

農業生産現場における簡易農薬残留分析システムの応用と普及

誌名	Journal of pesticide science
ISSN	1348589X
著者名	天野,昭子 成田,伊都美
発行元	日本農薬学会
巻/号	35巻4号
掲載ページ	p. 516-520
発行年月	2010年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



農業生産現場における簡易農薬残留分析システムの応用と普及

天 野 昭 子*, 成 田 伊 都 美

* 岐阜県農業技術センター, 埼玉県花と緑の振興センター

(平成 22 年 8 月 6 日受理)

Keywords: pesticide residue, simple screening analysis, immunoassay, ELISA kit, self-testing.

はじめに

2001 年から 2002 年にかけて, 輸入農産物からの残留農薬検出や国内での無登録農薬使用など, 残留農薬に関するさまざまなニュースが日々報道され, 残留農薬への社会的関心は急激に高まっていた. 生産現場では, 生産者が流通や販売ルートから農産物の安全性の証明を求められ, 残留農薬の出荷前検査を余儀なくされるなど混乱が見られた.

このような背景の中で, 筆者らは生産現場を対象に農業自主検査システム導入のための技術支援に取り組むこととなった. 支援対象である現地システムは岐阜県と埼玉県で異なっていたが, いずれも残留農薬の測定方法にイムノアッセイを利用した残留農薬簡易分析キット (以下, キット) を選定しており, このことからお互いに情報を共有しあい課題解決に向けて取り組みを進めた.

1. 自主検査システムの具体的事例とその背景

1.1. 埼玉県における残留農薬自主検査システム

埼玉県での農薬自主検査システムは, JA ふかやが主体となって立案された. 当時, 低価格な輸入農産物が急増し, 特に国内産ネギは値段が急落するなど産地は困窮していた. 国はセーフガードを発動して国内産地の保護を図るものの限定的な措置であり, ネギの産地を抱えた JA ふかやは輸入品に対抗できる産地育成が急務となった. そこで残留農薬の出荷前検査を取り入れた「安全・安心野菜システム」を考案し, 産地の差別化を図った¹⁾. 残留農薬検査を外部委託せず, 生産現場で自ら検査して出荷するシステムは全国初の試みであり, さらに販売戦略のひとつとして検査結果を HP²⁾ で消費者に情報開示している.

具体的には対象作物をネギとホウレンソウに限定し, 栽培時に使用する農薬を測定可能な成分のみに限定することで, 使用した農薬全てを検査して出荷するしくみを整えた. さらに安全性を打ち出すため, 残留基準値の 10 分の 1 以下という独自の出荷基準を設けており, これを判定し得る測定技術の開発が要求された.

1.2. 岐阜県における残留農薬自主検査システム

岐阜県では県の事業の中で自主検査システム導入が提案された. これは平成 15 年から 5 年間に渡って取り組まれた「朝市直売所等農産物安全・安心確保対策事業」であり, その主たる事業内容は県内の朝市および直売所に対して農薬の適正使用を徹底させるものである. 具体的には農薬使用履歴の記帳を呼びかけ, 適正使用が確認された農作物のみを出荷し, かつその一部を抜き取って残留農薬検査を行うシステムである. 自主検査は県の指導機関である農業改良普及センターで行うこととし, 残留基準値の 2 分の 1 を目安に判定できるような測定技術の開発を行った.

2. キットの概略と基本操作

イムノアッセイを利用したキットは SDI 社のエンバイロガードやラピッドアッセイ, (株) 堀場製作所のスマートアッセイなど国内外のメーカーから多数の製品が提供されている.

その操作は (1) 試料抽出液と標識抗原を混合して抗体が処理されているマイクロプレートあるいは試験管に負荷して競合反応させ, (2) 反応後にウェルあるいは試験管を洗浄して容器内の不要な液を除去, (3) その後発色液を加えて標識抗原と反応させ, 吸光度計で測定するものである.

また検体は通常の機器分析と同様の前処理を行い, その後ミキサーで試料を磨砕均質化し, これにメタノールを加えて振とう, 抽出し, ろ液を希釈してキット測定に供する.

* 〒 501-1152 岐阜市又丸 729

E-mail: amano-shoko@pref.gifu.lg.jp

© Pesticide Science Society of Japan

このように精製などの操作を加えない「簡便」な抽出方法と、高価な機器や高度な分析技術を必要としない「迅速」な測定方法であることから、これまで精密な分析や測定を行ったことのない生産現場にも導入可能な測定法であると期待された。

キットは市販品であるため、すでに製品ごとに操作方法が添付され、またそれまでも農作物への応用について多数の報告があった³⁻⁵⁾。筆者らはこれらを参考に、どんな作物にも利用が可能であるのか、操作方法に改良点は必要であるかなど、現地導入を念頭において、キットの作物残留農薬検査への実用性について検討を行った⁶⁾。

3. 農作物への応用

3.1. 添加回収試験

代表的な農作物を対象に、機器での測定結果とキットでの測定結果を比較し実用性能を検討した。例として、Fig. 1 にナスおよびハクサイを対象としたイミダクロプリドのキット測定値と HPLC 測定値の相関図を示したが、高い相関が認められた。同様に他のキット製品でも高い相関が得られ、イムノアッセイを残留農薬分析に適用しても問題ないと判断した。

しかしさまざまな農作物について添加回収試験を進めたところ、回収率が 130% を超えるものがいくつか確認された。例えばイミダクロプリド 0.5 mg/kg を各作物に添加して行った試験では、Fig. 2 に示すようにトマト、ナス、イチゴ、ニンジンおよびナシで良好な結果が得られたものの、ホウレンソウでは回収率が 200% を超えた。またキュウリとピーマンでは検体ごとに測定値のばらつきが大きかった⁷⁾。

さらにナス、イチゴ、ピーマンの抽出液をイミダクロプリド標準品に添加し、検量線の吸光度と比較したところ、ナス抽出液は検量線とほぼ一致したが、イチゴとピーマンでは低濃度側で吸光度が抑制され、検量線とのかい離が大きくなった (Fig. 3)。これはキットの特徴であり、Table 1 に示したトリフルミゾール測定キットにおける 2 濃度での

添加回収試験結果にも表れている。すなわち、トリフルミゾールを 1 mg/kg 添加した試料と 0.5 mg/kg 添加試料では、高濃度側の 1 mg/kg 添加の方がどの作物も回収率は良好で、0.5 mg/kg 添加で 175.3% を示したホウレンソウでも、1 mg/kg 添加では 104.8% と良好な結果が得られた。また数値

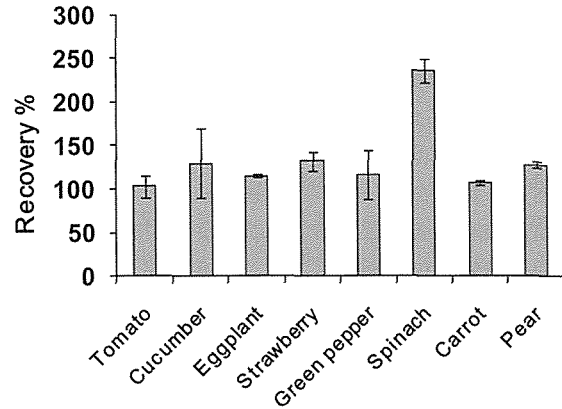


Fig. 2. Recovery of imidacloprid in agricultural samples by ELISA-kit: Initially 0.5 μg/g was added to all samples (n=6)

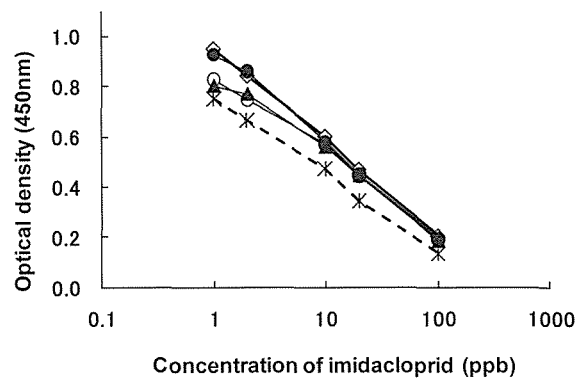


Fig. 3. Interference of matrix extracted from each agricultural sample: standard (◇), eggplant (●), strawberry (▲) and green pepper (○). Reprinted from ref. 7 with permission. © Pesticide Science Society of Japan

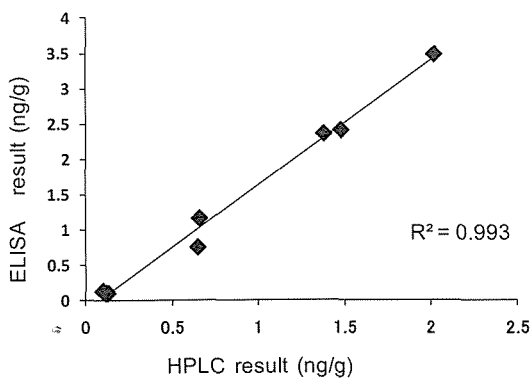


Fig. 1. Correlation of imidacloprid-kit and HPLC result for eggplant and chinese cabbage samples.

Table 1. Detected levels of triflumizole in agricultural samples after use of the ELISA-kit

	Recovery (%)	
	(Working range of kit: 2–20 μg/l)	
Initially addition	0.5 mg/kg	1.0 mg/kg
Tomato	124.1 ± 6.6	103.9 ± 3.6
Strawberry	122.2 ± 7.9	102.3 ± 5.5
Cucumber	125.0 ± 13.6	103.3 ± 10.4
Spinach	175.3 ± 23.4	104.8 ± 8.8
Pear	122.2 ± 11.6	105.4 ± 2.3

Table 2. Recovery of the each pesticide in agricultural samples by ELISA-kit.

Initially addition ($\mu\text{g/g}$)	Imidacloprid 0.1	Iprodion 0.5	Fenitrothion 1	Chlorfenapyr 0.1	Triflumizole 0.2	Chlotianidin 0.5
Tomato	89.5%	134.4	104.3	144.6	124.1	118.6
Strawberry	115.3	139.0	111.6	163.2	122.2	118.9
Eggplant	103.3	126.9	124.7	144.9	85.1	96.6
Green pepper	120.9	109.8	116.1	214.2	146.4	118.2
Cucumber	118.2	120.7	121.8	137.6	125.0	119.0
Spinach	236.1	116.8	363.0	132.4	175.3	157.8
Cabbage	113.3	139.8	118.7	122.8	125.2	135.5
Carrot	107.7	123.1	84.6	118.5	120.7	122.2
Pear	113.8	143.1	114.5	168.0	122.2	123.4

のばらつきも高濃度側の方が少なく、安定して測定できることがわかった。

各種キットと各農作物の組み合わせについて検討した結果の一覧を Table 2 に示したが、ホウレンソウのようにほとんどのキットで測定妨害を示す作物がある一方で、キット側においても作物の影響を受けやすい製品とそうでないものがあることも確認され、これらの情報を現地に提供すると共に妨害の回避方法を検討した。

3.2. 測定妨害の回避

農作物からの抽出液は精製を加えていないためにさまざまな成分を含んでおり、これら含有成分が前述のような測定妨害を起こしている。キットの作物残留分析における擬陽性反応についてはいくつかの報告がある^{8,9)}が、畠山らは玄米を用いた試験から疎水性成分がコロイド状態となりキットの反応を妨害したと推測している¹⁰⁾。筆者らはホウレンソウの抽出液について、水溶性成分を含む分画と非水溶性成分の分画に分け、フェニトロチオンに添加して測定値への影響を見たが、非水溶性成分を含む分画でのみ測定値が高く、回収率が150%を超えていた。このことから、非水溶性の成分が測定妨害の一因になっていると結論づけた¹¹⁾。

キットの測定妨害の回避についていくつかの方法を試みたが、最も簡便な操作は希釈である。トリフルミゾール測定キットを用いて、数種の農作物を対象に試料を50倍希釈した場合と100倍希釈した場合で比較したところ、Fig. 4 のようにいずれも100倍希釈することで回収率は改善された。同様の報告は多数あり^{12,13)}、希釈操作は大変有効な妨害回避方法と言えるが、キットにはそれぞれ測定範囲が設定されており、その感度はさまざまである。作物側の残留基準値と比較するとキットの感度が足りず、希釈操作ができない組み合わせがいくつか認められた。また埼玉県のように基準値の10分の1まで測定し、判断したい場合にはなおさ

ら希釈操作が困難となる組み合わせが多くなった。

そこで、その他の妨害回避方法として限外濾過処理、活性炭によるバッチ処理、あるいはミニカラムによる精製を検討した。Fig. 5 にホウレンソウを対象にした限外濾過処理の効果を示したが、フェニトロチオンおよびイミダクロプリド共に良好な結果が得られた¹⁴⁾。限外濾過以外の方法に

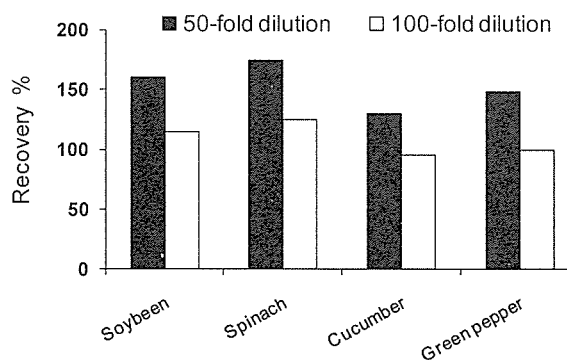


Fig. 4. Effect of dilution to improve on recovery of triflumizole. Reproduced from ref. 6 with permission. © Pesticide Science Society of Japan

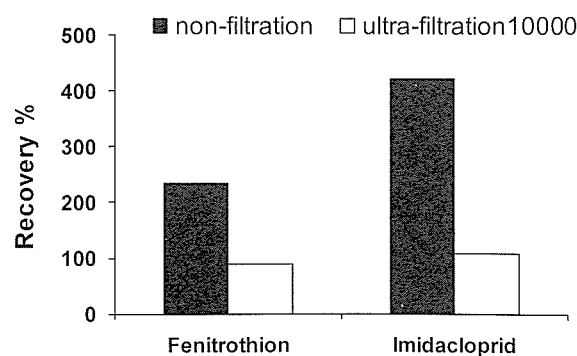


Fig. 5. Effect of filtration to improve on recovery of fenitrothion and imidacloprid.

ついても良好な回収率が得られ¹²⁾、カラム精製についてはいくつかの検討事例が報告されている^{15,16)}。現地活用を考えた場合、濃縮操作は不可能であるうえ、煩雑な操作は測定精度を低下させる恐れがある。また何よりも、キットの大きな特徴である「迅速性」と「簡便性」を損なうことになるため、現地向けの操作には限外濾過処理が有効と判断した。

4. 現地機関への導入

前述のような知見を基にキットの使用マニュアルを作成し、実技講習会などをとおして測定技術を現地へ提供した。キットは簡易な測定方法ではあるものの、これまで精密な測定を行ったことがなく、専属の検査員を置くことも現地機関ではなかなか困難であることから、よりきめ細かな技術支援を必要とした¹⁷⁾。また検査施設も専用の実験室ではない場合が多く、室温管理のために空調設備を整えるなど改善を要した。

Fig. 6 は同一試料を用いた検査員別の測定結果である。選定した検査員は普段、土壌診断などの測定業務を行っているが、マイクロピペットなど器具や操作課程が不慣れな

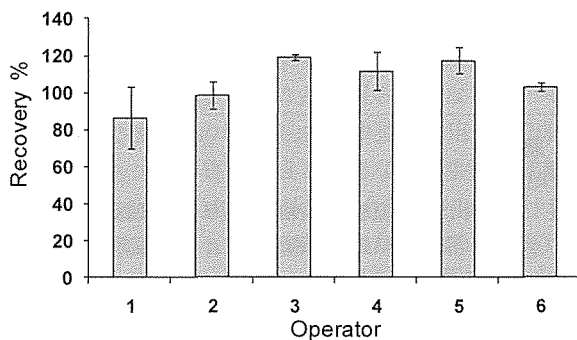


Fig. 6. Comparison of different values measured using the ELISA-kit between six operators: all samples used tomato fortified with 0.5 $\mu\text{g/g}$ imidacloprid.

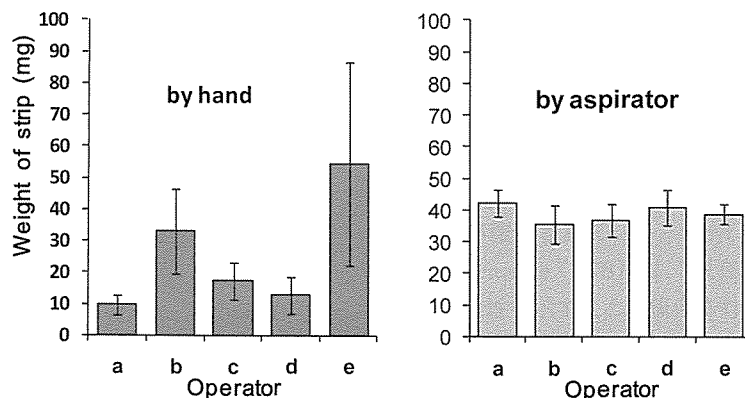


Fig. 8. Comparison of amount of residual solution when washing plate between hand and aspirator.

めに、測定値の誤差が10%を超える場合があることを確認した。また Fig. 7 は検査員ごとの操作時間の比較であるが、同じマニュアルに沿っていても分注に手間取る場合や洗浄に時間がかかるケースがあったことから、実技研修の中で各操作の訓練を繰り返して慣れてもらった。また、これと合わせて個々の測定値や操作内容を解析することで、操作上の問題点を洗い出し改善を行った。

例えば、Fig. 8 は洗浄操作においてウェル内の洗浄液を手で除去した場合とアスピレーターで除去した場合の残液量を比較している。本来、ウェルの洗浄は専用の洗浄機を用いるのが好ましいが、所有していない場合にはその簡便さから手で除去を行っていた。これは製品の操作説明にも示されている方法であるが、手による除去では操作者間あるいは反復間の誤差が大きいことがわかった。一方、アスピレーターでは残液量はやや多くなるものの、個人差や反復誤差はほとんど無く、精度を高めるためにアスピレーターを取り入れることにした。

以上のように、測定精度がより高まるよう操作のポイントを確認し、誤差や間違いを生じにくい手順、あるいはより使いやすい器具の選定など現地の検査員と共に検討を重ねた。

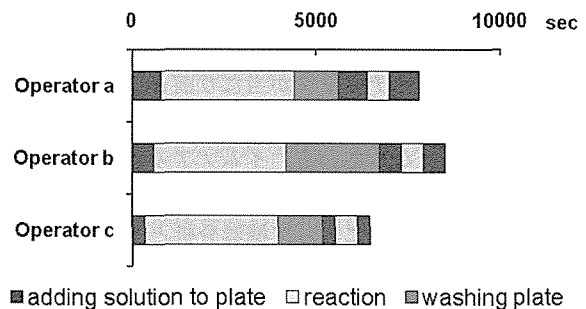


Fig. 7. Comparison of time of adding solution to plate and time of washing plate between 3 operators.

5. システム導入の成果

こうして組み立てられた検査方法を用い、岐阜県では県内にある200数カ所の朝市および直売所から400点以上の検体を採取して3~4農薬の検査を行ったが、検査した検体から基準値を超える農薬は検出されなかった。またその結果を生産者にフィードバックし、一緒に検査結果を考察することによって農薬の適正使用に対する意識を深めるよう活用した。

JAふかやではシステムの導入により、出荷する特別栽培のネギおよびホウレンソウの価格が一般栽培に比べて約30%上乘せられ、取扱店も増加するなど販売戦略としての効果が認められた¹⁾。

おわりに

本課題は現地生産者はじめ、普及、行政、研究が一体となって取り組んだ成果である。残留農薬問題を、産地振興の販売戦略の1つとしてとらえ、当時いち早く自主検査体制の導入を図ったことは、システム考案者の先見の明と言える。また、これらの取り組みを市場が高く評価したことも生産現場では大きな励みとなった。

当初、生産現場では残留農薬検査に非常に多くの反対があったが、現在ではJAに分析センターを設置するなど各地で広がりを見せている。こうした取り組みによって得られた産地の信頼こそ、何よりも大きな成果と言えよう。出荷前検査などの安全性チェックが当たり前となりつつある昨今、消費者はより安い物を求め、検査費用はますます価格に反映されにくくなっている。イムノアッセイ法はともすると一斉分析に及ばないと判断されるが、検査費用が価格に反映されにくい現在において機器分析と比較してはるかに安価である点で、自主検査としてまだ利用の余地があると考えられる。

最後に本課題の推進に当たり、一緒に知恵を絞り、多大なご協力とご理解を頂いたJAふかや、およびJA全農岐阜の皆様と、キットについて貴重な情報とご助言を頂いた(株)堀場製作所の皆様に厚くお礼申し上げます。また本成果は岐阜、埼玉両県の普及、行政はじめ関係機関のご協力あってのものと深く感謝します。

引用文献

- 1) 生形藤一：農薬レギュラトリーサイエンス **12**, 29-37 (2004).

- 2) <http://www.ja-fukaya.jp/php/search/index.php/> 2010年6月1日閲覧。
 3) 津村ゆかり、外海泰秀、中村優美子、宮田昌弘、鎌倉和政、橋端直樹、岩田邦彦、伊藤澄夫、皆葉清美、沖賢憲、小玉光男、伊藤誉志男：食衛誌 **33**, 458-466 (1992).
 4) 三宅司郎、石井康雄：植物防疫 **54**, 148-152 (2000).
 5) 柳 祐子：農業くまもと **13**, 32-33 (2000).
 6) 天野昭子：農薬誌 **35**, 396-400 (2010).
 7) 天野昭子、矢野秀治：農薬誌 **30**, 249-253 (2005).
 8) 橋本良子、権田優子：第27回農薬残留分析研究会講演要旨集, pp. 71-75, 2004.
 9) 成田伊都美、佐藤賢一：日本農薬学会第34回大会講演要旨集, p. 120, 2009.
 10) 畠山えり子、梶田弘子、菅原隆志、小向隆志、中野亜弓、築地邦晃：岩手県環境保研センター年報 **4**, 90-94 (2004).
 11) 天野昭子、須賀しのぶ、澤野定憲：日本農薬学会第32回大会講演要旨集, p. 99, 2007.
 12) 小林由美、佐藤賢一、中村幸二：日本農薬学会第30回大会講演要旨集, p. 119, 2005.
 13) 矢吹芳教、森 達摩、岡田清嗣、田中 寛：第27回農薬残留分析研究会講演要旨集, pp. 76-77, 2004.
 14) 天野昭子、須賀しのぶ、澤野定憲：農薬誌 **32**, 300-304 (2007).
 15) 畠山えり子、梶田弘子、菅原隆志、中野亜弓、築地邦晃：日本農薬学会第30回大会講演要旨集, p. 123, 2005.
 16) 藤田まどか、飯島和昭、高田 誠、中井智司、細見正明：日本農薬学会第30回大会講演要旨集, p. 120, 2005.
 17) 天野昭子、平 正博：関西病虫研報 **46**, 57-58 (2004).

略歴

天野昭子

職歴：1989年に岐阜県職員に採用、岐阜県農業総合研究センター（現岐阜県農業技術センター）環境部に配属され現在に至る

学歴等：岐阜大学農学部農学科卒

研究テーマ：使用後農薬の挙動と残留

趣味：合唱、短歌、SNS交流

成田伊都美

職歴：1991年に埼玉県職員に採用、埼玉県花植木センター育種栽培部、埼玉県農業試験場 環境資源部、埼玉県農林総合研究センター農産物安全性担当、現在は花と緑の振興センターに所属

学歴：東京農業大学農学部農学科卒

研究テーマ：農薬の環境流出

趣味：観劇、旅行、パン作り