

防かび剤

オルトフェニルフェノール、オルトフェニルフェノールナトリウム、

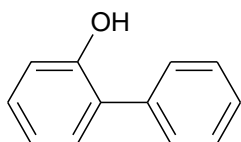
ジフェニル及びチアベンダゾール

o-Phenylphenol, Sodium *o*-Phenylphenate, Diphenyl and Thiabendazole

オルトフェニルフェノール

o-Phenylphenol

略名：OPP

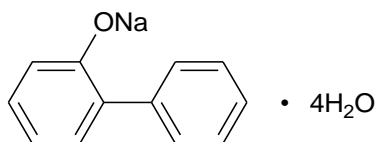


$C_{12}H_{10}O$: 170. 21

オルトフェニルフェノールナトリウム

Sodium *o*-Phenylphenate

略名：OPP-Na



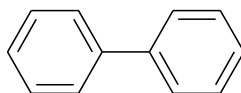
$C_{12}H_9NaO \cdot 4 H_2O$
($C_{12}H_9NaO$: 192. 19)

ジフェニル

Diphenyl

別名：ビフェニル

略名：DP

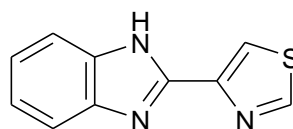


$C_{12}H_{10}$: 154. 21

チアベンダゾール

Thiabendazole

略名：TBZ



$C_{10}H_7N_3S$: 201. 25

1. 分析法の概要

食品中のオルトフェニルフェノール、オルトフェニルフェノールナトリウム、ジフェニル及びチアベンダゾールは、酢酸エチルで抽出した後、液体クロマトグラフィーによりオルトフェニルフェノール、ジフェニル又はチアベンダゾールとして定量する。必要があれば、オルトフェニルフェノールに分子量比を乗じて、オルトフェニルフェノールナトリウムの量として求める。(2000年設定、2019年統合法設定、2021年改正)

2. 分析法(液体クロマトグラフィー)¹⁾

(1) 検体の採取と試料の調製

① かんきつ類

果実約 1 kg を精密に量り、必要に応じて適量の水を量って加え、細切均一化する^{2,3)}。

② バナナ

果柄部を除去した果実又は果肉約 1 kg を精密に量り、必要に応じて適量の水を量って加え、細切均一化する^{2,4)}。

③ 加工食品

一般試料採取法を準用する。

(2) 試験溶液の調製

試料約 10 g を精密に量り、ブレンダーカップに入れる。次に無水酢酸ナトリウム 1～2 g⁵⁾、無水硫酸ナトリウム 20 g⁶⁾を加えてよく混和した後、酢酸エチル 40mL を加え 2 分間ホモジナイズし、これを遠心 (10 分間、3000 回転/分)⁷⁾して酢酸エチル層を分取する。沈殿物には更に酢酸エチル 40mL を加えて同様に操作し、得られた酢酸エチル層を合わせ、1-ブタノール 2 mL を加えて 40℃以下で減圧下で濃縮⁸⁾する。これに液体クロマトグラフィー用の移動相を加えて全量を正確に 5 mL とし、メンブランフィルター (0.45µm) でろ過し、試験溶液⁹⁾とする。

(3) 検量線用標準溶液の調製¹⁰⁾

オルトフェニルフェノール、ジフェニル及びチアベンダゾール各 10.0mg を量り、それぞれメタノール 5 mL を加えて溶解した後、移動相を加えて正確に 100mL とする (濃度 各 100µg/mL)。これらの液 10mL ずつを正確にとり、1-ブタノール 5 mL を加え、次いで移動相を加えて正確に 100mL とし、標準溶液とする (濃度各 10µg/mL)。標準溶液 2、4、6、8 mL 及び 10mL を正確にとり、それぞれに移動相を加えて正確に 10mL とし、検量線用標準溶液とする (濃度各 2～10µg/mL)。

(4) 測定法

① 測定条件¹¹⁾

蛍光検出器付液体クロマトグラフを用い、次の条件によって測定する。

カラム充填剤：オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管：内径 4.6～6.0mm、長さ 150～250mm

カラム温度：40℃

移動相¹²⁾：メタノール/水/アセトニトリル混液 (60 : 35 : 5) に 10mmol/L になるようにドデシル硫酸ナトリウムを加えた後、リン酸で pH を 2.3～2.5 とする。

流速：1 mL/分

測定波長：励起波長 285nm、蛍光波長 325nm

注入量：10µL

② 検量線¹³⁾

検量線用標準溶液 10 μ L ずつをそれぞれ液体クロマトグラフに注入し、ピーク面積から検量線を作成する。

③ 定量¹⁴⁾

試験溶液 10 μ L を液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク面積と検量線によって試験溶液中のオルトフェニルフェノール、ジフェニル又はチアベンダゾール濃度 (μ g/mL) を求め、次式によって試料中¹⁵⁾のオルトフェニルフェノール、オルトフェニルフェノールナトリウム、ジフェニル又はチアベンダゾール含量 (g/kg) を算出する。

オルトフェニルフェノール、ジフェニル又はチアベンダゾール含量 (g/kg)

$$= \frac{C \times 5}{W \times 1000}$$

W × 1000

C : 試験溶液中のオルトフェニルフェノール、ジフェニル又はチアベンダゾール濃度 (μ g/mL)

W : 試料の採取量 (g)

オルトフェニルフェノールナトリウム含量 (g/kg)

= オルトフェニルフェノール含量 (g/kg) × 1.129

④ 定量限界 オルトフェニルフェノール、ジフェニル又はチアベンダゾールとして 0.001 g/kg¹⁶⁾

試薬・試液

1. オルトフェニルフェノール：オルトフェニルフェノール標準品 [残留農薬試験用]
2. ジフェニル：ジフェニル標準品 [残留農薬試験用]
3. チアベンダゾール：チアベンダゾール標準品 [残留農薬試験用]
4. 無水酢酸ナトリウム：酢酸ナトリウム [特級]
5. 無水硫酸ナトリウム：硫酸ナトリウム [特級]
6. 酢酸エチル：[特級]
7. 1-ブタノール：[特級]
8. リン酸二水素カリウム：[特級]
9. メタノール¹⁷⁾：[高速液体クロマトグラフィー用]
10. アセトニトリル：[液体クロマトグラフィー用]
11. ドデシル硫酸ナトリウム：市販品を用いる。
12. リン酸：[特級]

[注]

- 1) 本法は、かんきつ類及びその加工品中のオルトフェニルフェノール、オルトフェニルフェノールナトリウム、ジフェニル及びチアベンダゾールの分析並びにバナナ中のチアベンダゾールの分析に適用できる。
- 2) 「食品、添加物等の規格基準 第1食品 A食品一般の成分規格6 (2) 検体」及び「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」(平成17年1月24日付け食安発第0124001号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知) 別添「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法」参照。
- 3) 8分割法については、イマザリル分析法 [注] 3) を参照のこと。
- 4) 1~2房のバナナから3~4本を任意に採取し、先端及び果柄部を可食部の近くで切断する。果実又は果肉のみを約1cmずつの輪切りにしたものを交互に、各検体についてほぼ均等に約200g採取し、ホモジナイズして試料としてもよい。
- 5) 無水酢酸ナトリウムはpHを調整するために用いる。レモンの場合は2g、グレープフルーツ、オレンジ等については1gを加える。
- 6) 無水硫酸ナトリウムの添加量はマーマレード、ジャム等の加工品では30g、ジュース等では45g程度を添加するとよい。
- 7) 試料に無水酢酸ナトリウムを添加し、ホモジナイズ後、酢酸エチルを分取する場合、分液漏斗に移して静置する方法、あるいはろ過をする方法があるが、いずれも長時間を要するため遠心を行うとよい。
- 8) 減圧濃縮する場合、1-ブタノールを添加してあるため、乾固することはない。通常、酢酸エチルの臭いがしなくなる程度に濃縮するとよい。
- 9) 試験溶液のpHが1~8のとき、蛍光強度が最も強い。
- 10) 検量線用標準溶液を更に移動相で10倍希釈し、検量線を作成しても直線性が得られる。バナナの果肉中のチアベンダゾールを分析する場合は、0.5~5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の検量線用標準溶液を用いる。また、いずれの場合も、検量線用標準溶液の数は、直線性が確認できれば、適宜、調整してもよい。
- 11) 測定条件は例示である。用いるカラムの内径及び長さによって、流速及び注入量等を調整する。
- 12) 移動相はアセトニトリル/メタノール/水混液(40:25:35)に10 mmol/L となるようにドデシル硫酸ナトリウムを加えた後、リン酸でpHを2.3~2.5としたもの、アセトニトリル/0.1%リン酸混液(65:35)に10 mmol/L となるようにドデシル硫酸ナトリウムを加えたもの、あるいは0.01 mol/L リン酸二水素カリウム/メタノール混液(2:3)でも良好なクロマトグラムが得られる。
- 13) 必要に応じて、検量線用標準溶液の調製に用いた溶媒を分析し、溶媒由来の夾雑物のないことを確認する。
- 14) かんきつ類10gに0.25mg、かんきつ類加工品10gに0.1mg添加した場合の回収率は、

オルトフェニルフェノールで 90~100%、ジフェニルで 82~96%、チアベンダゾールでは 88~92%である。

- 15) 試料の調製の際に水を添加した場合には、次式により、検体中のオルトフェニルフェノール、ジフェニル又はチアベンダゾール含量を求める。

オルトフェニルフェノール、ジフェニル又はチアベンダゾール含量 (g/kg)

$$= \frac{C \times 5}{W \times 1000} \times \frac{W_1 + W_2}{W_1}$$

C : 試験溶液中のオルトフェニルフェノール、ジフェニル又はチアベンダゾール濃度 (µg/mL)

W : 試料の採取量 (g)

W₁ : 検体の採取量 (g)

W₂ : 検体に添加した水の量 (g)

- 16) 0.5~5 µg/mL の検量線用標準溶液を用いてバナナ果肉中のチアベンダゾールを分析した場合、チアベンダゾールの定量限界は、0.0003 g/kg である。

- 17) 使用するアセトニトリル、メタノール等の試薬類はクロマトグラム上に妨害ピークが出ないことを確認すれば、試薬特級や残留農薬用を用いることができる。