

クロピラリドの作物体残留量の把握

柴田仁^{*1}、池長宙^{*1}、岩船敬^{*1}

Hitoshi SHIBATA, Ozora IKENAGA, Takashi IWAFUNE

(平成 18 年度実績)

要 約

平成 18 年度先端技術を活用した農林水産高度化事業「飼料及び堆肥に残留する除草剤の簡易判定法と被害軽減対策の確立」に参画し、除草剤クロピラリドの作物残留分析法の検討及び作物残留試験を実施した。

キャベツ及びレタスを用いて残留分析法を検討した結果、アルカリ性下含水メタノールで抽出し HLB カートリッジカラムを用いて精製後 LC/MS/MS で測定することにより、良好な結果が得られた。

また、クロピラリド残留堆肥を施用して栽培したキャベツ及びレタスについて、作物残留試験を実施したところ、残留量は全て定量限界 (0.01ppm) 未満であった。

はじめに

近年、トマト栽培において原因不明の異常生育が発生する事例が全国的に報告され、調査の結果、給与飼料および牛ふん堆肥から、国内で使用されていないホルモン型除草剤であるクロピラリドが高濃度で検出された。

これまで、クロピラリドは日本国内では農薬登録を受けたことがなく、作物残留に関する知見が少ない。特に栽培土壌から作物体への移行性については全く不明であり、高感度な作物残留分析法も確立されていない。

そこで、クロピラリドの残留分析法の確立と残留量把握を行い、食品の残留基準値遵守の観点からクロピラリドを含む堆肥の適正な施用方法等を確立することを目的に調査研究を実施した。

調査研究方法

1. 試料調製

クロピラリドを 0.09ppm 含有する堆肥を用い、3t/10a 施用区、6t/10a 施用区及び無処

*1 (独) 農薬検査所 調査研究課

理区を設定しキャベツ及びレタスを栽培（露地栽培）した。なお、試料調製は長野県中信農業試験場で行った。

2. 試験溶液の調製

2. 1 抽出

フードプロセッサーにて磨砕均質化した試料 10g を秤取し、1N-水酸化ナトリウム水溶液を約 1mL、メタノールを 100mL 加え、カップ型ホモジナイザーで 5 分間混合して抽出を行った。内容物を GFP フィルターで吸引ろ過し、残渣をメタノール 50mL で洗浄・ろ過してろ液を合わせた。残渣に再度メタノールを 100mL 加えて同様の操作を繰り返し、それぞれのろ液を合わせてメタノールを留去した。

2. 2 カートリッジカラム (Oasis HLB) による精製①

2. 1 項で得られた濃縮液を、予めメタノール 5mL 及び蒸留水 5mL で順次洗浄した HLB カラムに負荷した。更に 0.01N-水酸化ナトリウム水溶液/メタノール(5:5) 約 5mL で容器を洗浄してカラムに負荷する操作を 2 回繰り返した。これらの溶出液を捕集し、メタノールを留去した。

2. 3 カートリッジカラム (Oasis HLB) による精製②

2. 2 項で得られた濃縮液に 1N-塩酸 3mL を加えた後、予めアセトニトリル 5mL 及び 0.1N-塩酸 5mL で順次洗浄した HLB カラムに負荷した。更に 0.1N-塩酸約 5mL で容器を洗浄してカラムに負荷する操作を 2 回繰り返した。次に 0.1N-塩酸/アセトニトリル(9:1)5mL、蒸留水 5mL を順次カラムに負荷し、これまでの溶出液は廃棄した。次に 0.0025%アンモニア水/アセトニトリル(9:1)2mL でクロピラリドを溶出させ、5mL メスフラスコにて溶出液を捕集した。これに移動相の初期条件である 0.1%ギ酸水溶液/アセトニトリル(9:1)を加え、5mL に定容した。これをシリンジフィルターに通したものを試験溶液とした。

3. LC/MS/MS の条件

液体クロマトグラフ : Waters 2695

タンデム質量分析装置 : Micromass Quattro micro (Waters)

カラム : Atlantis dC18 (Waters)

内径 2.1mm 長さ 150mm 粒子径 3 μ m

カラム温度 : 25 °C

移動相 : A アセトニトリル、B 0.1%ギ酸水溶液

グラジエント : 10%A (0.5min) \rightarrow (8.5min) \rightarrow 70%A \rightarrow (4min) \rightarrow 95%A (5min)

流速 : 0.2mL/min

注入量 : 5 μ L

イオン化法 : ESI

モニターイオン : 189.90 \rightarrow 146.00

保持時間 : 約 8.8min

4. 検量線の作成

クロピラリド標品の 1000ppm アセトニトリル溶液を調製する。この溶液をアセトニトリルで希釈し、標準溶液を調製した。これらの標準溶液各 5 μ L を前述の条件の LC/MS/MS に注入し、クロピラリドのピーク面積を測定した。ピーク面積を縦軸に、重量を横軸に取り、最小二乗法により検量線を作成した。

結 果

LC/MS/MS によるキャベツ及びレタス中のクロピラリド分析法（図 1）について、0.01ppm 相当の添加回収試験を行ったところ、86%及び 89%（変動係数 3%及び 5%）の良好な回収率が得られた（表 1）。

また、作物残留試験の結果、クロピラリド残留堆肥（0.09ppm）3t/10a 施用区及び 6t/10a 施用区におけるレタス及びキャベツの残留量はすべて定量下限（0.01ppm）未満であった（表 2）。

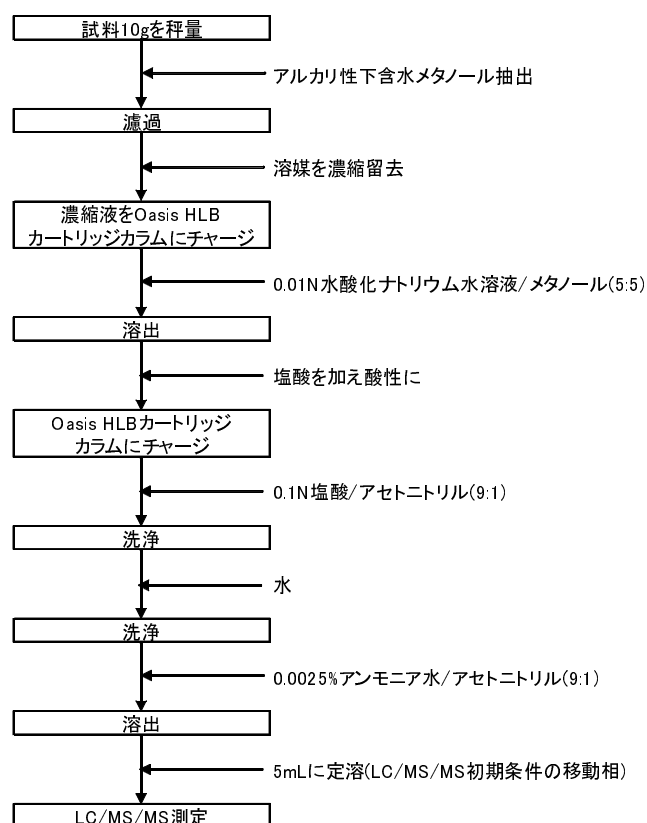


図 1 LC/MS/MS によるクロピラリド残留分析法フローチャート

表1 添加回収試験結果

試料	添加濃度	回収率	平均	変動係数
キャベツ	0.01 ppm	89, 84, 84 %	86 %	3 %
レタス	0.01 ppm	92, 91, 84 %	89 %	5 %

表2 作物残留試験結果

	試験区			残留基準値 (暫定)
	無処理	3 t/10a	6 t/10a	
キャベツ	< 0.01 ppm	< 0.01 ppm	< 0.01 ppm	2 ppm
レタス	< 0.01 ppm	< 0.01 ppm	< 0.01 ppm	0.01 ppm