

27. 奈良県内で採取したキハダの果実および葉の残留農薬

実態調査および供給に関する研究

○米田 正樹 (奈良県保健研究センター)

樋上 絢 (旧所属 奈良県保健研究センター 現所属 奈良県中和保健所)

立本 行江 (奈良県保健研究センター)

【研究目的】

キハダ *Phellodendron amurense* Ruprecht 又は *Phellodendron chinense* Schneider (Rutaceae) はミカン科キハダ属の落葉広葉樹の高木で、乾燥した内皮は生薬オウバクとして奈良県内では陀羅尼助丸等の民間薬に利用され根強い需要がある。このキハダのうち、奈良県産のキハダは 20 年以上前にキハダの植栽を勧めた業者が不明となり、栽培や管理方法が生産者任せのため、枝打ちや下草の処理などを行わず放置状態になっているものが多く、今後、奈良県産キハダを活用していくにあたり、安定的に供給することが課題となっている。この解決策のひとつとして内皮以外の果実や葉を健康食品に活用する動きがあるが、奈良県内のキハダの一部は田畑に隣接して生育しているものもあり、農薬飛散の影響が危惧されている。

本研究の目的は、奈良県各地のキハダの果実、葉の農薬汚染を調査し、その利用による県民の健康被害を未然に防ぐとともに、長寿社会に貢献する健康食品等の開発の基礎資料とすることおよび、将来の奈良県産キハダの安定的な供給の一助とすることである。

【研究の必要性】

現在日本各地では、地産地消の動きが活発となっている。また近年、長寿社会を意識した特産品を利用した健康食品等の開発が盛んとなっており、既に多くの特産品が健康食品等の食材として実用化されている。

今回調査するキハダの乾燥した内皮は生薬オウバクとして奈良県内で陀羅尼助丸等の民間薬の原料として古くから利用されてきたものの、果実や葉および芯材は利用されておらず廃棄されていた (図 1)。奈良県ではキハダの内皮以外の部分を有効に活用し、付加価値の高い新たな製品開発につなげ産業拡大及び森林地域の振興を図るために、果実や葉を他の特産品と同様に健康食品等の食材として利用する動きがある。しかし、奈良県内のキハダの多くは植林地等の管理された区域で育成されたものではなく、田畑に隣接した環境下で植えられていることから、農薬飛散や汚染残留農薬による健康被害の可能性が危惧される (図 2)。

これまでキハダの食材としての利用は一部アイヌの食文化の中に見られる^{2),3)}程度であり、総じて食材としてはあまり利用されていなかったため、系統だった残留農薬に関する調査報告はなく、安全性に関する知見を得ることが必要である。



図 1. キハダの各部位（左：内皮、中央、果実および葉、右：芯材）
（内皮は生薬の原料として利用されている）



図 2. キハダの生育環境の一例（左：茶畑、右：キハダ）

【研究計画】

キハダの果実および葉の採取地点を選定し、周辺での農薬使用状況の調査および関係者との調整後、試料を採取する。キハダの果実および葉からの農薬抽出条件および精製条件を検討する。農薬混合標準品およびGC-MS/MSを用いた分析法について妥当性評価ガイドライン⁴⁾に基づく妥当性評価（真度、併行精度、室内精度）を実施し実態調査を実施する農薬項目を設定する。設定した農薬について奈良県内各地で採取したキハダの果実および葉の残留農薬の実態調査を行う。

【実施内容】

試料は奈良県内 9 地点（奈良市内 2 地点、御所市内 1 地点、吉野郡吉野町 1 地点、山辺郡山添村 2 地点、宇陀郡曽爾村 1 地点、吉野郡天川村 2 地点）で採取したキハダの果実 14 試料および葉 28 試料の合計 42 試料を調査対象とした。

GC-MS/MS による測定は林純薬工業（株）製 GC/MS 用農薬混合標準溶液 7 グループに含まれる成分のうち 329 化合物を妥当性評価の対象とした。LC-MS/MS による測定は富士フイルム和光純薬（株）製 LC/MS 用農薬混合標準溶液 4 グループに含まれる成分の内 112 化合物を対象とした。

ODSミニカラムはAgilent社製Mega Bond ElutC18（充てん量 1,000 mg ; カラムサイズ 6 mL）を、グラファイトカーボン/ NH₂積層ミニカラムはSUPELCO社製ENVI-Carb II /NH₂（充てん量 500 mg/500 mg ; カラムサイズ 6 mL）を用いた。

GC-MS/MSは、Agilent社製のガスクロマトグラフGC7890Aおよび7000Bを使用した。LC-MS/MSは、Waters社製の液体クロマトグラフACQUITY UPLC H-ClassおよびXevo TQ-S microを使用した。ミキシングカッターは東芝（株）製CQM-T1を用いた。高速ホモジナイザーはKINEMATICA製Polytron PT10-35GTを用いた。ロータリーエバポレーターはヤマト科学（株）製RE801を使用した。

GC-MS/MS用カラムはAgilent社製DB-5ms（内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm）を使用し、カラム温度は 50℃（1 min）→ 25℃/min → 125℃ → 10℃/min → 300℃（5 min）→ 20℃/min → 310℃（10 min）、注入口温度は 250℃、トランスファーライン温度は 280℃、注入量は 2 μL、MSイオン源温度は 280℃、四重極温度は 150℃、イオン化法はEI、イオン化電圧は 70 eVの条件で測定した。LC-MS/MS用カラムはWaters社製ACQUITY UPLC BEH C18（内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 1.7 μm）を使用し、カラム温度は 50℃、注入量は 2 μL、移動相は 5 mmol/L酢酸アンモニウム（A液）および 5 mmol/L酢酸アンモニウム・メタノール溶液（B液）、移動相流速は 0.4 mL/min、グラジエント条件は 0 min（A:B = 95:5）→ 1 min（A:B = 95:5）→ 15 min（A:B = 5:95）→ 20 min（A:B = 5:95）→ 20.1 min（A:B = 95:5）→ 25 min（A:B = 95:5）、イオン化法はESI(+)およびESI(-)、キャピラリー電圧は 3 kV、ソース温度は 150℃、コーンガス流量は 50 L/h（N₂）、脱溶媒温度は 400℃、脱溶媒ガス流量は 800 L/h（N₂）の条件で測定した。

試料溶液の調製は「GC/MSによる農薬等の一斉試験法（農産物）」および「LC/MSによる農薬等の一斉試験法 I（農産物）」⁵⁾（以下、通知法）に準拠して行った。

キハダの果実および葉を対象とした残留農薬試験法の妥当性評価を実施した報告はこれ

までにならないため、妥当性評価ガイドラインに基づく妥当性評価を実施した。今回の調査での添加濃度は、一律基準 (0.01 µg/g) および 0.05 µg/g を採用した。実験は、分析者 1 名が併行数 2 で 5 日間の枝分かれ試験で実施した。検量線はマトリックス検量線による絶対検量線法で濃度を求めた。得られた結果から真度、併行精度および室内精度を算出し、選択性、真度、併行精度および室内精度のいずれもガイドラインの目標値を達成した化合物を実態調査の対象として選定した。

【結果】

妥当性評価の結果、果実は 232 化合物が、葉は 298 化合物がガイドラインの目標値を達成し実態調査の対象として選定した。

キハダの果実 14 検体、葉 28 検体について選定した化合物の残留実態調査をした結果、除草剤のジクロベニルまたは殺菌剤のフルオピコリドの代謝物である 2,6-ジクロロベンズアミドが山添村で採取した葉試料 1 検体から 0.01 µg/g 検出した。一方、果実の試料からは選定した農薬は検出されなかった⁶⁾。

【考察】

今回の調査で検出した 2,6-ジクロロベンズアミドはジクロベニルまたはフルオピコリドの代謝物であり 2,6-ジクロロベンズアミドのみでは残留基準値と比較することはできない。当該試料は採取地が茶畑の隣接地で、農薬成分が残留に至る経緯には多数の要因が考えられ今回の現地調査だけでは残留に至る経緯は判明しなかった。

【今後の課題】

42 検体の内 1 検体ではあるが、農薬成分の検出が確認されたことから、今後、キハダの果実および葉を食材として利用する場合、隣接地である生産される米や茶等の農産物の残留基準値と食品分類でその他の果実に分類されているキハダの果実やその他の野菜に分類されているキハダの葉の残留基準値の違いを考慮した農薬の使用方法に配慮する必要性があると考えられた。

今回の調査は、奈良県内各地に生育するキハダの果実および葉の農薬残留状況の全てを議論できるものではないが、今後も継続して調査を行うことで、奈良県内産キハダの果実および葉の食材への利用に対して安全・安心への一助となり、将来的な奈良県内産キハダの安定的な供給の一助となれば幸いである。

本研究は奈良県研究分野統合本部事業の一部として実施した。また、本研究の一部は日本食品衛生学会第 115 回学術講演会（東京）において発表した。検体採取への協力と材料の提供をいただいた関係各位に深謝申し上げます。

【参考文献】

- 1) 立本行江, 他: 生薬学雑誌, 74, 98-105 (2020)
- 2) 石井智美, 他: 酪農学園大学紀要, 32, 139-144 (2008).
- 3) 金内花枝: 苫小牧駒澤大学紀要, 18, 73-99 (2007)
- 4) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知”食品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について”平成 19 年 11 月 15 日、食安発第 1115001 号 (2007) (平成 22 年 12 月 24 日一部改正、食安発 1224 第 1 号) .
- 5) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知”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 11 月 29 日、食安発第 1129002 号 (2005) (平成 18 年 10 月 3 日、食安発第 1003001 号一部改正) .
- 6) 米田正樹, 他: 日本食品化学学会誌, 27, 1-9 (2020)

【経費使途明細】

使 途	金 額
残留農薬抽出用有機溶媒（アセトニトリル、メタノール）購入費	19,696 円
検体前処理用固相抽出カラム購入費	149,517 円
農薬混合標準溶液購入費	96,250 円
実験器具（バイアル、マイクロピペット、手袋）購入費	31,578 円
事務用品購入費	2,959 円
合 計	300,000 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円