

農業生産現場で生産者自らが使える農薬残留判定技術の開発

—水抽出法の検討—

荻野 知美, 岩船 敬, 渡邊 栄喜[†]

独)農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

[†]独)農業環境技術研究所 有機化学物質研究領域

7種のネオニコチノイド系殺虫剤および3種の代謝物について、ピーマンおよびトマトを供試作物とし、水を抽出溶媒として用いた抽出法(以下、水抽出法)による一斉分析法を検討した。水抽出法では、供試化合物の大部分がろ液(以下、水抽出液)に分配することが確認された。水抽出法での供試化合物の回収率は、添加濃度の低下に伴う著しい低下は見られず、添加濃度0.01-1.00 mg/kgで高い割合(78.7-125.2%)を示した。水抽出液と有機溶媒抽出液を外観で比較すると、水抽出液では作物色素による着色がほとんど認められなかったため、試料由来の共抽出が少ないと考えられた。親化合物だけでなく代謝物の回収率も高いことから、水抽出法は供試化合物10種を一斉かつ定量的に抽出できる手法であるとともに、ELISA法(免疫化学的測定法)などのスクリーニング分析の抽出法として有用であることが示唆された。

Keywords : 水抽出, 多成分一斉分析, ネオニコチノイド系殺虫剤, 代謝物

結 言

農作物中の残留農薬一斉分析では、一般的に液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MSもしくはLC-MS/MS)やガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MSもしくはGC-MS/MS)などの分析機器が用いられている(以下、機器分析)。農作物の出荷前における残留農薬検査の場合、栽培時に使用した農薬の散布履歴から測定対象農薬を特定することができる。そのため、出荷前の残留農薬検査に対し、従来の機器分析だけでなく抗原抗体反応を利用した免疫化学的測定法(Enzyme-linked immunosorbent assay, 以下ELISA法)が活用される場合がある。

機器分析は、測定感度および精度が高く、多成分の一斉分析が可能であるが、測定前の抽出および精製等の前処理工程に時間がかかる上に、高額機器を利用するため、初期投資および維持費の負担が大きく、農業生産現場への投入は難しい。一方、ELISA法は、機器分析と比べて高額な分析機器が不要で低コストである。また、煩雑な前処理工程が不要で分析時間が短時間であるため、スクリーニング的な残留農薬検査に適している。しかし、機器分析およびELISA法のいずれの分析においても前処理工程で有機溶媒を使用するため、廃液処理を必要とし、ド

ラフト設備が備わっている実験施設で分析を行わなければならない。有機溶媒の代わりに水を抽出溶媒として用いた場合(以下、水抽出法)、残留農薬分析における有機溶媒の使用量を削減することができる。さらに有機溶媒を要する精製工程が省略可能である場合、廃液処理を必要としないため、水抽出法は農業生産現場でも導入しやすい抽出法であることが想定される。

日本において7種類の有効成分が登録されているネオニコチノイド系殺虫剤は、平成21年度における殺虫剤総出荷量の約18%を占めている¹⁾。多種多様な農作物に散布可能であり、国内の農地で幅広く使用されている²⁾。使用方法として農作物の収穫直前に使用可能な製剤が多く、収穫後の農作物中の濃度が高くなることが想定されるため、ネオニコチノイド系殺虫剤に関する出荷前の残留農薬検査は極めて重要である。厚生労働省通知一斉試験法³⁾では、ネオニコチノイド系殺虫剤のジノテフランおよびニテンピラムとその代謝物CPMAおよびCPMFは測定対象化合物ではないため、それらの化合物に対する農作物中の濃度を同時に測定することができない。ネオニコチノイド系殺虫剤の一斉分析法の検討について、前処理工程を「有機溶媒抽出→精製」または「有機溶媒抽出→転溶→精製」とした報告⁴⁾⁸⁾はあるが、ニテンピラムとその代謝物も同時に分析可能で良好な回収率が得られた報告は極めて少な

い7. また、前処理工程に水抽出法を用いた報告は限られている⁹⁾。

本研究では、ELISA法などのスクリーニング分析を農業生産現場で利用しやすくするために、有機溶媒を用いない水抽出法の検討を行うとともに、水抽出による農作物中のネオニコチノイド系殺虫剤の一斉分析法の検討を行った。すなわち、(1) 抽出溶媒に水を用いた方法、および(2) 厚生労働省通知一斉試験法の一部を変更した方法を検討した。

材料および方法

1. 供試化合物

水溶解度が高く、オクタノール-水分配係数 ($\log P_{ow}$ 値) が低い 7 種のネオニコチノイド系殺虫剤 (アセタミプリド、イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフラン、チアクロプリド、チアメトキサム、ニテンピラム)、およびチアクロプリドの代謝物であるチアクロプリドアミド体、ニテンピラムの代謝物である CPMA、および CPMF を供試化合物とした (表 1)。

表 1. 供試化合物の $\log P_{ow}$ 値と水溶解度¹⁰⁾

	$\log P_{ow}$ 値	水溶解度 (g/l)
アセタミプリド	0.8	4.25
イミダクロプリド	0.57	0.51
クロチアニジン	0.7	0.327
ジノテフラン	-0.549	40
チアクロプリド	1.26	0.185
チアクロプリドアミド体	—*	—*
チアメトキサム	-0.13	4.1
ニテンピラム	-0.66	>590
CPMA	—*	—*
CPMF	—*	—*

* 不明

2. 供試作物

果菜類のピーマンとトマトを供試作物とした。選定理由は次のとおりである; (1) 両作物に対し、ネオニコチノイド系殺虫剤を収穫前日まで散布することが可能であるため、出荷前の残留農薬検査において、他の作物群より高濃度で検出される可能性が高い、(2) ELISA法において、分析妨害成分が測定結果へ及ぼす影響がピーマンは高くトマトは低いこと、を考慮した。

添加回収試験には、ネオニコチノイド系殺虫剤の散布履歴がない作物を用いた。ピーマン (品種: 京

鈴) は (社) 日本植物防疫協会宮崎試験場で、トマト (品種: ハウス桃太郎) は同高知試験場で施設栽培された。

3. 試料調製

供試作物の表面に付着していた土を紙製のウェス (日本製紙クレシア製、キムワイブ S-200) で拭き取り、ヘタを除去した。作物ごとに、縦に 4 分割し、全量をフードプロセッサー (TWINBIRD 製、KC-D627) で粉碎した。粉碎した試料は分析に用いるまで冷暗所 (-30°C) で保存した。

4. 分析方法

4.1. 分析方法 1 (厚生労働省通知一斉試験法の一部を変更した方法)

厚生労働省通知一斉試験法³⁾におけるアセトニトリル/水による液々分配操作を多孔性ケイソウ土カラムによる転溶操作に変更して、以下の手順で分析を行った (図 1)。粉碎試料 10 g に代謝物を除く 7 化合物 (アセタミプリド、イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフラン、チアクロプリド、チアメトキサム、ニテンピラム) の 10 mg/L 混合標準アセトニトリル溶液を 0.01 mg/kg となるように添加し、純水 (アセトン抽出は 5 ml, アセトニトリル抽出は 10 ml) を加えて 30 分間静置した。次にアセトンまたはアセトニトリル 50 ml を加え、カップ型ホモジナイザー (SMTcompany 製、PH91) で 5 分間攪拌した。攪拌後、ガラス繊維ろ紙 (KIRIYAMA 製、 $\Phi 60$ mm) を用いて吸引ろ過し、ろ紙上の残渣をアセトンまたはアセトニトリル 50 ml で洗浄した。ろ過残渣を回収した後、再びアセトンまたはアセトニトリル 50 ml を加えて 5 分間攪拌した。攪拌後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ紙上の残渣をアセトン 50 ml で洗浄した後、1 回目の抽出液と合わせた。抽出液をロータリーエバポレーター (BÜCHI 製、R205) で減圧濃縮し、濃縮液に塩化ナトリウム 1 g を溶解させて、多孔性ケイソウ土カラム (Agilent Technologies 製、CE1020) に負荷した。10 分間静置後、ヘキサン 100 ml で洗浄し、ジクロロメタン 150 ml で溶出した。溶出液を減圧濃縮して窒素乾固した後、アセトニトリル/トルエン (3:1, v/v) 混液 2 ml で溶解した。あらかじめ同混液 10 ml で洗浄したグラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (SPELCO

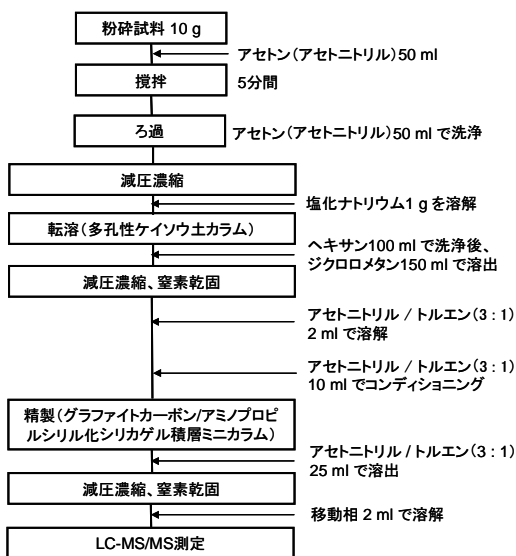


図1. 厚生労働省通知一斉試験法の一部を変更した方法のフロー

表2. LC-MS/MS 測定条件 1

	分子量	モニターイオン (m/z)	Cone (V)	Collision (V)
アセタミプリド	223	223 > 126	20	32
イミダクロプリド	256	256 > 175	22	25
クロチアニジン	250	250 > 169	13	24
ジノテフラン	202	203 > 129	12	26
チアクロプリド	253	253 > 126	25	36
チアクロプリドアミド体	271	271 > 126	25	25
チアメトキサム	292	292 > 211	17	26
ニテンピラム	271	271 > 225	10	31
CPMA	256	256 > 126	20	25
CPMF	212	212 > 126	20	33

表3. LC-MS/MS 測定条件 2

LC	
装置	: Waters製 Alliance 2695
カラム	: Waters製 Atlantis T3 2.1 mm × 50 mm, 3 μm
流量	: 0.2 ml/min
カラム温度	: 30 °C
注入量	: 10 μl
移動相	: 0.1%ギ酸-5 mM酢酸アンモニウム:メタノール
	0 - 5 分 80:20
	- 10 分 80:20 → 5:95
	- 13 分 5:95
	- 13.5分 5:95 → 80:20
	- 25 分 80:20
MS/MS	
装置	: Waters製 Quattro Micro
イオン化法	: エレクトロスプレーイオン化法 (ESI+)
測定法	: 多重反応モニタリング法 (MRM)
ソース温度	: 120 °C
脱溶媒和ガス温度	: 350 °C
脱溶媒和ガス流量	: 600 l/hr
キャピラリー電圧	: 3.9 V
イオン電圧	: 10-25 V

製, Envi-Carb/NH₂, 500 mg/500 mg) に溶解液を加えて溶出し, さらに同混液 25 ml で溶出した. 溶出液を減圧濃縮して窒素乾固した後, 水/アセトニトリル (80:20, v/v) 混液で定容し, 測定試料とした. 液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計 (以下, LC-MS/MS) で (測定条件; 表 2, 3) で定量を行い, 分析操作は 3 連で実施した.

4.2. 分析方法 2 (抽出溶媒にギ酸含有アセトン溶液を用いた方法)

次項の抽出溶媒に水を用いた方法における残渣画分の一斉分析法を検討するため, 小林⁷⁾の方法を参考にして以下の手順の分析方法の検討を行った (図 2). 粉碎試料 10 g に 10 mg/L CPMA 標準水溶液およびその他の 9 化合物の 10 mg/L 混合標準メタノール溶液を 0.1 mg/kg となるように添加し, 30 分間静置した. 静置後, 20%ギ酸-アセトン溶液 50 ml を加えて 30 分間振とうし, ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過した. ろ紙上の残渣をアセトン 25 ml で洗浄し, アセトンで 100 ml に定容した後, 定容した 100 ml から 5 ml を正確に採取した. 採取した希釈液をロータリーエバポレーターで減圧濃縮し, 濃縮液にアセトニトリル 10 ml を加え溶解した. 次にあらかじめアセトン 5 ml およびヘキサン 5 ml で洗浄したグラファイトカーボン/エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (SUPELCO 製, Envi-Carb II/PSA, 500 mg/500 mg) に溶解液を加えて溶出し, さらにアセトニトリル

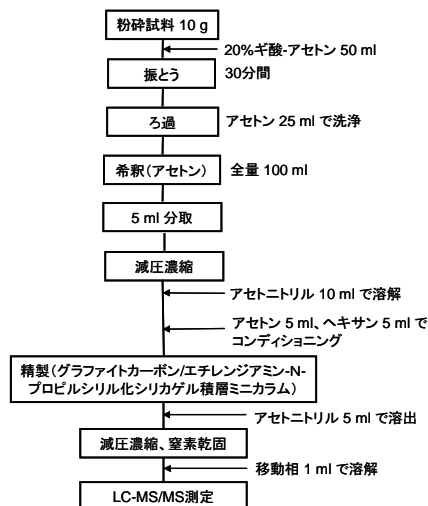


図2. 抽出溶媒にギ酸含有アセトン溶液を用いた方法のフロー

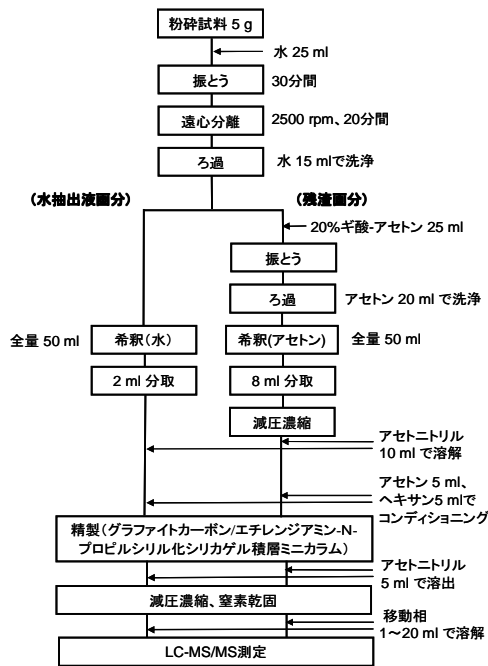


図3. 抽出溶媒に超純水を用いた方法のフロー

ル 5 ml で溶出した。溶出液を減圧濃縮して窒素乾固した後、水/メタノール (80:20, v/v) 混液で定容し、測定試料とした。LC-MS/MS (測定条件; 表 2, 3) で定量を行い、分析操作はトマトについては 3 連、ピーマンについては 4 連で実施した。

4.3. 分析方法 3 (抽出溶媒に水を用いた方法)

4.3.1. 水抽出液画分の分析方法

粉砕試料 5 g に 10 mg/L CPMA 標準水溶液およびその他の 9 化合物の 10 mg/L 混合標準メタノール溶液およびを 0.01, 0.1, 1 mg/kg となるように添加し、30 分間静置した。静置後、超純水 25 ml を加えて 30 分間振とうし、20 分間遠心分離した後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過した。ろ紙上の残渣を超純水 15 ml で洗浄し、超純水で 50 ml に定容した。定容した 50 ml から 2 ml を正確に採取し、アセトニトリル 10 ml を加え溶解した。これ以降の分析操作は前項 4.2. に準じて行った (図 3)。分析操作は 4 連で実施した。

4.3.2. 残渣画分の分析方法

4.3.1. のろ過残渣に 20 % 酢酸アセトン 25 ml を加えて 30 分間振とうし、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過した。ろ紙上の残渣をアセトン 20 ml で洗浄し、アセトンで 50 ml に定容した後、定容した 50 ml

から 8 ml を正確に採取した。採取した希釈液をロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、濃縮液にアセトニトリル 10 ml を加え溶解した。これ以降の分析操作は既述の 4.2. に準じて行った (図 3)。分析操作は 4 連で実施した。

4.3.1. における水抽出液中の農薬量および本項における残渣中の農薬量から、以下のように物質収支および抽出効率を算出した。

物質収支 = (水抽出液中の農薬量 + 残渣中の農薬量) / 農薬添加量

抽出効率 = 水抽出液中の農薬量 / (水抽出液中の農薬量 + 残渣中の農薬量)

結果および考察

1. 分析方法 1 (厚生労働省通知一斉試験法の一部を変更した方法)

供試作物における供試化合物の回収率および変動係数を表 4 および図 4 に示した。回収率は、ニテンピラム (22.6-48.5%) を除いて 65.0-88.3%、変動

表4. 厚生労働省通知一斉試験法の一部を変更し

た方法による添加回収試験結果 (添加濃度:

0.01 mg/kg)

化合物名	ピーマン	
	アセトン抽出 回収率 *(%)	アセトニトリル抽出 回収率 *(%)
アセタミプリド	84.8 ± 9.9	82.7 ± 6.7
イミダクロプリド	87.0 ± 10.4	84.7 ± 5.8
クロチアニジン	84.4 ± 9.1	85.1 ± 4.1
ジノテフラン	83.4 ± 11.1	84.7 ± 4.8
チアクロプリド	80.0 ± 8.7	88.3 ± 6.7
チアメトキサム	73.1 ± 12.0	65.0 ± 6.0
ニテンピラム	22.6 ± 20.3	34.2 ± 18.6

*平均値±変動係数 (n=3)

化合物名	トマト	
	アセトン抽出 回収率 *(%)	アセトニトリル抽出 回収率 *(%)
アセタミプリド	76.7 ± 5.7	83.3 ± 2.9
イミダクロプリド	81.3 ± 6.4	87.1 ± 1.3
クロチアニジン	70.3 ± 5.9	77.9 ± 1.2
ジノテフラン	77.8 ± 5.4	80.4 ± 2.3
チアクロプリド	67.8 ± 8.1	80.7 ± 3.1
チアメトキサム	85.3 ± 4.3	81.6 ± 3.1
ニテンピラム	48.5 ± 17.6	36.4 ± 26.7

*平均値±変動係数 (n=3)

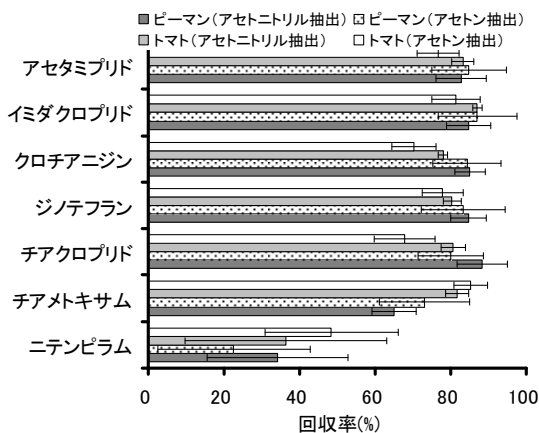


図4. 厚生労働省通知一斉試験法の一部を変更した方法による添加回収試験結果

係数は12.0%以下であった。

Obanaら⁴⁾やWatanabeら⁶⁾はキュウリやトマトなどの農作物に対するネオニコチノイド系殺虫剤の一斉分析法の検討を行い、ニテンピラムの回収率が低かったことを報告している。本研究においても同様な結果が得られ、厚生労働省通知一斉試験法の一部を変更した分析方法によって、7種のネオニコチノイド系殺虫剤の作物中濃度を一斉に把握できないことが確認された。

2. 分析方法2 (抽出溶媒にギ酸含有アセトン溶液を用いた方法)

供試化合物の回収率および変動係数を表5および図5に示した。供試化合物の回収率は71.6-104.6%，変動係数は8.6%以下で良好であった。

小林⁷⁾はトマトを供試作物として代謝物を含むネオニコチノイド系殺虫剤の一斉分析法の検討を行った。抽出溶媒にギ酸含有アセトン溶液を用いた後、希釈した抽出液をEnvi-Carb II/PSAで精製することにより、ニテンピラム、CPMAおよびCPMFも定量的に抽出して分析できたことを報告している(回収率79.3-116.7%，変動係数10.0%以下)。本研究においても同様な方法で良好な結果が得られたことから、分析方法2は次項の水抽出法における残渣画分の分析方法として有用であることが示唆された。

3. 分析方法3 (抽出溶媒に超純水を用いた方法)

供試化合物の回収率を表6、物質収支を表6および図6、抽出効率を表7および図7に示した。供試

した10化合物の回収率は、水抽出液(水抽出液画分)で71.2-122.3%，残渣(残渣画分)で0.43-12.0%であった(表6)。物質収支は78.7-125.2%で、水抽出液と残渣から概ね全量が回収された(表6)。抽出効率は88.0-99.5%で、供試化合物の大部分が抽出液に分配した(表7)。添加濃度0.01-1 mg/kgにおいて高い抽出効率を得られ、添加濃度の低下に伴う抽出効率の低下は認められなかった(図7)。高い抽出効率を得られた要因として、測定対象としたネオニコチノイド系殺虫剤は水溶解度が高くlog P_{ow} 値が低い(表1)、抽出工程で大部分が水に分配したと考えられた。

水抽出液と有機溶媒抽出液を外観で比較したところ、水抽出液中には分析妨害成分の一つである作

表5. 抽出溶媒にギ酸含有アセトン溶液を用いた方法による回収試験結果(添加濃度:0.10mg/kg)

化合物名	回収率 (%)	
	ピーマン 回収率 ^{a)} (%)	トマト 回収率 ^{b)} (%)
アセタミプリド	79.6 ± 7.0	81.4 ± 4.4
イミダクロプリド	104.6 ± 7.4	97.3 ± 6.4
クロチアニジン	91.1 ± 7.6	86.2 ± 4.6
ジノテフラン	77.5 ± 7.8	73.1 ± 2.3
チアクロプリド	83.5 ± 7.0	84.9 ± 4.4
チアクロプリドアミド体	85.6 ± 7.3	85.5 ± 2.8
チアメトキサム	86.2 ± 7.8	90.2 ± 4.2
ニテンピラム	74.6 ± 7.4	97.7 ± 5.6
CPMA	75.2 ± 7.8	71.6 ± 6.7
CPMF	75.9 ± 8.6	78.2 ± 2.9

a) 平均値±変動係数 (n=4), b) 平均値±変動係数 (n=3)

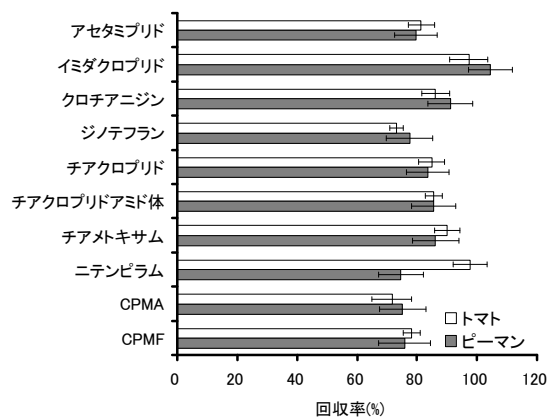


図5. 抽出溶媒にギ酸含有アセトン溶液を用いた方法による添加回収試験結果

表6. 水抽出法における画分毎の回収率および物質収支

化合物名	添加濃度 (mg/kg)	ピーマン			トマト		
		物質収支 ^{a)} (%)	画分毎の回収率 ^{b)} (%)		物質収支 ^{a)} (%)	画分毎の回収率 ^{b)} (%)	
			水抽出液	残渣		水抽出液	残渣
アセタミプリド	0.01	91.1 ± 4.9	86.8	4.3	101.6 ± 1.4	100.6	1.0
	0.10	84.0 ± 5.2	81.7	2.4	83.6 ± 6.9	82.6	0.8
	1.00	103.8 ± 0.3	101.4	2.3	102.9 ± 1.5	102.2	0.7
イミダクロプリド	0.01	114.2 ± 1.7	106.2	8.0	125.2 ± 1.9	122.3	2.9
	0.10	100.5 ± 6.3	97.2	3.3	98.4 ± 6.8	96.2	2.3
	1.00	106.6 ± 0.4	103.9	2.7	101.4 ± 1.7	100.5	0.8
クロチアニジン	0.01	118.3 ± 3.1	110.7	7.7	104.0 ± 4.5 ^{c)}	104.0	- ^{d)}
	0.10	87.8 ± 2.9	85.0	2.8	88.9 ± 7.5	87.0	1.9
	1.00	107.5 ± 0.4	105.2	2.3	108.9 ± 2.1	108.0	0.9
ジノテフラン	0.01	115.8 ± 4.7	112.8	2.9	99.1 ± 4.6	96.9	2.2
	0.10	83.4 ± 4.3	81.8	1.6	78.7 ± 6.4	77.1	1.6
	1.00	102.2 ± 0.3	100.7	1.4	93.6 ± 1.9	93.1	0.5
チアクロプリド	0.01	93.2 ± 4.4	82.7	10.5	103.1 ± 1.3	100.1	2.9
	0.10	84.6 ± 6.0	79.0	5.6	84.9 ± 5.8	81.9	3.0
	1.00	102.8 ± 0.8	98.0	4.8	102.8 ± 0.9	101.3	1.5
チアクロプリドアミド体	0.01	94.3 ± 3.8	87.2	7.1	107.6 ± 2.3	105.1	2.5
	0.10	85.1 ± 5.7	81.9	3.3	89.5 ± 7.1	86.5	3.1
	1.00	99.1 ± 1.8	96.4	2.6	99.6 ± 1.2	98.7	0.9
チアマトキサム	0.01	101.4 ± 5.0	90.0	11.5	109.3 ± 4.4	104.6	4.6
	0.10	87.0 ± 5.4	84.0	3.0	90.9 ± 6.9	85.7	5.1
	1.00	104.7 ± 0.2	102.8	1.9	100.8 ± 2.0	100.2	0.6
ニテンピラム	0.01	94.3 ± 3.1 ^{c)}	94.3	- ^{d)}	121.7 ± 4.1 ^{c)}	121.7	- ^{d)}
	0.10	85.1 ± 4.8	83.5	1.6	97.1 ± 4.4	96.6	0.5
	1.00	96.2 ± 0.6	95.0	1.2	105.0 ± 1.6	104.5	0.5
CPMA	0.01	92.2 ± 2.5	88.8	3.4	94.4 ± 4.6	93.0	1.4
	0.10	84.8 ± 8.3	82.3	2.5	80.6 ± 7.0	80.2	0.4
	1.00	101.6 ± 0.9	100.1	1.5	98.2 ± 1.8	97.6	0.5
CPMF	0.01	100.3 ± 6.8	88.6	11.8	111.8 ± 6.4	99.8	12.0
	0.10	80.8 ± 4.4	71.2	9.7	82.7 ± 6.6	75.9	6.9
	1.00	116.7 ± 0.3	106.1	10.6	92.6 ± 3.3	85.0	7.7

a) 平均値±変動係数 (n=4), b) 平均値 (n=4), c) 水抽出液画分のみでの回収率, d) 定量限界値以下のため、算出不可

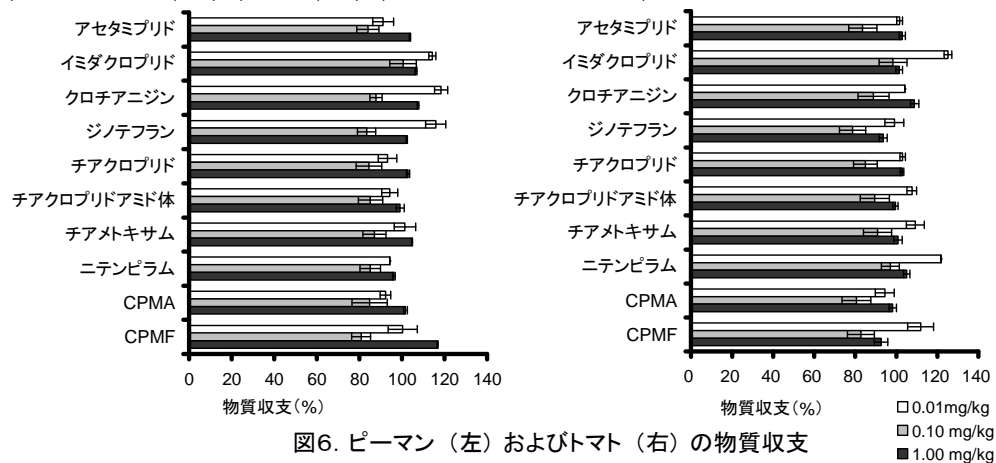


図6. ピーマン (左) およびトマト (右) の物質収支

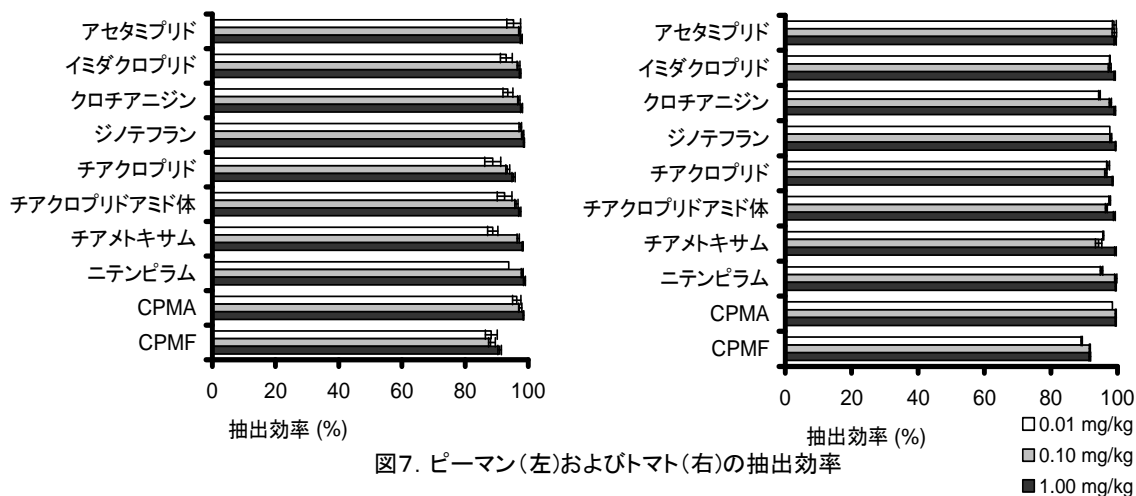


図7. ピーマン(左)およびトマト(右)の抽出効率

表7. 水抽出法における抽出効率

化合物名	添加濃度 (mg/kg)	抽出効率 ^{a)} (%)	
		ピーマン	トマト
アセタミプリド	0.01	95.4 ± 2.2	99.0 ± 0.1
	0.10	97.2 ± 0.3	99.1 ± 0.4
	1.00	97.8 ± 0.3	99.3 ± 0.2
イミダクロプリド	0.01	93.0 ± 1.9	97.7 ± 0.2
	0.10	96.7 ± 0.6	97.7 ± 0.4
	1.00	97.4 ± 0.3	99.2 ± 0.2
クロチアニジン	0.01	93.6 ± 1.6	>94.6 ^{b)}
	0.10	96.9 ± 0.5	97.9 ± 0.2
	1.00	97.9 ± 0.3	99.2 ± 0.1
ジノテフラン	0.01	97.5 ± 0.5	97.8 ± 0.4
	0.10	98.1 ± 0.5	98.0 ± 0.4
	1.00	98.6 ± 0.2	99.5 ± 0.2
チアクロプリド	0.01	88.8 ± 2.5	97.2 ± 0.2
	0.10	93.4 ± 0.8	96.5 ± 0.3
	1.00	95.3 ± 0.5	98.6 ± 0.3
チアクロプリドアミド体	0.01	92.5 ± 2.3	97.7 ± 0.2
	0.10	96.2 ± 0.5	96.6 ± 0.9
	1.00	97.3 ± 0.4	99.1 ± 0.3
チアマトキサム	0.01	88.7 ± 1.6	95.8 ± 0.4
	0.10	96.6 ± 0.5	94.4 ± 0.4
	1.00	98.2 ± 0.2	99.4 ± 0.2
ニテンピラム	0.01	>93.8 ^{b)}	>95.2 ^{b)}
	0.10	98.1 ± 0.3	99.5 ± 0.1
	1.00	98.8 ± 0.3	99.5 ± 0.1
CPMA	0.01	96.4 ± 1.3	98.5 ± 0.2
	0.10	97.1 ± 0.9	99.5 ± 0.2
	1.00	98.5 ± 0.1	99.5 ± 0.2
CPMF	0.01	88.3 ± 1.9	89.3 ± 0.6
	0.10	88.0 ± 1.5	91.7 ± 0.7
	1.00	91.0 ± 0.6	92.5 ± 0.3

a) 平均値±変動係数 (n=4), b) 残渣成分が定量下限値以下のため、変動係数は算出不可



図8. ピーマンの水抽出液 (左) アセトン抽出液 (右)



図9. トマトの水抽出液 (左) アセトン抽出液 (右)

物色素がほとんど含まれなかった(図8および9)。水抽出法では作物色素の共抽出が少なかったことから、有機溶媒を用いた抽出法と比較して分析妨害要因のマトリックス効果を低減できると考えられた。

Xiaoら⁹⁾は牛の筋肉と肝臓に対するネオニコチノイド系殺虫剤の水抽出法による一斉分析法の検討をし、回収率が良好(83.2-101.9%)であったことを報告している。本研究では農作物に対するネオニコチノイド系殺虫剤と代謝物の水抽出法を検討し、良好な結果を得ることができた。水抽出法による一斉分析法では、有機溶媒中で不安定なCPMAを定量的に抽出できたこと、厚生労働省通知個別試験法¹¹⁾で誘導体化を要するCPMAおよびCPMFを誘導体化せずに分析できたこと、代謝物を含む対象化合物10種を同時に分析できたことから、LC-MS/MSを用いたネオニコチノイド系殺虫剤の一斉分析の抽出法として有効であることが示唆された。また、抽出に有機溶媒を必要としないこと、分析妨害成分の共抽出が少ないこと、および転溶操作が不要で前処理を簡略化できることから、ELISA法などのスクリーニング分析の抽出法として農業生産現場で利用しやすいことが示唆された。本研究で検討した水抽出法による一斉分析法をさらに検証するために、添加回収試験での分析結果の比較だけでなく、圃場施設で農薬を散布して栽培した作物試料を用いた場合の厚生労働省通知一斉試験法と水抽出法の分析結果の比較、並びに水抽出法によるELISA法での定量について確認する必要があると考えられる。

謝辞

本研究の実施にあたり、作物試料の提供を賜りました(社)日本植物防疫協会に謝意を表します。

引用文献

- 1) 農薬要覧2009, 社団法人日本植物防疫協会
- 2) 農薬適用一覧表2011年版, 社団法人日本植物防疫協会
- 3) 厚生労働省医薬品食品局食品安全部長通知, 食安発第0124001号第2章一斉試験法(通知試験法)「LC/MSによる農薬等の一斉試験法(農作物)」, 2005
- 4) H. Obana, M. Okihashi, K. Akutsu, Y. Kitagawa, S. Hori: *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4464-4467 (2002)
- 5) H. Obana, M. Okihashi, K. Akutsu, Y. Kitagawa, S. Hori: *J. Agric. Food Chem.*, 51, 2501-2505 (2003)
- 6) E. Watanabe, K. Baba, H. Eun: *J. Agric. Food Chem.*, 55, 3798-3804 (2007)
- 7) 小林裕子: 分析化学 vol.58, 985-997 (2009)
- 8) S. Liu, Z. Zheng, F. Wei, Y. Ren, W. Gui, H. Wu, G. Zhu: *J. Agric. Food Chem.*, 58, 3271-3278 (2010)
- 9) Z. Xiao, X. Li, X. Wang, J. Shen, S. Ding: *J. Chromatogr. B*, 879, 117-122 (2011)
- 10) 農薬ハンドブック2011年版, 社団法人日本植物防疫協会
- 11) 厚生労働省医薬品食品局食品安全部長通知, 食安発第0124001号第3章個別試験法(通知試験法)「ニテンピラム試験法」, 2005