

令和元年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 厚生労働科学特別研究事業

輸出先国のリスク管理に対応した残留農薬データ等の補完のための研究
研究分担報告書

輸出可能性が高い農産品における残留物濃度の加工による変化に関する研究

研究分担者 荒川史博

日本ハム株式会社 中央研究所

研究要旨

農林水産物・食品の輸出を推し進める中で、農薬の最大残留基準値（MRL）の設定は一国の課題ではなく、多くの国で受け入れられるよう適切な根拠をもとに設定されるべきである。農薬等を使用して栽培された作物由来の農産品を原料とする農産加工品を対象に、精密な暴露量の推定や MRL 設定の必要性を判断するためには、個々の農産品と農薬等との組み合わせごとに、残留物等の加工による変化や加工後の濃度を明らかにする必要がある。そのために実施される研究は、加工試験と呼ばれるが、世界規模で輸出入される主要な農産加工品でしか実施されていない。本研究課題では、我が国からの輸出可能性が高く特有の農産加工品の原料ともなる農産品を対象とした加工試験を実施する上で必要な条件検討を実施し、農薬の有効成分やそれらの代謝産物並びに分解物の加工による挙動に関するデータ解析を行うために、課題 1 で作製した農薬を投与して栽培した結果得られる農薬残留物を含むインカード試料を原料として加工試験を行い、加工工程での残留物の挙動を明らかにすることを目的とした。

しかし本年度研究期間が冬期の 6 ヶ月間ほどに制限され加工の原材料となるインカード試料を作成することができなかつたため実際の加工試験は実施せず、今後の加工試験のための知見を蓄積するためにコメ油の製造に関する予備的検討を行った。その結果、2.42 kg のコメ糠を原料とした場合に 0.2 kg のコメ原油が得られ、その収率は 8.3%であった。しかし、日本食品標準成分表に記載されているコメ糠の脂肪の割合 19.6 %に比べ小さな値であったため、原因について検討した結果、加工工程に含まれるヘキサン抽出後のろ過において、メッシュ上の残渣が原料としたコメ糠の重量を超えることが明らかとなり、油脂を含んだヘキサンの回収が不十分であることが明らかとなった。このような基礎的な知見を基にまた、製造事業者らからの協力や助言も得つつ、今後より実際の製造に近い内容でコメ油を製造し加工試験を行うべきと考えられた。

研究協力者

渡邊敬浩

山田友紀子

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

農林水産省・顧問（大臣官房参事官）

A. 研究目的

財務省の令和元年度貿易統計（令和2年4月20日）によると、輸出額は75兆8800億、輸入額は77兆1713億となっており、輸出から輸入を差し引いた貿易収支は1兆2913億の赤字になっている。わが国は1981年から30年連続して貿易黒字が続く貿易立国であったが、2011年の東日本大震災発生を機に貿易赤字を記録するようになった。農林水産物の輸入額は9.5兆円、輸出額0.9兆円で、純輸入額が8.6兆円にもなり、世界一の農林水産物純輸入国となっている。このような状況を是正するために令和元年度に農林水産物及び食品の促進に関する法律を制定し、令和2年4月より施行された。本法律の中で、輸出拡大のための課題の1つとして「輸出先国の食品安全等の規制への対応」が挙げられている。例えば、国内の農産品等の輸出先国において、該当する品目に農薬等のMRLが設定されていない場合や、設定されていたとしてもその値が我が国に比べ低い場合がこれにあたる。世界規模で輸出入される主要な農産加工品でしか、加工試験は実施されていない。

そこで本分担研究では、我が国からの輸出可能性が高く特有の農産加工品の原料となる農産品を対象とし加工試験を行い、加工係数を算出することを目的とした。我が

国の主要農産品である米を原料としたこめ油の加工係数を算出することを試み、本年度は Fig.1 に示す植物油脂の一般的な製造方法の工程のうち赤枠で示した原料から原油までの製造について予備検討を行った。

B. 研究方法

製造環境の確認

本分担研究では研究課題1で作製したインカード試料を一次加工／または保管することを目的としているため、製造環境中からの汚染がない事、試料保管施設の温度が適切であることが求められる。そこで製造環境中の農薬試験及び試料保管用の冷凍庫の温度モニタリングを行った。

農薬の分析法

試薬

アセトニトリル、ヘキサンは残留農薬試験用濃縮300を使用した。メタノールは残留農薬試験用濃縮300又は試薬特級を使用した。トルエン、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、2-プロパノールは試薬特級を使用した。リン酸トリフェニルは和光一級を使用した。超純水はLC/MS用を使用した。1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液はHPLC用を使用した。

グラファイトカラムは InertSep

GC(500mg/20mL) (GLサイエンス製) を使用した。濾紙は ADVANTEC 5A を使用した。

エトフェンプロックス標準品(純度 95 % 以上) は林純薬工業製を、フルトラニル標準品(純度 98.0 %) は富士フィルム和光純薬工業製を、ジノテフラン標準品(純度 99.0 %) は富士フィルム和光純薬工業製を使用した。

試液等

0.2 mg/mL リン酸トリフェニル：リン酸トリフェニル 100 mg をアセトニトリルで 100 mL に定容し、1 mg/mL リン酸トリフェニルを調製した。この液をアセトニトリルで 5 倍希釈し、0.2 mg/mL リン酸トリフェニルを調製した。

アセトニトリル/トルエン (3:1)：アセトニトリル 750 mL にトルエン 250 mL を加えて調製した。

エトフェンプロックス標準原液：エトフェンプロックス 10 mg をアセトンに溶解して 100 mL に定容し、100 mg/L 溶液を調製した。

ジノテフラン標準原液：ジノテフラン 10 mg をアセトニトリルに溶解して 100 mL に定容し、100 mg/L 溶液を調製した。

フルトラニル標準原液：フルトラニル 10 mg をアセトンに溶解して 100 mL に定容し、100 mg/L 溶液を調製した。

検量線用標準溶液：エトフェンプロックス標準原液、ジノテフラン標準原液及びフルトラニル標準原液各 1 mL をアセトニトリルで

100 mL に定容し、1 mg/L の混合標準溶液を調製した。この液をアセトニトリルで希釈し、0.1 mg/L 混合標準溶液及び 0.05 mg/L 混合標準溶液を調製した。さらに希釈し、1、5、10、25、50 µg/L の混合標準溶液を調製し、検量線用標準溶液とした。

抽出方法

1. 抽出：ふき取り液全量 (9.6g) に内部標準として 0.2 mg/mL リン酸トリフェニルを 50 µL 加え、アセトニトリル 60mL、無水硫酸マグネシウム 20 g を入れて、葉さじで軽く攪拌した後、30 分以上静置した。氷冷下で 8,000 rpm、3 分間ホモジナイズした後ろ過し、残渣をアセトニトリル 20mL で 2 回洗浄した後、吸引ろ過を行い、抽出液 1 とした。

2. 精製：抽出液 1 全量にアセトニトリル飽和ヘキサン 50 mL を加え、15 分間振とう抽出を行い、その後 15 分以上静置し、下層(アセトニトリル層) を分取し、抽出液 2 とした。予めアセトニトリル 10 mL で洗浄した InertSep GC に抽出液 2 を全量負荷し、溶出液をなす型フラスコに採取した。アセトニトリル/トルエン (3:1) 15 mL でカラムを洗浄し、溶出液を同じなす型フラスコに採取した。最後にメタノール 15 mL でカラムを洗浄し、溶出液を同じなす型フラスコに採取した後、37 °C のロータリーエバポレーターで溶媒留去した。

3. 定容：残留物をアセトニトリル 4 mL に溶解し、遠心分離した上清を試料溶液とした。

液体クロマトグラフータンデム型質量分析計 測定条件

機種：Agilent製6470 TripleQuad LC/MS

カラム：GL Sciences製 InertSustain C18 HP 3 μ m、内径2.1 mm、長さ150 mm

移動相：2.5 mmol/L酢酸アンモニウム水溶液とメタノールのグラジエント

流量：0.3 mL/min

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

注入量：2 μ L

イオン化モード：ESI正イオン検出

コリジョンガス：窒素

コリジョンエネルギー：8 eV (エトフェンプロックス)、4 eV (ジノテフラン)、16 eV (フルトラニル)

質量数： m/z 394.2 \rightarrow 177.1 (エトフェンプロックス)、 m/z 203.1 \rightarrow 129.1 (ジノテフラン)、 m/z 324.1 \rightarrow 262.0 (フルトラニル)

定量

検量線用標準溶液の各 2 μ L を液体クロマトグラフータンデム型質量分析計に注入し、ピーク面積から検量線を作成した。

試料溶液 2 μ L を液体クロマトグラフータンデム型質量分析計に注入し、検量線及び得られたピーク面積から、試料溶液中の物質の濃度を求めた。

こめ原油の製造

加工係数を算出するための加工試験では、本来最大の残留濃度に繋がるような条件で農薬を投与したインカード試料を用いなければならないが、産業的な製造を模した製

造が実施可能であるか確認を行うために、Fig.3 に示すように市販のこめ糠を原料としたこめ原油の製造についてプラントスケールで予備検討を行った。こめ原油の製造は、日本ハム株式会社 中央研究所で実施した。

植物油の産業的な製造方法は、使用原料の油分に応じて圧搾法または抽出法で行われる。こめ油については製造業者によって圧搾法、抽出法の選択が異なっている。今回の加工試験では、所有する製造設備から抽出法を選択した。油の抽出溶媒は産業的に用いられているヘキサンを採用した。こめ原油の製造方法は Fig.4 に示す通り米ぬかを縦型ミキサー (マイティ S90 ; 愛工社製作所製) に投入し、ヘキサン 9 L を加え 2 時間攪拌後、一晚静置した。その後目開き 2、1、0.3 mm の 3 種のメッシュでろ過を行いこめ油/ヘキサン画分を得た。この画分の溶媒を留去し、こめ原油を得た。

C. D. 結果及び考察

保管設備の温度モニタリング

温度記録計 (株式会社シロ産業 ; MI1TP-251-FRM) を用いて研究課題 1 で作製したインカード試料の保管を開始した 2019 年 10 月 10 日より、6 時間毎に冷凍保管庫の温度モニタリングを行った。結果を Fig.2 に示す。保存期間中の最も高い温度は -14.0 $^{\circ}$ C、最も低い温度は -21.3 $^{\circ}$ C であり、試料保管設備の温度は問題ない事が確認できた。

製造環境の農薬検査

こめ原油製造中に環境から試料への汚染がない事を確認するために、製造に使用する機材をふき取り、そのふき取り水を試料として農薬の検査を実施した。ふき取りを行った機材は、抽出作業に使用する縦型ミキサー、ろ過に使用する3種のメッシュのうち目開き2 mm、1 mmの2種、ろ液を受けるステンレス製容器の計4箇所とした。

測定の対象とする農薬は、農林水産省が実施した調査「国内の農産物における農薬の使用状況及び残留状況調査結果について（平成29年度）」を参考に使用頻度、検出状況並びに農薬の特性（分配係数）から、エトフェンプロックス、フルトラニル、ジノテフランの3種の農薬を選択した。

3種の農薬とも製造環境中からは検出されなかった。このことから、製造環境中の農薬汚染がないことが確認出来た。

こめ原油の製造

Fig.5 にこめ原油製造の予備検討時のマスバランスを示した。2.42 kgのこめ糠から0.2 kgのこめ原油を得た。その収率は8.3%であった。日本食品標準成分表に記載されているこめ糠の脂肪は19.6%であるので、2.42 kg中に含まれる脂肪量は0.47 kgと計算される。この値から算出した予備検討時の脂肪回収率は42.6%であった。理論値より低い原因は、ヘキサン抽出後のろ過においてメッシュ上に残ったこめ糠の質量が4.32 kgであり、こめ糠の初期量2.42 kgより約2 kg程度増加していることから、油脂を含んだヘキサンがこめ糠中に残った事が

考えられる。次回以降の本操作はガーゼで絞る、または複数回の抽出操作を行う等の改善が必要である。

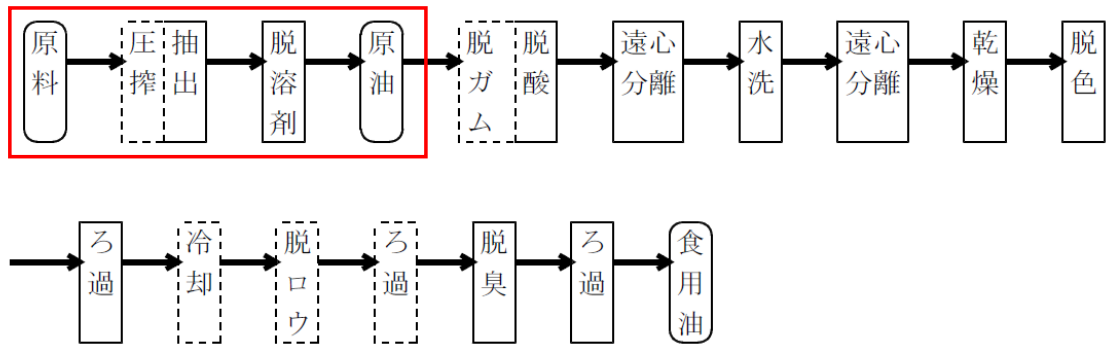
E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし



食用植物油脂の日本農林規格に係る規格調査結果より抜粋

(独立行政法人 農林水産消費安全技術センター)

Fig.1 食用植物油脂の一般的な製造方法

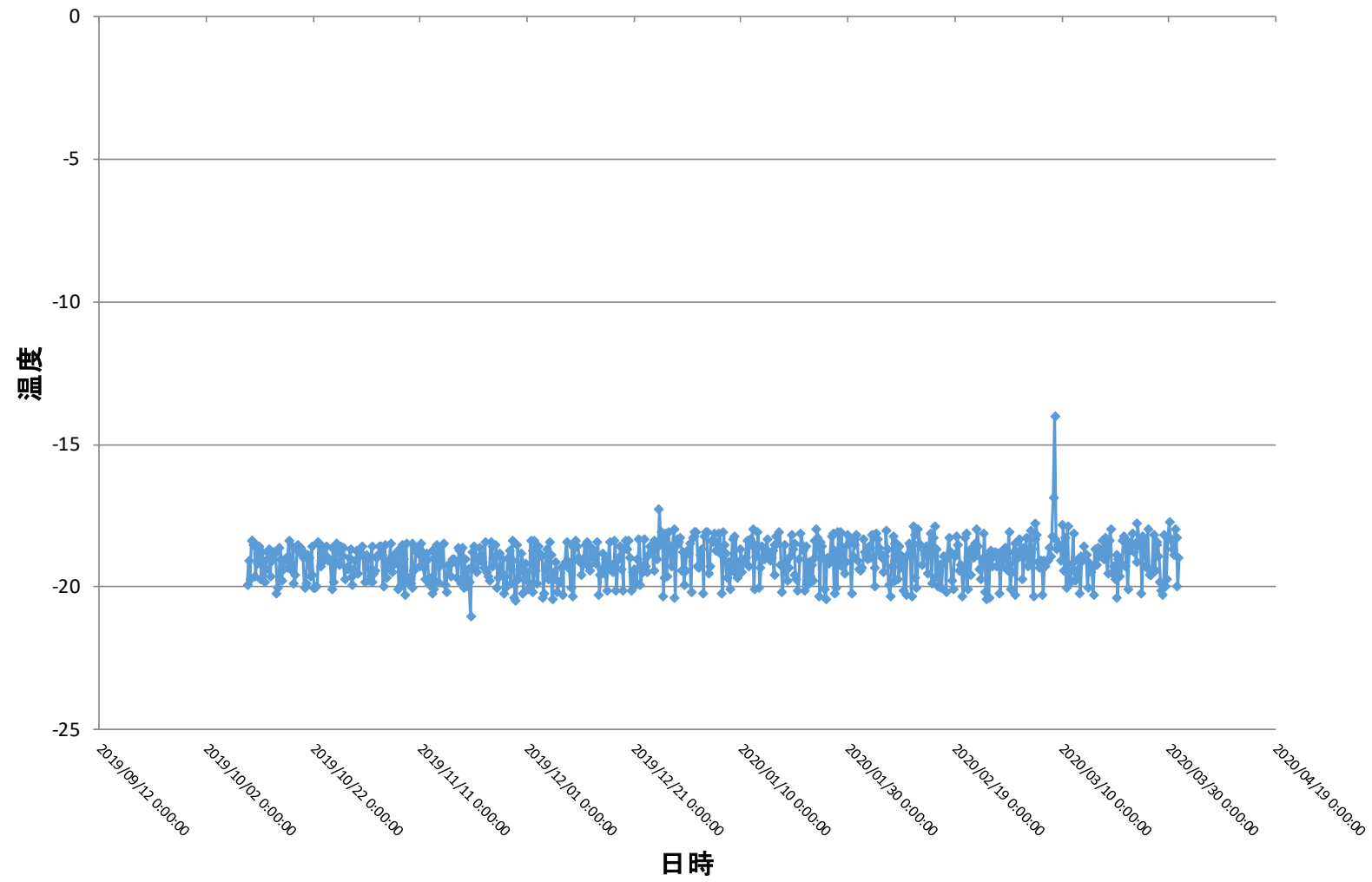


Fig.2 インカード試料の保管冷凍庫の温度モニタリング

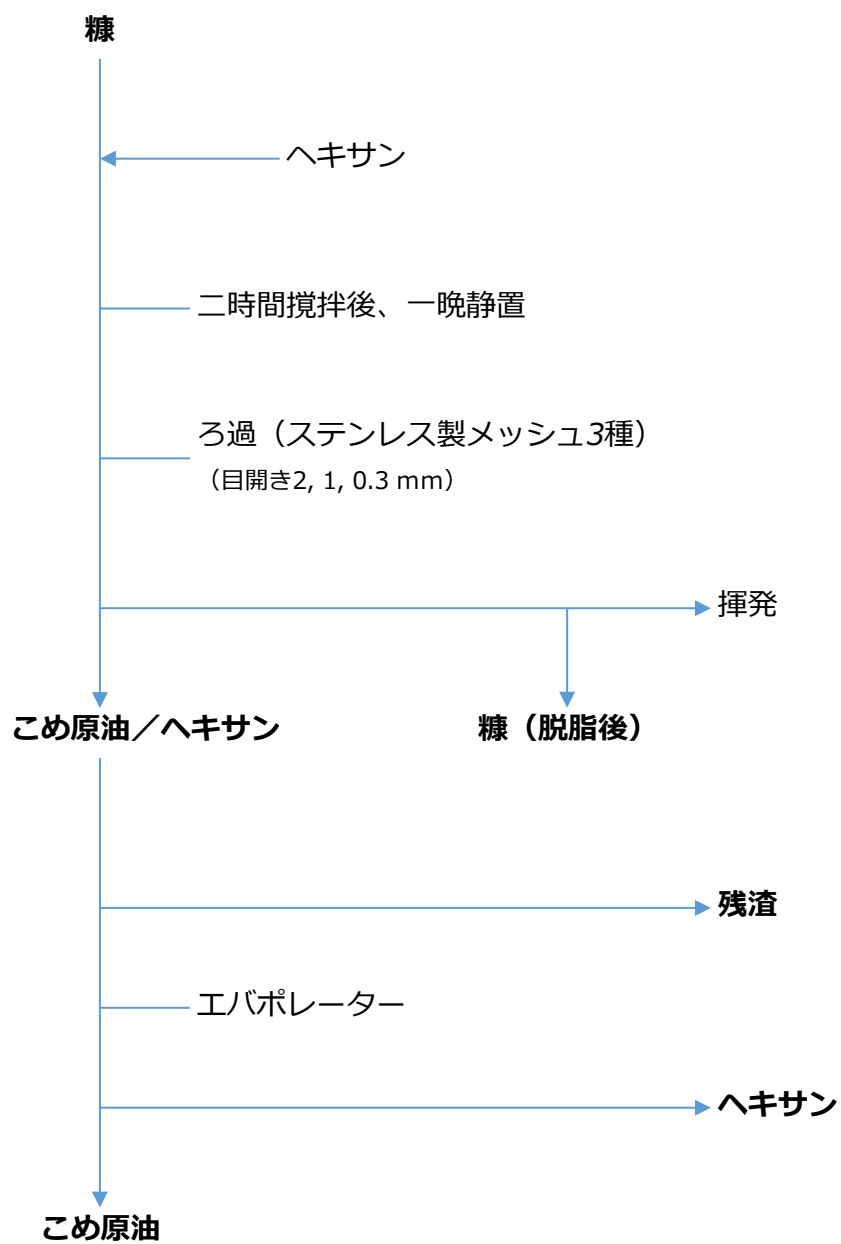


Fig.3 産業的な製造方法を模したこめ原油加工試験の加工手順

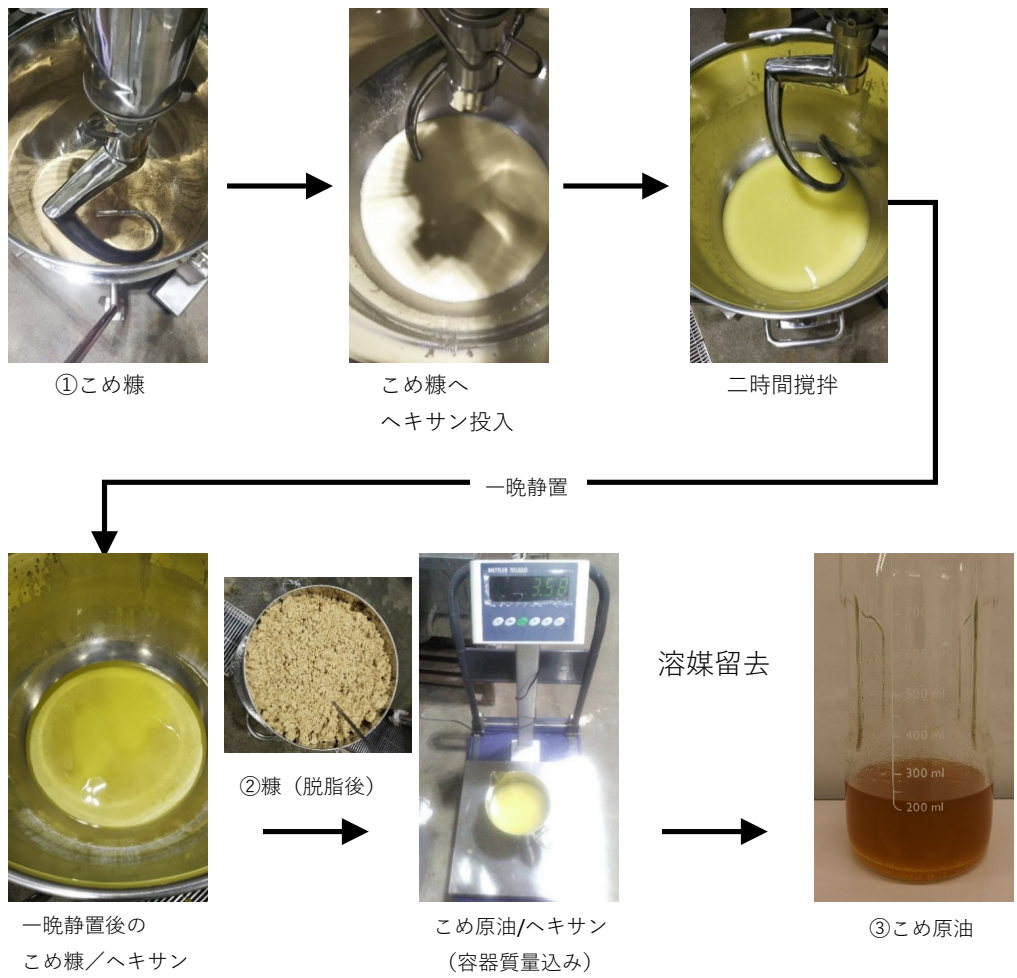


Fig.4 こめ原油加工試験予備検討時の試料の状態

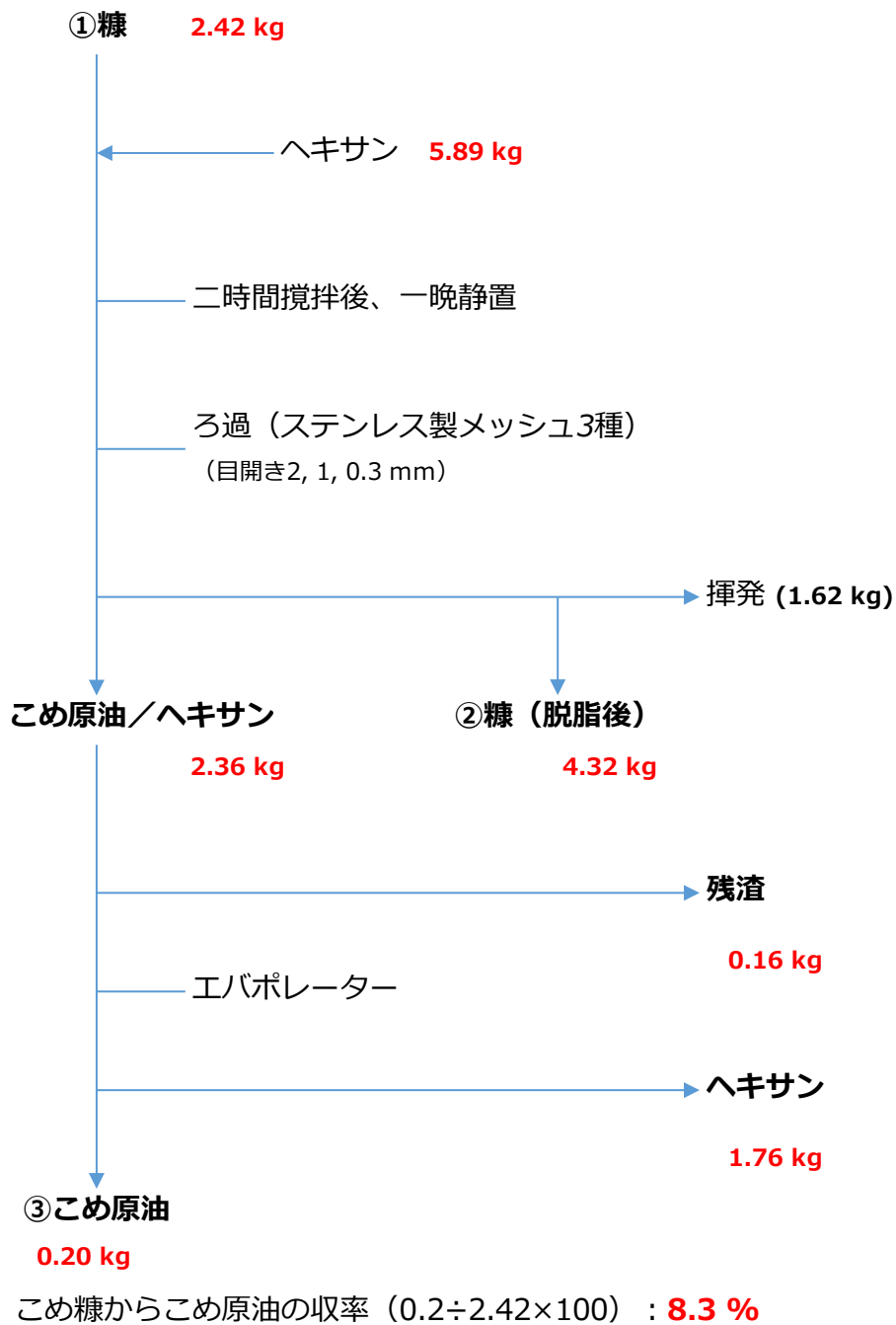


Fig.5 こめ原油加工試験予備検討時の加工画分の質量