

### 3. GC-MS によるヒアリ検出

#### 3-1. GC-MS によるヒアリの毒性物質の検出

##### (1) 過年度の成果概要

- ・ カラムクロマトグラフィーに用いる吸着剤を変更することで、他のアリ類由来の夾雑ピークを大幅に除去し、再現良く結果が得られる前処理方法を確立した。
- ・ 誘引剤トラップ 165～463 個を 1 検体とした際の検出下限を毒性物質 C<sub>15:1</sub> の濃度で 10 ng/μL (標準物質\*からの換算値) と確認し、この濃度でブラインドテストを実施した結果、正答率 100% を得た。
- ・ GC-MS (ガスクロマトグラフ質量分析計) を利用することで、ヒアリ有無の確認に要する作業時間を大幅に削減できることを確認した。

\* Yu, Y. T., Wei, H. Y., Fadamiro, H. Y., Chen, L. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 5907-5915.

##### 1-2. 過年度までの課題

- ・ ヒアリの毒性物質が他のアリ類の抽出液と反応を起こし、分解しないのか確認できていない。
- ・ ラボレベルでの検証に終始しているため、より現場に近く、過酷な状況下でも確実に検出し、再現性が確保できるか確認する必要がある。

#### 3-2. ヒアリの毒性物質と他のアリ類の抽出液との反応

##### (1) 目的

ヒアリの毒性物質が他のアリ類の抽出液と反応を起こして分解しないか、また、それらの反応が GC-MS による毒性物質の検出に影響しないか確認する。

##### (2) 方法

以下に示す方法で確認を行った。

- ・ 昨年度実施したモニタリング調査で採集した誘引剤トラップ 420 個分のアリ類の抽出液にヒアリ抽出液 (毒性物質 C<sub>15:1</sub> の濃度として 10 ng/μL) を添加し、室温で静置した (n=3)。
- ・ 一定時間 (1 週間～6 か月) 後に前処理を行い、GC-MS で分析した。
- ・ 分析検体の前処理及び測定条件は昨年度と同様の方法を用いた (図 3-2.1、表 3-2.1)
- ・ 静置時間が 1 週間の検体の毒性物質の含有量を基準とし、各検体の毒性物質の含有割合を確認した。

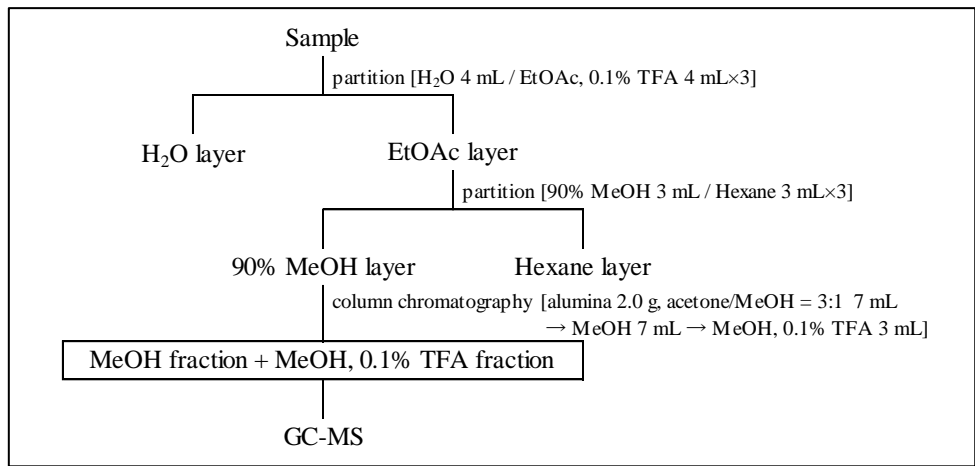


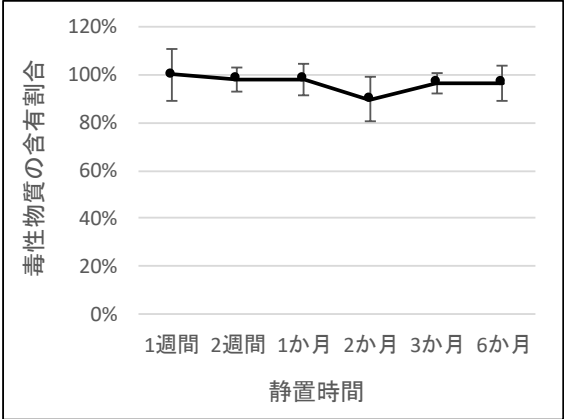
図 3-2.1 前処理方法

表 3-2.1 GC-MS の測定条件

装置	: 6890N GC-5975MSD (Agilent Technologies)
カラム	: HP-5ms (0.25 mm i. d. × 30 m, 0.25 μm film thickness)
カラム槽温度	: 90 °C (1 min) → 10 °C/min → 160 °C → 3°C/min → 250 °C (2 min)
注入口温度	: 230 °C
トランスファーライン温度	: 280 °C
MS イオン源温度	: 230 °C
注入方法	: Splitless
キャリアガス	: He
イオン化法	: EI
イオン化電圧	: 70eV
分析モード (モニターイオン)	: SIM ( <i>m/z</i> 98, 126)

(3) 結果

すべての検体（静置時間 1 週間、2 週間、1 か月、2 か月、3 か月、6 か月）で毒性物質を検出でき、前処理を行うまでの静置時間が長くなっても、毒性物質の含有量は減少しない結果となった（図 3-2.2）。よって、ヒアリの毒性物質は他のアリ類由来の化合物と反応を起こして分解しない、または、分解していても毒性物質の GC-MS による検出に影響を及ぼさない程度であることを確認した。



エラーバーは標準偏差を示す。

図 3-2.2 静置時間 1 週間を基準としたときの毒性物質の含有割合

### 3-3. 主要港湾等におけるモニタリング調査で採集したアリ類の分析

#### (1) 目的

調査で得られる多量のサンプルの処理に掛かる作業時間と費用を削減するために、顕微鏡観察の代わりに GC-MS によるヒアリの毒性物質検出法を利用する。

#### (2) 方法

##### a) 分析を行うまでのサンプルの保管方法

サンプルの状態や他のアリ類による負の影響を避けるために、以下に示す方法でサンプルを保管した。

- ① 調査で採集したアリ類は現場で速やかにドライアイスにより殺虫し、次の処理を行うまでは冷蔵及び冷凍（冷蔵状態は調査日から最大で5日以内、その後エタノール抽出を開始するまでは冷凍状態）で保管した。
- ② 採集したアリ類を調査ルートごと（誘引剤トラップ約40個）に50 mL チューブに入れ、99.5% エタノールで抽出した。
- ③ 室温で2週間抽出し、抽出液を速やかに前処理及び分析に供した。

##### b) 分析検体

各抽出液を調査エリアごとに1つにまとめたものを分析検体とし（表3-3.1）、検体ごとに前処理及び分析を行った。なお、那覇港エリアはトラップ数が多いため、春季ではエリアを6つに分け6検体、秋季ではエリアを5つに分け5検体とした。また、それぞれヒアリの抽出液（毒性物質 C<sub>15:1</sub> の濃度として 10 ng/μL；昨年度確認した検出下限）を添加した検体も準備し、それらの分析を行うことで分析精度の確認を行った。

表 3-3.1 分析検体とそのトラップ個数（回収個数）

（春季）

検体名	トラップ個数
那覇港A	381
那覇港B	379
那覇港C	420
那覇港D	301
那覇港E	351
那覇港F	420
那覇保税地域	176
那覇軍港	188
那覇空港	178
本部港	174
中城湾港	264
平良港	369
宮古空港	174
石垣港	<b>503</b>
石垣空港	<i>167</i>
合計	4445
平均	296

最大は太字・斜体、最小は斜体で表した。

（秋季）

検体名	トラップ個数
那覇港A	287
那覇港B	431
那覇港C	<b>552</b>
那覇港D	516
那覇港E	400
那覇保税地域	<i>177</i>
那覇軍港	180
那覇空港	179
本部港	179
中城湾港	285
平良港	347
宮古空港	188
石垣港	513
石垣空港	197
合計	4431
平均	317

最大は太字・斜体、最小は斜体で表した。

### c) 前処理方法及び GC-MS の測定条件

昨年度と同様の方法で検体の前処理及び測定を行った（図 3-2. 1、表 3-2. 1）。

### d) 検出及び精度

目的ピークのリテンションタイムにおいて得られたピーク高さが S/N 比 $\geq 10$  であり、マススペクトルにおいてフラグメントイオン  $m/z$  98, 292, 307 が観測された場合、毒性物質  $C_{15:1}$  が検出できたと判定した。

各検体に標準物質<sup>\*</sup>を添加して分析することで、分析装置の精度、リテンションタイムのずれを確認した。

<sup>\*</sup> Yu, Y. T., Wei, H. Y., Fadamiro, H. Y., Chen, L. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 5907-5915.

## (3) 結果

ヒアリ抽出液を添加していないすべての検体において、春季、秋季ともに、毒性物質は検出されなかった（春季：図 3-3. 1 左列、秋季：図 3-3. 2 左列）。また、ヒアリ抽出液を添加した検体においては、すべての検体で毒性物質を検出した（春季：図 3-3. 1 右列、秋季：図 3-3. 2 右列）。よって、ヒアリ抽出液無添加の検体で毒性物質が検出されなかった結果は妥当であると判断した。

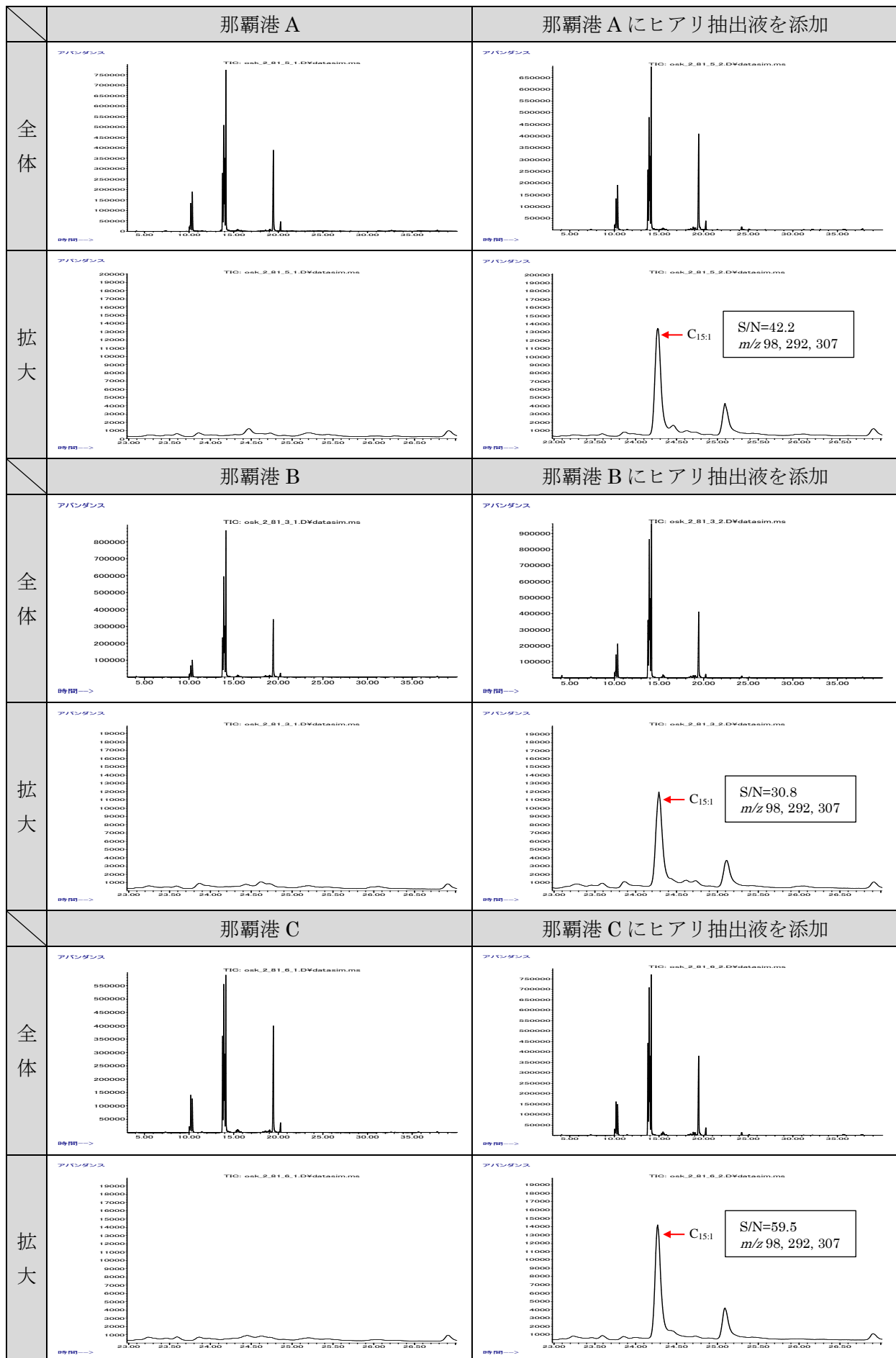


図 3-3.1 各検体のクロマトグラム（拡大：毒性物質のRetentionタイム付近の拡大図）春季調査

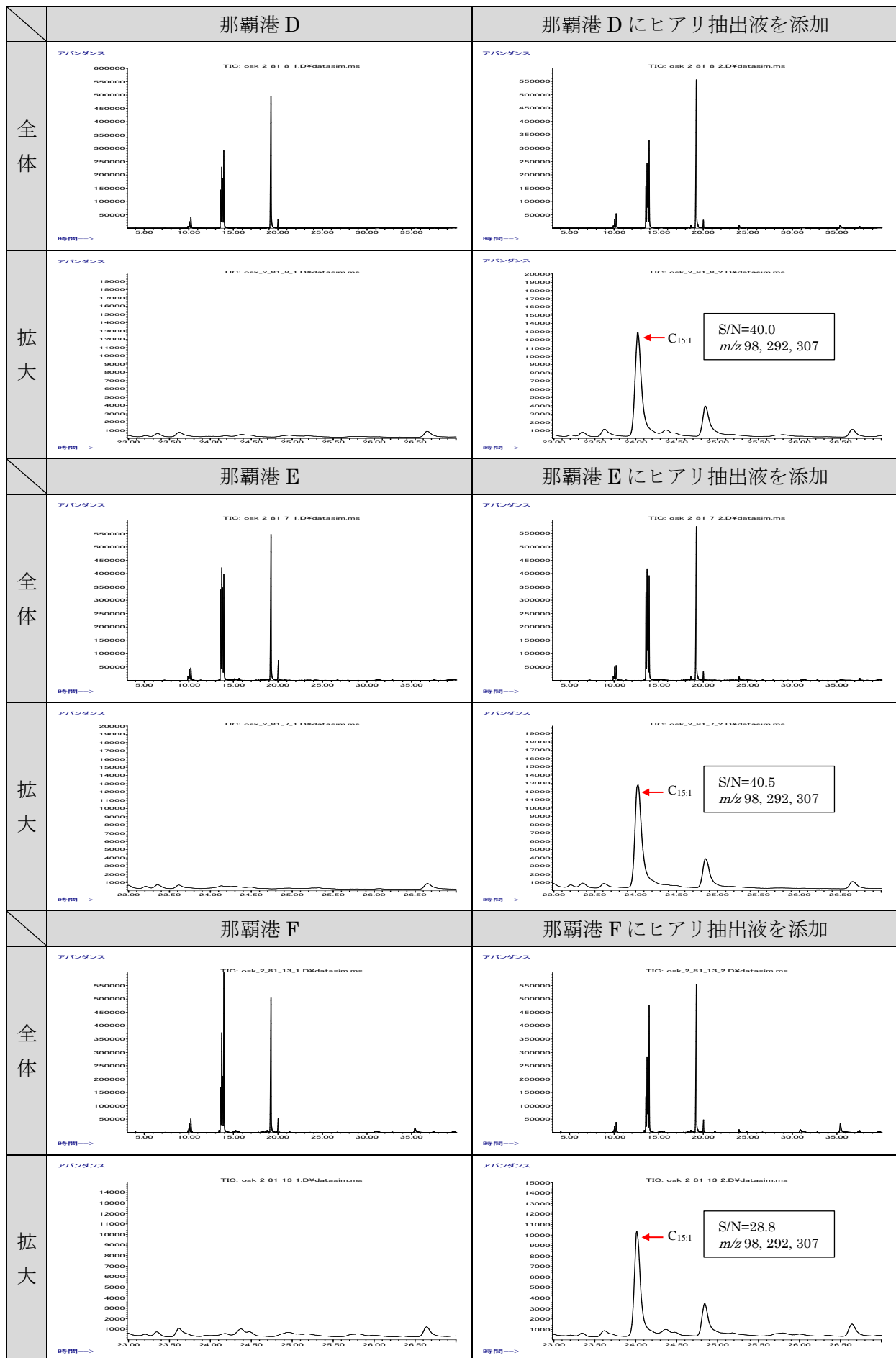


図 3-3.1 各検体のクロマトグラム (続き) 春季調査

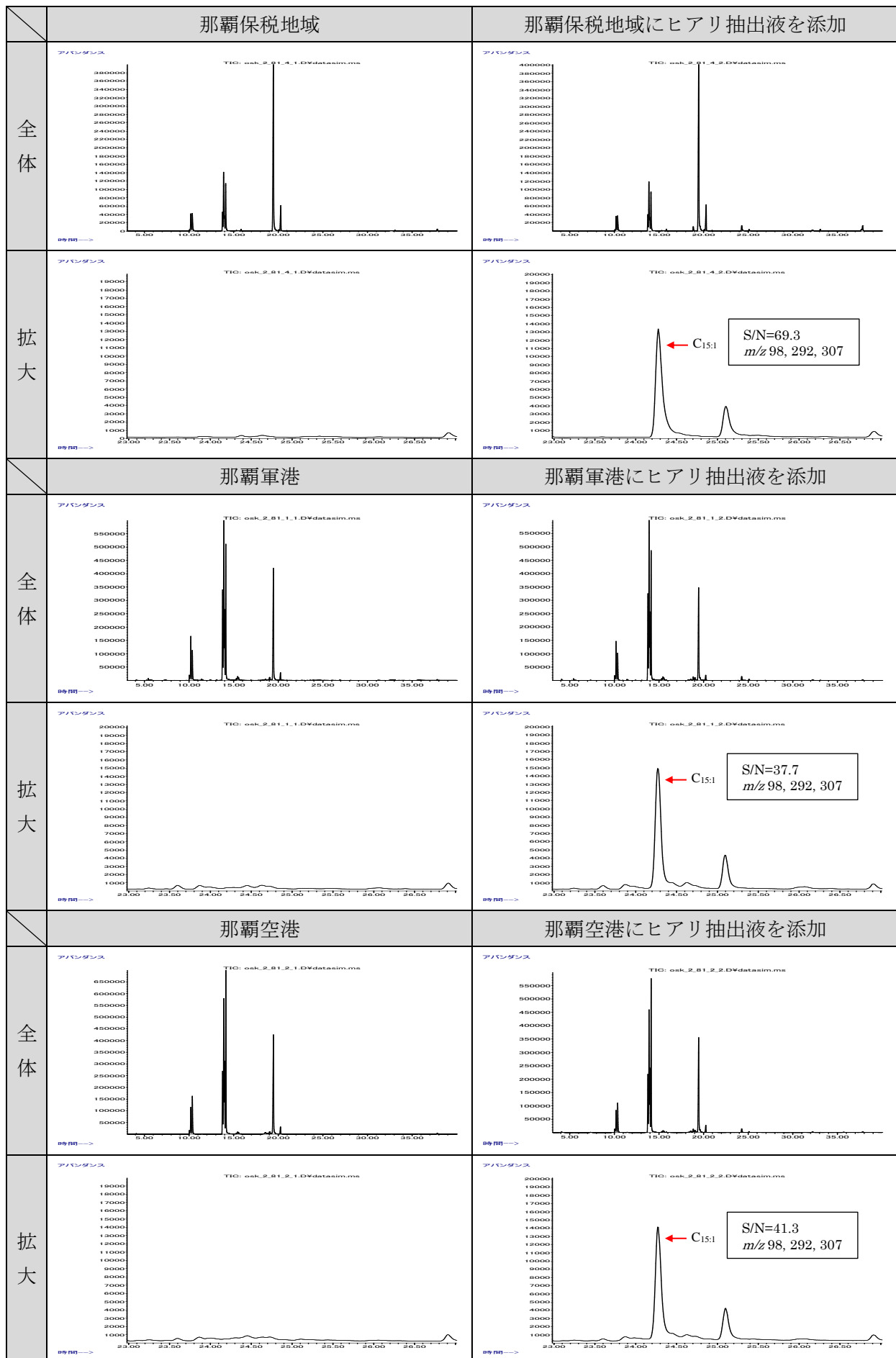


図 3-3.1 各検体のクロマトグラム (続き) 春季調査

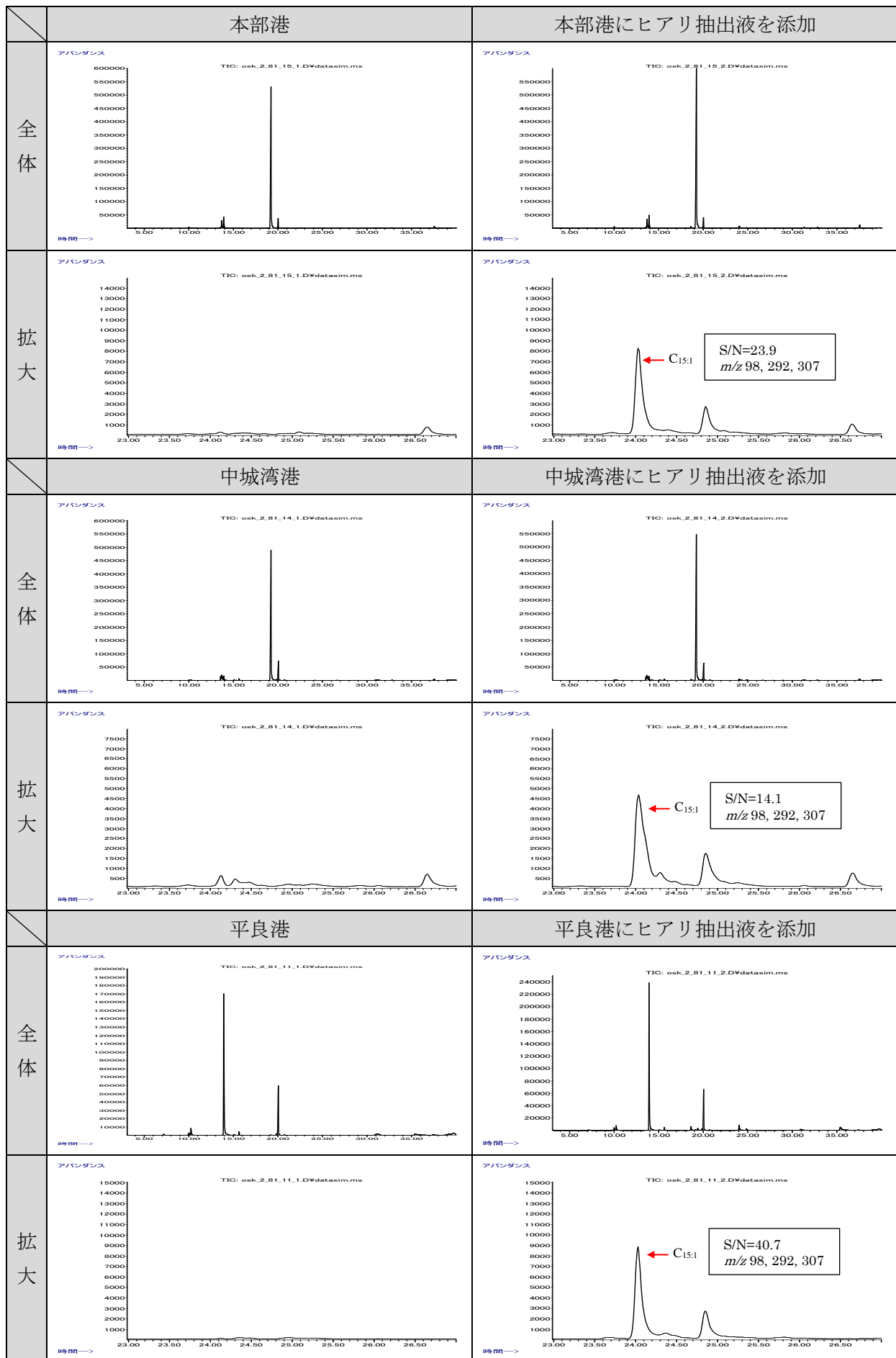


図 3-3.1 各検体のクロマトグラム (続き) 春季調査



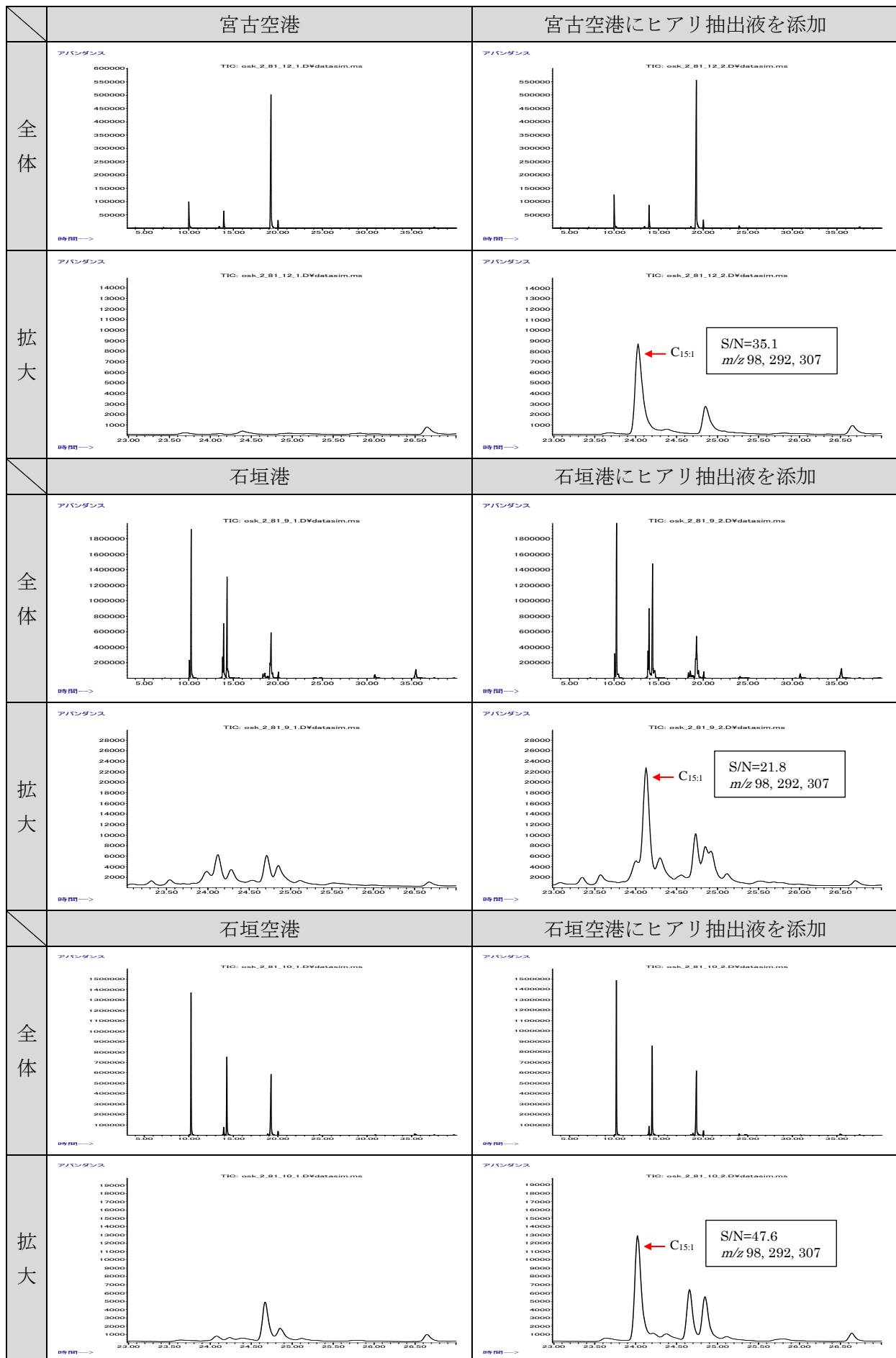


図 3-3.1 各検体のクロマトグラム (続き) 春季調査

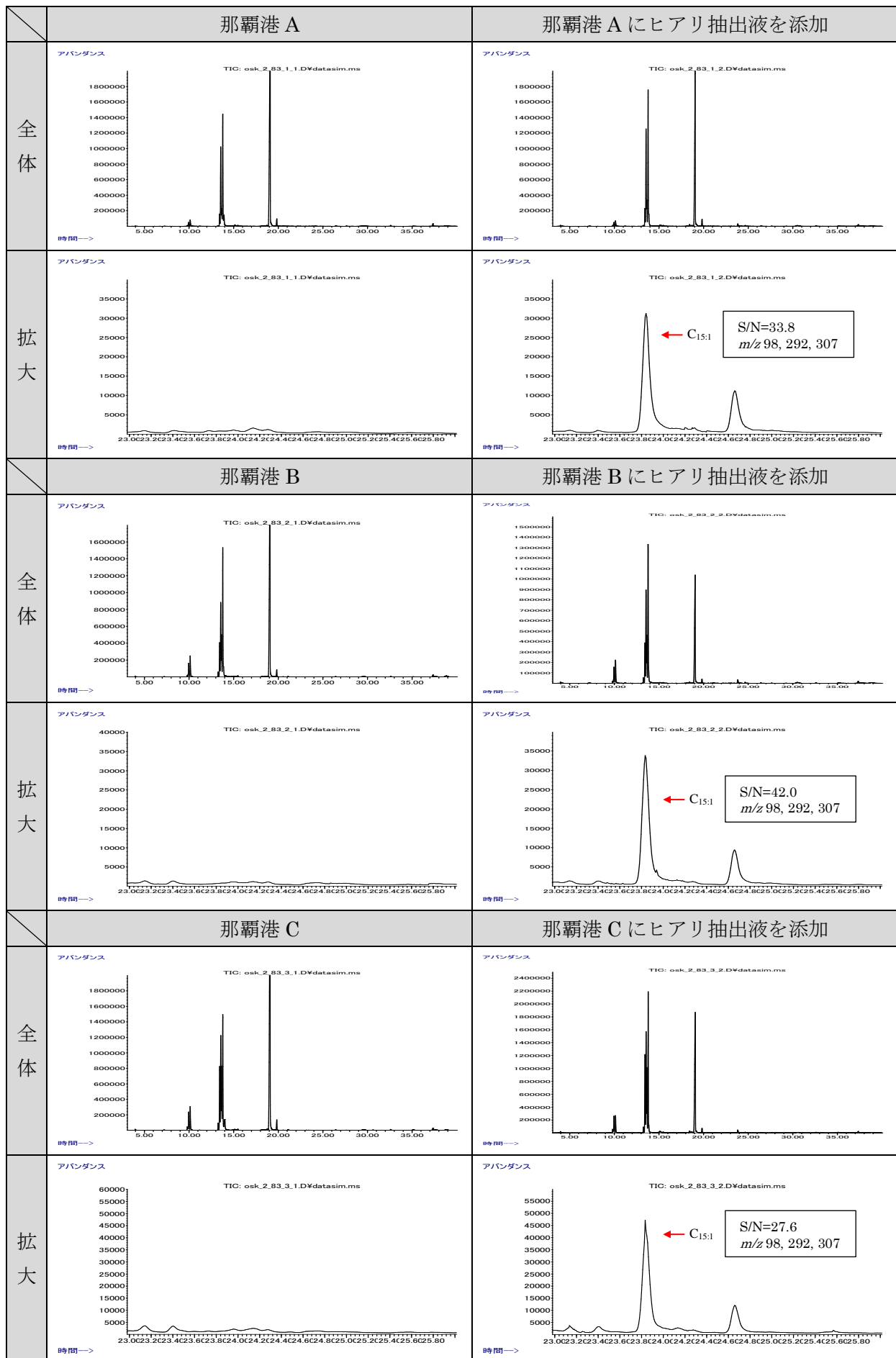


図 3-3.2 各検体のクロマトグラム（拡大：毒性物質のリネンコトイル付近の拡大図）秋季調査

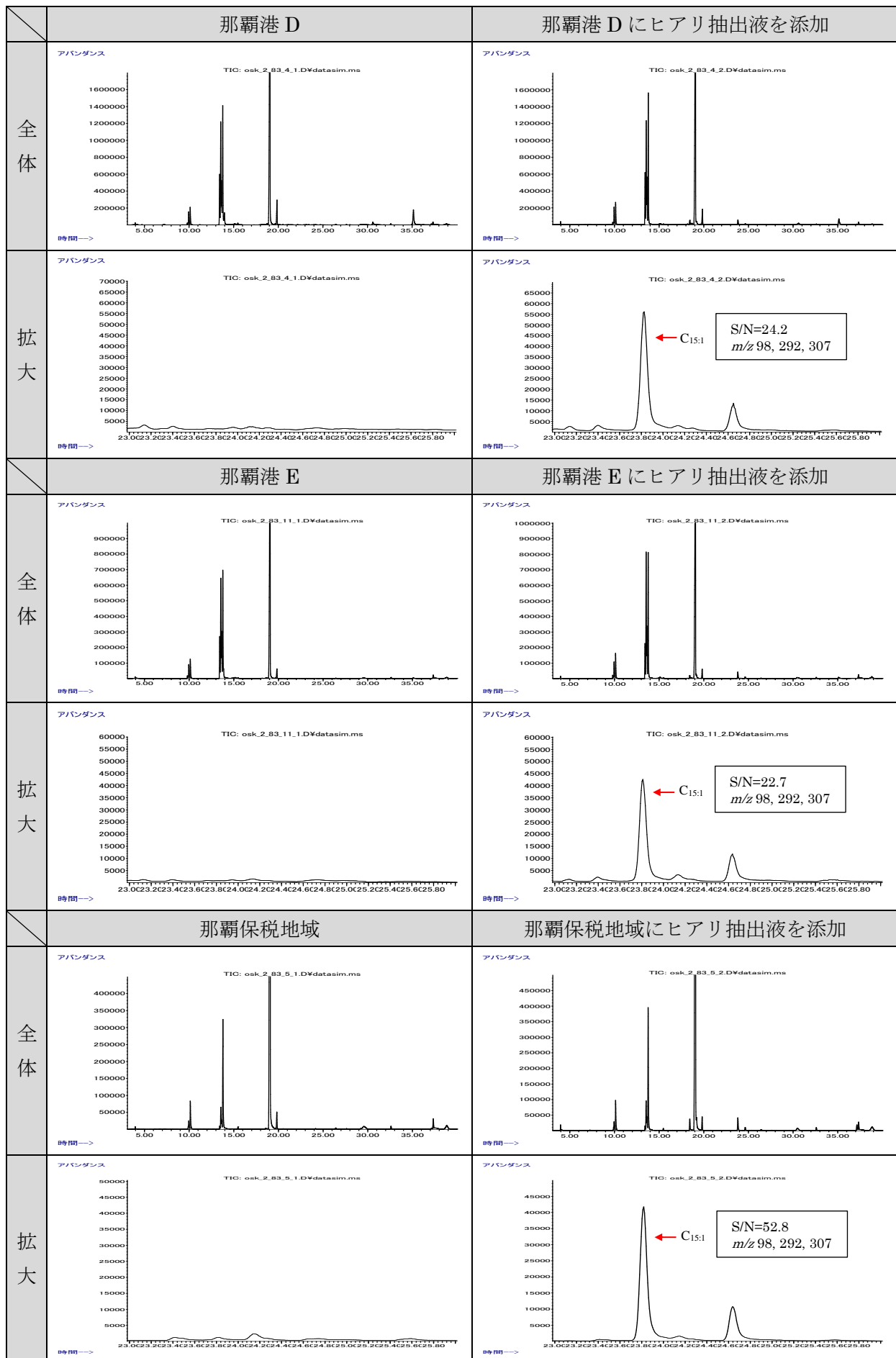


図 3-3.2 各検体のクロマトグラム (続き) 秋季調査

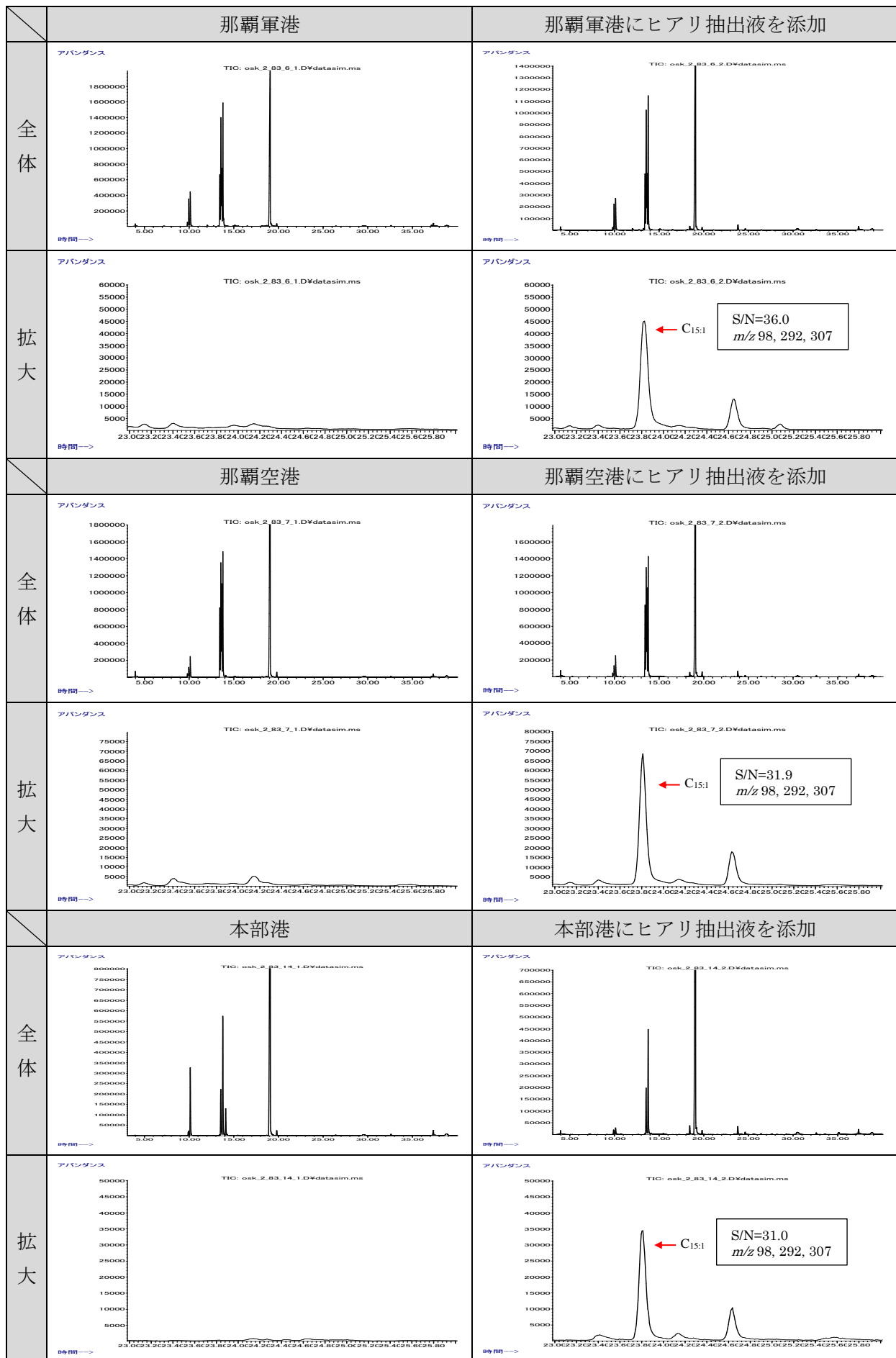


図 3-3.2 各検体のクロマトグラム (続き) 秋季調査

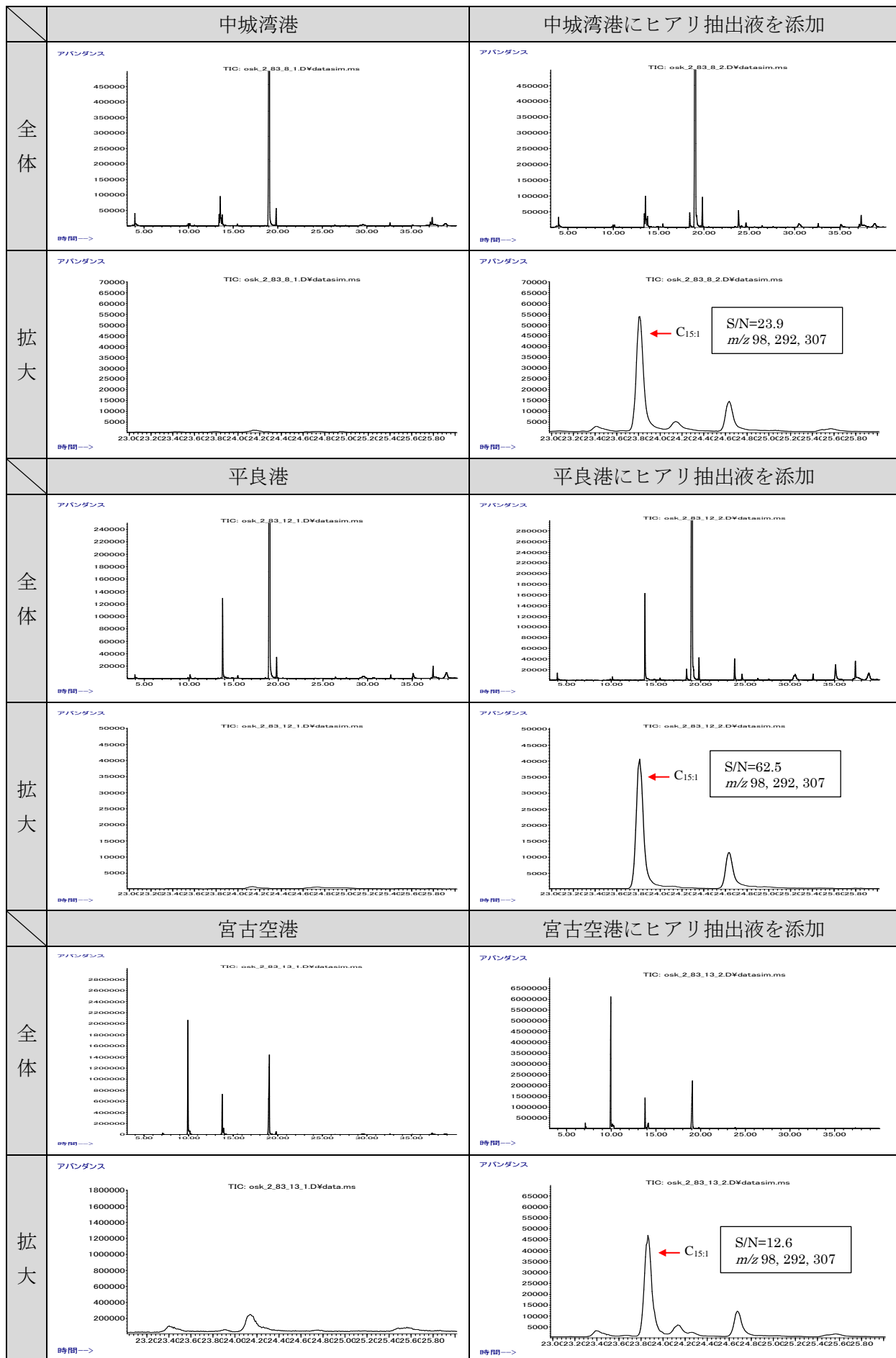


図 3-3.2 各検体のクロマトグラム (続き) 秋季調査

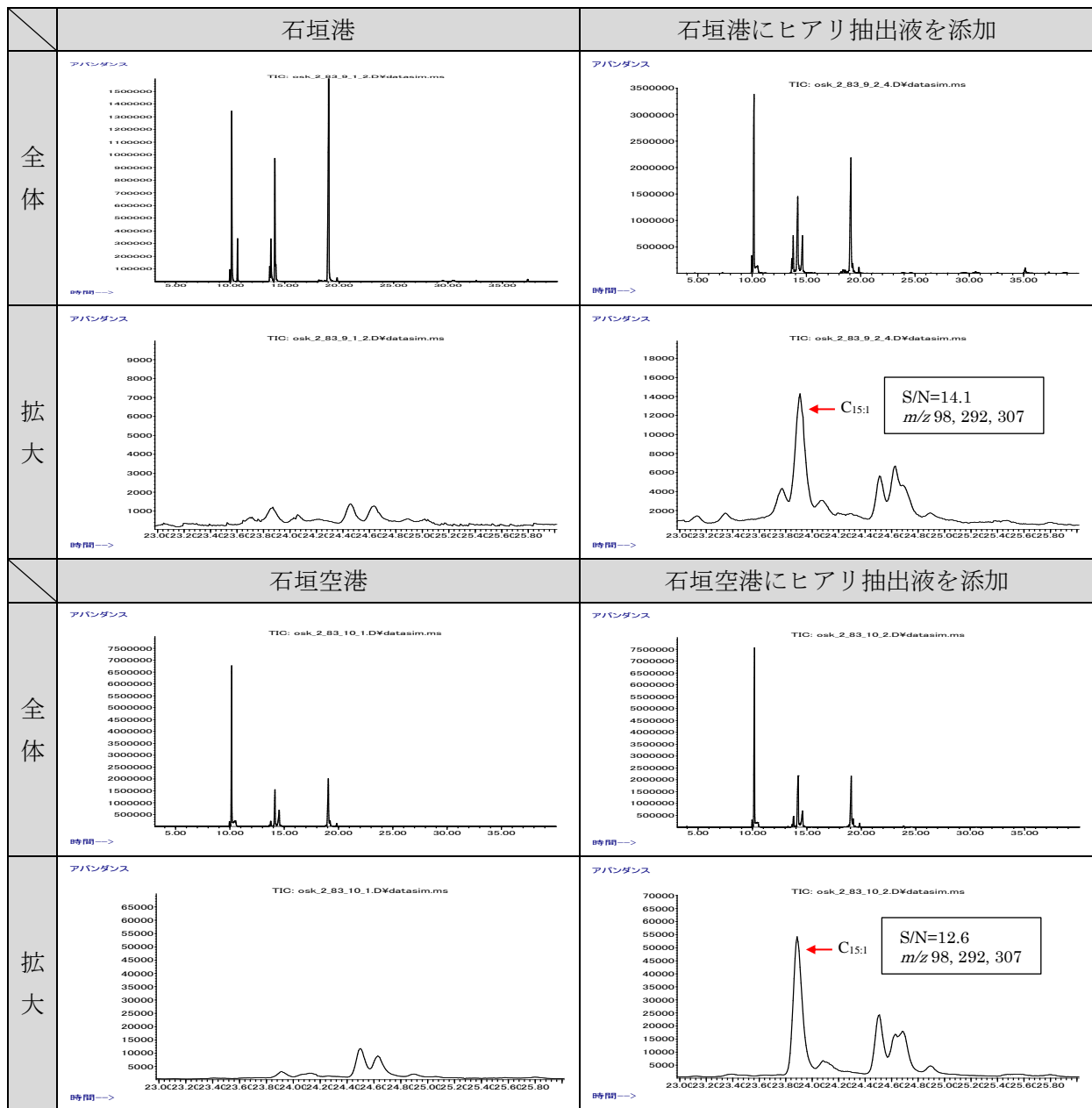


図 3-3.2 各検体のクロマトグラム (続き) 秋季調査