

QuEChERS前処理手法を用いた土壤中の残留農薬迅速分析（Ⅱ）

○ 東房健一¹⁾ , 中島晋也²⁾ , 下之菌亜希子³⁾ , 中村貞夫³⁾

1) 新川電機(株), 2) 西川計測(株), 3) アジレント・テクノロジー(株)

1. はじめに

近年、環境分析の分野では、多くの化学物質や農薬の分析を行う場合が多く、これらの分析を行うには多くの時間と労力を要し、分析対象物質が多くなるほど前処理操作及び分析操作とも煩雑で複雑となる。

演者らは食品農薬分析の迅速前処理法として実用されているQuEChERS手法を土壤中残留農薬分析の前処理に応用し、定量は試料中の残留農薬の同定び定量が迅速に行うことができるNAGINATA（GC/MSソフトウェア）を用いて、土壤中の残留農薬類の迅速分析の検討を行った。

本報告は、これらの検討結果とこの手法を用いて、古民家の床下土壤中残留農薬分析を行った結果、このQuEChERS-NAGINATA法が土壤中残留農薬類の分析にも十分適用できることが確認できたので報告する。

2. 実験方法

QuEChERS前処理法での有効性を確認するため、農耕地土壤に約350農薬を添加し、操作フローに従い前処理操作を行った。次に、4ヶ所の古民家（築60年～80年）の床下土壤をQuEChERS法で前処理操作を行い、それぞれの抽出液をスクリーニングソフト付のGC/MS(SCAN)-NAGINATAで定性・定量した。

このソフトには約800種類の化学物質のリテンションタイム、マススペクトル及び検量線がデータベースとして登録されている。定性・定量にあたっては、標準品を使用せず、検量線も作成せず、このデータベース情報を用いて、データベース上に登録されている約800種類の化合物の有無とその濃度を算出した。

また、本手法で得られた2ヶ所の床下土壤の定量結果と、過去に、同じ土壤を土壤分析法¹⁾で前処理を行い、NAGINATA測定を行った結果との比較も行った。

2.1 使用装置及び試薬

① 標準品

- (1) 農薬：林純薬工業(株) 農薬標準品Ⅰ～Ⅶ 約350農薬
- (2) POPs系農薬：関東化学(株) 9種類

② QuEChERS前処理

- (1) 抽出キット：アジレント・テクノロジー(株)

QuEChERS Extract Tubes, AOAC Method 5982-5755

内容：50ml チューブ + 6g MgSO₄, 1.5g NaAcetate 袋入

- (2) 分散キット：アジレント・テクノロジー(株)

Dispersive SPE 15ml, Fat & Pigments AOAC 5982-5456

内容：15mlチューブに400mg C18, 400mg PSA, 400mg グラファイトカーボン(GCB), 1200mg MgSO₄

③ GC/MS-NAGINATA分析

- (1) GC/MS装置：Agilent5975：アジレント・テクノロジー(株)
- (2) GC/MSスクリーニング分析ソフト：NAGINATA Ver.2：西川計測(株)
- (3) 装置診断用チェックサンプル：NAGINATA用クライテリアサンプル：林純薬工業(株)
- (4) 測定用内部標準物質：NAGINATA用内部標準物質：林純薬工業(株)



2.2 QuEChERS前処理法の概要

本検討で使用したQuEChERSは、Quick Easy（簡単で高速）、Cheap（低価格）、Effective（効果的）、Rugged（高い耐久性）、Safe（安全）の頭字語で表す、農薬分析用の食品サンプル前処理を簡略化するための前処理メソッドであり、従来の前処理方法と異なり、溶媒の使用量を少なくして抽出できる“抽出キット”と、固相カラムで使用される充填剤と直接接触させ、濃縮過程も不要な“分散キット”から成り立っているものである。

抽出キットは4種類あり、それぞれ、50mlの抽出チューブとパッケージ済みの塩析試薬が必要な量に事前に計量され、防湿パックに入っている。

また、分散キットには2 mlまたは15 mlの分散チューブと試料のタイプとスクリーニングプロトコルに合わせて構成された固相充填剤が入っているものが16種類あり、分析試料の状況に合わせて、選択して使用するものである。

2.3 ソフトウェアの概要

本検討で使用したNAGINATA(GC/MSスクリーニング分析ソフト)は、使用する装置のチューニング(精密)、保持時間を一定とするリテンションタイムロッキング(RTL)や装置診断を行うクライテリアチェックサンプル測定による装置診断を行うことにより、使用する装置のシステムの最適化(SetupCaptainで支援)を行うことが可能であるものである。

実試料の測定は、抽出等の前処理を行った試料に内部標準物質を添加し、データベースが作成された時と同様に、装置診断を含めた装置の最適化を行った装置で測定することから、従来のような標準試料の調製や検量線の作成が不要となり、迅速かつ簡単に定性及び定量が行える。

試料の解析時には、登録されているデータベースを用いて、QuantScreener支援により、保持時間及びマススペクトルからの検出を行い、検出物質については内部標準との強度比から定量(相対定量)を行うものである。

3. 試料の前処理及び測定

3.1 添加回収試験

農耕地土壌10gを抽出キット中の50mlチューブにとり、農薬標準溶液を添加した。これに、蒸留水10ml及び1%酢酸-アセトニトリル10mlを加え、1分間振とうした後、付属のパッケージ試薬を添加し、1分間激しく振とうした。その後、4000rpmで5分間遠心分離器により、遠心分離を行った。

次に、遠心分離後の上澄アセトニトリル層5mlを分散キット中のチューブ(C18 400mg+PSA 400mg+GCB 400mg+MgSO4 1200mg入)に移し、1分間激しく振とうし、その後、4000rpmで5分間遠心分離を行い、上澄み液1mlを前処理液とした。

なお、今回はGC/MSでの測定を行うことから、前処理液を1ml分取し、風乾後、アセトン+ヘキサン(1:1)1mlに再溶解したものをGC/MS測定用の試験溶液とした。

3.2 古民家床下土壌

4ヶ所の古民家床下土壌(2ヶ所の土壌試料は冷蔵保存試料)をそれぞれ10gを50mlチューブにとり、蒸留水及び1%酢酸-アセトニトリルを添加して、以後、添加回収と同様に前処理を行った。



Fig. 1 QuEChERS 前処理フロー

3.3 GC/MS_NAGINATA 測定

土壌中残留農薬の定性・定量は、それぞれの GC/MS 測定用試験溶液 1ml に NAGINATA 用の内部標準溶液を 2ul 添加し、NAGINATA ソフト付の GC/MS (SCAN) で測定した。

解析は、NAGINATA 解析ソフトを用い、このソフトには約 800 種類の化学物質のリテンションタイム、マススペクトル及び検量線がデータベースとして登録されている。定性・定量にあたっては、標準品を使用せず、検量線も作成せずに、このデータベース情報を用いて、データベース上に登録されている約 800 種類の化合物の有無とその濃度が算出可能となっている。

今回の検討では、約 800 種類のデータベースから得られた定性・定量結果より、環境分野で評価される農薬類 54 種を対象として評価を行った。

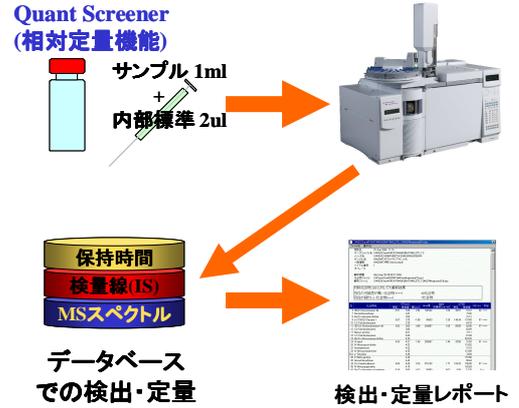


Fig. 2 NAGINATA 測定フロー

4. 結果と考察

4.1 添加回収試験結果

添加回収率試験に用いる農薬標準溶液を直接 NAGINATA 測定した結果と土壌に標準溶液を添加し、QuEChERS 手法で前処理 (N=2) を行い、それぞれ、NAGINATA 測定を行った結果の比較を行った。

これらの測定結果から、環境分野で評価される 54 種類の農薬を抽出し、その農薬の標準溶液 NAGINATA 測定値に対する QuEChERS 法での値から、再現率 (回収率) を算出し、ヒストグラムとして Fig. 3 に示した。

また、これらの農薬名や定量値の詳細を Table_1 に示した。

以上の結果から、54 種類の農薬は QuEChERS 前処理法により、回収率 70~120% の範囲に約 75% の農薬が再現され、ほぼ良好な結果を示していることから、QuEChERS 法の土

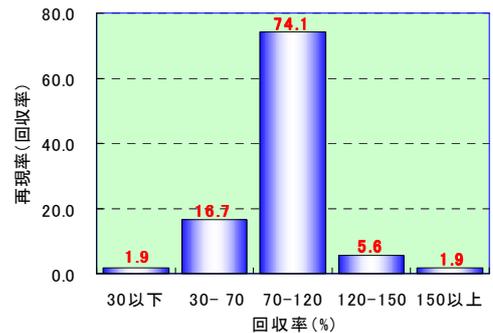


Fig. 3 QuEChERS 法での回収率ヒストグラム

壤への応用も可能である結果を示した。しかしながら、クロロタロニル (TPN) の回収率は 4.3% と低く、最終試験液作成時のアセトン含有に起因する減衰や注入時の分解と思われる低回収率が認められたことや、二つの土壌添加試料のバラツキが若干大きいことなど、今後の要検討課題も得られた。

Table_1 各試料の NAGINATA 測定結果及び回収率算出結果

化合物名	NAGINATA 定量値 (ug/ml)					回収率 (%)		化合物名	NAGINATA 定量値 (ug/ml)					回収率 (%)	
	標準溶液	添加試料A	添加試料B	添加試料C	添加試料D	平均	判定		標準溶液	添加試料A	添加試料B	添加試料C	添加試料D	平均	判定
a-BHC	0.283	0.348	0.286	122.8	100.9	111.8	○	ジメトエート	0.401	0.389	0.340	97.0	84.7	90.9	○
a-エンドスルファン	0.124	0.155	0.104	124.8	84.1	104.4	○	ジメハレート	0.247	0.283	0.202	114.6	81.7	98.1	○
b-BHC	0.382	0.420	0.351	109.9	91.9	100.9	○	ダイシジフ	0.302	0.332	0.249	109.8	82.3	96.1	○
b-エンドスルファン	0.168	0.188	0.174	111.6	103.6	107.6	○	チオベンカルブ	0.181	0.189	0.137	104.3	75.5	89.9	○
d-BHC	0.376	0.395	0.335	104.9	89.0	96.9	○	テイルドリ	0.152	0.177	0.142	116.4	93.5	105.0	○
o,p'-DDT	0.343	0.353	0.269	103.0	78.6	90.8	○	テルブカルブ	0.238	0.281	0.217	118.0	91.3	104.6	○
p,p'-DDT	0.239	0.228	0.183	95.3	76.5	85.9	○	トリフルリン	0.353	0.416	0.342	117.9	97.0	107.5	○
r-BHC, リンデン	0.347	0.380	0.325	109.7	93.7	101.7	○	ナロバミド	0.272	0.173	0.156	63.4	57.4	60.4	▽
アトリン	0.237	0.232	0.186	97.6	78.2	87.9	○	ニロフェン	0.198	0.188	0.166	95.0	83.7	89.3	○
アノホス	0.260	0.288	0.204	110.8	78.4	94.6	○	ハラチオン	0.226	0.200	0.156	88.3	69.0	78.7	○
アマトリン	0.215	0.176	0.149	82.0	69.6	75.8	○	ハラチオンメチル	0.375	0.374	0.293	99.6	78.2	88.9	○
アラクロニル	0.187	0.226	0.124	121.2	66.7	93.9	○	ヒフノックス	0.257	0.089	0.242	34.8	94.4	64.6	▽
アルドリ	0.132	0.185	0.143	140.0	108.2	124.1	△	ヒハロホス	0.318	0.390	0.294	122.8	92.7	107.8	○
イソキサチオン	0.382	0.287	0.207	75.0	54.2	64.6	▽	ヒリフチカルブ	0.261	0.275	0.238	105.0	91.2	98.1	○
イソプロチオン	0.196	0.233	0.179	118.7	91.1	104.9	○	ヒリフロキソフェン	0.243	0.200	0.134	82.1	55.0	68.5	▽
エトリゾソール	0.192	0.364	0.292	190.1	152.3	171.2	▲	ヒンクソリン	0.233	0.233	0.184	100.0	78.8	89.4	○
エトリソ	0.204	0.186	0.166	91.2	81.5	86.3	○	フェニロチオン	0.356	0.310	0.233	87.1	65.5	76.3	○
カエンストロル	0.302	0.182	0.128	60.2	42.4	51.3	▽	フェトエート	0.247	0.266	0.201	107.6	81.4	94.5	○
カルハリル	0.018	0.020	0.021	106.5	114.7	110.6	○	フェンハレート@1	0.262	0.313	0.271	119.5	103.3	111.4	○
キャプタン	0.214	0.108	0.062	50.7	28.9	39.8	▽	フェンハレート@2	0.275	0.259	0.153	94.2	55.6	74.9	○
クロロタロニル (TPN)	0.176	0.012	0.003	6.8	1.7	4.3	▼	フロモシリン	0.153	0.165	0.140	107.5	91.6	99.6	○
クロメフェ	0.101	0.063	0.072	62.4	71.3	66.8	▽	フロコナゾール(2)	0.244	0.273	0.216	111.9	88.7	100.3	○
シクロヘニル	0.092	0.149	0.116	160.9	125.2	143.1	△	フロザミド	0.307	0.297	0.270	96.7	87.9	92.3	○
シカルホス	0.204	0.207	0.179	101.2	87.6	94.4	○	ヘルマトリン(2)	0.202	0.151	0.124	75.0	61.5	68.3	▽
シチオヒル	0.265	0.273	0.222	103.0	83.8	93.4	○	ヘンソラリン	0.225	0.247	0.188	110.0	83.5	96.7	○
シメトリン(4)	0.158	0.124	0.205	78.8	130.3	104.6	○	マテチオン	0.246	0.249	0.198	100.9	80.3	90.6	○
シマジン	0.273	0.202	0.172	74.2	63.1	68.6	▽	メラキシル	0.221	0.318	0.249	143.7	112.5	128.1	△
ジメトリン	0.211	0.180	0.139	85.1	65.6	75.4	○	メキソクロル	0.159	0.140	0.102	88.2	64.2	76.2	○

判定 ▲: 150%以上 △: 120~150% ○: 70~120% ▽: 30~70% ▼: 30%以下

4.2 古民家床下土壌分析結果

4ヶ所の古民家（築60年～80年）の床下土壌をQuEChERS-NAGINATA法で測定した。

この結果、A～Dの4ヶ所の土壌の全てからBHC類が検出され、特に、土壌CのBHC類検出濃度は高く、その濃度は他の土壌の10倍に相当する濃度が検出された物質も確認された。

また、土壌Bからは、比較的高いクロルデン類やディルドリン、ノナクロールが検出され、その濃度は1.5～3.1 $\mu\text{g/g}$ であった。

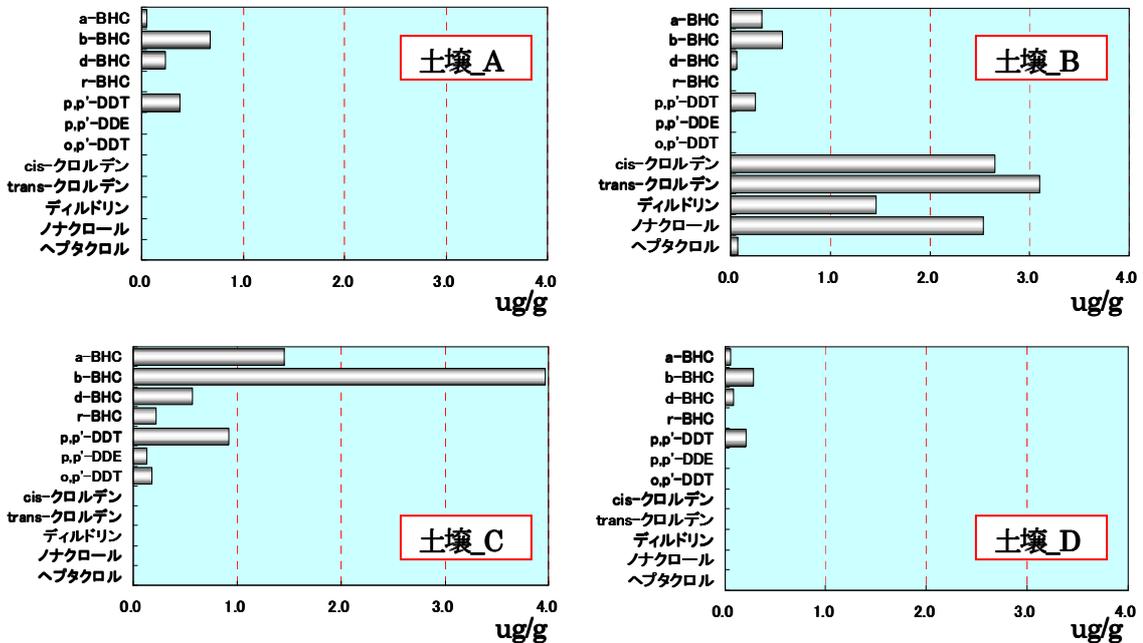


Fig.4 古民家床下土壌の残留農薬定量結果

なお、土壌AとBについては、今回の結果と過去に土壌分析法¹⁾ (SPEカラム: Crab-NH₂)にて分析した結果を併記してFig.5に示したが土壌Aと土壌Bとも、ほぼ同様に過去の分析値が再現され、QuEChERS手法の有効性とNAGINATA手法の高い再現性の双方が認められる結果を示した。

5. まとめ

土壌中の残留農薬分析に、QuEChERS前処理手法を応用して土壌添加回収試験を実施した結果、環境分野で評価される54種類の農薬はQuEChERS前処理法により、回収率70～120%の範囲に約75%以上の農薬が再現され、ほぼ良好な結果を示し、土壌へのQuEChERS法の応用も可能である結果を示した。

また、迅速スクリーニング手法を併用したQuEChERS-NAGINATA手法で古民家床下土壌を測定した結果、BHC類、クロルデン類、ディルドリン及びノナクロールが検出され、これらの濃度は過去の結果の検出状況に類似し、その濃度もほぼ同様な値を示していた。

以上の結果から、土壌中の残留農薬分析にQuEChERS前処理手法を用いることにより、短時間で精度良く前処理を行うことが可能であり、更に、NAGINATA手法を併用することにより、標準品を必要とせず、測定する物質を限定することなく、網羅的に定性・定量することが可能となり、迅速性が要求される調査や測定項目を限定することが困難な試料などの迅速分析方法としてQuEChERS-NAGINATA手法は十分に活用できるものと思われる検討結果であった。

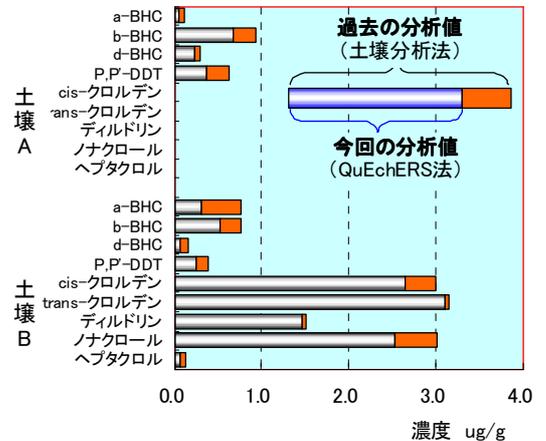


Fig.5 古民家床下土壌の残留農薬定量結果

【参考文献】 1) 環境庁水質保全局土壌農薬課, 平成11年「農薬等の環境残留実態調査分析法」
2) 宮崎ら: 第16回環境化学討論会講演要旨集, 632-633 (2007)