

## Ⅱ. 分担研究報告

### 3. 課題3: 試料調製方法の検討

研究分担者 志田(齊藤)静夏



食品中残留農薬等の分析法に関する研究

課題3: 試料調製方法の検討

研究分担者 志田(齊藤)静夏 国立医薬品食品衛生研究所 食品部主任研究官

**研究要旨**

分析に供する試料量を少量化することができれば、使用する溶媒・試薬量の削減や濃縮等の操作時間の短縮が可能となり、検査の迅速化やコスト削減が期待される。しかし、試料の均質化が不十分で、試料中の農薬等の濃度分布が一様でない場合、少量の試料を用いて分析を行うと分析値がばらつき、食品の規格基準への適否判定においては誤判定の原因となる可能性がある。本研究では、規格基準への適否判定のための試験における適切な試料量を設定するため、農薬が残留した野菜・果実を用いて、試料調製方法や分析に供する試料量による分析値のばらつきの違いについて検討した。その結果、試料調製方法によっては分析値のばらつきが非常に大きくなる場合があったが、適切な方法で試料調製を行えば、均質化が比較的容易な食品では分析に供する試料量を 2 g としても分析値のばらつきは十分小さくなる(RSD 10%未満)ことが示された。一方、ぶどうのような均質化が比較的困難な食品では、試料中の農薬の分布によっては試料量を 5 g 以下にすると分析値のばらつきが大きくなる(RSD 15%以上)場合があった。これらの結果から、規格基準への適否判定のための試験における試料量(野菜・果実の場合)は  $10.0 \pm 0.1$  g が適切と考えられた。

**A. 研究目的**

残留農薬等の公示試験法において、分析に供する試料量は、表 1 のようになっている。農産物については 30 年以上前に設定された。<sup>1)</sup>この試料量の設定根拠は不明であるが、試料の均質性に加えて、試料量を設定した当時の測定装置の感度を考慮したものと推測される。しかし近年、測定装置の感度は大幅に向上しており、より少量の試料(分析用試料)を用いても分析することが可能である。欧米において汎用されている QuEChERS 法の試料量は、我が国の公示試験法の試料量よりも少量(野菜・果実の場合は AOAC Official Method 2007.01 では 15 g、CEN Standard Method EN 15662 では 10 g)である。分析に供する試料量を少量化することができれば、使用する溶媒・試薬量

の削減や濃縮等の操作時間の短縮が可能となり、検査の迅速化やコスト削減が期待される。

分析に供する試料(分析用試料)を少量化する際に注意すべきこととして試料の均質性が挙げられる。試料が十分均質でなく、試料中の農薬等の濃度分布が一様でない場合、少量の分析用試料を用いて分析をすると分析値がばらつき、食品の規格基準への適否判定においては誤判定の原因となる可能性がある。このため、分析用試料を少量化するためには、より均質な試料が必要となる。前述した QuEChERS 法のうち、CEN Standard Method EN 15662 は、常温での磨砕よりも均質になりやすいとされている凍結粉砕による試料調製を前提としている。<sup>2)</sup>一方、AOAC Official Method 2007.01 は常温磨砕による試料調製も想定し、

CEN Standard Method EN 15662 よりも若干、試料量を多く設定している。<sup>2)</sup>

食品の種類によっては均質になりにくい場合があることや、試料調製方法によって均質性が大きく異なる場合があることは、経験的には分かっているものの、試料調製方法や分析に供する試料量による分析値のばらつきの違いについて検討した報告は極めて少ない。野田ら<sup>3)</sup>は農薬を人為的に付着させたトマト及びミニトマトを用いて、磨砕方法による分析値のばらつきの違いについて検討し、試料量 20 g においても磨砕方法によってはばらつきが大きくなったこと、ミニトマトよりも果肉に対する果皮の比率が低いトマトの方がばらつきが大きかったことを報告している。トマトやミニトマトでは磨砕することにより、果肉は容易に液状となるが、果皮は細かくすることが困難であり、試料を秤取する際、果肉と果皮の割合が変動したことが分析値のばらつきが大きくなった原因と考察している。

一方、藪崎ら<sup>1)</sup>は農薬が残留したもも(果肉のみ)、すもも(果皮及び果肉)及びおうとう(果皮及び果肉)を用いて、試料量 5 g での分析値のばらつき(2 併行)を求めたところ、いずれも RSD 20% 未滿となり、大きなばらつきはなかったと報告している。すももやおうとうは、果肉部分に繊維質を多く含むため、果肉と果皮が混合されやすい。このため、少量(5 g)の試料を用いて分析を行っても分析値のばらつきは大きくならなかったと考察している。

このように、食品の種類や試料調製方法によって均質性は大きく異なり、精確な分析値を得るのに必要な試料量も異なると考えられる。本研究では、規格基準への適否判定のための試験における適切な試料量を設定するため、農薬が残留した野菜・果実を用いて、試料調製方法や分析に供する試料量による分析値のばらつきの違いについて検討した。また、規格基準への適否判定のための試

験における試料量(野菜・果実の場合)を提案した。

なお、本研究では以下の用語を使用した。

検体:食品、添加物等の規格基準(昭和 34 年厚生省告示第 370)の第 1 食品の部 A 食品一般の成分規格に示された食品の部位

試料:検体を一部採り、均質化(試料調製)したもの

試料調製:均質化

分析用試料:分析に供する試料

試料量:分析用試料の量

(常温)磨砕:検体(の一部)をナイフミルやフードプロセッサー、ミキサー等を用いて常温で試料調製すること

(常温)粉碎:乾燥した検体(の一部)をミルや遠心粉碎機等を用いて常温で試料調製すること

凍結粉碎:検体を凍結後、フードプロセッサー等を用いて粉碎し、試料調製すること

## B. 研究方法

### 1. 食品

オレンジ、トマト、ぶどう、ほうれんそう、りんご、くるみ(素焼き)、ごま(いり)、大豆及び牛の筋肉は東京都内の小売店で購入し、食品、添加物等の規格基準の第 1 食品の部 A 食品一般の成分規格に示された部位を検体とした。

試料量等による分析値のばらつきの検討には、オレンジ、トマト、ぶどう、ほうれんそう及びりんごを 147 農薬(表 2)についてスクリーニング分析し、予め残留を確認した食品(オレンジ イマザリル及びチアベンダゾール; トマト 1 ブプロフェジン及びボスカリド; トマト 2 フルジオキソニル; トマト 3 ボスカリド; トマト 4 フルジオキソニル; トマト 5 フルジオキソニル; ぶどう アゾキシストロビン、イミダクロプリド及びシアゾファミド; ほうれんそう イミダクロプリド及びシアゾファミド; りんご クレソキシ

ムメチル、フェンプロパトリン及びボスカリド)を用いた。

## 2. 試薬及び試液

### (1) 有機溶媒及び試薬

アセトニトリル、トルエン及びメタノールは関東化学社製の残留農薬試験用試薬、水は超高純度蒸留水精製装置で蒸留したものをを用いた。塩化ナトリウムは、和光純薬工業社製の残留農薬試験用試薬を用いた。リン酸水素二カリウム及びリン酸二水素カリウムは、和光純薬工業社製の特級を用いた。ろ紙は桐山製作所製 No.5B、ケイソウ土は和光純薬工業社製のセライト 545 を用いた。ドライアイス(ペレット)はアイスティサイエンス社から購入した。

### (2) 農薬標準品及び標準溶液

表 2 に示した 147 農薬を検討に用いた。各農薬標準品は、林純薬工業社、関東化学社、和光純薬工業社、Sigma-Aldrich 社、Dr. Ehrenstorfers 社、Riedel-de Haën 社及び AccuStandard 社の残留農薬試験用試薬を用いた。標準原液(1000 mg/L)は、各農薬 10 mg を精秤し、アセトニトリル(アセトニトリルへの溶解性が低い場合はメタノール) 10 mL に溶解して調製した。アラマイトは、AccuStandard 社製の標準溶液(2 mg/mL)を用いた。検量線作成用の混合標準溶液は、各農薬の標準原液を混合し、メタノールで適宜希釈して調製した。

### (3) 精製ミニカラム

オクタデシルシリル化シリカゲル(ODS)ミニカラムは、Mega Bond Elut C18(1000 mg、Agilent 製)を用いた。グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル(NH<sub>2</sub>)積層ミニカラムは InertSep GC/NH<sub>2</sub> (500 mg/500 mg/6 mL、ジーエルサイエンス社製)を用いた。

### (4) 0.5 mol/L リン酸緩衝液(pH7.0)

リン酸水素二カリウム 52.7 g 及びリン酸二水素カ

リウム 30.2 g を量り採り、水約 500 mL に溶解し、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液または 1 mol/L 塩酸を用いて pH を 7.0 に調整した後、水を加えて 1 L とした。

## 3. 装置

常温磨砕は、ナイフミル Grindomix GM200 (Retsch 社製)及び家庭用フードプロセッサー multiquick professional MR 5550 M CA (BRAUN 社製)を使用して行った。

凍結粉砕は、業務用粉砕機 Robot Coupe BLIXER-3D (Robot Coupe 社製)を使用して行った。

水分率の測定は、電子水分計 MOC63u(島津製作所社製)を用いて、標準乾燥自動停止モード(120°C、停止条件:水分変化率 0.05%未満/30 秒)で行った。

試料温度の測定は、防水型デジタル温度計(佐藤計量器製作所社製)を使用して行った。

二酸化炭素濃度の測定は、GM70 ハンディタイプ CO<sub>2</sub> 計(ヴァイサラ社製)に食品用標準センサ SWP II -01M(ヴァイサラ社製)を接続して行った。

LC-Orbitrap-MS は、UltiMate-3000 (Dionex 社製)及び Q Exactive (Thermo Fisher Scientific 社製)を使用した。

## 4. 測定条件

### (1) MS 条件

イオン化法 ESI(+);スプレー電圧 3000 V;ベーパーライザ温度 300°C;キャピラリー温度 230°C; Aux ガス流量 15 arb;スウィープガス流量 3 arb;シースガス流量 60 arb;S-lens RF level 60;スキャンモード フルスキャン;スキャン範囲  $m/z$  70~1000;分解能 70,000 FWHM ( $m/z$  200); AGC target  $3 \times e^6$ ;Maximum IT 200 ms;質量較正は、外部標準法で以下を用いて行った。N-ブチルアミン  $m/z$  74.09643、カフェイン  $m/z$  138.06619、

195.087652、MRFA  $m/z$  524.26496、UltraMark1621  $m/z$  1221.99063、1421.97786、1621.96509;定量イオン 表 2 に示した。

## (2)LC 条件

カラム Inertsil ODS-4(内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 2  $\mu$ m、ジーエルサイエンス社製);カラム温度 40°C;注入量 3  $\mu$ L;移動相 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液(A 液)及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液(B 液);流速 0.30 mL/min;グラジエント条件 0 分(A:B=95:5)→10 分(A:B=5:95)→13 分(A:B=5:95)→13.01 分(A:B=0:100)→18 分(A:B=0:100)→18.01 分(A:B=95:5);保持時間 表 2 に示した。

## 5. 試料調製

### (1) 常温磨砕

#### ①ナイフミルを用いた試料調製

##### a. くるみ(素焼き)、ごま(いり)及び大豆以外の食品

オレンジは果実全体を包丁で 8 等分したもの、トマトはへたを除去後、包丁で 8 等分したもの、ぶどうは果梗を除去したもの、ほうれんそうはひげ根及び変質葉を除去後、包丁で約 5 cm 幅に切ったもの、りんごは花おち、しん及び果梗の基部を除去後、包丁で 8 等分したもの、牛の筋肉は約 3cm 角に切ったもの 250~300 g をナイフミルに入れ、3500 rpm で 15 秒間磨砕した後、7000 rpm で 15 秒間、9 回磨砕した。

##### b. くるみ(素焼き)、ごま(いり)及び大豆

検体 200 g をナイフミルに入れ、3500 rpm で 15 秒間粉砕した後、7000 rpm で 15 秒間、9 回粉砕した。

#### ②家庭用フードプロセッサーを用いた試料調製

トマト(へたを除去後、包丁で 8 等分したもの)約 250 g を家庭用フードプロセッサー(multiquick professional MR 5550 M CA、BRAUN 社製)を用

いて最大回転量(level 12)で 15 秒間、1 回または 10 回磨砕した。

### (2)凍結粉砕

#### ①くるみ(素焼き)、ごま(いり)及び大豆以外の食品

トマトはへたを除去後、包丁で 4 等分したもの、ほうれんそうはひげ根及び変質葉を除去後、包丁で約 5 cm 幅に切ったもの、牛の筋肉は約 3cm 角に切ったもの 250~300 g に同量のドライアイス(粉砕したもの)を加えて混合し、3 分間放置した。これを、ドライアイス約 100 g を粉砕して予冷した業務用粉砕機に入れ、2 分間粉砕した。

#### ②くるみ(素焼き)、ごま(いり)及び大豆

ドライアイス約 200g(大豆は約 300 g)を粉砕して予冷した粉砕機に、検体約 200 g(大豆は約 300 g)を入れて 2 分間放置後、2 分間粉砕した。

## 6. 試験溶液の調製

通知一斉試験法「LC/MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物)」に準じて以下のように調製した。

### (1) 抽出及び塩析

試料(2、5、10 及び 20 g(各 5 個))を量り採り、アセトニトリル 50 mL を加え、約 1 分間ホモジナイズした後、ケイソウ土を約 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過した。残留物を採り、アセトニトリル 20 mL を加え、上記と同様にホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とした。

抽出液を、試料量 2 g の場合は 25 mL(試料 0.5 g 相当)、5 g の場合は 20 mL(試料 1 g 相当)、10 g の場合は 10 mL(試料 1 g 相当)、20 g の場合は 5 mL(試料 1 g 相当)採った。これにアセトニトリルを試料量 10 g の場合は 10 mL、20 g の場合は 15 mL 加えた。塩化ナトリウム 10 g 及びリン酸緩衝液 20 mL(試料量 2 g の場合は 15 mL)を加えて 5 分

間振とう後、毎分 3000 回転で 5 分間遠心分離を行った。

## (2) 精製

### ① ぶどう以外

(1) で得られたアセトニトリル層を採り、予めアセトニトリル 10 mL でコンディショニングした ODS カラムに負荷し、アセトニトリル 5 mL で溶出した。全溶出液を 40°C 以下で約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流により溶媒を除去した。トマト及びりんごの場合は、残留物にメタノール 2 mL (試料量 2 g の場合は 1 mL) を加えて溶解した後、毎分 3000 回転で 5 分間遠心分離を行い、上清を試験溶液とした (試料 0.5 g/mL)。ほうれんそうの場合は、残留物にメタノール 5 mL (試料量 2 g の場合は 2.5 mL) を加えて溶解した後、毎分 3000 回転で 5 分間遠心分離を行った。上清 100  $\mu$ L にメタノール 900  $\mu$ L を加えて混合したものを試験溶液とした (試料 0.02 g/mL)。オレンジの場合は、残留物にメタノール 10 mL (試料量 2 g の場合は 5 mL) を加えて溶解した後、毎分 3000 回転で 5 分間遠心分離を行い、上清を試験溶液とした (試料 0.1 g/mL)。

### ② ぶどう

(1) で得られたアセトニトリル層を採り、40°C 以下で約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流により溶媒を除去し、残留物をアセトニトリル/トルエン (3:1) 2 mL に溶解した。これを予めアセトニトリル/トルエン (3:1) 10 mL でコンディショニングしたグラファイトカーボン/ $\text{NH}_2$  積層ミニカラム (500 mg/500 mg) に注入した後、アセトニトリル/トルエン (3:1) 20 mL を注入した。全溶出液を 40°C 以下で約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流により溶媒を除去し、残留物をメタノール 1 mL (試料量 2 g の場合は 0.5 mL) に溶解したものを試験溶液 (試料 1 g/mL) とした。

## 7. 検量線の作成

標準溶液 (0.002、0.005、0.01、0.02、0.05 及び 0.1  $\mu$ g/mL) を調製し、それぞれ 3  $\mu$ L を LC-Orbitrap-MS に注入して、ピーク面積法で検量線を作成した。

## 8. 分析値のばらつきの検討

農薬が残留した野菜・果実を常温磨砕または凍結粉砕により試料調製した。試料 2、5、10 及び 20 g (各 5 個) を採り、6. 試験溶液の調製に従って試験溶液を調製し、各試料量での分析値のばらつきを求めた。

## C. 研究結果及び考察

規格基準への適否判定のための試験における適切な試料量を検討するため、野菜・果実を常温磨砕または凍結粉砕により試料調製後、得られた試料を 2、5、10 及び 20 g (各 5 個) 採り、各試料量での分析値のばらつきを求めた。

### 1. 常温磨砕

#### (1) ナイフミル

ナイフミル (理化学実験用の磨砕装置) を用いて、農薬が残留した野菜・果実 (オレンジ、トマト、ぶどう、ほうれんそう及びりんご) を常温磨砕し、各試料量での分析値のばらつきを求めた。結果を表 3 及び図 1 に示した。ぶどうを除き、いずれの食品も試料量によらず分析値のばらつきは RSD10% 未満となった。試料量による分析値のばらつきの違いは認められなかった。ぶどうにおいて検出されたアゾキシストロビン及びイミダクロプリドについても、試料量によらず、RSD10% 未満となった。これに対し、同一試料中に残留していたシアゾファミドは、試料量 10 及び 20 g では RSD5% 未満となったが、試料量 5 g では 18.5%、2 g では 33.3% と非常に大きくなった。

CAC/GL 40-1993 ( Guidelines on Good

Laboratory Practice in Residue Analysis[残留分析における適正試験所規範ガイドライン])では、分析法の性能評価において評価すべきパラメータの一つとして試料の均質性を挙げており、分析用試料中の濃度のばらつき(CV<sub>sp</sub>)について、定量分析では10%以下、スクリーニング分析では15%以下を目標値として設定している。CV<sub>sp</sub>が求められない場合は、残留試料の分析値のばらつき(CV<sub>L</sub>)が目標値を満たすことを求めている。

今回の検討では、ぶどうにおいて検出されたシアゾファミドを除き、試料量2gの場合においても、我が国の妥当性評価ガイドラインの併行精度の目標値(0.001 ppm<添加濃度≤0.01 ppm: 25%未満、0.01 ppm<添加濃度≤0.1 ppm: 15%未満、添加濃度>0.1 ppm: 10%未満)及びEUのガイドライン(SANTE/11945/2015[食品および食餌中の残留農薬分析のための分析的品質管理および分析法バリデーション手順])の併行精度の目標値(20%)を満たした。一方、ぶどうにおいて検出されたシアゾファミドは試料量2gでは目標値を満たさなかった。ぶどうにおいて検出された農薬のうち、アゾキシストロビン及びイミダクロプリドは浸透移行性が高いため、果皮のみならず果肉にも残留していた可能性が高い。これに対し、シアゾファミドは浸透移行性が低いため、果皮の残留濃度が高く、果肉は非常に低かったと推測される。ぶどうでは、試料が十分に均質にならず、試料秤取の際に果皮と果肉の割合が変動したことがシアゾファミドの分析値のばらつきが大きくなった原因と考えられた。岩越ら<sup>4)</sup>は、アセタミプリド、イミダクロプリド、シプロジニル、ピラクロストロビン及びボスカリドが残留したブルーベリーを冷凍後、フードプロセッサで粉砕して試料調製し、試料量2、5、10及び20gでの分析値のばらつき(4併行)を求めた。その結果、ピラクロストロビン以外の農薬では試料量2gでも分

析値のばらつきはRSD10%未満となったが、ピラクロストロビンは試料量5g以下ではRSD10%以上となったと報告している。このように同一試料中に残留していても、農薬によって試料中の濃度分布が異なり、均質化が不十分な試料では少量の試料を分析に供すると分析値のばらつきが大きくなる場合があると考えられた。

本研究で検出された農薬のうち、アゾキシストロビン、イミダクロプリド及びボスカリドは浸透移行性が高く、その他の農薬は比較的低い。浸透移行性が低い農薬についても、ぶどう以外の食品では試料量によらず分析値のばらつきは小さいことから、食品によって均質化の容易さは異なるものと考えられた。

以上の結果から、均質化が比較的容易な食品では分析に供する試料量を2gとしても分析値のばらつきは十分小さくなる(RSD 10%未満)ことが示された。一方、ぶどうのような均質化が比較的困難な食品では、試料中の農薬の分布によっては試料量を5g以下にすると分析値のばらつきが大きくなる(RSD 15%以上)場合があった。これらの結果から、食品の規格基準への適否判定のための試験における試料量(野菜・果実の場合)は10g程度が望ましいと考えられた。

## (2) 家庭用フードプロセッサ

家庭用のフードプロセッサやミキサー等を用いて磨砕を行うと、果皮が十分細かくならなかったり、短時間で固形分と水分が分離したりすることがある。野田ら<sup>2)</sup>は人為的に農薬を塗布したサンプルを用いて、磨砕装置や方法による分析値のばらつきを比較し、家庭用フードプロセッサを用いた場合、業務用ブレンダーと比べて分析値のばらつきが大きくなったと報告している。そこで本研究では、比較的均質化が困難とされているトマトを用いて家庭用フードプロセッサで磨砕し、得られた試



料の外観や分析値のばらつきをナイフミル(理化学実験用の磨砕装置)で調製した場合と比較した。

まず、ボスカリドが残留したトマト3を家庭用フードプロセッサーを用いて最大回転量で15秒間、10回磨砕した。その結果、2~3mm角程度の果皮や種子が粉砕されずに残っていた(図2(a))。これに対し、ナイフミルで15秒間、10回磨砕した場合、種は1mm角以下に粉砕され、果皮も肉眼では確認できない程、微細となり(図2(c))、磨砕後の試料の外観は用いた装置により大きく異なった。家庭用フードプロセッサーで磨砕した試料の分析値のばらつきを求めたところ、試料量2gにおいてもRSD10%未満となり、ナイフミルを用いた場合とほぼ同程度となった(表3、図1)。ボスカリドは浸透移行性が比較的高く、果皮だけではなく、果肉にも分布していたと考えられる。このため、家庭用フードプロセッサーを用いて調製した試料は、ナイフミルを用いて調製した試料と比較して均質性はやや劣るものの、分析値のばらつきは大きくならなかったと考えられた。

次に、フルジオキソニルが残留したトマト4を家庭用フードプロセッサーを用いて最大回転量で15秒間、1回のみ磨砕した(図2(b))。その結果、5mm角程度の果皮や、粉砕されていない種子が多く残った。各試料量での分析値のばらつきを求めたところ、試料量20gにおいてもRSD20%以上と非常に大きくなった。フルジオキソニルは浸透移行性が低いいため、果皮に多く残留し、果肉にはほとんど分布していなかったと推測される。このような場合は、試料の均質化が十分でないと分析値のばらつきが大きくなるものと考えられた。

これらの結果から、試料調製方法(使用装置、操作方法を含む)によって試料の均質性は大きく異なることが示唆された。また、均質化が困難な食品では、試料調製方法によっては試料量を20gと

多くしても分析値のばらつきが大きくなる場合があることが示された。

農薬等の検査では、家庭用の磨砕装置を使用して試料調製する場合がある。しかし、家庭用の磨砕装置は理化学実験用の装置と比較して、性能が低く、均質化が困難な場合が多い。加えて、家庭用の磨砕装置はパッキン部分にゴム等が使用されている場合が多く、ゴム添加剤によって試料が汚染されたり、ゴム部分に農薬が吸着したりする可能性がある。これらのことから、試料調製の際は、できる限り性能の良い理化学実験用の装置を用いるとともに、使用する装置での操作方法(時間や回転数等)についても検討することが必要と考えられた。

## 2. 凍結粉砕

凍結粉砕した試料は、常温磨砕した試料よりも均質性が高いと期待される。凍結粉砕による試料調製には様々な方法があるが、いずれの方法においても注意すべき点として、吸湿や結露による試料重量の増加が挙げられる。加えて、ドライアイスを用いて粉砕する場合は、ドライアイスの残存による試料重量の増加にも注意する必要がある。そこで、本研究では予冷方式ドライアイス凍結粉砕法による試料調製方法を検討後、農薬が残留した食品を凍結粉砕によって試料調製し、分析に供する試料量による分析値のばらつきの違いについて検討した。

### (1) 凍結粉砕による試料調製の検討

#### ①ドライアイスの残存による影響

まず、凍結粉砕により調製した試料にドライアイスが残存しているかを確認するため、ほうれんそう、くるみ(素焼き)、ごま(いり)、大豆及び牛の筋肉を凍結粉砕し、試料温度-50、-40、-30、-25及び-20℃での二酸化炭素濃度(試料から約2cm上)をCO<sub>2</sub>計を用いて測定した。結果を表4に示した。なお、室内の二酸化炭素濃度は約0.05%であった。

試料温度-40℃以下では、いずれの試料も2%(測定上限)を超えていた。試料温度-20℃では0.13~0.34%であり、-40℃より濃度は低いものの、ドライアイスが残存していた。

次に、凍結粉砕した試料5gを量り採り、秤取直後と10分間室温放置後の重量に変化があるかを確認した。結果を表5に示した。試料温度-50℃以下で試料を秤取した場合、ドライアイスの残存量が非常に多く、試料採取直後から重量が急速に減少し、秤量することはできなかった。試料温度-40℃以上では、重量変化率は-0.4%未満であり、分析に大きな影響はないと考えられた。

くるみ(素焼き)以外の食品では試料温度が-20℃となってもパウダー状であった。これに対し、脂質含量が高いくるみ(くるみ(いり)の脂質含量は68.8%<sup>5)</sup>)では、試料温度が-40℃以上になると、徐々に粘性が上がった。これは、融点が低い植物性脂質が融解したことが原因と考えられる。植物性脂質が多い食品では、試料温度が高くなり過ぎないうちに秤取するのがよいと考えられた。

以上の結果から、ドライアイスは残存しているものの、試料温度-30℃程度で試料を秤取するのがよいと考えられた。

## ②吸湿・結露による影響

凍結粉砕した試料と常温磨砕・粉砕した試料の水分率を比較した。その結果、両者の水分率の差はいずれも0.5%未満であった(表5)。空気中の水分を吸湿しやすいと予想された乾燥食品(くるみ(素焼き)、ごま(いり)及び大豆)においても、大きな差は見られず、吸湿や結露による影響は認められなかった。水分率のばらつきは、検討したすべての食品で凍結粉砕した試料の方が、常温磨砕・粉砕した試料と比較して小さく、凍結粉砕した試料の方が均質性が高いことが示唆された。

本検討は室温22~25℃、湿度20~35%で行っ

たが、室温や湿度が高い条件では、結露しやすくなり、ドライアイスの昇華速度も速くなると予想される。今後、室温や湿度がより高い条件においても問題がないか検討が必要と考えられた。

## (2) 試料量による分析値のばらつきの検討

浸透移行性が低いフルジオキソニルが残留したトマトを凍結粉砕し、各試料量での分析値のばらつきを求めた。その結果、試料量2gの場合でも分析値のばらつきはRSD10%未満となり、ナイフミルを用いて常温磨砕した場合とほぼ同程度となった(表3、図1)。

本検討では、凍結粉砕と常温磨砕(ナイフミル)で試料の均質性に違いは認められなかった。しかし、畜水産物は、常温磨砕では皮や筋等を細かくするのは困難であり、凍結粉砕の方が均質性の高い試料が得られると考えられる。また、くるみやごまのように植物性脂質が多く、常温ではペースト状となり、油脂と残渣が分離するような食品についても、凍結粉砕で調製した方が均質性の高い試料が得られると期待される。

## 3. 試料量の提案

農薬が残留した野菜・果実を用いて、試料調製方法や分析に供する試料量による分析値のばらつきの違いについて検討した。その結果、試料調製方法によっては分析値のばらつきが非常に大きくなる場合があったが、適切な方法で試料調製を行えば、均質化が比較的容易な食品では分析に供する試料量を2gとしても分析値のばらつきは十分小さくなる(RSD 10%未満)ことが示された。一方、ぶどうのような均質化が比較的困難な食品では、試料中の農薬の分布によっては試料量を5g以下にすると分析値のばらつきが大きくなる(RSD 15%以上)場合があった。これらの結果から、食品の規格基準への適否判定のための試験における試料量(野菜・果実の場合)は10gが適当と考えら

れた。現行の残留農薬等の公示試験法では、試料量 20.0 g(19.95 g 以上 20.05 g 未満)、10.0 g(9.95 g 以上 10.05 g 未満)及び 5.00 g(4.995 g 以上 5.005 g 未満)での試料秤取における誤差はそれぞれ $\pm 0.25\%$ 、 $\pm 0.5\%$ 及び $\pm 0.1\%$ まで許容している(表 1)。しかし、規格基準の適否判定において分析値を求める際は、「基準値より 1 けた多く求め、その多く求めた 1 けたについて四捨五入すること」こととなっており、残留農薬等の基準値は通常 1 けたであるため、試料秤取の許容誤差は $\pm 1\%$ としても問題はないと考えられる。欧米において汎用されている QuEChERS 法のうち AOAC Official Method 2007.01 は  $15.0 \pm 0.1$  g、CEN Standard Method EN 15662 は  $10.0 \pm 0.1$  g を野菜・果実の場合の試料量としている。以上のことから、食品の規格基準への適否判定のための試験(野菜・果実の場合)における試料量として  $10.0 \pm 0.1$  g を提案する。

#### D. 結論

食品の規格基準への適否判定のための試験における適切な試料量を設定するため、農薬が残留した野菜・果実を用いて、試料調製方法や分析に供する試料量による分析値のばらつきの違いについて検討した。その結果、①試料調製方法(使用装置や操作方法を含む)によって試料の均質性は大きく異なること、②均質化が比較的困難な食品では、試料中の農薬の分布によっては試料量を 5 g 以下とすると分析値のばらつきが大きくなる場合があることが示された。本研究結果から、食品の規

格基準への適否判定のための試験における試料量(野菜・果実の場合)は  $10 \pm 0.1$  g が適切と考えられた。

なお、本研究において検出された農薬はいずれも基準値未満であった。

#### E. 参考文献

- 1) 藪崎隆ら、第 39 回農薬残留分析研究会講演要旨集、153-156(2016)
- 2) Lehotay, S.J. QuEChERS sample preparation approach for mass spectrometric analysis of pesticide residues in foods, *Methods Mol Biol*, 747, 65-91(2011).
- 3) 野田聡子ら、第 34 回農薬残留分析研究会講演要旨集、63-69(2011)
- 4) 岩越景子ら、LC-MS/MS を用いた農産物中残留農薬の迅速試験法に関する検討、*食衛誌*、55、254-260(2014)
- 5) 日本食品標準成分表 2015 年版

#### F. 研究発表

なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 残留農薬等の公示試験法の試料量

食 品		試料量(g) *
農産物	野菜、果実、ハーブ	20.0
	穀類、豆類、種実類	10.0
	茶、ホップ	5.00
畜水産物	固体試料(脂肪以外)	10.0、20.0
	固体試料(脂肪)	5.00、10.0、20.0
	液体試料(乳、卵、はちみつ等)	5.00、10.0、20.0

\*試料量の許容範囲は、20.0 g の場合 19.95 g 以上 20.05 g 未満、10.0 g の場合 9.95 g 以上 10.05 g 未満、5.00 g の場合 4.995 g 以上 5.005 g 未満

表 2 検討化合物の保持時間及び定量イオン

化合物	組成式	定量イオン		保持時間 (min)
		イオン	計算精密質量 ( <i>m/z</i> )	
1 Acetamidrid	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	223.0745	5.3
2 Acetochlor	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> ClNO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	270.1256	9.9
3 Acibenzolar- <i>S</i> -methyl	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> OS <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	210.9995	9.7
4 Acrinathrin	C <sub>26</sub> H <sub>21</sub> F <sub>6</sub> NO <sub>5</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	559.1663	12.0
5 Ametryn	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	228.1278	9.3
6 Anilofos	C <sub>13</sub> H <sub>19</sub> ClNO <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	368.0305	10.3
7 Aramite	C <sub>15</sub> H <sub>23</sub> ClO <sub>4</sub> S	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	352.1345	11.2
8 Atrazine	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> ClN <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	216.1011	8.5
9 Azoxystrobin	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	404.1241	9.2
10 Benalaxyl	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	326.1751	10.4
11 Bendiocarb	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	224.0918	7.3
12 Benzofenap	C <sub>22</sub> H <sub>20</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	431.0924	11.2
13 Bitertanol	C <sub>20</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	338.1863	10.5
14 Boscalid	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	343.0400	9.2
15 Bromacil	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> BrN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	261.0233	7.2
16 Buprofezin	C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> N <sub>3</sub> OS	[M+H] <sup>+</sup>	306.1635	11.3
17 Butafenacil	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	492.1144	9.7
18 Cadusafos	C <sub>10</sub> H <sub>23</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	271.0950	10.8
19 Carpropamid	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> Cl <sub>3</sub> NO	[M+H] <sup>+</sup>	334.0527	10.3
20 Chlorfenvinphos ( <i>E, Z</i> )	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>4</sub> P	[M+H] <sup>+</sup>	358.9768	10.4
21 Chloridazon	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	222.0429	5.4
22 Chloroxuron	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	291.0895	9.6
23 Chlorpyrifos	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS	[M+H] <sup>+</sup>	351.9307	11.6
24 Chlorpyrifos methyl	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS	[M+H] <sup>+</sup>	321.9023	10.9
25 Chromafenozide	C <sub>24</sub> H <sub>30</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	395.2329	9.8
26 Clomeprop	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	324.0553	11.2
27 Cloquintocet mexyl	C <sub>18</sub> H <sub>22</sub> ClNO <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	336.1361	11.4
28 Clothianidin	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> ClN <sub>5</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	250.0160	4.7
29 Cumyluron	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> ClN <sub>2</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	303.1259	9.6
30 Cyanazine	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>6</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	241.0963	7.0
31 Cyazofamid	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	325.0521	9.9
32 Cycloprothrin	C <sub>26</sub> H <sub>21</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>4</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	499.1187	11.8
33 Cyflufenamid	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> F <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	413.1283	10.6
34 Cyproconazole	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	292.1211	9.3
35 Cyprodinil	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	226.1339	10.7
36 Daimuron	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	269.1649	9.5
37 Diazinon	C <sub>12</sub> H <sub>21</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS	[M+H] <sup>+</sup>	305.1083	10.6
38 Difenoconazole	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	406.0720	10.7
39 Diflubenzuron	C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> ClF <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	311.0394	10.0
40 Diflufenican	C <sub>19</sub> H <sub>11</sub> F <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	395.0814	11.0
41 Dimethirimol	C <sub>11</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	210.1601	8.1
42 Dimethoate	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>3</sub> PS <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	230.0069	5.2
43 Dimethomorph ( <i>E, Z</i> )	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> ClNO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	388.1310	9.18,9.38
44 Diuron	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	233.0243	8.5
45 Edifenphos	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	311.0324	10.4
46 Epoxiconazole	C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> ClFN <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	330.0804	9.9
47 Ethion	C <sub>9</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> P <sub>2</sub> S <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	384.9949	11.4
48 Ethiprole	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>3</sub> N <sub>4</sub> OS	[M+H] <sup>+</sup>	396.9899	9.0
49 Etoxazole	C <sub>21</sub> H <sub>23</sub> F <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	360.1770	11.8
50 Etrinfos	C <sub>10</sub> H <sub>17</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> PS	[M+H] <sup>+</sup>	293.0720	10.5

表 2 (つづき)

化合物	組成式	定量イオン		保持時間 (min)
		イオン	計算精密質量 ( <i>m/z</i> )	
51 Fenamidone	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> OS	[M+H] <sup>+</sup>	312.1165	9.2
52 Fenarimol	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	331.0400	9.8
53 Fenbuconazole	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	337.1215	9.8
54 Fenobucarb	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	208.1332	8.9
55 Fenoxaprop ethyl	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> ClNO <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	362.0790	11.1
56 Fenoxycarb	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	302.1387	10.1
57 Fenpropathrin	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>3</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	367.2016	11.8
58 Fenpropimorph	C <sub>20</sub> H <sub>33</sub> NO	[M+H] <sup>+</sup>	304.2635	12.5
59 Ferimzone (E, Z)	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	255.1604	9.4
60 Fipronil	C <sub>12</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>6</sub> N <sub>4</sub> OS	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	453.9726	9.9
61 Flamprop methyl	C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> ClFNO <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	336.0797	9.5
62 Fludioxonil	C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> F <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	266.0736	9.4
63 Flufenacet	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> F <sub>4</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	364.0738	9.7
64 Fluquinconazole	C <sub>16</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> FN <sub>5</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	376.0163	9.7
65 Fluridone	C <sub>19</sub> H <sub>14</sub> F <sub>3</sub> NO	[M+H] <sup>+</sup>	330.1100	9.1
66 Fluvalinate	C <sub>26</sub> H <sub>22</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	520.1609	11.8
67 Furametpyr	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	334.1317	8.3
68 Hexaconazole	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	314.0822	10.4
69 Hexaflumuron	C <sub>16</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	[M+Na] <sup>+</sup>	482.9708	10.9
70 Hexythiazox	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	353.1085	11.5
71 Imazalil	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	297.0556	10.3
72 Imibenconazole	C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>4</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	412.9971	11.2
73 Indanofan	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> ClO <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	341.0939	10.0
74 Indoxacarb	C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	528.0780	10.8
75 Iprovalicarb	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	321.2173	9.7
76 Isoprocab	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	194.1176	8.2
77 Isoxathion	C <sub>13</sub> H <sub>16</sub> NO <sub>4</sub> PS	[M+H] <sup>+</sup>	314.0611	10.8
78 Kresoxim methyl	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	314.1387	10.3
79 Lactofen	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> ClF <sub>3</sub> NO <sub>7</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	479.0828	11.2
80 Linuron	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	249.0192	9.2
81 Lufenuron	C <sub>17</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	528.0122	11.4
82 Malathion	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> O <sub>6</sub> PS <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	331.0434	9.5
83 Mepanipyrim	C <sub>14</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	224.1182	10.1
84 Metalaxyl	C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	280.1544	8.4
85 Methabenzthiazuron	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> OS	[M+H] <sup>+</sup>	222.0696	8.5
86 Methidathion	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> PS <sub>3</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	319.9957	8.9
87 Methiocarb	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	226.0896	9.2
88 Metolachlor	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> ClNO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	284.1412	10.0
89 Monolinuron	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	215.0582	8.0
90 Myclobutanil	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	289.1215	9.4
91 Naproanilide	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	292.1332	10.1
92 Napropamide	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	272.1645	9.9
93 Norflurazon	C <sub>12</sub> H <sub>9</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	304.0459	8.7
94 Novaluron	C <sub>17</sub> H <sub>9</sub> ClF <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	493.0196	11.0
95 Oxadixyl	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	279.1340	6.8
96 Oxaziclomefone	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	376.0866	11.1
97 Paclbutrazol	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	294.1368	9.2
98 Penconazole	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	284.0716	10.2
99 Pencycuron	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	329.1415	10.7
100 Pentoxazone	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> ClFNO <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	354.0903	11.2

表 2 (つづき)

化合物	組成式	定量イオン		保持時間 (min)
		イオン	計算精密質量 ( <i>m/z</i> )	
101 Phenmedipham	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	318.1448	8.8
102 Phenthoate	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> O <sub>4</sub> PS <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	321.0379	10.3
103 Phosalone	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> ClNO <sub>4</sub> PS <sub>2</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	385.0207	10.6
104 Phosphamidon	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> ClNO <sub>5</sub> P	[M+H] <sup>+</sup>	300.0762	6.8
105 Piperonyl butoxide	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	356.2432	11.4
106 Pirimicarb	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	239.1503	8.3
107 Pirimiphos methyl	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS	[M+H] <sup>+</sup>	306.1036	10.8
108 Prochloraz	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	376.0381	10.5
109 Profenofos	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> BrClO <sub>3</sub> PS	[M+H] <sup>+</sup>	374.9402	11.1
110 Prometryn	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	242.1434	10.1
111 Propachlor	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> ClNO	[M+H] <sup>+</sup>	212.0837	8.5
112 Propanil	C <sub>9</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>2</sub> NO	[M+H] <sup>+</sup>	218.0134	9.1
113 Propaquizafop	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	444.1321	11.3
114 Propargite	C <sub>19</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub> S	[M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	368.1891	11.6
115 Propiconazole	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	342.0771	10.4
116 Propyzamide	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NO	[M+H] <sup>+</sup>	256.0291	9.4
117 Pyraclofos	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS	[M+H] <sup>+</sup>	361.0537	10.6
118 Pyraclostrobin	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	388.1059	10.6
119 Pyrazophos	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> PS	[M+H] <sup>+</sup>	374.0934	10.8
120 Pyrifitalid	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	319.0747	9.2
121 Pyrimethanil	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	200.1182	9.5
122 Pyriproxyfen	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	322.1438	11.6
123 Quinalphos	C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS	[M+H] <sup>+</sup>	299.0614	10.4
124 Quinoxifen	C <sub>15</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>2</sub> FNO	[M+H] <sup>+</sup>	308.0040	11.7
125 Quizalofop ethyl	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	373.0950	11.2
126 Simazine	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> ClN <sub>5</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	202.0854	7.5
127 Simeconazole	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> FN <sub>3</sub> OSi	[M+H] <sup>+</sup>	294.1433	9.7
128 Spinosyn A	C <sub>41</sub> H <sub>65</sub> NO <sub>10</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	732.4681	12.2
129 Spinosyn D	C <sub>42</sub> H <sub>67</sub> NO <sub>10</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	746.4838	12.5
130 Spiroxamine	C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> NO <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	298.2741	11.4
131 Tebuconazole	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	308.1524	10.1
132 Tebufenpyrad	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> ClN <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	334.1681	11.2
133 Tebuthiuron	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> N <sub>4</sub> OS	[M+H] <sup>+</sup>	229.1118	7.5
134 Teflubenzuron	C <sub>14</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	380.9815	11.3
135 Terbutryn	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> N <sub>5</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	242.1434	10.1
136 Tetrachlorvinphos	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>4</sub> O <sub>4</sub> P	[M+H] <sup>+</sup>	366.9037	10.1
137 Tetraconazole	C <sub>13</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> F <sub>4</sub> N <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	372.0288	9.7
138 Thiabendazole	C <sub>10</sub> H <sub>7</sub> N <sub>3</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	202.0433	7.2
139 Thiachloprid	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> ClN <sub>4</sub> S	[M+H] <sup>+</sup>	253.0309	6.0
140 Tolfenpyrad	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	384.1474	11.4
141 Triadimefon	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	294.1004	9.5
142 Triadimenol	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> ClN <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	296.1161	9.5
143 Triazophos	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> PS	[M+H] <sup>+</sup>	314.0723	9.8
144 Trifloxystrobin	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> F <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	409.1370	10.9
145 Triflumizole	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	346.0929	11.0
146 Triflumuron	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> ClF <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	[M+H] <sup>+</sup>	359.0405	10.5
147 Triticonazole	C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> ClN <sub>3</sub> O	[M+H] <sup>+</sup>	318.1368	9.7

表 3 分析に供する試料量と分析値のばらつき

均質化方法	試料	農薬	分析値*				基準値 (ppm)	
			平均 (mg/kg)	RSD(%)				
				試料量				
				2 g	5 g	10 g		20 g
常温磨砕(ナイフミル)	オレンジ	Imazalil	0.78	6.9	6.4	6.5	3.0	5
常温磨砕(ナイフミル)		Thiabendazole	0.53	6.7	4.6	3.6	2.4	10
常温磨砕(ナイフミル)	トマト 1	Boscalid	0.037	4.3	4.7	2.8	6.3	5
常温磨砕(ナイフミル)		Buprofezin	0.012	4.2	4.4	2.9	8.3	1
常温磨砕(ナイフミル)	トマト 2	Fludioxonil	0.056	4.9	5.0	2.6	4.2	5
常温磨砕(ナイフミル)	ぶどう	Azoxystrobin	0.0094	8.2	3.2	2.1	4.5	10
常温磨砕(ナイフミル)		Cyazofamid	0.0082	33.3	18.5	4.8	4.9	10
常温磨砕(ナイフミル)		Imidacloprid	0.0024	3.8	3.7	2.7	1.1	3
常温磨砕(ナイフミル)	ほうれんそう	Cyazofamid	1.0	3.7	5.8	3.2	1.6	25
常温磨砕(ナイフミル)		Imidacloprid	0.50	3.5	6.3	4.3	1.1	15
常温磨砕(ナイフミル)	りんご	Boscalid	0.0081	8.2	8.1	3.1	2.6	2
常温磨砕(ナイフミル)		Fenpropathrin	0.11	9.6	8.4	5.0	4.5	5
常温磨砕(ナイフミル)		Kresoxim methyl	0.017	3.5	6.9	6.3	7.1	5
常温磨砕(家庭用フードプロセッサー)	トマト 3	Boscalid	0.077	1.5	8.2	6.3	5.1	5
常温磨砕(家庭用フードプロセッサー)	トマト 4	Fludioxonil	0.037	24.3	10.3	29.6	21.9	5
凍結粉砕	トマト 5	Fludioxonil	0.037	8.0	5.9	7.0	4.3	5

\*各試料量 5 併行



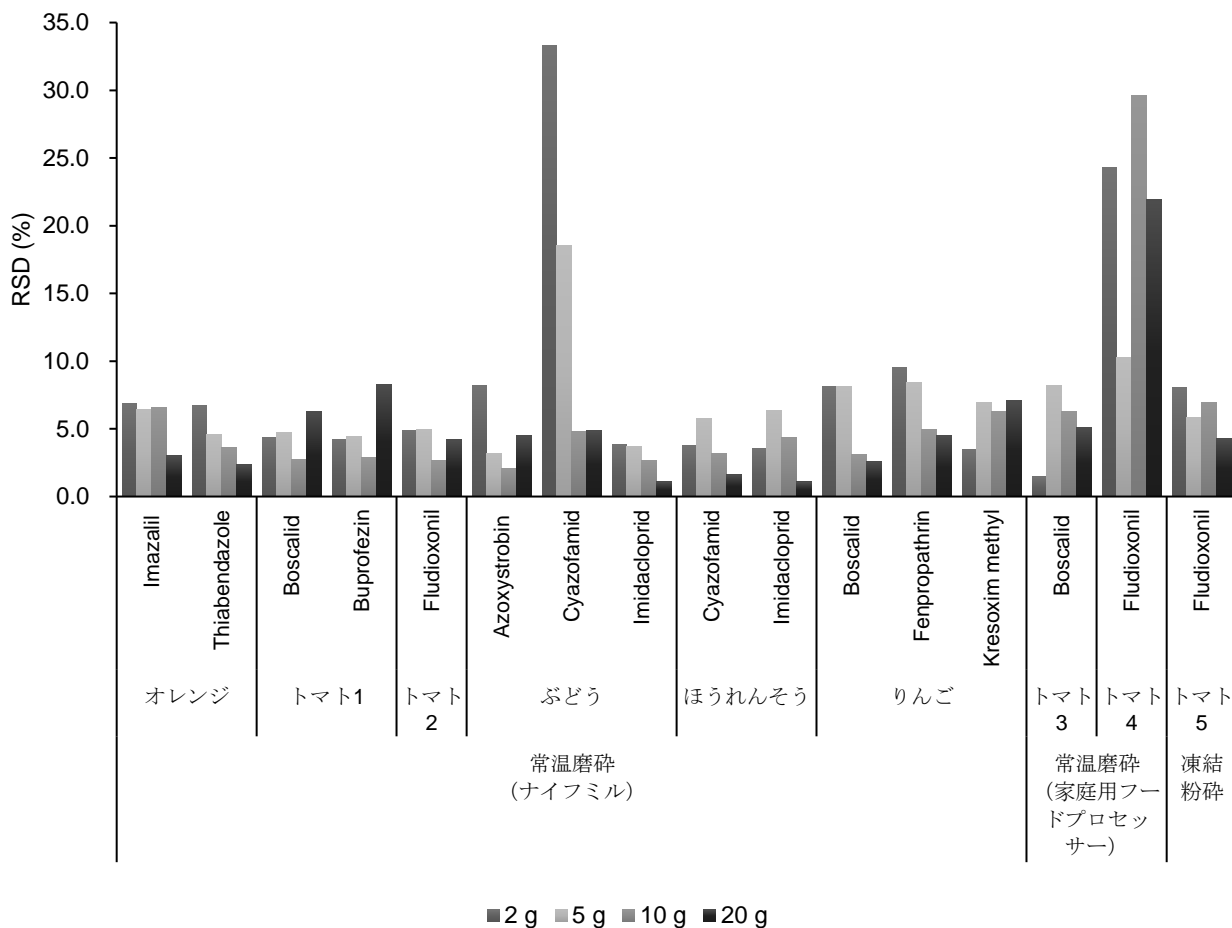


図1 分析に供する試料量と分析値のばらつき

(a)



(b)



(c)



図 2 常温磨砕したトマト試料

- (a) 家庭用フードプロセッサーを用いて最大回転量(level 12)で 15 秒間、10 回磨砕した
- (b) 家庭用フードプロセッサーを用いて最大回転量(level 12)で 15 秒間磨砕した
- (c) ナイフミルを用いて 3500 rpm で 15 秒間磨砕後、7000 rpm で 15 秒間、9 回磨砕した

表 4 凍結粉碎後の試料温度と二酸化炭素濃度(%)\*

試料温度(℃)	ほうれんそう	くるみ(素焼き)	ごま(いり)	大豆	牛の筋肉
-50	>2	>2	>2	>2	>2
-40	>2	>2	>2	>2	>2
-30	0.56	0.33	0.33	>2	0.76
-25	0.48	0.21	0.21	0.88	0.40
-20	0.34	0.13	0.13	0.24	0.30

\*試料から約 2 cm 上での濃度  
 (室内の二酸化炭素濃度は約 0.05%)

表 5 凍結粉碎試料(試料量 5 g)の秤取直後と 10 分間室温放置後の重量変化率(%)\*

試料温度(℃)	ほうれんそう	くるみ(素焼き)	ごま(いり)	大豆	牛の筋肉
-40	-0.29	-0.13	-0.03	-0.03	-0.22
-30	-0.36	-0.06	-0.02	-0.04	-0.34
-20	-0.35	-0.11	-0.02	-0.02	-0.16

\* (10 分間室温で放置後の重量－秤取直後の重量)/10 分間室温で放置後の重量×100(%)

表 6 常温磨砕・粉砕及び凍結粉砕した試料の水分率(%)\*

	常温磨砕・粉砕		凍結粉砕		水分率の差 (B-A、%)
	平均(A、%)	RSD(%)	平均(B、%)	RSD(%)	
ほうれんそう	87.45	3.31	87.38	0.11	-0.07
くるみ(素焼き)	1.36	10.22	1.64	3.81	0.28
ごま(いり)	1.06	6.60	1.49	2.05	0.43
大豆	11.26	1.29	11.52	0.35	0.26
牛の筋肉	73.06	0.81	72.96	0.05	-0.10

\*試料量 5 g、3 併行

