

液中 (4.0ppm) に浸漬して浸潤させた場合、3.51~3.84 ppmと、87.7~96.0% の回収率を示し、ジュース及び精白米ともに調査試料に使用できる可能性があった。

大豆油中に一定容のフェニトロチオン及びダイアジノンのヘキサソル溶液を添加し調製した残留農薬の調査試料では、それぞれ 3.99% 及び 3.68%の変動と良好な結果を示した。この調査試料は、Codex で提案されているF-検定もクリアした。

次いでコーンスターチに8種類の有機リン系残留農薬 (クロルピリホス、サリチオン、ダイアジノン、プロチオホス、ホサロン、メチダチオン、MEP、PAP) のヘキサソル溶液を添加し、ボールミルで2時間攪拌して調製した試料の各農薬濃度を経時的に測定した結果、2時間攪拌中の各農薬濃度には大幅な変化はなく、30分より2時間までの各時点で通じて回収率は、90.8~114.4%の回収率を示した。また、各農薬の測定値の変動は各時点を通じて3.90~11.78%であり、調査試料として使用できる可能性はかなり高いものの、10% を越える変動係数についてはさらに検討すべき課題となった。

3. 細菌学的検査用調査試料の作製方法の検討

細菌同定用試料については、まず、マッシュポテト (マッシュポテト1容量と 0.1% ペプトン水5容量の混合物) 中での接種菌の安定性を調べた。 *E.coli*, *K.pneumoniae*, *S.typhimurium* のそれぞれを単独で $10^5 \sim 10^6$ cfu/g オーダーで接種したマッシュポテトを5℃保存した場合は、14日後でも $10^4 \sim 10^5$ cfu/g のオーダーに減少したにすぎず、大きな変化は認められなかったが、*C.freundii* では $10^2 \sim 10^3$ cfu/g オーダーと大幅の減少が見られた。*E.coli*, *K.pneumoniae*, *S.typhimurium*の混合接種では、14日間の保存でも同様に大きな変動は見られなかった。また、接

種菌によるマッシュポテトの変性は、色調、粘性、保水性など一般的性状にほとんど変化を認めなかった。輸送中の接種菌については *E.coli* 及び *S.typhimurium*の検出も可能であった。

一般細菌数測定用の天然試料の菌数は、そば粉 5.2×10^4 cfu/g (n=3, 平均), きな粉 7.6×10^4 cfu/g, 別のきな粉で 1.4×10^4 cfu/g, めか 2.9×10^4 cfu/g, カカオ粗切 4.4×10^6 cfu/g, カカオ中切 6.7×10^5 cfu/g, カカオ細切り 3.0×10^5 cfu/gを示した。カカオの滅菌中切では 3.8×10^4 cfu/gを示した。なお、カカオ粗切の菌数はロット間で変動が大きかった。

D. 考察

1. 精度管理調査用試料の作製法のヒアリング調査

専門家に対するヒアリング調査では、いずれの調査試料も食材に近い試料の作製が望まれ、目的物質 (細菌も含む) の含有分布の均質性も高く、試料中の安定性も高いことが望まれた。均質性については、精度管理の統計処理にも耐えられる調査試料のあり方と評価の仕方とも検討することが必要になってきた。均質性の確認には国際的な方法として Codex で提起されている方法があるが、試料マトリックスの実状に添った方法も検討が必要と考えられる。安定性の確認では、温度別の保存期間の十分な検討も必要となる。特に細菌学的検査用試料では、細菌の種類及び培地あるいは食材中の安定性の確認が必要となる。

2. 理化学的検査用調査試料の作製方法の検討

市販食品中の食品添加物の均質性を調べるために味噌、なるとまき、ソーセージ及びたくあん中のソルビン酸濃度を調べた結果、味噌、なるとまき及びウインナーソーセージの変動係数は比較的 low、工場管理工程で作製

することが採用できる可能性があった。しかし、たくあんにでも、“カットもの”は変動係数が低いものの、たくあん自体の変動係数は10%を越えるものがあり、カットであれば採用できる可能性の残した。一方、手動で実験室内で調製する際には、同容の水を加えてよく攪拌する方法をとる味噌及びもともと溶液性のあるケチャップに調査試料とすることができると考えられた。重金属を含む試料の作製方法として、水溶液であるジュースにカドミウム及び鉛水溶液を添加する方法は採用可能であった。また、精白米をカドミウム水溶液中に浸漬する方法では、カドミウム濃度の100%が取り込まれ、調査試料として採用の可能性は高いが、今後、様々な条件での再現性の検討が必要と考えられた。農薬を含む試料の作製方法として、大豆油中に有機リン系農薬を溶解すると、30日間は安定で均質な調査試料として採用可能であった。また、コーンスターチに有機リン系農薬をボールミルでよく混合した試料は、農薬濃度の変動係数が3.90~11.78%と幅が広く、かつ攪拌時間の経時的変動が明確でなかったため、有力な作製方法であるがさらに検討すべき課題であった。

3. 細菌学的検査用調査試料の作製法の検討

調査試料の予備的検討として、細菌同定用試料では腸内細菌群に属する4菌種を用いてマッシュポテト中での安定性を検討した。外部精度管理調査の目的を考慮し、接種菌が間違いなく検出されることが望まれることから通常より多く接種した結果、*C. freundii*の安定性に問題があるものの、他の*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. typhimurium*は保存期間中比較的安定に生存するので、これらの菌をマッシュポテト中に接種した試料は、調査試料としての採用の可能性は高かった。しかし、今後は、より長期間保存(1月以上)の安定性とマッシュポテト以外の食材についても可能性も検討する必要がある。細菌数測定用試料

の作製については、そば粉などの粉体中の自然汚染細菌測定を行いその可能性を調べた。いずれの食材でもロット間で一定レベルで生菌数が回収されたことから、実状に添った回収率を管理線とすると調査試料として用いることが可能であると考えられる。今後は、外部精度管理調査の適正な管理線の設定の検討をするとともに他の特定細菌(大腸菌や乳酸菌など)に対する調査試料の作製法も検討する必要がある。

E. 結論

精度管理調査用試料の作製方法のヒアリング調査では、専門家の今日まで試みられた調査試料の報告と、今後の調査試料のあり方について意見を聴取した。食材に近い調査試料の開発の必要性、目的物質(細菌も含む)の含有分布の高均質性、かつ試料中で長期間安定な調査試料の作製が望まれた。しかし、精度管理調査の評価法とも密接に関連する調査試料が適正であるか否かの確認は、多方面にわたる検討が今後とも必要であった。

理化学的検査用調査試料の作製法として、食品添加物を含む試料の工場管理工程を利用する市販味噌、市販なるとまき、市販ウインナーソーセージなどは変動係数も低く、利用の可能性があった。食品添加物であるソルビン酸を手動的に攪拌し調製する場合には、ケチャップに直接ソルビン酸溶液を添加し攪拌すれば採用可能とみなされたが、味噌は同容の水を加えてよく攪拌する必要があった。重金属を含む試料として、ジュースにカドミウムと鉛を加える方法は採用できた。また、カドミウム水溶液に精白米を浸漬する方法も有用であった。農薬を含む試料として、大豆油に有機リン系農薬を加える方法は安定性も高く採用できた。コーンスターチに有機リン系農薬を加えボールミルで混合する方法も有用であることが判明した。

細菌学的検査用調査試料の作製法の予備的

検討として、細菌同定用試料では食材試料マッシュポテト中に *E.coli*, *K.pneumoniae*, *S.typhimurium* を接種し、その安定性を調べた結果、調査試料として実用の可能性があった。また、細菌数測定用試料では、乾燥粉末製品中の自然汚染微生物を対象とした生菌数測定の試料として、生菌数回収率にある程度の幅を持たせるならば、今回調査した粉体試料は外部精度管理用試料となりうるものと考えられた。

以上、精度管理調査試料の作製法に関して専門家の意見の聴取、理化学的検査用調査試料ならびに細菌学的検査用調査試料について基礎的検討をしたが、実用化のためにはさらに詳細に継続して検討する必要があると考えられた。

4-(1) 精度管理調査試料の作製方法のヒアリング調査

目的

食品衛生検査分野の精度管理調査用試料の作製方法については、具体的情報及び報告が極めて少ないのが現状である。そこで現時点での情報を出来るだけ入手することと、今後の作製方法のあり方等に対する意見を聴取するために、関連専門家によるヒアリング調査を行った。

B. 研究方法

以下の専門家による会議を開催し、各分野についての現状報告と意見を聴取した。

道野 英司（厚生省生活衛生局食品保健課、
GLP査察官）

小沼 博隆（国立医薬品食品衛生研究所・
衛生微生物部、室長）

佐々木久美子（国立医薬品食品衛生研究所・
食品部、室長）

村山 三徳（国立医薬品食品衛生研究所・
食品部、主任研究官）

田村 行弘（東京都立衛生研究所・
精度管理室長）

山井 志郎（神奈川県衛生研究所・
細菌病理部長）

丹野 憲二（財団法人日本食品分析センター
微生物部長）

その他、大阪府公衆衛生研究所及び福岡県保健環境研究所を訪問し、精度管理用調査試料等に関して意見の交換を行った。

C. 結果

1) 理化学的検査用試料

保存料等の調査試料について：

〈事例の1〉食材に近い、液状、半固体、固体の均質性ならびに安定性の高い調査試料を作製し、東京都内食品衛生検査施設での精度

管理調査を実施している。例えば、醤油、練り製品や福神漬けなどである。評価は、指示値を平均とし、変動係数（CV%）をもって行っている。必要に応じ中央値も用いる。理化学的検査用試料では、テフロンやポリエチレン系樹脂に対するパラオキシ安息香酸エステルのように目的物質が試料容器に吸着する場合があるので注意を要することが報告された。

残留農薬検査用試料では、実際の食材の試料が望ましく、英国の外部精度管理調査機関FAPASでは食用油に農薬を溶解した試料を用いていた（資料1）。わが国の平成9年度及び平成10年度の食品衛生外部精度管理調査では、大豆油を用いた（表1）。

残留動物用医薬品検査用試料では、各試料（びん）中の目的医薬品の均一性の確保が必要である。調査試料の作製法として、動物に予め目的医薬品を投与し分散させた筋肉あるいは臓器を用いる方法は、部位によって濃度が異なるため問題が残る。また、筋肉をホモジナイズし目的医薬品の一定濃度溶液を混合する方法は、保存状態によっては代謝を受ける可能性があるなどの問題がある。しかし、〈事例の2〉検査施設15カ所以内の小規模で行った国立衛生試験所の例で、短時間水中手持ち運搬、かつ即時検査を開始した場合には特に問題がなかったことが報告された。この方法は、外部精度管理調査のように全国200カ所の検査施設を対象とした場合には無理と考えられた。

従って、平成9年度に実施された食品衛生外部精度管理調査の試料は、現状ではよい方法と考えられるとの意見が出された。ただし、試料ビン底に乾固付着した目的医薬品の適当な溶出溶媒の選択をしなければならないと指摘された。

理化学的検査試料は、できるだけ実際の食

材に近似させるようにし、かつ均質性の確保のためにばらつきを小さくすることが必要である。均質性の確保のために Codex で提起されている F-検定を用いる方法の他に、リファレンス・ラボラトリーからの測定値の SD をもとに管理幅を設定することができるとの意見も出された。また、調査試料の作製法として最初に均質性の高い調査試料を少量作製し、順次サンプルサイズを大きくして行くようにすると大量試料の作製が可能との意見も出された。

2) 細菌学的検査用試料

細菌は、冷凍及び冷蔵 (5℃) でも死滅する場合があります。安定性の高い細菌学的検査用試料を作製するのはなかなか難しい。一般に培地によっても条件が異なるとデータが様々であるように、食品素材に細菌を添加し、安定性のある試料を調製するのは種々検討を要するとの意見があった。

細菌数測定の前記について、

〈事例の3〉平成9年度の食品衛生外部精度管理調査でも用いた *Bacillus subtilis* の懸濁液 (10⁴ 個/g) を用い、長期間保存し経時的に室内精度管理を行った結果では、安定性は高く保存中の標準偏差 SD が cfu の常用対数表現で 0.05~0.07 の範囲にあり、ばらつきの少ない良好な結果を示した。一方、サルモネラでの評価は、冷凍で29週間後で菌数が半数に減少するなど、細菌の種類によって安定性はまったく異なっていた。天然汚染の食材として、小麦粉は細菌が少ないが、ソバ粉は自然汚染微生物がほぼ一定数存在し、細菌数測定用試料として適しているように考えられる。例えば、常用対数表現の cfu 6.02 の保存中の変動は、最高 6.08~最小 5.64 と大幅な変動はなく良好であった。

細菌数測定に対する試料のばらつきは、市販品でも菌数表示が適正であるか、十分に確認する必要がある。また細菌数測定の管理線

は、現行の外部精度管理調査に用いている回収率 50%~300% でよいと判断された。なお、一桁くらい的大幅なものでもよいとの意見もあった。

細菌同定の試料において、

〈事例の4〉培地としてマッシュポテトを用いることを検討しているとの報告があり、調査試料として食材を採用するにあたり、食材中の細菌にの生存性を調べる必要があると報告された。その他の培地の選択としてゼラチンディスクを用いる安定性の確保の方法もあることが紹介された。

D. 考察

精度管理調査用試料の作製法として、専門家によって現在まで試みられた方法が報告されたが、いずれの調査試料も食材に近い調査試料の作製が望まれた。一方、目的物質 (細菌も含む) の含有分布の均質性が高く、かつ試料中で長期間安定性が確保できる調査試料が望まれる。そこには、作製後の安定性と輸送中の安定性も確認されねばならない。均質性の確保では、液状から半固形あるいは固形状の食材に変えるに従い、作製が困難になってくる。評価方法として国際的な方法として Codex に提案されている F 検定による方法があるが、試料マトリックスの変化によって限界もあるので、今後は、統計処理の評価にも耐えられる均質性の確保として独自の評価方法の設定も検討しなければならない。細菌数測定では、均質性と安定性の確保はさらに難しく、とくに食材使用の場合は大いに検討を要すると考えられる。

安定性の確認では、現在、理化学的検査用試料では約1月間の検査の結果、各参加施設に送付しているが、今後はさらに長期間ならびに温度の変化に対応する安定性も検討する必要がある。細菌学的検査用試料では、細菌の種類及び培地あるいは食材中の安定性の確認が必要となる。

わが国の食品衛生外部精度管理調査は、3年目を迎えるが調査試料の作製法の検討及び評価方法の検討に従い、精度管理調査水準の向上が望まれる。一方、Codex 委員会では国際的な同等性がつよく求められ、ますますより国際的にも比較できる方法の設定が期待されている。

E. 結論

精度管理調査用試料の作製法として、各専門家の報告と今後の調査試料のあり方について意見を聴取した。食材に近い調査試料の開発の必要性、目的物質（細菌も含む）の含有分布の高い均質性、かつ試料中で長期間安定性が確保できる調査試料が望まれた。調査試料の作製法は、精度管理調査の評価法とも密接に関連するので試料素材の選択から始まり統計処理にも耐えられる試料の均質性を確保するなど多方面の検討が必要であることが判明した。

表1. 平成10年度食品衛生外部精度管理調査用試料

対象機関	調査項目	添加対象物質	試料形態
参加施設:500 検疫所 衛生研究所 保健所 食肉衛生検査所 市場衛生検査所 指定検査機関	②保存料	安息香酸: (0.45g/kg) ソルビン酸: (0.75g/kg)	保存料を含むメタノール溶液-市販シロップ-水(15:35:75) 送付試料/300mL
	①重金属	Cd: (0.35 μg/g) Pb: (4.5 μg/g)	市販シロップ-水-硝酸(8.5:76.02:0.07)を含む 溶液に重金属標準液(Cd, Pb)を加える 送付試料/300mL
	③残留農薬	フェニトロチオン: (0.45ppm) ダイアジノン: (0.25ppm)	農薬をヘキサンに溶解し、大豆油に加えよく混和 送付試料/25g
	④残留動物 用医薬品	スルファジミジン: (0.28 μg/g 豚肉)	スルファジミジンを含む試料ビンに冷凍豚肉5gを添加 送付試料ビン/6本
	⑤菌数測定	<i>Bacillus subtilis</i> : (2.3 x10 ⁵ cfu/1枚)	<i>Bacillus subtilis</i> を含む濾紙 送付試料/10枚
	⑥細菌同定	大腸菌/サルモネラ菌または 大腸菌のみ	ドルセット卵寒天培地に接種した試験官 送付試供菌/5本または3本

FAPAS : SERIES V : OC-PESTICIDES : ROUND 15

1. INTRODUCTION

Round 15 of FAPAS® Series V (Organochlorine Pesticides) was initiated by the FAPAS® Secretariat in August 1996. Forty four U.K. and 37 non-U.K. laboratories asked to participate in this Round and were sent a test material. Fifty four laboratories returned results within the time-scale demanded by the Scheme. The 54 participants were from 15 countries namely Australia (4), Canada (2), Czech Republic (4), Germany (5), Hong Kong (1), Ireland (1), Italy (3), Liechtenstein (1), New Zealand (1), Poland (1), Spain (2), Switzerland (3), Thailand (1), U.A.E. (1) and U.K. (24).

Each laboratory was given a code number assigned on the lines of order of receipt of results by the FAPAS® Secretariat. Participants could use the method of analysis of their choice. This Report is to be read in conjunction with the FAPAS® Protocol obtainable free-of-charge from the Secretariat.

2. TEST MATERIALS

Each participant received a spiked vegetable fat test material and a blank vegetable fat test material for analysis. The test materials were individually numbered and the participants were asked to report their results and methods on the proformas provided.

2.1. Contract Laboratory

Test material preparation and verification was undertaken by a laboratory contracted to do so by the FAPAS® Secretariat.

2.2. Analytical Test Material Preparation

A 22kg tin of hydrogenated vegetable fat (90:10, soya:palm oleine) was heated in an oven at 50°C for 24 hours. Approximately 8kg of the fat was dispensed as blanks. No contamination for 4,4-DDE, dieldrin, endrin and HCB was found.

Known amounts of solid certificated standards of 4,4-DDE, dieldrin, endrin and HCB, dissolved in glass distilled grade acetone were added to a further 8kg (approximately) of the fat which was being stirred in a 10L beaker on a magnetic stirrer. The mixture was stirred at 50°C for a further 16 hours. The resulting mixture was dispensed as test materials.

2.3. Packaging, Labelling and Distribution

The spiked test material (25g) was dispensed into screw-cap bottles. Each bottle of spiked test material was individually numbered from 56551 - 57400 (within the following ranges 56551-56600, 56701-56750, 56851-56900, 57051-57100, 57201-57250 and 57351-57400) and stored at ambient temperature prior to distribution.

2.4. Homogeneity Data

To check homogeneity ten randomly selected test materials were analysed, in duplicate, for the four organochlorine pesticides and analysis of variance was carried out. The results are given in Appendix I and are acceptable for homogeneity. Six randomly selected blank bottles of fat were analysed for Alpha, beta, gamma hexachlorocyclohexane (HCH), heptachlor, heptachlor epoxide, aldrin, cis-chlordane (alpha), trans-chlordane (gamma), oxy-chlordane, alpha-endosulfan, beta-endosulfan, endosulfan-sulfate, 4,4-DDD (TDE), 2,4-DDT and 4,4-DDT. These were the other pesticides that participants were told could be present in the spiked test material. None of the above pesticides were detected (detection limit 2µg/kg).

3. RESULTS

Results were submitted by 54 participants before the closing date for this Round (9 October 1996). Participants submitted results, uncorrected for recovery for organochlorine pesticides using the method they considered appropriate. The concentrations were expressed as µg/kg and participants were asked to quote limits of detection for each OC-pesticides identified. The data were returned on a proforma with a brief description of the analytical method, (Tabulated in Appendix II - the number of laboratories that have not shown satisfactory performance [$z > |2|$] for RSZ and/or SSZ [>9.7] or identified additional pesticides in this test material are in bold). The results are given in Tables 1 and 2. (The laboratory numbers marked (D) are those identified as datum laboratories.)

Any pesticide that was identified other than the four added is given in Table 3 and the laboratory number is marked with a * on Tables 1, 2 and 5.

4. STATISTICS

The results were analysed by the procedure given in the FAPAS® Protocol.

4.1. Individual z-Scores

Each laboratory was given z-scores calculated from

FAPAS : SERIES IX : OP-PESTICIDES : ROUND 13

1. INTRODUCTION

Round 13 of FAPAS® Series IX (Organophosphorus Pesticides) was initiated by the FAPAS® Secretariat in February 1996. Forty five UK and 44 non-UK laboratories asked to participate in this Round and were sent a test material. Sixty three laboratories returned results within the time-scale demanded by the Scheme. The 63 participants were from 20 countries namely Australia (2), Brazil (1), Canada (1), Cyprus (2), Czech Republic (2), Denmark (4), Germany (5), Hungary (1), Ireland (1), Italy (5), Netherlands (1), New Zealand (1), Norway (1), Portugal (2), Slovak Republic (1), South Africa (1), Spain (2), Switzerland (3), U.A.E. (1) and U.K.(26).

Each laboratory was given a code number assigned on the lines of order of receipt of results by the FAPAS® Secretariat. Participants could use the method of analysis of their choice. This Report is to be read in conjunction with the FAPAS® Protocol obtainable free-of-charge from the Secretariat.

2. TEST MATERIALS

Each participant received a carrot test material for analysis. The test materials were individually numbered and dispatched frozen. Participants were asked to report their results and methods on the proformas provided. A list of 11 OP-pesticides (i.e chlorfenvinphos, chlorpyrifos, diazinon, dimethoate, malaoxon, malathion, omethoate, pirimiphos-methyl, pyrazophos, quinalphos and triazophos) was given to the participants who were told that up to six could be present in the test material.

2.1. Contract Laboratory

Test material preparation and verification was undertaken by a laboratory contracted to do so by the FAPAS® Secretariat.

2.2. Analytical Test Material Preparation

Conventionally produced carrots (9kg) were purchased from retail outlets and damaged or soiled parts were removed and the carrots were homogenised. Pesticide standards of known purity were purchased from Promochem Ltd. Stock solutions were prepared in ethyl acetate. Initially 100mg of each pesticide was weighed accurately and made up to 100mL in ethyl acetate to provide stock solutions of approximately 1mg/mL. The stock solutions were diluted in acetone to provide a solution containing diazinon, pirimiphos-methyl, chlorpyrifos and quinalphos at 4, 20, 2, and

10µg/mL, respectively. The homogenised carrot was treated with the acetone stock solution of pesticides and mixed to allow complete evaporation of solvent prior to sampling. Preliminary screening of the carrot was carried out to ensure that the approximate pesticide concentration required was present. The carrot test material was found to contain a field-incurred residue of triazophos as well as the four added.

2.3. Packaging, Labelling and Distribution

The spiked carrot test material (50-55g) was weighed into screw top glass jars (120mL). The tops of the jars were covered with aluminium foil to prevent contact with the lid before closing. Each jar was individually numbered from 95001 - 96000 and stored at -20°C prior to distribution.

2.4. Homogeneity Data

To check homogeneity ten randomly selected jars of test material were analysed, in duplicate, for the five organophosphorus pesticides and analysis of variance was carried out. The results are given in Appendix I and are acceptable for homogeneity.

3. RESULTS

Results were submitted by 63 participants before the closing date for this Round (17 April 1996). Participants submitted results, uncorrected for recovery for organophosphorus pesticides using the method they considered appropriate. The concentrations were expressed as µg/kg and participants were asked to quote limits of detection for each OP-pesticide identified. The data were returned on a proforma with details of standards used for quantification and a brief description of the analytical method, (Tabulated in Appendix II - the number of laboratories that have not shown satisfactory performance [$z > |2|$] for RSZ and/or SSZ in this test material are in bold.) The results are given in Table 1. (The laboratory numbers marked (D) are those identified as datum laboratories.)

Any pesticide identified other than the five present is given in Table 2 and the laboratory number marked with a * on Table 1.

4. STATISTICS

The results were analysed by the procedure given in the FAPAS® Protocol.

理化学的検査調査用試料の作製法の検討

A. 研究目的

外部精度管理調査を実施するために採用できる食品形態の「調査用試料」を作製する方法を確立することを目的として、以下の検討を行った。

1. 市販食品中の食品添加物の調査：食品添加物の中で、味噌、練り製品、食肉製品、漬物等に広く使用されているソルビン酸に着目して、市販品同一ロット内の濃度の均質性およびロット間の濃度の均質性を調べた。
2. 検査機関間の検査値の比較：ソルビン酸を使用した市販味噌の同一日製造（同一ロット）のものを購入し、外部の5検査機関に検査を委託して、検査結果の相違を調べた。
3. 調査用試料中の添加物濃度の均質性と経時的安定性：保存料として広く使用されているソルビン酸を味噌およびケチャップに添加して、均質性と安定性を検討した。
4. 調査用液体試料中の重金属濃度の均質性と経時的な安定性：清涼飲料水の規格・基準に従って重金属（カドミウム、鉛）の検査のための外部精度管理調査用試料について対象食品としてジュースを使用して検討した。
5. 精白米中のカドミウム濃度の均質性：検討食品として米を選び、カドミウム溶液に浸漬した米のカドミウムの均質性を調べた。
6. 大豆油中の残留農薬濃度の均質性と経時的な安定性：大豆油に有機リン系農薬（フェニトロチオン、ダイアジノン）を添加した調査用試料で農薬の均質性と安定性を調べた。
7. コーンスターチ中の残留農薬濃度の均質性：食品としてコーンスターチを、農薬として有機リン系農薬のクロルピリホス、サリチオン、ダイアジノン、プロチオホス、ホサロン、メチダチオン、MEP および PAP を使用して、ボールミルで攪拌して調製した試料中の農薬の濃度を調べた。

B. 研究方法

1. 市販食品中の食品添加物の調査

1) 試料

味噌、なるとまき、ウインナーソーセージ およびたくあん：同一日付製品と日付の異なる製品の市販品を購入した。

2) 測定方法

食品衛生検査指針（理化学編）に準拠した水蒸気蒸留・高速液体クロマトグラフ法に従って実施した。

試料 50 g を精秤して、ビーカーに採り蒸留水 100 mL を加えてかき混ぜ、リトマス試験紙を用いて水酸化ナトリウム溶液(1→10) および硫酸(1→10) で中和してから 500 mL 丸底フラスコに移し、酒石酸溶液(15→100) 5 mL、塩化ナトリウム 80 g およびシリコン樹脂 1 滴を加えた後、蒸留水を加えて全量を約 200 mL とした。これを 10 mL/min の留出速度で、留液 500 mL を採取した。この留液を高速液体クロマトグラフィーに供して、ソルビン酸を測定した。

高速液体クロマトグラフィー条件：

高速液体クロマトグラフ：島津 LC10A-1
(島津製作所)

検出器：SPD-10A (島津製作所)

検出波長：230 nm

カラム：YMC-pack ODS-AM (150×6.0 mm)

移動相：5 mM クエン酸緩衝液(pH 4.0)：アセトニトリル
：メタノール = 7：2：1

流量：1.0 mL/min

カラムオーブン：40℃

2. 5検査機関での味噌中ソルビン酸の検査

1) 試料

味噌：ソルビン酸を使用している市販の同

一日付（同一ロット）の味噌を購入した

2) 測定方法

各検査機関にそれぞれ食品衛生法に準拠した検査方法に従った検査を依頼した。

委託検査機関：東京都衛生研究所，(社)食品衛生協会食品衛生研究所，(財)日本食品分析センター，(財)食品環境検査協会および(財)日本冷凍食品検査協会。以後は，順不同で各検査機関をA～E機関とした。

3. 作製試料中の食品添加物（ソルビン酸）濃度の均質性と経時的な安定性

以下の方法で作製した試料中のソルビン酸濃度を測定した。また，作製14日後および作製28日後（作製方法②で作製した味噌試料および作製方法③で調製したケチャップ試料）での安定性についても検討した。

1) 作製方法①

味噌 2 kg にソルビン酸（1 g/200 mLメタノール溶液）を加えて，約10分間よく攪拌した後，冷蔵庫に保管した。

2) 作製方法②

味噌 1.5 kg にソルビン酸（1.5 g/300 mLメタノール溶液）と水 1.5 Lを加えて，約10分間よく攪拌した後，冷蔵庫に保管した。

3) 作製方法③

ケチャップ 2 kg にソルビン酸（0.5 g/100 mLメタノール溶液）を加えて，約10分間攪拌した後，冷蔵庫に保管した。

4. 調製液体試料中の重金属（カドミウムおよび鉛）濃度の均質性と経時的な安定性

1) 作製方法

市販ジュース（バヤリースグレープ，アサヒ飲料株式会社 3.3 L，蒸留水 6.3 L，硝酸（重金属測定用）100 mL，カドミウム液（市販品 1000 ppm）3 mL と鉛溶液（市販品1000 ppm）をそれぞれ採取して混合した。ポリエチ

レン製手つきビーカー（2 L）で約30分間攪拌して試料を作製した。

2) 測定方法

試料中のカドミウムおよび鉛を測定して濃度の均質性を調べた。また，作製当日，15日後，30日後に経時的に試料中のカドミウムおよび鉛を測定して濃度の安定性を調べた。測定は，食品衛生検査指針（理化学編）に準拠した。

5. 調製試料中の重金属（カドミウム）濃度の均質性

1) 作製方法

精白米（ひとめぼれ，宮城県産，1998年生産，精白年月日 1999.3.3.）3.5 kgにカドミウム溶液（4.0 ppm，0.013 mol/L硝酸溶液）4 Lを加えて浸漬した。2日後に容器を傾斜して溶液を除去し，精白米を濾紙上に3日間放置して水分を除去し，約100 gずつポリエチレン製容器に小分けした。これを2ヶ所の検査機関に送付してカドミウム濃度の測定を依頼した。なお，測定は精白米を湿式分解した後に，原子吸光光度計で測定する一般的な方法で依頼した。

6. 作製試料（大豆油）中の残留農薬濃度の均質性と経時的な安定性

1) 作製方法

フェニトロチオンおよびダイアジノンのヘキサン溶液を調製し，この溶液を大豆油に加えて混合して試料を作製した。なお，この時の濃度は，フェニトロチオンが 0.45 $\mu\text{g/mL}$ ダイアジノンが 0.25 $\mu\text{g/mL}$ である。

2) 測定方法

試料の調製後，速やかに大豆油中の有機リン系農薬濃度の測定を行った。また，経時的に濃度を測定して安定性についても調べた。試料 1 gを精秤して，残留農薬分析用ヘキサン 10 mLに溶解した後，残留農薬分析用アセ

トニトリル（ヘキサン飽和）20 mL ずつで3回、振とう抽出した。アセトニトリル層を採り減圧下で濃縮後、窒素気流下で溶媒を留去し、残渣をアセトン 10 mLで溶解して、ガスクロマトグラフィーに供した。

ガスクロマトグラフ：島津製作所 GC-7A
（炎光光度型検出器付）
カラム：DB-5（内径 0.53 mm, 長さ 30 mm
膜厚 0.25 μ m）
注入口，検出器温度：280 $^{\circ}$ C
カラムオープン温度：60 $^{\circ}$ C（3 min），
昇温 20 $^{\circ}$ C/min, 200 $^{\circ}$ C（2 min）
昇温 5 $^{\circ}$ C/min, 250 $^{\circ}$ C（3 min）
キャリアーガス：ヘリウム
流量：11.4 mL/min

7. 作製試料（コーンスターチ）中の残留農薬濃度の均質性

1) 作製方法

コーンスターチ 1 kg を秤量して，ボールミルに採り，これに有機リン系農薬（10 μ g/mLヘキサン溶液）50 mL を添加し，約10分間放置した後，磁性のボール 50 個を入れ，ボールミルを回転して，30分，1時間および2時間後にコーンスターチ試料を採取した。

2) 測定方法

試料 20 g を採取し，蒸留水 40 mLを加えて30分間放置した後，アセトン 100 mL ずつで2回，振とう抽出を行った。有機溶媒層を合わせて 50 mL以下に減圧下で濃縮した後，5%塩化ナトリウム 200 mL を加え，ヘキサン 100 mL ずつで2回，振とう抽出を行った。ヘキサン層を採り，無水硫酸ナトリウムで脱水した後，減圧下で溶媒を留去した。残渣をヘキサン 2 mL に溶解し，この溶液 1 mL をボンドエルト FL に通導して 15%アセトン／ヘキサン 10 mLで有機リン農薬を溶出し，溶出液を減圧下で留去した。残渣をヘキサン 2 mLに溶解して，ガスクロマトグラフィーに供した。

ガスクロマトグラフ条件

ガスクロマトグラフ：島津製作所 GC-17A
（炎光光度型検出器付）
カラム：DB-5（内径 0.53 mm, 長さ 30 mm
膜厚 0.25 μ m）
注入口，検出器温度：280 $^{\circ}$ C
カラムオープン温度：60 $^{\circ}$ C（3 min），昇
温 20 $^{\circ}$ C/min, 200 $^{\circ}$ C（2 min），昇温 5 $^{\circ}$ C
/min, 250 $^{\circ}$ C（3 min）
キャリアーガス：ヘリウム
流量：11.4 mL/min

C. 研究結果

1. 市販食品中の食品添加物の調査

味噌，なるとまき，ウインナーソーセージおよびたくあん中のソルビン酸について，同一ロット内の濃度の均質性を調べるために同一日付品を，ロット間の濃度の均質性を調べるために日付の異なる製品を購入して，それらの中のソルビン酸の濃度を調べた（表1～3）。ソルビン酸濃度の測定結果の各ロットにおける変動係数（%）は，味噌2.52～2.74，なるとまき 4.83～5.33，ウインナーソーセージ 1.47～5.69，カットたくあんが 1.87～3.42であった。一方，たくあんの変動係数（%）は，2.13～12.5と，前者のグループと比較して幅のある結果であった。

2. 5検査機関での市販味噌中のソルビン酸の検査

外部検査機関でのソルビン酸濃度の測定結果は，0.56～0.61 g/kg であった。1試料について2回測定した濃度幅は，最大で0.58～0.60 g/kg を示した試料があったが，ほかの試料では，濃度幅はさらに少なかった。

3. 作製試料中の食品添加物（ソルビン酸）濃度の均質性と経時的な安定性

調製味噌では、測定値は 0.285~0.498 g/kg で平均値 0.420 g/kg, 標準偏差 0.106, 変動係数 25.24 であった。水で希釈した調製味噌では、測定値 0.479~0.517 g/kg で平均値 0.492 g/kg, 標準偏差 0.019, 変動係数 3.86% と、水で希釈する方法の方が小さい変動係数を示した。調製ケチャップでは、測定値 0.218~0.260 g/kg, 平均値 0.251 g/kg, 標準偏差 0.012, 変動係数 4.9% と調製味噌のいずれと比較しても小さい変動であった。

4. 作製液体試料中の重金属（カドミウムおよび鉛）濃度の均質性と経時的な安定性

市販ジュースにカドミウムおよび鉛を添加して、その濃度の均質性と経時的な安定性を調べた結果、カドミウムでは、調製予定濃度 0.30 $\mu\text{g/g}$ に対して測定値 0.294 $\mu\text{g/g}$, 鉛では、調製予定濃度 8.0 $\mu\text{g/g}$ に対して測定値 9.52 $\mu\text{g/g}$ であった。変動係数は、前者が 2.04%, 後者が 2.63% であった。濃度の経時的な安定性については、作製当日の濃度を 100% とし、試料作製後 15 日と 30 日について調べた。その結果、カドミウム、鉛のいずれも、100% 以上の安定性を示した。

5. 精白米中のカドミウム濃度の均質性

カドミウム溶液 (4.0 ppm) に精白米を浸漬して作製した試料中のカドミウムの濃度は、3.51~3.84 ppm であった。1 容器 (100 g 包装) について 2 度の測定を行った中で、測定濃度の幅が最も大きかったのは 3.51 ppm と 3.74 ppm であった。

6. 作製試料（大豆油）中の残留農薬濃度の均質性と経時的な安定性

作製試料（大豆油）中のフェニトロチオンの濃度は、作製予定濃度 0.45 $\mu\text{g/g}$ に対して 0.460 $\mu\text{g/g}$, ダイアジノンの濃度は、作製予定濃度 0.25 $\mu\text{g/g}$ に対し 0.258 $\mu\text{g/g}$ であった。作製濃度の変動係数は、それぞれ 3.99%, 3.68% であった。10 試料（容器）についてそれぞれ 2 回ずつ測定して検定を行った結果、F 値はフェニトロチオンでは 1.44, ダイアジノンでは 1.09 と 5% 水準 ($F_{0.10}$ 3.02) より小さかった。濃度の経時的な安定性は、作製当日の濃度を 100% とし、試料作製後 15 日と 30 日について調べた結果、安定性は、フェニトロチオンは 15 日後で 96.9%, 30 日後で 96.4%, またダイアジノンは 15 日後で 100.0%, 30 日後で 100.8% であった。

7. 作製試料（コーンスターチ）中の残留農薬濃度の均質性

8 種類の有機リン系農薬について、濃度の均質性について調べた結果を表 9 に示した。この時のコーンスターチからの有機リン系農薬の測定における添加回収率は 90.8~114.4% であった。各測定時点での 5 試料の測定における変動係数は 3.90~11.78 を示した。

D. 考察

1. 市販食品中の食品添加物の調査

市販の味噌、なるとまきおよびウインナーソーセージ中のソルビン酸の濃度は、通常の検査で使用される有効数字 2 桁の数値と比較すると、ロット内およびロット間のいずれにおいても、味噌では 0.57~0.61 g/kg, なるとまきでは 1.1~1.3 g/kg, ウインナーソーセージでは 1.3~1.5 g/kg と、濃度の幅は小さかった。この時濃度測定結果の変動係数 (%) は、味噌 2.52~2.74, なるとまき 4.83~5.33, ウインナーソーセージ 1.47~5.69, カ

ットたくあん1.87~3.42であった。一方、たくあんについては、0.50~0.78 g/kgと幅のある濃度で、変動係数(%)は2.13~12.5であった。しかし、カットたくあんA、B、Cのロット内の濃度変動幅は、0.68~0.73 g/kg、0.52~0.54 g/kg、0.52~0.54 g/kgと少なく、変動係数(%)も1.87~3.42であった。従って、たくあんについては市販品購入後、さらにソルビン酸の濃度を均質にする操作を行うことで、さらに濃度が均質化した試料の作製が可能と考えられる。

2. 5 検査機関での市販味噌中のソルビン酸の検査

外部の検査機関に委託して市販の味噌中のソルビン酸濃度を測定した結果、0.56~0.61 g/kgと、当研究所での測定結果とほぼ同様であった。1試料について2回測定することで、試料内および検査方法の再現性を調べたところ、その測定結果の濃度の幅も、大きい幅を示した試料で0.58~0.60 g/kgと再現性が高いと考えられた。

3. 作製試料中の食品添加物（ソルビン酸）濃度の均質性と経時的な安定性

調製味噌中の濃度は0.285~0.498 g/kgと幅のある結果であった。一方、水で希釈して作製した調製味噌中の濃度は0.479~0.517 g/kg、また調製ケチャップ中の濃度は0.218~0.260 g/kgと、濃度の幅は小さかった。従って、水で希釈して作製する調製味噌と調製ケチャップの作製方法は、濃度が均質なソルビン酸の調査用試料の作製方法として採用できる可能性が示唆された。

4. 作製液体試料中の重金属（カドミウムおよび鉛）濃度の均質性と経時的な安定性

市販のジュースにカドミウムおよび鉛を添加して作製した試料は、作製予定濃度と比較して約100%近い濃度で作製することができ

た。また、試料の作製15日後および30日後の濃度を測定した結果、いずれにおいてもカドミウムおよび鉛の濃度は、作製当日と比較して約100%近い安定性を示した。清涼飲料水の検査に使用する調査用試料の作製方法としてこの方法は採用可能と考えられる。

5. 精白米中のカドミウム濃度の均質性

今回作製した試料中のカドミウム濃度は、3.51~3.84 ppmと、食品形態の試料としては濃度の幅が小さいものが作製できたと考えられる。しかし、作製に使用したカドミウム溶液の濃度が4 ppmであるので、そのほぼ100%近くが精白米に移行したと推定される。これは5試料（容器）の測定結果であり、今後さらに検討試料の数を増やして、作製方法の再現性について検討する必要がある。

6. 作製試料（大豆油）中の残留農薬濃度の均質性と経時的な安定性

液状の食品試料として大豆油を選び、残留農薬検査の調査用試料の作製方法について検討した。その結果、有機リン系農薬として検討対象としたフェニトロチオンおよびダイアジノンでは、濃度の均質性における変動係数が、それぞれ3.99%と3.68%を示した。また10個の試料（容器）について2回ずつ測定して検定を行った結果、F値はフェニトロチオンでは1.44、ダイアジノンでは1.09と5%水準($F_{0.10}$ 3.02)より小さかった。濃度の経時的な安定性は、試料の作製当日の濃度と比較して30日後でも96.4~100.8%を示した。

残留農薬検査の調査用試料として、液状食品の場合には、今回検討した作製方法が採用できると考えられる。

7. 作製試料（コーンスターチ）中の残留農薬濃度の均質性

ボールミルを使用してコーンスターチと農薬を混合して、その濃度の均質性を経時的に

調べた。今回検討した8種類の有機リン系の農薬の経時的な濃度の変化は、ボールミルの攪拌時間との相関性が確認できなかった。攪拌開始30分後よりも60分後で濃度が若干減少し、120分後でまた濃度が増加する傾向が認められた。60分後での濃度の減少を説明することは困難である。しかし、各測定時点での農薬濃度の変動係数が3.90～11.78%であることから、今回検討した作製方法をさらに検討する価値はあると考えている。

E. 結論

1. 市販食品中の食品添加物の調査

市販の味噌、なるとまきおよびウイナソーセージは、ソルビン酸の検査の制度管理調査用試料として、採用できる可能性があることが判った。

2. 市販味噌製品中の食品添加物（ソルビン酸）濃度の均質性について

外部の5検査機関と当研究所の検査結果を比較したところ、いずれの検査機関ともほぼ近い検査結果であった。

3. 作製試料中の食品添加物（ソルビン酸）濃度の均質性と経時的な安定性

水で2倍に希釈した調製味噌や調製ケチャップによる方法は、ソルビン酸の検査に使用する調査用試料の作製方法として採用可能であることが判った。

4. 作製液体試料中の重金属（カドミウムおよび鉛）濃度の均質性と経時的な安定性

液状試料の作製方法として、硝酸酸性にしたジュースにカドミウムおよび鉛の溶液を添加する方法が、調査用試料の作製方法として採用可能であることが判った。

5. 精白米中のカドミウム濃度の均質性

カドミウム溶液に精白米を浸漬する方法が、均質なカドミウム濃度の試料を作製する方法として、有効であることが判った。

6. 作製試料（大豆油）中の残留農薬濃度の均質性と経時的な安定性

大豆油と有機溶媒に溶解した有機リン系農薬の溶液を混合することで、均質な濃度の調査用試料の作製が可能であることが判った。

7. 作製試料（コーンスターチ）中の残留農薬濃度の均質性

固体の調査用試料の作製方法として、ボールミルを使用してコーンスターチと有機リン系農薬を混合する方法が採用可能であることが示唆された。

表1 市販ミソおよびなるとまき中のソルビン酸の検査結果

試料番号	ミソ (g /kg)		なるとまき (g /kg)		
	ロットA	ロットB	ロットA	ロットB	ロットC
1	0.613	0.591	1.16	1.23	1.13
2	0.595	0.578	1.17	1.14	1.11
3	0.601	0.603	1.20	1.27	1.21
4	0.601	0.567	1.07	1.23	1.28
5	0.571	—	1.09	1.14	1.26
平均値	0.596	0.585	1.14	1.20	1.20
標準偏差	0.015	0.016	0.055	0.059	0.064
変動係数(%)	2.52	2.74	4.83	4.92	5.33

表2 市販ウインナーソーセージおよびカットたくあん中のソルビン酸の検査結果

試料番号	ウインナーソーセージ (g /kg)			カットたくあん (g /kg)		
	ロットA	ロットB	ロットC	ロットA	ロットB	ロットC
1	1.29	1.38	1.36	0.710	0.546	0.517
2	1.30	1.34	1.40	0.711	0.536	0.523
3	1.47	1.35	1.32	0.675	0.533	0.524
4	1.42	1.34	1.32	0.679	0.535	0.526
5	1.35	1.38	—	0.733	0.518	0.544
平均値	1.37	1.36	1.35	0.702	0.534	0.527
標準偏差	0.078	0.020	0.038	0.024	0.010	0.010
変動係数(%)	5.69	1.47	2.82	3.42	1.87	1.90

表 3-1 市販たくあん中のソルビン酸の検査結果

試料番号	たくあん (g /kg)			たくあん (g /kg)		
	ロット A-1	ロット A-2	ロット A-3	ロット B-1	ロット B-2	ロット B-3
1	0.652	0.562	0.734	0.760	0.768	0.692
2	0.645	0.562	0.737	0.759	0.784	0.691
3	0.645	0.504	0.667	0.673	0.720	0.728
4	0.651	0.634	0.657	0.675	0.749	0.727
5	0.681	0.512	0.743	0.726	0.650	0.645
6	0.668	0.563	0.705	0.724	0.652	0.645
平均値	0.657	0.556	0.707	0.720	0.721	0.688
標準偏差	0.014	0.047	0.037	0.038	0.058	0.037
変動係数(%)	2.13	8.45	5.23	5.23	8.04	5.38

表 3-2 市販たくあん中のソルビン酸の検査結果

試料番号	たくあん (g /kg)		
	ロット C-1	ロット C-2	ロット C-3
1	0.734	0.805	0.637
2	0.690	0.805	0.637
3	0.698	0.722	0.817
4	0.777	0.723	0.819
5	0.776	0.829	0.829
6	—	0.830	0.824
平均値	0.735	0.786	0.760
標準偏差	0.041	0.050	0.095
変動係数(%)	5.58	6.36	12.5

表 3-3 市販たくあん中のソルビン酸の検査結果

	たくあん (g /kg)		
	ロットA	ロットB	ロットC
-1	0.657	0.720	0.735
-2	0.556	0.721	0.786
-3	0.707	0.688	0.760
平均値	0.640	0.710	0.760
標準偏差	0.077	0.019	0.026
変動係数(%)	12.0	2.68	3.42

表 4 調製ミソ、調製ミソ（水希釈）およびケチャップ試料の均質性

調製ミソ(g/kg)		, g/kg)		ケチャップ(g/kg)	
試料番号	結果	試料番号	結果	試料番号	結果
1	0.285	1	0.491	1	0.260
2	0.495	2	0.479	2	0.255
3	0.504	3	0.503	3	0.255
4	0.487	4	0.443	4	0.227
5	0.424	5	0.517	5	0.218
6	0.498	6	0.501	6	0.247
7	0.289	7	0.502	7	0.253
8	0.488	8	0.497	8	0.254
9	0.491	9	0.497	9	0.254
10	0.241	10	0.494	10	0.255
平均値	0.420	平均値	0.492	平均値	0.251
標準偏差	0.106	標準偏差	0.019	標準偏差	0.012
変動係数(%)	25.24	変動係数	3.86	変動係数	4.98