

令和 2 年 6 月 23 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08032

研究課題名(和文) 農薬を光で見よう

研究課題名(英文) Photo-luminescence of Pesticide

研究代表者

境 健太郎 (Sakai, Kentaro)

宮崎大学・産学・地域連携センター・准教授

研究者番号：20336291

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：我々は光励起蛍光分光法を適応した非破壊農薬計測装置の構築を図り、7種の農薬のうち4種の農薬の蛍光信号を捉えることに成功した。スミチオン、モスピラン、ダコニールを乳剤、液剤、水和剤型農薬の代表例として、水希釈による農薬濃度と蛍光強度の関係を明らかにした。さらにキュウリ等の農産物の蛍光特性を計測し、実環境下の農薬検出におけるバックグラウンドノイズとなり得るクロロフィル蛍光が観測されることを確認した。また希釈したダコニールをキュウリ上へ塗布・乾燥後、蛍光スペクトル測定を行い、1000倍に希釈したダコニールの蛍光信号を捉えることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

残留農薬の非破壊計測において、近赤外分光法による吸収特性からは直接的に明らかにできない残留農薬の定量を、半導体物性評価の知見に基づく光励起蛍光分光法からアプローチする本研究は学術的な特徴を有する。国際競争力の波に晒される、日本農業と食の安全・安心を高い技術力で守る、本研究から導き出される結果の意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：We have developed a non-destructive pesticide inspection equipment adapted to photo-luminescence (PL) spectroscopy and succeeded to observe the PL signals of 4 pesticides out of 7 pesticides. Sumithion, Mospiran, and Daconil were used as typical examples of emulsifiable concentrate (EC), soluble concentrate (SL), and wettable powder (WP) type pesticides, respectively, and the relationship between pesticide concentration and PL amplitude by water dilution was quantified on our equipment. Moreover, it was confirmed that chlorophyll fluorescence, which could be background noise in pesticide detection, was observed by measuring the PL properties of lime and cucumber, whether pesticide species could be identified in an actual environment. We also applied the diluted Daconil onto cucumber and dried it, and then measured the PL spectrum. We succeeded to observe the PL signal of the diluted Daconil, which is a practically applicable concentration on agricultural products.

研究分野：計測技術

キーワード：光励起蛍光分光法 農薬 非破壊計測

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

食品の安全性を脅かす問題が国内外で頻発し、農産物の残留農薬については2006年にポジティブリスト制度が導入された。近年では、TPPの大筋合意を受けて、海外から多くの農産物の輸入が見込まれ、ポストハーベスト農薬、食品添加物などの安全基準が懸念され、消費者・生産者双方の関心はより一層高くなってきた。例えば、農薬の残留基準について見ると、A国では、ものによっては日本の60~80倍も緩い基準が採用されており、今後、輸入食品・検疫検査センター等の水際対策の強化が課題と言える。ここで、輸入食品・検疫検査等における残留農薬検査方法を見ると、有機リン系、有機塩素系、ピレスロイド系、含窒素系など250項目以上において、化学的手法のガスクロマトグラフィー(GC/MS)や液体クロマトグラフィー(LC/MS)が採用されるが、これらの方法は破壊計測であり、全数検査ができないといった問題を伴うことが懸念される。

残留農薬計測に関する研究開発について見ると、「化学的分析の迅速・簡易化」と「光学的手法を用いた非破壊計測」の2つに大別される。

○化学的計測

主流となる計測方法は、有機溶剤等で抽出を行い、GC/MS、LC/MS等の分析機器を用いた一斉分析であるが手間・時間及び計測者の熟練が必要とされる。こうした背景を受けて、「ELISA法」を用いた簡易分析、「超臨界流体」を用いた残留農薬検査システムの研究開発等が行われている。しかしながら、これらは全数検査ができないといった問題を伴うことが懸念される。

○非破壊計測

非破壊計測では、近赤外分光法による残留農薬計測、近赤外分光画像を用いた差分法から農薬の有無認識(永田雅輝、小林太一他 特願2007-234377)などの研究報告はされているが、近赤外分光法の定量限界は約0.1%であり、農薬のppmオーダーの測定は困難とされる。また、蛍光指紋法により残留農薬検査がアプローチされているが、検知限界を実用レベルまで下げることが課題とされている。

以上、残留農薬を簡易、迅速かつより高度(ppmオーダー測定、実用レベルの検知)に計測できる非破壊計測技術の研究開発は急務とされる。

2. 研究の目的

日本農業は国際競争の波に晒され、今後、農産物・食の安全・安心・高品質を担保すべく高い非破壊評価(計測)技術の確立が求められる。本研究では、残留農薬に焦点をあて、これまで蓄積した「半導体物性評価」の知見に基づく「光励起蛍光分光法」を発展的に展開して、簡易・迅速かつ高精度(ppmオーダー計測、実用レベルの検知)に計測できる非破壊計測技術の基礎的知見を得ることを目的とする。具体的には、農産物表皮に付着する微量の残留農薬のみの蛍光スペクトルを観察し、その蛍光スペクトル情報に基づき残留農薬を定量化する。さらに、残留農薬の蛍光スペクトルをライブラリ化することで、食品衛生法に定められるポジティブリスト制度への適応を目指す。

3. 研究の方法

光励起蛍光分光法を適応した非破壊農薬計測装置の構築を図り、「農薬の蛍光分光スペクトルの把握」として、農薬の蛍光信号のみを捉える。次に、「蛍光による農薬量の検出限界」として農薬の量との関係を定量化し検出限界を解明する。

また、「高分解能蛍光分光による農薬種の特定」として実環境下において農薬種の特定が可能かどうか、農薬と農産物の蛍光特性を見極め、農薬検出の要求性能について検討する。

さらには、残留農薬非破壊計測の実用化を視野に入れて、「農薬検出装置の実用化に向けた農薬検出方法の検討」として広範囲レーザー照射による農薬検出の可能性について検討する。さらに、「農薬の高分解能蛍光スペクトルのライブラリ化」を目指す。

光励起蛍光分光測定装置は農薬の蛍光測定のため、紫外励起による可視・赤外蛍光が測定できるものを用いた。励起レーザーは波長325nmのHe-Cdレーザー(金門光波社製、IK3101R-D-S)を使用し、レンズにより集光し試料に照射した。高分解能蛍光スペクトルを取得するために、適度に明るい焦点距離50cmの分光器(分光計器社製、CT-50C)を使用した。検出器は光電子増倍管(浜松ホトニクス社製、R316)を用いた。信号検出はレーザー光断続照射によるロックイン検出方式とし、農薬の微弱な蛍光信号を計測した。

4. 研究成果

(1) 図1に4種の農薬の蛍光スペクトルを示す。横軸は波長、縦軸は蛍光強度で、それぞれのスペクトルは最大値を1として規格化している。なお、本報告の蛍光スペクトルは光励起蛍光分光測定装置の持つシステム分光感度特性の補正を行っていない。この図に示す通り、4種の農薬全てで蛍光スペクトルを得た。特にダコニール1000及びモスピランは比較的強

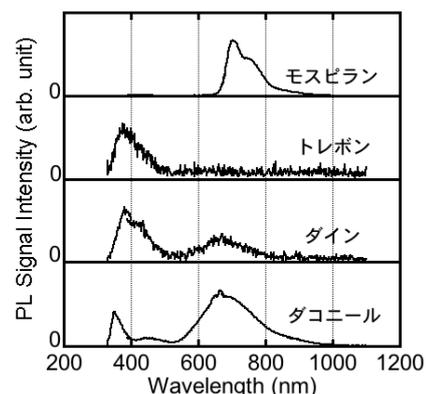


図1 4種の農薬の蛍光スペクトル

い蛍光を、またダイン及びトレボンに弱い蛍光を示した。蛍光する波長は農薬ごとに異なることがわかる。例えば、モスピランは700nm付近にピークを持ち、750及び850nmに肩を持つ。また430nm付近にも微弱な蛍光がある。一方、ダコニールにおいては680nmを中心として520から1000nmにかけて幅の広いブロードな蛍光を示す。加えて、450及び350nmを中心に蛍光がある。トレボンとダインにおいては、380nm付近に似た蛍光ピークを持っており、660nmの蛍光はダインのみに観測されている。この380nmの蛍光ピークの起因が同じ成分からのものであるかは現時点では不明である。

今後農薬に含まれる成分を農薬ごとに整理し、蛍光ピークの同定を行う必要があるが、今回用いた4種の農薬において異なる蛍光スペクトルが得られることがわかった。

(2) 一方、これらの農薬以外で蛍光計測したスミチオンは検出限界以下であった。故にスミチオンは蛍光しない農薬と思われるが、より詳細な検討が必要である。農薬を水で希釈した場合、農薬の成分が水に溶解するか否かで、試料の見た目に違いが現れる。具体的には原液は茶褐色透明であるスミチオンは乳剤型であるために水に希釈すると白くなる。我々はこの白濁したスミチオン希釈液の蛍光測定を行なったが、原液の時と同様に検出限界以下であった。農薬有効成分の化学変化はなく、乳化剤に含まれたこの有効成分が水中に分散し乳濁液となったためと考えられる。

モスピランは液剤型であり、農薬有効成分自体が水に可溶である。濃度を33、10%と変化させると濃い青色透明であった原液は、色は変わらず徐々に薄くなっていく。これらを蛍光測定した場合、強度は濃度に比例して減少していきことがわかった。また分光器の入射および出射スリット幅を共に1mmとした実験条件において10%希釈液が本装置における検出限界となった。検出器側(フォトマルチプライヤー)のダイナミックレンジは一般的に6桁程度あり、スリット幅を広げる、レーザーの励起強度を上げる、あるいは明るい分光器を用いるなど、さらに薄い農薬濃度でも測定が可能である。

水和剤であるダコニール1000は、水に希釈すると懸濁液となる。これは農薬有効成分が水に溶解せず、粒子が水中で分散している状態となる。今回の蛍光測定は石英セル中に希釈農薬を静置して行うために、徐々に農薬成分が沈降していく。石英セルの中心付近にレーザーを照射しているが、石英セル中で希釈液の濃度勾配ができるために、図2に示すように蛍光強度が濃度に比例しない現象が現れた。さらには、ダコニール1000の蛍光スペクトルは680nmを中心としたブロードなピークと360nmを中心としたピークをもつが、これらのピーク強度比に変化が生じることがわかった。なぜこのようなことが起こるのか、より詳細な検討が必要である。

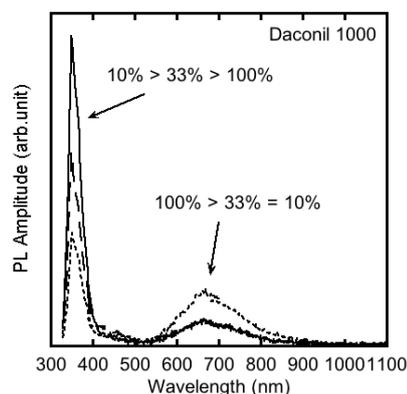


図2 ダコニールの希釈濃度と蛍光強度の関係

(3) (2)で述べたように、水和剤であるダコニール1000は農薬有効成分が水に溶解せず、粒子が水中で分散している特性を持つ。そこで、我々はこの粒子と水を含む溶剤を分離し、それらの蛍光測定を行った。その結果、図3に示すように、それぞれの蛍光スペクトルは異なることが確認された。粒子は約350および700nmにピークを持つ。一方、水を含む溶剤は約400および650nmに粒子のものと比較してブロードなピークを持ち、分離前の蛍光スペクトルはこれらのスペクトルの重ね合わせで説明できることがわかった。農産物の残留農薬検出という観点から計測する際には、水和剤のような農薬が使用されている場合は、その水和剤中の粒子の蛍光に注目する必要があると考えられる。また、農産物に付着した農薬を検出するには、農産物そのものの蛍光と分離する必要がある。このような観点から、ライムおよびキュウリ表面の蛍光を測定した。その結果、約740nmを中心にクロロフィル蛍光(農薬の蛍光スペクトルのバックグラウンドノイズとなる)が観測された。一方でレーザー照射による農産物の損傷がないことも確認した。

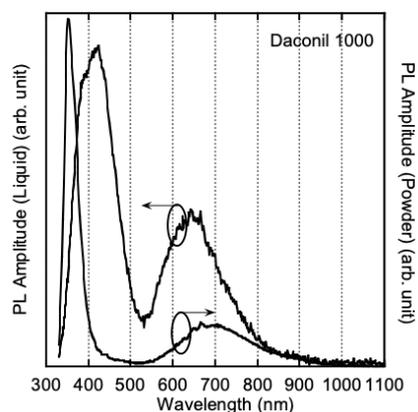


図3 粉末と水を含む溶剤に分離したダコニールの蛍光スペクトル

さらに我々は実環境下において農薬種の特定が可能かどうかを調べるために、キュウリ上に10~1000倍に希釈したダコニール1000を塗布・乾燥後、その部位の蛍光スペクトルを測定した。まず図4に、キュウリ上にダコニール1000を塗布・乾燥させた直後のキュウリの表面のカラー写真を示す。キュウリ上には粒子状のダコニール1000が主に残留していると推定され、10~500倍で希釈したダコニール1000を塗布した領域は肉眼でも白い粒子状のものが確認できる。しかしながら1000倍希釈のものはキュウリ表面状態の変化はほぼなく、肉眼での残留物の確認は難

しかった。次に、それぞれの希釈率でダコニール 1000 を塗布・乾燥させた部位を蛍光スペクトル測定した結果を図 5 に示す。740nm にピークを持つ信号はキュウリに含有するクロロフィルの蛍光である。各スペクトルはこのピークの最大値を 1 として規格化し、縦軸は対数表示としている。10~1000 倍の希釈率のスペクトルには、約 350nm にピークを持つ信号がそれぞれに観測されていることがわかる。このピークの強度は希釈率の増加に合わせて

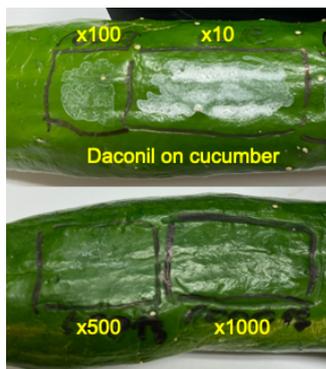


図 4 10~1000 倍に希釈したダコニール 1000 を塗布・乾燥させたキュウリの表面写真

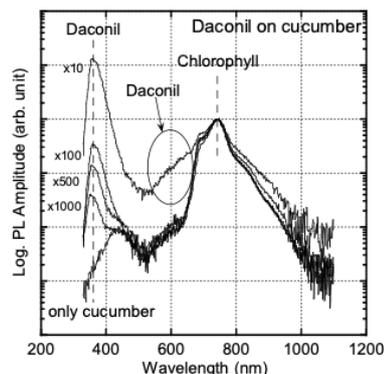


図 5 10~1000 倍に希釈したダコニール 1000 を塗布・乾燥させたキュウリの蛍光スペクトル

弱くなっていく。また 10 倍希釈のものは約 700nm にピークを持つダコニール 1000 由来のもう一つの蛍光信号の裾が観測されていることがわかる。キュウリのみを測定したものにはダコニール 1000 由来のピークは観測されない。また、このダコニール由来の蛍光スペクトルの形はダコニール 1000 の粒子のみを測定したスペクトルとほぼ一致する。農薬は希釈・塗布後に乾燥させているため、水を含む溶剤は蒸発し、粒子のみが残留していると言える。本結果より、我々の持つ光励起蛍光分光測定装置は、農産物上への実用的な農薬散布時の濃度である 500~1000 倍に希釈したダコニール 1000 を検出できることを証明した。

今後はモスピランなど農薬の蛍光波長と農産物のバックグラウンド蛍光波長とが重なるものの詳細な評価を重ねていく等、農薬のライブラリー構築の拡大を図る。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 境健太郎、小林太一
2. 発表標題 フォトルミネッセンス法を用いた農薬の蛍光特性 ~ 農薬濃度と紫外光励起による蛍光強度の関係 ~
3. 学会等名 日本生物環境工学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 境健太郎、小林太一
2. 発表標題 フォトルミネッセンス法を用いた農産物等の残留農薬検出の試み ~ 4種程度の農薬の蛍光特性について ~
3. 学会等名 農業食料工学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	小林 太一 (Kobayashi Taichi) (40541355)	宮崎大学・産学・地域連携センター・准教授 (17601)	