

QuEChERS 法を用いた蜂蜜および玄米中 ネオニコチノイド系農薬等の一斉分析法の検討

平井知里・山岸 浩

Analysis of Neonicotinoid Insecticides in Honey and Brown Rice by QuEChERS

Chisato HIRAI, Hiroshi YAMAGISHI

ネオニコチノイド系農薬等の検査体制の整備ならびに県内に流通する蜂蜜および玄米の残留実態調査を目的として、ネオニコチノイド系農薬および代謝物等 16 化合物の一斉分析法を検討した。QuEChERS 法を用いた前処理法について検討した結果、欧州で広く用いられている European Committee for Standardization Standard Method EN 15662 (以下、EN 法) を抽出法とし、マトリックス検量線を用いて定量することにより良好な結果が得られた。

1. はじめに

ネオニコチノイド系農薬はクロロニコチニル系殺虫剤の総称で、天然の殺虫剤といわれる「ニコチン」からその名が付けられたものである。有機リン系農薬の代替農薬として 1990 年代半ばから使われ始めた農薬であるが、近年ミツバチなど花粉媒介昆虫への毒性が問題視されている¹⁻⁴⁾。EU 諸国では、ミツバチへの危害を防止するためクロチアニジンなど 3 種類のネオニコチノイド系農薬とフェニルピラゾール系農薬フィプロニルに対し、使用規制が開始されている。ネオニコチノイド系農薬はヒトへの毒性は比較的低いとされているが、近年の研究で、一部のネオニコチノイド系農薬が哺乳類の神経系に影響を与える可能性があるとの報告⁵⁾がなされており、欧州ではこれらの農薬の ADI、ARfD を見直す動きもある。

ネオニコチノイド系農薬は、その浸透性・残効性の高さから日本でも多用されており、同農薬との関連が疑われるミツバチへい死やアキアカネ減少などが各地で報告されている⁶⁻¹⁰⁾。ヒトが口にする食品中の残留についても消費者の関心が高まっており、ネオニコチノイド系農薬分析の必要性が増している。

そこで、本県においてもネオニコチノイド系農薬等の検査体制を整え、県内に流通する食品中の残留実態を把握することを目的として、ネオニコチノイド系農薬等の一斉分析法を検討することとした。検討には、ミツバチへい死との関連が深い蜂蜜および玄米を試料として用いた。

今回、QuEChERS 法を用いた前処理法について検討した結果、欧州で広く用いられている EN 法を抽出に用いることにより良好な結果が得られ、検討した試験法について妥当性評価を行ったので報告する。

2. 方法

2. 1 対象農薬

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、チアクロプリドアミド、チアメトキサム、ニテンピラム、CPMA、CPMF、CPF、エチプロール、フィプロニル、フロニカミド、TFNA および TFNG の計 16 化合物

2. 2 内部標準物質

アセタミプリド-d3、イミダクロプリド-d4、クロチアニジン-d3 およびチアメトキサム-d3

2. 3 標準品および標準溶液

農薬標準原液：和光純薬工業㈱の残留農薬試験用標準品を各々アセトニトリルまたはメタノールに溶解して 100 μ g/mL の標準原液を調製した。

農薬混合標準溶液：各農薬標準原液を混合し、メタノールで 1 μ g/mL に調製した。

内部標準原液：Sigma-Aldrich Japan 社の分析用標準品をアセトニトリルに溶解して 100 μ g/mL に調製した。

内部標準混合溶液：各内部標準原液を混合し、アセトニトリルで 1 μ g/mL に調製した。

検量線用標準溶液：農薬混合標準溶液（各 1 μ g/mL）をメタノール・水（1:1）混液またはマトリックス溶液で適宜希釈し、0.5~25ng/mL の検量線用標準溶液を調製した。

2. 4 試薬等

試薬はそれぞれ以下の製品を用いた。特に記載のないものは、下記 2 社の特級または残留農薬分析用グレードを用いた。

関東化学㈱：0.1vol% ぎ酸-蒸留水（高速液体クロマトグラフィー用）、ぎ酸（高速液体クロマトグラフィー用）

和光純薬工業㈱：クエン酸水素二ナトリウム 1.5 水和物（和光一級）、クエン酸三ナトリウム二水和物（試薬特級）、無水硫酸マグネシウム（試薬特級）、酢酸（試薬特級）、無水酢酸ナトリウム（試薬特級）、1mol/L 酢酸アンモニウム（高速液体クロマトグラフィー用）、メタノール（LC/MS 用）、超純水（LC/MS 用）

水：Milli-Q Reference 超純水装置（メルク㈱）により精製したものを用いた。

ミニラム：㈱アイスティサイエンス製 C18-30mg、C18-50mg、PSA-30mg を用いた。

セラミックホモジナイザ：アジレント・テクノロジー㈱製セラミックホモジナイザ（50mL チューブ用）を用いた。

2. 5 試料

蜂蜜：県内産アカシア蜜を用いた。

玄米：平成 7 年に県内で生産されたコシヒカリを、粉碎後、冷凍保存（-30℃）したものを用いた。

2. 6 装置および測定条件

タンデム型質量分析計：AB SCIEX 3200QTRAP

HPLC 装置：(株)島津製作所 LC 20A

その他、測定条件等の詳細を表 1 および表 2 に示した。

LC 移動相溶媒は、TFNA など酸性化合物について感度良く定量するため酸性条件とした。

また、対象化合物の MRM 条件について、3200QTRAP の最適化プログラムを用いて 48 モニターイオンを決定し、

真空部の条件を最適化した。Positive/Negative 両モードでの検出が可能な化合物については、両モードでモニターイオンを設定した。また、塩素原子には安定同位体として塩素 35 (存在比 76%) と塩素 37 (存在比 24%) が存在することから、分子内に塩素原子を含む化合物の一部について、塩素 37 含有化合物のモニターイオンを設定した。

以上の測定条件で、農薬混合標準溶液を分析し得られたクロマトグラムを図 1 に示した。

表 1 装置および測定条件

機器	パラメータ	設定値
LC	機器	LC20A(島津)
	カラム	TSKgel ODS-100V 3 μ m (2.0mmI.D. $\times$ 150mm)
	移動相A	0.1%ギ酸水溶液
	移動相B	0.1%ギ酸含有メタノール
	グラジエント条件	B: 10%(0min)-10%(1min)-40%(6min)-65%(12min)-95%(15min)-95%(20min)-Stop(20.1min)
	平衡化	7min
	流速	0.2mL/min
	カラム温度	40°C
	サンプル温度	4°C
	注入量 (μ L)	5 μ L
MS/MS	機器	3200QTRAP LC/MS/MS (ABサイエックス)
	イオン化法	ESI (+)/(-)
	プローブ電圧	5500/-4000(V)
	イオンソース温度	500(°C)
	カーテンガス	30psi
	ネブライズガス GS1	50psi
	ターボガス GS2	80psi

表 2 MRM トランジション

No.	化合物名	RT (min)	Q1(m/z)	Q3(m/z)	No.	化合物名	RT (min)	Q1(m/z)	Q3(m/z)
(Positive)									
1	アセタミプリド_1 * ^{※1}	11.5	223	126	31	TFNA_1 *	8.9	192	148
2	アセタミプリド_2		223	99	32	TFNA_2		192	98
3	アセタミプリド_3 (³⁷ Cl)		225	128	33	TFNG_1	8.4	249	203
4	イミダクロプリド_1 *	10.6	256	209	34	TFNG_2		249	148
5	イミダクロプリド_2		256	175	(Negative)				
6	クロチアニジン_1	10.8	250	132	35	クロチアニジン_1 *	10.8	248	58
7	クロチアニジン_2		250	169	36	クロチアニジン_2		248	165
8	ジノテフラン_1 *	7.3	203	129	37	クロチアニジン_3 (³⁷ Cl)		250	58
9	ジノテフラン_2		203	87	38	フィプロニル_1 *	17.9	435	330
10	チアクロプリド_1 *	12.5	253	126	39	フィプロニル_2		435	250
11	チアクロプリド_2		253	99	40	フィプロニル_3 (³⁷ Cl)		437	332
12	チアクロプリド_3 (³⁷ Cl)		255	128	41	エチプロール_1	17.1	395	330
13	チアクロプリドアミド_1 *	10.5	271	126	42	エチプロール_2		395	331
14	チアクロプリドアミド_2		271	228	43	フロニカミド_1	9.0	228	81
15	チアメキシサム_1 *	9.2	292	211	44	フロニカミド_2		228	146
16	チアメキシサム_2		292	181	45	TFNA_1	8.9	190	146
17	ニテンピラム_1 *	7.9	271	126	46	TFNA_2		190	69
18	ニテンピラム_2		271	237	47	TFNG_1 *	8.4	247	146
19	フィプロニル_1	17.9	437	368	48	TFNG_2		247	163
20	フィプロニル_2		437	255	内部標準 (Positive)				
21	CPF_1 *	11.4	199	128	49	チアメキシサム_d3	9.2	295	214
22	CPF_2		199	126	50	イミダクロプリド_d4	10.6	260	213
23	CPMA_1 *	7.9	256	126	51	アセタミプリド_d3	11.5	226	126
24	CPMA_2		256	176	内部標準 (Negative)				
25	CPMF_1 *	6.4	212	126	52	クロチアニジン_d3	10.8	251	58
26	CPMF_2		212	99					
27	エチプロール_1 *	17.1	397	351					
28	エチプロール_2		397	255					
29	フロニカミド_1 *	9.0	230	203					
30	フロニカミド_2		230	148					

※1 * : 定量に用いたイオン

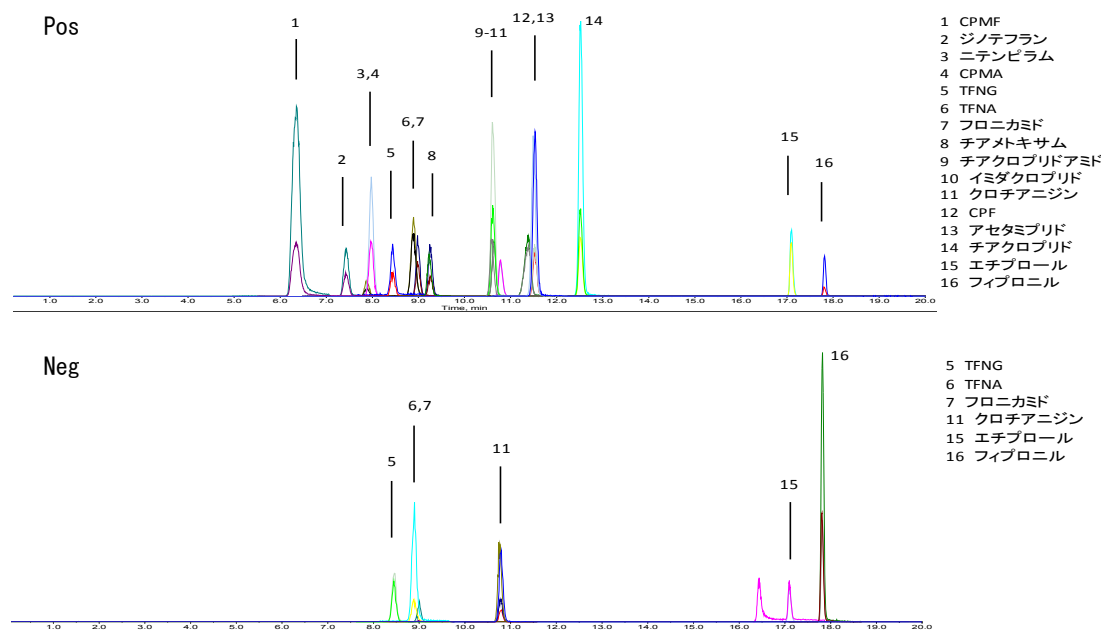


図1 MRM クロマトグラム

2. 7 試験溶液の調製および定量

蜂蜜は試料 5g に水 10mL を加えて、下記の抽出操作を行った。

玄米は均一に粉砕した試料 5g に水 10mL を加えて 30 分間放置後、下記の抽出操作を行った。

①QuEChERS 抽出液の検討：試料および試料に農薬混合標準溶液を添加したものについて、図 2 の方法により、試験溶液を調製した。抽出操作は、EN 法、AOAC Official Method 2007.01（以下、AOAC 法）およびアセトニトリル/リン酸緩衝液（pH7）による抽出法（以下、比較法）の 3 種類の方法を検討した。（表 3）

精製は、アイスティサイエンス㈱が開発した STQ 法¹¹⁾を参考に、抽出操作で得られたアセトニトリル層 1mL を、C18-30mg、PSA-30mg および C18-50mg 固相カートリッジで精製した。

得られた試験溶液および検量線用標準溶液（溶媒標準溶液）を LC/MS/MS に注入し、得られたクロマトグラムのピーク面積から絶対検量線法により定量した。

②マトリックス検量線による定量：試料および試料に農薬混合標準溶液を添加したものについて、図 3 の方法により、試験溶液を調製した。得られた試験溶液およびマトリックス標準溶液を LC/MS/MS に注入し、得られたクロマトグラムのピーク面積から絶対検量線法により定量した。

③試験法の妥当性評価：試料および試料に農薬混合標準溶液を添加したものについて、図 4 の方法により、試験溶液を調製した。得られた試験溶液およびマトリックス標準溶液を各 1mL 取り、内部標準混合溶液（各 1μg/mL）を 25 μL 添加した後、LC/MS/MS に注入し、得られたクロマトグラムのピーク面積から内部標準法により定量した。

表 3 抽出操作の概要

	EN法	AOAC法	比較法
抽出溶媒	MeCN	1%酢酸/MeCN	MeCN
抽出方法	+水30min静置、 +MeCN1min振とう、 +塩1min振とう	+水30min静置、 +1%酢酸/MeCN、 塩1min振とう	+リン酸緩衝液30min 静置、+MeCN振とう、 +塩1min振とう
塩	無水MgSO ₄ NaCl クエン酸水素2Na クエン酸3Na	無水MgSO ₄ 無水酢酸Na	無水MgSO ₄ NaCl
pH※	3.3-3.5	5.6-5.8	4.0-4.2

※水ブランク試料における遠心後水層の実測値

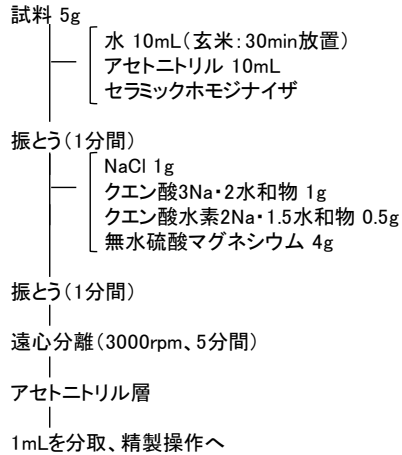
2. 8 添加回収試験

①QuEChERS 抽出液の検討：試料中濃度で 0.1ppm になるよう添加した水、蜂蜜および玄米について 2 併行で試験を行い、回収率を求めた。

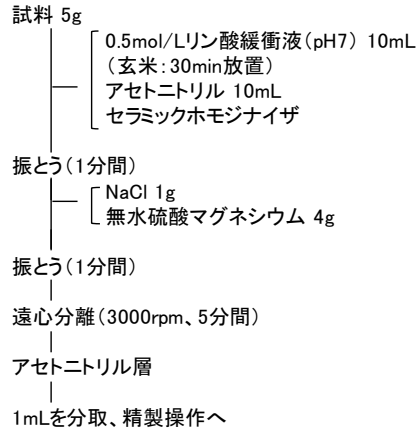
②マトリックス検量線による定量：試料中濃度で 0.01ppm および 0.1ppm になるよう添加した蜂蜜および玄米について 2 併行で試験を行い、回収率を求めた。

③試験法の妥当性評価：試料中濃度で 0.01ppm および 0.1ppm になるよう添加した蜂蜜および玄米について、分析者 1 名が 1 日 2 併行で 5 日間の繰り返し試験を行った。得られた結果から選択性、定量限界、真度、併行精度および室内精度を求め、厚生労働省から通知された「食品中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」¹²⁾（以下、ガイドライン）に基づいて評価した。

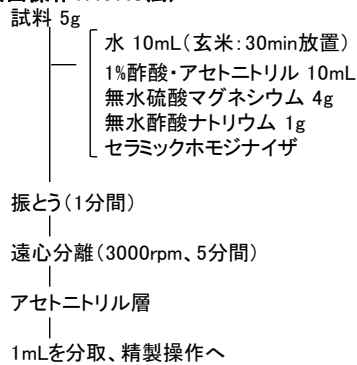
(抽出操作: EN法)



(抽出操作: 比較法)



(抽出操作: AOAC法)



(精製操作)

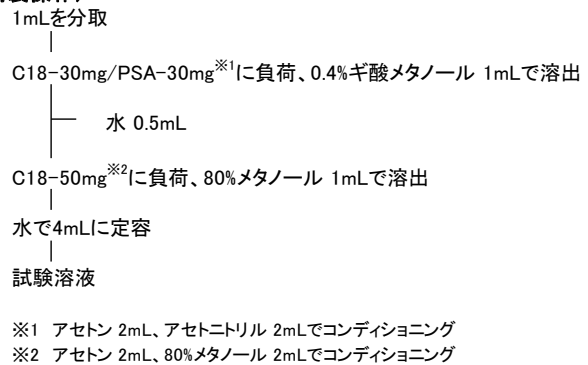


図2 試験溶液の調製方法 (1)

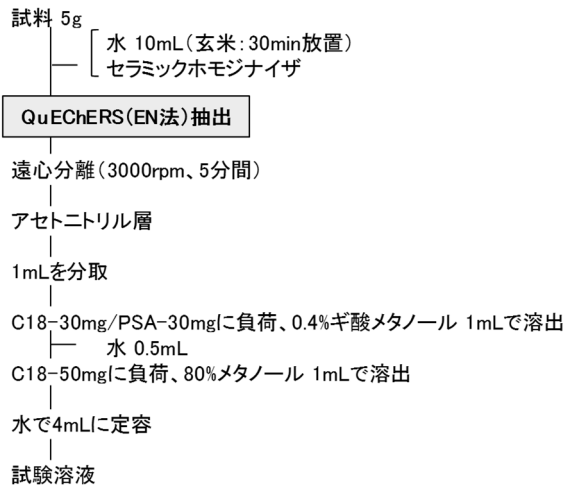


図3 試験溶液の調製方法 (2)

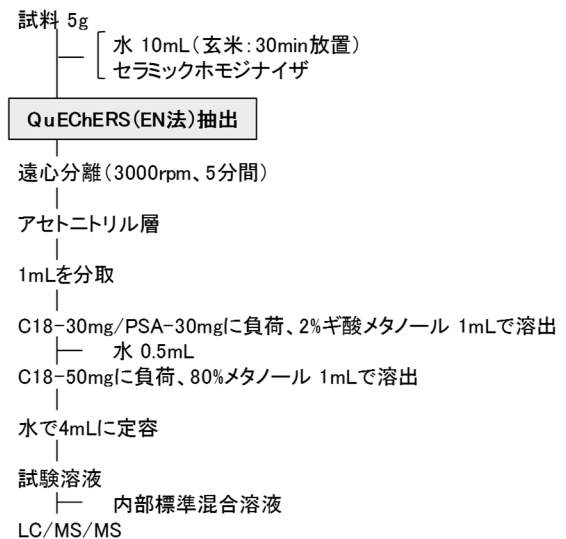


図4 試験溶液の調製方法 (3)

3. 結果および考察

3. 1 QuEChERS 抽出液の検討

QuEChERS 法は 2003 年に Anastassiades らのグループによって開発されたもので、ポリプロピレン製遠心管の中でアセトニトリル抽出、塩析、脱水を同時に行い、遠心分離して得られた抽出液を分散固相抽出により精製する簡便迅速な方法である¹³⁾。その後改良が加えられ、現在では EN 法および AOAC 法の 2 種類のメソッドが広く用いられている^{14,15)}。

今回は、抽出液の検討として、2 種類の改良 QuEChERS 法および比較法の 3 種類の方法で添加回収試験を行った。

その結果、水については、抽出法に EN 法を用いた場合に全ての化合物で良好な回収率を得た (表 4)。AOAC 法と比較法では、酸性化合物である TFNA および TFNG の回収率が低くなった。これは、抽出液の pH や使用した塩の種類が影響したと考えられる。水を試料として 3 種類の抽出法で振とう抽出を行い、遠心分離後の水層の pH を確認したところ、EN 法における当該 pH は 3.5 まで低下しており、他の二つの方法に比べ、より酸性側に傾いていた (表 3)。TFNA 等の酸性化合物は、pH の低下によりアセトニトリル層への分配率が向上すると推測され、このことが EN 法において酸性化合物の回収率が良好であった要因ではないかと考えている。

実試料については、水での結果に比べ回収率は全体的に低く、70%を下回る化合物が増加した。EN 法の結果のみを見ても、蜂蜜で 3 化合物、玄米で 6 化合物が 70%を下回った。各ブランク試料から得られた試験溶液に標準溶液を添加してマトリックス効果の有無を確認したところ、化合物によっては溶媒標準溶液で得られるピーク面積の 6 割程度までレスポンスが低下するものもあった。水に添加した試料では、水溶性の高い CPMA や TFNA を除きほとんどの化合物が 90%以上回収されていることから、実試料で回収率が低下した要因は、試料由来のマトリックスによるイオン化抑制にあると考えられた。

そこで抽出法については EN 法を採用することとし、次に、マトリックスの影響を補正するため、マトリックス検量線を用いて定量することとした。

3. 2 マトリックス検量線による定量

蜂蜜および玄米のブランク試料を試験方法に従って操作して得たマトリックス溶液で混合標準溶液を希釈し、それぞれ 0.5~25ng/ μ L の検量線用標準溶液を調製した。このマトリックス標準溶液を用いて、添加試料から得られた試験溶液を絶対検量線法で定量した。

その結果、溶媒標準溶液による定量において低回収率であった化合物の回収率が改善し、ほとんどの化合物について良好な回収率を得ることができた (表 5)。16 化合物中 14 化合物について、蜂蜜および玄米のいずれの試料においても回収率は 70~120%の範囲内となり、CPMA と TFNA の 2 化合物についても、6~7 割程度を回収することができた。

CPMA と TFNA はともに水溶性の高い酸性化合物であり、アセトニトリル/水分配時に水層に残留することが回収率低下の要因と考えられた。また、TFNA および TFNG については、PSA 固相から十分に溶出できていない可能性が考えられた。そこで、精製に用いるギ酸メタノールのギ酸濃度について検討したところ、ギ酸濃度を 0.4%から 2%に変更することにより、若干の回収率向上が見られた。

(図 5)

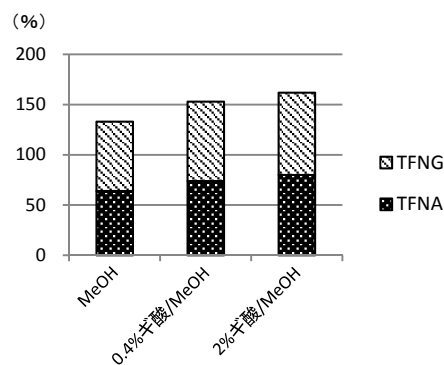


図 5 ギ酸濃度による酸性化合物の回収率の変化 (試料: 水)

表4 抽出法検討結果 (回収率)

(単位%, n=2、添加濃度: 0.1ppm)

Compound	水			蜂蜜			玄米		
	EN法	AOAC法	比較法	EN法	AOAC法	比較法	EN法	AOAC法	比較法
Acetamidiprid	96	90	96	84	82	82	72	72	71
CPF	92	90	97	92	90	89	78	77	78
CPMA	75	77	77	53	57	53	52	58	55
CPMF	100	94	100	100	92	101	89	93	96
Dinotefuran	101	97	100	91	87	98	72	71	75
Ethiprole (Neg)	90	84	88	99	94	96	71	71	77
Flonicamid	98	96	101	98	98	100	81	79	80
Imidacloprid	89	87	97	69	64	71	53	53	51
Nitenpyram	98	90	94	85	79	90	76	71	76
Thiacloprid amide	95	91	101	93	87	91	82	81	80
Thiacloprid	98	93	99	80	81	82	66	65	66
Thiamethoxam	98	94	98	73	70	77	57	59	57
Clothianidin (Neg)	99	94	94	98	92	94	63	59	61
Fipronil (Neg)	92	87	91	101	97	99	95	89	96
TFNA	80	34	69	68	11	43	59	22	43
TFNG (Neg)	93	32	83	91	14	63	79	20	67

3. 3 試験法の妥当性評価

試験法の妥当性評価は、試験機関において農薬等の試験法を採用する際に、分析結果の信頼性を保証するため、国のガイドラインに基づき実施するものである。ブランク試料および添加試料について繰り返し試験を実施し、選択性、真度、精度および定量限界を評価する。当センターで使用している質量分析計はイオン源の極性切り替えによる Pos/Neg 同時測定には対応しておらず、また LC 部の耐圧性能が低く分析時間を一定程度必要とすることから、定量精度を向上するためには、質量分析計の感度変動によるバラツキや夾雑成分によるマトリックス効果を低減することが重要と思われた。そこで、これまでの検討結果から、抽出法には EN 法を用い、定量法にはマトリックス検量線を用いた内部標準法を用いて、試験法の妥当性評価を実施することとした。

内部標準物質には、ネオニコチノイド系農薬の安定同位体標識化合物として入手可能であったアセタミプリド-d3 等 4 化合物を用いた。対象化合物の保持時間や感度、マトリックス効果の傾向から、それぞれの物性に近いものを内部標準物質として割り当て検量線を確認したところ、全ての化合物について 0.5-25ng/mL の範囲で $R^2 > 0.999$ の直線性が得られた。

蜂蜜および玄米を試料として、分析者 1 名が 1 日 2 併行 5 日間の繰り返し試験を行った。その結果、いずれの試料についても、CPMA を除く 15 化合物が選択性、定量限界、真度および精度においてガイドラインの目標値を満たした (表 6)。

CPMA については、真度は 40~60%であった。また、CPMF はガイドラインの目標値は満たしたものの、真度は 100%を上回った。CPMA および CPMF はニテンピラムの代謝物であり、CPMA はアセトン等の有機溶媒中で加温されることにより容易に CPMF へ変化することが知られている^{16,17)}。このことから、CPMA の回収率が低下したのは、水溶性が高いことによる抽出時のロスに加え、精製中に CPMA が CPMF へ変化したためではないかと考えられた。そこで、CPMA のみを玄米に添加し CPMA および CPMF の回収率を確認したところ、2 割程度が CPMF へ変化していた (表 7)。この結果から、先に実施した妥当性評価の結果においても、CPMF の真度に CPMA から変化した CPMF が上乗せされている可能性が高いと考えられた。

以上の結果から、試験結果の取り扱いにおいては、CPMA だけでなく目標値を満たした CPMF についても参考値とし、今回検討した一斉試験法で試験可能な対象化合物は、CPMA および CPMF を除いた 14 化合物とすることが適当と考えている。

表 7 CPMA 添加回収試験結果

Compound	玄米
	CPMA 0.1ppm添加
CPMA	70
CPMF	17
CPF	ND

表 5 マトリックス検量線による定量結果

(単位%, n=2)

Compound	蜂蜜		玄米	
	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm
Acetamiprid	107	87	81	98
CPF	85	86	94	98
CPMA	74	63	62	74
CPMF	104	88	102	100
Dinotefuran	104	95	81	94
Ethiprole (Neg)	95	99	106	104
Flonicamid	109	91	96	102
Imidacloprid	101	87	96	94
Nitenpyram	94	88	95	96
Thiacloprid amide	100	86	88	97
Thiacloprid	104	88	101	102
Thiamethoxam	105	88	88	95
Clothianidin (Neg)	100	95	102	100
Fipronil (Neg)	102	104	106	107
TFNA	76	71	66	71
TFNG (Neg)	90	90	86	88

表6 妥当性評価結果

蜂蜜									
Compound	※1 評価	0.01ppm			0.1ppm			選 択 性	定 量 限 界
		併行 精度 (RSD%)	室内 精度 (RSD%)	真度 (%)	併行 精度 (RSD%)	室内 精度 (RSD%)	真度 (%)		
Acetamiprid	×	1.8	7.7	96.5	2.6	5.7	92.9	○	○
CPF		4.4	5.1	94.9	2.2	6.6	90.2	○	○
CPMA		6.5	23.1	46.5	3.6	14.7	56.0	○	○
CPMF		2.9	8.1	114.0	2.7	7.5	103.4	○	○
Dinotefuran		2.3	8.3	89.0	2.9	5.1	91.4	○	○
Ethiprole (Pos)		3.8	10.0	90.8	3.3	4.6	89.3	○	○
Flonicamid(Pos)		3.2	8.0	101.4	1.9	8.6	92.0	○	○
Imidacloprid		2.6	8.9	94.9	4.8	6.7	92.3	○	○
Nitenpyram		9.4	17.0	91.1	4.7	8.0	93.9	○	○
Thiacloprid amide		4.0	8.9	94.5	3.0	6.6	91.0	○	○
Thiacloprid		2.4	9.1	96.2	3.4	5.5	91.5	○	○
Thiamethoxam		4.6	11.3	93.8	3.9	6.4	93.4	○	○
Clothianidin (Neg)		4.2	10.4	94.5	3.2	6.1	92.7	○	○
Fipronil (Neg)		1.4	8.7	92.2	2.3	5.2	93.8	○	○
TFNA		4.3	8.1	85.4	2.2	7.1	73.3	○	○
TFNG (Neg)		4.4	8.9	86.7	3.4	10.8	81.7	○	○

玄米									
Compound	※1 評価	0.01ppm			0.1ppm			選 択 性	定 量 限 界
		併行 精度 (RSD%)	室内 精度 (RSD%)	真度 (%)	併行 精度 (RSD%)	室内 精度 (RSD%)	真度 (%)		
Acetamiprid	×	1.7	2.0	97.2	1.2	1.9	97.0	○	○
CPF		3.2	3.4	99.0	1.7	2.1	93.8	○	○
CPMA		3.0	10.1	55.6	3.2	5.3	58.6	○	○
CPMF		2.0	3.2	118.1	2.4	2.8	107.7	○	○
Dinotefuran		3.3	5.0	93.0	3.1	3.2	94.9	○	○
Ethiprole (Pos)		3.2	3.2	95.4	1.7	3.2	91.7	○	○
Flonicamid(Pos)		3.3	5.2	106.4	3.9	3.9	98.8	○	○
Imidacloprid		5.3	5.3	99.9	2.9	3.1	96.2	○	○
Nitenpyram		4.6	4.6	98.1	1.6	4.4	95.6	○	○
Thiacloprid amide		4.4	4.8	97.7	1.2	2.9	93.0	○	○
Thiacloprid		1.9	4.1	102.6	1.2	1.3	97.1	○	○
Thiamethoxam		2.4	4.1	101.4	3.0	3.0	95.6	○	○
Clothianidin (Neg)		2.0	2.5	96.0	1.8	1.8	95.3	○	○
Fipronil (Neg)		3.1	3.3	97.7	1.9	3.0	99.8	○	○
TFNA		3.1	4.5	85.6	3.0	3.3	76.4	○	○
TFNG (Neg)		3.2	4.8	85.4	1.7	3.6	81.6	○	○

※1 評価は全ての性能パラメーターが目標値に適合したものを無印、いずれかの性能パラメーターが目標値に適合しなかったものを×とした。

4. まとめ

ネオニコチノイド系農薬等の検査体制の整備および県内に流通する蜂蜜および玄米の残留実態調査を目的として、ネオニコチノイド系農薬および代謝物等 16 化合物の一斉分析法を検討した。EN 法およびマトリックス検量線を用いた内部標準法で定量することにより、2 代謝物を除く 14 化合物について試験法の妥当性が確認され、本一斉分析法を用いることにより、蜂蜜および玄米中ネオニコチノイド系農薬等の迅速、簡便かつ精度の良い定量が可能となった。

今後は、開発した一斉分析法を用いて県内に流通する蜂蜜および玄米の残留実態調査を進める予定である。

参考文献

- 1) Henry M et al.: A Common Pesticide Decreases Foraging Success and Survival in Honey Bees. *Science*, **336**(6079), 348-350, (2012)
- 2) Whitehorn PR et al.: Neonicotinoid Pesticide Reduces Bumble Bee Colony Growth and Queen Production. *Science*, **336**(6079), 351-352, (2012)
- 3) Goulson D: An Overview of the Environmental Risks Posed by Neonicotinoid Insecticides. *Journal of Applied Ecology*, **50**, 977-987, (2013)
- 4) UNEP(2010)-UNEP Emerging Issues: Global Honey Bee Colony Disorder and Other Threats to Insect Pollinators.
http://www.unep.org/dewa/Portals/67/pdf/Global_Bee_Colony_Disorder_and_Threats_insect_pollinators.pdf
- 5) Kimura-Kuroda J et al.: Nicotine-Like Effects of the Neonicotinoid Insecticides Acetamiprid and Imidacloprid on Cerebellar Neurons from Neonatal Rats. *PloS One*, **7**(2), e32432, (2012)
- 6) (独)農研機構 畜産草地研究所: 夏期に北日本水田地帯で発生が見られる巣箱周辺でのミツバチ斃死の原因について (2014.7.18 公表)
http://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/press/laborary/nilgs/053347.html
- 7) 農林水産省: 平成 26 年度蜜蜂被害事例調査の結果と今後の対策について (2015.6 月公表)
http://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n_mitubati/honeybee_survey.html
- 8) 農林水産省: 農薬による蜜蜂の危害を防止するための我が国の取組 (2015.9 月改訂)
http://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n_mitubati/index.html
- 9) 国立環境研究所: 実験水田を用いた農薬の生物多様性への影響評価～浸透移行性殺虫剤がもたらすトンボへの影響～ (2016.3.16 公表)
https://www.nies.go.jp/whatsnew/2016/20160316/20160316_2.html
- 10) Kasai A et al.: Fipronil application on rice paddy fields reduces densities of common skimmer and scarlet skimmer. *Scientific Reports*, **6**, DOI: 10.1038/srep23055, (2016)
- 11) 谷澤春奈, 佐々野僚一, 大関由利子: LC/MS/MS を用いた残留農薬の多成分迅速一斉分析法の検討, 第 95 回食品衛生学会学術講演会講演要旨集, P39, A-21 (2008)
- 12) 厚生労働省: 「食品中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の一部改正について」(平成 22 年 12 月 24 日付食安発 1224 第 1 号)
- 13) Anastassiades M et al.: Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC Int.*, **86**, 412-431 (2003)
- 14) European Committee for Standardization: Standard Method EN 15662
<https://www.cen.eu/Pages/default.aspx>
- 15) Association of Analytical Communities: AOAC 2007.01
<http://www.aoac.org/>
- 16) 津村ゆかり, 中村優美子, 外海泰秀, 柿本芳久, 田中雄三, 柴田正: 農産物中のネオニコチノイド系殺虫剤ニテンピラム及びその代謝物の分析, 食品衛生学雑誌, **39**, 127-134, (1998)
- 17) 小林裕子: 液体クロマトグラフィー/質量分析及び液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法による残留農薬分析, 分析化学, **58**(12), 985-997, (2009)