

Ⅱ. 令和元年～令和3年度 分担研究報告

課題4. 検査部位の変更が残留農薬等の検査及び分析結果に及ぼす影響と対処法の検討

研究分担者 根本 了

食品や環境からの農薬等の摂取量の推計と国際標準を導入するための研究
課題4. 検査部位の変更が残留農薬等の検査及び分析結果に及ぼす影響と対処法の検討

研究分担者 根本 了 国立医薬品食品衛生研究所 食品部第一室長

研究要旨

残留農薬等の検査における国内の現行の検査部位の一部は、国際基準であるCODEX基準と一致していない。検査部位の不一致は輸出入の際の係争の原因となるため、国際基準と整合を図る必要がある。国際基準の検査部位を採用した場合、現行の検査部位とは試料マトリックス等が異なるため、現行の試験操作や試料採取に影響を及ぼす可能性がある。本研究では、検査機関においてCODEX基準の検査部位を円滑に導入・運用するため、検査部位の変更によって起こり得る検査への影響や問題点を把握し、対処法を提案することを目的とした。

令和元年度は調製試料の均質性に及ぼす影響について検討した。検査部位変更前後の試料を調製し、調製試料の状態や粒子の大きさなどを比較、考察した。その結果、種子や果皮等が含まれることにより変更前の検査部位とは若干均質性が異なるものの、調製試料のほとんどは微細な粒子まで粉砕されており、特定部位の沈殿等もないことから、種々の試料調製機を用いて均質な調製試料が得られるものと考えられた。

令和2年度は、検査部位の変更が残留農薬等の分析結果に及ぼす影響について検討した。すなわち、みかん、すいか、びわを検討対象食品として、これら食品の検査部位変更前後の試料を調製した。検討対象農薬等39化合物を調製した試料に添加し、「LC/MSによる農薬等の一斉試験法I(農産物)」を用いて試験溶液を調製した。調製した試験溶液をLC-MS/MSで測定し、添加した各農薬等の回収率を求めた。検査部位変更前後の調製試料における回収率を比較し、検査部位の変更が農薬等の分析結果に及ぼす影響について検討した。

令和3年度は、本年度は検査部位が変更される果実を含めた10食品について、通常の常温磨砕法よりも均質な試料が得られる可能性が高い凍結粉砕法を用いた試料調製を検討した。3種類の凍結粉砕法(液体窒素・凍結方式、ドライアイス・予冷方式、ドライアイス・予備凍結方式)の操作手順を確立した後、試料の粉砕状況を常温磨砕法と比較した。その結果、柔軟性のある果皮は凍結粉砕法の方が微粒子となったのに対し、硬い種子や果皮は常温磨砕法の方が小さくなる傾向が認められ、食品によって均質化しやすい試料調製法が異なることが明らかとなった。また、農薬が残留した食品を凍結粉砕法及び常温磨砕法で試料調製し、分析値のばらつきを求めた結果、均質性が低い場合、少量の試料を分析に供すると農薬の分布によってはばらつきが大きくなることが示された。これらの結果から、食品によって適切な試料調製法を選択するのが望ましいと考えられた。

以上の検討から、検査部位の変更後も従来から用いられている常温磨砕法で、検査に必要な均質な調製試料が得られるものと考えられた。ただし、試料に種子や果皮等が含まれるため、農薬によっては試料マトリックスの測定への影響により異なる結果を生じる可能性があることがわかった。このような場合でも、使用するLC-MS/MSの測定感度に応じて試験溶液を希釈することで、大幅な変更

をすることなく対応可能であると考えられた。また、凍結粉碎法は、一般に、常温磨砕法よりも均質な試料が得られる可能性が高いと思われるが、食品によって均質化しやすい試料調製法は異なり、必ずしも凍結粉碎法の方が均質化しやすいとは言えないことが示された。これらの結果から、食品によって適切な試料調製法を選択するのが望ましいと考えられた。

研究協力者

坂井隆敏(国立医薬品食品衛生研究所)

食品部主任研究官)

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)

菊地博之(国立医薬品食品衛生研究所)

食品部主任研究官)

A. 研究目的

国内の残留農薬等の検査における検査部位は『食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生省告示第370号)』に規定されているが、一部の食品はCODEX基準と一致していない。検査部位の不一致は輸出入の際に係争の原因となるため、国際的な整合を図る必要がある。

CODEX基準の検査部位を採用した場合、現行の検査部位とは試料マトリックス等が異なるため、試験操作や分析結果に影響を及ぼす可能性がある。そのため、検査部位の変更の影響の有無や程度を明らかにするとともに対処法について提案する必要がある。そこで本研究では、検査機関における変更後の検査部位の円滑な導入及び運用を目的として、検査部位変更前後の試料を調製し、調製試料の状態や添加回収試験結果等を比較することにより、検査部位の変更によって起こり得る検査への影響や問題点を把握するとともに、それらの対処法について提案する。

令和元年度は、検討対象食品について検査部位変更前後の試料を調製し、調製した試料の状態

や粒子の大きさなどを比較、考察することにより、検査部位の変更が調製試料の均質性に及ぼす影響について検討した。

令和2年度は、検査部位変更前後の試料を用いて添加回収試験を行い、得られた結果を比較することにより、検査部位の変更が分析結果に及ぼす影響について検討した。

令和3年度(2021年度)は、検査部位が変更される果実を含めた10食品について、通常の常温磨砕法よりも均質な試料が得られる可能性が高い凍結粉碎法を用いた試料調製を検討し、試料の粉碎状況や分析値のばらつきを比較することを目的とした。

B. 研究方法

I. 試料の均質性に対する影響[令和元年度]

1. 検討対象食品

検討対象食品として、検査部位が変更される食品のうち、みかん、メロン、キウイ、すいか及びももを選択した。

2. 試料調製機

以下に、本研究で使用した市販の試料調製機を示した。

試料調製機 A: Braun 社製 Multiquick 7

試料調製機 B: FMI 社製 robot coupe R-4V.V.B

試料調製機 C: Blendtec 社製 EZ blender EZM-2J

3. 試料の均質性の検討

各試料調製機を使用した常温磨砕により、各検討対象食品について、変更前(現行の国内の検査

部位、原則として可食部位)及び変更後(CODEXにおける検査部位、種や果皮等を含む)の試料を調製した。なお、変更後の「もも」の調製については、種子を鋤等で粗く粉碎した後、果皮及び果肉部分と合わせ、試料調製機に供した。調製した各試料について、目視により果肉、果皮、種子などの状態を確認した。

次に、調製した試料を標準網ふるいに供し、ふるいを通す重量や調製試料の状態などを指標として、均質性への影響の有無や程度を調査した。すなわち、2.0 mm、1.4 mm、1.0 mm、0.71 mm及び0.5 mmの標準網ふるいを上から順に重ね、調製した各試料100 gを2.0 mmの標準網ふるいに乗せた。標準網ふるいを重ねたまま、上から緩やかに水を流し、各標準網ふるいを通させた。約60°Cに設定した乾燥機に各標準網ふるいを入れて水分を除いた後、各標準網ふるい上の試料の重量(乾燥重量)を測定した。また、各標準網ふるい上の試料の状態等について目視により確認した。

II. 分析結果に対する影響[令和2年度]

1. 検討対象食品

検討対象食品として、検査部位が変更される食品のうち、みかん、びわ及びすいかを選択した。

2. 試料調製

試料調製機はBraun社製Multiquick 7を用いた。検査部位変更前後の検討対象食品をそれぞれ試料調製機で均質化した。

3. 検討対象農薬等

検討対象農薬等は、検査部位が変更される食品(キウイ、すいか、みかん、もも、びわ、まくわうり、メロン類果実)に共通して基準値が設定されている農薬等のうち、「LC/MSによる農薬等の一斉試験法 I (農産物)」の別表1に記載された39化合物(アセタミプリド、アトラジン、イプロジオン、イミ

ダクロプリド、エチオン、オキサジキシル、カルバリル、カルフェントラゾンエチル、キナルホス、クロチアニジン、クロルピリホス、クロルピリホスメチル、ジウロン、ジメエート、チアベンダゾール、メソミル、トリアジメノール、トリアジメホン、トリデモルフ、トリフルムロン、トリフロキシストロビン、ビテルタノール、ピペロニルブトキシド、ピリミカーブ、ピリミホスメチル、フェノキサプロップエチル、フェノキシカルブ、フェンプロピモルフ、ブタフェナシル、ブプロフェジン、フルオメツロン、プロクロラズ、プロポキシル、ペナラキシル、ホキシム、ボスカリド、メチダチオン、メトキシフェノジド、リニユロン)を選択した。なお、上記の化合物のうち、イプロジオン、メソミル、フェノキサプロップエチル及びプロクロラズについては、代謝物や関連化合物など、親化合物以外の化合物も規制対象に含まれているが、本研究では親化合物のみを対象として検討を実施した。

本検討における検討対象農薬等及び検査部位が変更される果実類における残留基準値を表1に示した。

4. 添加回収試験

添加回収試験は、「LC/MSによる農薬等の一斉試験法 I (農産物)」を用いて行った。以下、試験溶液調製法の詳細を示した。

検査部位変更前後の調製試料20.0 gを採り、検討対象農薬等の混合標準溶液1 mLを添加、攪拌し、室温で30分間放置した。これにアセトニトリル50 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトニトリル20 mLを加え、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。この溶液から正確に20 mLを分取し、塩化ナトリウム10 g及び0.5 mol/Lリン酸緩衝液(pH 7.0)20 mLを加え、10分間振とうした。静置した後、分離した水層を捨てた。アセトニトリル層を

40℃以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物にアセトニトリル及びトルエン(3:1)混液 2 mL を加えて溶かした。

次いで、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積層ミニカラム(500 mg/500 mg)に、アセトニトリル及びトルエン(3:1)混液 10 mL を注入し、流出液は捨てた。このカラムに、上記で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル及びトルエン(3:1)混液 20 mL を注入し、全溶出液を 40℃以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物をメタノールに溶かし、正確に 4 mL としたものを試験溶液とした。

得られた試験溶液を LC-MS/MS に注入し、各検討対象農薬等のピーク面積値を求めた。得られたピーク面積値から、絶対検量線法により各検討対象化合物の回収率を求めた。

5. 装置及び測定条件

以下に、本研究で使用した装置及び測定条件を示した。

① LC 装置及び測定条件

高速液体クロマトグラフ: Nexera X2 (島津製作所製)

分析カラム: XTERRA MS C18 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 µm、Waters 製)

カラム温度: 40℃

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)

グラジエント条件 (t: 時間 (分))

t₀, B=15%; t₁, B=40%; t_{3.5}, B=40%; t₆, B=50%; t₈, B=55%; t_{17.5}, B=95%; t₃₅, B=95%

流速: 0.2 mL/分

注入量: 5 µL

② 質量分析装置及び測定条件

タンデム型質量分析計: LCMS-8060

イオン化モード: ESI(+) 及び ESI(-)

インターフェイス電圧: 4.0 kV (ESI(+)) 及び -3.0 kV (ESI(-))

インターフェイス温度: 300℃

DL 温度: 250℃

ネブライザーガス: 3 L/min

ドライイングガス: 10 L/min

ヒーティングガス: 10 L/min

ヒートブロック温度: 400℃

コリジョンガス: アルゴン (270 kPa)

また、各検討対象農薬等の保持時間、タンデム質量分析における測定イオン等を表 2 に示した。

III. 試料調製法の検討[令和 3 年度]

1. 食品

果実(みかん、びわ、もも、キウイ、すいか、まくわうり、メロン、トマト、ぶどう及びパイナップル)、大豆及びごまの種子(洗いごま及びいりごま)はインターネットを介して購入したものを用いた。みかん、びわ、もも、キウイ、すいか、まくわうり及びメロンについては変更後の検査部位、トマト、ぶどう、パイナップル、大豆及びごまの種子は食品、添加物等の規格基準(昭和 34 年厚生省告示第 370 号)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試料調製した。

2. 試薬及び試液

(1) 有機溶媒及び試薬

アセトニトリル及びトルエンは関東化学製の残留農薬試験用、LC-MS/MS 測定用の水及びメタノールは関東化学製の LC/MS 用を用いた。試験溶液調製用の水は超高純度蒸留水精製装置で蒸留したものを用いた。塩化ナトリウムは富士フィルム和光純薬製の残留農薬試験用、酢酸アンモニウム、リン酸水素二カリウム及びリン酸二水素カリウムは富士フィルム和光純薬製の特級を用いた。ろ紙は

アドバンテック製の定量ろ紙 No.5A、ケイソウ土は富士フィルム和光純薬製のセライト 545 を用いた。液化炭酸ガス(純度 > 99.5 vol%) 及び液体窒素(純度 > 99.99%) は鈴木商館から購入した。ドライアイス、液化炭酸ガスボンベ(サイホン付) にドライアイス製造装置(アイスティーサイエンス製) を接続し、用時調製した。

(2) 農薬標準品及び標準溶液

アセタミプリド標準品(純度 99.9%) は林純薬工業製、イマダクロプリド標準品(純度 99.5%) は富士フィルム和光純薬製、フルジオキシニル標準品(純度 99.6%) は富士フィルム和光純薬製、テブコナゾール標準品(純度 99.5%) は Merck 製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 10 mL に溶解して調製した。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

グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル(グラファイトカーボン/PSA) 積層ミニカラムは InertSep GC/PSA (500 mg/500 mg/6 mL、ジーエルサイエンス製) 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(K_2HPO_4) 52.7 g 及びリン酸二水素カリウム(KH_2PO_4) 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

粉碎機は Robot Coupe BLIXER-3D(エフ・エム・アイ製: 回転数 3000 rpm、容器容量 3.7 L) 及び GM200(Verder Scientific 社) を用いた。なお、Robot Coupe BLIXER-3D に付属しているプラスチック製の蓋スクレーパーアーム Assy 及びハンド

ルは、硬い試料を粉碎すると破損することがあるため、使用しなかった。

水分測定は、水分計 MOC63u(島津製作所製) を用いて、標準乾燥自動停止モード(設定温度 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、精密型デジタル温度計 SK-810PT(佐藤計量器製作所製) に低温センサ S810PT-30 を接続して使用した。

pH測定は、卓上型 pHメータ F-72(堀場製作所製) にスリーブ ToupH 電極 9681S-10D(堀場製作所製) を接続したものをを用いて行った。

粒子径分布測定は、レーザ回折式粒子径分布測定装置 SALD-2300(島津製作所製) 及び多機能サンプラ MS23(島津製作所製) を用いて測定を行った。

実験室内の温度及び湿度は、温湿度ロガーSK-L754 に分離センサ SK-L754-2 を接続して測定した。

LC-MS/MS は、Nexera X3(島津製作所製) 及び Triple Quad 7500(Sciex 製) を使用した。データ解析は Sciex OS(Sciex 製) を用いて行った。

4. 測定条件

(1) MS 条件

イオン化法 ESI(+) 及び ESI(-) ; イオンスプレー電圧 2500 V ; ヒーター温度 350°C ; カーテンガス N_2 , 35 psi ; ネブライザーガス ドライエアー, 80 psi ; ターボガス ドライエアー, 80 psi ; コリジョンガス N_2 , 7 ; 測定イオン 表 1 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 μ m、ジーエルサイエンス製) ; カラム温度 40°C ; 注入量 3 μ 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 0.3

mL/min; グラジエント条件 0分(A:B=90:10)→10分(A:B=5:95)→15分(A:B=5:95)→15.01分(A:B=0:100)→20.00分(A:B=0:100)→20.01分(A:B=90:10); 保持時間 表 1 に示した。

5. 試料調製

検体約 500 g を約 2.5 cm 角にカットし、常温磨砕法(A)及び凍結粉砕法(B~D)の各方法で試料調製した。なお、びわ及びももの種子はいずれの方法でも粉砕が困難であったため、種子を除いた後、試料調製を行った。

A. 常温磨砕法

カットした検体約 500 g を全量、粉砕機に入れ、120 秒間磨砕した。

B. 凍結粉砕法(液体窒素・凍結方式)

①ステンレスビーカー(5 L 容)に液体窒素を約 2 L 入れ、カットした検体約 500 g を加えた。

②①の液体窒素が 500 mL 程度になったら、液体窒素をさらに 1~2 L 加え、合計 4 分間冷却した。

③液体窒素約 200 mL を粉砕機に入れ、約 5 秒間運転し、粉砕機を冷却した。

④②で得られた凍結試料の約半量をステンレス製穴あきおたまを用いて粉砕機に入れ、10 秒間粉砕した。

⑤残りの凍結試料を穴あきおたまを用いて粉砕機に加え、110 秒間粉砕した。

C. 凍結粉砕法(ドライアイス・予冷方式)

①カットした検体約 500 g 及び検体重量の 1.1 倍量のドライアイス(約 550 g)を予冷用容器(プラスチック製)に入れ、蓋を被せ(密閉せずに)、3 分間予冷した。なお、予冷容器に入れる際は、予冷に用いるドライアイスの約半量を入れた後、検体を加え、その上に残り半量のドライアイスを加えた。また、予冷中は、約 30 秒毎に 5 秒間程度、容器を振り、よく混合した。

②粉砕機にドライアイス 100 g(粉砕機冷却用)を入れ、約 10 秒間運転し、粉砕機を冷却した。

③①で得られたドライアイス混合試料の約半量を粉砕機に入れ、10 秒間粉砕した。

④残りのドライアイス混合試料を粉砕機に加え、110 秒間粉砕した。

D. 凍結粉砕法(ドライアイス・予備凍結方式)

①カットした検体約 500 g をフリーザーバッグに入れた。これを冷凍庫(-30℃)で一晩静置し、凍結した。

②粉砕機にドライアイス 100 g(粉砕機冷却用)を入れ、約 10 秒間運転し、粉砕機を冷却した。

③①で得られた凍結試料の約半量を粉砕機に入れ、10 秒間粉砕した。

④残りの凍結試料及び試料重量の 0.5 倍量のドライアイス(約 250 g)を加え、110 秒間粉砕した。

6. 粒子径分布測定

調製した試料の粒子径分布をレーザ回折法により測定した。各方法で調製した試料約 5 mL をビーカー(100 mL 容)に採取し、分散媒液(水)を約 95 mL 加えてよく混合したものを測定試料とした。予め、サンブラバスを分散媒液で満たし、液を循環させてブランク測定を行った後、測定試料の一部を適正濃度になるまで投入して測定を行った。試料の希釈操作は 3 回行い、希釈ごとに測定を 1 回行った。屈折率は 1.65-0.01i を用いた。

7. 分析値のばらつきの検討

農薬が残留したぶどう(巨峰、種子なし)を A~D の各方法により試料調製した。得られた試料を量り採り(試料量 5、10 及び 20 g:各 5 個)、試験溶液を調製後、LC-MS/MS で測定し、分析値及びそのばらつきを求めた。

8. 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

A~D の各方法で調製した試料(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。

遠沈管(50 mL 容、PP 製)に、塩化ナトリウム 10 g 及びリン酸緩衝液 20 mL を入れた。これに抽出液(試料 0.2 g 相当: 試料量 5 g の場合は 4 mL、10 g の場合は 2 mL、20 g の場合は 1 mL)及びアセトニトリル(試料量 5 g の場合は 16 mL、10 g の場合は 18 mL、20 g の場合は 19 mL)を加え、10 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) 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/PSA 積層ミニカラム(500 mg/500 mg)に負荷した後、アセトニトリル/トルエン(3:1) 20 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、残留物をメタノール 1 mL に溶解したものを試験溶液(試料 0.2 g/mL)とした。

C. 研究結果及び考察

I. 試料の均質性に対する影響[令和元年度]

1. 調製試料の状態について

1-1 みかん

変更前の検査部位については、使用する試料調製機に依らず、比較的均質な液状の調製試料が得られた。変更後の検査部位については、外果皮が含まれることにより流動性の少ない調製試料が得られたが、均質性は良好と判断された。

1-2 メロン

変更前の検査部位について、果肉部分は均質な液状の調製試料が得られた。試料調製機 A 及び試料調製機 B を用いた場合、種子はほぼ原形を留めた状態で容器底部に沈殿した。試料調製機 C を用いた場合には、種子も細かく粉碎され、調製試料中に比較的均質に分散した。変更後の検査部位については、果皮が含まれることで調製試料の流動性が少なくなったためと推察されるが、試料調製機 A 及び試料調製機 B を用いた場合でも種子をある程度粉碎可能であり、比較的均質な調製試料が得られた。

1-3 キウイ

変更前の検査部位については、果肉部分は流動性の少ない均質な調製試料が得られた。試料調製機 A 及び試料調製機 B を用いた場合には、種子は原形を留めた状態で調製試料中に均質に分散した。試料調製機 C を用いた場合には、種子も粉碎可能であった。変更後の検査部位については、目視で確認できる程度の大きさの果皮が調製試料中に分散し、その大きさは概ね試料調製機 A > 試料調製機 B > 試料調製機 C の順であった。種子については、試料調製機 A では変更前の検査部位と同様に粉碎されず、試料調製機 B では変更前の検査部位よりも若干粉碎され易くなることが確認された。

1-4 すいか

変更前の検査部位については、使用する試料調製機に依らず、果肉部分は均質な液状の調製試料が得られた。試料調製機 A 及び試料調製機 B

を用いた場合には、種子はほぼ原形を留めた状態で容器底部に沈殿した。試料調製機 C を用いた場合には、種子も細かく粉砕された。変更後の検査部位については、果皮が含まれることで調製試料の流動性が少なくなり、試料調製機 A 及び試料調製機 B を用いた場合でも種子をある程度粉砕可能であった。

1-5 もも

変更前の検査部位については、使用する試料調製機に依らず、流動性の少ない均質な調製試料が得られた。変更後の検査部位については、目視で確認できる程度の大きさの果皮が調製試料中に分散し、その大きさは概ね試料調製機 A > 試料調製機 B > 試料調製機 C の順であった。また、種子については、予め鎚等で粗く粉砕したものを試料調製機に供することである程度細かく粉砕可能であったが、一回の処理で刃こぼれが生じた。

2. 調製試料中の粒子の大きさについて

検査部位変更前後の調製試料を各目開きの標準網ふるいに供し、各ふるいを通過しなかった調製試料の重量を測定し、調製試料中の粒子の分布を調査した。また、各ふるいを通過しなかった調製試料の部位等を目視により確認した。結果を表 1 及び図 1 に示した。

2-1 みかん

検査部位の変更に伴い、標準網ふるいを通過しない粒子が増加する傾向が確認された。しかしながら、検査部位変更後の調製試料における各ふるい上の粒子の重量は、供試した調製試料 (100 g) の 0.6% 未満であり、0.5 mm より大きな粒子の重量 (各ふるい上の粒子の重量の合計) は、最大であった試料調製機 A においても 2% 程度であった。これらの結果から、検査部位変更後の調製試料のほとんどが 0.5 mm 未満の微細な粒子であり、調製試料の均質性にほとんど影響はないものと推察され

た。

なお、標準網ふるいを通過しなかった粒子は、変更前の検査部位では瓢囊、変更後の検査部位では瓢囊及び油胞がほとんどであった。

2-2 メロン

検査部位の変更に伴い、標準網ふるいを通過しない粒子が増加する傾向が確認された。しかしながら、検査部位変更後の調製試料における各ふるい上の粒子の重量は、供試した調製試料 (100 g) の 2% 未満であり、0.5 mm より大きな粒子の重量 (各ふるい上の粒子の重量の合計) は、最大であった試料調製機 A においても 4% 未満であった。これらの結果から、検査部位変更後の調製試料のほとんどが 0.5 mm 未満の微細な粒子であり、調製試料の均質性にはほとんど影響はないものと推察された。

なお、標準網ふるいを通過しなかった粒子は、変更前の検査部位では種子 (種皮及び胚乳等)、変更後の検査部位では種子 (種皮及び胚乳等) 及び果皮がほとんどであった。

2-3 キウイ

検査部位の変更に伴い、若干ではあるが標準網ふるいを通過しない粒子が増加する傾向が確認された。検査部位変更後の調製試料における各ふるい上の粒子の重量は、供試した調製試料 (100 g) の 3% 未満であり、0.5 mm よりも大きな粒子の重量 (各ふるい上の粒子の重量の合計) は、最大であった試料調製機 B においても 4% 未満であった。これらの結果から、検査部位変更後の調製試料のほとんどが 0.5 mm 未満の微細な粒子であり、調製試料の均質性にはほとんど影響はないものと推察された。

なお、標準網ふるいを通過しなかった粒子は、変更前の検査部位では種子及び果肉、変更後の検査部位では果皮、種子及び果肉がほとんどであっ

た。

2-4 すいか

検査部位の変更に伴い、試料調製機 C を除き、標準網ふるいを通過しない粒子が増加する傾向が確認された。検査部位変更後の調製試料における各ふるい上の粒子の重量は、供試した調製試料(100 g)の0.4%未満であり、0.5 mm よりも大きな粒子の重量(各ふるい上の粒子の重量の合計)は、最大であった試料調製機 B においても1%未満であった。これらの結果から、検査部位変更後の調製試料のほとんどが0.5 mm 未満の微細な粒子であり、調製試料の均質性にはほとんど影響はないものと推察された。

なお、標準網ふるいを通過しなかった粒子は、変更前の検査部位では種子及び種皮、変更後の検査部位では果皮、種子及び種皮がほとんどであった。

2-5 もも

検査部位の変更に伴い、標準網ふるいを通過しない粒子が増加する傾向が確認された。しかしながら、検査部位変更後の調製試料における各ふるい上の粒子の重量は、供試した調製試料(100 g)の1.5%未満であり、0.5 mm より大きな粒子の重量(各ふるい上の粒子の重量の合計)は、最大であった試料調製機 B においても2%未満であった。これらの結果から、検査部位変更後の調製試料のほとんどが0.5 mm 未満の微細な粒子であり、調製試料の均質性にはほとんど影響はないものと推察された。

なお、標準網ふるいを通過しなかった粒子は、変更前の検査部位では果肉中の繊維、変更後の検査部位では種皮、果皮及び果肉中の繊維がほとんどであった。

以上のように、検査部位が変更される食品と使

用する試料調製機の組み合わせによっては、変更後の検査部位において調製試料中の粒子が大きくなる傾向が確認されたものの、0.5 mm 以上の大きさの粒子の量は調製試料の5%未満であり、ほとんどは0.5 mm 未満の微細な粒子に粉碎されていることが確認された。また、検査部位変更後の調製試料の状態については、種子や果皮、果肉等の各部位が均質に分散し、特定の部位の沈殿や分離は確認されなかった。

これらの結果から、検査部位の変更、すなわち国際基準の検査部位を採用した場合には、種子や果皮等が含まれることにより変更前の検査部位とは若干均質性が異なるものの、調製試料のほとんどは微細な粒子まで粉碎されており、特定部位の沈殿等もないことから、種々の試料調製機を用いて均質な調製試料が得られるものと考えられた。

II. 分析結果に対する影響[令和2年度]

1. 一斉試験法の適用性について

先ず、本検討で用いた一斉試験法の適用性について検討した。本検討における検討対象農薬等は、検査部位が変更される果実類に基準値が設定されている農薬等の内、本検討で用いた一斉試験法(LC/MS による農薬等の一斉試験法(農産物))の別表1に記載された農薬等を選択した。したがって、本検討における検討対象農薬等について、抽出や転溶操作においては概ね良好な回収率が得られることが予想されたが、精製用ミニカラムにおいてはロットによる保持・溶出のばらつきが問題になることもあることから、精製用ミニカラム(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積層ミニカラム、500 mg/500 mg)からの回収率を確認した。

予め、アセトニトリル及びトルエン(3:1)混液 10 mL で洗浄し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積層ミニカラム(ジーエルサイエンス(株)製 InertSep GC/NH₂, 500 mg/500 mg)に検討対象農薬等各 100 ng を添加した。次いで、アセトニトリル及びトルエン(3:1)混液 20 mL を注入した。続いて、アセトニトリル及びトルエン(3:1)混液 5 mL ずつを 2 回注入した。各溶出液を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去した。残留物をメタノール 4 mL に溶解し、LC-MS/MS で測定した。

結果を表 3 に示した。チアベンダゾールを除き、検討対象農薬等は使用した精製用ミニカラムから良好に回収された。なお、チアベンダゾールについて、標準溶液のみを負荷した場合には良好な回収率が得られなかったが、検討対象食品を用いた添加回収試験においては比較的良好な回収率が得られたことから、試料マトリックス共存下においては良好なカラム回収率が得られると推察された。

以上の結果から、「LC/MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物)」を用いることで、検討対象農薬等を精確に測定可能であり、検査部位の変更の影響の有無を正確に評価することが可能であることが期待された。

2. 分析結果に及ぼす検査部位の変更の影響

2-1 びわ

検査部位変更前後の試料を調製し、それぞれの調製試料に 0.01 ppm の濃度となるように検討対象農薬等を添加した。それぞれの添加試料から試験溶液を調製し、LC-MS/MS で測定した。結果を表 4 に示した。アトラジンでは、検査部位の変更に伴い回収率が低下した(変更前 83%、変更後 63%)。検査部位変更前のピーク面積比(「マトリックス添加標準溶液のピーク面積値」/「溶媒標準溶液のピーク面積値」)が 0.83、変更後のピーク面積比が 0.64 であったことから、検査部位の変更により試料中のマトリックス成分が変わり、測定の際のイオン化抑制の影響が大きくなったことが示唆され

た。びわにおけるアトラジンの基準値が 0.02 ppm であることを考慮すると、実際の検査等において測定の際の影響により良好な回収率が得られない場合には、試験溶液を希釈して測定するなどの対応が効率的であると考えられた。イプロジオンにおいても、検査部位の変更に伴う回収率の低下が確認された(変更前 93%、変更後 72%)。一方、ピーク面積比は同等であったことから(変更前 0.91、変更後 0.92)、回収率低下の原因は測定の際の試料マトリックスの影響が大きくなったためではなく、変更後の試料に含まれる成分によるイプロジオンの分解などによるものと推察された。びわにおけるイプロジオンの基準値が 10 ppm であることを考慮すると、実際の検査で基準値濃度を分析する場合には、検査部位変更の影響はほとんどないと考えられた。

その他の検討対象農薬等については、検査部位の変更に伴う回収率の大きな変動は確認されなかったことから、分析結果に及ぼす影響は小さいことが予想された。

2-2 すいか

検査部位変更前後の試料を調製し、それぞれの調製試料に 0.01 ppm の濃度となるように検討対象農薬等を添加した。それぞれの添加試料から試験溶液を調製し、LC-MS/MS で測定した。

結果を表 5 に示した。メソミルにおいては、ブランク試料にピークが検出されたため(0.01 ppm の回収率 100%に相当する標準溶液で得られるピーク面積値の 4 倍程度)、良好な回収率及びピーク面積比が得られなかった。しかしながら、検査部位変更前後の試料におけるブランク値は大きく変わらなかったことから、分析結果に及ぼす影響は小さいことが予想された。

その他の検討対象化合物については、検査部位の変更に伴う回収率の大きな変動は確認されなかったことから、分析結果に及ぼす影響は小さいこと

が予想された。

2-3 みかん

検査部位変更前後の試料を調製し、それぞれの調製試料に 0.01 ppm の濃度となるように検討対象農薬等を添加した。それぞれの添加試料から試験溶液を調製し、LC-MS/MS で測定した。なお、みかんについては、予備検討の際に検査部位変更後の試料において回収率が大きく低下する農薬等が確認されたことから、変更前後の試料についてそれぞれ 5 併行の添加回収試験を実施した。

検査部位変更前の試料における結果を表 6 に示した。ジウロンでは、測定の際の試料マトリックスの影響により(ピーク面積比 0.76)、良好な真度が得られなかった(真度 66%)。ジウロンを除く検討対象農薬等については、比較的良好な真度、併行精度及びピーク面積比が得られた。

検査部位変更後の試料における結果を表 7 に示した。イプロジオン(真度 47%、ピーク面積比 0.51)、トリアジメノール(真度 40%、ピーク面積比 0.43)、トリアジメホン(真度 39%、ピーク面積比 0.38)、ブタフェナシル(真度 34%、ピーク面積比 0.35)及びメキシフェノジド(真度 38%、ピーク面積比 0.39)においては、測定の際の試料マトリックスの影響が大きくなった結果、回収率が大幅に低下した。また、カルフェントラゾンエチル(真度 86%、ピーク面積比 0.86)、キナルホス(真度 81%、ピーク面積比 0.87)、メソミル(真度 68%、ピーク面積比 0.86)、フェノキシカルブ(真度 75%、ピーク面積比 0.79)においても、測定の際の試料マトリックスの影響が若干大きくなった結果、回収率が低下した。また、クロチアニジン(真度 63%、ピーク面積比 0.94)については、測定の際の試料マトリックスの影響はほとんど変わらないが、回収率が低下した。検査部位変更前の試料における真度が 81%であったことから、試験溶液調製操作における損失が若干増え

た可能性があることが推察された。

実際の検査においては、基準値濃度における分析結果への影響の有無が重要と考えられることから、検査部位変更後の 0.01 ppm 添加試料において回収率の低下が確認された上記 10 化合物について、基準値濃度での添加回収試験を実施した。検査部位変更前の試料における結果を表 8、検査部位変更後の試料における結果を表 9、検査部位変更後の添加回収試験結果を、添加濃度が 0.01 ppm の場合と基準値濃度の場合とで比較した結果を表 10 に示した。イプロジオン、トリアジメノール、トリアジメホン及びブタフェナシルについては、基準値濃度においても良好な真度が得られなかった。このことから、これらの化合物については、実際の検査において誤判定を生じる可能性が高くなることが予想された。

3. 良好な分析結果が得られない際の対応等

みかんにおいては、検査部位の変更に伴い試料中のマトリックス成分が大きく変わったことにより、回収率が大幅に低下する化合物が確認された(イプロジオン、トリアジメノール、トリアジメホン、ブタフェナシル及びメキシフェノジド)。これらの化合物については、実際の検査において誤判定の結果を生じる可能性が高くなることが予想されたため、対応等について検討した。

本検討で用いた「LC/MSによる農薬等の一斉試験法 I (農産物)」は、試験溶液調製操作に塩析及び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積層ミニカラム精製を含むため、比較的精製効果が高い試験法である。試料マトリックスの影響により良好な分析結果が得られない場合の対応としては、精製操作の追加が一般的且つ優先的と考えられるが、本検討では実際の検査における効率等を考慮し、先ず試験溶液の希釈の有効性について検討した。

すなわち、検査部位変更後のみかん試料の添加回収試験(添加濃度:基準値)で得られた試験溶液を4倍希釈して再測定した。結果を表11に示した。イプロジオン、トリアジメノール及びブタフェナシルについては、試験溶液を希釈することにより比較的良好的な回収率が得られた。トリアジメホンについては、若干ではあるが回収率が改善されたことから、更に高倍率の希釈を行うことで更に回収率が改善されることが期待された。メキシフェノジドについては、回収率・ピーク面積値ともに4倍希釈での改善は認められなかったものの、基準値が2 ppmと高いことから、更に高倍率の希釈を行うことで回収率が改善される可能性があると考えられた。

以上、検査部位の変更に伴い良好的な回収率が得られなくなった場合、本検討で用いた一斉試験法と同等に精製効果が高い分析法であれば、使用するLC-MS/MSにおける測定感度に応じて試験溶液を希釈することで効率的な対応が可能であると考えられた。

Ⅲ. 試料調製法の検討[令和3年度]

凍結粉砕法による試料調製では、通常行われている常温磨砕法よりも均質な試料が得られると考えられている。しかしながら、各試料調製法による均質性を比較した報告は非常に少ない。そこで本研究では、検査部位が変更される7食品(みかん、びわ、もも、キウイ、すいか、まくわうり及びメロン)に加えて、常温磨砕法では均質化が困難とされているトマト、ぶどう及びパイナップルについて、3種類の凍結粉砕法[液体窒素・凍結方式(B)、ドライアイス・予冷方式(C)及びドライアイス・予備凍結方式(D)]の操作手順を確立した後、試料の粉砕状況や分析値のばらつきを常温磨砕法(A)と比較することとした。なお、試料の均質性は、試料調製法に加えて、使用する粉砕機、刃の形状、回転数、

粉砕時間、検体量等によって大きく異なることから、本研究では以下の条件に統一して検討を行うこととした。

粉砕機: 残留農薬等の検査で汎用されている Robot Coupe BLIXER-3D(回転数 3000 rpm)

運転時間: 120 秒間

検体量: 500 g

1. 凍結粉砕法による試料調製の検討

(1) 検体の大きさ

凍結粉砕法ではカットした検体を凍結した後、粉砕する。水分含量の多い果実等の食品では、凍結により検体が硬化するため、検体の大きさによっては粉砕が困難な場合がある。そこで、果実を対象とし、各試料調製法で磨砕/粉砕可能な検体の大きさについて検討した。その結果、常温磨砕法(A)では4 cm角以下の検体は磨砕可能であった。これに対し、凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式(D)では冷凍庫で凍結させた硬い検体を粉砕する必要があるため、3 cm角以上では回転が停止する等粉砕が困難であった。凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式(D)で果実を粉砕する際は2.5 cm角以下が適切と考えられた。凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式(C)*では、予冷操作で検体の表面は凍結するものの、内部は凍結しないため、3 cm角程度の検体の粉砕が可能であった。また、凍結粉砕法 液体窒素・凍結方式(B)では、液体窒素により完全に凍結するものの、脆化(ひび割れ等)するため、3 cm角程度の検体を粉砕することが可能であった。

以上のことから、果実の試料調製においては、常温磨砕法(A)では4 cm角以下、凍結粉砕法 液体窒素・凍結方式(B)及びドライアイス・予冷方式(C)では3 cm角以下、凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式(D)では2.5 cm角以下が適切と考えられた。本研究では試料調製法間での試料

の均質性を比較するため、いずれの方法においても約 2.5 cm 角にカットした検体を用いることとした。

*粉碎前は半凍結状態であるが、ドライアイス存在下で粉碎中に凍結する。

(2) 冷却剤量

① ドライアイスを用いた凍結粉碎法(C及びD)

ドライアイスを用いた凍結粉碎法(C及びD)は、ドライアイスの存在下で粉碎する方法である。投入したドライアイスは粉碎中に昇華し、減少するが、粉碎中にドライアイスが不足した場合、試料温度が上昇し、試料が融解する恐れがある。一方、粉碎時にドライアイスが大過剰投入した場合、粉碎後にドライアイスが昇華させるのに時間を要することに加え、刃と試料が接触しにくくなることにより、試料の均質性の低下を招く。そこで、予冷方式(C)及び予備凍結方式(D)での適切なドライアイス量を検討した。その結果、予冷方式(C)では検体量の1.1~1.2倍量、予備凍結方式(D)では0.5~0.6倍量が適切と考えられた。本検討においては、予冷方式(C)は検体量の1.1倍量、予備凍結方式(D)は0.5倍量のドライアイスを用いることとした。また、これに加えて、予冷方式(C)、予備凍結方式(D)のいずれにおいても粉碎前にドライアイス100gを粉碎機に入れて約10秒間運転し、粉碎機を冷却することとした。なお、粉碎に必要なドライアイス量は、使用する粉碎機、粉碎時間、食品、検体量等によって異なるため、用いる粉碎条件で適切な量を検討する必要があると考えられる。

② 液体窒素を用いた凍結粉碎法(B)

いずれの食品(500g、2.5cm角)も液体窒素を3~4L加えて4分間放置することにより、中心部まで完全に凍結した。また、液体窒素で凍結した検体は極めて低温となるため、液体窒素の非存在下で120秒間粉碎しても、粉碎直後の試料温度は-70~-60℃となり、融解は認められなかった。これら

の結果から、カットした検体を液体窒素3~4Lで凍結した後、液体窒素の非存在下で粉碎することとした。なお、粉碎機の冷却のため、粉碎前に液体窒素を200mL程度粉碎機に入れて約5秒間運転することとした。

2. 粉碎状況及び粒子径分布

果実10食品をA~Dの各方法で試料調製し、得られた試料の粉碎状況を比較した。凍結粉碎法(B~D)で得られた試料は、いずれの食品もパウダー状であり、均質であるように見受けられた。しかしながら、融解すると比較的大きい粒子も認められたことから、粉碎した試料を融解後、各方法で得られた試料を比較することとした。

(1) 粉碎状況

①柔軟性のある果皮をもつ食品(トマト、ぶどう、みかん、びわ、もも)

常温磨砕法では均質化が難しいとされているトマトを試料調製した。その結果、常温磨砕法では2mm×2mm程度の果皮が多く見られた。一方、凍結粉碎法(B~D)では1mm×1mm以上の果皮は認められなかった。凍結粉碎法(B~D)で得られた試料を1mmの標準網ふるいに通したところ、ふるい上にはほとんど残らなかったが、常温磨砕法では観察されなかった種子が少量認められた。

トマトと同様に常温磨砕法では均質化が難しいとされているぶどう(巨峰、種子なし)の粉碎状況を図3に示した。常温磨砕法(A)では3mm×3mm程度の果皮が多く残った。これに対し、凍結粉碎法(B~D)では果皮も1mm×1mm以下に粉碎され、1mmの標準網ふるい上にはほとんど残らなかった。

常温磨砕法においても、用いる装置によっては、ぶどうのような果皮を微細に磨砕することが可能と推測された。そこで、Robot Coupe BLIXER-3Dよりも高い回転数での運転が可能なGM200を用い

て常温磨砕し、粉碎状況を Robot Coupe BLIXER-3D と比較した。その結果、GM200 では果皮も 1 mm×1 mm 以下となり(図 2)、1 mm の標準網ふるいを通したところ、ふるい上にはほとんど残らなかった。この結果から、常温磨砕法では均質化が難しいとされているぶどうについても、粉碎機や粉碎条件によっては 1 mm×1 mm 以下の小さい粒子にすることが可能であることが示された。しかしながら、磨砕後の試料温度は Robot Coupe BLIXER-3D で 20°C、GM200 で 28°Cとなり、高回転数で運転すると試料温度が上昇することが確認された。揮散または熱分解しやすい農産物を分析する際は試料温度にも留意する必要があると考えられた。

みかんでは、常温磨砕法(A)の方が凍結粉碎法(B~D)よりも若干、果皮(外果皮、中果皮)と見られる粒子が多いようであった。凍結粉碎法間で比較すると、液体窒素を用いた凍結粉碎法(B)の方が、ドライアイスを用いた凍結粉碎法(C及びD)よりも小さい粒子が多かった。

びわ及びももでは、A~D のいずれの方法でも種子を粉碎することはできなかった。このため、いずれも種子を除去した後、試料調製を行った。調製した試料を 1 mm の標準網ふるいに通したところ、いずれもふるい上にはほとんど残らなかった。各方法で得られた試料を比較したところ、液体窒素を用いた凍結粉碎法(B)で大きい粒子が少ない傾向が見られた。

②硬い果皮及び種子をもつ食品(メロン、まくわうり、すいか)

メロンの粉碎状況を図 3 に示した。メロンは、トマトやぶどうとは異なり、常温磨砕法(A)よりも凍結粉碎法(B~D)において 1 mm×1 mm 以上の濃緑色の果皮が多く見られた。また、種子についても凍結粉碎法(B~D)の方が常温磨砕法(A)よりも若

干、大きい粒子が多かった。

まくわうりでは、常温磨砕法(A)において 1 mm×1 mm 以上の濃黄色の果皮が多く見られた。これに対し、凍結粉碎法(B~D)では 1 mm×1 mm 以上の白色の種子が多く認められた。

すいかでは、ドライアイスを用いた凍結粉碎法(C及びD)において、種子や果皮(外果皮)の大きい粒子が多く認められた。また、常温磨砕法では 1 mm×1 mm 未満の果肉とみられる粒子が多く見られたのに対し、凍結粉碎法(B~D)で得られた試料はいずれも液状であり、肉眼では果肉の粒子は認められなかった。

③柔軟性のある果皮及び硬い種子をもつ食品(キウイ)

図 4 にキウイの粉碎状況を示した。常温磨砕法では 1 mm×1 mm 以上の茶色の果皮が多く見られたが、1 mm×1 mm 以上の種子は認められなかった。これに対し、凍結粉碎法では 1 mm×1 mm 以上の果皮は認められず、1 mm×1 mm 以上の種子が多く見られた。凍結粉碎法間で比較すると、液体窒素を用いた凍結粉碎法(B)よりもドライアイスを用いた凍結粉碎法(C及びD)の方が 1 mm×1 mm 以上の種子が多く見られた。

④その他の食品(パイナップル)

パイナップルでは、いずれの試料調製法でも 1 mm×1 mm 以上の果皮と見られる粒子が残り、試料調製法間で差異は認められなかった。

以上の結果から、ぶどう、トマト及びキウイ等の柔軟性のある果皮は、凍結粉碎法と比べ、常温磨砕法では均質化されにくいことが確認された。これらの果皮は、刃と接触しても切断されにくいためと考えられた。一方、硬い果皮(メロン及びすいか等)や種子(キウイ、すいか及びまくわうり等)は、凍結粉碎法では常温磨砕法と比べ、粉碎されにくいことがわかった。常温磨砕法では試料が液状とな

るものが多いが、凍結粉砕法では粉体であるため、流動性がやや低く、試料と刃が接触しにくいことが原因と考えられた。凍結粉砕法間(B~D)で比較すると、いずれの食品も液体窒素を用いた凍結粉砕法(B)の方が、ドライアイスを用いた凍結粉砕法(C及びD)よりも若干、粒子が小さい傾向が見られた。液体窒素を用いた凍結粉砕法(B)では、液体窒素によって脆化することに加え、ドライアイスを用いた凍結粉砕法(C及びD)とは異なり、冷却剤の非存在下で粉砕するため、刃と接触しやすく、小さい粒子に粉砕されやすいものと考えられた。

以上の結果から、食品によって均質化しやすい試料調製法は異なり、必ずしも凍結粉砕法の方が均質化しやすいとは言えないことが示された。

3. 分析値のばらつき

試料調製法による試料の均質性の違いを評価するため、農薬が残留した試料を用いて分析値のばらつきを比較した。予備検討により、アセタミプリド、イミダクロプリド、テブコナゾール及びフルジオキソニルが残留していることを確認したぶどう(巨峰、種子なし)をA~Dの各方法により試料調製し、得られた試料を5、10及び20g(各5個)量り採り、B. 研究方法の『8. 試験溶液の調製』に従って試験溶液を調製後、LC-MS/MSで測定して分析値及びそのばらつきを求めた。その結果、分析に供する試料量を20gとした場合、試料調製法間で分析値のばらつきに大きな差は認められず、いずれもRSD 11%以下であった(図7、表4)。分析に供する試料量を5gとした場合においても、アセタミプリド及びイミダクロプリドは、試料調製法間で分析値のばらつきに大きな差は認められず、いずれもRSD 9%以下であった。テブコナゾール及びフルジオキソニルについても、凍結粉砕法(B~D)ではRSD 10%以下であった。しかしながら、常温磨砕法(A)ではテブコナゾールはRSD 17%、フルジオ

キソニルはRSD 20%となり、凍結粉砕法と比較してばらつきが大きかった。アセタミプリド及びイミダクロプリドは $\log P_{ow}$ がそれぞれ0.8及び0.57と比較的極性が高く、水溶性が高い(水溶解度はそれぞれ4.25及び0.61 g/L)のに対し、テブコナゾール及びフルジオキソニルは $\log P_{ow}$ がそれぞれ3.7及び4.12と極性が低く、水溶性が低い(水溶解度はそれぞれ0.036及び0.0018 g/L)ため、果皮に残留しやすい可能性がある。図1に示したように凍結粉砕法では1 mm×1 mm以上の粒子がほとんど認められなかったのに対し、常温磨砕法では3 mm×3 mm以上の果皮が多く見られたことから、常温磨砕法では果皮の均質性が低く、果皮に多く残留していた農薬の分析値のばらつきが大きくなったものと考えられた。これらの結果から、試料の均質性が低い場合、分析に供する試料量が少量であると、農薬の分布によっては分析値のばらつきが大きくなることを示された。

本検討においては、常温磨砕法では均質化が難しいとされているぶどうを用いたが、前述のように、常温磨砕法よりも凍結粉砕法の方が大きい粒子が残る場合もあることから、他の食品でも検討が必要と考えられた。

4. 留意事項の検討

凍結粉砕法を行う上での主な懸念点として、1) 試料への冷却剤の残存、2) 結露や吸湿による試料中の水分含量の増加、3) (ドライアイスを用いた凍結粉砕法では)ドライアイス由来の二酸化炭素による試料pHの変化が挙げられる。そこで本研究ではこれら3点について検討した。

1) 試料への冷却剤の残存

①ドライアイスを用いた凍結粉砕法

ドライアイスを用いた凍結粉砕法で試料調製を行うと、粉砕直後の試料中にはドライアイスが残存している。試料採取時にドライアイスが大量に残存

していた場合、正確に試料を秤量することができない。そこで、試料中のドライアイスが昇華したかどうかを判断する方法を検討することとした。粉碎後の試料の温度は、ドライアイスの残存量が減少すると上昇することから、試料温度を判断指標として用いることができるか検討した。キウイを用いてドライアイス・予冷方式(C)で凍結粉碎し、残存するドライアイスの割合と試料温度の関係を調べた。その結果、試料中のドライアイスの残存割合が2%以上の場合、試料温度は-79~-78℃となった(図8)。一方、2%未満の場合は、ドライアイスの割合が低くなるほど、試料温度が上昇し、1%では約-60℃となった。ドライアイスの残存割合が1%未満であれば、ドライアイスの残存に伴う試料の秤量誤差が分析値へ及ぼす影響はほとんどないものと考えられる。図8の結果から、-50℃以上の時、ドライアイスの残存割合は常に0.6%以下であったことから、「試料温度-50℃以上」を分析値への影響がほとんどない量までドライアイスが昇華したことを示す判断指標とすることができると考えられた。なお、試料温度が-50℃未満となり、ドライアイスが昇華させる必要がある場合は、粉碎機で追加粉碎するか、冷凍庫内で静置するのが良いと考えられた。

②液体窒素を用いた凍結粉碎法

本検討で確立した方法は、カットした検体を液体窒素で凍結後、凍結した検体のみを粉碎機に入れて粉碎する方法である。液体窒素の非存在下で粉碎するため、試料中に液体窒素は残存せず、粉碎直後に試料を採取しても問題はないと考えられる。

2) 吸湿・結露の影響

凍結粉碎法では、粉碎機及び試料を低温に保ちながら粉碎を行うため、空気中の水分による試料の吸湿の可能性がある。また、空気中の水分はドライアイス自身にも結露すると考えられており、ド

ライアイスによる水分の持ち込みの可能性も指摘されている。そこで、水分含量の高いキウイと低い大豆及びごまの種子(洗いごま及びいりごま)をA~Dの各方法で試料調製し、得られた試料の水分含量を比較した。その結果、凍結粉碎法(B~D)ではいずれの食品においても常温粉碎法と比較して0.1~1%高値を示した(表5)。調製直後の試料温度を測定したところ、常温粉碎法ではキウイで19℃であったのに対し、水分含量の低い食品では大豆:46℃、洗いごま:53℃、いりごま:59℃と粉碎時に発熱が見られた(表6)。一方、凍結粉碎法では、いずれの食品も液体窒素を用いた凍結粉碎法(B):-69~-38℃、ドライアイスを用いた凍結粉碎法(C及びD):-79~-78℃と低温であった。これらの結果から、常温磨砕法よりも凍結粉碎法の方が水分含量が高値を示した原因として、①凍結粉碎法での吸湿、持ち込みの他に、②水分含量の低い食品では常温粉碎時に発生する熱による試料中水分の気化の可能性が考えられた。しかしながら、常温磨砕法と凍結粉碎法の水分含量の差は2%未満であることから、水分含量の変化による分析値への影響はほとんどないと考えられた。

3) ドライアイスを用いた凍結粉碎法における試料pHへの影響

ドライアイスを用いた凍結粉碎法では、試料調製の過程でドライアイス由来の二酸化炭素が試料に溶解し、試料のpHが低下する可能性が指摘されている。そこで、A~Dの各方法で調製した試料のpHを測定し、比較した。その結果、いずれの食品においても凍結粉碎法(B~D)で得られた試料と常温磨砕法(A)で得られた試料のpHの差は±0.3以内であり、ドライアイス由来の二酸化炭素による試料のpH変化はほとんどないことが示された(図9)。

5. 果実を対象とした凍結粉碎法による試料調製

の操作手順及び留意事項

Robot Coupe BLIXER-3D を使用して、果実 500 g を凍結粉砕法により試料調製する際の操作手順例とその留意事項を以下にまとめた。

(1) 液体窒素を用いた凍結粉砕法

①ステンレスピーカーに液体窒素を約 2 L 入れ、カットした検体¹500 g を加える。

②①の液体窒素が 500 mL 程度になったら、液体窒素をさらに 1~2 L 加え、合計 4 分間程度冷却する^{2,3}。

③液体窒素を 200 mL 程度粉砕機に入れ^{4,5}、約 5 秒間運転し、粉砕機を冷却する。

④②で得られた凍結試料の約半量を粉砕機に入れ⁶、10 秒間粉砕する。

⑤残りの凍結試料を粉砕機に加え、110 秒間粉砕する。

¹ 3 cm 角程度にカットするとよい。

² 凍結していない場合は液体窒素を少量加えてさらに冷却する。

³ 残った液体窒素は気化させる。

⁴ プラスチック製の部品には液体窒素が触れないように注意する。

⁵ ②で残った液体窒素を用いてもよい。

⁶ 凍結試料のみを粉砕機に入れる。粉砕機に液体窒素を大量に加えて運転すると、粉砕機から試料が噴き出す恐れがある。

(2) ドライアイスを用いた凍結粉砕法 I (予冷方式)

①カットした検体¹500 g 及び検体重量の 1.1 倍量のドライアイス(550 g)²を混合し³、3 分間予冷する。

②粉砕機にドライアイス 100 g (粉砕機冷却用)を入れ、約 10 秒間運転し、粉砕機を冷却する。

③①で得られたドライアイス混合試料の約半量を粉砕機に入れ、10 秒間粉砕する。

④残りのドライアイス混合試料を粉砕機に加え、110 秒間粉砕する⁴。

¹ 3 cm 角程度にカットするとよい。

² 必要なドライアイス量は、使用する粉砕機、粉砕時間、食品、検体量等によって異なるため、適切なドライアイス量を検討する必要がある。

³ 容器に入れて予冷する場合は、用いるドライアイスの約半量を容器に入れた後、カットした検体を加え、さらにその上に残りのドライアイスを加えて、軽く蓋を被せるとよい。また、検体とドライアイスがよく混合するように、予冷中は約 30 秒毎に 5 秒間程度、容器を振るとよい。なお、容器は密閉しないこと。

⁴ 試料を採取する際、ドライアイスの残存量が多いと正確に秤量できない。試料温度が -50°C 未満の場合、ドライアイスが試料重量の 1%以上残存している可能性があるため、粉砕機で追加粉砕するか、冷凍庫内で静置することにより、ドライアイス昇華させる。なお、ドライアイスは昇華すると体積が増大するため、残存している可能性がある場合は、容器を密閉しないこと。

(3) ドライアイスを用いた凍結粉砕法 II (予備凍結方式)

①カットした検体¹500 g をフリーザーバッグに入れ、冷凍庫内で一晩静置し、凍結する。

②粉砕機にドライアイス 100 g (粉砕機冷却用)を入れ、約 10 秒間運転し、粉砕機を冷却する。

③①で得られた凍結試料の約半量を粉砕機に入れ、10 秒間粉砕する。

④残りの凍結試料及び試料重量の 0.5 倍量のドライアイス(250 g)²を加え、110 秒間粉砕する³。

¹ 凍結すると硬化するため、2.5 cm 角以下にカットするとよい。

² 必要なドライアイス量は、使用する粉砕機、粉砕時間、食品、検体量等によって異なるため、適切なドライアイス量を検討する必要がある。

³ 試料を採取する際、ドライアイスの残存量が多い

と正確に秤量できない。試料温度が-50℃未満の場合、ドライアイスが試料重量の1%以上残存している可能性があるため、粉砕機で追加粉砕するか、冷凍庫内で静置することにより、ドライアスを昇華させる。なお、ドライアスは昇華すると体積が増大するため、残存している可能性がある場合は、容器を密閉しないこと。

(4) その他の留意事項

- ① 試料調製は実験室を適宜換気して行うこと。ドラフト内で行うのが望ましい。
- ② 液体窒素またはドライアイスを使用する際は、凍傷に注意すること。
- ③ 粉砕機の容器、カッター刃、カッター刃のシャフト等はステンレス製を用いるのが望ましい。プラスチック製の部品は粉砕中に破損し、異物混入の原因となる恐れがある。
- ④ ブロック状やペレット状のドライアイスは、水等の添加剤や異物が含まれている場合があるため、留意すること。

D. 結論

国内の残留農薬等の検査において国際的に採用されている検査部位を導入することは、輸出入の際の係争を回避する点から非常に重要である。この導入に伴う検査部位変更が、試料調製や試験操作、検査結果に及ぼす影響を明らかにするとともに、問題点への対処法を提案することにより、検査部位変更後の国内及び輸出入における残留農薬等の検査及び基準値判定の円滑な対応が可能となる。

I. 試料の均質性に対する影響[令和元年度]

令和元年度は、検討対象食品について検査部位変更前後の試料を調製し、調製した試料の状態や粒子の大きさなどを比較、考察することにより、検査部位の変更が調製試料の均質性に及ぼす影

響について検討した。その結果、種子や果皮等が含まれることにより変更前の検査部位とは若干均質性が異なるものの、調製試料のほとんどは微細な粒子まで粉砕されており、特定部位の沈殿等もないことから、種々の試料調製機を用いて均質な調製試料が得られるものと考えられた。

II. 分析結果に対する影響[令和2年度]

検査部位の変更が残留農薬等の分析結果に及ぼす影響について検討した。みかん、びわ、すいかを検討対象食品として、これら食品の検査部位変更前後の試料を調製した。検討対象農薬等 39 化合物を調製した試料に添加し、「LC/MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物)」を用いて添加回収試験を実施した。検査部位変更前後の回収率を比較した結果、びわ及びすいかについては、検査部位の変更に伴う回収率の変化の程度は小さく、検査部位の変更が分析結果に及ぼす影響は小さいことが推察された。一方、みかんについては、検査部位の変更に伴いイプロジオン、トリアジメノール、トリアジメホン、ブタフェナシル及びメトキシフェノジドにおいて回収率が大幅に低下したことから、実際の検査において誤判定の結果を生じる可能性が高くなることが予想された。

このような場合の効率的な対応としては、使用する LC-MS/MS の測定感度に応じて試験溶液を希釈することが有用である可能性が高いと考えられた。

III. 試料調製法の検討[令和3年度]

検査部位が変更される果実を含めた 10 食品について、通常の常温磨砕法よりも均質な試料が得られる可能性が高い凍結粉砕法を用いた試料調製を検討した。凍結粉砕法の操作手順を確立した後、試料の粉砕状況を常温磨砕法と比較した。そ

の結果、食品によって均質化しやすい試料調製法は異なり、必ずしも凍結粉碎法の方が均質化しやすいとは言えないことが示された。また、農薬が残留した食品を用いて分析値のばらつきを求めた結果、均質性が低い場合、少量の試料を分析に供すると農薬の分布によってはばらつきが大きくなることが示された。これらの結果から、食品によって適切な試料調製法を選択するのが望ましいと考えられた。

以上の検討から、検査部位の変更後も、従来から用いられている常温磨砕法で、調製試料のほとんどは微細な粒子まで粉碎されており、特定部位の沈殿等もないことから、検査に必要な均質な調製試料が得られるものと考えられた。ただし、試料に種子や果皮等が含まれるため、農薬によっては試料マトリックスの測定への影響により、異なる結果を生じる可能性があることがわかった。このような場合の効率的な対応としては、使用する LC-

MS/MS の測定感度に応じて試験溶液を希釈することで、大幅な変更をすることなく対応可能であると考えられた。また、凍結粉碎法は、一般に、常温磨砕法よりも均質な試料が得られる可能性が高いと思われるが、食品によって均質化しやすい試料調製法は異なり、必ずしも凍結粉碎法の方が均質化しやすいとは言えないことが示された。これらの結果から、食品によって適切な試料調製法を選択するのが望ましいと考えられた。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 試料の均質性に対する影響[令和元年度]

表 1 調製試料中の粒子の大きさと重量

	粒子の大きさ	重量(g)					
		試料調製機A		試料調製機B		試料調製機C	
		変更前	変更後	変更前	変更後	変更前	変更後
みかん	2.0 mm <	0.31	0.28	0.56	0.02	0.02	0.02
	1.4 mm - 2.0 mm	0.09	0.42	0.11	0.07	0.02	0.02
	1.0 mm - 1.4 mm	0.03	0.44	0.08	0.26	0.02	0.03
	0.71 mm - 1.0 mm	0.09	0.55	0.08	0.53	0.04	0.12
	0.5 mm - 0.71 mm	0.04	0.39	0.08	0.41	0.07	0.42
メロン	2.0 mm <	0.66	0.35	0.44	0.28	0	0
	1.4 mm - 2.0 mm	0.32	0.34	0.16	0.06	0	0
	1.0 mm - 1.4 mm	0.24	0.98	0.10	0.23	0.03	0.03
	0.71 mm - 1.0 mm	0.31	1.55	0.16	0.97	0.18	0.32
	0.5 mm - 0.71 mm	0.25	0.28	0.12	0.26	0.17	0.32
キウイ	2.0 mm <	0.01	0.59	0.03	0.01	0	0
	1.4 mm - 2.0 mm	0.27	0.47	0.24	0.30	0	0
	1.0 mm - 1.4 mm	1.86	1.61	1.84	2.54	0	0.03
	0.71 mm - 1.0 mm	0.07	0.14	0.12	0.48	0.03	0.19
	0.5 mm - 0.71 mm	0.08	0.09	0.11	0.29	0.05	0.31
すいか	2.0 mm <	0.20	0.06	0.33	0.07	0	0
	1.4 mm - 2.0 mm	0	0.12	0	0.11	0	0
	1.0 mm - 1.4 mm	0	0.27	0	0.15	0.05	0
	0.71 mm - 1.0 mm	0	0.20	0	0.25	0.05	0.02
	0.5 mm - 0.71 mm	0.02	0.08	0.02	0.28	0.16	0.03
もも	2.0 mm <	0	0.41	0	1.35	0	0.02
	1.4 mm - 2.0 mm	0	0.18	0	0.23	0	0.30
	1.0 mm - 1.4 mm	0.02	0.22	0	0.16	0	0.41
	0.71 mm - 1.0 mm	0.11	0.18	0	0.13	0	0.36
	0.5 mm - 0.71 mm	0.10	0.16	0.01	0.11	0	0.27

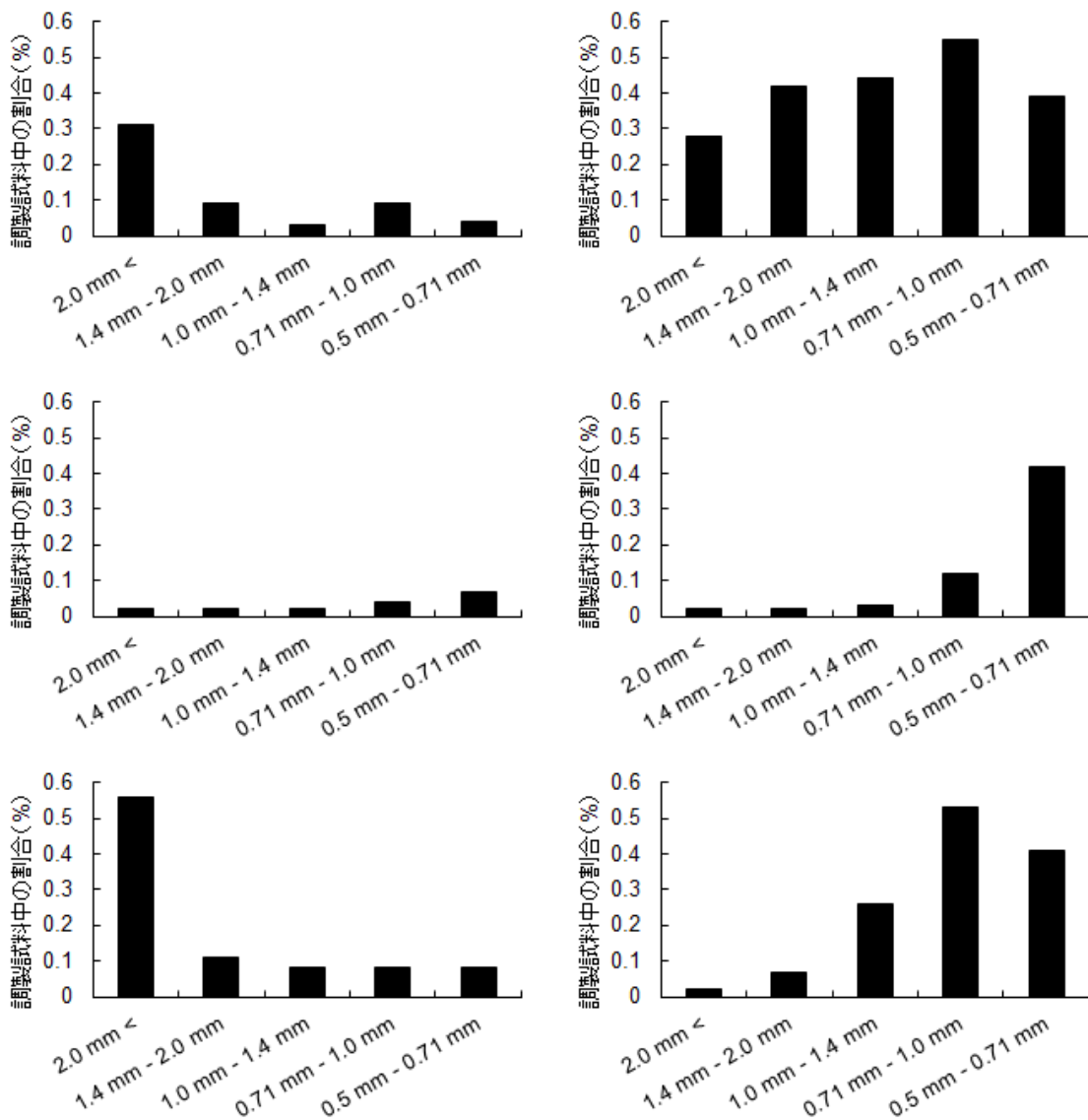


図 1-1 みかんにおける調製試料中の粒子の割合
 左列:検査部位変更前、右列:検査部位変更後
 上段:試料調製機 A、中段:試料調製機 B、下段:試料調製機 C

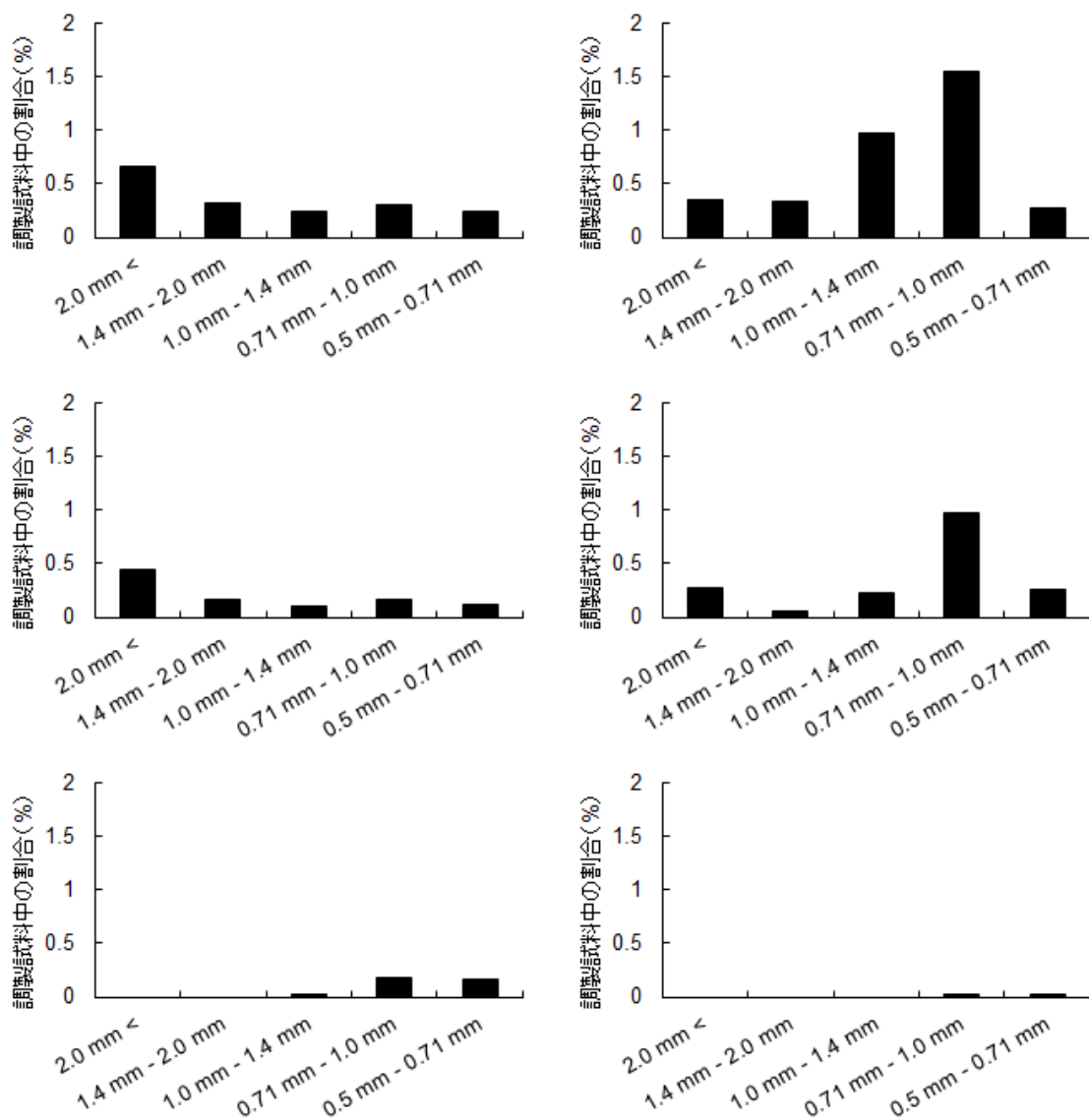


図 1-2 メロンにおける調製試料中の粒子の割合

左列:検査部位変更前、右列:検査部位変更後

上段:試料調製機 A、中段:試料調製機 B、下段:試料調製機 C

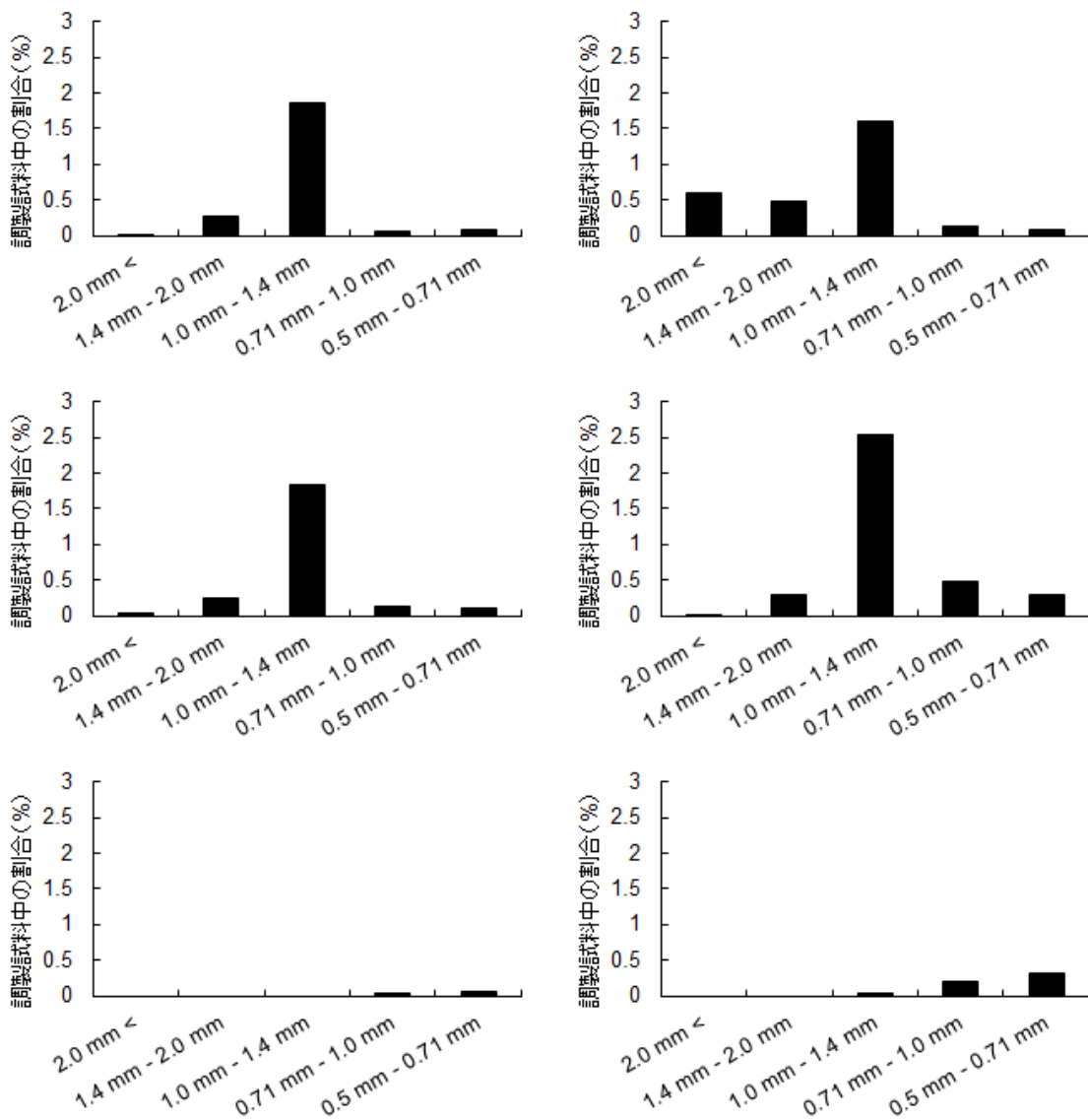


図 1-3 キウィーにおける調製試料中の粒子の割合
 左列:検査部位変更前、右列:検査部位変更後
 上段:試料調製機 A、中段:試料調製機 B、下段:試料調製機 C

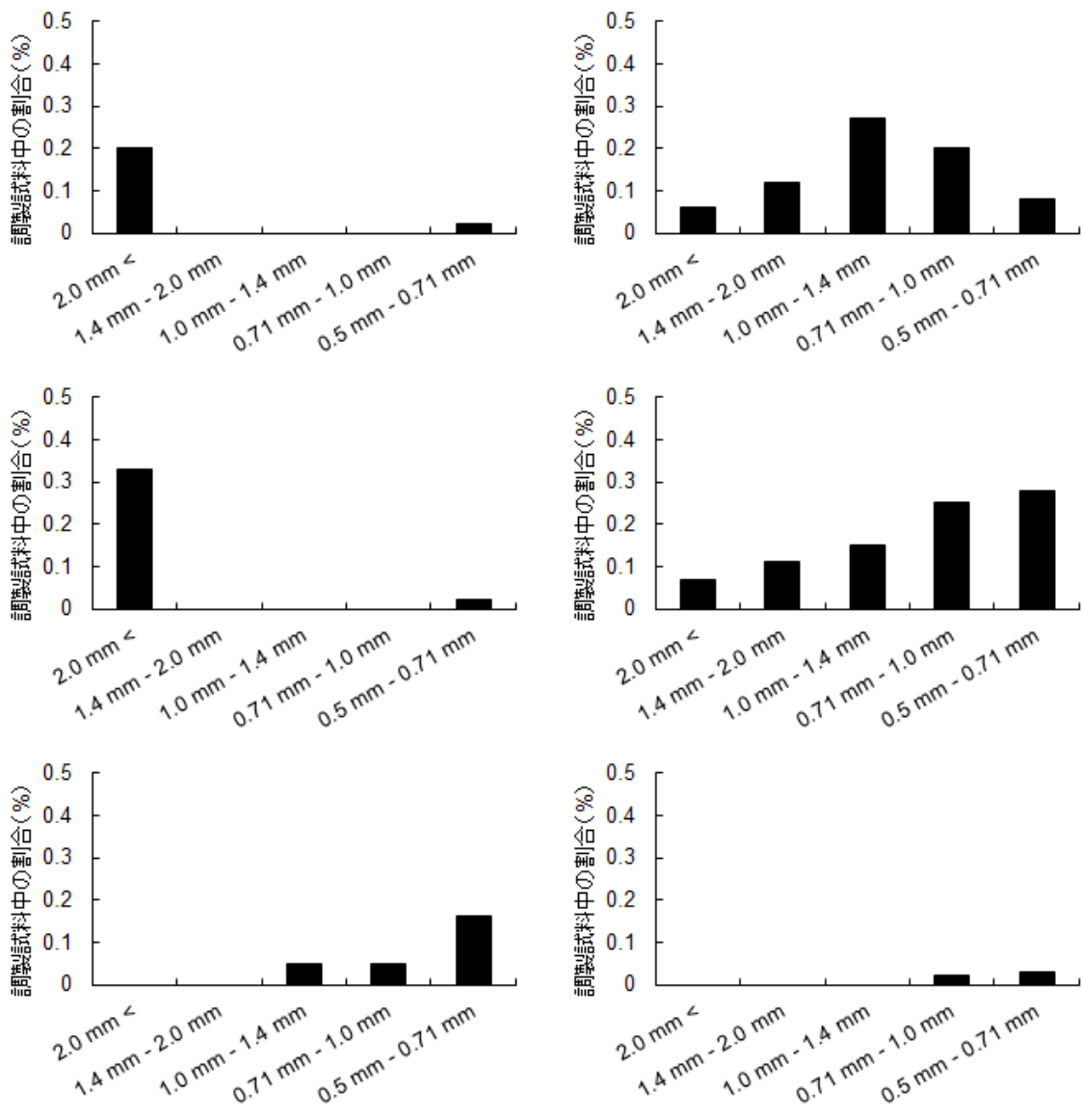


図 1-4 すいかにおける調製試料中の粒子の割合
 左列:検査部位変更前、右列:検査部位変更後
 上段:試料調製機 A、中段:試料調製機 B、下段:試料調製機 C

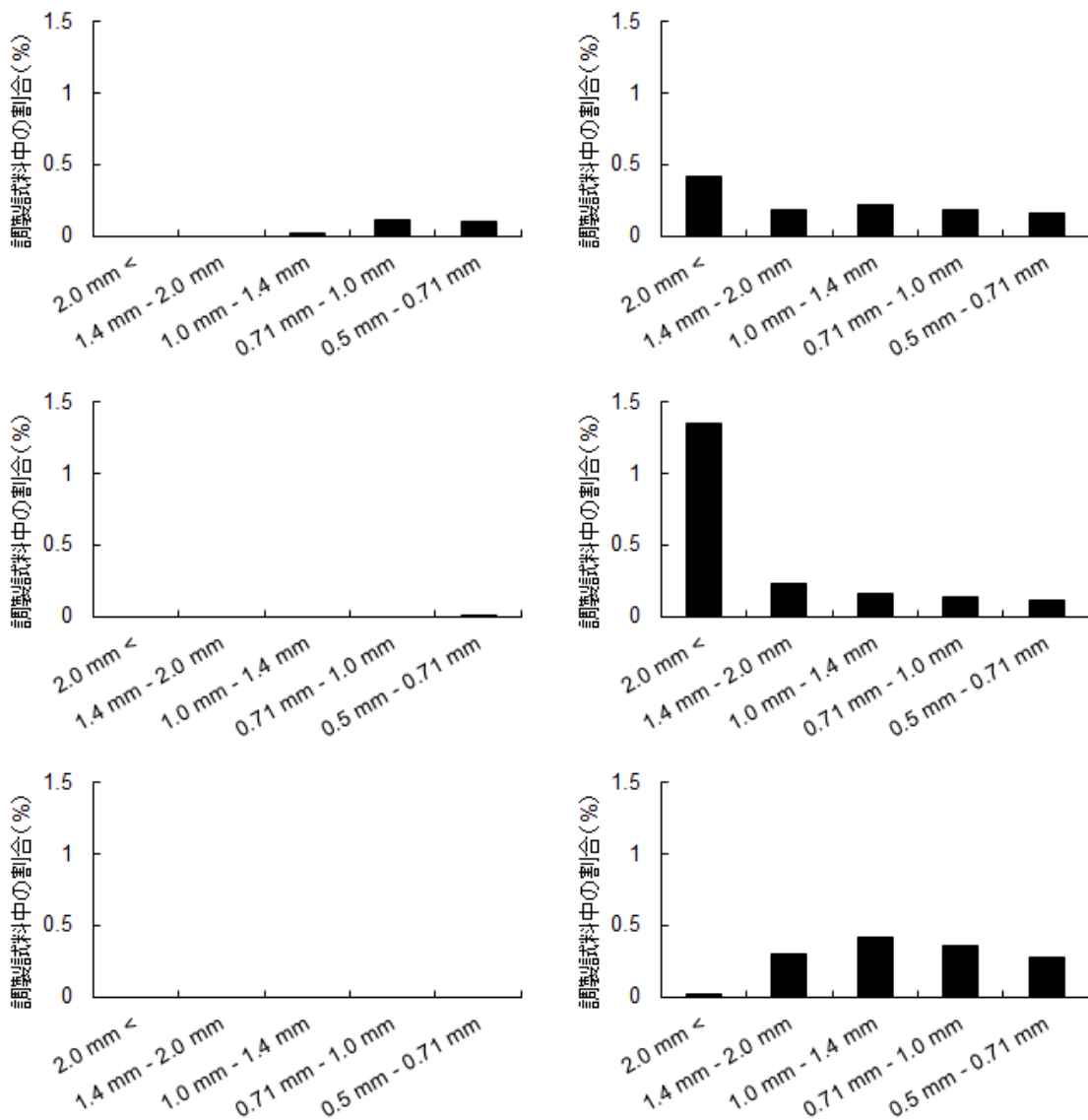


図 1-5 ももにおける調製試料中の粒子の割合

左列:検査部位変更前、右列:検査部位変更後

上段:試料調製機 A、中段:試料調製機 B、下段:試料調製機 C

II. 分析結果に対する影響[令和2年度]

表1 検討対象農薬等及び残留基準値

No.	検討対象農薬等	基準値(ppm)						
		みかん	キウイ	すいか	メロン類果実	もも	びわ	まくわうり
1	アセタミプリド	0.5	0.2	0.3	0.5	2	2	0.2
2	アトラジン	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
3	イプロジオン	10	5	10	10	10	10	10
4	イミダクロプリド	0.3	0.2	0.5	0.2	0.5	0.5	0.1
5	エチオン	5	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
6	オキサジキシル	1	1	1	1	1	1	1
7	カルバザリル	1	10	2	3	1	5	3
8	カルフェントラゾンエチル	0.1	0.1	0.1	0.1	0.08	0.08	0.1
9	キナルホス	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
10	クロチアニジン	1	0.03	0.2	0.3	0.7	1	0.05
11	クロルピリホス	1	2	0.01	0.01	1	0.5	0.01
12	クロルピリホスメチル	1	0.05	0.05	0.05	0.5	0.5	0.05
13	ジウロン	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
14	ジメトエート	1	1	1	1	1	1	1
15	チアベンダゾール	10	3	3	3	3	3	3
16	メソミル	1	2	1	0.3	2	2	0.2
17	トリアジメノール	0.1	0.1	2	0.5	0.1	0.5	0.5
18	トリアジメホン	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.5	0.1
19	トリデモルフ	0.05	0.05	0.08	0.08	0.05	0.05	0.08
20	トリフルムロン	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
21	トリフロキシストロピン	0.1	0.02	0.3	0.3	0.2	0.7	0.3
22	ピテルタノール	0.05	0.05	0.05	1	1	0.6	0.5
23	ビベロニルプトキシド	5	8	1	1	8	8	1
24	ピリミカーブ	0.05	0.5	0.5	0.5	0.5	1	1
25	ピリミホスメチル	0.1	1	0.1	0.1	0.1	1	0.1
26	フェノキサプロップエチル	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
27	フェノキシカルブ	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	2	0.05
28	フェンプロピモルフ	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
29	ブタフェナシル	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
30	ブプロフェジン	0.3	0.5	0.1	0.05	1	3	3
31	フルオメツロン	0.5	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
32	プロクロラズ	10	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
33	プロボキスル	1	1	1	1	1	1	1
34	ベナラキシル	0.05	0.05	0.2	0.1	0.05	0.05	0.1
35	ホキシム	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
36	ボスカリド	1	0.1	0.2	0.2	0.2	3	0.2
37	メチダチオン	5	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
38	メキシフェノジド	2	0.5	0.3	0.3	2	2	0.3
39	リニューロン	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2

表 2 検討対象農薬等の保持時間、測定イオン等

No.	検討対象農薬等	保持時間 (分)	相対保持 時間 ¹	モノイット ピーク質量	イオン化 モード	プリカーサー イオン(m/z)	定量用プロダクト イオン(m/z)	定性用プロダクト イオン(m/z)
1	アセタミプリド	5.6	0.46	222.0672	+	223.1	126.3	90.3
2	アトラジン	12.2	0.98	215.0938	+	216.1	174.3	96.3
3	イプロジオン	15.7	1.27	329.0334	+	330.0	245.2	288.3
4	イミダクロプリド	4.8	0.39	255.0523	+	256.1	209.3	175.4
5	エチオン	18.2	1.47	383.9876	+	385.0	199.3	143.2
6	オキサジキシル	8.4	0.68	278.1267	+	279.1	219.4	132.3
7	カルメチル	10.7	0.86	201.0790	+	202.1	145.4	127.3
8	カルフェントラゾンエチル	16.0	1.30	411.0364	+	429.1	346.2	384.2
9	キナルホス	16.1	1.30	298.0541	+	299.1	147.3	163.3
10	クロチアニジン	5.0	0.41	249.0087	+	250.0	132.2	169.3
11	クロルピリホス	18.5	1.50	348.9263	+	349.9	198.2	97.15
12	クロルピリホスメチル	17.2	1.39	320.8950	+	321.9	125.3	290.2
13	ジウロン	12.5	1.01	232.0170	-	231.2	150.2	122.2
14	ジメトエート	5.8	0.47	228.9996	+	230.3	199.2	125.3
15	チアベンダゾール	8.6	0.70	201.0361	+	202.0	175.3	131.4
16	メゾミル	4.1	0.33	162.0463	+	163.1	88.3	106.3
17	トリアジメノール	14.9	1.21	295.1088	+	296.4	70.3	99.4
18	トリアジメホン	14.6	1.18	293.0931	+	294.1	197.3	69.3
19	トリデモルフ	21.3	1.72	297.3032	+	298.3	130.4	98.3
20	トリフルムロン	16.7	1.35	358.0332	+	359.0	156.3	139.3
21	トリフロキシストロビン	17.3	1.40	408.1297	+	409.1	186.3	145.3
22	ピテルタノール	16.8	1.35	337.1790	+	338.2	70.3	99.3
23	ピペロニルブトキシド	18.2	1.47	338.2093	+	356.2	177.4	119.4
24	ピリミカーブ	11.7	0.95	238.1430	+	239.2	72.3	182.4
25	ピリミホスメチル-2	16.9	1.37	305.0963	+	306.1	108.3	164.4
26	フェノキサプロップエチル	17.7	1.43	361.0717	+	362.1	288.3	91.3
27	フェノキシカルブ	15.8	1.28	301.1314	+	302.1	88.3	116.3
28	フェンプロピモルフ	20.4	1.65	303.2562	+	304.3	147.4	117.3
29	ブタフェナシル	15.0	1.21	474.0805	+	492.1	331.2	180.2
30	ブプロフェジン	18.1	1.47	305.1562	+	306.2	201.4	57.3
31	フルオメツロン	11.4	0.92	232.0823	-	231.3	166.2	146.2
32	ブロクロラズ	16.8	1.36	375.0308	+	376.0	308.3	70.3
33	プロボキスル	9.7	0.78	209.1052	+	210.1	111.3	93.3
34	ベナラキシル	16.4	1.33	325.1678	+	326.2	148.4	91.3
35	ホキシム	16.7	1.35	298.0541	+	299.1	77.2	129.3
36	ボスカリド	14.1	1.14	342.0327	+	343.0	307.3	271.3
37	メチダチオン	12.9	1.04	301.9619	+	320.0	85.3	145.3
38	メトキシフェノジド	14.6	1.18	368.2100	-	367.2	149.3	105.3
39	リニューロン	13.7	1.11	248.0119	-	247.0	160.1	215.1

*1: イソキサフルトールの保持時間(12.4分)に対する相対値

表3 各検討対象農薬等の精製用ミニカラムからの回収率

No.	検討対象農薬等	回収率(%)			合計
		溶出画分1	溶出画分2	溶出画分3	
		溶出液 0 - 20 mL	溶出液 20 - 25 mL	溶出液 25 - 30 mL	
1	アセタミプリド	98	0	0	98
2	アトラジン	99	0	0	99
3	イプロジオン	109	0	0	109
4	イミダクロプリド	96	0	0	96
5	エチオン	95	0	0	95
6	オキサジキシル	100	0	0	100
7	カルメタリル	99	0	0	99
8	カルフェントラゾンエチル	88	0	0	88
9	キナルホス	91	0	0	91
10	クロチアニジン	100	0	0	100
11	クローピリホス	98	0	0	98
12	クローピリホスメチル	102	0	0	102
13	ジウロン	100	7	9	116
14	ジメトエート	99	0	0	99
15	チアベンダゾール	48	9	8	65
16	メノミル	96	0	0	96
17	トリアジメノール	101	0	0	101
18	トリアジメホン	104	0	0	104
19	トリデモルフ	100	0	0	100
20	トリフルムロン	99	0	0	99
21	トリフロキシストロピン	97	0	0	97
22	ピテルタノール	91	0	0	91
23	ピペロニルブトキシド	94	0	0	94
24	ピリミカール	99	0	0	99
25	ピリミホスメチル	90	0	0	90
26	フェノキサプロップエチル	106	0	0	106
27	フェノキシカルブ	105	0	0	105
28	フェンプロピモルフ	100	0	0	100
29	ブタフェナシル	102	0	0	102
30	ブプロフェジン	92	0	0	92
31	フルオメタゾン	99	0	0	99
32	ブロクロラズ	92	0	0	92
33	プロボキスル	94	0	0	94
34	ペナラキシル	98	0	0	98
35	ホキシム	96	0	0	96
36	ボスカリド	102	0	0	102
37	メチダチオン	97	0	0	97
38	メトキシフェノジド	101	0	0	101
39	リニエロン	103	0	0	103

精製用ミニカラム: InertSep GC/NH₂ (500 mg/500 mg)

表 4 びわにおける添加回収試験結果

No.	検討対象農薬等	添加濃度 (ppm)	検査部位変更前		検査部位変更後	
			回収率(%)	ピーク面積比 ^{*1}	回収率(%)	ピーク面積比 ^{*1}
1	アセタミプリド	0.01	96	1.00	93	1.00
2	アトラジン	0.01	83	0.83	63	0.64
3	イプロジオン	0.01	93	0.91	72	0.92
4	イミダクロプリド	0.01	88	0.99	86	0.93
5	エチオン	0.01	98	1.00	97	1.01
6	オキサジキシル	0.01	100	1.00	95	0.98
7	カルバリル	0.01	98	1.00	99	0.98
8	カルフェントラゾンエチル	0.01	98	1.02	92	1.02
9	キナルホス	0.01	101	0.99	94	0.99
10	クロチアニジン	0.01	87	0.95	72	0.84
11	クロルピリホス	0.01	100	0.98	94	0.99
12	クロルピリホスメチル	0.01	95	0.94	90	1.02
13	ジウロン	0.01	68	0.78	71	0.81
14	ジメトエート	0.01	97	1.02	96	1.00
15	チアベンダゾール	0.01	87	0.96	72	0.99
16	メノミル	0.01	83	0.98	80	0.94
17	トリアジメノール	0.01	100	1.03	95	1.05
18	トリアジメホン	0.01	98	0.99	95	0.99
19	トリデモルフ	0.01	103	1.04	94	1.01
20	トリフルムロン	0.01	100	1.02	102	1.00
21	トリフロキシストロピン	0.01	101	0.97	96	0.99
22	ピテルタノール	0.01	110	1.10	103	1.06
23	ピペロニルブトキシド	0.01	102	1.02	99	0.99
24	ピリミカーブ	0.01	97	0.97	92	0.94
25	ピリミホスメチル	0.01	102	0.99	98	1.03
26	フェノキサプロップエチル	0.01	101	1.00	97	1.00
27	フェノキシカルブ	0.01	100	1.01	98	1.00
28	フェンプロピモルフ	0.01	101	0.97	94	0.96
29	ブタフェナシル	0.01	103	1.00	95	1.01
30	ブプロフェジン	0.01	100	1.00	95	0.98
31	フルオメツロン	0.01	103	1.02	103	1.03
32	ブロクロラズ	0.01	95	1.00	95	1.00
33	プロボキスル	0.01	95	0.99	96	0.96
34	ベナラキシル	0.01	101	1.02	94	0.99
35	ホキシム	0.01	101	0.98	96	0.99
36	ボスカリド	0.01	103	1.04	95	1.00
37	メチダチオン	0.01	98	0.94	93	0.95
38	メトキシフェナゾド	0.01	99	1.00	98	0.99
39	リニューロン	0.01	98	1.03	95	1.02

*1:「マトリックス添加標準溶液のピーク面積値」/「溶媒標準溶液のピーク面積値」

表 5 すいかににおける添加回収試験結果

No.	検討対象農薬等	添加濃度 (ppm)	検査部位変更前		検査部位変更後	
			回収率(%)	ピーク面積比 ^{*1}	回収率(%)	ピーク面積比 ^{*1}
1	アセタミプリド	0.01	94	1.00	96	1.06
2	アトラジン	0.01	100	0.97	99	1.04
3	イプロジオン	0.01	92	0.98	77	1.00
4	イミダクロプリド	0.01	93	0.99	95	1.04
5	エチオン	0.01	92	0.93	92	1.02
6	オキサジキシル	0.01	100	1.00	99	1.00
7	カルバリル	0.01	99	0.97	97	1.01
8	カルフェントラゾンエチル	0.01	98	0.97	96	1.03
9	キナルホス	0.01	99	0.98	96	1.04
10	クロチアニジン	0.01	86	0.94	91	1.02
11	クロルピリホス	0.01	98	0.97	100	1.02
12	クロルピリホスメチル	0.01	97	1.02	98	1.04
13	ジウロン	0.01	78	0.87	77	0.82
14	ジメトエート	0.01	97	0.99	98	1.04
15	チアベンダゾール	0.01	90	1.01	93	1.05
16	メノミル	0.01	65	0.19	71	0.27
17	トリアジメノール	0.01	94	0.93	95	1.01
18	トリアジメホン	0.01	101	0.97	98	1.07
19	トリデモルフ	0.01	101	1.02	97	1.07
20	トリフルムロン	0.01	98	1.01	97	1.05
21	トリフロキシストロピン	0.01	98	0.95	100	1.07
22	ピテルタノール	0.01	89	0.90	89	1.01
23	ピペロニルブトキシド	0.01	100	1.00	96	1.02
24	ピリミカーブ	0.01	98	1.00	95	1.04
25	ピリミホスメチル	0.01	99	1.02	96	1.08
26	フェノキサプロップエチル	0.01	99	0.99	95	1.07
27	フェノキシカルブ	0.01	102	1.01	102	1.03
28	フェンプロピモルフ	0.01	100	1.00	97	1.04
29	ブタフェナシル	0.01	103	1.03	102	1.06
30	ブプロフェジン	0.01	96	0.96	93	1.01
31	フルオメツロン	0.01	100	1.00	103	1.05
32	ブロクロラズ	0.01	88	0.90	88	1.02
33	プロボキスル	0.01	97	0.98	95	1.04
34	ベナラキシル	0.01	95	0.95	95	1.01
35	ホキシム	0.01	100	0.96	87	1.09
36	ボスカリド	0.01	97	0.98	100	1.02
37	メチダチオン	0.01	95	0.95	95	1.00
38	メトキシフェナゾド	0.01	101	1.01	102	1.05
39	リニューロン	0.01	101	1.02	102	1.09

*1:「マトリックス添加標準溶液のピーク面積値」/「溶媒標準溶液のピーク面積値」

表 6 検査部位変更前のみかん試料における添加回収試験結果(添加濃度:0.01 ppm)

No.	検討対象農薬等	添加濃度 (ppm)	検査部位変更前							
			回収率(%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	ピーク 面積比 ^{*1}
			S1	S2	S3	S4	S5			
1	アセタミプリド	0.01	90	92	92	92	99	93	3.7	0.98
2	アトラジン	0.01	94	92	95	93	98	94	2.4	0.97
3	イプロジオン	0.01	104	91	107	108	76	97	14.0	0.99
4	イミダクロプリド	0.01	88	91	93	96	100	94	4.7	1.06
5	エチオン	0.01	103	97	99	96	98	99	2.9	1.01
6	オキサジキシル	0.01	96	97	100	100	102	99	2.4	1.02
7	カルメピリル	0.01	95	96	96	98	103	97	3.3	1.00
8	カルフェントラゾンエチル	0.01	112	95	101	105	101	103	6.1	1.07
9	キナルホス	0.01	100	98	98	99	103	100	1.9	1.02
10	クロチアニジン	0.01	77	82	80	81	88	81	5.0	0.98
11	クロルピリホス	0.01	100	104	97	97	102	100	2.9	1.04
12	クロルピリホスメチル	0.01	94	100	98	95	95	96	2.9	1.01
13	ジウロン	0.01	62	67	72	64	67	66	5.7	0.76
14	ジメトエート	0.01	97	94	98	98	101	98	2.7	1.06
15	チアベンダゾール	0.01	81	81	83	83	83	82	1.5	1.00
16	メノミル	0.01	82	82	85	85	86	84	2.1	1.00
17	トリアジメノール	0.01	93	93	99	96	98	96	3.1	1.01
18	トリアジメホン	0.01	100	96	97	100	99	98	1.9	1.00
19	トリデモルフ	0.01	100	95	101	97	103	99	3.4	1.00
20	トリフルムロン	0.01	95	96	100	95	99	97	2.6	1.00
21	トリフロキシストロピン	0.01	111	109	111	109	111	110	0.9	0.99
22	ピタルタノール	0.01	97	93	103	95	97	97	4.2	1.01
23	ピペロニルブトキシド	0.01	104	98	99	99	98	100	2.5	0.99
24	ピリミカルブ	0.01	100	98	98	97	100	98	1.6	1.01
25	ピリミホスメチル	0.01	101	97	99	95	106	100	4.1	0.99
26	フェノキサプロップエチル	0.01	104	97	98	99	106	101	4.1	1.03
27	フェノキシカルブ	0.01	98	100	100	99	103	100	1.8	1.02
28	フェンプロピモルフ	0.01	102	100	101	98	98	100	2.0	1.00
29	ブタフェナシル	0.01	98	97	95	98	101	98	2.1	0.99
30	ブプロフェジン	0.01	105	97	101	97	110	102	5.6	1.00
31	フルオメツロン	0.01	98	97	102	99	102	99	2.4	1.02
32	ブロクロラズ	0.01	92	85	91	91	89	90	3.1	0.99
33	プロボキスル	0.01	92	93	97	95	98	95	2.5	1.00
34	ベナラキシル	0.01	96	95	95	92	98	95	2.2	0.98
35	ホキシム	0.01	106	95	103	97	100	100	4.5	1.02
36	ボスカリド	0.01	97	95	96	101	99	97	2.5	1.03
37	メチダチオン	0.01	90	102	93	99	105	98	6.2	1.00
38	メトキシフェノジド	0.01	96	96	99	99	102	99	2.8	1.00
39	リニエロン	0.01	96	100	101	99	106	100	3.6	0.99

*1:「マトリックス添加標準溶液のピーク面積値」/「溶媒標準溶液のピーク面積値」

表7 検査部位変更後のみかん試料における添加回収試験結果(添加濃度:0.01 ppm)

No.	検討対象農薬等	添加濃度 (ppm)	検査部位変更後							
			回収率(%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	ピーク 面積比 ^{*1}
			S1	S2	S3	S4	S5			
1	アセタミプリド	0.01	93	95	95	95	95	95	1.0	1.06
2	アトラジン	0.01	94	97	95	97	98	96	1.6	1.00
3	イブロジオン	0.01	58	36	55	46	40	47	19.9	0.51
4	イミダクロプリド	0.01	73	77	75	79	79	77	3.6	0.99
5	エチオン	0.01	97	98	97	101	102	99	2.1	1.07
6	オキサジキシル	0.01	98	101	101	103	103	101	1.8	1.14
7	カルメピリル	0.01	99	97	95	96	96	97	1.5	1.03
8	カルフェントラゾンエチル	0.01	85	86	85	85	87	86	1.3	0.86
9	キナルホス	0.01	79	80	81	81	82	81	1.3	0.87
10	クロチアニジン	0.01	62	66	60	63	63	63	3.5	0.94
11	クロルピリホス	0.01	100	98	95	100	101	99	2.6	1.05
12	クロルピリホスメチル	0.01	100	102	100	100	102	101	1.1	1.09
13	ジウロン	0.01	68	62	70	70	66	67	4.8	0.81
14	ジメトエート	0.01	95	96	95	98	96	96	1.3	1.06
15	チアベンダゾール	0.01	91	92	93	91	93	92	1.0	1.03
16	メソミル	0.01	69	69	68	67	69	68	1.1	0.86
17	トリアジメノール	0.01	42	34	44	41	38	40	9.6	0.43
18	トリアジメホン	0.01	41	39	39	38	39	39	3.1	0.38
19	トリデモルフ	0.01	101	103	103	101	99	101	1.7	1.01
20	トリフルムロン	0.01	98	94	95	93	93	95	2.1	1.01
21	トリフロキシストロピン	0.01	85	91	92	91	94	91	3.8	0.96
22	ピタルタノール	0.01	96	95	93	94	96	95	1.5	0.99
23	ピペロニルブトキシド	0.01	99	103	104	103	104	103	2.0	1.08
24	ピリミカーブ	0.01	94	96	96	97	97	96	1.1	1.04
25	ピリミホスメチル	0.01	96	99	102	96	95	98	3.0	1.08
26	フェノキサプロップエチル	0.01	94	93	95	96	96	95	1.6	1.05
27	フェノキシカルブ	0.01	74	75	75	76	75	75	0.6	0.79
28	フェンプロピモルフ	0.01	101	102	103	100	100	101	1.1	1.08
29	ブタフェナシル	0.01	33	33	33	34	35	34	3.2	0.35
30	ブプロフェジン	0.01	95	94	98	101	95	97	2.9	1.04
31	フルオメツロン	0.01	100	99	100	102	101	100	0.9	1.06
32	ブロクロラズ	0.01	80	80	79	83	85	81	3.0	0.91
33	プロボキシル	0.01	98	99	97	99	97	98	1.3	1.05
34	ベナラキシル	0.01	92	92	90	95	93	92	1.7	0.99
35	ホキシム	0.01	92	95	95	99	93	95	2.8	1.02
36	ボスカリド	0.01	88	97	97	95	98	95	4.4	1.01
37	メチダチオン	0.01	81	91	79	78	83	83	5.8	1.10
38	メトキシフェノジド	0.01	37	38	37	37	38	38	1.3	0.39
39	リニウロン	0.01	98	100	99	96	97	98	1.4	1.03

*1:「マトリックス添加標準溶液のピーク面積値」/「溶媒標準溶液のピーク面積値」

表 8 検査部位変更前のみかん試料における添加回収試験結果(添加濃度:基準値)

No.	検討対象農薬等	添加濃度 (ppm)	検査部位変更前							
			回収率(%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	ピーク 面積比 ^{*1}
			S1	S2	S3	S4	S5			
3	イプロジオン	10	98	96	98	102	87	96	6.0	0.99
8	カルフェントラゾンエチル	0.1	104	95	97	98	97	98	3.7	1.00
9	キナルホス	0.02	100	98	96	98	98	98	1.3	1.01
10	クロチアニジン	1	89	89	90	88	89	89	0.9	0.98
16	メソミル	1	85	86	87	84	82	85	2.4	0.97
17	トリアジメノール	0.1	95	98	100	98	100	98	2.1	0.99
18	トリアジメホン	0.1	104	100	101	103	103	102	1.8	0.99
27	フェノキシカルブ	0.05	100	98	100	102	100	100	1.3	1.01
29	ブタフェナシル	0.1	105	98	99	98	98	100	3.2	0.99
38	メトキシフェノビド	2	103	104	105	107	104	105	1.2	1.02

*1:「マトリックス添加標準溶液のピーク面積値」/「溶媒標準溶液のピーク面積値」

表9 検査部位変更後のみかん試料における添加回収試験結果(添加濃度:基準値)

No.	検討対象農薬等	添加濃度 (ppm)	検査部位変更後							
			回収率(%)					真度 (%)	併行精度 (RSD%)	ピーク 面積比 ^{*1}
			S1	S2	S3	S4	S5			
3	イプロジオン	10	50	53	47	48	47	49	5.2	0.63
8	カルフェントラゾンエチル	0.1	81	82	78	81	77	80	2.7	0.84
9	キナルホス	0.02	81	80	77	78	81	79	2.4	0.81
10	クロチアニジン	1	76	77	75	76	75	76	1.2	0.91
16	メソミル	1	82	81	81	80	77	80	2.4	0.95
17	トリアジメノール	0.1	38	39	42	38	40	39	3.7	0.39
18	トリアジメホン	0.1	42	39	40	41	39	40	3.8	0.47
27	フェノキシカルブ	0.05	73	73	71	72	73	72	1.2	0.75
29	ブタフェナシル	0.1	34	33	33	33	32	33	2.5	0.36
38	メトキシフェノゾド	2	69	67	68	67	69	68	1.5	0.75

*1:「マトリックス添加標準溶液のピーク面積値」/「溶媒標準溶液のピーク面積値」

表 10 検査部位変更後のみかん試料の各添加濃度における添加回収試験結果の比較

No.	検討対象農薬等	0.01 ppm添加試料				基準値濃度添加試料			
		添加濃度 (ppm)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	ピーク 面積比 ^{*1}	添加濃度 (ppm)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	ピーク 面積比 ^{*1}
3	イプロジオン	0.01	47	19.9	0.51	10	49	5.2	0.63
8	カルフェントラゾンエチル	0.01	86	1.3	0.86	0.1	80	2.7	0.84
9	キナルホス	0.01	81	1.3	0.87	0.02	79	2.4	0.81
10	クロチアニジン	0.01	63	3.5	0.94	1	76	1.2	0.91
16	メノミル	0.01	68	1.1	0.86	1	80	2.4	0.95
17	トリアジメノール	0.01	40	9.6	0.43	0.1	39	3.7	0.39
18	トリアジメホン	0.01	39	3.1	0.38	0.1	40	3.8	0.47
27	フェノキシカルブ	0.01	75	0.6	0.79	0.05	72	1.2	0.75
29	ブタフェナシル	0.01	34	3.2	0.35	0.1	33	2.5	0.36
38	メトキシフェナゾド	0.01	38	1.3	0.39	2	68	1.5	0.75

*1:「マトリックス添加標準溶液のピーク面積値」/「溶媒標準溶液のピーク面積値」

表 11 添加回収試験結果に及ぼす試験溶液の希釈の影響(検査部位変更後のみかん試料)

No.	農薬等	添加濃度 (ppm)	希釈前		4倍希釈	
			真度 (%)	ピーク 面積比 ^{*1}	回収率 (%)	ピーク 面積比 ^{*1}
3	イブロジオン	10	49	0.63	115	0.77
8	カルフェントラゾンエチル	0.1	80	0.84	72	0.98
9	キナルホス	0.02	79	0.81	91	1.00
10	クロチアニジン	1	76	0.91	82	1.04
16	メノミル	1	80	0.95	88	1.07
17	トリアジメノール	0.1	39	0.39	73	0.75
18	トリアジメホン	0.1	40	0.47	55	0.67
27	フェノキシカルブ	0.05	72	0.75	98	1.09
29	ブタフェナシル	0.1	33	0.36	77	1.01
38	メトキシフェナゾド	2	68	0.75	69	0.74

*1:「マトリックス添加標準溶液のピーク面積値」/「溶媒標準溶液のピーク面積値」

Ⅲ. 試料調製法の検討[令和3年度]

表1 保持時間及びMS条件

	保持時間 (分)	イオン化 モード	定量イオン (m/z)		EP (V)	CE (eV)	CXP (V)	定性イオン (m/z)		EP (V)	CE (eV)	CXP (V)
			プリカーサー イオン	プロダクト イオン				プリカーサー イオン	プロダクト イオン			
アセタミプリド	5.6	ESI (+)	223.0	126.0	10	27	10	223.0	90.0	10	49	10
イミダクロプリド	5.0	ESI (+)	256.0	209.0	10	21	10	256.0	175.0	10	25	10
テブコナゾール	9.6	ESI (+)	308.2	70.1	10	58	15	308.1	125.0	10	51	6
フルジオキシニル	8.9	ESI (-)	247.1	180.1	-10	-38	-19	247.1	126.0	-10	-40	-11

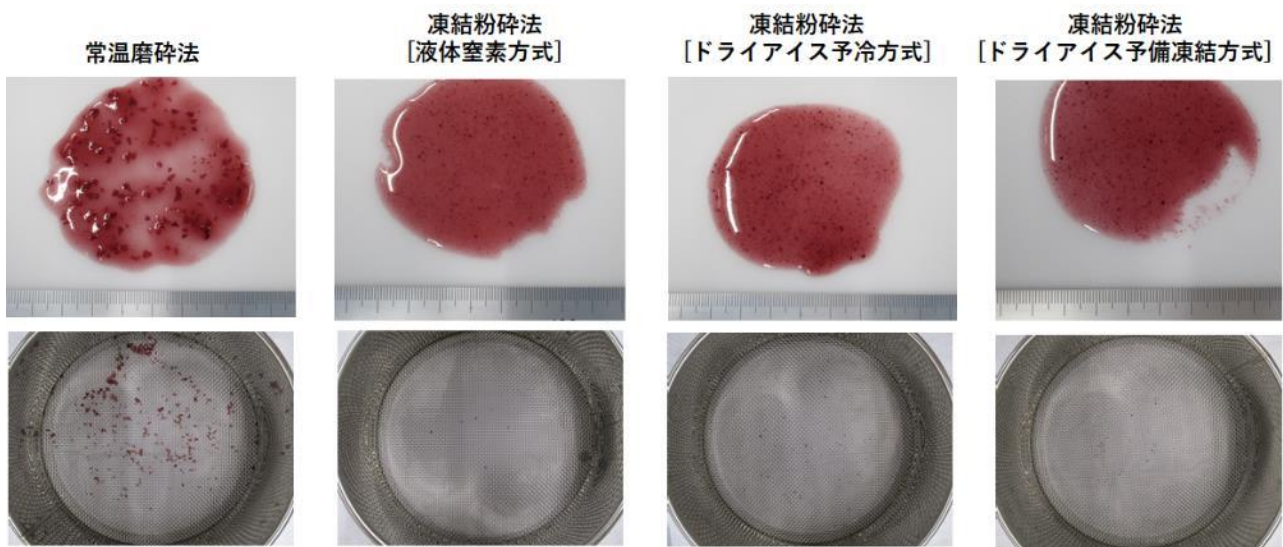


図1 粉砕状況

試料: ぶどう

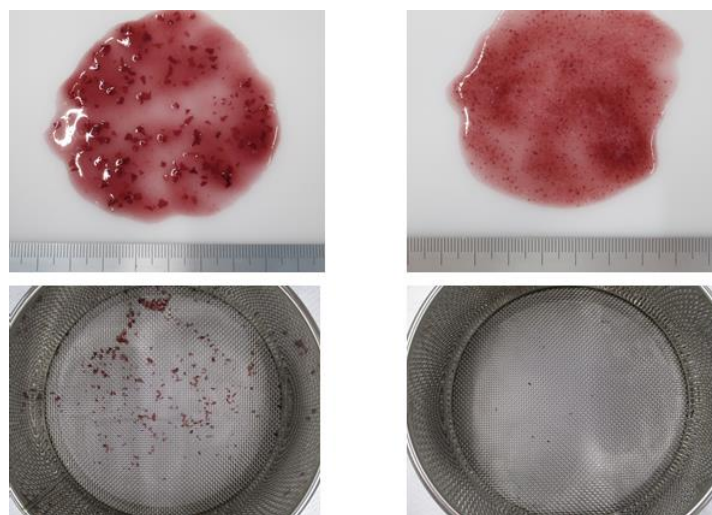


図2 粉砕状況

試料: ぶどう(巨峰、種子なし)

左: Robot Coupe Blixer 3D (3000 rpm で 120 秒間磨砕、検体量 500 g)

右: GM200 (3500 rpm 10 秒間磨砕後、7000 rpm で 110 秒間磨砕、検体量 250 g)

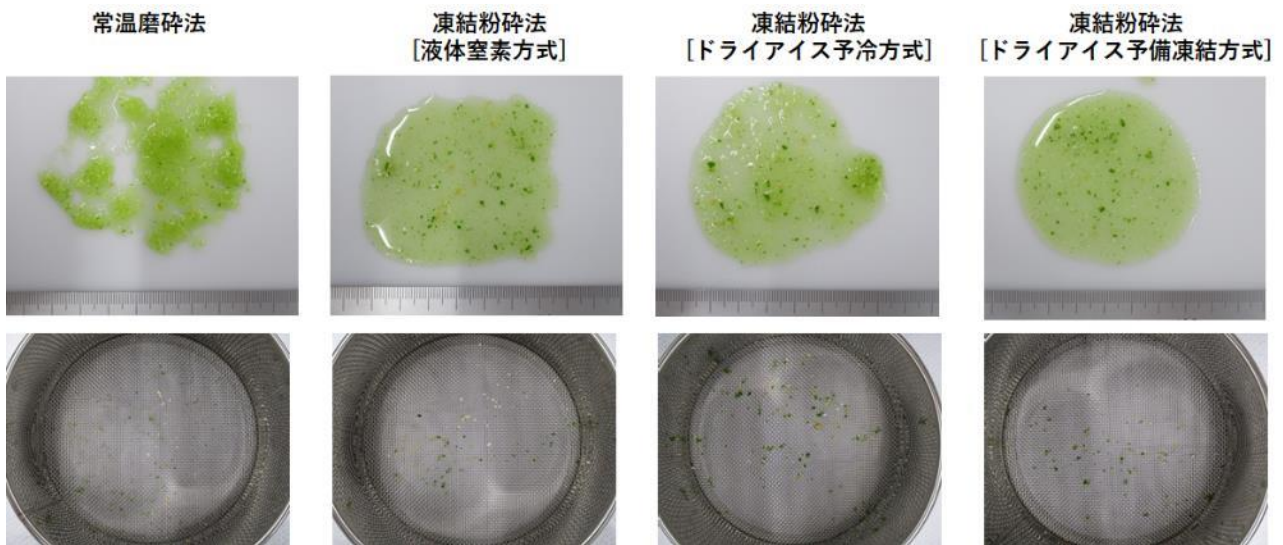


図 3 粉砕状況

試料: メロン

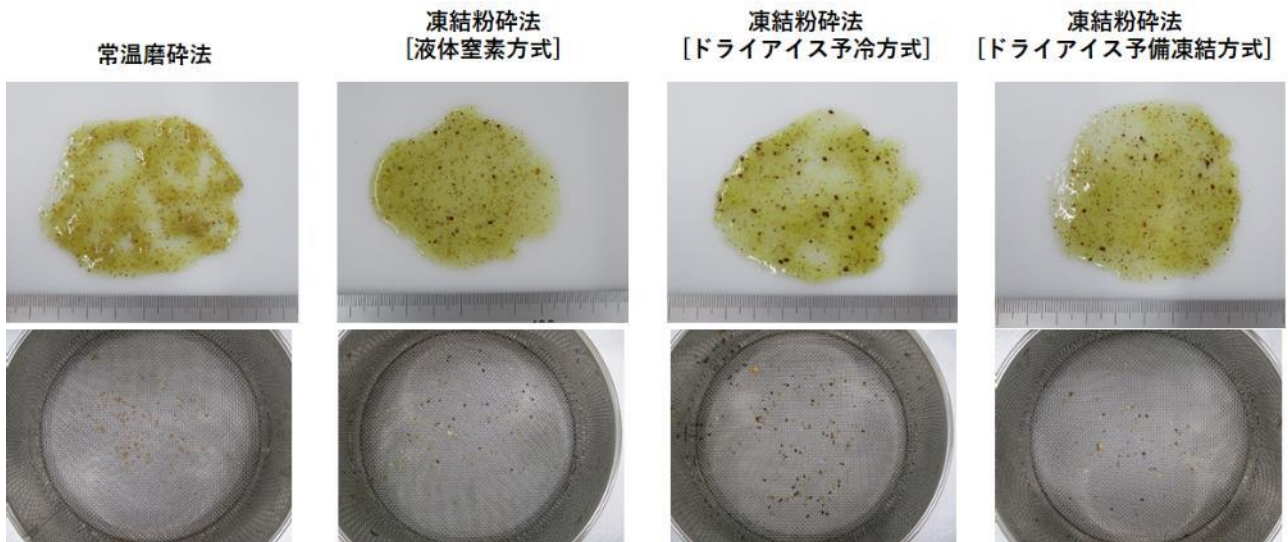


図 4 粉砕状況

試料: キウイー

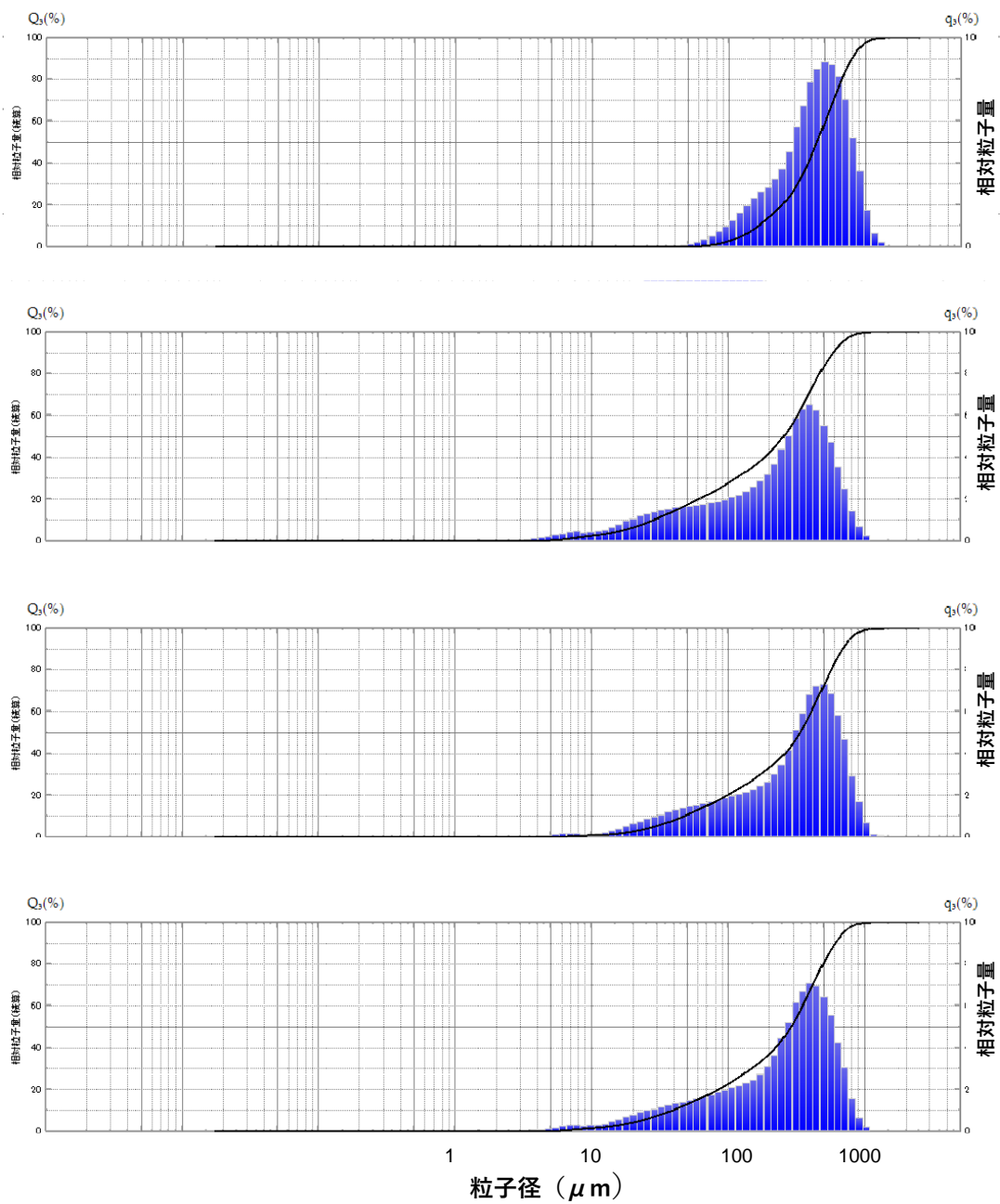


図5 各試料調製法で得られたぶどう試料の粒子径分布

上から A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式

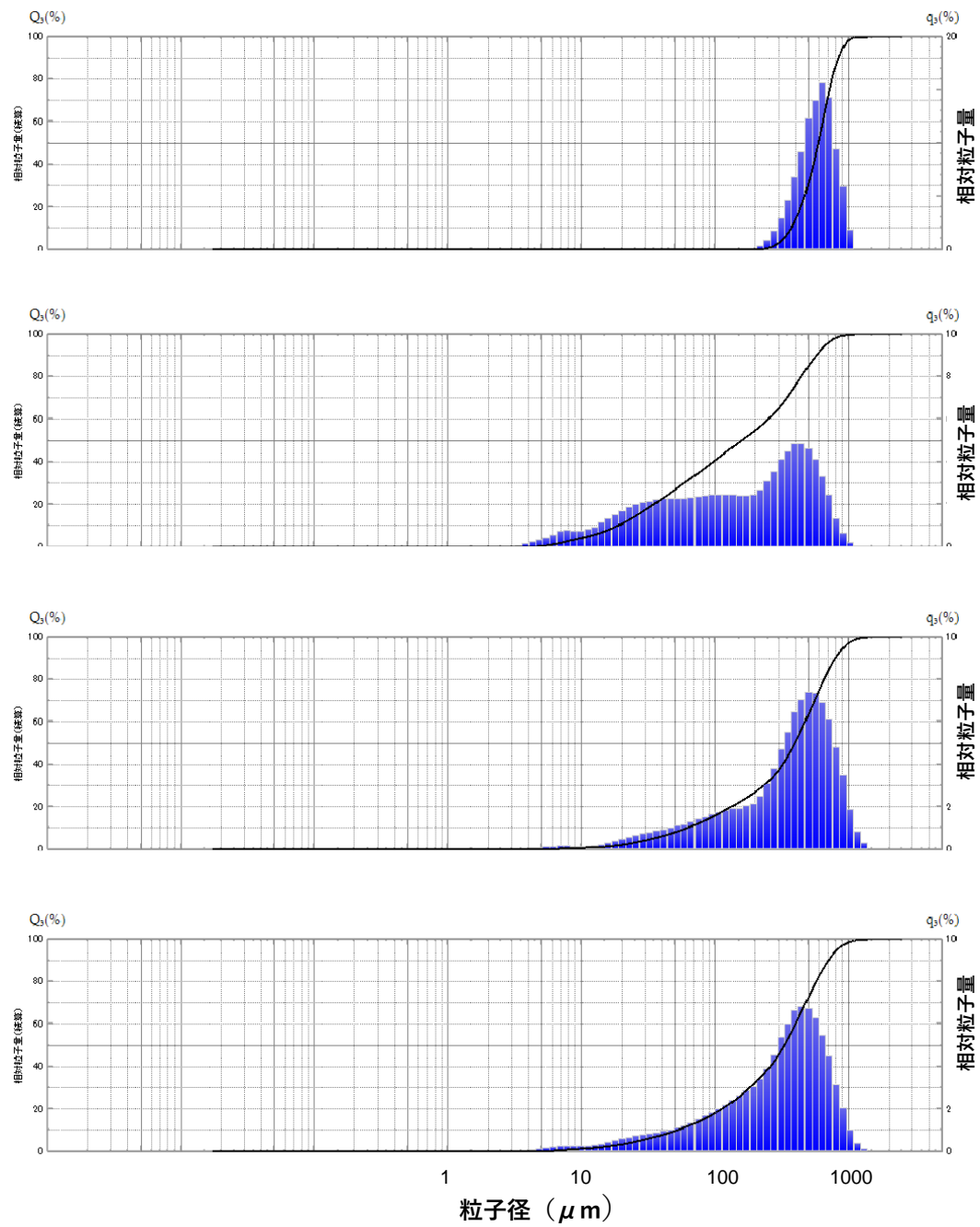


図6 各試料調製法で得られたすいか試料の粒子径分布

上から A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式

表 2 各試料調製法で得られたぶどう試料の平均径、10%径、50%径、90%径及びスパン

	粒度分布 (μm)				粒子径分布幅
	平均径	10%径	50%径	90%径	スパン
常温磨砕	386	156	430	780	1.45
凍結粉砕 液体窒素方式	167	26	245	575	2.24
凍結粉砕 ドライアイス・予冷方式	233	44	327	688	1.97
凍結粉砕 ドライアイス・予備凍結方式	193	35	274	591	2.03

n=3、平均値

スパン=(90%径-10%径)/50%径

表 3 各試料調製法で得られたすいか試料の平均径、10%径、50%径、90%径及びスパン

	粒度分布 (μm)				粒子径分布幅
	平均径	10%径	50%径	90%径	スパン
常温磨砕	566	369	584	844	0.81
凍結粉砕 液体窒素方式	117	18	144	547	3.69
凍結粉砕 ドライアイス・予冷方式	263	53	362	757	1.95
凍結粉砕 ドライアイス・予備凍結方式	234	48	315	699	2.07

n=3、平均値

スパン=(90%径-10%径)/50%径

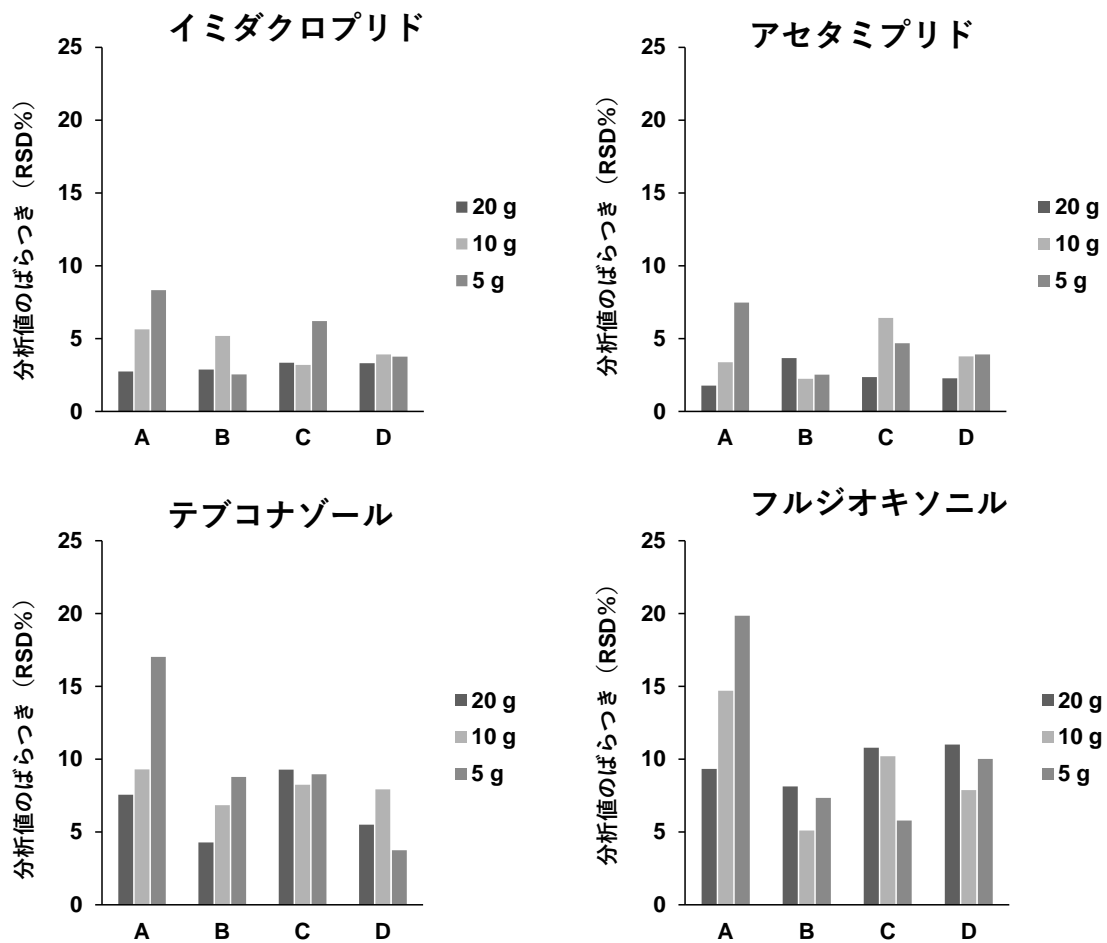


図7 分析値のばらつき

A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式

表 4 各試料調製法で得られた分析値（平均値、ppb）

	試料調製法			
	A	B	C	D
イミダクロプリド	46	52	58	60
アセタミプリド	1.0	1.4	1.4	1.4
フルジオキシニル	24	17	22	20
テブコナゾール	134	125	157	140

A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式

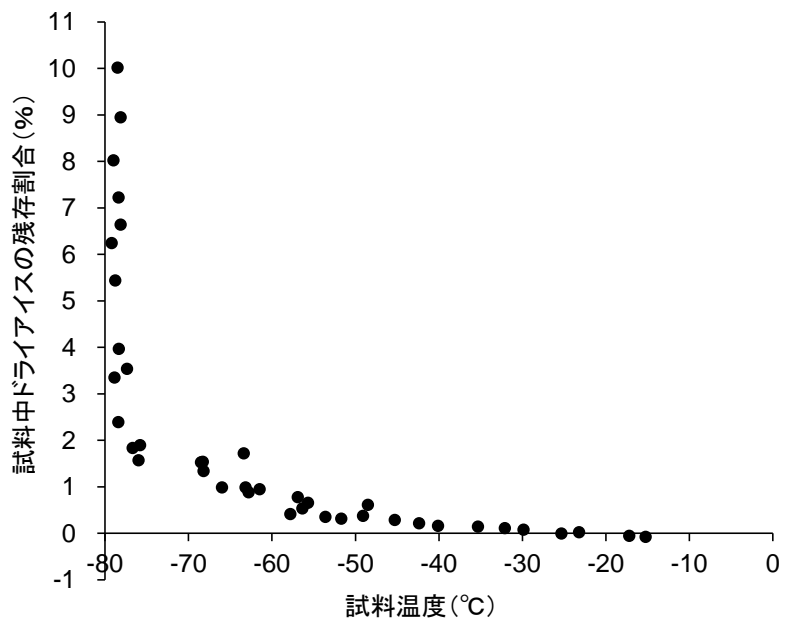


図 8 試料中に残存するドライアイスの割合と試料温度の関係

試料: キウイ

残存ドライアイス重量 = 粉碎後の容器、試料、ドライアイスの総重量 - (空の粉碎容器重量 + 試料重量)

試料中ドライアイスの残存割合 (%) = 残存ドライアイス重量 / (試料重量 + 残存ドライアイス重量) × 100

表 5 各試料調製法で得られた試料の水分含量(%)

	キウイ		大豆		洗いごま		いりごま	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
常温磨砕法	82.38	0.07	12.80	0.08	3.72	0.11	0.73	0.09
凍結粉砕法 液体窒素・凍結方式	82.71	0.12	13.12	0.04	4.54	0.05	1.57	0.16
凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式	82.68	0.10	13.15	0.05	4.76	0.06	1.55	0.13
凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式	82.47	0.04	12.95	0.05	4.58	0.03	1.34	0.03

n=3

表 6 粉砕直後の試料温度(°C)

	試料調製法			
	A	B	C	D
キウイ	19	-69	-78	-78
大豆	46	-38	-78	-78
洗いごま	53	-48	-79	-78
いりごま	59	-43	-79	-79

室温 21~23°C、湿度 52~58%

A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式

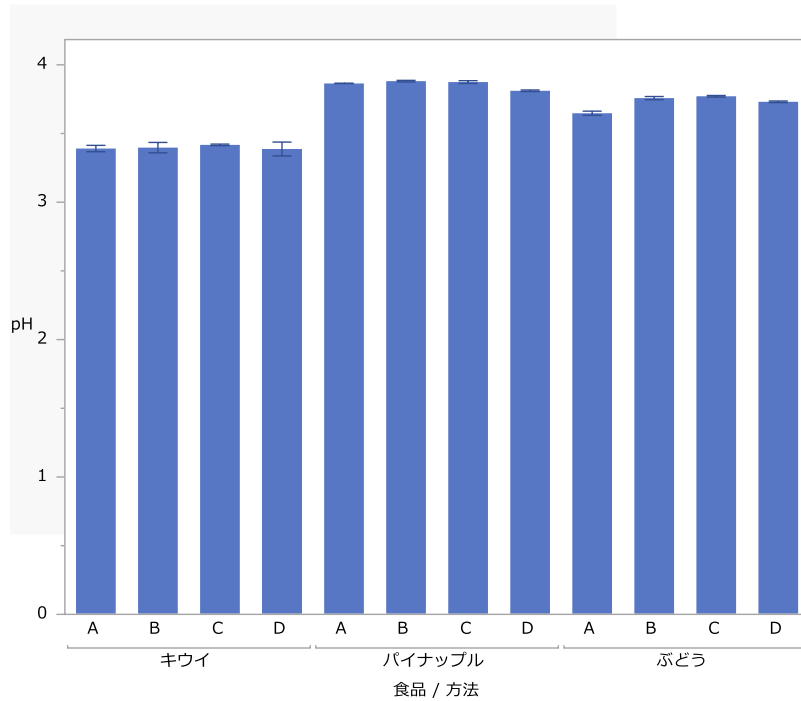


図 9-1 各試料調製法で得られた試料の pH

pH 3~4 の食品(キウイ、パイナップル、ぶどう)

A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式

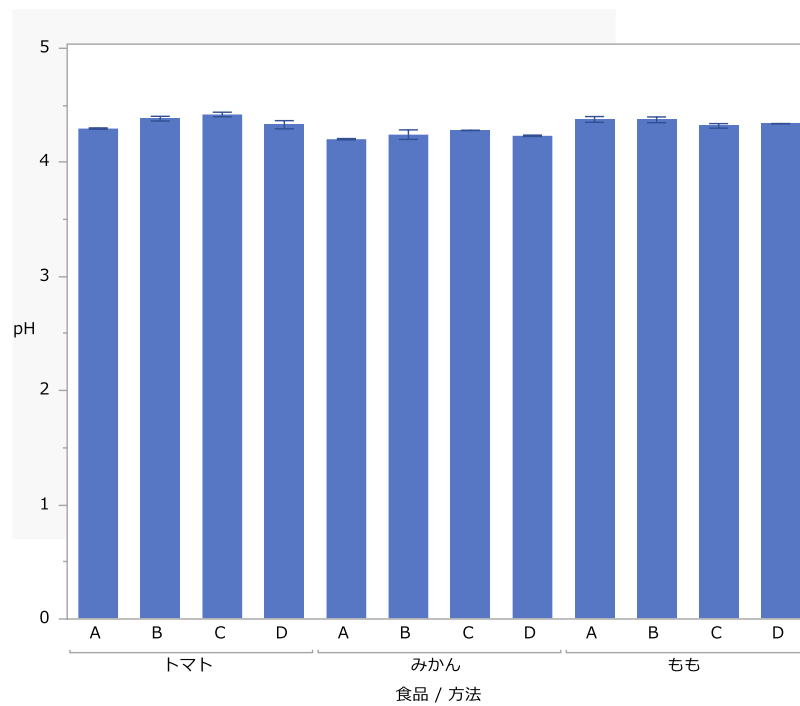


図 9-2 各試料調製法で得られた試料の pH

pH 4~5 の食品(トマト、みかん、もも)

A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式

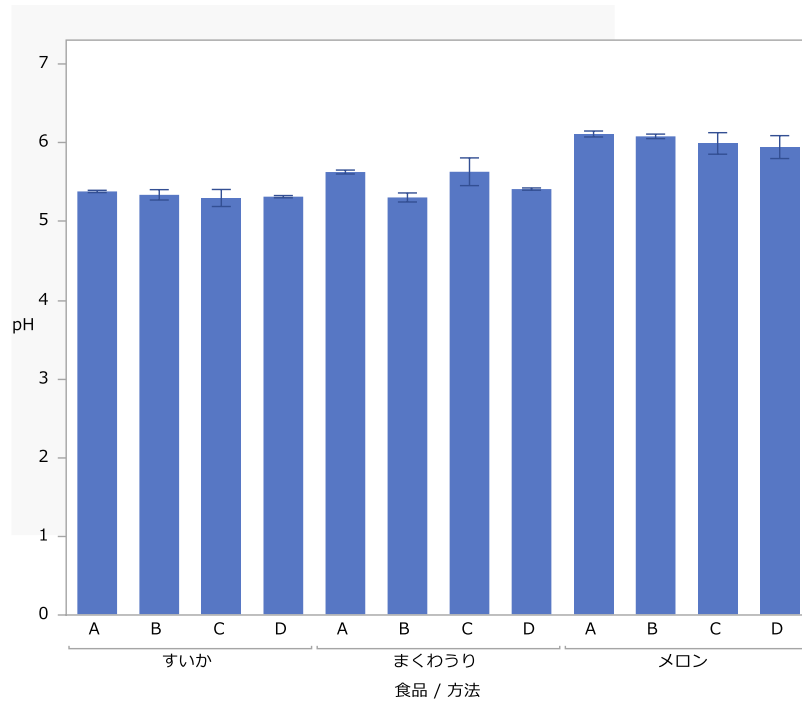


図 9-3 各試料調製法で得られた試料の pH

pH 5 以上の食品(すいか、まくわうり、メロン)

A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライア