

# LC-MS/MSによる果実中の防カビ剤の同時分析法の開発と残留実態調査

Development of simultaneous analysis for 7 fungicides in fruits by LC-MS/MS

堀江 正一

Masakazu Horie

大妻女子大学家政学部

Faculty of Home Economics, Otsuma Women's University

キーワード : 防カビ剤, 柑橘類, LC-MS/MS

Key words : Fungicides, Citrus fruit, LC-MS/MS

## 1. 研究目的

現在, 日本では海外から輸入される果実類に 7 種の防カビ剤の使用が認められている. 従来から許可されていたオルトフェニルフェノール (OPP), ジフェニル (DP), チアベンダゾール (TBZ) 及びイマザリル (IMZ) 4 種については UV 検出器及び蛍光検出器を用いた HPLC による系統的分析法が報告されている. しかし, 最近指定されたフルジオキシニル (FLD), アズキシストロビン (AZX) 及びピリメタニル (PYR) を含めた防カビ剤 7 種の同時分析法は報告されていない. 7 種の防カビ剤の中で, OPP, DP 及び TBZ は蛍光性物質であることから蛍光検出器により高感度かつ選択的な分析が可能である. 一方, 他の 4 種は蛍光性がないことから UV 検出器による測定となる. 特に IMZ は 220 nm 付近しか吸収がない. しかし, UV 検出器付き HPLC では, 果実類中や食品中に微量含まれる防カビ剤 7 種を同時に測定することは極めて困難である. したがって, 高速液体クロマトグラフ-質量分析計 (LC-MS/MS) を用いた防カビ剤 7 種の高感度かつ選択的な迅速分析法の構築が必要とされている. そこで, 先ずはじめに日本国内で使用が認められている防カビ剤 7 種の LC-MS/MS を用いた迅速分析法を構築する. ついで, 構築した分析法を用いて市販されている果実類の残留実態調査を実施することを目的とする.

## 2. 研究内容及び成果

試験溶液の調製: 細切り均一化した試料約 5 g を精密に量り, アセトニトリル 20mL を加えてホモジナイズ抽出する. 遠心分離後, 上清の 5mL を分取し, 2-プロパノール 1.0mL を加えて約 1~2mL

に減圧濃縮後, 蒸留水 10mL, 5mol/L 水酸化ナトリウム溶液 0.05mL を加えてから, Oasis HLB カートリッジを用いて精製して試験溶液とした.

LC-MS/MS 測定条件: 分離カラムには L-column2 ODS を, 移動相には水-アセトニトリル系を用い, グラジエント溶出法を採用した.

ジフェニル (DP) は, ベンゼン環が 2 個結合した化合物で疎水性が極めて高いことから ESI を用いたイオン化法ではイオン化しなかった. そこで, DP は従来の蛍光検出器で測定し, DP 以外の 6 種防カビ剤については LC-MS/MS で測定した. 前処理法には, TBZ の回収率向上を目的に抽出液を塩基性とし, Oasis HLB で精製した. 国産レモンに防カビ剤をそれぞれ 0.5 $\mu$ g/g で添加し, 回収率を求めた結果, 回収率はいずれも概ね 80%以上, 標準偏差 SD は 10%以内であった. 本法を用いて首都圏で市販されている柑橘類及びバナナ中の 7 種類の防カビ剤の残留実態調査並びに, 果皮, 果肉中濃度を調べた. 実態調査結果は表 1 に示したとおり, 最も検出率の高かったのは TBZ 及び IMZ であり, ついで FLD であったが, 基準を超えて検出されたものはなかった.

なお, バナナからはいずれの防カビ剤も検出されなかった.

柑橘類から検出された防カビ剤について, 果皮, 果肉中の濃度を調べた. 表 2 に示すとおり, 防カビ剤のほとんどは, 外果皮 (83~100%), 中果皮 (2.1~15.4%) に含まれており, 果肉 (ND~1.6%) からはほとんど検出されなかった. したがって, 果皮を除いて食することにより, 柑橘類に残留する防カビ剤は, そのほとんどを摂取することを回避することが可能である.

表1 市販柑橘類等からの防カビ剤の残留実態調査結果

Sample		AZX	IMZ	TBZ	PYR	FLD	OPP	DP
Lemon	P/S*	6/19	17/19	17/19	0/19	16/19	0/19	0/19
	Max	0.03	2.00	2.50	—	1.30	—	—
	Av.	0.01	0.88	0.97	—	0.56	—	—
Grapefruit	P/S	2/19	19/19	19/19	0/19	0/19	14/19	0/19
	Max	0.01	3.90	2.62	—	—	1.08	—
	Av.	0.01	1.59	0.76	—	—	0.56	—
Orange	P/S	0/19	19/19	19/19	0/19	16/19	0/19	0/19
	Max	—	3.92	2.63	—	—	—	—
	Av.	—	2.19	0.95	—	—	—	—
Banana	P/S	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7	0/7
	Max	—	—	—	—	—	—	—
	Av.	—	—	—	—	—	—	—

\* P/S = No. of Positive / No. of Sample

表2 柑橘類から検出された防カビ剤の果皮、果肉中濃度

Sample	Part	AZX		IMZ		TBZ		FLD		OPP	
		conc.(ppm)	ratio(%)	conc.(ppm)	ratio(%)	conc.(ppm)	ratio(%)	conc.(ppm)	ratio(%)	conc.(ppm)	ratio(%)
Lemon	Epicarp	0.05	100	1.53	84.1	1.10	85.9	1.43	97.9		
	Mesocarp	ND		0.26	14.3	0.15	11.7	0.03	2.1		
	Flesh	ND		0.03	1.6	0.03	1.5	ND			
Grapefruit	Epicarp			4.10	92.8	2.05	88.0			1.39	99.3
	Mesocarp			0.28	6.3	0.25	10.7			0.01	0.7
	Flesh			0.04	0.9	0.03	1.3			ND	
Orange	Epicarp			5.58	93.5	2.05	83.0				
	Mesocarp			0.35	5.9	0.38	15.4				
	Flesh			0.04	0.7	0.04	1.6				

n=3の平均値

### 3. まとめと今後の課題

海外から輸入される柑橘類やバナナ等は、輸送中にカビが発生し易く、これを防ぐ目的でオルトフェニルフェノール、チアベンダゾール (TBZ) 等 7 種類の防カビ剤が食品添加物として指定されている。7 種の中で、フルジオキシニル、アゾキシストロビン及びピリメタニルの 3 種類は最近指定されたものである。そこで今回、LC-MS/MS を用いた防カビ剤の同時分析法を検討し、構築した分析法を用いて市販されている柑橘類及びバナナの残留実態調査を実施した。ジフェニル (DP) は、ESI を用いたイオン化法ではイオン化しなかった。そこで、DP は従来の蛍光検出器で測定し、DP 以外の 6 種防カビ剤については LC-MS/MS で測定することとした。前処理法は、アセトニトリルで抽

出し、Oasis HLB で精製した。国産レモンにそれぞれ 0.5 $\mu$ g/g で添加し、回収率を求めた結果、回収率はいずれも 80%以上、標準偏差 SD は 10%以内であった。本法を用いて首都圏で市販されている柑橘類及びバナナ中の 7 種類の防カビ剤の残留実態調査並びに、果皮、果肉中濃度を調べた。最も検出率の高かったのは TBZ および IMZ であったが、基準を超えて検出されたものはなかった。

検出された防カビ剤のほとんどは果皮に含まれ、果肉に含まれる量は果皮濃度の 1/100 程度であった。そこで、今後はマーマレード等の果皮を用いた加工食品中に含まれる防カビ剤の測定、また、グレープフルーツジュースやオレンジジュースは、果皮を剥いてから絞られることはほとんどなく、果皮ごと絞られてジュースが作られていることか

ら、柑橘類ジュース中に含まれる防カビ剤の測定も重要と考える。

さらに、OPP、DP、TBZ 及び IMZ 4 種に関しては一日摂取量調査が幾つか報告されているが、最近指定されたフルジオキサニル、アゾキシストロビン及びピリメタニルに関しては、我が国で実施された残留実態ならびに摂取量調査はほとんどないことから、果皮加工品等の実態調査を踏まえた防カビ剤摂取量調査が必要と考える。

#### 4. この助成による発表論文等

##### 学会発表

[1]堀江正一 他,「LC-MS/MS を用いた果実中の防カビ剤の迅速分析法の検討」,日本薬学会第 136 年会,平成 28 年 3 月 29 日,(神奈川県・横浜市)

(2016 年 3 月 31 日現在)