

残留農薬非破壊抽出法における抽出時間、抽出溶媒のメタノール濃度及び農薬のlog-Powが農薬抽出率に及ぼす影響

大竹敏也¹⁾・吉村幸江²⁾・糟谷真宏¹⁾

摘要：農産物から農薬を簡易かつ迅速に抽出する手法として、非破壊抽出法を検討した。手法は、非破壊状態の農産物に抽出溶媒メタノールを加え、3分間振とうして、農薬を抽出する方法である。コマツナとトマトにlog-Powが異なる7種の農薬を散布し、非破壊抽出法により農薬抽出を行った結果、log-Powが2以上の農薬において農薬の抽出率が70%以上確保できることを明らかにした。

キーワード：残留農薬分析、農薬抽出法、非破壊抽出、log-Pow

緒言

農産物中の残留農薬の濃度が食品衛生法で定められている基準値を超過した場合、同法の規定に基づき、その内容が公表されるとともに、該当農産物の流通禁止と回収の措置がとられる。このため、多くの産地では、自主検査により、残留農薬の基準値超過の有無の確認を行っている。

この自主検査は、農産物の出荷前に行うため、速やかに分析結果を出すことが求められている。しかし、自主検査での農薬測定は、現在、外部検査機関委託によるGC-MS、LC-MSなどの機器分析を用いた一斉分析が主流で、結果が判明するまでに通常5日程度かかっている。また、ELISA法を用いた簡易分析は、半日で測定結果が判明するが、更なる操作の簡易、迅速化が求められている。そこで、著者らは農薬測定の簡易、迅速化を目指し、農産物から農薬を迅速に抽出する手法とELISA法を利用した簡易検査法の開発に取り組んでいる。

今回、開発中の技術のうち、農産物の磨砕を行わず、非破壊の農産物に溶媒を添加し、農薬を抽出する方法（以下、非破壊抽出法）を農薬の抽出時間・手法、抽出溶媒及びその適用性を農薬のlog-Powとの関連で検討したので報告する。

材料及び方法

1 非破壊抽出における抽出時間と振とう条件の検討

本研究の一部は日本農薬学会第36回農薬残留分析研究会（2013年10月）においてポスター発表した。

本研究は公益財団法人科学技術交流財団の知の拠点重点プロジェクト研究「食の安心・安全技術開発プロジェクト」により実施した。

¹⁾ 環境基盤研究部 ²⁾ 環境基盤研究部（現企画普及部）

(2015.9.8 受理)

(1) 試料調整

愛知県農業総合試験場（以下、愛知農総試）のガラス温室内で栽培したコマツナ（品種：極楽天）に、農薬使用基準に従い調整した農薬ジノテフラン、アセタミプリド及びアゾキシストロビンを葉面散布し、農薬散布後3日目に試料採取を行い、供試試料とした。

(2) 試験方法

非破壊抽出法の抽出溶媒には100%メタノール（残留農薬・PCB試験用300濃縮99.8%メタノールを100%メタノールと表記）を用い、抽出時間は、1分、3分、5分、8分の4水準（n=2）で検討した。

試験は図1に基づき行った。非破壊抽出はコマツナ1株を計量後、2L容フッ素化ポリエチレンボトル（以下、ボトル）に抽出溶媒メタノール100 mlと共に入れ、振とう器を用いて先の4水準の抽出時間で振とう抽出（振とう速度約150回/分、振幅40 mm）により行った。抽出後回収した溶媒を溶媒画分①とし、さらに抽出溶媒メタノール100 mlを加え3分間同様な振とう抽出操作を行い回収した溶媒を溶媒画分②とした。また、非破壊抽出後のコマツナを磨砕し、アセトン100 mlを加え30分間振とう抽出を行い回収した抽出溶媒を非破壊抽出後の残さ画分とした。各画分は、厚生労働省通知試験法などに基づき精製・測定¹⁻³⁾を行い、各画分の農薬量を求めた。

抽出手法としてボトルに替え、ナイロン・ポリエチレン2層フィルム製のチャック付き袋（以下、チャック付き袋）にコマツナ1株と抽出溶媒メタノール100 mlを入れ、3分間手で軽く振って農薬抽出する手法（以下、手振とう）についても検討した。

2 非破壊抽出に用いる抽出溶媒メタノール濃度の検討

(1) 試料調整

愛知農総試のガラス温室内で栽培したトマト（品種：りんか409）に、農薬使用基準に従い調整した農薬ジノテフラン、アセタミプリド、アゾキシストロビン、フルフェノクスロン及びクロロフェナピルの5農薬を散布し、農薬散布後1日目に試料採取を行い、供試試料とした。

(2) 試験方法

非破壊抽出法の抽出溶媒に用いるメタノールの濃度を0%、20%、50%、80%及び100%の5水準（n=2）で検討した。

試験は、図1に基づき行った。トマト1果を計量後、非破壊の状態でチャック付き袋に5水準のメタノール濃度の抽出溶媒100 mlと共に入れ、3分間手振とうした。

以降の抽出、精製及び測定操作は「材料及び方法」の1(2)試験方法と同様に行い、各画分に含まれる農薬量を求め、溶媒画分①の抽出割合を非破壊抽出による農薬の抽出率として評価した。

3 log-Powが異なる7農薬に対する非破壊抽出法の適用性の検証

(1) 試料調整

愛知農総試のガラス温室内で栽培したコマツナ（品種：極楽天）、トマト（品種：りんか409）に、農薬使用基準に従い調整したlog-Powが異なる農薬ジノテフラン、アセタミプリド、アゾキシストロビン、ボスカリド、クロロタロニル、フルフェノクスロン及びクロロフェナピルの7農薬を散布し、農薬散布後1日目、3日目及び7日目に試料採取を行い、供試試料とした。

(2) 試験方法

試験は、コマツナは1株、トマトは1果を計量後、非破壊の状態ですらチャック付き袋に抽出溶媒100%メタノール100 mlと共に入れ、3分間手振とうを行った（n=5）。

以降の操作は「材料及び方法」の1(2)試験方法と同様に行い、各画分に含まれる農薬量を求め、溶媒画分①の抽出割合を非破壊抽出による農薬の抽出率として評価した。

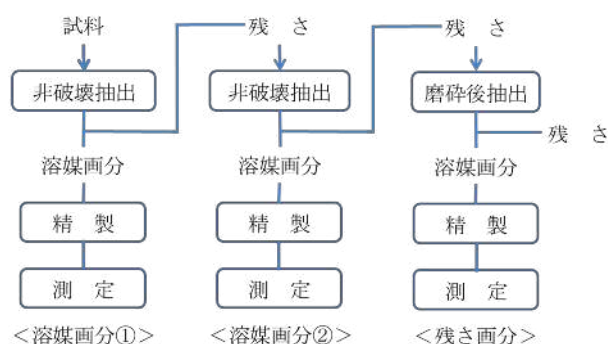


図1 非破壊抽出法の分析の流れ

結果及び考察

農産物からの農薬の抽出は、通常、試料を磨砕均一粉碎後、有機溶媒を加え、30分間の振とうまたは3分間のホモジナイズにより行われている。今回検討した非破壊抽出法は、試料の磨砕を行わず、非破壊の状態の農産物に溶媒を添加し、農薬を抽出する方法である。

非破壊抽出法のメリットとして、①磨砕操作の省略により時間が短縮できる、②試料中に多量に含まれる夾雑物の溶出が少なく、抽出後の精製操作の簡略化ができる、③生産現場で簡易に農薬抽出ができるなどがある。

非破壊抽出法は、これまでに振とう器を用いた5分間振とうによる抽出⁴⁻⁶⁾、アセトンを染みこませた綿棒による作物表面の拭き取りによる抽出⁷⁾の報告がある。

今回は、生産現場で簡易に農薬抽出ができることを目標に、振とう器などの器具を用いず、手振とうにより農薬抽出する手法も検討した。

1 抽出時間、振とう法が農薬の抽出率に及ぼす影響

非破壊抽出法の抽出溶媒に100%メタノールを用いた時の振とうによる抽出時間と農薬の抽出率との関係を図2に示した。ボトルに非破壊のコマツナとメタノールを入れ、振とう器による振とう抽出した場合、農薬により抽出率は異なったが、各農薬において、3～8分の抽出時間では抽出率に差は認められなかった。

次に、チャック付き袋にコマツナを入れ、3分間手振とうして農薬抽出した結果、溶媒画分①における農薬の抽出率は、ボトルに試料を入れ3分間振とう器で農薬抽出をした時とほぼ同等であった。

これらのことから、非破壊抽出法では、振とう器を利用した場合、抽出時間は3分で十分と考えられた。また、振とうを手で行った場合も、抽出時間は3分で振とう器を利用した時と同等の農薬の抽出が得られることが明らかとなった。

2 抽出溶媒に用いるメタノール濃度

農薬の抽出において使用する抽出溶媒により、抽出効率は大きく変わる。今回、非破壊抽出法に用いる抽出溶媒としてメタノールを選択した。メタノールを選択した理由は、非破壊抽出法と組み合わせるELISA法に適用可能な溶媒であること、非破壊抽出法において、最も抽出効率が高いとの報告^{5, 6)}があるためである。しかし、メタノールは劇物であるため、取り扱いに注意が必要である。そこで、非破壊抽出に用いる抽出溶媒のメタノール濃度と農薬の抽出率との関係を検討した。

結果は図3のとおり、log-Powが3以下の水溶性の高いジノテフラン、アセタミプリド及びアゾキシストロビンは、抽出溶媒のメタノール濃度が低くなっても、非破壊抽出による農薬の抽出率は高かった。一方、log-Powが4以上のフルフェノクスロン、クロロフェナピルはメタノール濃度が50%以下になると農薬の抽出率は急激に低下した（各農薬のlog-Powは表1を参照）。

このことから、農薬の抽出率を70%以上確保するた

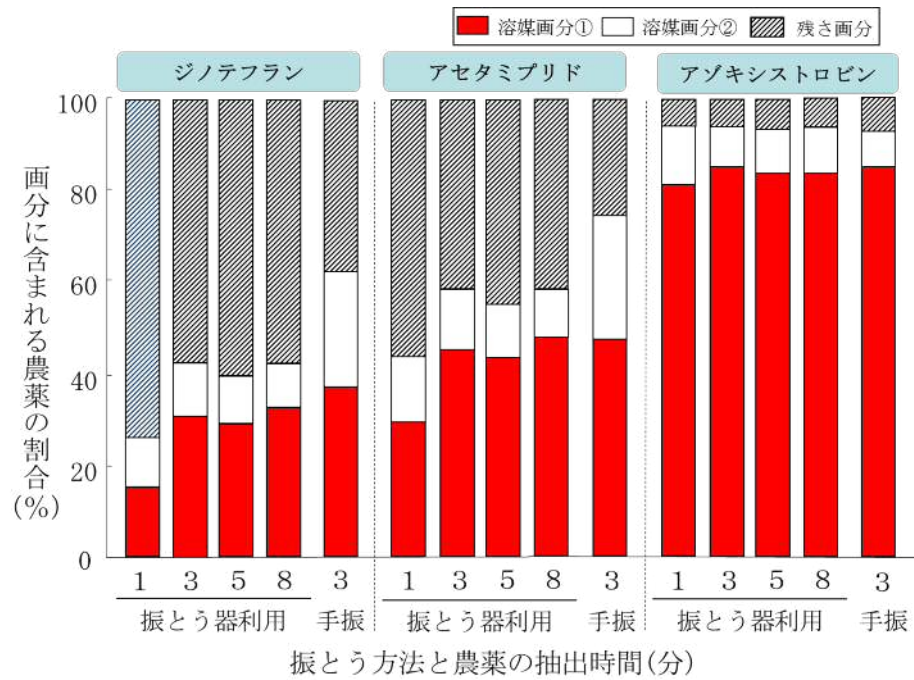


図2 非破壊抽出における農薬の抽出率と抽出時間の関係
注) 農薬散布後3日目のコマツナ (n=2)。

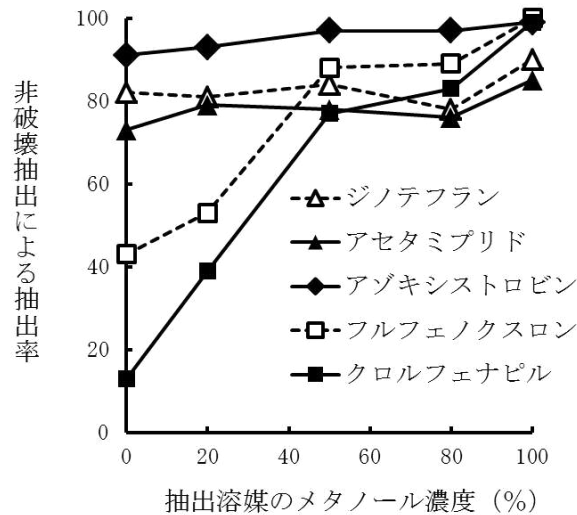


図3 非破壊抽出における抽出溶媒メタノールの濃度が農薬の抽出率に及ぼす影響
注) 農薬散布後1日目のトマト (n=2)。

めには、非破壊抽出法に用いる抽出溶媒のメタノール濃度は50%以上である必要があると考えられた。

3 log-Powが異なる7農薬に対する非破壊抽出法の適応性の検証

抽出溶媒に100%メタノールを用い、3分間手振とうによる非破壊抽出法について、その適用性を検証するた

め、log-Powが異なる7農薬を対象に検討した結果を表1に示した。

供試した農薬のうち、農薬のlog-Powが2以上のアゾキシストロビン、クロロタロニル、ボスカリド、フルフェノクスロン及びクロルフェナピルは、農薬散布後日数が経過しても、コマツナ、トマトともに非破壊抽出による農薬の抽出率(溶媒画分①の抽出割合)は70%以上で

表1 非破壊抽出における各画分の農薬量とその分布割合

農薬名	log-Pow ¹⁾	作物	非破壊抽出による各画分の農薬量 (ng/1株または1果)とその抽出分布割合 (%) ²⁾								
			溶媒画分①			溶媒画分②			残さ画分		
			農散布後日数			農散布後日数			農散布後日数		
			1日	3日	7日	1日	3日	7日	1日	3日	7日
ジノテフラン	-0.55	コマツナ	145(57)	62(37)	49(19)	45(18)	41(25)	56(22)	65(25)	63(38)	154(59)
		トマト	83(87)	61(70)	46(54)	3(3)	3(3)	3(4)	10(10)	24(27)	36(42)
アセタミプリド	0.80	コマツナ	67(60)	41(49)	33(30)	22(20)	21(25)	26(23)	23(21)	22(26)	52(47)
		トマト	84(81)	62(57)	49(44)	4(4)	4(4)	4(4)	16(15)	42(39)	57(52)
アゾキシストロビン	2.50	コマツナ	489(92)	174(86)	123(84)	2(5)	14(7)	11(8)	15(3)	14(7)	11(8)
		トマト	252(97)	218(95)	238(92)	3(1)	5(2)	9(4)	2(1)	6(3)	9(4)
クロロタロニル	2.89	コマツナ	5015(95)	2768(96)	1843(96)	203(4)	78(3)	64(3)	14(1)	7(1)	9(1)
		トマト	1001(98)	696(98)	531(98)	5(1)	8(1)	5(1)	4(1)	6(1)	5(1)
ボスカリド	2.96	コマツナ	2352(97)	1206(93)	692(86)	38(2)	35(3)	31(4)	30(1)	58(4)	77(10)
		トマト	588(95)	615(98)	480(98)	4(1)	9(1)	5(1)	5(1)	7(1)	4(1)
フルフェノクスロン	4.00	コマツナ	295(81)	187(76)	150(78)	26(7)	19(8)	15(8)	42(12)	39(16)	26(14)
		トマト	67(99)	62(97)	61(95)	1(1)	2(3)	3(5)	0(0)	0(0)	0(0)
クロルフェナピル	4.83	コマツナ	283(92)	248(91)	148(88)	24(7)	19(7)	18(11)	2(1)	5(2)	2(1)
		トマト	174(94)	138(94)	115(72)	8(4)	12(7)	15(9)	4(2)	14(9)	31(19)

1) log-Powの値は、農薬抄録並びに参考文献2、3から転記。

2) 非破壊抽出による各画分の農薬の抽出分布割合は、画分の農薬量を農薬量の総和（溶媒画分①、溶媒画分②、残さ画分）で割り、100を乗じた値。

3) 表中の数値は、各画分の1株または1果当たりの農薬量 (ng) と()内は農薬の抽出分布割合 (%) を示す。

あった。一方、農薬のlog-Powが1以下のジノテフランとアセタミプリドは農薬散布後の経過日数とともに非破壊抽出による農薬の抽出率が低下し、コマツナにおける農薬散布後7日目のジノテフランの溶媒画分①の抽出割合は約20%であった。

Watanabe et al.⁷⁾は、抽出溶媒にアセトンを用いた拭き取りによる非破壊抽出法の試験で、log-Powが1以下のネオニコチノイド系農薬の抽出率が低くなることを報告しており、今回の試験結果と一致している。

非破壊抽出で抽出率が低かったジノテフランとアセタミプリドは、農薬散布後の経過日数とともに溶媒画分①の農薬の量が減り、残さ画分の農薬の量が増加していた。一方、非破壊抽出で抽出率が高かった農薬は、クロルフェナピルのトマトを除き、散布後日数の経過とともに、溶媒画分①の農薬の量が減少しても残さ画分の農薬の量の増加はほとんど認められなかった(表1)。また、クロルフェナピルのトマトにおける残さ画分の農薬の増加は、ジノテフランとアセタミプリドに比べ緩やかな増加であった。

このことから、非破壊抽出で抽出率が低くなったジノテフランとアセタミプリドは、農薬散布後の日数経過とともに農薬が作物体内部に浸透移行したことが、非破壊抽出における抽出率の低下の要因と考えられる。

以上のことから、メタノールを用いた手振とうによる非破壊抽出法は、log-Powが2以上のアゾキシストロビン、クロロタロニル、ボスカリド、フルフェノクスロン及びクロルフェナピルで適用できることを確認した。

引用文献

- 厚生労働省. 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. 食安発第0124001号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知(2005). http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/zanryu/zanryu3/sike_n.html. (2012.5.11参照)
- 上路雅子, 小林裕子, 中村幸二. 2002年版残留農薬分析法. ソフトサイエンス社. 東京. p.1-561(2002)
- 農薬残留分析研究班編集. 最新農薬の残留分析法【改訂版】. 中央法規出版. 東京. p.1-1001(2006)
- 谷川元一, 西川学. 有姿抽出法による農産物の残留農薬分析. 日本農薬学会. 第35回農薬残留分析研究会講演要旨集. 219-223(2012)
- 谷川元一, 廣野公志. ヘキサンによる有姿振とう抽出法を用いた農薬のGC-MS分析. 日本農薬学会. 第34回大会講演要旨集. 121(2009)
- 谷川元一, 西川学, 入江美葵, 牧浦泰征. 有姿抽出法における溶媒及び経過日数と抽出率. 日本農薬学会. 第37回大会講演要旨集. 94(2012)
- Eiki Watanabe, Yusoo Kobara, and Yssuhiro Yogo. Rapid and simple analysis of pesticides persisting on green pepper surfaces swabbing with solvent-moistened cotton. Journal of Agricultural and Food Chemistry. American Chemical Society. 60, 9000-9005(2012)