

令和7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

残留農薬分析の外部精度管理に関する研究

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
研究分担者	大竹 貴光	（国研）産業技術総合研究所 研究グループ長
研究協力者	中村 圭介	（国研）産業技術総合研究所 主任研究員

研究要旨

食品の安全性を確保するためには、試験・検査等の信頼性の確保が重要であるため、食品衛生法に基づく検査機関には外部精度管理調査への参加が求められている。一方、技能試験に関する国際規格である ISO/IEC 17043 では、技能試験の付与値の不確かさをより小さくする方法として、絶対測定法による決定が挙げられている。そこで、外部精度管理調査試料中の農薬分析のための精確な方法確立し、同調査の信頼性をより向上させることを目的として本研究を行っている。具体的には、「国際単位系にトレーサブルな同位体希釈質量分析法（IDMS）を用いた方法」により得られた信頼性が高い分析値との比較を行うことで、同調査の参加者が、より正確に技能評価できる外部精度管理調査の実現を目指すことが目的である。

今年度は、残留農薬分析のための玄米試料の有効性を示すことを目的とし、食品薬品安全センター 秦野研究所がスプレードライヤにより開発した玄米試料中の農薬に対し、IDMS を用いた方法により正確な分析値を付与した。これにより、試料調製のための噴霧条件決定に寄与した。対象とした農薬は、有機りん系4種（フェニトロチオン、マラチオン、ダイアジノン、クロルピリホス）とネオニコチノイド系3種（クロチアニジン、チアメトキサム、チアクロプリド）であった。

A. 研究目的

食品の安全性を確保するためには、試験・検査等の信頼性の確保が重要である。そのため、食品衛生法に基づく検査機関には様々な分析精度管理が求められており、その一つとして外部精度管理調査への参加が求められている。一方、外部精度管理調査を含む多くの技能試験では、付与値として参加機関の分析結果から算

出した合意値を採用し、この値を基準として各参加機関の技能評価を行うことが一般的である。これに対し、技能試験に関する国際規格である ISO/IEC 17043:2010（JIS Q 17043:2011）では、付与値の不確かさをより小さくする方法として、絶対測定法による決定が挙げられている。同位体希釈質量分析法（IDMS）は、分析対象化合物の安定同位体置換化合物（標

識体)を内標準に用いた定量法であり、極めて精確な(正確で精度がよい)分析を行うことができる方法である。そこで本研究では、同調査の信頼性をより向上させることを目的として、IDMSによる食品中農薬の高信頼性分析を用いた同調査の実施を検討している。

今年度は食品薬品安全センター秦野研究所がスプレードライヤにより開発する残留農薬分析のための玄米試料の有効性を示すために、玄米試料中の有機りん系4種(フェニトロチオン、マラチオン、ダイアジノン、クロルピリホス)とネオニコチノイド系3種(クロチアニジン、チアメトキサム、チアクロプリド)を対象とし、正確な分析値を付与することで、試料調製のための噴霧条件決定に寄与することを目的とした。分析には、これまでの本研究でIDMSを用いて高精度化した「平成17年1月24日付け食安発第0124001号の通知試験法(一斉試験法)」およびSTQ法を用いた。

B. 研究方法

試料調製の条件検討のための残留農薬検査用玄米試料の分析を行った。IDMSを適用した一斉試験法と簡易分析法(STQ法)を用いて、食品薬品安全センター秦野研究所がスプレードライヤにより開発した残留農薬検査用玄米試料中の対象農薬を分析した。得られた結果は、試料調製における農薬の添加濃度等と比較した。

1. 試料基材および試薬

(1) 試料

食品薬品安全センター秦野研究所がスプレードライヤにより開発した、残留農薬検査用玄米試料を用いた。試料はチャンバー部とサイクロン部より採取し、分析を行った。

(2) 標準品

測定対象農薬の高純度標準品として、富士フイルム和光純薬製ダイアジノン、フェニトロチオン、マラチオン(以上TraceSure)、クロルピリホス(Traceable Reference Material)、ネオニコチノイド系混合標準液(残留農薬試験用)を用いた。標識体の標準品として、林純薬工業製クロルピリホス- d_{10} 、フェニトロチオン- d_6 、PL 農薬サロゲート混合標準溶液Ⅶ(7種類混合) ネオニコチノイド系-II 標準品、Toronto Research Chemicals 製マラチオン- d_6 とダイアジノン- d_{10} を用いた。シリンジスパイク標準品としてジーエルサイエンス製アラクロールを用いた。

(3) 試薬

アセトニトリル(AN)、アセトン(Ac)、トルエン(Tol)、無水 Na_2SO_4 は関東化学製ポリ塩化ビフェニル・残留農薬分析用を用いた。メタノール(Me)は富士フイルム和光純薬製LC/MS用を用いた。他の試薬は試薬グレードを用い、水は超純水を用いた。

2. 検量線溶液、内標準溶液、シリンジスパイク溶液

質量比混合法によって以下のように溶液を調製した。

クロルピリホス- d_{10} 、ダイアジノン- d_{10} 、フェニトロチオン- d_6 、マラチオン-

d_6 を含むAc溶液およびクロチアニジン- d_3 、チアメトキサム- d_3 、チアクロプリド- d_4 を含むMe溶液を調製し、それぞれ内標準溶液AおよびBとした。またクロルピリホス、ダイアジノン、フェニトロチオン、マラチオンをAcに溶解させ農薬混合溶液Aを調製し、クロチアニジン、チアメトキサム、チアクロプリドを含むネオニコチノイド系混合標準液をMeで希釈して農薬混合溶液Bを調製した。さらに、農薬混合溶液Aと内標準溶液A、および農薬混合溶液Bと内標準溶液Bを混合することにより、検量線溶液AおよびBを調製した。検量線溶液AおよびBの各成分濃度は、それぞれ3(1)および3(2)に示す前処理法によって、玄米試料を処理して得られる試料溶液中の各農薬濃度と等しくなるように調製した。次に、あらかじめ分析対象農薬とその標識体を含むしないことを確認した玄米試料を、3(1)および(2)に示す前処理法によって処理した。得られたブランク溶液を窒素気流で乾固し、前述の検量線溶液AおよびBに溶解させることにより、マトリックスマッチ検量線溶液A（有機りん系農薬用）およびB（ネオニコチノイド系農薬用）を調製した。

3. 分析方法

有機りん農薬には分析法1（一斉試験法）を、ネオニコチノイド系農薬には分析法2（STQ法）を用いて分析を行った。

(1) 分析法1（一斉試験法、有機りん系農薬）

玄米試料3 gに内標準溶液A0.4 mLを加え

て静置した。これに水10 mLを加えて15分静置した後、AN25 mLを加えて細砕し、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にAN10 mLを加えて細砕した後、吸引ろ過した。これにNaCl10 gと0.5 mol/Lリン酸緩衝液（pH7.0）20 mLを加え、10分間振とうした。その後、あらかじめAN10 mLでコンディショニングしたAgilent Technologies製Bond Elut C18 固相抽出カートリッジ（1 g）を用いて、振とうによって得られたAN層とAN2 mLを通液する処理を行った。得られた処理液を無水 Na_2SO_4 によって脱水し濃縮・乾固した後、AN/To1（3:1）混液2 mLに溶解した。Supelco製ENVI-Carb/LC-NH2固相抽出カートリッジ（500 mg/500 mg）をAN/To1（3:1）混液10 mLでコンディショニングした後、前述の抽出液を注入し、さらにAN/To1（3:1）混液20 mLを注入した。全溶出液を乾固して得られた残さをアラクロール溶液0.3 mLに溶解させ、試料溶液とした。

試料溶液中の対象農薬を、GC/MSによって測定した。測定条件は以下の通りである。装置：7890/5975c GC/MSシステム（Agilent Technologies製）、カラム：DB-5ms（30 m×0.25 mm、膜厚0.25 μm 、Agilent Technologies製）、カラム温度：50 $^{\circ}\text{C}$ で2分間保持した後、+20 $^{\circ}\text{C}$ /分で160 $^{\circ}\text{C}$ まで昇温し、さらに+7 $^{\circ}\text{C}$ /分で300 $^{\circ}\text{C}$ まで昇温し、10分間保持、注入口温度：250 $^{\circ}\text{C}$ 、検出器温度：230 $^{\circ}\text{C}$ （イオン源）、注入方式：スプリットレス、キャリアガス：ヘリウム、注入量：1 μL 、イオン化条件：EI、定量に用いた m/z ：314（クロルピリホス）、324（クロルピリホス- d_{10} ）、304（ダイアジノン）、314（ダ

イアジノン- d_{10})、277 (フェニトロチオン)、283 (フェニトロチオン- d_6)、285 (マラチオン)、291 (マラチオン- d_6)、160 (アラクロール)。

(2) 分析法2 (STQ法、ネオニコチノイド系農薬)

玄米試料 3 g に内標準溶液 B0.4 mL を加えて静置した。これに水 10 mL を加えて 15 分静置した後、AN10 mL を加えて 1 分間振とう (手振り) した。これに 4 g の $MgSO_4$ 、1 g の NaCl を加え、1 分間振とう (手振り) した。この抽出液を 3500 rpm で 5 分間遠心分離し、上澄み液 1 mL を分取し、あらかじめ AN/水 (4/1, v/v) 2 mL と AN2 mL でコンディショニングしたアイスティサイエンス製 C18 50 mg および PSA 30 mg (連結) 固相抽出カートリッジを用いて通液し、AN0.5 mL で溶出した。得られた処理液を、AN2 mL と AN/水 (4/1, v/v) 2 mL でコンディショニングしたアイスティサイエンス製 C18 30 mg により精製した (溶出には AN0.5 mL を使用)。溶出液を乾固して得られた残さを Me/水 (1/1, v/v) 0.3 mL に溶解させ、試料溶液とした。

試料溶液中の対象農薬を LC-MS/MS によって測定した。測定条件は以下の通りである。装置：LC-20A (高速液体クロマトグラフ、島津製作所製)、LCMS-8030 (質量分析計、島津製作所製)、カラム：L-column3 C18 (2.1×150 mm, 3 μ m, 化学物質評価研究機構)、移動相：5 mmol/L ギ酸アンモニウム水溶液 (A 液) および 5 mmol/L ギ酸アンモニウムメタノール (B 液)、流速：0.2 mL/min、カラム温度：40 $^{\circ}C$ 、イオン化法：エレクト

ロスプレーイオン化 (ESI) 法、ネブライザーガス流量：3 L/min、ドライイングガス流量：15 L/min、ヒートブロック温度：400 $^{\circ}C$ 、DL 温度：250 $^{\circ}C$ 、MRM イオン：250.00>169.05 (クロチアニジン)、253.20>172.10 (クロチアニジン- d_3)、292.00>211.15 (チアメトキサム)、295.20>214.10 (チアメトキサム- d_3)、253.00>126.05 (チアクロプリド)、257.00>126.05 (チアクロプリド- d_4)。

4. 評価方法

(1) 農薬濃度の算出

3 で示した分析方法で得られた結果を基に、以下の式によって農薬濃度を算出した。

$$C = F_e \times \frac{R_s}{R_c} \times \frac{M_c \times C_c \times P \times M_{sp(s)}}{M_s \times M_{sp(c)}} \quad (1)$$

ここで、 C ：試料中の農薬濃度、 F_e ：前処理の精度に関わる係数 (= 1)、 R_s ：試料溶液測定における分析対象農薬の標識体に対する面積比、 R_c ：検量線溶液の測定における分析対象農薬の標識体に対する面積比、 M_c ：検量線溶液中の農薬混合液の質量、 C_c ：農薬混合液中の測定対象農薬の高純度標準品の濃度、 P ：分析対象農薬の高純度標準品の純度、 $M_{sp(s)}$ ：試料に添加した内標準溶液の質量、 M_s ：試料量、 $M_{sp(c)}$ ：検量線溶液中の内標準溶液の質量、である。

(2) 試料調製の条件検討のための残留農薬検査用玄米試料の分析

一斉試験法および STQ 法を用いて、食品薬品安全センター秦野研究所がスプレ

ードライヤにより開発した残留農薬検査用玄米試料中の対象農薬を分析した。得られた結果は、試料調製における農薬の添加濃度等と比較した。

(倫理面への配慮)

食の安全・安心に係わる研究であり、特に倫理面への配慮を必要としなかった。実験者および環境への配慮としては、特に有害な溶媒（ベンゼン等）を使用しなかった。

C. D. 研究結果および考察

食品薬品安全センター秦野研究所より提供された残留農薬検査用玄米試料（チャンバー部とサイクロン部）に含まれる対象農薬を、一斉試験法および STQ 法によって分析した。得られた結果を表 1（マトリックスマッチ検量線を使用）に示す。食品薬品安全センター秦野研究所によると、添加濃度はすべての対象農薬について 0.4 mg/kg であった。本研究で得られた結果（表 1）を用いて、調製時の回収率を計算した結果を表 2 に示す。これより、サイクロン部におけるネオニコチノイド系農薬を除き、スプレードライヤの添加濃度に対する回収率の範囲は、チャンバー部で 37 %から 61 %、サイクロン部で 29 %から 48 %であった。これまでも、スプレードライヤの条件検討を行ってきたが、回収率に多少の差は見られたものの、今回も問題になるような低い回収率ではなく想定内であったと考えられる。一方でサイクロン部におけるネオニコチノイド系農薬では、回収率が 258 %から 294 %となった。同じ試料を複

数回分析しても同様の結果となったため、分析の問題ではなく、元々の試料に何らかの問題があったと考える（調製過程でのコンタミや濃縮が考えられるが、詳細は不明である）。そもそも、サイクロン部の試料は抽出・精製操作がやりづらく、精製後も脂成分が残ったことから、上記の回収率の問題がなくても技能試験試料に用いるには不向きであると考えられた。今回の結果からは、これまでと同様の回収率であり、ハンドリングにも優れるチャンバー部の試料が技能試験試料として適していると結論される。

E. 結論

IDMS を用いて高精度化した一斉試験法と STQ 法を用いて、食品薬品安全センター秦野研究所が調製した玄米試料中農薬 7 種（有機りん系 4 種：フェニトロチオン、馬拉チオン、ダイアジノン、クロルピリホスおよびネオニコチノイド系 3 種：クロチアニジン、チアメトキサム、チアクロプリド）に精確な分析値を付与した。これは、スプレードライヤの噴霧条件を決定するための重要なデータとなった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Otake, T., Machida, K., and Nakamura, K.: Evaluation of modified QuEChERS using small-scale SPE for the analysis of organophosphorus pesticides in

spinach. Journal of AOAC International,
accepted (2025).

DOI:

<https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsaf033>

2. 学会発表

1) 大竹貴光、町田香織、平林尚之、渡辺卓穂：ほうれんそう粉末を用いた有機りん系農薬分析の技能試験結果の概要、第48回農薬残留分析研究会、東京、2025

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

表1 残留農薬検査用玄米試料中の農薬分析結果

対象農薬	分析結果（平均値±標準偏差, n=3, mg/kg)	
	チャンバー部	サイクロン部
クロルピリホス	0.186±0.0043	0.182±0.0029
ダイアジノン	0.152±0.0025	0.117±0.0007
フェニトロチオン	0.193±0.0017	0.153±0.0024
マラチオン	0.149±0.0069	0.193±0.0054
クロチアニジン	0.219±0.0048	1.030±0.0658
チアクロプリド	0.178±0.0019	1.157±0.0820
チアメトキサム	0.244±0.0061	1.176±0.0152

表2 分析結果を基に算出した玄米試料調製時の回収率

対象農薬	分析結果（平均値, n=3, %)	
	チャンバー部	サイクロン部
クロルピリホス	47	45
ダイアジノン	38	29
フェニトロチオン	48	38
マラチオン	37	48
クロチアニジン	55	258
チアクロプリド	44	289
チアメトキサム	61	294