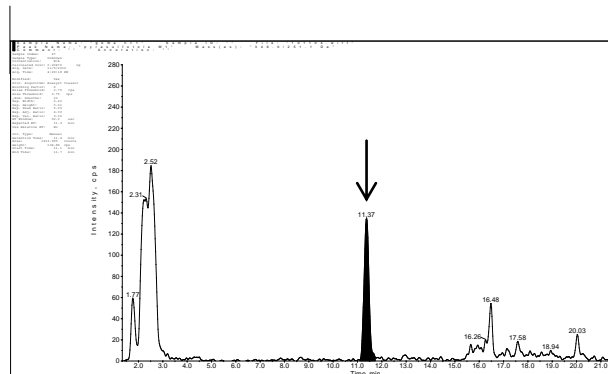
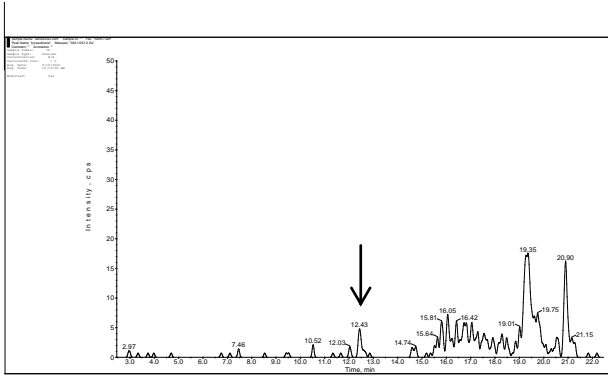
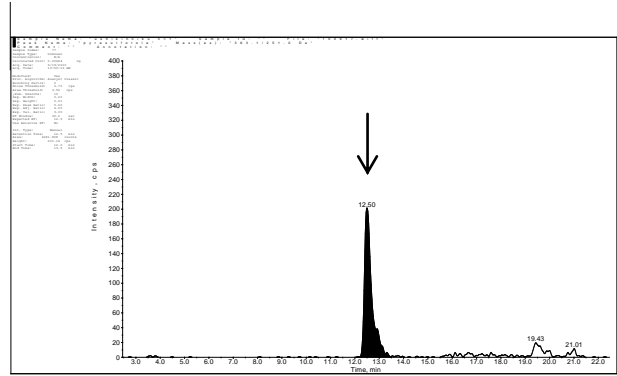


図 4-2-3 代謝物 M1 の試料のクロマトグラム (農産物)

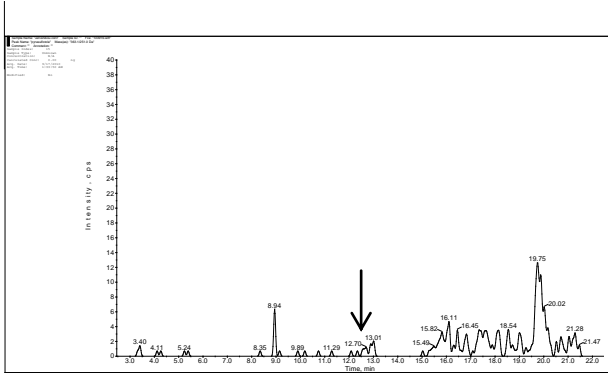
牛の筋肉 無添加



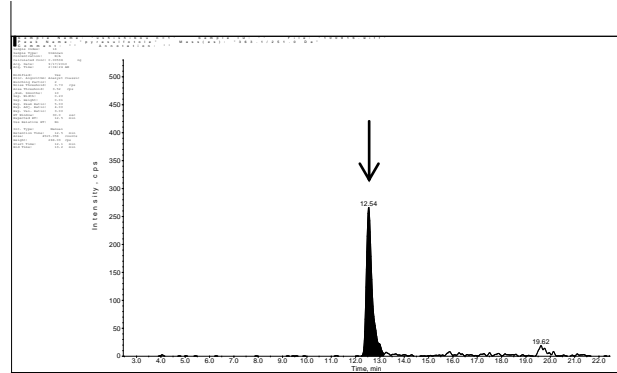
牛の筋肉 0.01 ppm 添加



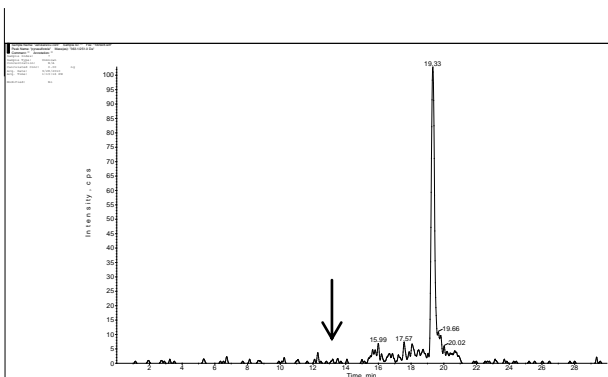
牛の脂肪 無添加



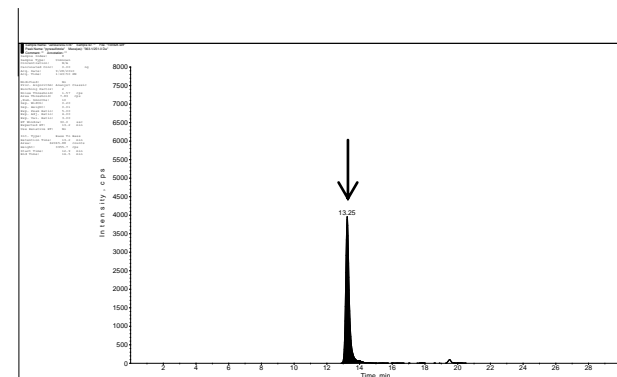
牛の脂肪 0.01 ppm 添加



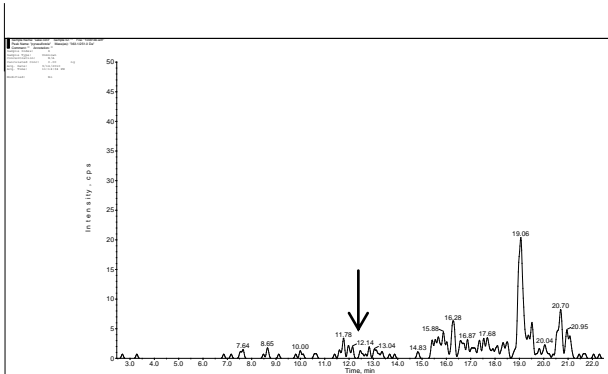
牛の肝臓 無添加



牛の肝臓 0.175 ppm 添加



サケ 無添加



サケ 0.01 ppm 添加

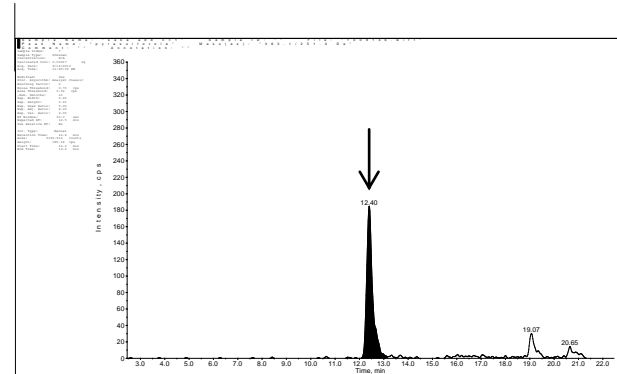
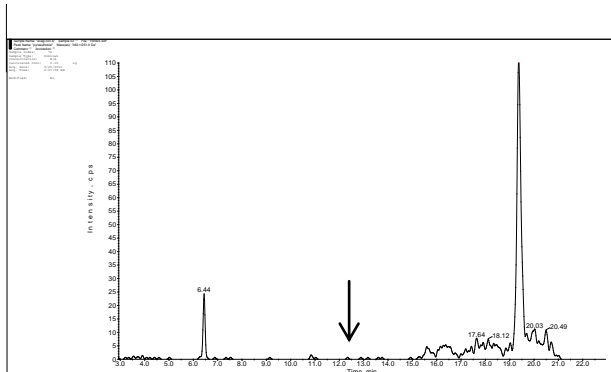
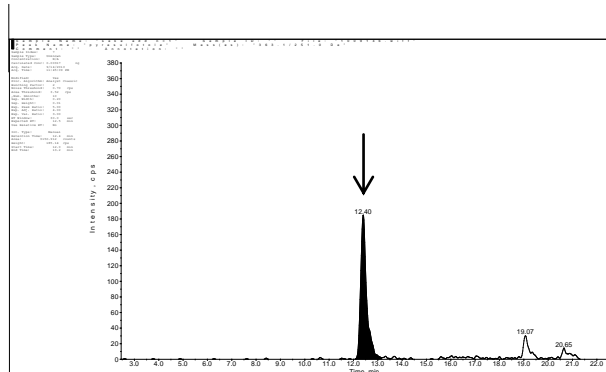


図 4-3-1 ピラスルホールの試料のクロマトグラム (畜水産物)

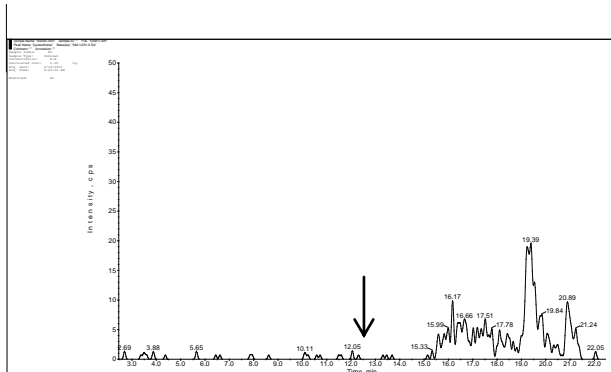
うなぎ 無添加



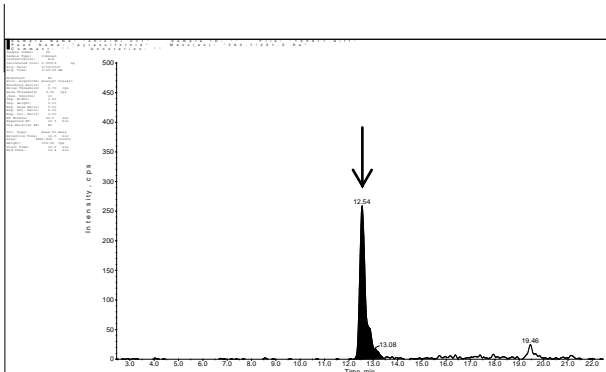
うなぎ 0.01 ppm 添加



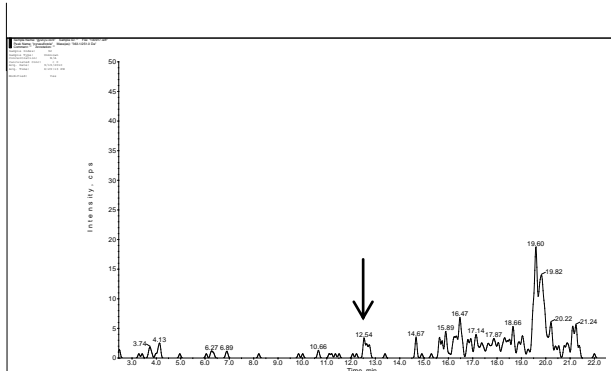
しじみ 無添加



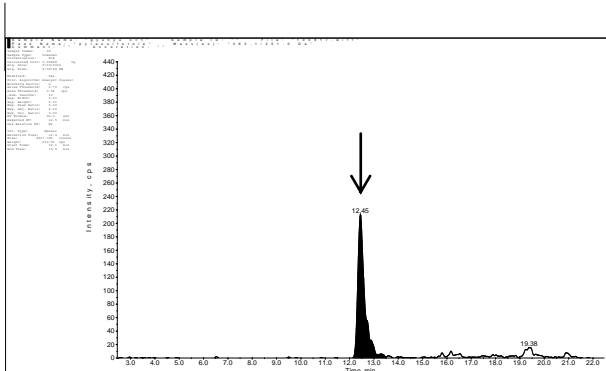
しじみ 0.01 ppm 添加



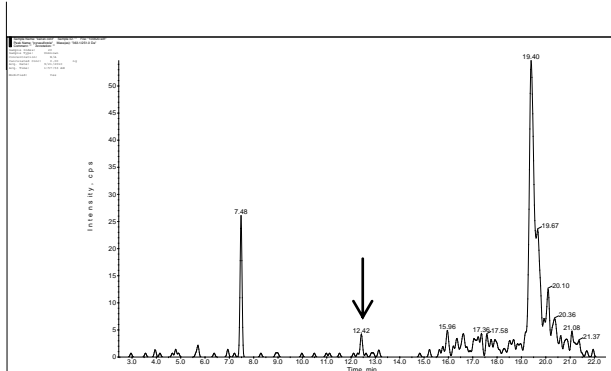
牛乳 無添加



牛乳 0.01 ppm 添加



鶏卵 無添加



鶏卵 0.01 ppm 添加

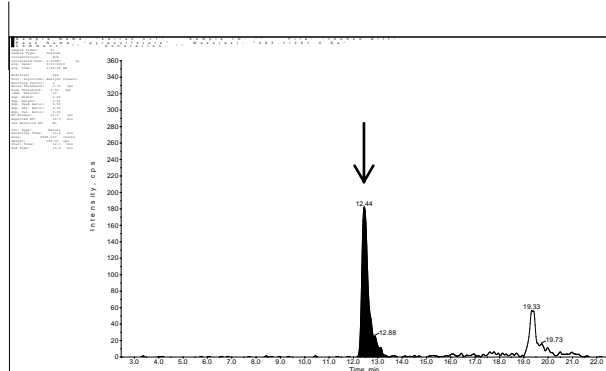
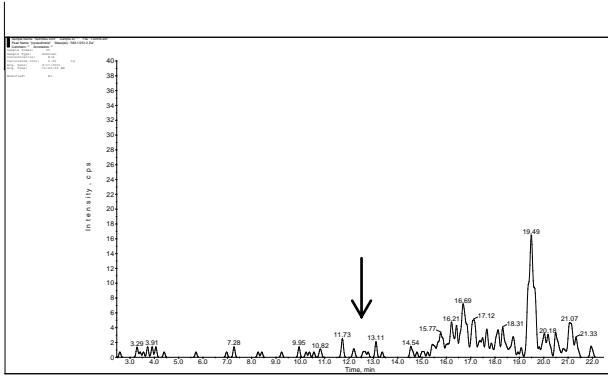
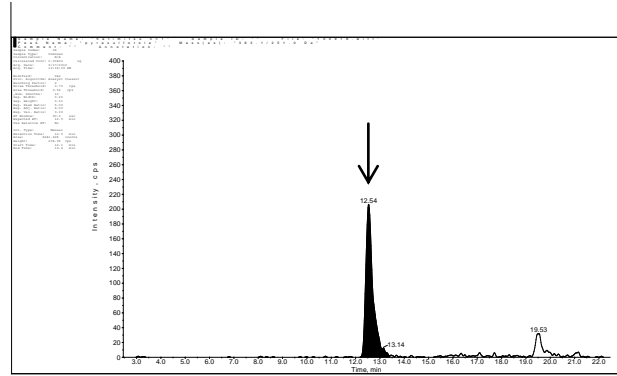


図 4-3-2 ピラスルホールの試料のクロマトグラム (畜水産物)

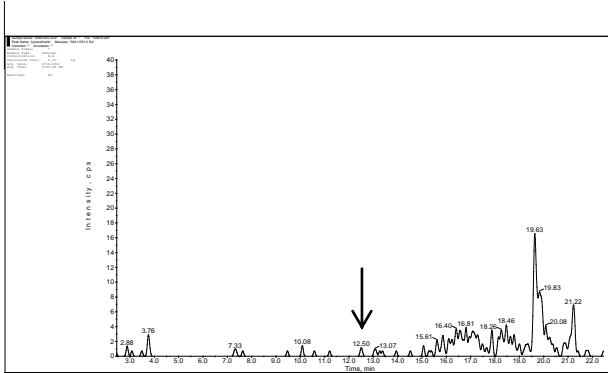
はちみつ 無添加



はちみつ 0.01 ppm 添加



鶏の筋肉 無添加



鶏の筋肉 0.01 ppm 添加

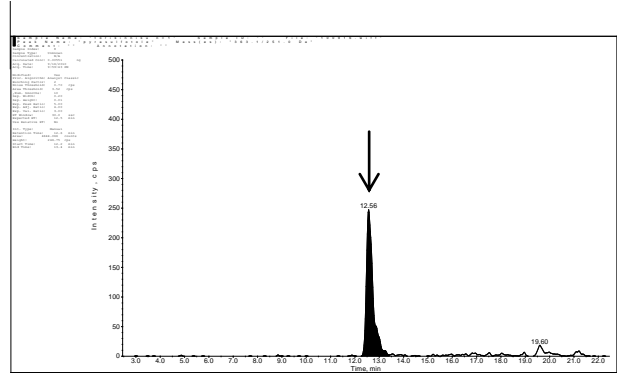
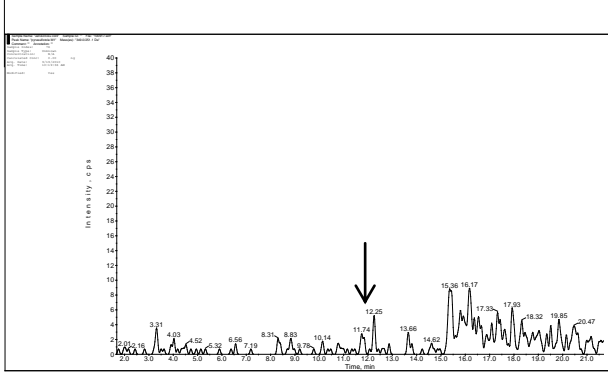
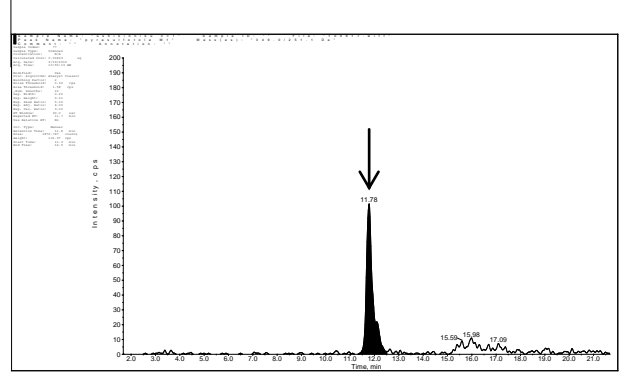


図 4-3-3 ピラスルホトールの試料のクロマトグラム (畜水産物)

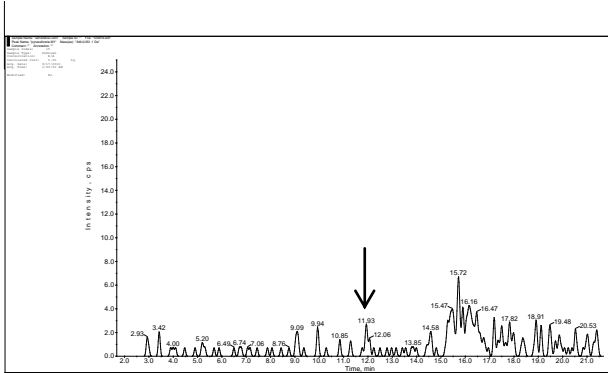
牛の筋肉 無添加



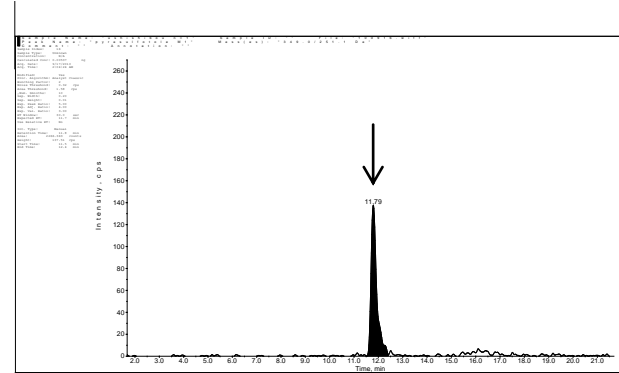
牛の筋肉 0.01 ppm 添加



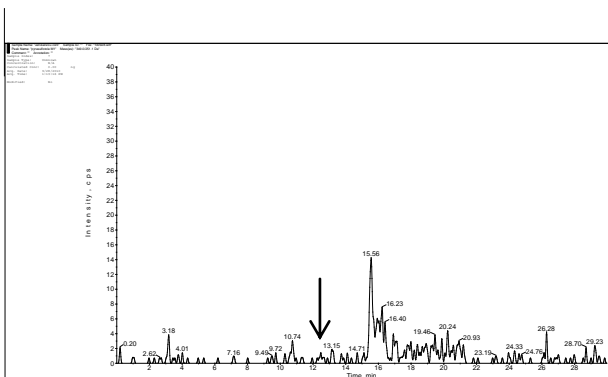
牛の脂肪 無添加



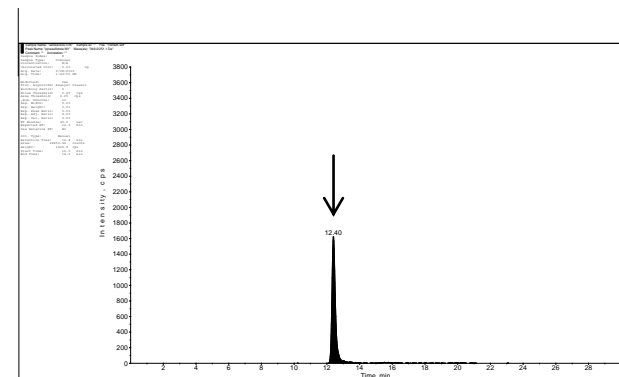
牛の脂肪 0.01 ppm 添加



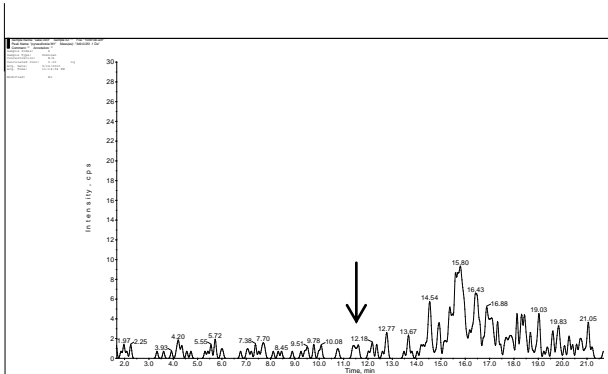
牛の肝臓 無添加



牛の肝臓 0.175 ppm 添加



サケ 無添加



サケ 0.01 ppm 添加

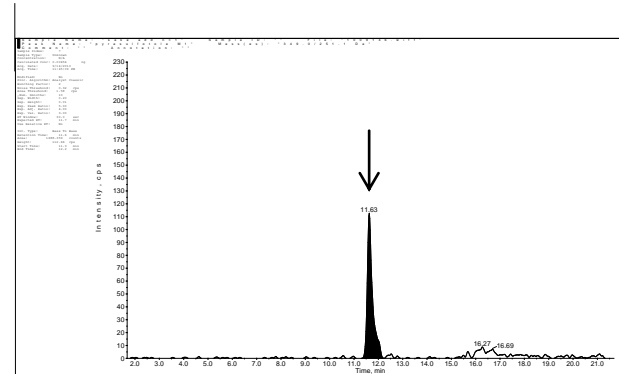
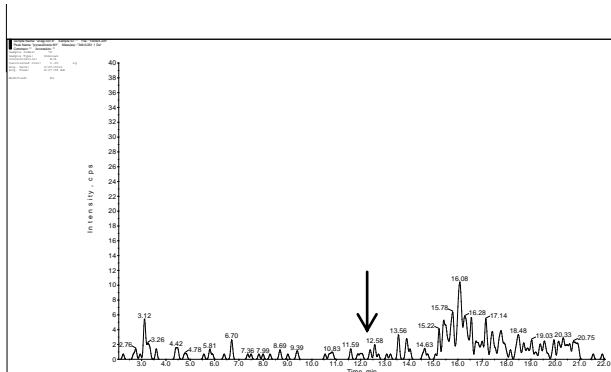
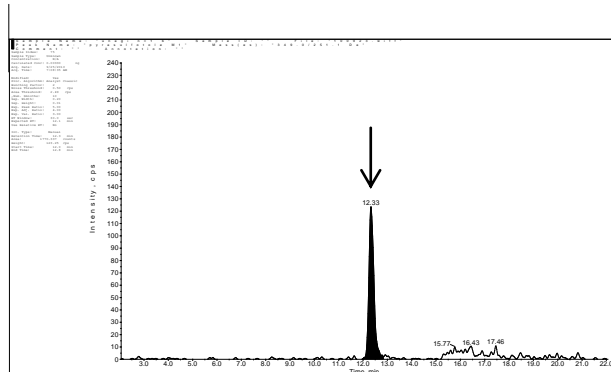


図 4-4-1 代謝物 M1 の試料のクロマトグラム (畜水産物)

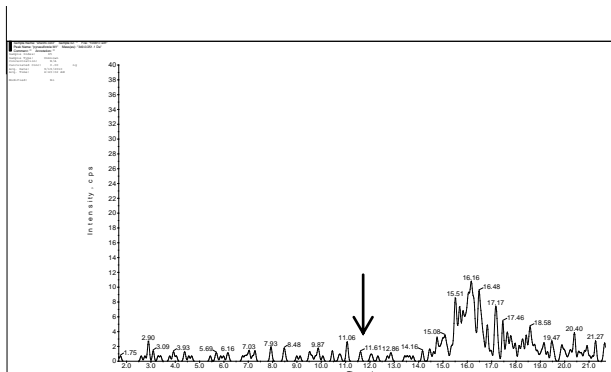
うなぎ 無添加



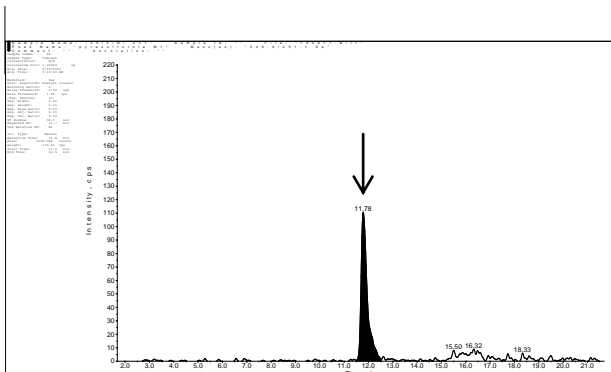
うなぎ 0.01 ppm 添加



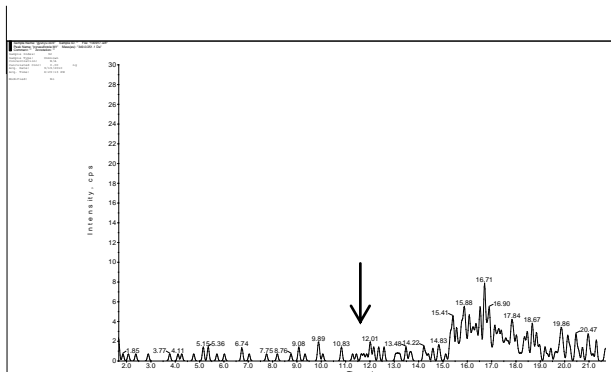
しじみ 無添加



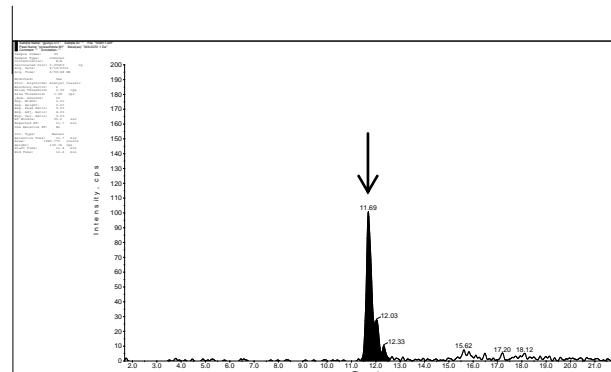
しじみ 0.01 ppm 添加



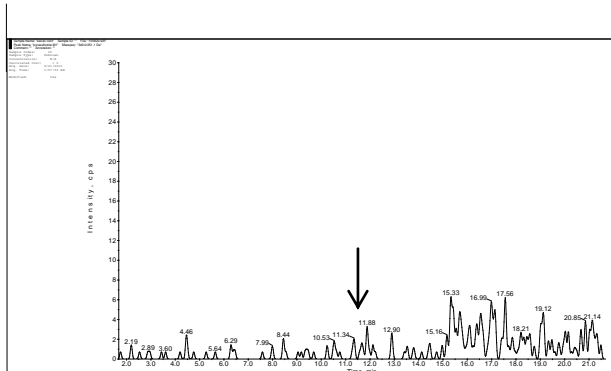
牛乳 無添加



牛乳 0.01 ppm 添加



鶏卵 無添加



鶏卵 0.01 ppm 添加

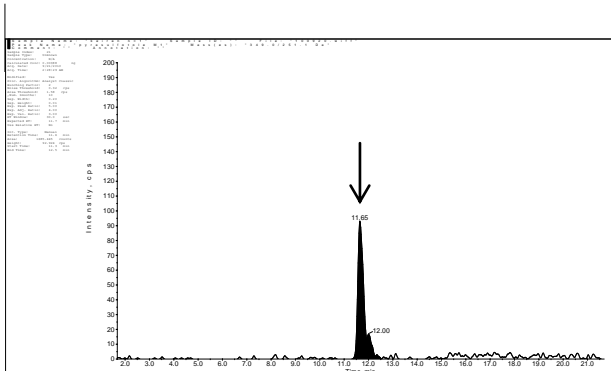
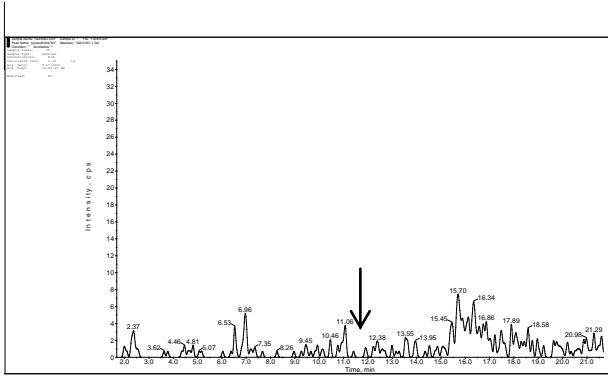
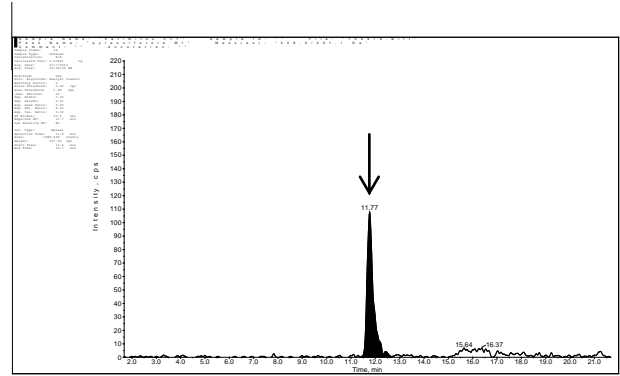


図 4-4-2 代謝物 M1 の試料のクロマトグラム (畜水産物)

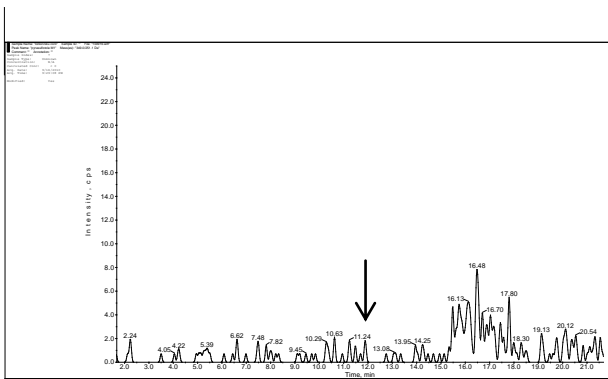
はちみつ 無添加



はちみつ 0.01 ppm 添加



鶏の筋肉 無添加



鶏の筋肉 0.01 ppm 添加

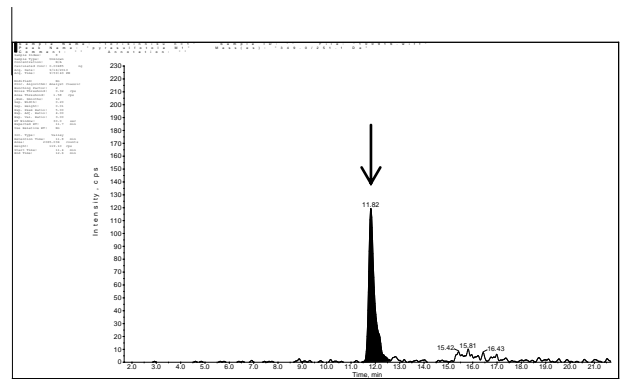


図 4-4-3 代謝物 M1 の試料のクロマトグラム (畜水産物)