

LC/MS/MS による果実および果実加工品中の ダミノジッドの分析

赤木浩一¹

LC/MS/MS Analysis of Daminozide in Raw fruits and Prepared fruits

Kouichi AKAKI

要 旨

果実および果実加工品中のダミノジッドの分析法を検討した。分析は、告示法によらず高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計 (LC/MS/MS) による方法で行った。果実は、水抽出後にろ過し測定した。果実加工品は、水抽出後 C18 固相カラムによる精製を行った。果実 83 検体、果実加工品 11 検体について調査した結果、ダミノジッドは、果実のブドウ 2 検体、オウトウ 1 検体から検出された。

Key Words: ダミノジッド Daminozide, 果実 Fruits, 果実加工品 Prepared fruits
高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計 LC/MS/MS

は じ め に

ダミノジッドは、植物成長調整剤として使用されている。その代謝物であるジメチルヒドラジンに極めて発ガン性が高いため、基準はすべての農産物で検出されないことになっている。

しかし、日本ではブドウやオウトウなどに使用されており、福岡市では過去 4 件の違反事例がある。

告示による試験法は、強塩基性で水蒸気蒸留を行った後、誘導体化しなければならず、操作が極めて煩雑である上、危険である。また、ダミノジッドを発ガン性のあるジメチルヒドラジンに変化させ、ガス化して捕集するなど分析者に負担を強いる。

また、他農薬との同時分析ができないこともあり検査を行っている機関が少ない。

今回、LC/MS/MS により簡易な前処理でダミノジッドを分析する方法を検討した。

方 法

1. 試料

国内に流通する果実 83 検体、果実加工品 11 検体、計 94 検体を用いた。

ブドウ : 果実 53

オウトウ : 果実 10, 果実加工品 8(シラップ漬け 4, 油菓子 1, ドライフルーツ 1, ワイン 1, ジュース 1)

西洋ナシ : 果実 6, 果実加工品 3(シラップ漬け 2, ジュース 1)

リンゴ : 果実 7

ビワ : 果実 3

モモ : 果実 2

イチゴ : 果実 2

2. 標準品および試薬

・ダミノジッド標準品 関東化学(株)製

・標準原液 標準品 20mg をメタノールで希釈し 20mL に定容した。

・標準液 標準原液を蒸留水で希釈し 0.2μg/L ~ 200μg/L 溶液を調製した。

・イオンペア試薬 GL サイエンス(株)製 (IPCC-MS7)

・メタノール 関東化学(株)製高速液体クロマトグラフ用

・C18 固相カラム BoundElut JrC18 (500mg) をメタノール 5mL, 0.1%IPCC・水溶液 5mL で洗浄し使用した。

3. 検査方法

粉碎した試料 5g を 50mL 遠心管に正確に計りとり蒸留水を加え 50mL とし、10 分間超音波抽出し、3000rpm 20 分間遠心分離した。上澄みを 5A ろ紙でろ過し、残さに蒸留水を加えろ紙に洗い入れて全量を 50mL とした。

果実は、ろ液 20mL に蒸留水を加え 100mL とし、0.45μm フィルターでろ過し LC/MS/MS 検液とした。

果実加工品は、ろ液 5mL に 1%IPCC-MS7 水溶液を 1mL 加え C18 固相カラムに負荷し 0.1%IPCC-MS7 水溶液 2mL で洗浄後、メタノール 5mL で溶出させ、蒸留水で 25mL としたものを LC/MS/MS 検液とした。

4. 装置及び測定条件

液体クロマトグラフ: Agilent LC1100, カラム 2.0mm i.d. × 50mm (3C18), 移動相 A: 0.1%IPCC-MS7・1%メタノール含有水 B: 0.1%IPCC-MS7・メタノール, 流速 0.20mL/min, B: 20%(2min) → 6%/min → 80%(18min) → 20%(28min) 注入量 25μL

質量分析計: API2000, イオン化 ESI (+)

プレカーサーイオン m/z 161

定量用プロダクトイオン m/z 143

確認用プロダクトイオン m/z 61

¹ . 福岡市保健環境研究所衛生化学部門(現:保健科学部門)

結果及び考察

1. 質量分析計の条件の検討

標準液を用いてプレカーサーイオン，プロダクトイオンが最適になるように調整した。

2. 液体クロマトグラフの条件の検討

一般的に使用されている ODS 系カラムや CN, Ph カラムでは移動相に蟻酸や酢酸アンモニウムを用いてもダミノジッドは保持されなかったため，イオンペア試薬である IPCC-MS7 を用いたところ良好に保持された。

3. 精製方法の検討

一般に LC/MS/MS による分析では，マトリックスによるイオン化阻害のため定量性にかける場合がある。

そこで，C18 固相カラムによる精製について検討した。ダミノジッド標準液 5mL に 1%IPCC-MS7 1mL を加え C18 固相カラムに負荷し，メタノールで溶出したところ 4mL で 97 % 以上回収されたため，同カラムを用いて精製することにした。

なお，2%のショ糖，果糖，麦芽糖溶液及び果実抽出液にダミノジッドを添加して LC/MS/MS で測定した結果，イオン化阻害はほとんど見られなかった。

このため，果実については C18 固相カラムによる精製は省略し，抽出液を希釈・ろ過して LC/MS/MS で測定することにした。

4. 検量線

ダミノジッドの検量線を図 1 に示した。濃度範囲 0.2µg/L ~ 200µg/L で良好な直線性を示す検量線が得られた。

定量下限値相当の 2µg/L の SN 比は 56 で十分な感度を得られた。

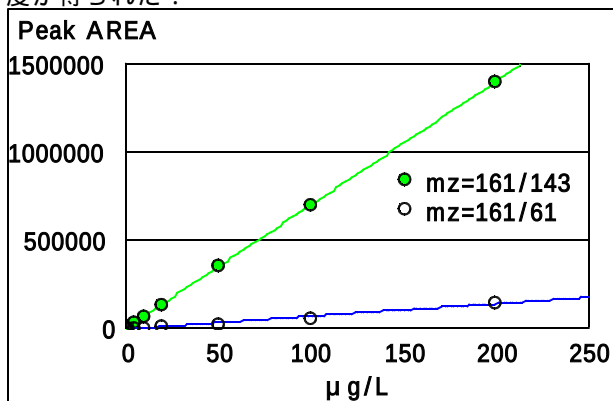


図 1 ダミノジッドの検量線

5. 実態調査

本法を用いてブドウおよびオウトウなど果実ならびに果実加工品計 94 検体についてダミノジッドを分析した試験結果を表 1 に示す。

ブドウ果実 53 検体中 2 検体，オウトウ果実 10 検体中 1 検体からダミノジッドが検出された。

検出されたオウトウのクロマトグラムを図 2 に示

す。定量に支障を与えるような夾雑ピークは見られなかった。またダミノジッドのプロダクトスキャンによるマススペクトルを図 3 に示す。

表 1 試験結果

試料名	分類	検体数	ダミノジッド
ブドウ	果実	53(2)	<0.01 (0.07,0.08)
オウトウ	果実	10(1)	<0.01 (1.5)
	果実加工品	8(0)	<0.01
西洋ナシ	果実	6(0)	<0.01
	果実加工品	3(0)	<0.01
リンゴ	果実	7(0)	<0.01
ビワ	果実	3(0)	<0.01
モモ	果実	2(0)	<0.01
イチゴ	果実	2(0)	<0.01
計		94(3)	

注) () は，検出検体数，単位 ppm

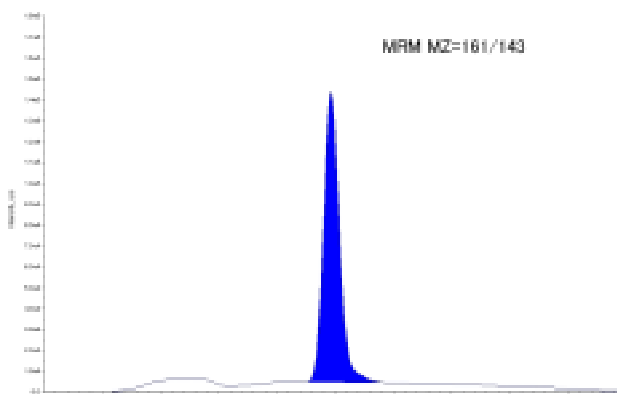


図 2 ダミノジッドが検出されたオウトウのクロマトグラム

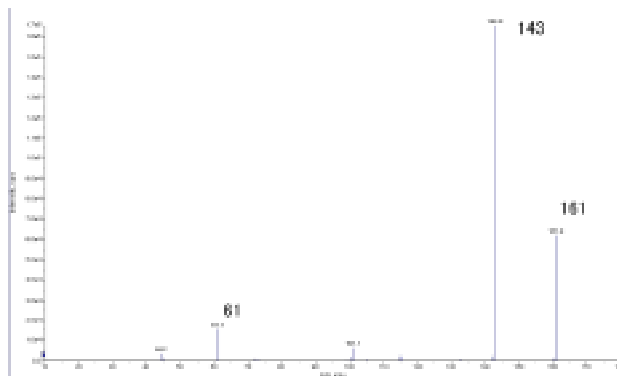


図 3 ダミノジッドのプロダクトスキャンによるマススペクトル

6. まとめ

LC/MS/MS による果実および果実加工品中のダミノジッドの分析法について検討した。

前処理は，蒸留水で抽出後，果実は希釈後にろ過，果実加工品は C18 固相カラムで処理するだけの簡便な前処理により LC/MS/MS で測定することができ，有効なスクリーニング法と考えられた。

本法を用いて果実および果実加工品中 94 検体について分析した結果，ブドウ 2 検体およびオウトウ 1 検体からダミノジッドを検出した。