

令和4年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品衛生検査施設等の検査の信頼性確保に関する研究

研究分担報告書

外部精度管理調査プログラム用適正試料の改善と開発に関する研究

—スプレードライヤを用いた残留農薬用試料の開発(1)—

研究代表者	渡辺 卓穂	(一財) 食品薬品安全センター秦野研究所	副所長
研究協力者	高坂 典子	(一財) 食品薬品安全センター秦野研究所	室長
	平林 尚之	(一財) 食品薬品安全センター秦野研究所	研究員
	池田 真季	(一財) 食品薬品安全センター秦野研究所	研究員

研究要旨

玄米粉を用いた残留農薬検査用試料作製においては、一昨年度100%アセトニトリルにダイアジノン、フェニトロチオン、マラチオン及びクロルピリホスを溶解させ、玄米粉を加え懸濁攪拌させ、スプレードライヤの噴霧温度（入口温度）を120℃、100℃、80℃で比較検討したが、回収率は5%～25%と非常に低かったことから、昨年度は、水を加え、80%アセトニトリル溶液、40%アセトニトリル溶液を検討した結果、水の量を増やすことで回収率が改善できることが分かった。昨年度は、さらに水の量を増やし20%アセトニトリル溶液で入り口温度が80℃のとき、いずれの農薬も回収率は50%～70%と良好であった。そこで、今年度は、20%アセトニトリル溶液で再現性を検討した。作製された試料は、課題5に供与し、IDMSにより精度の高い測定により、分析値を供与した。その結果、昨年度の結果と比較するといずれの農薬でも、噴霧温度120℃で回収率が最も低かったのは同様の傾向であったが、噴霧温度が100℃と80℃でその傾向は異なった。しかしながら、いずれの農薬でも噴霧温度が80℃のとき、回収率が最も高かった。この条件で次回作製し、パイロットスタディに供する予定である。

A. 研究目的

これまで技能試験プログラム用試料は実試料に近い湿試料を開発し作成していた。湿試料の場合、長時間にわたる安定性を維持することは非常に困難であった。野菜ペースト中の残留農薬や豚肉ペ

ースト中の残留動物用医薬品などはその基材由来の成分や酵素などにより分解を受け易く、安定性を担保することが課題である。これら技能試験プログラム用試料は、安定性ばかりではなく、均質性も求められ、両者を満たされなければ試料

として用いることができない。一方、湿試料に比べ乾試料は安定性が良いことは知られており、安定性を期待する試料として紛体の乾試料を用いて技能試験も行われている。そこで、紛体の技能試験プログラム用試料の開発を目的とした。

乾燥した紛体の作製には、試料の分解を考慮すると凍結乾燥法が有力であるが、多量の試料を作製するためには向かない。また、紛体と紛体を混合しても、粒子径が同じでなければ均質なものはできない。そこで、液体原料を熱風中に噴霧して液滴の比表面積を増加させ短時間で水分を蒸発させる乾燥法であるスプレードライヤ（噴霧乾燥法）をこの技能試験プログラム用試料作製に応用できないか検討した。スプレードライヤは 20 世紀初めに脱脂粉乳の乾燥に用いられ発達した技術であり、種々の食品に応用されている。通常は液体原料に適用された技術であるが、我々は、玄米粉を用い、カドミウム溶液に懸濁させて作製条件の検討を行い、重金属検査用技能試験用試料として用いることができることを示した。昨年度は 20%アセトニトリル溶液を用い、噴霧温度 80℃でいずれの農薬でも回収率が良好であった。そこで、今年度は、同一の玄米粉を用い、同一条件で再現性の検討を行った。

B. 方法

1. 試料基材および試薬

試料基材として自家製玄米粉（宮城ひとめぼれを粉碎した）を用いた。農薬（ダイアジノン標準品、フェニトロチオン標準品、マラチオン標準品、クロルピ

リホス標準品）はいずれも Dr.Ehrenstorfer 製を用いた。また、溶解、抽出にアセトニトリル（HPLC 用、富士フィルム和光純薬）、トルエン（富士フィルム和光純薬）、ヘキサン（残留農薬用、富士フィルム和光純薬）、アセトン（残留農薬用、富士フィルム和光純薬）および水（HPLC 用、富士フィルム和光純薬）を用いた。

2. 使用機器および測定条件

残留農薬標準品の秤量にはザルトリウス社製電子天秤（MSA225S100DI）を用いた。農薬の測定には島津製作所社製 GC/MS-QP2010 を使用した。カラムは DB-5MS（Agilent J&W）を用い、以下の測定条件で行った。

GC/MS 測定条件

カラムオープン温度:50℃

気化室温度:250℃

注入モード:スプリットレス

サンプリング時間:1.5 分

線速度:47.2 cm/秒

スプリット比:15:1

温度プログラム:50℃ (1 分) ⇒125℃

(25℃/分) ⇒300℃ (10℃/分) 10 分

3. 標準溶液の調製

農薬の標準原液は、ダイアジノン、フェニトロチオン、マラチオンおよびクロルピリホスについて、それぞれの農薬標準原液を調製した。すなわち、各標準品を当該成績書の純度に基づき換算し、100.0 mg となるよう精密に量りとり、これにアセトンを加えて溶かし、正確に 100 mL として各農薬の標準原液（1000 µg/mL）とした。

4. 試料溶液の調製

GC/MS 用試料

試料 10.0 g に水 20 mL 加え、15 分間放置し、アセトニトリル 40 mL 添加し、3 分間ホモジナイズした。ホモジナイザー (GLH-115) のシャフトを少量のアセトニトリルで洗い、ホモジナイズした試料と合わせ、ホモジナイズした試料を吸引ろ過した (受器 : 100 mL 容メスフラスコ、桐山ロート、No. 5A ろ紙)。残渣をろ紙ごと回収 (スパーテル、ピンセット等を用いて抽出容器に戻した) し、アセトニトリル 20 mL を添加、攪拌後、再度 3 分間ホモジナイズした。シャフトを少量のアセトニトリルで洗い、ホモジナイズした試料と合わせ、吸引ろ過し、抽出容器内及び残渣をアセトニトリルで洗い込み、ろ液を全て合わせ、アセトニトリルで正確に 100 mL とした。分液ロートに抽出液 20 mL を正確にとり、振とう機で 10 分間振とうした。30 分以上静置した後、分離した下層 (水) を除去し、予め C18 ミニカラムをアセトニトリル 10 mL でコンディショニングした。このカラムを吸引マニホールドにセットし、分離したアセトニトリル層を注入した。さらに、アセトニトリル 2 mL を注入し、全溶出液を回収した。脱水後 (15 分間放置、この間 3 回程度振り混ぜた)、無水硫酸ナトリウムを綿栓ろ過によりろ別した (受器 : 100 mL 容ナス型フラスコ)。得られたろ液を 40° C 以下 (設定 35° C) で濃縮乾固した。残留物にアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 2 mL に溶解後、超音波処理した。精製には、予め GC/NH₂ ミニカラムをアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 10 mL でコンディショニングした。抽出

液全量 (約 2 mL) を GC/NH₂ カラムに負荷し (受器 : 50 mL 容ナス型フラスコ)、ナス型フラスコ内をアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 10 mL で洗い、この液を GC/NH₂ カラムに負荷することを 2 回繰り返した (10 mL × 2 回)。次に溶出液を 40° C 以下 (35° C 設定) で 1 mL 以下に濃縮し、これにアセトン 10 mL を加えて 40° C 以下 (35° C 設定) で 1 mL 以下に濃縮、再度アセトン 5 mL を加えて濃縮した溶媒を除去した。残留物に A/H 混液 2 mL を正確に加えて溶解後、超音波処理して試験溶液及び空試験溶液とし (試料基材 1 g/mL 相当) し、試料溶液及び空試料溶液は共栓試験管 (10 mL 容) に移し、測定日まで冷蔵庫で保管した。

5. 試料の作製

残留農薬用試料は自家製玄米粉を用い、玄米粉 1 kg をアセトニトリルまたはアセトニトリル/水 4 L に懸濁させ、スプレードライヤに供した。

5. スプレードライヤによる玄米粉試料作製条件

作製検討に用いたスプレードライヤは大川原化工機株式会社製研究開発用窒素ガス密閉循環型スプレードライヤ CL-8i を用いた。玄米粉懸濁溶液は事前にホモキサーで攪拌し、均一な懸濁溶液とし、原液タンクに移し、攪拌しながらペリスタポンプでアトマイザに 2 kg/h で送液した。アトマイザにはロータリー式を用い、ディスクは MC-50 型を使用した。回転数は 20000 rpm に設定した。また、入り口温度は 120° C、100° C、80° C で作製

温度を検討した。得られた玄米粉はマイクロトラックベル社製マイクロトラックMT3200を用い平均粒子径を測定した。また、得られた玄米粉は課題5でIDMSを用いて高度化した一斉試験法により正確な分析値を付与した。また、作製した玄米粉は顕微鏡下で粒子の観察を行った。

(倫理面への配慮)

食品の安全に関する研究であり、倫理面への配慮をする必要はなかった。

C. D. 研究結果および考察

スプレードライヤによる玄米粉試料作製の再現性

残留農薬検査用技能試験試料の作製について検討した。残留農薬は水溶性のものは少なく、有機溶媒を用いた作製の検討となった。これまで用いたスプレードライヤはいずれも水溶液用であり、有機溶媒を用いる場合は、窒素ガス密閉循環型スプレードライヤがその作製には有効の装置である。本装置 CL-8i は予備検討に使用した L-8i の密閉系の装置であり、難水溶性物質の乾燥、造粒が可能であり、窒素循環させていることから酸化防止にもなり、残留農薬検査用試料作製には適した装置であると考えられた。そこで、前回まで基材としては重金属と同様の自家製玄米粉を用い、4種の農薬を図1に示すように試料作製した。図2には用いたスプレードライヤ CL-8i の外観を示す。本装置を用い、アトマイザーの回転数は 20000rpm とし、処理量は 2kg/h に設定し、入口温度を 120℃、100℃、80℃の3条件で検討を行った。

用いた溶媒はアセトニトリルであり、いずれの農薬も溶解した。これまでアセトニトリル溶液として 100%から水を添加し 80%、40%及び 20%溶液として検討した。アセトニトリルの比率が多いと、玄米粉と懸濁させたとき玄米粉の沈降速度が速くペリスタポンプで上方へ送液中に玄米粉粒子が沈降するスピードが速く、微細な粒子が先に導入されて、大きな粒子が遅れて導入されることがわかった。また、吸い込み口を下げると、大きな粒子も導入されるため、回収量が多くなることも確認された。よって、攪拌や導入口の位置など検討する必要があることがわかった。重金属の作製においては水を溶媒として用いたのに対して、農薬は有機溶媒を使用していることから玄米粉への溶媒の浸透度の違いがあり、アセトニトリル濃度が高いと農薬は玄米粉中への浸透は少なく、回収率が低くなったと考えられた。そこで、回収率の改善のために水を添加し、回収率を比較した結果、水の比率を高くすることで4種農薬(ダイアジノン、フェニトロチオン、マラチオン、クロルピリホス)は回収率が改善された。すなわち、20%アセトニトリル溶液を用いた場合、4種農薬の回収率は最も高かった(課題5の結果より)。また、噴霧温度は 120℃の時、いずれの農薬も回収率は最も低かった。これは、噴霧温度が高いと農薬が気化し、回収率を下げていると考えられた。4種農薬の中で最も沸点の低いダイアジノンの回収率がもっとも低かった。今回の再現性の試験においても同様の傾向が認められた。噴霧温度を下げることで回収率

は改善した。今回の再現性試験は前回と同様の条件で行った。すなわち、アトマイザの回転数：20000rpm、処理量2kg/h、噴霧温度（入口温度）を120℃、100℃、80℃で検討した。回収率が最も高かったのはフェニトロチオンであり、この結果は課題5で示してある。前回は、クロルピリホスが最も回収率が高かった。この結果が逆転したのは、運転条件の出口温度影響している可能性が考えられた。また、粉体の平均粒子径にも差が認められた。すなわち、前回作製したときは平均粒子径が250～280 μm であったのに対し今回は粒子径が約200 μm と小さかった。また、残留溶媒（%）も今回は前回に比べ低かったためこれらが再現性に影響した可能性は否定できない（図3、図4）。以上のように、水の添加量を増やすことで回収率が改善したが、これ以上の水の添加は農薬の水の溶解性を考えると限界であると考えられた。何か溶解を補助するものを添加することでさらに水の添加量を増やすことも可能であるが実験系が複雑になることから本条件が最適であると考えられた。図5には今回作製した噴霧温度の違いによる顕微鏡写真を示す。いずれの顕微鏡写真も同様の粒子形状であり不定形であった。次に、図6～8に前回の測定と今回の測定による噴霧温度の違いによる粒度分布の比較を示す。平均粒子径は今回（2022年7月測定）の方が小さいことが確認された。特に、80℃の時、前回（2021年7月測定）は二峰性の分布を示したのに対して、今回は平均粒子径が約200 μm で50 μm から400 μm まで分布

していた。

以上より、今回の条件が適正であると考えられるが、スプレードライヤ条件が同じであっても若干の条件の際が認められ、それが粒子径や回収率に影響を与えていることが分かった。ただし、詳細については検討する余地があるが、玄米粉を基材として用い、20%アセトニトリル溶液で懸濁させた場合、これら4種の農薬に対しては本条件が最適であると考えられた。今後は本条件でのさらなる検討が必要であると思われるが、作製された本残留農薬用試料の安定性を確認し、さらにこれを用いたパイロットスタディを実施する予定である。

E. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

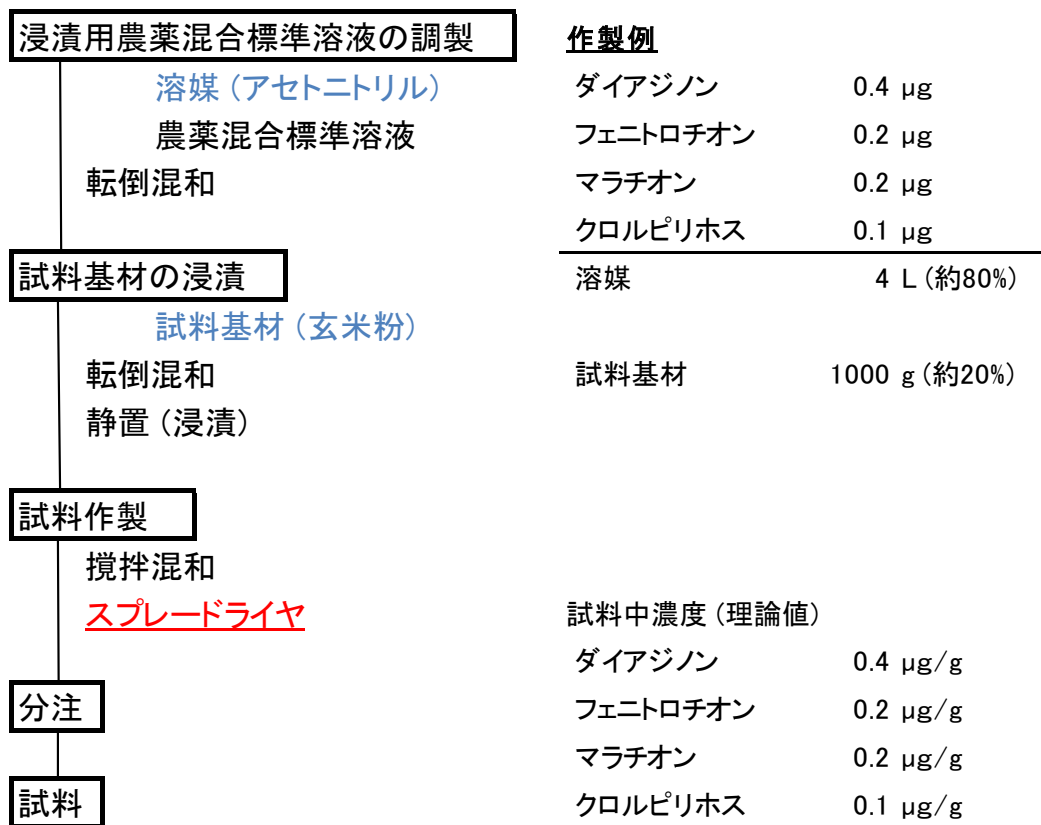


図1 スプレードライヤによる技能試験用残留農薬検査試料作製スキーム



図2 窒素ガス密閉循環型スプレードライヤCL-8iの外観

機種名: CL-8i

実施日: 2021年7月28日

Lot No.		1	2	3	4	5
原液条件	原液名 -	米粉懸濁液	←	←		
	固形分濃度 [%]	16.5	←	←		
	液比重 -	1.03	←	←		
	見掛粘度 [mPa·s]	-	-	-		
	溶媒名 -	アセトニル+H ₂ O	←	←		
	液色 -	薄茶	←	←		
	一次粒子径 [μ m]	≒10~500	←	←		
	液温度 [°C]	常温	←	←		
使用液量 [kg]	1.86	1.71	1.02			
運転条件	ディスク型式 -	MC-50	←	←		
	回転数 [rpm]	20,000	←	←		
	原液処理量 [kg/h]	2.5	2.3	2.0		
	入口温度 [°C]	120	100	80		
	出口温度 [°C]	65	43	35		
	サイクロン差圧 [kPa]	0.50	0.32	0.35		
	凝縮器出口温度 [°C]	3.1	10.2	10.0		
製品	平均粒子径 [μ m]	258	252	279		
	粒子形状 -	不定	←	←		
	残留溶媒 [%]	11.3	19.3	24.0		
	嵩密度 [g/ml]	0.56	0.48	0.56		
	サイクロン回収量 [g]	379.78	321.52	162.16		
※ ←記号は同左を示す。-記号は測定不能または測定不要を示す。						
測定条件	固形分濃度	乾燥減量 恒温槽 105°C/3h				
	残留溶媒	乾燥減量 恒温槽 105°C/2h				
	液比重	容積重量法				
	見掛粘度	未測定 ローター: / rpm				
	製品粒子径	レーザー粒度分布測定				
製品嵩密度	100ml すり切り容器 (Non tap)					
備考	<ul style="list-style-type: none"> ・原液の分析結果は原液の沈降性が激しいため参考値とする。 ・比較用として持参されたサンプルは、形状確認と粒度分布測定を実施した。 					

図3 スプレードライヤ条件 (2021年7月測定)

機種名 : CL-8i

実施日 : 2022年7月13日

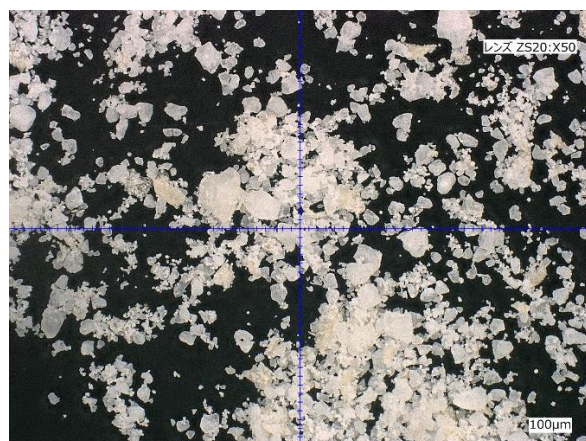
Lot No.		1	2	3	4	5
原液条件	原液名 -	米粉懸濁液	←	←		
	固形分濃度 [%]	①14.1②13.3	←	←		
	液比重 -	1.04	←	←		
	見掛粘度 [mPa·s]	-	-	-		
	溶媒名 -	アセトニトリル+H ₂ O	←	←		
	液色 -	薄茶	←	←		
	一次粒子径 [μ m]	≒10~500	←	←		
	液温度 [°C]	常温	←	←		
使用液量 [kg]	1.15	1.52	2.02			
運転条件	ディスク型式 -	MC-50	←	←		
	回転数 [rpm]	20,000	←	←		
	原液処理量 [kg/h]	2.3	←	2.2		
	入口温度 [°C]	120	100	80		
	出口温度 [°C]	66	57	44		
	サイクロン差圧 [kPa]	0.55	0.54	←		
	凝縮器出口温度 [°C]	16	17	16		
製品	平均粒子径 [μ m]	186	213	195		
	粒子形状 -	不定	←	←		
	残留溶媒 [%]	10.0	10.3	14.2		
	嵩密度 [g/ml]	0.51	0.53	0.50		
	サイクロン回収量 [g]	173.83	273.54	466.63		

※ ←記号は同左を示す。-記号は測定不能または測定不要を示す。

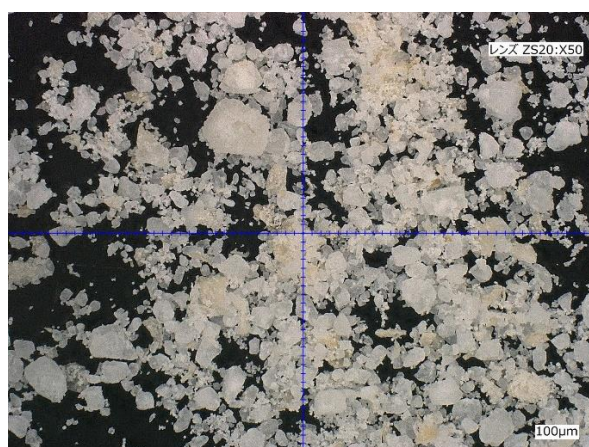
測定条件	固形分濃度	乾燥減量 恒温槽 105°C/3h
	残留溶媒	乾燥減量 恒温槽 105°C/2h
	液比重	容積重量法
	見掛粘度	未測定 ローター: / rpm
	製品粒子径	レーザー粒度分布測定
製品嵩密度	100ml すり切り容器 (Non tap)	

備考	・送液は天井部高さより行い、原液は羽根攪拌を実施した。
	・原液の分析結果は原液の沈降性が激しいため参考値とする。
	・比較用として持参されたサンプルは、形状確認と粒度分布測定を実施した。

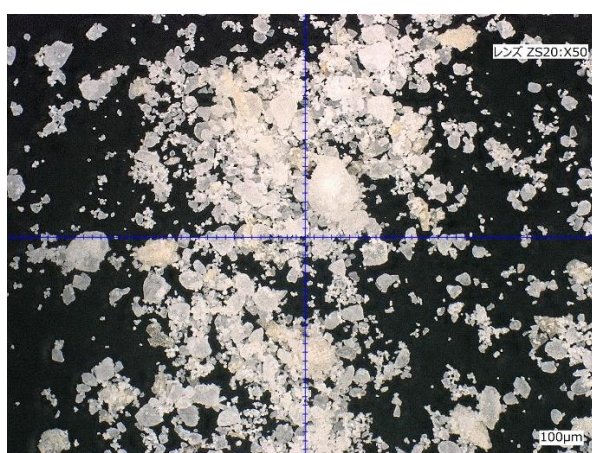
図4 スプレードライヤ条件 (2022年7月測定)



120°C



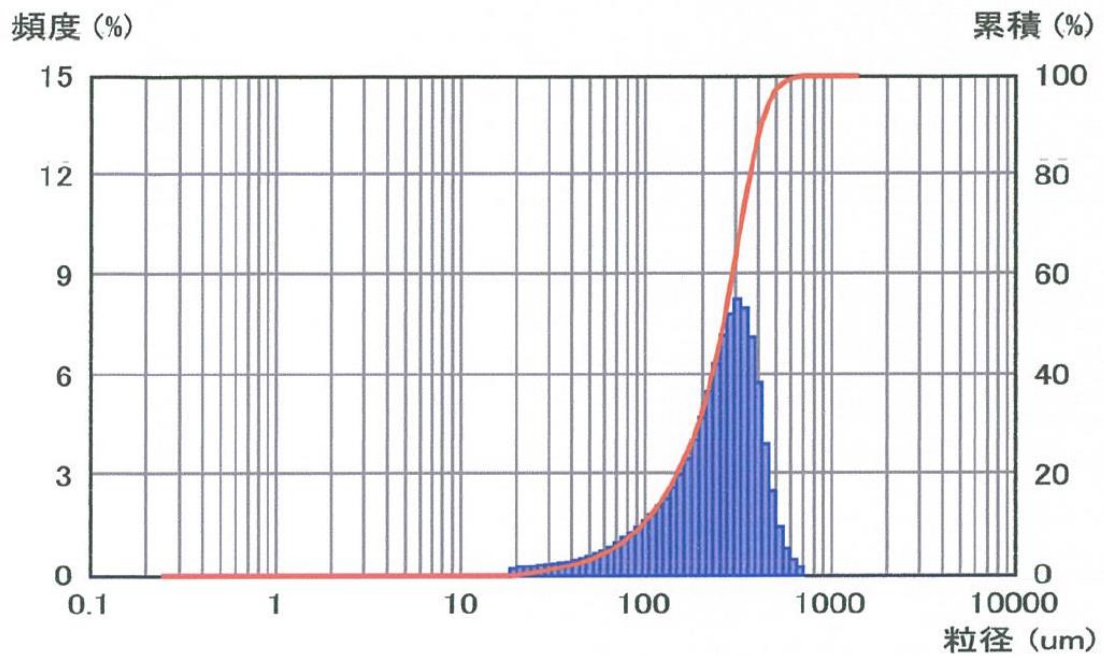
100°C



80°C

図5 噴霧温度の違いによる粒子の顕微鏡写真の比較

2021年7月測定



2022年7月測定

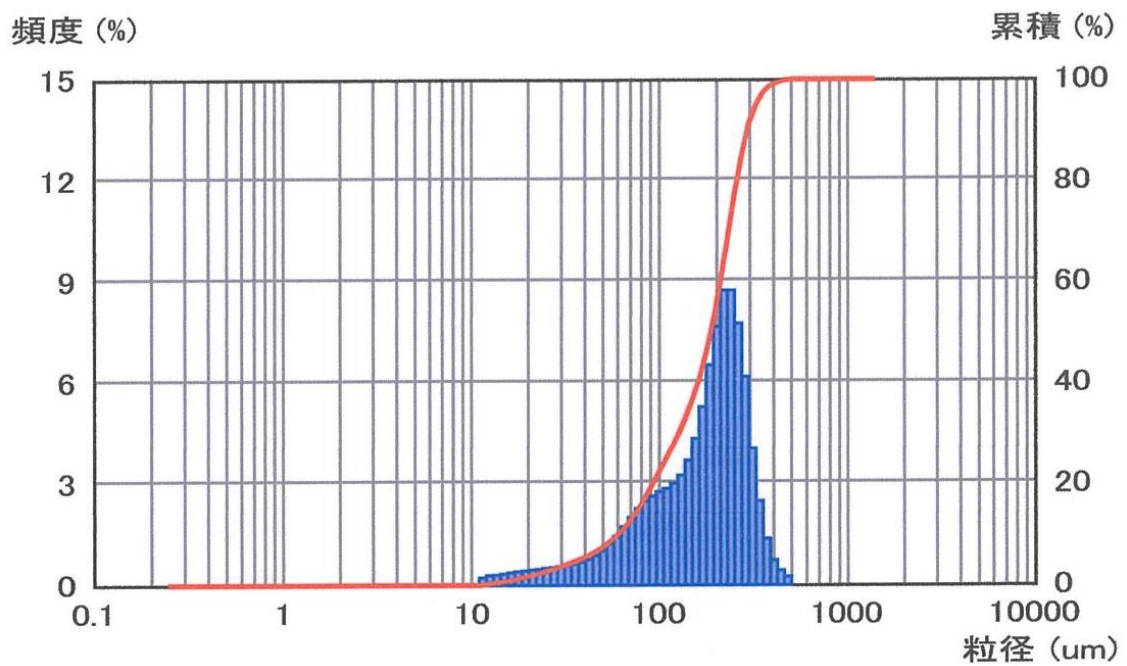
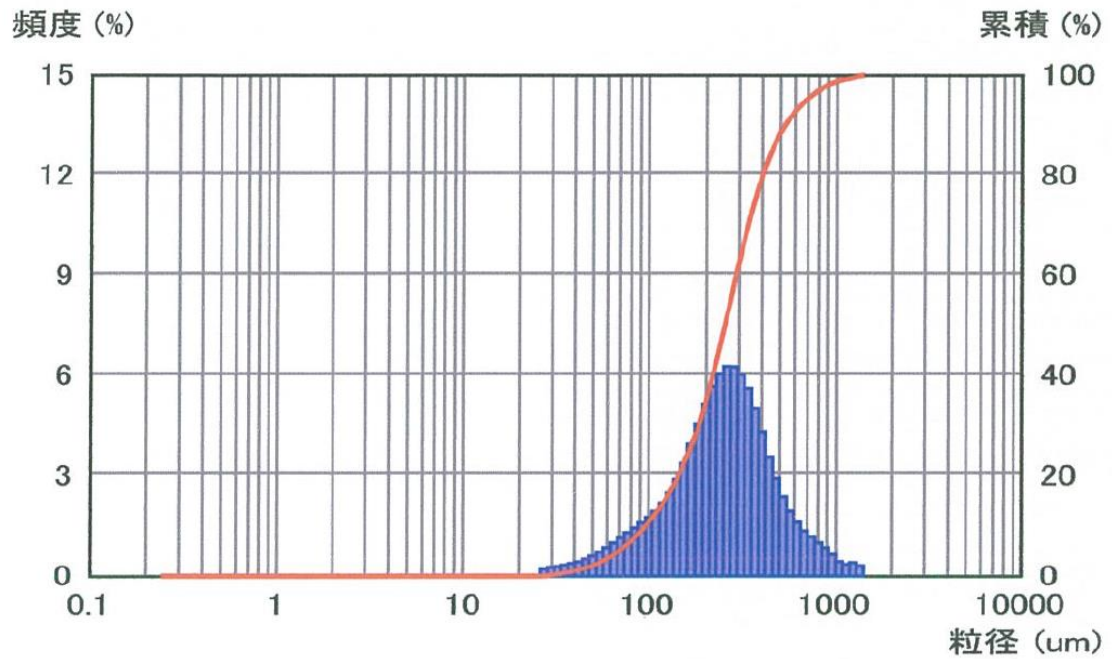


図6 120°Cで噴霧したときの粒度分布の比較

2021年7月測定



2022年7月測定

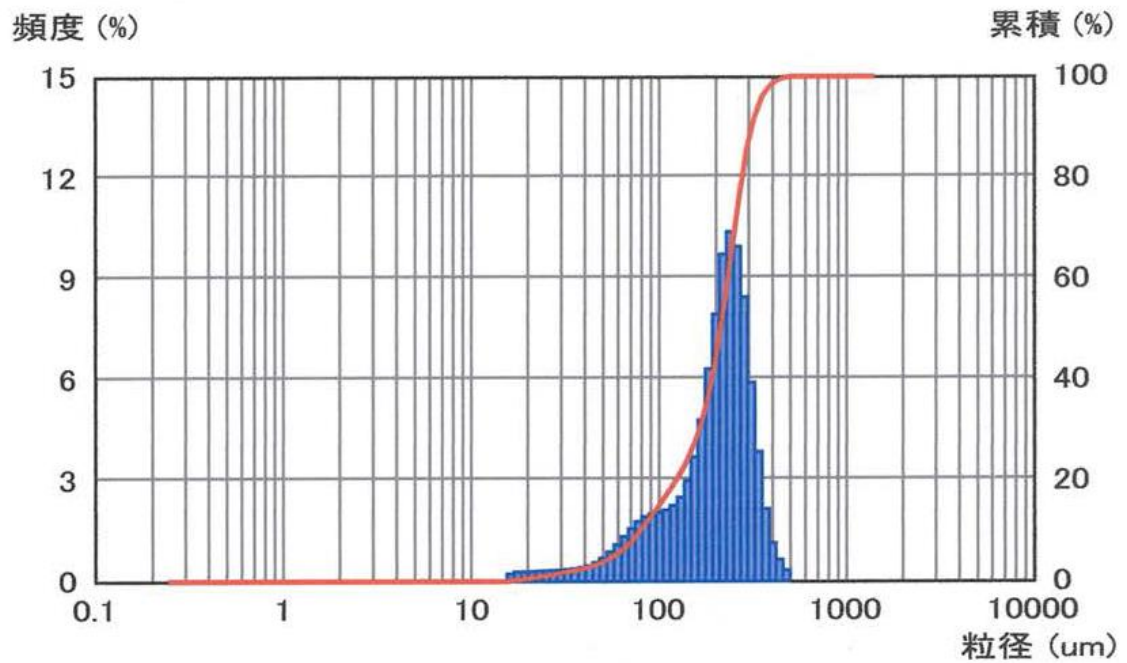
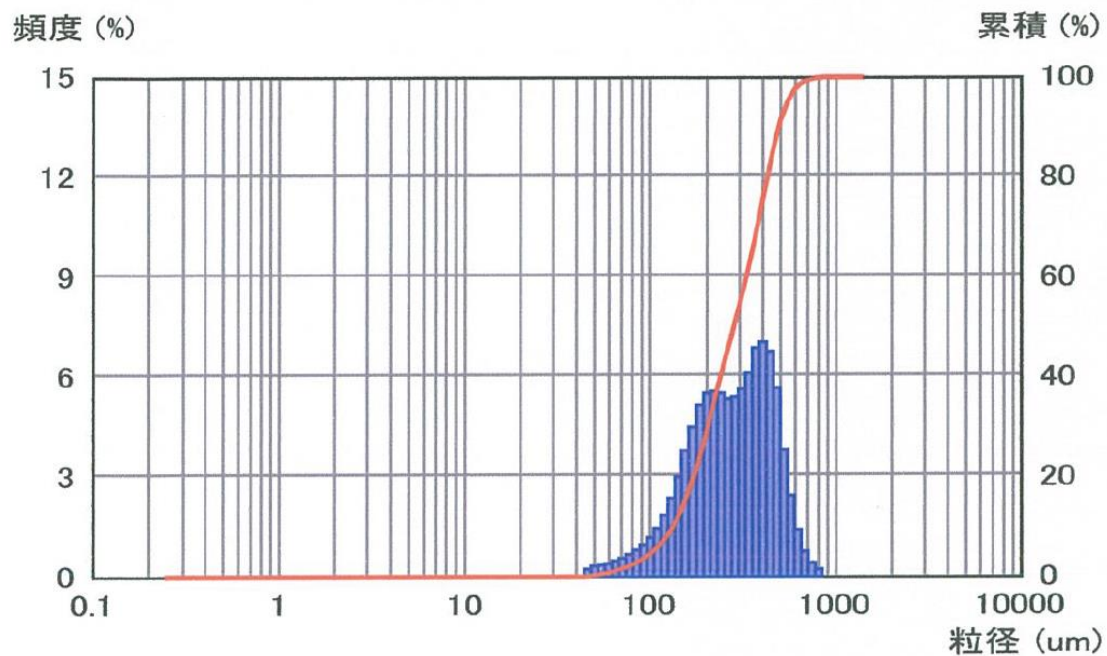


図7 100°Cで噴霧したときの粒度分布の比較

2021年7月測定



2022年7月測定

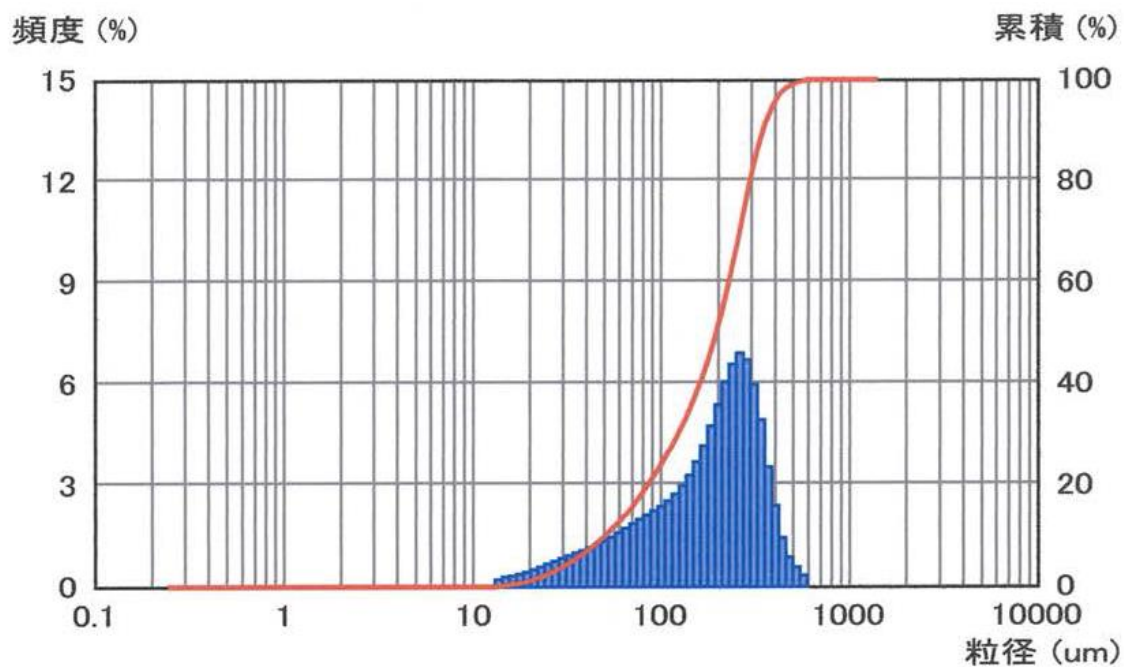


図7 80℃で噴霧したときの粒度分布の比較