

(6) 野菜中有機リン系農薬濃度の均一性と安定性

ほうれん草、キャベツ、にんじんおよびとうもろこしを冷凍・ホモジナイズした食材として株式会社新進で市販しているマイクロペー
スト食材を使用して、有機リン系農薬を添加して、その濃度の均一性と安定性を調べ、その結果を表および図に示した。

4種類の食材でのそれぞれの農薬濃度の変動係数は、ほうれん草では10.8~20.4%、キャベツでは4.61~6.69%、にんじんでは8.77~15.99%およびとうもろこしでは2.78~5.46%であった。

冷凍保存(-20℃) 2か月後における農薬濃度の安定性は、作製当日濃度を100%とすると、ほうれん草では53.1~85.2%、その他の食材では90.9%以上であった。3か月冷凍保存では、ほうれん草で48.8%、ほうれん草を除いた食材で86.1%に減少した。

D. 考察

(1) 清涼飲料水中カドミウムおよび鉛濃度の均一性と経時的な安定性

食品衛生法でカドミウムおよび鉛の規格・基準が定められている清涼飲料水を使用してカドミウムおよび鉛を添加した試料を作製し、その濃度の均一性と経時的な安定性を調べた。試料には濁り、砂糖および色素等を考慮してカルピスウォーターとマイシロップいちごを混合して使用した。

その結果、カドミウムおよび鉛の濃度は、 0.292 ± 0.004 および $3.54 \pm 0.051 \mu\text{g/g}$ であった。変動係数は、それぞれ1.38%および1.43%と小さく、良好な均一性を示した。作製40日後の濃度の安定性も、それぞれ98.3%および97.5%と、作製後40日間は、調査試料として使用可能と考えられ、今回検討した

鉛およびカドミウムの試料作製方法および保管方法は、調査用試料の作製と保管方法として採用できることが判った。

(2) 精白米中カドミウム濃度の均一性と経時的な安定性

カドミウムの規格・基準が設定されている食材として精白米中カドミウム濃度の均一性と経時的な安定性を調べた。約1年前に作製したカドミウム添加精白米中のカドミウム濃度は、作製当時濃度を100%とすると、作製濃度約0.5 ppmの試料では97.1%、作製濃度約2 ppmの試料が99.8%の安定性を示した。

また、作製予定濃度2 ppmの精白米をカドミウム無添加精白米で希釈および粉碎して作製した作製予定濃度0.4~0.5 ppmの試料の濃度は $0.459 \pm 0.026 \text{ ppm}$ (n=15; 5検査機関各3試料)、作製予定濃度0.9~1.0 ppmの試料は $0.962 \pm 0.039 \text{ ppm}$ (n=15)と、ほぼ予定濃度の範囲で作製することができた。また、各濃度の標準偏差も小さかった。

以上のことから、精白米を硝酸酸性にしたカドミウム溶液に浸漬する方法およびこのようにして作製したカドミウム添加精白米をカドミウム無添加精白米で希釈・粉碎してカドミウム低濃度の精白米を作製する方法は、調査用試料の作製方法として採用できる可能性があると考えられた。また、作製した試料は、冷蔵(5℃)保存で、約1年間は、作製濃度が安定であることが判った。

(3) 市販の板かまぼこ中ソルビン酸濃度の均一性

市販の板かまぼこ10個(包装)について1包装につき2回の繰り返し測定を行い、試料間(同一ロット間)のソルビン酸濃度の均一性を調べた。その結果、F値が93.34と5%水準($F_{9,10} 3.02$)より大きく、当試料間のソルビン酸濃度は、不均一であった。

しかし、昨年度に検討した市販味噌では、

同一ロット間でのソルビン酸濃度が小さく、上記の検定により均一と判断されたので、市販食品を精度管理調査試料としてそのまま使用可能かどうかを調べることは、現実的な選択と考えられる。今後も検討を継続する予定である。

(4) 果実酒中のソルビン酸濃度の均一性と安定性

メタノールに溶解したソルビン酸を果実酒（ワイン）に添加して作製した試料は、作製予定 0.12 g/kg に対し測定濃度 0.117 g/kg（標準偏差 0.001, 変動係数 0.800%）と、ほぼ予定濃度の試料を作製することができた。また、濃度の均一性も F 値が 0.638 と 5% 水準 ($F_{9,10} 3.02$) より小さかった。また、作製した試料を作製後 40 日間、冷蔵(5℃) 保存した場合には、作製当日濃度の 100.9% の安定性を示した。

この様な試料の作製および保存法は、精度管理調査試料の作製および保存法に採用できると考えられた。

(5) 米油中の有機リン系農薬濃度の均一性と安定性

ヘキササンに溶解した有機リン系農薬（フェンチオンおよびマラチオン）を米油に溶解して作製した試料中の農薬濃度の変動係数は、3.04~3.20% と小さい結果であった。また、農薬濃度の F 値は 0.564~0.850 と、5% 水準 ($F_{9,10} 3.02$) より小さく、濃度が均一であった。作製した試料を冷蔵庫(5℃) に保存した場合には、作製50日後において作製当日濃度の99.3~107.7%と、安定に濃度を保つことが判った。

以上のことから、有機溶媒に溶解した農薬を油に溶解する作製方法は、均一な濃度の試料を作製できること、および作製した試料を冷蔵庫(5℃) に保存することで作製50日後でも農薬濃度が安定であることが判った。

(6) 野菜中有機リン系農薬濃度の均一性と安定性

残留農薬の検査を精度管理調査として実施する場合には、実際に農薬を散布する農作物を使用して試料を作製することが望まれている。そこで、農作物を冷凍・ホモジナイズした食材として株式会社新進で市販しているミクロペースト食材を使用して、有機リン系農薬の残留検査のための精度管理調査試料の作製を検討した。

作製した試料中お農薬濃度の変動係数は、検討した有機リン系農薬（エチオン、クロルピリホス、クロルピリホスメチル、ダイアジノン、フェニトロチオン、マラチオンおよびメチダチオン）について、ほうれんそうでは 10.8~20.4%、にんじんでは 9.12~15.99% であったが、その他の食材では 2.8~6.6% であった。冷凍保存(-20℃) 2 か月後における農薬濃度の安定性は、作製当日濃度を 100% とすると、ほうれんそうを除いた他の食材では 90.9% 以上であった。3 か月冷凍保存では、86.1% と減少した農薬があった。このミクロペースト食材は、農作物を冷凍・ホモジナイズしているため、有機溶媒による抽出の際に乳化する傾向がほうれん草とにんじんで観察された。しかし、残留農薬の精度管理調査試料として濃度の均一な試料を作製するためには、上記で採用した油以外で日常の検査の試料と同等の食材として、このミクロペースト食材を採用できる可能性が示唆された。今後も検討を実施する予定である。

E. 結論

精度管理調査用試料の作製について検討した結果、以下の結論を得た。

1. カルピスウォーターとマイシロップいちごを混合して濁り、砂糖および色素等を含む

重金属（カドミウムおよび鉛）検査の調査用試料を作製することができた。

2. 硝酸酸性にしたカドミウム溶液に精白米を浸漬する方法で作製した試料は、冷蔵（5℃）で1年間保存後においても濃度が安定であることが判った。

3. 上記の方法で作製したカドミウム検査の試料を、カドミウム無添加精白米で希釈後、粉碎して、低濃度の試料を作製できることが判った。

4. ソルビン酸のメタノール溶液を、果実酒（ワイン）に添加して均一な濃度の試料を作製できること、また、作製 40 日後でもソルビン酸濃度は、安定であることが判った。

5. 米油に有機リン系農薬（フェンチオンおよびマラチオン）のヘキサン溶液を添加して濃度の均一な試料を作製できること、作製50日後でも、濃度が安定であることが判った。

6. 株式会社新進が市販している農作物を冷凍・ホモジナイズしたマイクロペースト食材が残留農薬検査の調査用試料の作製に採用できる可能性が示唆された。

表 清涼飲料水中カドミウムと鉛の均一性試験の結果

単位：μg/g

試料番号	カドミウム		鉛	
	結果 I	結果 II	結果 I	結果 II
1	0.288	0.290	3.39	3.53
2	0.291	0.290	3.50	3.54
3	0.292	0.291	3.53	3.53
4	0.293	0.295	3.61	3.58
5	0.297	0.281	3.56	3.52
6	0.287	0.289	3.52	3.53
7	0.291	0.295	3.57	3.59
8	0.288	0.292	3.56	3.50
9	0.295	0.298	3.62	3.56
10	0.297	0.293	3.59	3.61
平均値	0.292		3.54	
標準偏差	0.004		0.051	
変動係数(%)	1.38		1.43	

表 清涼飲料水中カドミウムと鉛の安定性試験の結果

単位：μg/g

試料番号	カドミウム		鉛	
	15 日後	40 日後	15 日後	40 日後
1	0.288	0.288	3.41	3.41
2	0.294	0.289	3.43	3.45
3	0.292	0.287	3.47	3.48
4	0.296	0.287	3.43	3.46
5	0.291	0.284	3.47	3.51
平均値	0.292	0.287	3.44	3.46
標準偏差	0.003	0.002	0.02	0.03
変動係数(%)	1.004	0.581	0.69	0.96
安定性(%) *	100.0	98.3	97.0	97.5
標準偏差	1.03	0.65	0.74	1.02

*：作製当日（上記の均一性試験の結果）を 100%として算出

表 重金属検査調査用試料（精白米）のカドミウム濃度の均一性
および安定性試験の結果

単位：μg/g

試料名	イ機関	ロ機関	ハ機関	ニ機関	ホ機関
A	0.50	0.57	0.55	0.58	0.517
B	0.50	0.58	0.52	0.57	0.529
C	0.54	0.57	0.53	0.58	0.515
平均値	0.51	0.57	0.53	0.58	0.520
標準偏差	0.02	0.01	0.02	0.01	0.008
D	2.08	2.14	2.0	2.16	2.17
E	1.86	2.14	2.0	2.16	2.23
F	1.83	2.17	2.2	2.18	2.24
平均値	1.92	2.15	2.1	2.17	2.21
標準偏差	0.14	0.02	0.1	0.01	0.04
G	0.46	0.47	0.45	0.48	0.424
H	0.45	0.48	0.46	0.49	0.410
I	0.48	0.47	0.47	0.49	0.407
平均値	0.46	0.47	0.46	0.49	0.414
標準偏差	0.02	0.01	0.01	0.01	0.009
J	0.96	0.95	0.93	1.03	0.962
K	0.92	0.98	0.93	1.02	0.905
L	0.95	0.98	0.94	1.03	0.944
平均値	0.94	0.97	0.93	1.03	0.937
標準偏差	0.02	0.02	0.01	0.01	0.029
無添加	0.06	0.07	0.07	0.07	0.062

A, B, C : 0.5 ppm 溶液から作製 (2000.2.1 作製, 5℃保存)

D, E, F : 2.0 ppm 溶液から作製 (2000.2.1 作製, 5℃保存)

G, H, I : 2.0 ppm 溶液から作製した精白米を無添加精白米で希釈後、
粉碎 (予定濃度0.4 ~0.5ppm)

J, K, L : 2.0 ppm 溶液から作製した精白米を無添加精白米で希釈後、
粉碎 (予定濃度 0.9~1.0ppm)

表 板カマボコ中のソルビン酸濃度の均一性試験の結果

単位：g/kg		
試料番号	結果 I	結果 II
1	0.637	0.632
2	0.569	0.555
3	0.464	0.465
4	0.596	0.607
5	0.503	0.499
6	0.541	0.501
7	0.641	0.641
8	0.533	0.532
9	0.531	0.540
10	0.411	0.425
平均値	0.541	
標準偏差	0.070	
変動係数(%)	12.92	

表 果実酒（ワイン）中のソルビン酸濃度の均一性試験の結果

単位：g/kg		
試料番号	結果 I	結果 II
1	0.116	0.117
2	0.117	0.116
3	0.117	0.115
4	0.119	0.116
5	0.118	0.117
6	0.117	0.117
7	0.116	0.116
8	0.116	0.117
9	0.117	0.117
10	0.117	0.115
平均値	0.117	
標準偏差	0.001	
変動係数(%)	0.800	

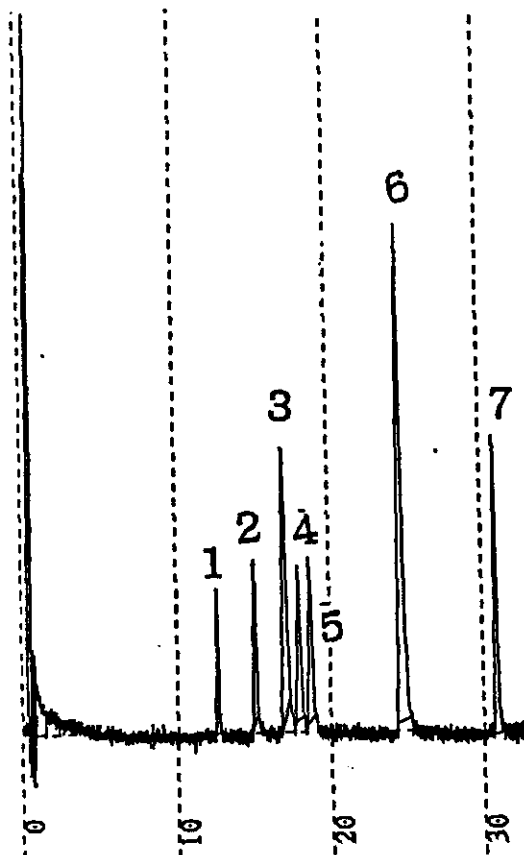
表 果実酒（ワイン）中のソルビン酸濃度の安定性試験の結果

試料番号	単位：g/kg	
	20 日後	40 日後
1	0.118	0.117
2	0.119	0.118
3	0.118	0.118
4	0.119	0.118
5	0.118	0.119
平均値	0.118	0.118
標準偏差	0.001	0.001
変動係数(%)	0.46	0.59
安定性(%) *	101.7	100.9

*：作製当日（上記の均一性試験の結果）を
100%として算出

表 米油中のフェンチオンおよびマラチオンの均一性試験の結果

フェンチオン			マラチオン		
試料番号	単位：g/kg		試料番号	単位：g/kg	
	結果 I	結果 II		結果 I	結果 II
1	0.477	0.475	1	0.795	0.775
2	0.471	0.474	2	0.771	0.790
3	0.470	0.499	3	0.803	0.831
4	0.483	0.477	4	0.818	0.796
5	0.465	0.462	5	0.813	0.772
6	0.479	0.456	6	0.763	0.763
7	0.494	0.453	7	0.804	0.754
8	0.500	0.477	8	0.792	0.736
9	0.458	0.470	9	0.777	0.788
10	0.486	0.448	10	0.827	0.762
平均値	0.474		平均値	0.787	
標準偏差	0.014		標準偏差	0.025	
変動係数(%)	3.040		変動係数(%)	3.200	



- 1 ダイアジノン
- 2 クロルピリホスメチル
- 3 クロルピリホス
- 4 マラチオン
- 5 フェニトロチオン
- 6 メチダチオン
- 7 エチオン

保持時間(分)

GC-17A

検出器：FPD

測定条件

カラム：DB-5 直径 0.53mm×30m

カラム温度：60°C(2分)→20°C/min→180°C(15分)

→5°C/min→220°C(2分)

注入口温度：250°C

検出器温度：325°C

カラム流量(ヘリウム)：27.5ml/min(線速度 131cm/sec)

試料 導入法：スプリットレス

注入量：1 μl

標準品のガスクロマトグラム

農薬の均一性試験結果

農薬	項目	食材名	ほうれん草	キャベツ	にんじん	とうもろこし
ダイアジノン	平均濃度±SD(μg/g)		0.104±0.011	0.115±0.008	0.119±0.019	0.104±0.006
	CV (%)		10.84	6.69	15.99	5.41
クロルピリホス メチル	平均濃度±SD(μg/g)		0.238±0.039	0.282±0.013	0.317±0.031	0.282±0.015
	CV (%)		16.37	4.66	9.76	5.29
クロルピリホス	平均濃度±SD(μg/g)		0.308±0.058	0.372±0.014	0.417±0.037	0.375±0.018
	CV (%)		18.76	3.70	8.77	5.21
マラチオン	平均濃度±SD(μg/g)		0.349±0.056	0.435±0.024	0.493±0.048	0.479±0.026
	CV (%)		15.96	5.59	9.64	5.40
フェニトロチオン	平均濃度±SD(μg/g)		0.499±0.092	0.585±0.024	0.649±0.064	0.628±0.022
	CV (%)		19.36	4.05	9.82	3.43
メチダチオン	平均濃度±SD(μg/g)		1.380±0.306	1.601±0.074	1.793±0.203	1.901±0.104
	CV (%)		22.20	4.61	11.32	5.46
エチオン	平均濃度±SD(μg/g)		0.242±0.049	0.300±0.018	0.340±0.031	0.303±0.008
	CV (%)		20.42	5.94	9.13	2.78

平均濃度：繰り返し実験5回の平均

CV (%)：標準偏差SD÷平均濃度×100

ほうれん草における農薬の安定性試験
冷凍保存

濃度単位：μg/g

農薬名	項目 / 月数	1ヶ月	2ヶ月	3ヶ月
ダイアジノン	濃度±SD	0.154±0.003	0.147±0.004	0.138±0.010
	CV (%)	2.01	2.38	3.59
	安定性 (%)	54.2	53.1	48.8
クロルピリホス メチル	濃度±SD	0.530±0.013	0.511±0.034	0.457±0.036
	CV (%)	2.37	6.67	7.84
	安定性 (%)	69.9	67.3	60.2
クロルピリホス	濃度±SD	0.713±0.026	0.691±0.043	0.673±0.037
	CV (%)	3.63	6.19	5.50
	安定性 (%)	78.4	76.0	74.1
マラチオン	濃度±SD	0.726±0.016	0.713±0.060	0.694±0.043
	CV (%)	2.17	8.33	6.19
	安定性 (%)	89.8	88.1	85.8
フェニトロ チオン	濃度±SD	1.047±0.032	0.955±0.047	0.944±0.054
	CV (%)	3.09	4.85	5.71
	安定性 (%)	93.4	85.2	84.2
メチダチオン	濃度±SD	2.685±0.073	1.936±0.133	1.918±0.045
	CV (%)	2.71	6.87	2.32
	安定性 (%)	76.8	55.2	54.1
エチオン	濃度±SD	0.560±0.017	0.482±0.045	0.489±0.034
	CV (%)	2.96	9.37	6.90
	安定性 (%)	84.0	72.2	73.3

濃度：繰り返し実験3回の平均濃度

CV (%)：標準偏差 SD ÷ 濃度 × 100

安定性 (%)：経過月数の濃度 ÷ 0日目の濃度 × 100

キャベツにおける農薬の安定性試験
冷凍保存

濃度単位：μg/g

農薬名	項目 / 月数	1ヶ月	2ヶ月	3ヶ月
ダイアジノン	濃度±SD	0.253±0.006	0.264±0.002	0.239±0.005
	CV (%)	2.27	0.80	2.16
	安定性 (%)	97.6	102.0	92.1
クロルピリホス メチル	濃度±SD	0.656±0.014	0.653±0.002	0.589±0.035
	CV (%)	2.17	0.20	5.93
	安定性 (%)	100.1	99.6	89.9
クロルピリホス	濃度±SD	0.867±0.016	0.893±0.010	0.805±0.026
	CV (%)	1.79	1.13	3.25
	安定性 (%)	98.9	102.2	91.9
マラチオン	濃度±SD	0.967±0.052	0.933±0.016	0.901±0.030
	CV (%)	5.39	1.65	3.26
	安定性 (%)	101.8	98.2	94.7
フェニトロ チオン	濃度±SD	1.285±0.056	1.267±0.022	1.243±0.020
	CV (%)	4.36	1.75	1.62
	安定性 (%)	97.7	96.4	89.3
メチダチオン	濃度±SD	3.745±0.143	3.332±0.107	3.104±0.051
	CV (%)	3.82	3.19	1.62
	安定性 (%)	107.7	95.8	89.3
エチオン	濃度±SD	0.695±0.026	0.715±0.018	0.623±0.027
	CV (%)	3.67	2.55	4.24
	安定性 (%)	105.7	107.9	94.1

濃度：繰り返し実験3回の平均濃度

CV (%)：標準偏差 SD ÷ 濃度 × 100

安定性 (%)：経過月数の濃度 ÷ 0日目の濃度 × 100

にんじんにおける農薬の安定性試験
冷凍保存

濃度単位：μg/g

農薬名	項目 \ 月数	月数		
		1ヶ月	2ヶ月	3ヶ月
ダイアジノン	濃度±SD	0.260±0.005	0.269±0.005	0.251±0.003
	CV (%)	1.77	1.76	0.96
	安定性 (%)	93.4	96.6	90.4
クロルピリホス メチル	濃度±SD	0.676±0.009	0.678±0.012	0.635±0.007
	CV (%)	1.30	1.67	1.03
	安定性 (%)	95.8	96.0	89.9
クロルピリホス	濃度±SD	0.942±0.019	0.911±0.027	0.855±0.001
	CV (%)	2.06	2.93	0.11
	安定性 (%)	102.2	104.1	97.7
マラチオン	濃度±SD	0.988±0.024	1.048±0.045	0.891±0.008
	CV (%)	2.44	4.32	0.90
	安定性 (%)	94.7	100.4	85.3
フェニトロ チオン	濃度±SD	1.335±0.031	1.315±0.067	1.236±0.032
	CV (%)	2.31	5.06	2.60
	安定性 (%)	107.1	105.5	99.2
メチダチオン	濃度±SD	3.673±0.087	3.412±0.181	3.074±0.058
	CV (%)	2.37	5.31	1.88
	安定性 (%)	96.8	89.9	81.0
エチオン	濃度±SD	0.697±0.011	0.685±0.031	0.632±0.029
	CV (%)	1.48	4.47	4.59
	安定性 (%)	99.4	97.1	90.2

濃度：繰り返し実験3回の平均濃度

CV (%)：標準偏差 SD ÷ 濃度 × 100

安定性 (%)：経過月数の濃度 ÷ 0日目の濃度 × 100

とうもろこしにおける農薬の安定性試験
冷凍保存

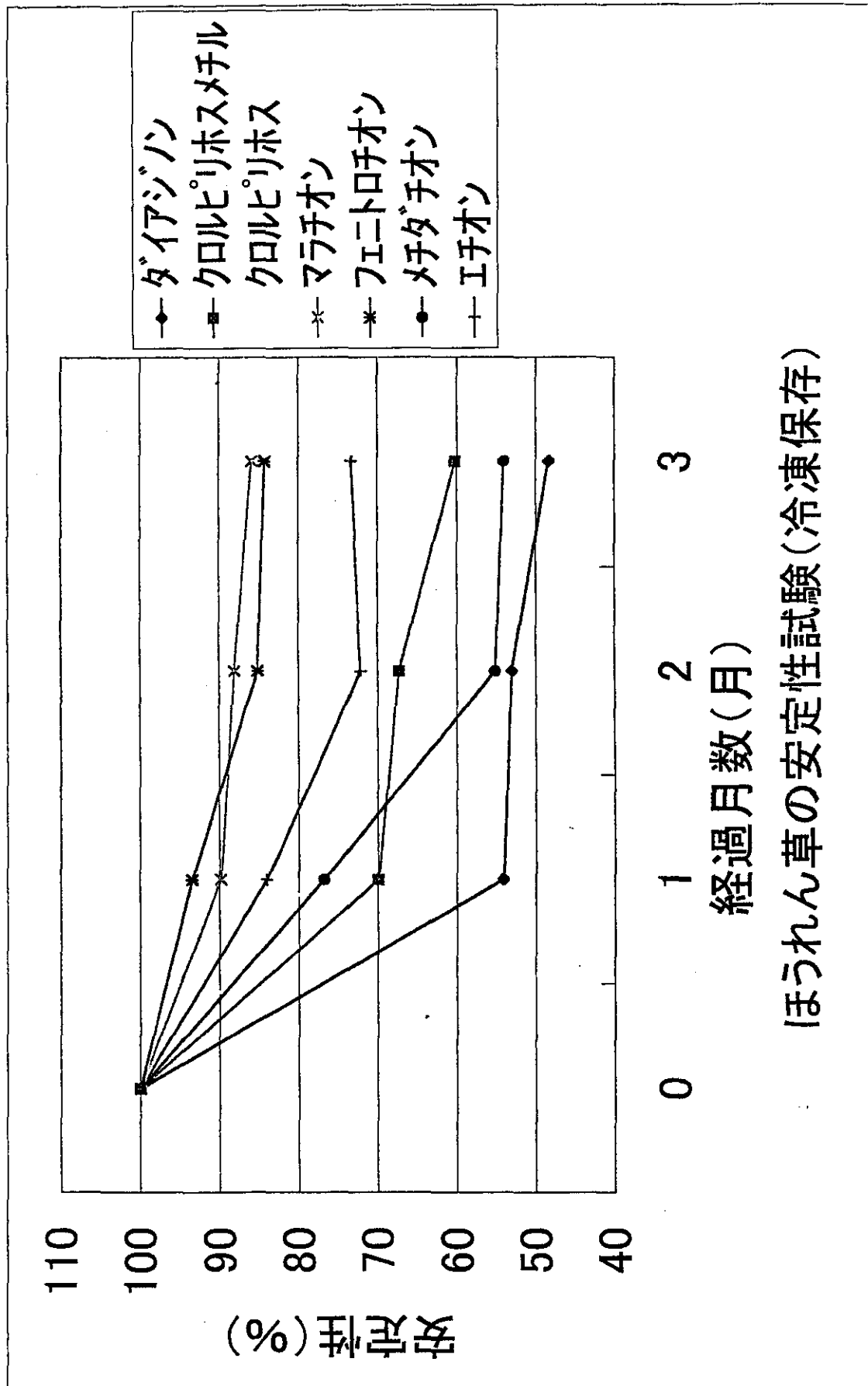
濃度単位：μg/g

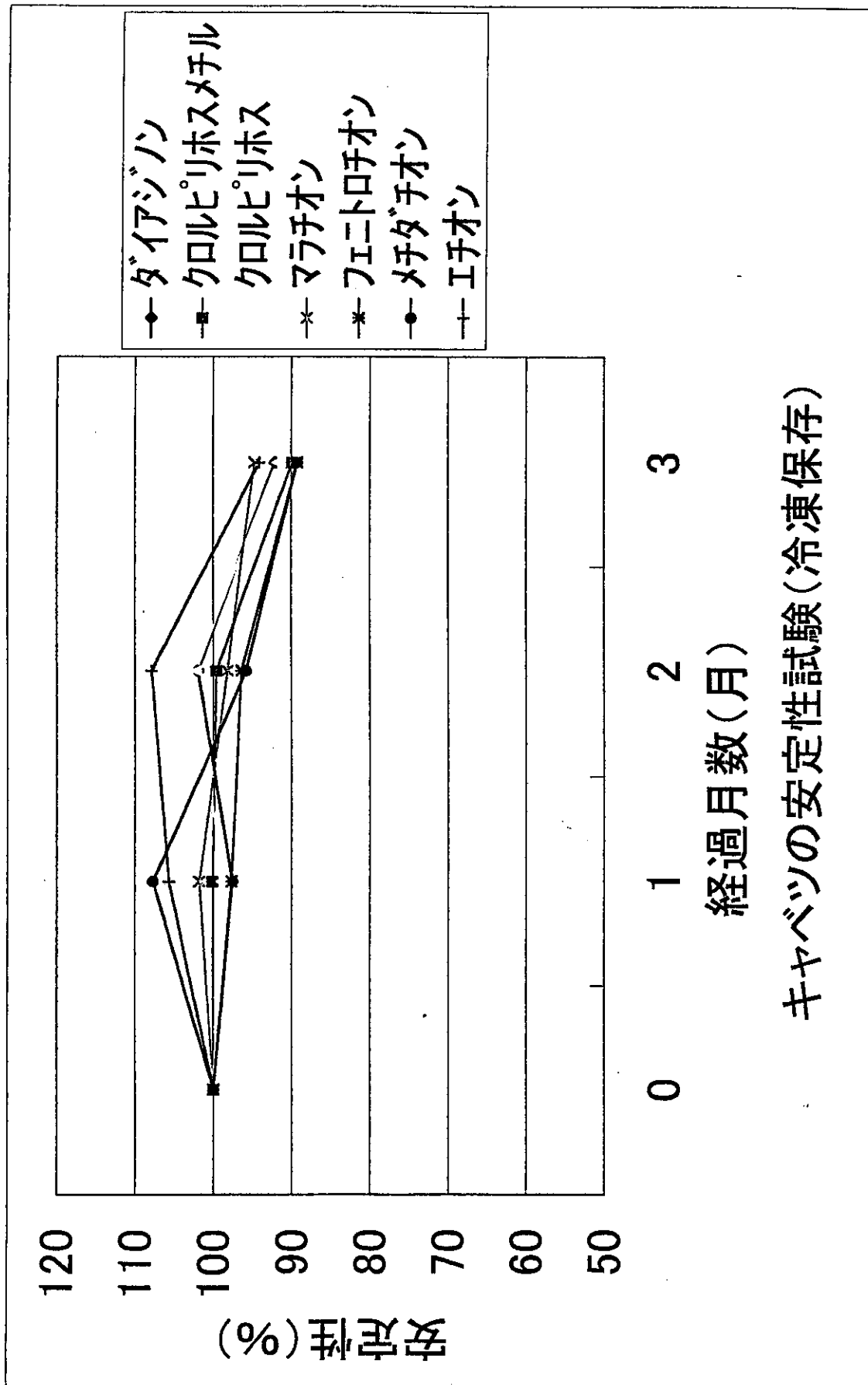
農薬名	項目 \ 月数	1ヶ月	2ヶ月	3ヶ月
ダイアジノン	濃度±SD	0.273±0.068	0.255±0.015	0.242±0.009
	CV (%)	2.17	5.96	3.65
	安定性 (%)	97.2	90.9	86.2
クロルピリホス メチル	濃度±SD	0.703±0.176	0.666±0.035	0.640±0.021
	CV (%)	1.51	5.26	3.20
	安定性 (%)	94.5	89.5	86.1
クロルピリホス	濃度±SD	0.997±0.237	0.908±0.052	0.842±0.017
	CV (%)	1.18	5.73	2.00
	安定性 (%)	101.5	97.3	90.2
マラチオン	濃度±SD	1.035±0.259	1.019±0.040	0.946±0.037
	CV (%)	2.96	3.93	3.84
	安定性 (%)	112.5	107.6	102.8
フェニトロ チオン	濃度±SD	1.473±0.005	1.360±0.081	1.292±0.035
	CV (%)	0.33	5.92	2.68
	安定性 (%)	116.3	107.4	102.0
メチダチオン	濃度±SD	4.014±1.036	3.769±0.270	3.594±0.162
	CV (%)	0.91	7.13	4.49
	安定性 (%)	109.1	102.4	97.6
エチオン	濃度±SD	0.773±0.194	0.684±0.035	0.661±0.026
	CV (%)	0.54	5.13	3.90
	安定性 (%)	107.3	94.9	91.6

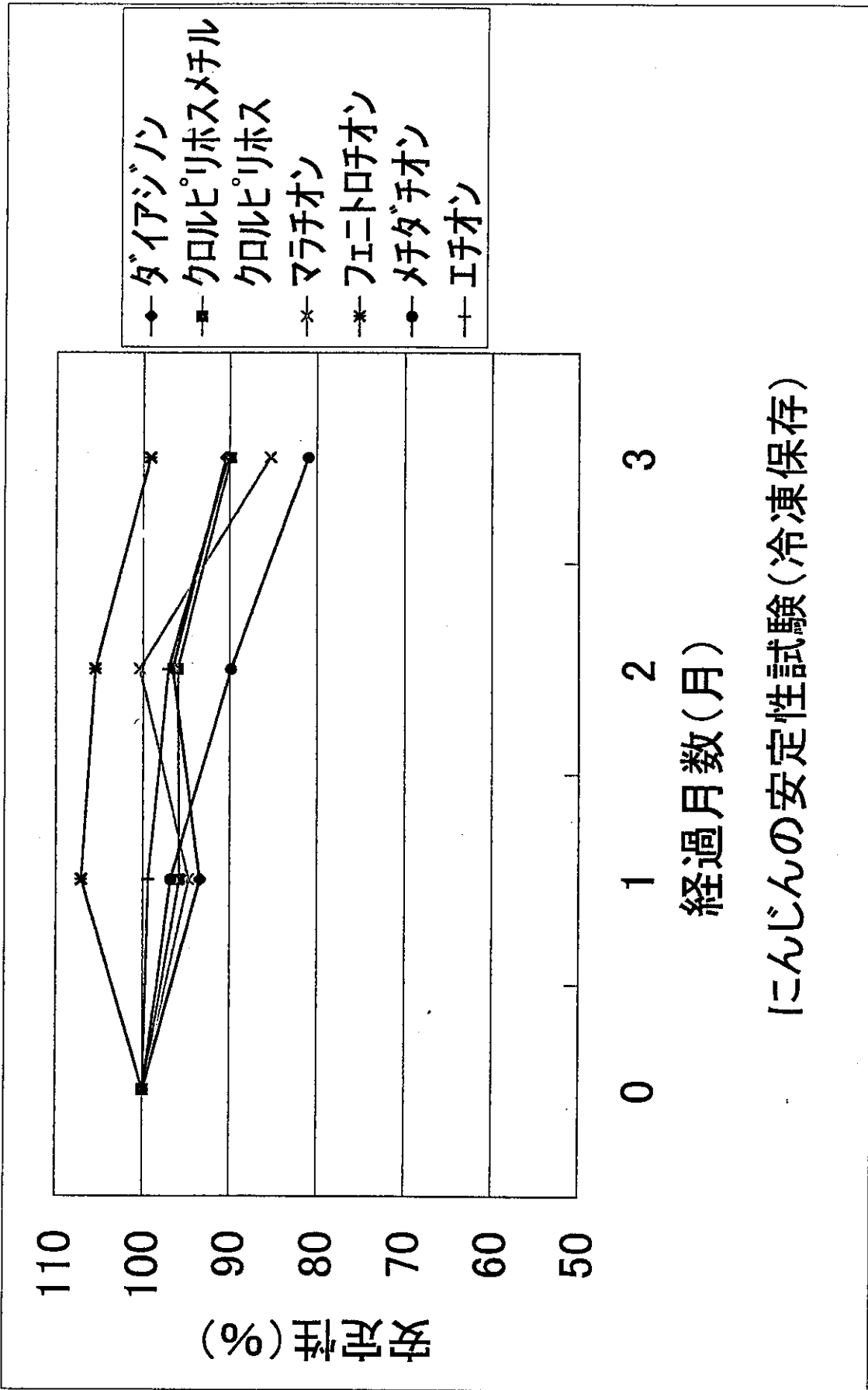
濃度：繰り返し実験3回の平均濃度

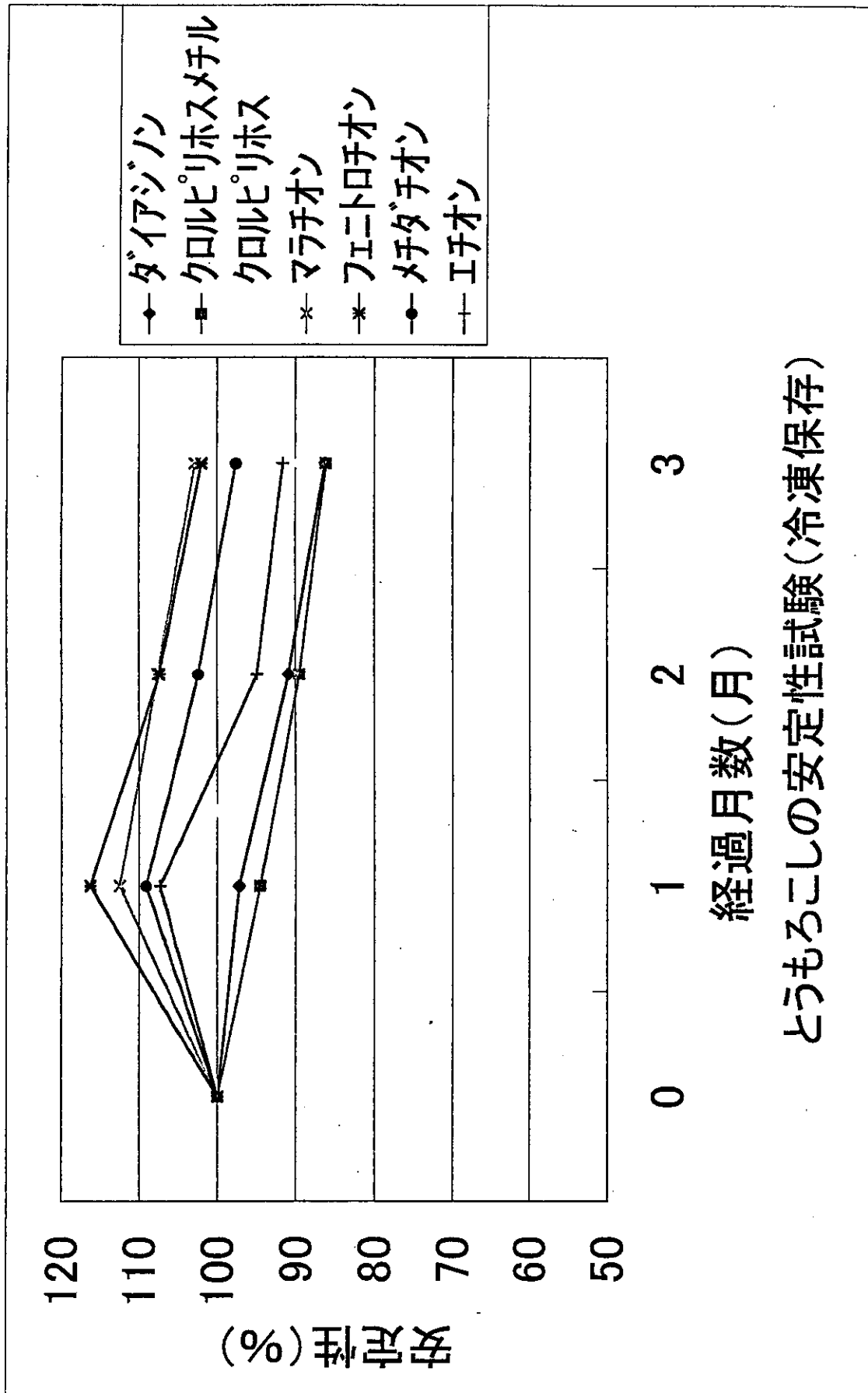
CV (%)：標準偏差 SD÷濃度×100

安定性 (%)：経過月数の濃度÷0日目の濃度×100









II-3. 外部精度管理調査のための適切な試料の作製法に関する研究

(2) 細菌学的検査用調査試料の作製法の検討

大島赴夫, 鈴木達也

(財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所微生物学研究室・外部精度管理事業部)

A. 研究の目的

食品衛生外部精度管理調査における微生物学的検査調査(細菌同定)試料の作製にあたり, 安定で均一な調製試料とするための模擬食材の組成の検討を目的として実施した。

B. 研究方法

細菌同定用試料のための模擬食材の検討は以下のように行った。

1. 模擬食材

食品模擬試料は, マッシュポテト(雪印乳業(株)製造)を基材として用いた。これまでの検討の成果を比較するため, 3種類の処理法による基材を用いた。

- マッシュポテト基材-I: 初期型マッシュポテト基材(平成10年度報告書参照)
- マッシュポテト基材-II: 初期改良型マッシュポテト基材(平成11年度報告書)
- マッシュポテト基材-III: 新規改良型マッシュポテト基材

2. 試験菌株および菌液調製

試験菌株は, 以下の5菌種を用いた。

<i>Escherichia coli</i>	ATCC8739
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC8090
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC13311
<i>Salmonella entiridis</i>	HIC
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC25933

上記菌株は, ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト(SCD)寒天培地に接種し, 35℃で24時間培養した後, それぞれを滅菌済み0.1%ペプトン水に懸濁して約 10^8 cfu (colony forming units)/mLの菌液を調製し, これを接種菌液とした。

3. 検査対象菌種を含む模擬食品試料の作製方法

(1) 改良基材中での試験菌の安定性

滅菌済みマッシュポテト基材(基材-I, II, IIIの3種)1gに対して試験菌の最終濃度が約 10^4 cfu または 10^6 cfu となるようにそれぞれ接種し, 滅菌済み攪拌棒で充分均等になるように混合し, 検査対象菌を含む模擬食品試料とした。試験菌は, すべて単独菌接種とし, 接種直後, 7日, 14日, 21日, 28日および35日後に, 生菌数測定および日常実施していると思われる以下の検査方法に従って接種菌の検査を実施した。なお, 調製した検査試料は測定直前まで凍結を避け4℃下で低温保存した。

(2) 大腸菌並びに大腸菌群の検査方法

いずれの検査も, 食品衛生検査指針(微生物編)および衛生試験法・注解に記載の検査方法に準拠して実施した(図1参照)。

大腸菌・大腸菌群検査: 試験菌と混合したマッシュポテト10g(または25g)をスト

マッカー用ポリ袋に秤量し、これに滅菌済み希釈液（生理食塩液）90 mL（または 225 mL）を加えてストマッカーで攪拌後、測定溶液とした。

増菌培養法は、①測定溶液 1 mL をBGLB培地に加えて35℃、48時間培養、②測定溶液 1 mL をBGLB培地に加えて35℃、48時間培養、培養液 1 mL をEC培地に加えて44.5℃、24時間培養、③測定溶液 1 mL をEC培地に加えて44.5℃、24時間培養、の3種の増菌培養法により実施し、液体培地中での試験菌の発育およびガス産生を観察した。試験菌の発育を認める場合は、さらに、確認培地（EMB 寒天培地、マッコンキー寒天培地）にそれぞれの培養液を塗抹し大腸菌・大腸菌群の特徴を示す集落形成の確認を行った。大腸菌・大腸菌群の特徴を示す発育菌の生化学的性状確認は、API20Eにより行い、大腸菌・大腸菌群を同定した。

(3) 新規改良型基材中でのサルモネラの安定性

検査は、食品衛生検査指針（微生物編）および衛生試験法・注解に記載の検査方法に準拠して実施した（図 2参照）。

サルモネラ検査：試験菌と混合したマッシュポテト 25 g をストマッカー用ポリ袋に秤量し、これに前増菌培地（EEM ブイヨンまたは緩衝ペプトン水）225 mLを加えてストマッカーにて攪拌した後、35℃で18～22時間前増菌培養を行った。培養後、菌の増殖を観察し、増菌を認める場合は培養液の一部をさらに選択増菌培地（ラバポート培地、セレナイトシスチン培地、テトラチオネート培地）に移植して35～43℃で18～22時間選択増菌を行った。菌の増殖を観察後、培養液の一部を確認培地（プリリアントグリーン寒天培地、MLCB寒天培地、XLD 寒天培地）に塗抹し37℃で

24時間培養して、サルモネラの特徴を示す集落形成の確認を行った。サルモネラの特徴を示す菌の生化学的性状確認は、API 20E により行い、サルモネラを同定した。

C. 研究結果

研究結果は、新規改良型基材について表 1～7 に、試験手順の概略は、図 1, 2 に示した。

(1) 単独菌接種によるマッシュポテト中での接種菌の安定性

単独菌接種による初期型マッシュポテト基材中での試験菌の安定性については、平成10年度研究報告書、また初期改良型マッシュポテト基材中での試験菌の安定性については、平成11年度研究報告書に示した。初期型マッシュポテト基材は、試験菌の安定性が作製から約 2週間と短く、2 週間以後は接種菌数の著大な減少が認められていた。初期改良型マッシュポテト基材では、グリセリン添加によって基材中の水分含量の減少を防止することが可能となり、接種菌数の著大な減少が防止され 3～4 週間の安定性が確保された。しかしながら、試験試料輸送中に想定される温度変化などの環境因子も考慮すると、種々条件下における試験菌の増減を抑制し、長期に安定な検査試料の検討が求められていた。新規改良型マッシュポテト基材を用いた試験結果では、基材の乾燥防止、菌の安定性（試験菌の増減抑制）に優れ、試料作製から35日保存で試験菌の減少は 1 log以下に留まっていた（表 1～3, 6）。また、新規改良型マッシュポテト基在中での室温または低温保存条件下で安定性を確認した結果、グリセリン添加基材は接種菌の減少並びに増殖抑制に優れている事が示唆された（表 1）。

(2) 菌接種によるマッシュポテトの安定性

菌接種による新規改良型マッシュポテト基材の変性を 4℃下で 5週間保存して観察した結果では、細菌によるマッシュポテトの変性は、特に認められなかった。加えて、従来のものに比べて保水性に優れ、低温保存条件下で著明な水分含量の減少を認めなかった（乾燥の抑制）。

(3) 培養条件による試験菌の発育確認

実際の検査方法に則していくつかの増菌培養条件を設定し、接種菌の検出確認を行った結果では、大腸菌、大腸菌群、サルモネラいずれの菌種においても試料作製から2週間まではどの方法（いずれの基材）でも目的の菌を回収することは可能であったが、3週間保存以後の試料については、試料の乾燥状態と生菌数に依存して、試験菌の検出が困難となり、検査対象菌が検出されない試料もあった。今回の新規改良型マッシュポテト基材中の試験菌の検出は、保存期間35日間（低温保存試料）までは試験菌の検出が可能であった（表 4, 5, 7）。しかしながら、サルモネラでは菌種によって増菌培地中での増殖および選択培地上での発育に若干の相違が認められた（表 7）。

D. 考察

食品衛生外部精度管理用調査試料のための基材の検討は、試験試料を安定に供給するために重要な課題の一つである。今回は、腸内細菌科に属する 5菌種を用いて新規改良型マッシュポテト基材中での供試菌の安定性を従来の基材と比較し、日常実施されていると思われる検査方法に従って作製試料からの検査対象菌の検出が可能であるか検討した。

外部精度管理調査に用いる細菌同定試料としては、まず試験菌が基材中で安定であり、基材に均一に分散していることが重要である。各供試菌株は保存 2週間までは、どのタイプの基材（基材-I, II, III）中でも比較的安定に生菌数が推移するため試験菌添加模擬食品調査試料としてマッシュポテトを採用することには問題がないと思われた。また、グリセリン添加（初期改良型基材）により、基材の保水性が維持され、添加菌の安定化に寄与することが示唆された。しかし、調査試料の作製、接種菌の同定確認、試料の発送、調査検査実施、という一連の流れの中では少なくとも約 5週間の安定性が必要であり、また接種菌数の変動が、各参加機関で実施されている検査方法の違いによる試験菌の検出率へ大きな影響を与えることが予想される。今回の新規改良型基材中での供試菌の安定性は、接種菌量によって多少の相違はあるものの、4℃保存下で約 5週間は接種菌数の著明な増減を認めなかった。したがって、次の課題として、細菌性食中毒に関連する多くの菌種について、どの試験菌（今回試験に用いた菌種以外）が新規改良型基材中で安定であるかさらに検討を加える必要があると考える。更に、検査対象菌の検査方法において、使用される培地中での発育や定型集落の形成が、標準菌株を用いたにも係わらず、どの状況においても食品衛生検査指針等に記載されている定型集落が安定して発現される訳ではないことから、試験菌として用いる標準菌株についても十分検討する必要があると思われる。

E. 結論

食品衛生外部精度管理調査における調査試料は、日常の食品検査を想定した食品形態の調査試料が望まれている。しかしながら、実