



【既報】第 40 回農薬残留分析研究会、岡本みなみ、ポスター発表(東京;2017 年)

膜ろ過精製を利用した残留農薬の簡易、迅速、一斉分析法の開発 ～GC、LC 対象農薬同時前処理について～

○岡本みなみ¹⁾、川嶋文人²⁾、濱田典明¹⁾

1) 三浦工業株式会社 三浦環境科学研究所 (〒799-2430 愛媛県松山市北条辻 864-1)

2) 愛媛大学大学院 農学研究科 (〒790-8566 愛媛県松山市樽味 3-5-7)

Development of simple and rapid pretreatment method for the pesticides residues analysis by membrane filtration. ～Application to LC as well as GC～

○Minami Okamoto, Ayato Kawashima, Noriaki Hamada

1) MIURA CO. LTD. , 864-1, Tsuji, Hojo, Matsuyama City, Ehime, 799-2430, Japan,

TEL: +81-89-960-2350, FAX: +81-89-960-2351, E-mail: okamoto_minami@miuraz.co.jp

2) Environmental Science for Industry, Ehime University, 3-5-7, Tarumi, Matsuyama City, Ehime, 790-8566, Japan, TEL: +81-89-946-9970, FAX: +81-89-946-9980

【はじめに】

2006 年に食品中に残留する農薬等に関するポジティブリスト制度が施行されてから、ほぼ全ての農薬について基準値が設定され、基準値を超えて農薬等が残留していた場合は食品の販売等が禁止となった。これに対応するため様々な食品と農薬の組み合わせの検査が必要となり、現在では一斉試験法が広く用いられている。しかし、検査が必要な農薬種は多く、物性も多岐にわたるため、全ての農薬を同じ前処理、同じ測定機器で分析する事は困難である。厚生労働省の通知法¹⁾においても、試験法は GC/MS と

LC/MS とに分かれており、また LC/MS の試験法においては抽出・精製工程の異なる 2 つの試験法(I 法、II 法)が通知されている。このように分析対象農薬毎に複数の前処理を行わなければならない、短時間で効率的に検査をする事が難しい。本研究では、膜ろ過に着目し QuEChERS 法のような迅速・簡易性と積層カラムのような精製効果を合わせ持つ精製法(以下、膜ろ過法)の開発を行っている。今回は開発中のキットを使用して GC、LC 対象農薬について同一の前処理で農薬添加回収試験を行ったので、その結果について報告する。

【材料】

標準品

関東化学(株)の農薬混合標準液 70 (GC/MS 対象 83 種混合)、農薬混合標準液 58 (LC/MS

I 法対象 35 種混合)、農薬混合標準液 55 (LC/MS

II 法対象 34 種混合)をアセトニトリルを用いて 2ppm となるように調整した。

和光純薬工業 (株)の 5 種混合農薬内部標準液をアセトンを用いて 0.1ppm となるように調整した。

試料

りんごをフードプロセッサーで粉碎し、均一化したものを使用した。りんごは予め、試料中の濃度が農薬混合標準液 70 は 10ppb、農薬混合標準液 58 と 55 は 40ppb となるよう添加した。なお今回使用したりんごは、事前に分析対象農薬を検査した結果、トリフロキシストロビン、プロパルギット、チアクロプリドが検出されたので、これらの成分は評価対象から除外した。

試薬

アセトニトリル、アセトン、トルエン、ヘキサンは和光純薬工業(株)の残留農薬・PCB 試験用を使用した。クエン酸 3Na2 水和物と無水硫酸マグネシウムは関東化学(株)の特級を、クエン酸水素 2Na1.5 水和物は関東化学(株)の一級を、塩化ナトリウムは和光純薬工業(株)の一級を使用した。LC/MS 移動相のアセトニトリル、蒸留水は関東化学(株)の LC/MS 用を、ギ酸とギ酸アンモニウムはシグマアルドリッチのものを使用した。

【実験方法】

抽出操作は QuEChERS 法 (EN15662)に準じて行い、精製は膜ろ過法にて行った。(図 1)。膜ろ過法は大きく 3 つの工程からなる。まず初めに分取した抽出液と水を混合し膜ろ過容器へ入れ遠心分離した。遠心分離後のろ過液から一部を分取し、これを LC/MS/MS 測定溶液とした。次に、残ったろ過液に水を追加して混合し、吸着剤を充填したカラムに混

合液をのせ遠心分離を行った。最後に遠心分離後の吸着剤カラムに脱水剤カラムを連結し、アセトンを吸着剤カラムへ添加し遠心分離を行った。その溶出液を濃縮し、GC/MS/MS 測定溶液とした。なお試験は n=3 で行った。

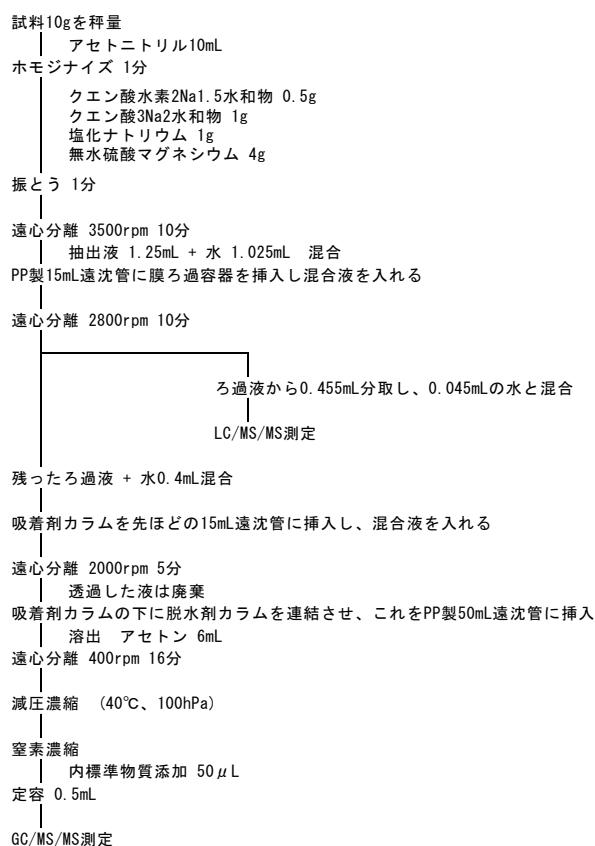


図 1 膜ろ過法フロー

【装置及び測定条件】

GC/MS

GC:TRACE 1310 / MS:TSQ 8000 Evo (Thermo Fisher Scientific)

注入量:2µL

注入口温度:260°C

キャピラリーカラム: VF-5MS 長さ 30m、内径 0.25mm、膜厚 0.25µm (Agilent)

キャリアガス:ヘリウム 1.2mL/min

トランスファーライン:280°C

GC 昇温:100℃(1 分)→30℃/分→125℃(0 分)→
5℃/分→200℃(0 分)→10℃/分→300℃(11 分 30 秒)
測定モード:Timed-SRM モード
イオン源温度:280℃

LC/MS

LC : Agilent 1260 Infinity / MS : 6460 (Agilent Technologies)

カラム:ZORBAX Eclipse Plus C18 (2.1×100mm、粒子径 1.8μm)

カラム温度:40℃

移動相 A:0.1%ギ酸、10mM ギ酸アンモニウム水溶液

移動相 B:アセトニトリル

グラジエント条件:90%A(0min)→10%A(20min)→30min)→90%A(45min)

流速:300μL/min

注入量:5μL

イオン化:ESI

測定モード:MRM

【結果と考察】

農薬の添加回収試験の結果について GC で測定した農薬は表 1 に、LC で測定した農薬については表 2 に示す。なお回収率は標準添加法を用いて算出した。まず表 1 を見ると 70～120%の回収率を示した農薬の数は 85 成分中 72 成分で良好な回収率を得る事が出来た。GC 測定農薬については、他の作物(じゃがいも、きゃべつ、ぶどう、にら、とまと、オレンジ、かぼちゃ、メロン、玄米、小麦粉、蜂蜜)についても同様の検討を行っており、測定農薬に対する 70～120%の回収率を示した農薬の割合は 84～93%という結果が得られている 2)。作物種の違いによる回収率の違いは若干あるものの、本法ではいくつかの特定の成分について回収率が低下してしまう傾向にある。例えばモノクロトホスや、ホスファミドン、ヘキサジノン、イマザメタベンズメチルエステル、ブロマシル、オキサジキシル、シマジンについては吸着剤への吸

着力が弱く、廃棄する液中へ溶出してしまうため、いずれの作物においても回収率が低下する傾向にあった。またフェンプロピモルフは吸着剤への吸着力が強く、アセトン 6mL では溶出が不十分である事が分かっている。これらについては、現在改良を行っている所である。

表 1 りんごにおける農薬回収率 (GC 測定農薬)

農薬名	回収率 (%)	RSD (%)	農薬名	回収率 (%)	RSD (%)
Acetochlor	85.2	2.4	Isazophos	84.9	1.3
Allethrin-1	N.A.	-	Isoprothiolane	87.6	3.3
Allethrin-2	N.A.	-	Isoxathion	85.3	0.5
Allethrin-3	77.7	5.5	Isoxathion oxon	86.1	3.5
Allethrin-4	91.7	7.3	Metalaxyl	72.7	5.3
Ametryn	79.0	2.7	Methidathion	86.6	2.1
Atrazine	74.1	2.3	Methoxychlor	88.3	4.0
Azaconazole	83.0	3.4	Metominostrobin,E	90.4	2.6
Benalaxyl	88.3	4.2	Metominostrobin,Z	84.6	4.5
Benfluralin	76.0	2.1	Monocrotophos	20.1	7.1
Benoxacor	84.6	1.9	Napropamide	85.9	2.8
Bromacil	55.7	3.7	Nitrothal-isopropyl	80.1	2.0
Bromobutide	84.0	4.6	Norflurazon	88.0	3.6
Bromophos-methyl	81.6	0.5	Oxadiazon	93.7	4.2
Bromopropylate	83.0	5.0	Oxadixyl	64.0	5.3
Bupirimate	83.3	4.8	Oxyfluorfen	87.9	3.6
Buprofezin	89.2	3.5	Phenothrin-1	83.6	4.7
Carbofuran	91.8	7.8	Phenothrin-2	82.1	4.3
Carfentrazone-ethyl	81.6	4.7	Phosmet	87.8	7.7
Chlorpyrifos-methyl	84.6	1.1	Phosphamidon	47.7	1.7
Chlorthal-dimethyl	80.9	2.8	Piperophos	84.9	7.0
Clomazone	82.4	1.9	Profenofos	91.2	4.4
Cyanophos	83.5	1.0	Prometryn	84.2	0.2
Dichloran	77.5	4.2	Propachlor	77.5	3.4
Diclofop-methyl	85.1	4.0	Propanil	84.6	1.5
Dimepiperate	88.1	0.2	Propoxur	70.8	2.5
Dimethametryn	81.1	4.2	Propyzamide	85.3	1.0
Diphenamid	84.5	1.6	Pyrazophos	73.6	9.0
Ethion	85.6	4.0	Pyridaphenthion	83.3	5.3
Ethofumesate	86.4	2.0	Quinoclamine	45.7	13.6
Fenamiphos	77.6	5.9	Quinoxyfen	78.4	6.3
Fenbuconazole	87.7	5.7	Quintozene	69.0	13.7
Fenothiocarb	86.9	2.0	Simazine	61.2	2.0
Fenpropimorph	N.D.	-	Tecnazene	69.7	2.4
Flamprop-methyl	87.7	1.9	Tetrachlorvinphos	80.4	1.1
Fluacrypyrim	85.4	5.2	Tetradifon	89.1	1.1
Flumiclorac-penthyll	80.9	6.0	Tolfenpyrad	84.6	6.7
Flumioxazin	81.7	8.1	Triadimefon	88.8	4.7
Flutriafol	74.5	4.0	Triallate	77.6	2.6
Fthalide	81.1	4.7	Tribuphos(DEF)	82.4	1.0
Hexazinone	53.5	3.6	Vinclozolin	85.1	2.6
Imazamethabenzmethyl	61.7	2.7	XMC	73.2	2.7
Iprobenfos	82.2	2.7			
回収率	農薬数				
50%未満 (農薬数)	4				
50~70% (農薬数)	7				
70~120% (農薬数)	72				
120%以上 (農薬数)	0				

N.A.: 妨害ピークにより定量不可

次に表 2 を見ると、70～120%の回収率を示した農薬の数は 67 成分中 67 成分で、すべての農薬について、良好な回収率を得る事が出来た。また変動係数の値も全て 10%未満であった。LC 対象農薬には、通知法(LC II 法)の対象農薬である酸性農薬も多く存在する。そのため、NH₂ や PSA といった陰イオン交換機能をもった固相を使用してしまうと、農薬が固相に吸着されたまま溶出されない。そのため前処理方法を分ける、若しくはギ酸等の酸を溶出溶媒に添加

し、NH₂やPSAに通液するといった方法をとらなければならない。しかし、今回は本法の膜ろ過容器を使用し抽出液を精製する事で LC/MS の機器への負担を少なくし、かつ良好な回収率を得る事が出来た。精製が不十分なサンプルを測定すると、測定後の農薬のリテンションタイムにずれが生じたり、テーリングが起こってしまうが、今回はそのような現象は見られなかった。

表 2 りんごにおける農薬回収率 (LC 測定農薬)

農薬名 (I 法対象農薬)	回収率 (%)	RSD (%)	農薬名 (II 法対象農薬)	回収率 (%)	RSD (%)
Abamectin	108.0	9.0	2,4 D	99.0	5.6
Anilofos	94.5	1.7	Azimsulfuron	96.3	1.3
Azamethiophos	96.4	1.0	Bensulfuron methyl	92.6	1.3
Azinphos methyl	89.8	4.8	Chlorimuron ethyl	93.6	1.5
Benzofenap	95.7	1.0	Chlorsulfuron	97.0	1.2
Butafenacil	94.5	1.3	Cinosulfuron	96.4	0.9
Chloridazon	96.3	1.5	Clodinafop acid	89.6	2.0
Chromafenozide	94.3	1.3	Clofencet	98.3	1.4
Clomeprop	92.9	2.4	Cyclanilide	94.1	2.4
Cloquintocet 1 methyl	96.7	1.7	Cyclosulfamuron	92.5	0.9
Clothianidin	94.3	0.8	Diclomezine	93.4	4.6
Cyflufenamide	94.9	1.3	Ethametsulfuron methyl	93.0	1.6
Dimethirimol	94.2	1.0	Ethoxysulfuron	92.7	1.0
Fenoxycarb	93.9	0.7	Fenhexamide	95.5	1.1
Ferimzone(E,Z)	97.9	2.1	Flazasulfuron	90.2	1.2
Furathiocarb	95.8	1.8	Florasuram	99.3	1.3
Imidacloprid	96.3	0.5	Fluazifop	95.5	2.9
Indoxacarb	97.6	2.5	Foramsulfuron	94.8	2.2
Iprovalicarb	93.9	0.2	Giberellic acid	101.2	9.6
Isoxaflutole	94.1	7.4	Halosulfuron methyl	92.1	1.0
Lactofen	92.3	5.7	Iodosulfuron methyl	91.9	1.3
Methoxyfenozide	95.9	2.9	MCPA	103.2	2.5
Naproanilide	95.5	2.4	Mesosulfuron methyl	98.5	2.5
Oryzalin	92.6	4.0	Metosulam	95.6	0.8
Oxycarboxin	95.6	0.9	Metsulfuron methyl	95.0	1.0
Phenmedipham	94.0	0.6	Naptalam	88.5	2.6
Pyrazolate	94.5	2.8	Penoxsulam	97.2	1.8
Pyriftalid	94.7	0.8	Propoxycarbazone	99.0	2.5
Quizalofop ethyl	93.5	1.2	Pyrazosulfuron ethyl	93.3	1.1
Simeconazole	92.4	2.8	Sulfentrazone	94.9	2.5
Thiabendazole	94.4	1.7	Sulfosulfuron	95.1	1.9
Thiamethoxam	96.0	0.7	Thifensulfuron methyl	98.0	0.8
Tralkoxydim 1,2	93.0	1.7	Triasulfuron	95.5	1.6
			Trifloxysulfuron	95.5	0.6

回収率	農薬数
50%未満 (農薬数)	0
50～70% (農薬数)	0
70～120% (農薬数)	67
120%以上 (農薬数)	0

N.A.:妨害ピークにより定量不可

【まとめ】

本研究では QuEChERS 法のような迅速・簡易性と積層カラムのような精製効果を合わせ持つ分析法の開発を目的とし、膜ろ過に着目して研究を行っている。今回はその方法を使用して GC と LC 対象農薬の同時前処理を行い、評価を行った。現行法では、GC 測定溶液と LC 測定溶液の調整は別法で行う事が多いが、本法は同じ前処理バッチの中で GC 測定溶液と LC 測定溶液を調整するため、GC、LC(I 法、II 法)の 3 種類の対象農薬を同時に処理する事が出来る。また前処理操作は全て遠心分離機を使用するため多検体を同時に処理する事が可能であり、例として 16 検体処理する場合、抽出から測定液調整まで 3 時間半程度で処理が完了する。また操作性については、人為的な部分は液の移し入れのみであり、その他は全

て遠心分離機にて行うため高度な技術を必要とせず、人為的なバラツキを抑える事が出来る。これらの事から本法は、簡易、迅速な一斉分析法として有効であり、食品が流通する前に効率的な検査が期待できる。

【参考文献】

- 1) 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(平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号)
- 2) 岡本みなみら、第 26 回環境化学討論会要旨、198-199 (2017)
- 3) 畠山ら、限外ろ過法を用いた LC/MS/MS による農産物中の残留農薬一斉分析 食品衛生学雑誌 Vol.47 No.4 137-145(2006)
- 4) 山下和之ら、第 36 回農薬残留分析研究会要旨、150-164 (2013)

The logo for MIURA, featuring the word "MIURA" in a bold, blue, sans-serif font. The letter "i" is stylized with a dot above it.

グリーンテクノロジーを創成する
三浦環境科学研究所

愛媛県松山市北条辻864番地1 〒799-2430

TEL 089-960-2350 FAX 089-960-2351

三浦工業株式会社

<http://www.miuraz.co.jp>