

## 防かび剤 8 成分分析法の検討

新宅沙織, 高井靖智

### Study on Analysis of 8 Fungicides

Saori Shintaku and Yasutomo Takai

キーワード：防かび剤, 高速液体クロマトグラフ, 液体クロマトグラフタンデム質量分析装置

Key Word: Fungicide, HPLC, LC-MS/MS

#### はじめに

防かび剤は、農産物の収穫後に使用する殺菌剤であり、現在、かんきつ類等の果実には、ジフェニル (DP), オルトフェニルフェノール (OPP), チアベンダゾール (TBZ), イマザリル (IMZ), フルジオキシニル (FLO), アゾキシストロビン (AZS), ピリメタニル (PMN), プロピコナゾール (PRO) の 8 成分が食品添加物としての使用が認められ、当センターでは平成 30 年に指定された PRO を除く 7 成分を検査していた。

果実中の防かび剤検査の課題として、当センターで使用している HPLC 単独による一斉分析法<sup>1)</sup>では、①食品の種類によっては妨害成分が多くなり、HPLC 測定条件を変更する必要があること、②検査対象となるかんきつ類やバナナ等について、防かび剤と同時に残留農薬一斉分析も実施しているが、それぞれ異なる前処理法で対応しているため作業効率が悪いこと、③平成 30 年に防かび剤に新規指定された PRO を測定していないことなどがあった。

そこで、これら課題の解決を目的に、前処理法に当センターの残留農薬一斉分析法の SOP 法である STQ 法<sup>2)</sup>を用いて、選択性が高い LC-MS/MS と HPLC (FL) を併用する PRO も含めた防かび剤 8 成分分析法を検討したので報告する。

#### 方法

##### 1. 試料

和歌山県内に流通している防かび剤を含有していないことを確認したレモン、グレープフルーツ、オレンジ、バナナおよびキウイを使用した。なお、すべて果実全体 (バナナは果柄部を除く) を用いた。

##### 2. 標準品および試薬

標準品は、関東化学(株)製および富士フィルム和光純薬(株)製をメタノールで溶解し、使用した。溶媒は、富士フィルム和光純薬(株)製の残留農薬試験用および LC/MS 用を使用した。セラミックホモジナイザーはアジレントテクノロジー(株)製を、固相は、(株)アイスティサイエンス製 Smart-SPE (C18-30, C18-50, PSA-30) を使用した。

##### 3. 装置条件

表 1 のとおり。

##### 4. 試験溶液の調製方法

図 1 のとおり。当センターで使用している残留農薬一斉分析法 (STQ 法<sup>2)</sup>) と同様の方法とした。なお、試料は、すべてドライアイスにより、凍結粉砕し、均一化したものを使用した。

#### 結果 および 考察

##### 1. 測定条件

LC-MS/MS 条件の最適化を実施した結果、TBZ,

IMZ, FLO, AZS, PMN, PRO については、表 1 に示した条件で、十分な検出感度および選択性が得られたため、LC-MS/MS で測定することとした。

一方、OPP, DP については、今回の LC-MS/MS 条件（イオン化法：ESI）での検討では、十分な検出感度が得られなかったため、HPLC(FL)で測定することとした。（表 1.）

## 2. 添加回収試験（妥当性評価試験）

添加回収試験は、残留農薬等試験法の妥当性評価ガイドライン<sup>3)</sup>に従い、実験者 1 名が 2 併行、5 日間実施し、選択性、真度および精度（併行精度および室内精度）を評価した。添加濃度は、1 mg/kg および 0.2mg/kg の 2 濃度とし、添加後 30 分経過した後、抽出操作を実施した。

結果を表 2 に示した。

検討した 5 種類の農産物について、防かび剤 8 成分すべてで、ガイドラインの目標値を満たす良好な結果となった。なお、測定したすべての試料において、妨害となる夾雑ピークは確認されなかった。（図 2 および図 3.）

表 1. 装置条件

LC-MS/MS 測定条件							
LC: Agilent 1260 infinity MS/MS: Agilent 6460 QQQ							
カラム: SUPELCO Ascentis Express C18 2.1×100mm 2.7 μm							
カラム温度: 40°C 注入量: 1.0 μL 流速: 0.25 mL/min							
移動相 A液: 0.05% 甲酸 B液: メタノール							
グラジエント条件: B液%(min) 10(0)→40(6)→75(30)→100(35-42)→10(47-57)							
Sheath Gas Temp: 100°C Gas Temp: 300°C Capillary V: ±3000V							
イオン化モード: ESI(±) 測定モード: Dynamic MRM 分析時間: 57 min (測定時間 39 min)							
No.	Fungicide	precursor ion(m/z)	Declustering Potential(V)	product ion1(m/z)	collision energy(eV)	product ion2(m/z)	collision energy(eV) +/-
1	AZS	404.0	120	372.0	10	344.0	20 +
2	FLO	247.0	110	179.9	26	125.9	26 -
3	IMZ	297.1	140	158.9	20	69.0	16 +
4	PRO	342.0	120	159.0	28	69.0	16 +
5	PMN	200.0	100	107.0	28	183.0	25 +
6	TBZ	202.0	120	131.0	36	175.0	24 +

HPLC測定条件	
LC: Agilent 1260 infinity II	
カラム: Shiseido CAPCELL PAK UG120 C18 4.6×150mm 3μm	
カラム温度: 40°C 注入量: 10 μL 流速: 0.8 mL/min	
移動相 A: 0.05% 甲酸 B: メタノール	
グラジエント条件	
: B%(min) 30(0)→55(5)→55(17)→70(20)→80(25)→98(26)→98(31)→30(32)→30(39)	
測定波長: FL Ex 275nm Em 330nm (OPP, DP)	

## ま と め

今回、LC-MS/MS と HPLC(FL)を併用した果実中の防かび剤 8 成分分析法を確立できた。この方法は、妨害成分の影響を受けにくいと、食品の種類による測定条件の変更が不要で、また、試験溶液の調製方法が当センターで使用している残留農薬一斉分析法と同様であるため、防かび剤と残留農薬を同時に分析することが可能となり、検査の大幅な効率化に繋げることができた。

## 参 考 文 献

- 1) 河島真由美, 他: 7 種防かび剤一斉分析法の検討, 第 56 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 54-55(2019)
- 2) STQ 法ガイドブック 2021, (株)アイステイサイ エンス
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知  
平成 22 年 12 月 24 日付け食安発 1224 第 1 号  
「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」

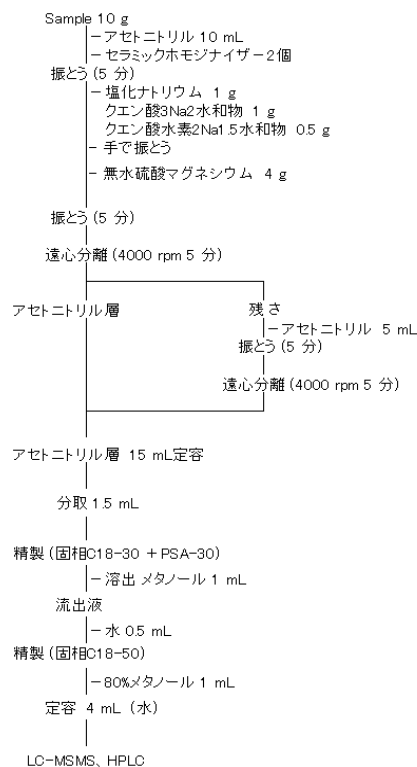


図 1. 分析法フロー

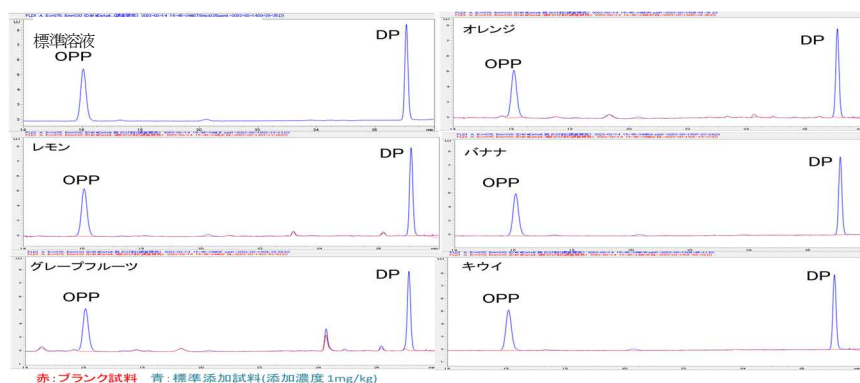


図2. OPP, DP の標準溶液および標準添加試験溶液のクロマトグラム (FL) (試験溶液濃度 0.25 $\mu$ g/mL)

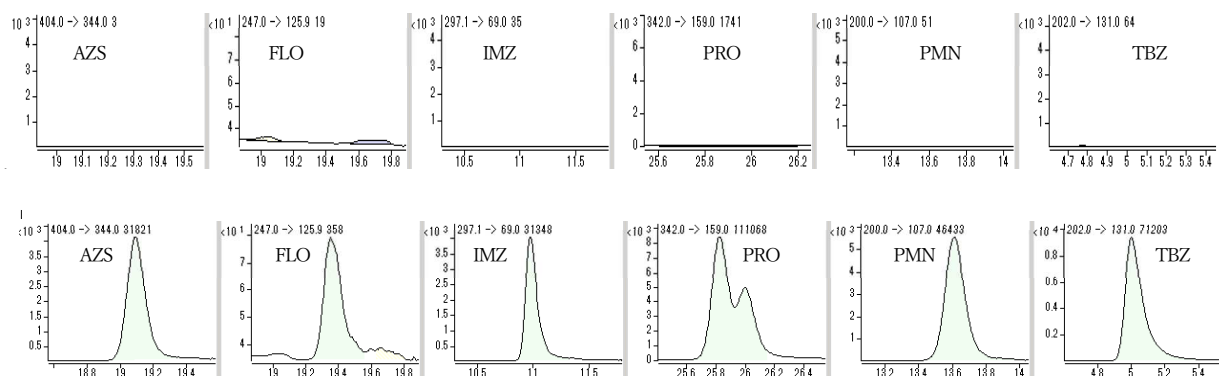


図3. AZS, FLO, IMZ, PRO, PMN, TBZ の試験溶液のクロマトグラム (MS/MS)  
(上: レモン試験溶液 下: レモンの標準添加試験溶液 試験溶液濃度 0.25 $\mu$ g/mL)

表2. 妥当性評価試験結果

No.	成分名	レモン						グレープフルーツ						オレンジ					
		添加濃度 1 mg/kg			添加濃度 0.2 mg/kg			添加濃度 1 mg/kg			添加濃度 0.2 mg/kg			添加濃度 1 mg/kg			添加濃度 0.2 mg/kg		
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
1	AZS	98	1.6	2.1	87	1.8	5.2	100	3.3	3.3	84	2.0	3.6	95	1.4	4.8	80	1.8	3.4
2	FLO	102	2.6	4.2	84	5.7	6.1	95	6.7	6.7	78	6.4	6.4	99	1.9	2.3	81	7.2	7.2
3	IMZ	90	1.0	2.4	87	2.3	3.4	86	3.8	3.8	84	2.5	3.2	87	1.2	2.1	84	2.4	2.8
4	PRO	93	1.2	2.5	88	2.2	4.4	91	3.3	3.3	83	1.8	3.1	91	1.0	2.5	84	2.5	3.6
5	PMN	93	2.2	2.6	91	1.9	5.8	91	3.6	3.6	88	2.6	4.8	92	1.7	3.1	87	2.4	4.1
6	TBZ	87	1.0	2.7	86	1.1	2.4	89	3.1	3.3	86	1.7	2.4	87	1.6	2.7	85	1.8	1.8
7	OPP	93	2.2	2.6	91	1.9	5.8	93	2.3	2.3	93	3.7	3.7	93	1.1	1.9	97	2.7	3.1
8	DP	93	1.2	1.2	94	1.5	2.4	92	2.7	2.7	89	2.2	2.2	90	0.8	1.6	93	2.4	2.4

No.	成分名	バナナ						キウイ					
		添加濃度 1 mg/kg			添加濃度 0.2 mg/kg			添加濃度 1 mg/kg			添加濃度 0.2 mg/kg		
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
1	AZS	95	3.9	4.2	80	2.6	4.6	98	1.5	4.9	81	2.2	4.8
2	FLO	102	4.1	5.4	85	6.4	6.9	103	2.1	2.9	81	4.9	7.3
3	IMZ	85	2.4	2.8	84	1.7	2.2	89	2.4	2.4	85	2.5	2.5
4	PRO	90	2.6	2.6	85	1.7	3.0	94	1.9	2.7	87	1.4	2.2
5	PMN	88	1.8	2.1	87	2.1	4.2	94	1.8	2.5	89	1.6	4.9
6	TBZ	78	2.1	3.2	82	2.3	2.7	90	1.5	2.6	88	0.9	1.3
7	OPP	90	1.9	2.6	93	4.7	4.7	94	0.5	1.2	94	3.3	4.0
8	DP	89	2.5	2.9	93	1.7	2.2	94	0.6	1.0	95	1.9	1.9