

LC/MS/MS 測定において検出されたフルミオキサジン類似物質について

塩見哲生¹，伴桢行則¹，筒井達也¹，出口夫美子¹，
米田昌裕¹，伴創一郎¹，和田好生¹，稲田眞之助¹，川勝剛志¹

Flumioxazin-like compound in mandarins (Hassaku, Iyokan) detectable by the LC/MS/MS method

Tetsuo SHIOMI, Yukinori BANNO, Tatsuya TSUTSUI, Fumiko DEGUCHI, Masahiro KOMEDA, Souichirou BAN, Yoshio WADA, Shinnosuke INADA, Tsuyoshi KAWAKATSU

Abstract : When screening the pesticide residues in agricultural products, we detected a compound similar to flumioxazin on mandarins (hassaku and iyokan). This compound behaves similarly to flumioxazin at the retention time and the MS/MS spectrum in the LC/MS/MS detection. However, it is not detectable by the GC/MS/MS method. We detected this compound in mikan, natsumikan, orange, and grapefruits, which is mainly located at the rind of these mandarins.

Key Words : フルミオキサジン flumioxazin, 柑橘類 citrus, 質量分析装置付き液体クロマトグラフィー LC/MS

はじめに

フルミオキサジンは、平成16年2月25日厚生労働省告示第33号で規格基準が改正され、平成16年9月1日から適用される事になった。規格基準改正後、当部門でも事前に検討を重ね、規格基準検査に適用してきたところである。2005年2月に収去した検体中で、柑橘系の検体にフルミオキサジンと疑われるピークが検出される事例があり、これについての多少の知見を得たので以下に報告する。

方法

1. 前処理方法

1) 一斉分析法

試料40.0g をアセトニトリル抽出し、珪藻土カラムで脱水した後、酢酸エチルで溶出する。GPC システムにより目的成分を分取し、固相カートリッジ（グラファイトカーボン）で精製して、LC/MS で定性、定量する¹⁾。

2) 告示法

試料20.0g をアセトンで2回抽出する。抽出液を約30ml まで濃縮し、10%塩化ナトリウム溶液100ml の入った300ml 容分液ロートに移す。酢酸エチル：n-ヘキサン（1：4）で2回抽出し、無水硫酸ナトリウムで脱水する。溶媒除去後、アセトン：n-ヘキサン（1：19）5ml に溶解し、シリカゲルカートリッジの下にフロリジルカートリッ

ジを連結させたものにより精製し、GC/MS, LC/MS で定性、定量する。

2. 測定条件

一斉分析法及び告示法で行う測定条件を以下に示す。

表1 LC/MS測定条件

装置 LCQ-DECA (サーモファイト・フィガソット製)
カラム InertsilODS-3 内径 2.1mm× 長さ 150mm
移動相 0.5%酢酸水溶液(A)：アセトニトリル(B)
0分 B=15%
20分 B=95%(30分まで保持)
35分 B=15%(Post Run)
流速 0.2ml/min, カラム温度 40, 注入量 5μl
検出器
Pos 355.0 150-400
MS/MS : Amp.30.0%, Q0.25, Time30.0, Isow1.0

表2 GC/MS測定条件

装置 POLARIS (サーモファイト・フィガソット製)
カラム DB5MS 内径 0.25μm× 長さ 30mm, 膜厚 0.25μm
キャリアガス He : 1ml/min
注入口 PTV-Split less 50 (0.1min)-14.5 /sec-260 (5min)
カラム温度 50 (1min)-25 /min-150 -10 /min-300 (7min)
検出器
MS/MS 354 CE1.1, Q= 0.225(120 ~ 360)

¹⁾ 京都市衛生公害研究所 生活衛生部門

結果と考察

2005年2月に収去した、はっさく、いよかんについて一斉分析法で残留農薬検査を行った結果、フルミオキサジン（保持時間：19.06分）と疑われるピークを検出し（保持時間：はっさく、いよかん共に18.95分）、各ピークのMS/MSスペクトルを確認した（図1参照）。

1. 一斉分析法

フルミオキサジン類似物質は、はっさく、いよかん、い

ずれにもフルミオキサジンに特徴的な $m/z=355$ （親イオン）と $m/z=327$ （フラグメントイオン）があり、かなり酷似している事がわかった（図1参照）。

この物質がフルミオキサジンであるか否かを確認するために、さらに、告示法（個別法）による検査を行った。添加回収検体は、一斉分析法ではピーマン、告示法ではライムを用いている。

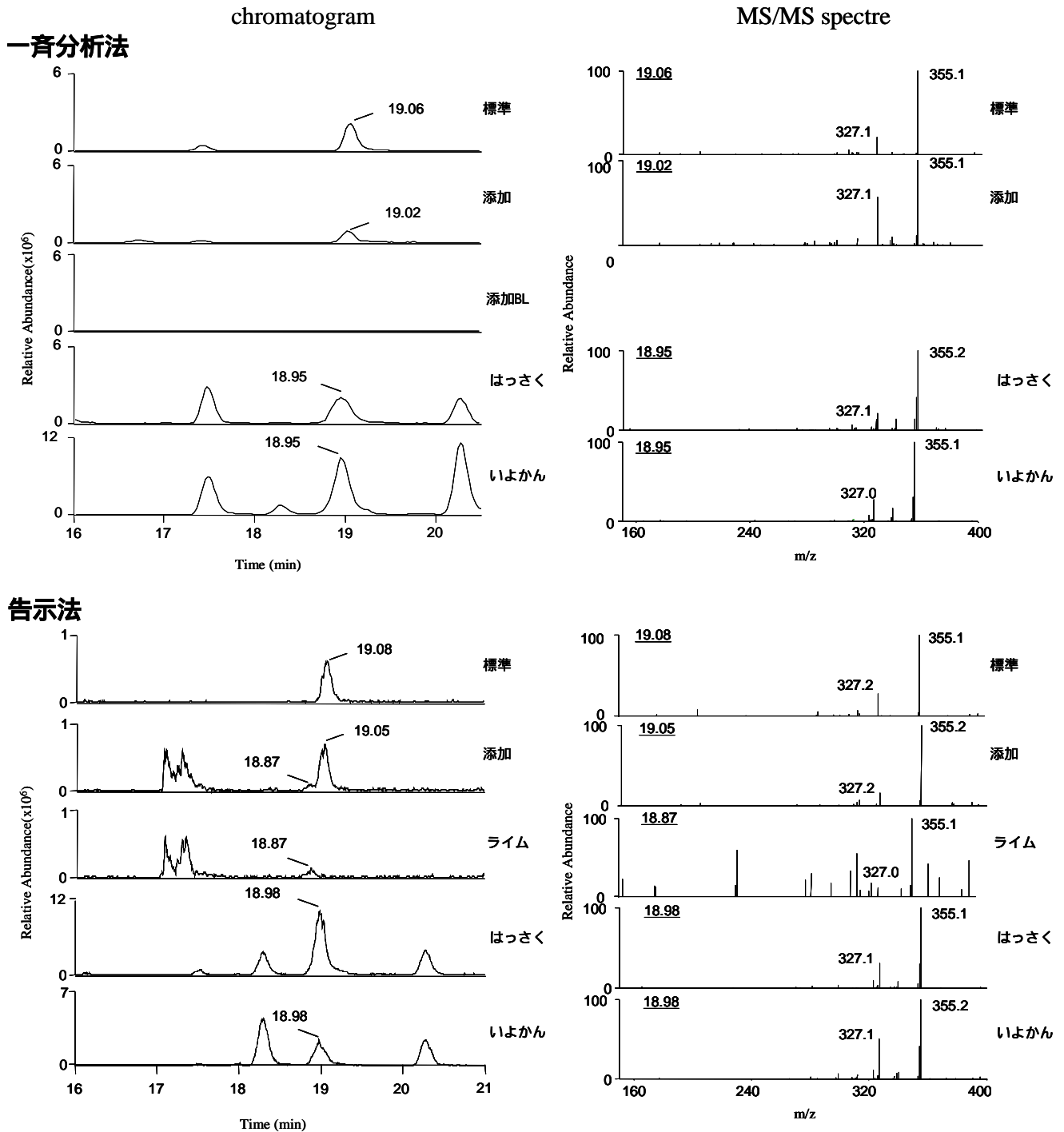


図1 一斉分析法，告示法（個別法）での結果（LC/MS）

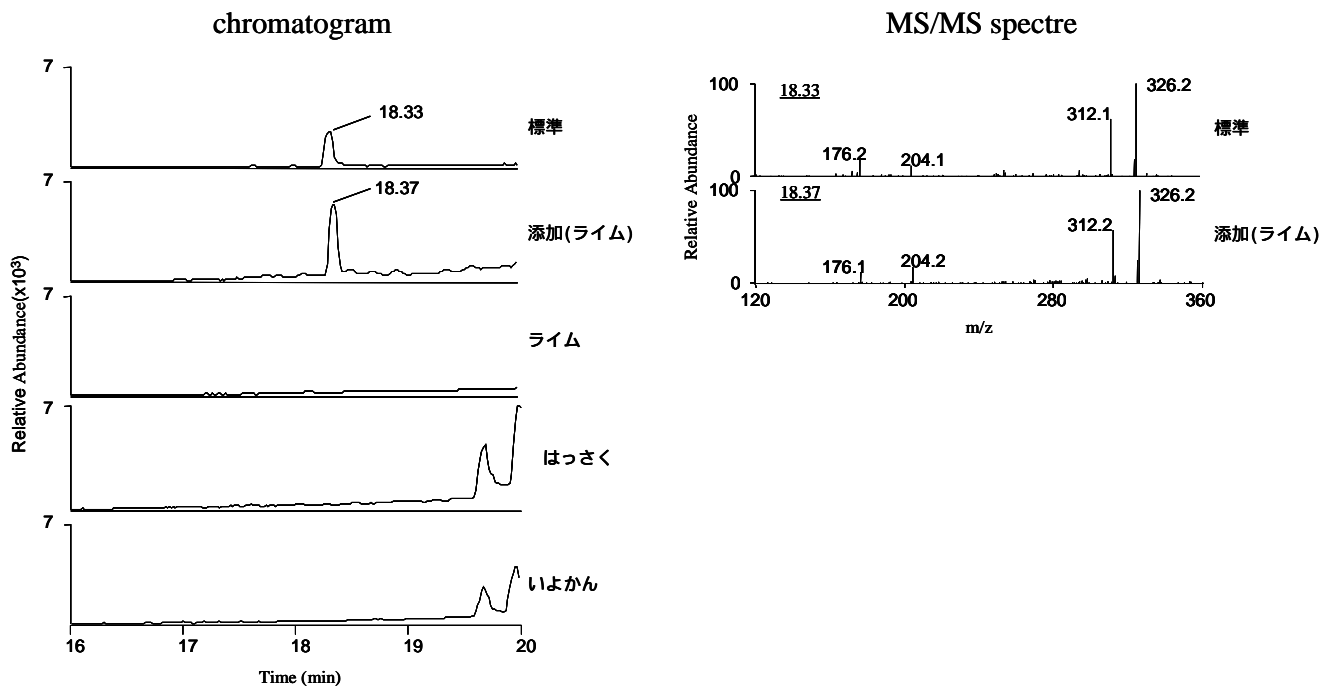


図2 告示法(個別法)での結果(GC/MS)

2. 告示法

1) LC/MS 測定

一斉分析法と同様に、はっさく、いよかんに、フルミオキサジン標準品と近い保持時間、類似した MS/MS スペクトルを持つピークが検出された(図1参照)。

また、添加回収検体用ライムにおいて、フルミオキサジン標準品と近い保持時間ではあるが、フルミオキサジン標準品のピークと分離しているピークを検出した。しかし、MS/MS スペクトルはフルミオキサジン標準品とは類似していない。

はっさく、いよかんで検出されているピークは、ライムで検出されたフルミオキサジン標準品とは異なるピークと近い保持時間であることがわかった。

2) GC/MS 測定

はっさく、いよかんでは、フルミオキサジン標準品付近にピークは検出されなかった。また、添加回収検体用ライムでも LC/MS 測定のようなフルミオキサジン類似物質は検出されなかった。

以上のように、一斉分析法と告示法のいずれの前処理を行っても、LC/MS 測定ではフルミオキサジン類似物質が検出されたことから、前処理法、及び固相抽出法によって、フルミオキサジンとフルミオキサジン類似物質を分離することは困難であると考えられる。

しかし、GC/MS 測定法では、フルミオキサジンのみが検出されたことから、今回検出されたフルミオキサジン類

似物質はフルミオキサジンではないと結論することができる。

分析法の検討

今回検出されたフルミオキサジン類似物質について検討するために、LC/MS 条件を以下の2点から検討し、表3のように LC/MS 測定条件を変更した。

表3 LC/MS測定条件(フルミオキサジン)

装置 LCQ-DECA (サーモフィニガン製)	
カラム SHISEIDO CAPCELLPAK C ₁₈ 内径 2.0mm×長さ 50mm	
移動相 0.5%酢酸水溶液(A):アセトニトリル(B)	
0分	B=20%
5分	B=20%
17分	B=68%
17.01分	B=95%
22分	B=95%
28分	B=20%(Post Run)
流速 0.25ml/min, カラム温度 40℃, 注入量 5µl	
検出器	
Pos 355.0	150-400
MS/MS: Amp.36.0%, Q0.25, Time30.0, Isow1.0	

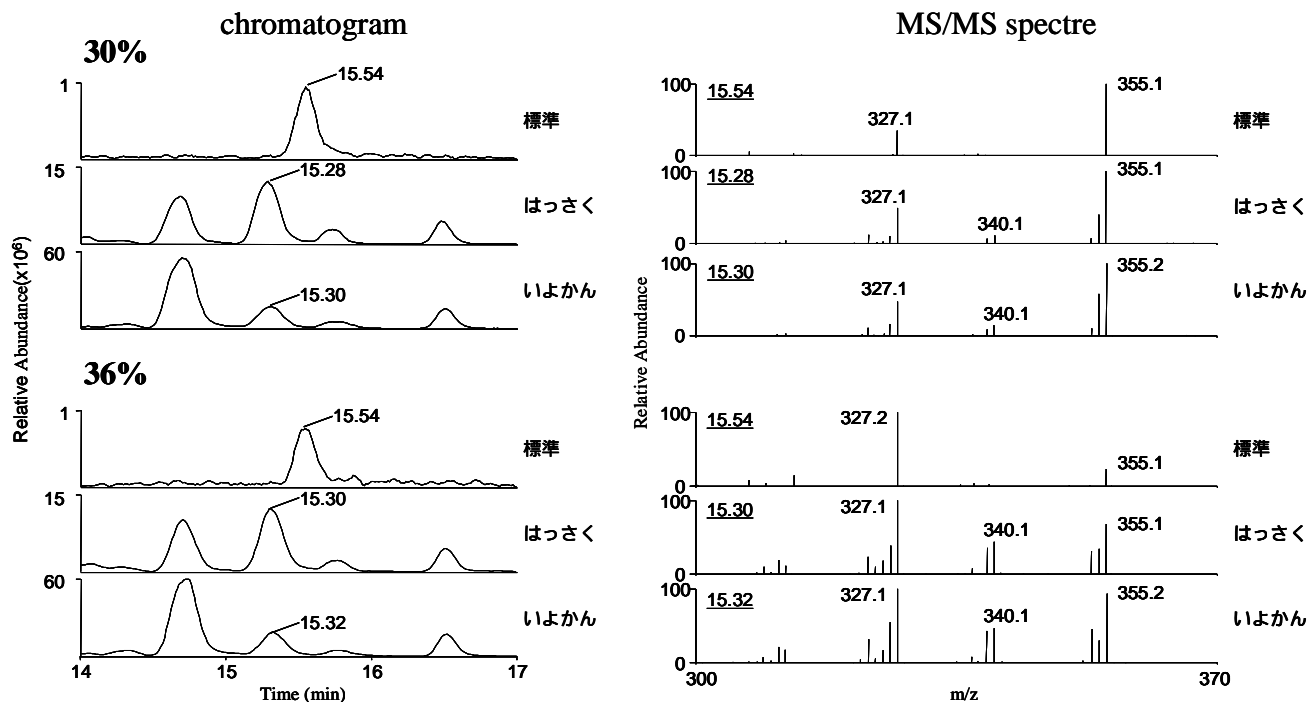


図3 開裂エネルギーによるMS/MSスペクトルの変化

LC 条件検討

LC による分離条件を検討した結果、フルミオキサジンとフルミオキサジン類似物質の効率的な分離は困難であった。従って、表3に示したような長さ50mmのカラムを用いて分析時間を短縮するにとどめた。

MS/MS 検出条件検討

次に、MS/MS 検出条件の検討を行った。開裂エネルギーを30%、32%、34%、36%、38%変化させることによるMS/MS スペクトルの変化を確認した(図3参照)。この結果から、フルミオキサジン類似物質は開裂エネルギーを高くすると、フルミオキサジンには無い $m/z=340$ のフラグメントが顕著に現れてくることがわかる。

フルミオキサジン類似物質検討

1. 対象果実別のフルミオキサジン類似物質の有無

厚生労働省によってフルミオキサジンの基準値設定されている作物について、柑橘類果実を中心にフルミオキサジン類似物質が存在するかどうかを告示法によって検討した(図4参照)。LC/MS 測定条件は表3に示したものをを用いた。

結果より、いよかん、はっさくと同様なフルミオキサジン類似物質が検出されるのは、グレープフルーツ、みかん、なつみかん、オレンジであった。

これらのクロマトグラムは酷似し、MS/MS スペクトルでは $m/z=340$ のフラグメントが検出された。さらに、

325, 326 (327付近), 及び353, 354 (355付近) の複数のフラグメントが検出されている点でも類似していた。このフルミオキサジン類似物質はこれらの作物に共通して含有されている物質である可能性が高い。逆に、すだち、レモン、ライムではクロマトグラムのパターンも異なり、検出されたピークについても MS/MS スペクトルはフルミオキサジン、フルミオキサジン類似物質とは全く異なっていた。

2. 部位別のフルミオキサジン類似物質の有無

いよかん、はっさくを用いて、フルミオキサジン類似物質が果皮、果実のいずれに存在するのかが確認した。果皮、果実を別々にサンプリングし、告示法によって前処理を行った(図5参照)。LC/MS 測定条件は表3に示したものをを用いた。

結果より、フルミオキサジン類似物質はほぼ果皮の部分に含有することがわかった。

まとめ

当初、はっさく、いよかんからフルミオキサジン類似物質が検出された時点では、かなりの基準値オーバーになるために前処理法、測定条件の検討が急がれたが、GC/MS 測定ではこの物質は検出されなかったためにフルミオキサジンではないと判断することができた。

フルミオキサジン類似物質は GC/MS 測定で検出されない等の条件検討結果から、フルミオキサジンと比較して不

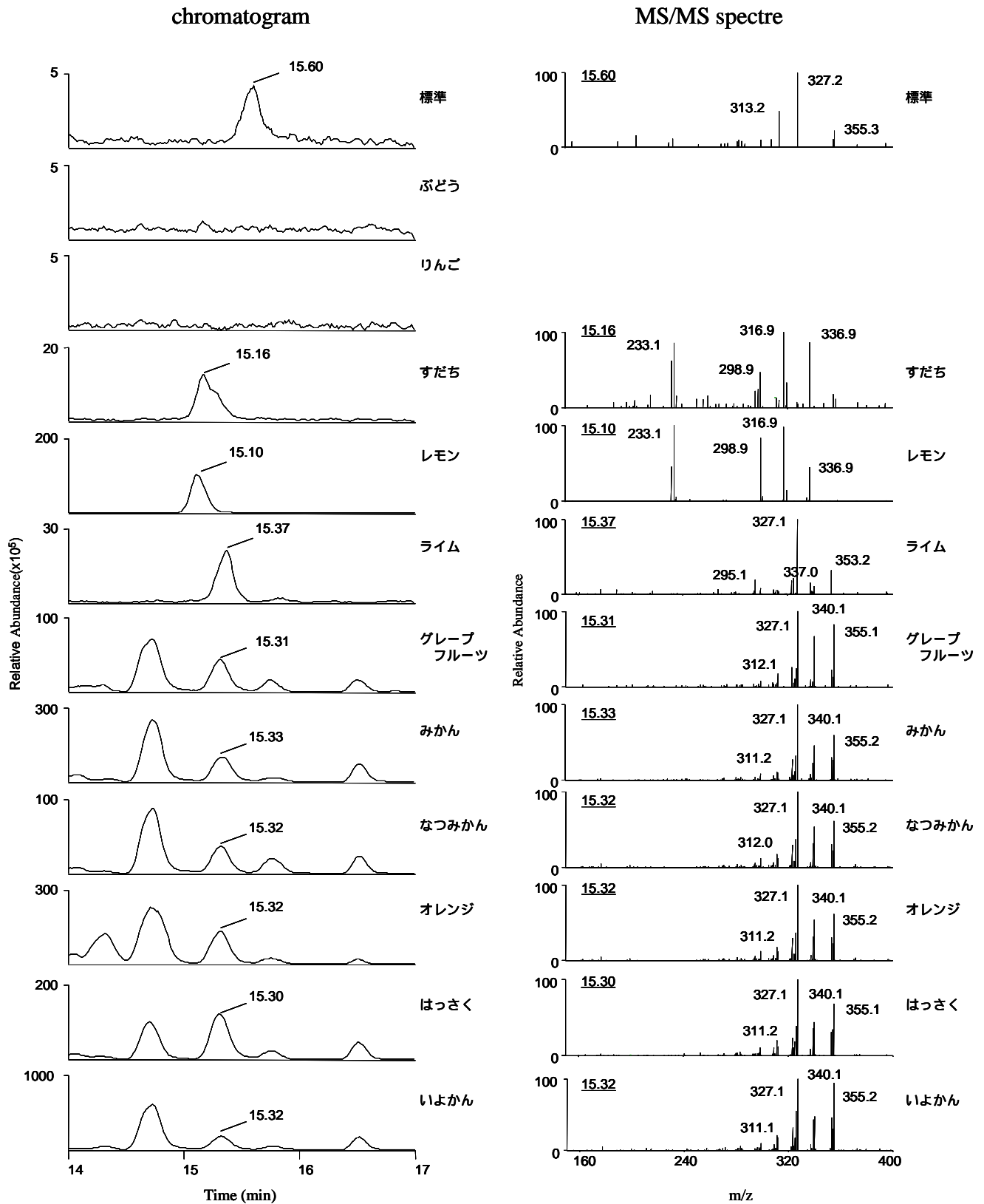


図4 果実別のフルミオキサジン類似物質の有無

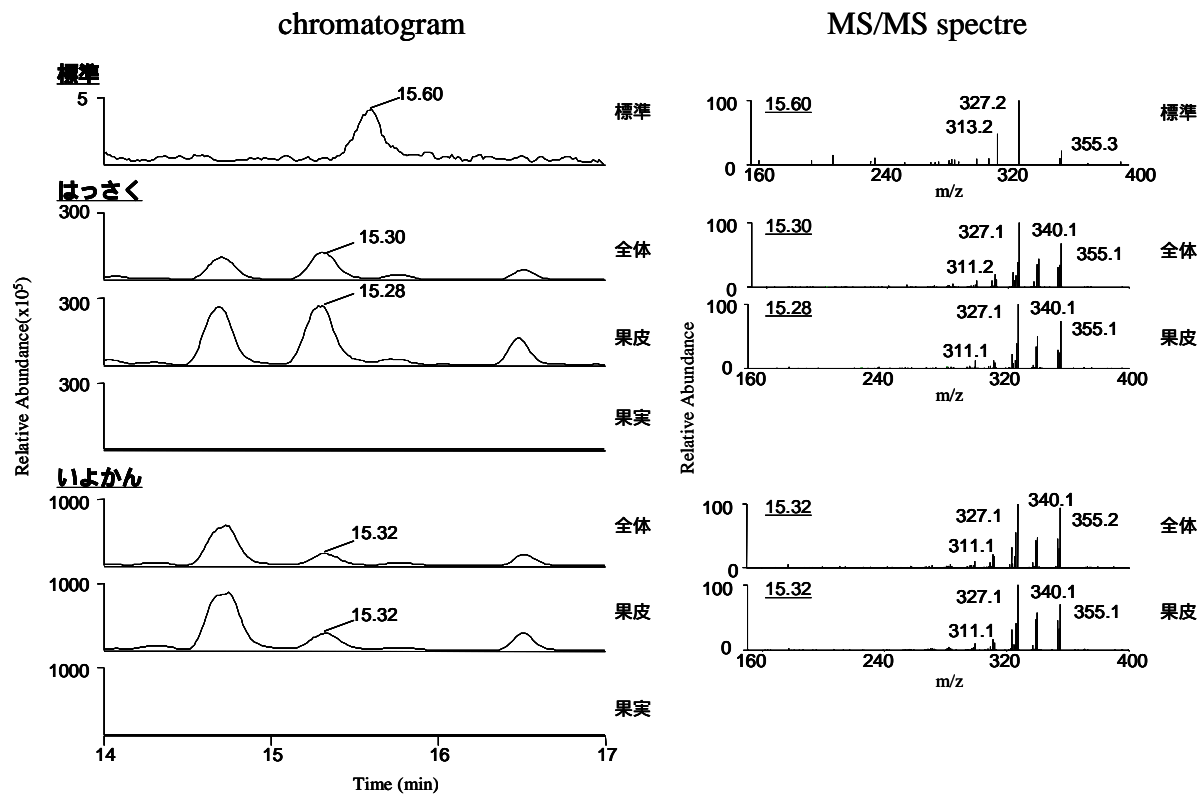


図5 部位別のフルミオキサジン類似物質の有無

安定な物質であるとも予想される。

果実別では、いよかん、はっさく、グレープフルーツ、みかん、なつみかん、オレンジに含有され、すだち、レモン、ライムには含まれないことがわかった。また、ぶどう、りんごにも含まれていなかった。フルミオキサジンの基準値が設定されているその他の柑橘類についても検討を行い、以降のモニタリング検査に活用する必要があると考えられる。

部位別の結果からは、果皮部分に含有されていることが

わかったが、農薬が残留する部位としては、果実よりも表面の果皮であるために注意が必要である。

今回は、フルミオキサジン類似物質の検討であったが、他の農薬についても同様の物質が検出される可能性があり、正確な検査結果を出すためには、このような事態に対応するマニュアル作成も重要であると考えられる。

文献

- 1) 京都市衛生公害研究所年報 生活衛生部門：同研究所年報 No.66, 103-108 (2000)