

令和5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

これまで玄米粉を用いた残留農薬検査用試料作製を検討してきた。その結果、スプレードライヤの噴霧温度（入口温度）を100℃に設定し、20%アセトニトリル溶液で20%玄米粉懸濁液とすることで、添加した4種（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）の農薬も回収率は良好であった。この条件により、パイロットスタディのための残留農薬検査用試料を作製し、課題5に供与した。課題5では、今後、均質性、安定性を確認し、パイロットスタディを実施する予定である。また、今年度は、残留農薬検査用の野菜を基材とした試料について作製検討した。基材にはハウレンソウパウダーを用いた。懸濁溶媒として玄米粉で用いた20%アセトニトリル溶液を使用した。ハウレンソウパウダーは玄米粉に比べ粘張度が高いため10%懸濁液とした。スプレードライヤの噴霧温度（入口温度）を100℃、80℃で比較検討した。80℃では出口温度がかなり下がってしまい粉体は壁面に固着し回収が困難であった。これら作製された試料は、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。次に、この固着を解消するために、アセトニトリルを増やし30%として検討したが、回収率など改善があまり認められなかった為20%アセトニトリル溶液を用い、入り口温度100℃で今後の検討を進めることとした。

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。これら外部精度管理プログラム

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、紛体の外部精度管理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）をこの外部精度管理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。これまで、玄米粉を基材とした残留農薬検査用試料作製条件を検討し、20%アセトニトリル溶液が良好な回収を示すことを見出した。今回、噴霧温度を検討し、最適条件を検討し、パイロットスタディ用残留農薬検査用試料作製すると共に、ハウレンソウを基材とした残留農薬検査用試料の作製を行い、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。

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）および野菜ファインパウダーハウレンソウパウダー（三笠産業）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)および精製水(日本薬局方、小堺製薬)を用いた。

2. 使用機器

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。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。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。平均粒子径はマイクロトラックベル社製マイクロトラック MT3200 を用い測定した。

3. 懸濁溶液の調製

パイロットスタディ用残留農薬検査用試料は自家製玄米粉を用い、玄米粉 2 kg を 20%アセトニトリル溶液 8 L に懸濁させ、スプレードライヤに供した。

また、検討用のハウレンソウパウダー 1 kg を 20%または 30%アセトニトリル溶液 9 L に懸濁させ、スプレードライヤに供した。これらの懸濁液には、ダイアジノン (0.40 μ g/g)、フェニトロチオン (0.20 μ g/g)、マラチオン (0.20 μ

g/g) およびクロロピリホス (0.10 μ g/g) を添加した。

4. スプレードライヤによるパイロットスタディ用玄米粉試料作製

研究開発用窒素ガス密閉循環型スプレードライヤCL-8iを用いて作製した(図1)。すなわち、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、入口温度は100°Cに設定し、作製した。得られた玄米粉は平均粒子径を測定した。得られた玄米粉は課題5のパイロットスタディで使用予定である。また、ハウレンソウを基材とした残留農薬検査用試料は玄米粉と同様の測定条件で入口温度を100°C及び80°Cで検討し、課題5に供し、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。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パイロットスタディ用玄米粉試料作製

これまで玄米粉を基材とした残留農薬検査用試料の作製について種々検討した。特に玄米粉を懸濁させるアセトニト

リル溶液の濃度について検討した結果、20%の時添加した4種農薬が最も回収率が良かったため、パイロットスタディ用残留農薬検査用試料として20%アセトニトリル溶液に懸濁させスプレードライヤに供した。表1に作製条件を示す。基材となる玄米粉の一次粒子径は10 μ m~500 μ mと幅広くその顕微鏡写真と粒度分布は図2と図4に示す。平均粒子径は221.5 μ mでさらに500 μ m付近にもピークが認められた。一方、スプレードライヤにより作製した玄米粉試料の顕微鏡写真と粒度分布は図3と図5に示す。顕微鏡写真から造粒した数ミクロンの粒子も多数認められ、平均粒子径は188.6 μ mと基材の玄米粉試料よりやや平均粒子径は小さくなり、500 μ m付近のピークは消失した。作製した試料は課題5に供し、均質性と安定性の確認のもとパイロットスタディに供する予定である。

スプレードライヤによる残留農薬検査用ハウレンソウ試料の作製検討

玄米粉を基材として残留農薬検査用試料作製を検討し、添加した4種の農薬の回収率が良好な条件を見出した。その条件を参考に野菜を基材として適用するためにハウレンソウパウダーを用いた。このハウレンソウパウダーは玄米粉より粒子径は小さく均質なパウダーであり数 μ m~200 μ mの粒度分布で平均粒子径は26.76 μ mであり、顕微鏡写真と粒度分布は図6と図8に示す。玄米粉において噴霧温度を低く設定したほうが各農薬の回収率は高くなることから、噴霧温度(入口温度)を100°Cと80°Cで比較検討

した。懸濁溶媒には20%アセトニトリル溶液を用い、表2の条件で比較検討を行った。玄米粉の場合は20%懸濁液としたが、ハウレンソウパウダーは平均粒子径が小さく、懸濁液としたとき粘性が高く作製に支障をきたす可能性があったため、10%懸濁液とした。その他の作製条件は玄米粉の場合と同様とした。図7に噴霧温度の違いによる顕、微鏡写真の比較を、図9に噴霧温度の違いによる粒度分布の比較を示す。基材のハウレンソウパウダーは数ミクロンの微細な粒子が多数認められたのに対して、噴霧温度100℃の場合は平均粒子径が45.51 μm 、80℃の場合は63.02 μm と噴霧温度を下げると平均粒子径が大きくなることが分かった。しかしながら、温度を下げることによって、乾燥が不十分となり、ハウレンソウパウダーが内壁に固着し、ハウレンソウの回収が悪くなった。そこで、水分量を減らすことで、乾燥を促進させることを考え、20%アセトニトリル溶液からさらに、30%アセトニトリル溶液とし、噴霧温度100℃、80℃で比較検討を行った。表3にスプレードライヤの条件を示す。アセトニトリル量を増やしても各パラメーターに変動は見られなかったが、20%アセトニトリルのとき、80℃の残留溶媒は12.2%であったのに対して、30%アセトニトリルでは8.3%と100℃のときの残留溶媒に近い値を示した。このことよりアセトニトリル量を多くすることで低い入口温度でも残留溶媒を低くすることができた。スプレードライヤで作製した試料の回収は20%に比べ改善された。4種農薬の回収率を課題5で評

価した上で最適条件を決定する。図10に噴霧温度の違いによる顕微鏡写真の比較と図11にその粒度分布の比較を示す。これらを20%アセトニトリルの結果と比較すると、平均粒子径については同様の結果となり、アセトニトリル量の変化ではこれらの造粒には影響しないことが分かった。これらの結果を受け、課題5で最適条件を決定し、パイロットスタディ用試料として供する予定である。

E. 結論

スプレードライヤで作製するために玄米粉を基材とした残留農薬検査用試料は20%アセトニトリル溶液で懸濁させ、スプレードライヤの噴霧温度を100℃に設定することで、添加した農薬の回収率が最も高くなることが確認された。この条件でパイロットスタディ用試料を課題5に供与した。また、残留農薬検査用野菜試料としてハウレンソウパウダーを使用し、作製条件を検討した。その結果、ハウレンソウパウダーは粘張度が高いことから10%懸濁液として検討した。最終的に玄米粉と同様に溶媒は20%アセトニトリル溶液を用い、噴霧温度は100℃に設定し今後の研究に供することとした。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 鳥居塚南, 上原由理香, 長谷川守文, 渡辺卓穂, 鎗田孝, 親水性-親油性バランス型充填剤を用いた簡便な固相抽出精

製による二枚貝中オカダ酸群の精密定量,
分析化学, 73、185-191 (2024)

2. 学会発表

1) 鎗田孝, 鳥居塚南, 上原由理香, 川口
研, 渡辺卓穂, ホタテガイ中のオカダ酸
群分析に関する試験所間比較試験, 日本
食品衛生学会第119回学術講演会 (東京),
2023.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

機種名: CL-8i

実施日: 2023年8月22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 [%]		①13.0②13.1			
	液比重	-	1.04			
	見掛粘度 [mPa·s]		-			
	溶媒名	-	7セトトリル+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]		9.44				
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			
	入口温度 [°C]		100			
	出口温度 [°C]		62→52			
	サイクロン差圧 [kPa]		0.55			
	凝縮器出口温度 [°C]		18			
製品	平均粒子径 [μ m]		189/227			
	粒子形状	-	不定			
	残留溶媒 [%]		12.5/13.9			
	嵩密度 [g/ml]		0.52/0.51			
	サイクロン回収量 [g]		1,987			
※ ←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"> ・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。 ・製品分析結果は、開始後/終了時の順で記載した。 					

表1 スプレードライヤ条件 (パイロットスタディ用試料)

Lot No.		1	2	3	4	5
原液条件	原液名 -	ほうれん草懸濁液	←			
	固形分濃度 [%]	9.8	←			
	液比重 -	1.02	←			
	見掛粘度 [mPa·s]	176	←			
	溶媒名 -	アセトニトリル+H ₂ O	←			
	液色 -	緑	←			
	一次粒子径 [μ m]	≒10~100	←			
	液温度 [°C]	常温	←			
使用液量 [kg]	4.65	4.09				
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]	2.1	2.0			
	入口温度 [°C]	100	80			
	出口温度 [°C]	52	39			
	サイクロン差圧 [kPa]	0.68	0.70			
	凝縮器出口温度 [°C]	16	18			
製品	平均粒子径 [μ m]	46	63			
	粒子形状 -	不定	←			
	残留溶媒 [%]	8.3	12.2			
	嵩密度 [g/ml]	0.35	0.29			
サイクロン回収量 [g]	314.0	171.3				
※ ←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	B型粘度計 ローター: 62 / 60 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)				

表2 スプレードライヤ条件 (20%アセトニトリル、ほうれん草)

機種名: CL-8i

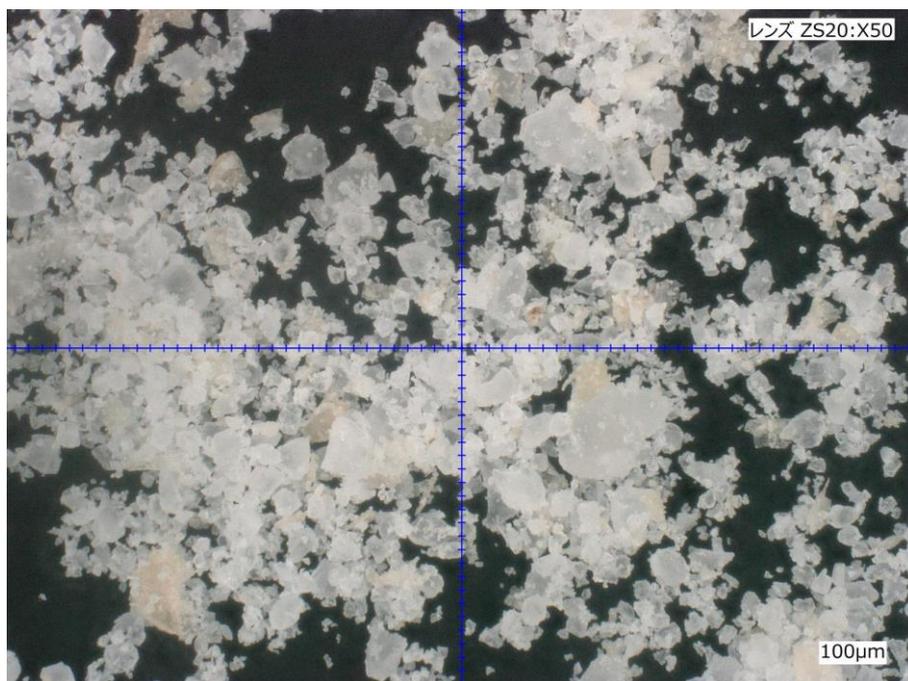
実施日: 2024年2月15日

Lot No.		1	2	3	4	5
原液条件	原液名	-	ほうれん草懸濁液	←	←	
	固形分濃度 [%]		10.1	←	←	
	液比重	-	0.93	←	←	
	見掛粘度 [mPa·s]		9	←	←	
	溶媒名	-	アセトニトリル+H ₂ O	←	←	
	液色	-	濃緑	←	←	
	液温度 [°C]		常温	←	←	
	使用液量 [kg]		2.96	3.48	2.46	
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]		3.0	2.0	←	
	入口温度 [°C]		120	100	80	
	出口温度 [°C]		61	53	44	
	サイクロン差圧 [kPa]		0.69	0.70	←	
	凝縮器出口温度 [°C]		14.6	16.8	16.9	
製品	平均粒子径 [μ m]		70	55	63	
	粒子形状	-	不定	←	←	
	残留溶媒 [%]		9.0	9.1	8.3	
	嵩密度 [g/ml]		0.31	0.34	0.30	
	サイクロン回収量 [g]		149.8	286.6	138.5	
※ ←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	B型粘度計 ローター: 61 / 60 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"> ・送液は天井部の高さより実施した。 ・溶媒噴霧はイオン交換水を用いた。 					

表3 スプレードライヤ条件 (30%アセトニトリル、ほうれん草)



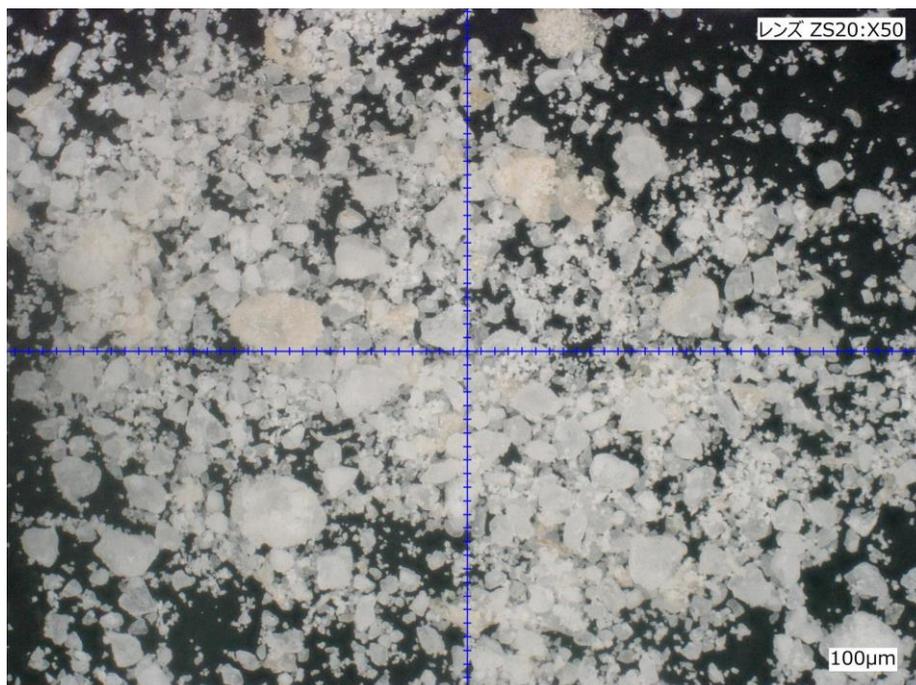
図1 窒素ガス密閉循環型スプレードライヤCL-8iの外観



測定倍率 ×50

最小目盛 100 μ m

図2 基材として用いる玄米粉の顕微鏡写真



測定倍率 ×50

最小目盛 100 μ m

図3 スプレードライヤで作製した残留農薬検査用試料の顕微鏡写真

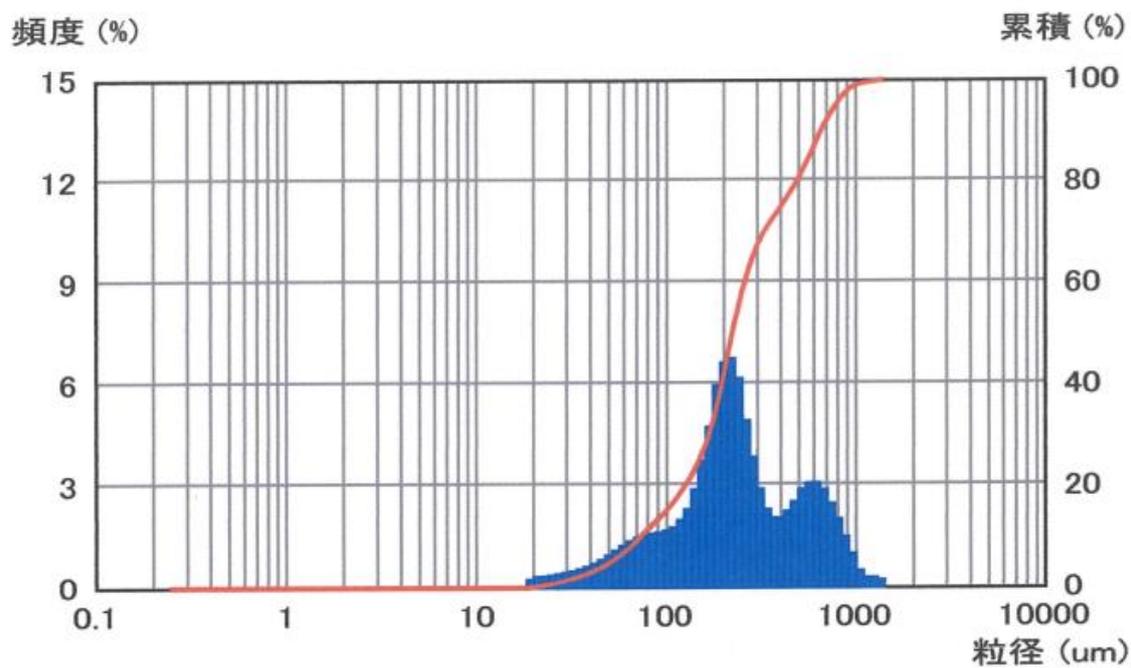


図4 基材として用いる玄米粉の粒度分布

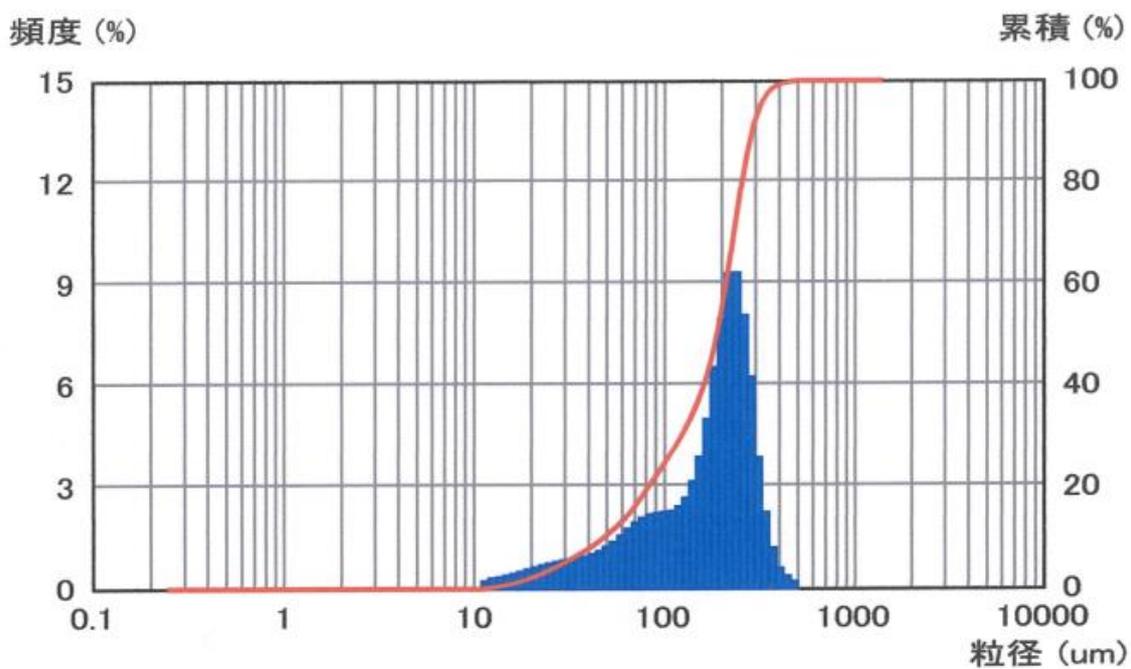
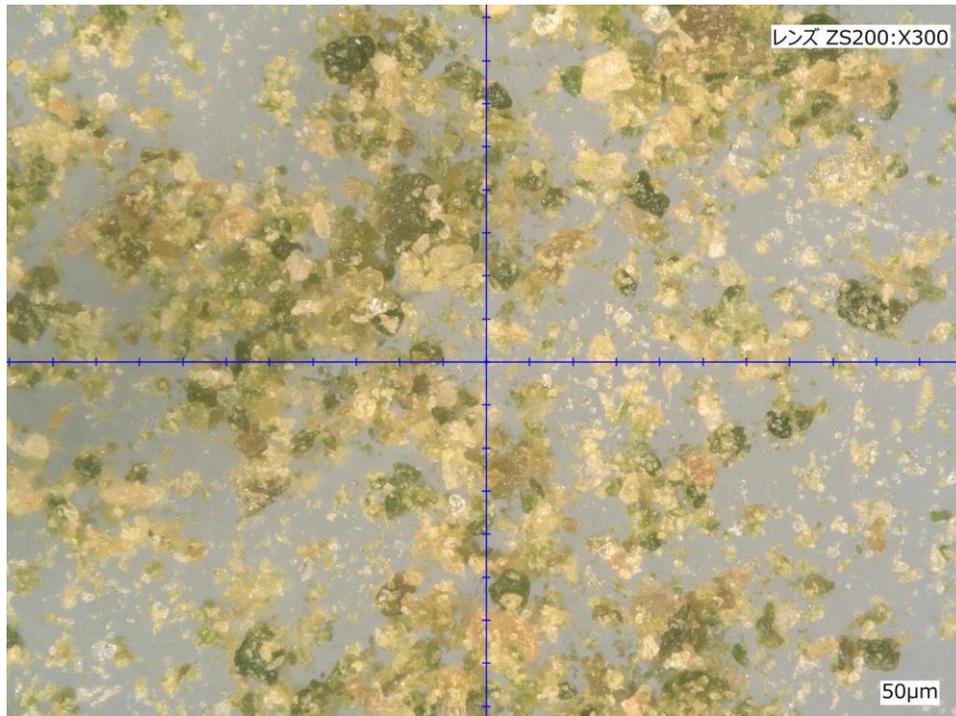


図5 スプレードライヤで作製した残留農薬検査用試料の粒度分布

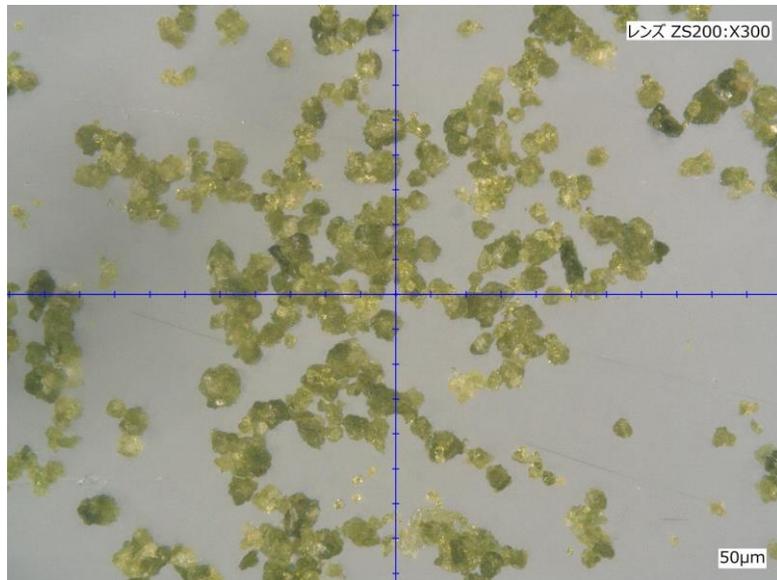


測定倍率 ×300

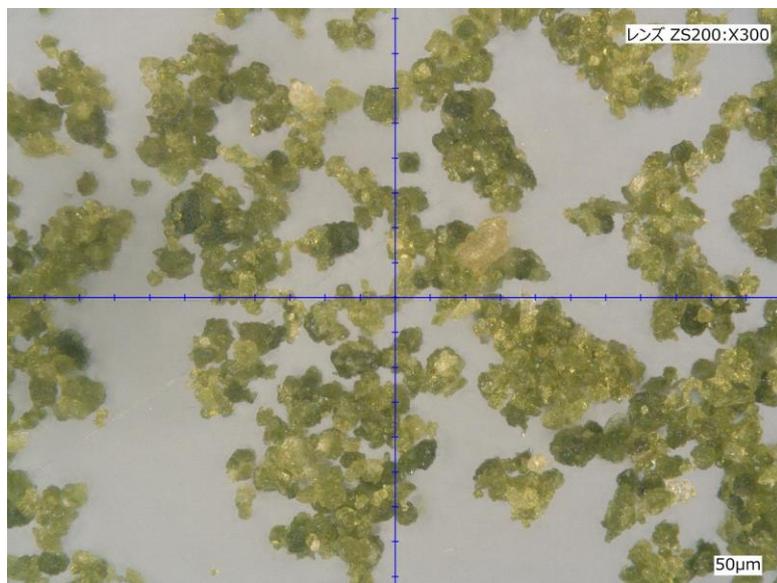
最小目盛 50 µ m

図6 ホウレンソウパウダーの顕微鏡写真

100℃



80℃



測定倍率 ×300

最小目盛 50 μ m

図7 噴霧温度の違いによる顕微鏡写真の比較 (20%アセトニトリル)

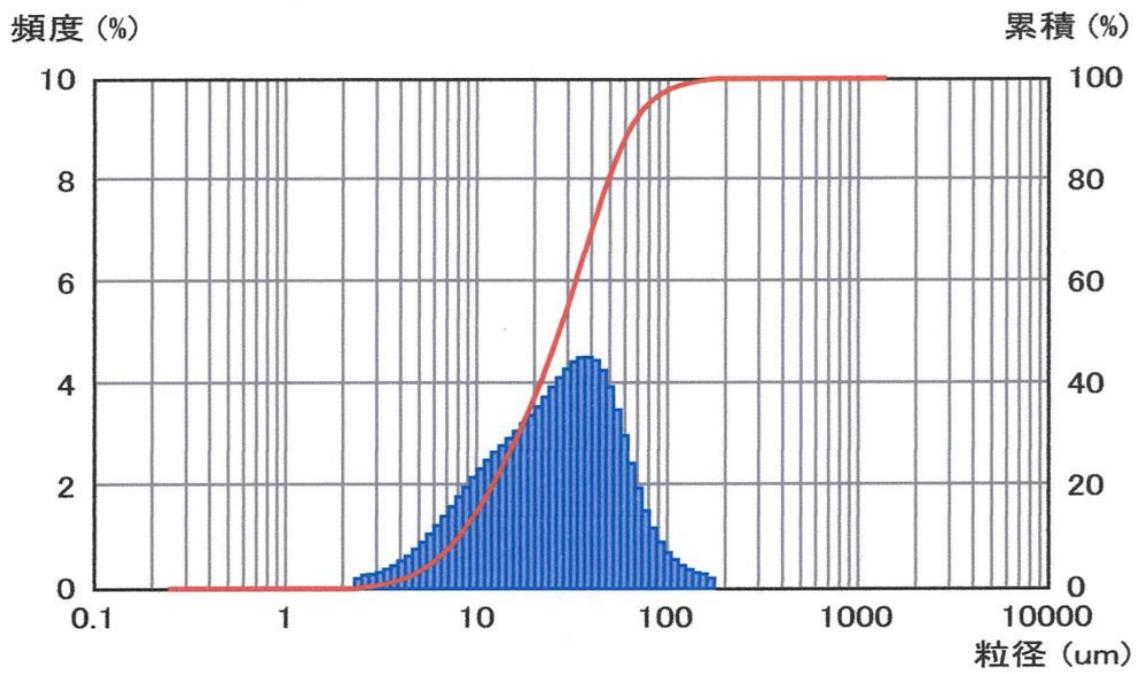


図8 ホウレンソウパウダーの粒度分布

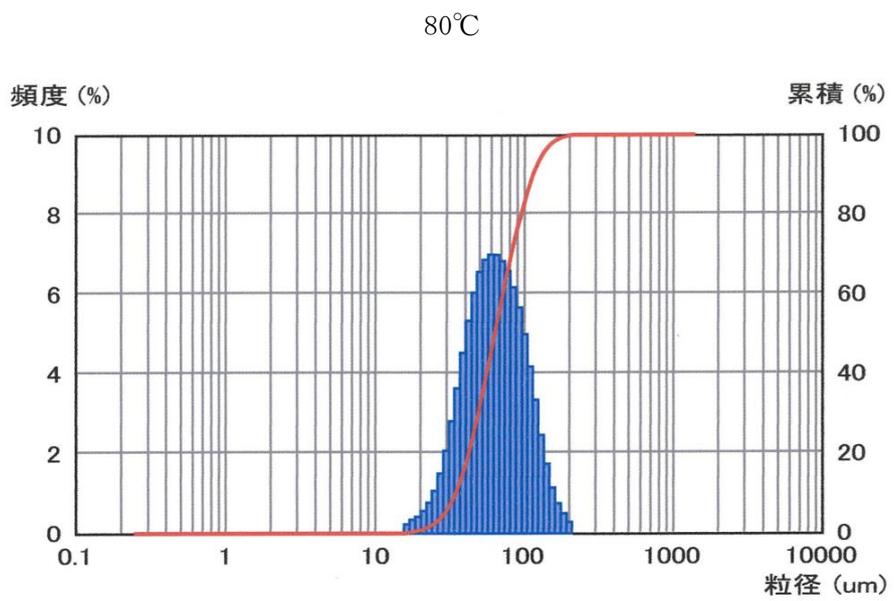
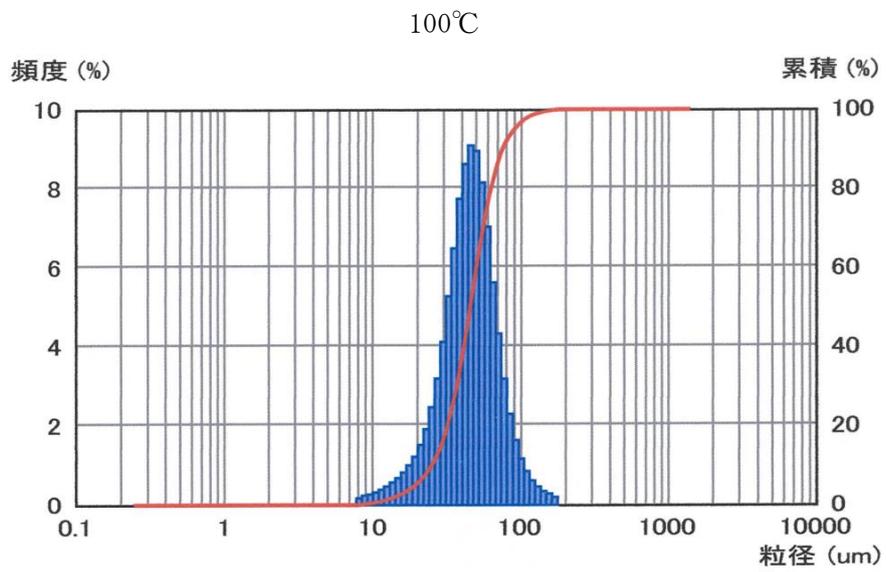
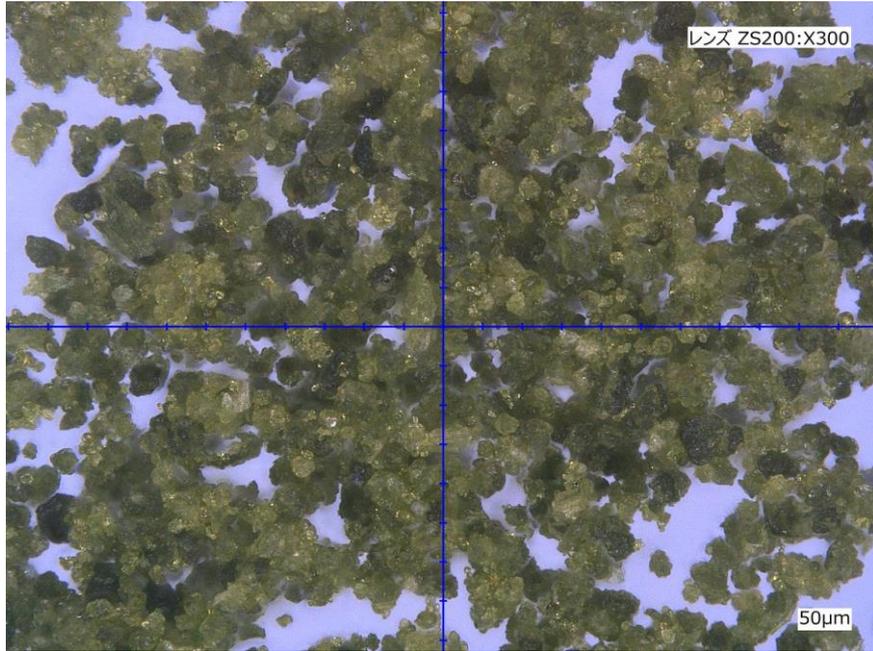
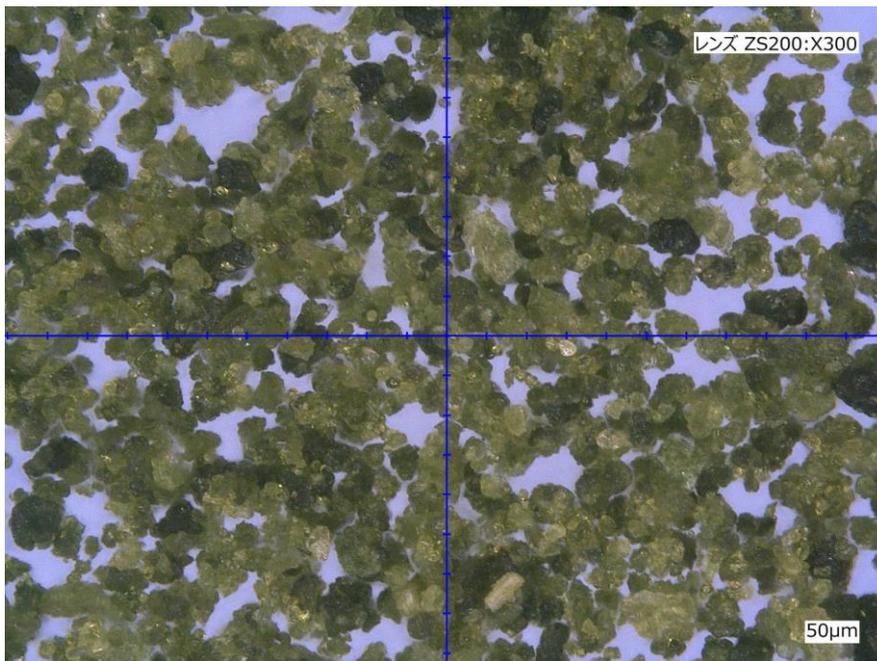


図9 噴霧温度の違いによる粒度分布の比較 (20%アセトニトリル)

100°C



80°C



測定倍率 ×300

最小目盛 50 μ m

図10 噴霧温度の違いによる顕微鏡写真の比較 (30%アセトニトリル)

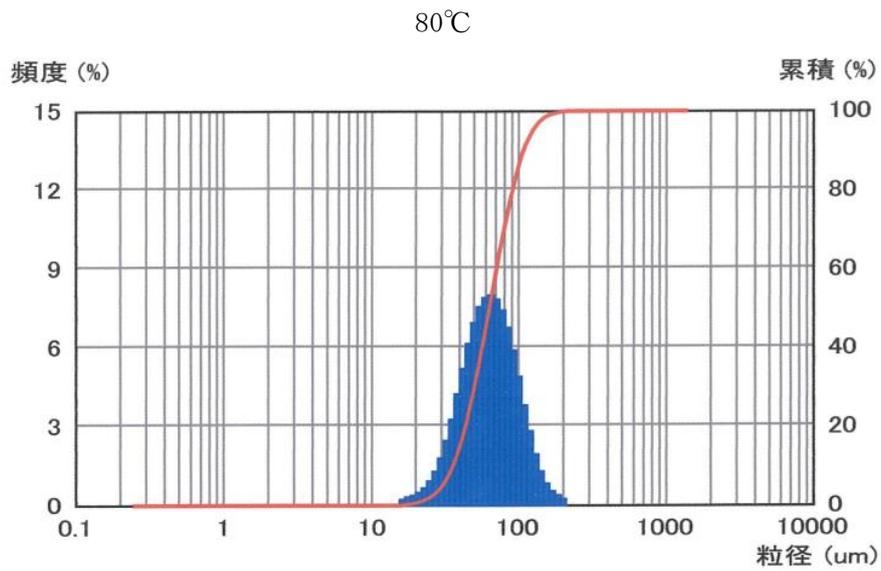
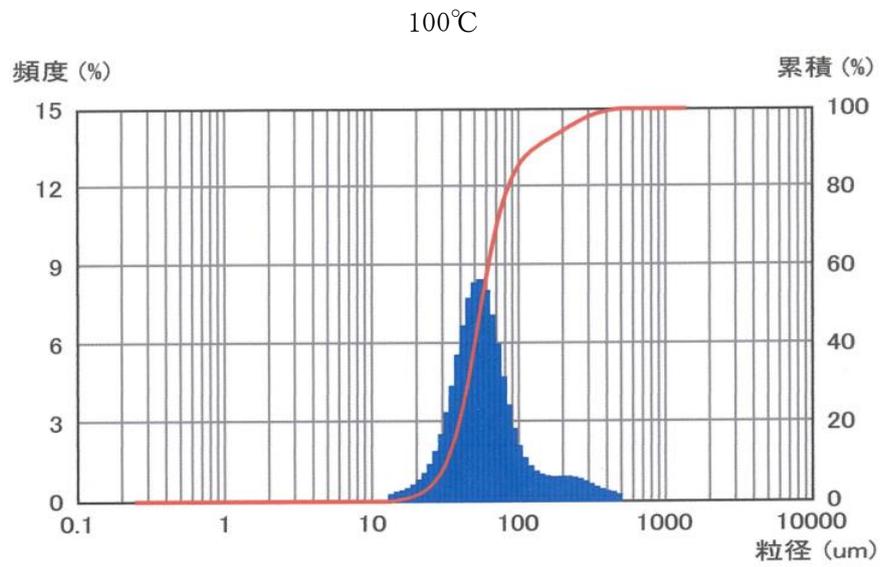


図11 噴霧温度の違いによる粒度分布の比較 (30%アセトニトリル)