

平成14年度 厚生労働科学研究費補助金

(厚生労働科学特別研究事業)

中国産野菜等輸入食品中の残留物質の一斉分析法の
開発に関する研究

研究報告書

主任研究者

国立医薬品食品衛生研究所大阪支所

食品試験部長

外海泰秀

— 目 次 —

総括研究報告書

中国産野菜等輸入食品中の残留物質の一斉分析法の開発に関する研究 1

分担研究報告書

中国産野菜等輸入食品中の残留物質の一斉分析法の開発に関する研究 4

第一章

農作物中の 104 種農薬残留スクリーニング分析に関わる試験技能評価 4

第二章

イオントラップ型 GC/MS/MS による農作物中の残留農薬分析 65

第三章

英国環境食糧農業部中央科学研究所(CSL)が主催する食品中多成分農薬分析の技能評価スキーム(FAPAS[®]シリーズ 19)の実施状況及び結果の概要 85

中国産野菜等輸入食品中の残留物質の一斉分析法の開発に関する研究

主任研究者 外海泰秀 国立医薬品食品衛生研究所 大阪支所 食品試験部長

研究要旨

輸入食品中の残留農薬分析は、今後も対象項目数の拡大や検査率の上昇が見込まれることから、効率的な一斉スクリーニング体制の整備が急務である。本研究事業においては、国内で輸入食品検査を実施している試験機関の残留農薬スクリーニング技能の評価を試み、また、今後の技能評価の枠組みのあり方について検討した。さらに、妨害成分の多い食品中の農薬分析におけるGC/MS/MS法の有用性についても検討した。

分担研究者名

外海泰秀 国立医薬品所食品衛生研
究所 大阪支所
食品試験部長

超える残留農薬が検出される事例が頻発したことから、食品衛生法の大幅改正も行われ、農産物中の残留農薬の分析を実施する機関の数が今後飛躍的に増えることが予想される。従って、検査の精度を客観的に保証する仕組みの整備に、緊急に取り組む必要がある。本研究班では厚生労働省より依頼を受け、行政上重要度が高いと考えられる104種類の農薬の一斉スクリーニングについて、国内の輸入検査機関の技能を評価することを試みた。さらに、今後実施されるべき精度評価・精度管理スキームのあり方について検討した。

A. 研究目的

検疫所・検査センターにおける残留物質のモニタリング分析は、現在一斉分析法が用いられており、農薬に関して43品目、医薬品については13品目が対象となっているが、近年その使用は多様化しているため、対象項目の拡大が必要になっている。また、食品衛生法に基づく命令検査では、現在個別試験法となっているため、対象項目の拡大が必要になっている。中国産野菜等の輸入が増大し、それらから基準を

また、残留農薬試験の分析精度の向上を目的として、イオントラップ型GC/MS/MS法が従来のGC/MS法を補完

できる有用な検出法であるか否かについて検討を行った。英国の独立法人が主催する食品中多成分農薬分析の技能評価スキーム（FAPAS[®]シリーズ 19）の文献調査も行った。

B. 研究方法

被評価機関として、食品衛生法に基づく輸入食品の命令検査を受託している主な指定検査機関 6ヶ所並びに横浜及び神戸検疫所の輸入食品・検疫検査センターが参加した。試験内容は各機関の検出下限値・定量下限値、内部精度評価として 4 作物への添加回収（冷凍ほうれんそう、精米、生鮮いちご、乾燥とうもろこし）、外部精度評価として 5 作物へのブラインドスパイク試験（冷凍ほうれんそう、オイルシード、冷凍いちご、冷凍ブロッコリー、乾燥とうもろこし）等を行った。また、検出頻度が高く、基準値が低いクロルピリホスや妨害成分が多い茶抽出液中の低濃度の有機塩素系農薬（ α , β , γ , δ -BHC, DDT, DDD, アルドリン, ディルドリン, エンドリン）の検出に対する GC/MS 法と GC/MS/MS 法との定性及び定量性について比較検討を行った。FAPAS[®]シリーズ 19 の文献調査については、直近 8 ラウンド (17 ~ 24) のレポートを文献調査した。

C. 結果及び考察

GC における検出下限値に関する限り、104 項目全てを一斉分析の対象とできると考えられた。内部精度評価において添加回収率が 4 機関以上で 50% 未満であった農薬は、メタミドホス（いちご）、チオメトン（精米）、EPTC（精米、とうもろこし）、ピリミカルブ（いちご）、シメトリン（いちご）、ジクロフルアニド（いちご）の 6 項目であった。他の農薬と作物の組み合わせについては、過半数の機関で良好な結果が得られた。外部精度評価においては延べ 49 の農薬を検出対象として 5 作物について行った結果、4 機関は 98% 以上の比率で正しく検出しており、これらの機関が高いモニタリング効率を持つことが推定された。しかし、内部精度評価で得られた良好な結果が、必ずしも外部精度評価の結果と整合性があるとは言えなかった。また、GC/MS/MS 法は食品マトリックスが多く存在する農薬の同定に特に有用であることが明らかになり、感度についても GC/MS/MS 法は GC/MS 法より優れていることが判明した。2003 年度における FAPAS の技能評価では 68 化合物を対象としており、その中には我が国で食品衛生法の残留基準のあるものが 36 項目含まれている。これらのデータは我が国における農薬多成分分析の精度評価の参考にできると考えられる。

D. 結論

今回対象とした 104 項目の農薬の試験方法に関しては、研究班から示した試験法で相対的に信頼性の高い結果を出せた機関もあったが、そうでない機関もあった。独自の試験法を使用した 2 機関の結果は良好であった。試験所の多成分農薬スクリーニング技能に関しては、非常に信頼性の高い結果を出す機関もある一方で、実用的な技能を持つとは言いがたい機関もあり、技能水準にかなり開きがあることがうかがえた。イオントラップ型 GC/MS/MS は、食品中の残留農薬検査の精度向上に貢献できる有用な検出法であることが明らかになった。また、今後の継続的な技能評価方法としては、食品中多成分農薬分析の技能評価スキーム (FAPAS[®]) への参加、あるいは国内で我が国の実状に応じた外部精度管理の枠組み整備等が必要と考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

分担研究報告書

中国産野菜等輸入食品中の残留物質の一斉分析法の開発に関する研究

第一章

農作物中の104種農薬残留スクリーニング分析に関わる試験技能評価

研究要旨

国内の8検査機関の参加を得て、農作物中の104種農薬の残留スクリーニング分析に関わる試験技能評価を試みた。評価項目は、検出下限値・内部精度評価（添加回収試験）・外部精度評価とした。104項目の農薬に関して、GCの検出下限値及び添加回収率から、農作物中における一斉残留スクリーニングがまったく不可能であると考えられるものはなかった。一部の作物中で検出が難しいと考えられるものは6項目あった。ブラインドスパイク（添加量は残留基準値程度）による外部精度評価の結果、農薬の検出効率の推定値は、機関によって65%から100%までの開きがあった。また、含有されていない農薬を検出と判定した頻度は、5回の試験で15農薬の誤検出をした機関がある一方で、全く誤検出のない機関もあった。参加各機関の多成分農薬スクリーニング技能水準にはかなり開きがあることがうかがえた。今後の課題として、妨害ピークを減らしてGCの状態を悪化させないための試験溶液精製過程の追加や、データ解析の自動化等が考えられた。また、モニタリングの大規模な実施に対応できる継続的な技能評価方法としては、食品分析技能評価スキーム(FAPAS[®])への参加、あるいは国内で我が国の実状に応じた外部精度管理の枠組み整備等が有効と考えられる。

研究協力者	大滝佳代	横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター	
石光 進	国立医薬品食品衛生研究所大阪支所	塩見幸博	神戸検疫所輸入食品・検疫検査センター
津村ゆかり	国立医薬品食品衛生研究所大阪支所	平原嘉親	神戸検疫所輸入食品・検疫検査センター
吉井公彦	国立医薬品食品衛生研究所大阪支所		
宮田昌弘	横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター	A. 研究目的	近年、中国産野菜等の輸入が増大し、

また、それらから基準を超える残留農薬が検出される事例が頻発したことから、輸入農作物中の残留農薬に対する国民の関心が高まり、水際で違反食品を食い止める体制の強化が求められている。食品衛生法の大幅改正も行われ、農産物中の残留農薬の分析を実施する機関の数が今後飛躍的に増えることが予想される。従って、検査の精度を客観的に保証する仕組みの整備に、緊急に取り組む必要がある。

著者らは厚生労働省より依頼を受け、行政上重要度が高いと考えられる104種類の農薬の一斉スクリーニングについて、国内の輸入食品検査機関の技能を評価することを試みた。スクリーニング試験は、多種類の農薬を対象として試料をふるいに掛け、基準値以上の農薬が残留しているとみられる試料については、より定量精度の高い方法を用いて再試験するものである。従って、定量法というより定性法としての正確さが求められる。農薬の多成分スクリーニング試験の精度評価法は、世界的にまだ確立していないことから、著者らは、今後のモデルとなりうる評価スキームを考案して実施した。

すなわち、本研究の目的の一つは、我が国において現在輸入食品検査を担っている試験機関の多成分スクリーニングに関する技能水準を知ることであり、もう一つは、今後実施されるべき

精度評価・精度管理スキームのあり方を検討することである。

なお、参加した各機関は輸入食品中の残留農薬検査を現在受託しているが、それらは個別試験であり、スクリーニング試験はほとんど行っていない。

B. 研究方法

1. スキームへの参加者及び実施者

試験スキームは日本工業規格^{1, 2)}に準拠して作成した。

本スキームの設計及び運営は、主任研究者である国立医薬品食品衛生研究所大阪支所食品試験部長外海泰秀及び研究協力者が行った。

被評価機関として、食品衛生法に基づく輸入食品の命令検査を受託している主な指定検査機関及び検疫所の輸入食品・検疫検査センターが参加した。機関名は下記のとおりである。

横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター、神戸検疫所輸入食品・検疫検査センター、(財)食品環境検査協会、(財)千葉県薬剤師会検査センター、(財)東京顕微鏡院、(財)日本食品分析センター、(社)日本油料検定協会総合分析センター、(財)日本冷凍食品検査協会(以上8機関、指定検査機関名50音順)

標準溶液の調製・試料の調製等は、横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター及び神戸検疫所輸入食品・検疫検査

センターで、被験者とは別の職員が行った。

2. 対象農薬及び分析方法

検討対象農薬は、Table 1 に示した 119 項目の中で網掛けのものを除く 104 項目とした。

用いる試験法は、基本的に、各機関において日常的に利用している方法とした。現状で本スキームで対象とする農薬群を一斉分析する SOP を持たない機関は、将来そのような日常業務の必要が生じた場合に用いると考えられる方法を考案して用いることとした。研究班としては、Scheme 1 の試験法を提案した。各機関は、この試験法をそのまま、あるいは一部修正して用いることもできることとした。

Scheme 1 の試験法の並行再現性及び室内再現性を評価するため、横浜検疫所及び神戸検疫所で、それぞれさといも及び精米を試料として 5 試行ずつ 5 日間の添加回収試験（15 農薬添加）を行った。

3. 精度評価試験内容

① 検出下限値・定量下限値

各機関で農作物中 0.005 ppm 相当の濃度の標準溶液を GC に注入し、 $S/N > 3$ でピークを検出できるか確認した。この濃度で検出できない農薬については、段階的に高い濃度の溶液を注入して、最初にピークを確認できる濃度を検出下限値として報告した。スクリーニン

グ試験であることから、定量下限値は設けなかった。

② 添加回収（内部精度評価）

各機関において、添加回収試験を行った。検討作物は下記の 4 作物とした。

果実・野菜：冷凍ほうれんそう、生鮮いちご

穀類：精米、乾燥とうもろこし

添加回収用の作物は各試験機関で購入した。原産国のわかるものを使用し報告した。添加濃度は全農薬について 0.2 ppm とした。各試料とも、十分な量をホモジナイズした後に 20g（果実・野菜）または 10g（穀類）を採取し、それぞれに標準混合溶液（7 種）を添加した。試行数は 3 回とした。

③ 外部精度評価

(1) 農薬を添加した試料

評価用試料として下記の農作物を用いた。

一次分：冷凍ほうれんそう

二次分：冷凍いちご、冷凍ブロッコリー、乾燥とうもろこし

いちご及びブロッコリーは横浜検疫所センターにて、またほうれんそう及びとうもろこしは神戸検疫所センターにて、被験者とは別の職員がそれぞれ調製を行った。添加農薬の種類及び濃度を被験者が知ることのないよう留意した。冷凍品は解凍して磨砕均一化、乾燥とうもろこしは粉碎し、20g（とうもろこしは 10g）ずつを容器に

小分けして、そこへ農薬標準溶液を添加した。

添加農薬及び添加量は、対象農薬の中から下記のとおり選んだ。

一次分：ほうれんそう中の基準値がある農薬の中から、GC-FPD, NPD, ECD で検出されるものが偏らないように適宜 10 種を選んだ。添加濃度は残留基準値の 1.2 倍とした。（参加機関に対して、添加農薬数は 5 ～ 20 種と予告。）

二次分：基準値の有無とは無関係に、完全に無作為に 10 ～ 14 農薬を選んだ。

添加量は基準値の 1 倍、1.5 倍、2 倍から無作為に選んだ。ただしクロロピリホスメチルは基準値がないので、登録保留基準（野菜）の値を採用した。「不検出」が基準値のものの添加量は、0.01 ppm の 1 倍、1.5 倍、2 倍のいずれかから無作為に選んだ。基準値が無いものは、0.1ppm の 1 倍、1.5 倍、2 倍のいずれから無作為に選んだ。

試料は、同じものを 3 本ずつ配布し、各機関で 3 試行の試験を行った。

(2) 農薬残留試料

農薬が残留していることを確認したオイルシード（フランス産なたね）を配布した。10 g ずつ 3 本の容器に入れたものを各機関に配布し、それぞれ 3 試行の試験を行った。

4. 試験品の配布及びデータ提出方法

調製後の試験品は、各機関へ宅配便

（冷凍温度）で送付した。

(1) 標準品混合溶液

神戸検疫所において、検出器別に保持時間が接近しすぎない組み合わせで 7 種類の混合標準溶液を作製し、このうち 6 種類を各機関へ配布した。これらは 10 μ g/mL のアセトン溶液とし、各機関で適宜希釈して用いた。ただし α -CVP 及び β -CVP は 100 μ g/mL の溶液を配布し、各機関で混合した。化審法物質を含む E-1 混合溶液は、各機関において調製した。混合溶液の組み合わせは Table 1 に示した。

(2) 外部精度評価用試料

各試料は、凍結した状態で送付した。各機関は試験時まで凍結保存し、試験直前に解凍し、試料を試験用のホモジナイザーカップ等に移した後に送付用の容器を最初の抽出溶媒で洗い込んだ。なお、添加農薬の中には化審法物質が含まれていることから、試験終了後に外部精度評価の試験溶液を各検疫所に返送した。

(3) 試験データの提出方法

研究班より、Excel のフォーマットのファイルを配布した。これに各機関がデータを記入して、電子メールにより提出した。

5. 実施経過

2002 年 11 月上旬：神戸検疫所から標準品の混合溶液（予備検討用 113 項目 9 本）及び GC データを配布し、各

機関で GC 条件を確定した。研究班として分析法の一例を配布した。

2002 年 11 月 25 日：試験スキームを説明する会議を開催。

2002 年 11 月末：外部精度評価試験用試料（一次分）及び標準品混合溶液（定量用）を配布した。

2002 年 12 月 25 日：一次分データ提出締め切り。

2003 年 1 月 10 日：外部精度評価試験用試料（二次分）を配布。

2003 年 1 月 31 日：二次分データ提出締め切り。

6. 用いられた統計解析の概要

① 検出下限値

各農薬について、対象機関全体における検出下限値の最高値、最低値、中央値を算出した。各農薬について、食品衛生法の基準値及び検出下限値を満たした機関の数を算出した。

② 添加回収（内部精度評価）

各農薬ごとに、4 作物への添加回収率平均値（3 試行）について、対象機関における最高値、最低値、中央値、平均値を算出した。各農薬・農作物について、50%以上の回収率（平均）が得られなかった機関の数を算出した。

外れ値：200%以上の回収率は 200%として平均値を算出した。

③ 外部精度評価

(1) 検出効率

調製者が添加した農薬（農薬残留試

料については、公定法で検出された農薬）のうち、何種類を正しく検出したかを機関ごとにカウントし、すべての農薬の検出の難易度が同程度であると仮定の下に、各機関の検出効率の 95%信頼区間を求めた。

(2) 誤検出の頻度

添加されていない農薬（または公定法で検出されなかった農薬）を検出と報告した数を機関ごとにカウントした。

(3) 付与された値との比較による定量値の精度

農薬が添加された試料については、調製者が添加した農薬の濃度を付与された値とした。農薬が含有されている試料については、公定法で得られた値を付与された値とした。各農薬の定量値について、付与された値の 50%より大きく 200%未満の値の数をカウントし、定量値の中でのそのような値の比率を計算した。

(4) z 値による評価（参考）

各機関の定量値の中から、添加量の 10 倍以上または 10 分の 1 以下の値を外れ値として除外して平均値を計算し、これを z 値算出のための「付与された値」とした。下記の Horwitz の式に従って、ターゲット標準偏差 σ_p を求めた。

濃度 0.12ppm 未満の農薬について

$$\sigma_p = 0.22c/mr$$

濃度 0.12ppm 以上の農薬について

$$\sigma_p = 0.02c^{0.8495}/mr$$

ただし

c：付与された値．次元のない質量比で表したもの．

mr：次元のない質量比．

そして、定量値から付与された値を差し引き、 σ_p で割ったものをz値とした．各農薬の定量値について、z値の絶対値が2以下のものの数をカウントし、定量値の中でのそのような値の比率を計算した．

7. 機密の保持

各データと各試験機関との対応関係は、将来にわたって機密とする．情報を持つ範囲は、国立医薬品食品衛生研究所大阪支所食品試験部・厚生労働省医薬局食品保健部・横浜検疫所・神戸検疫所の担当職員のみとする．

8. 倫理的配慮

JIS Q0043-1「試験所間比較による技能試験 第一部：技能試験スキームの開発及び運営」中の7.2に記載されている下記の内容を遵守することとした．「技能試験スキームが第一に意図するのは参加者の実績向上を支援することであるが、ある参加者たちが自らの能力について偽の楽観的印象を与えようとする傾向がみられることがある．例えば、試験所間で結果について談合することがあり、そのため真に独立したデータが提出されないことになる．また、ある試験所が日常は1回の操作で

分析を行っているのに、技能試験品目に対しては反復測定の平均値を報告したり、スキームで規定された回数よりも多い反復測定を行ったとすれば、その試験所は自らの実績について偽の印象を与えることになる．実行できるなら、技能試験スキームは結果の談合及び変造の最小化を確保するように設計することが望ましい．

調整者は、談合を予防するすべての妥当な方策をとるのが望ましいが、談合を避ける責任は参加試験所にあることを認識すべきである．」

C. 研究結果及び考察

1. 対象農薬の選定及び試験法検討

行政側からモニタリング対象農薬として検討を要請されたのはTable 1の119項目であったが、この中でガスクロマトグラフィー(GC)での測定が適さない6項目、すなわちホキシム、トリクロルホン、キノメチオネート、ベンフレセート、アルジカルブ、ジフェノコナゾールは除外して検討を開始した．また、試験法の予備検討段階で回収率が低かった9項目、すなわちアセフェート、エチオフェンカルブ、オキサミル、カルバリル、ピレトリン、カルプロパミド、アセタミプリド、トリシクラゾール、プロクロラズも検討対象から除外した．これによって104項目を検討対象とすることになった．

試験法としては、研究班からは Scheme 1 の方法を提示した。この試験法は、対象農薬のうち約 40 項目について横浜検疫所・神戸検疫所でのモニタリング検査に類似の方法が用いられてきた実績があった。しかし、その他の農薬については検討が不十分であり、また、頑強性のデータも無かった。そこで、15 種の農薬について、添加回収試験により並行再現性と室内（日間）再現性を求めた。その結果を Table 2 に示した。さといもでの添加回収率は 84.5 ~ 108.3%，併行再現性は 2.3 ~ 10.7%，日間再現性は 3.7 ~ 28.0% であった。トラロメトリン (ECD)，ジエトフェンカルブ (NPD)，フェントエート (FPD) で変動が大きかった。精米での添加回収率は 43.2 ~ 81.2%，併行再現性は 4.6 ~ 20.1%，日間再現性は 10.8 ~ 83.6% であった。ジメチルピノホス (FPD)，ジフルフェニカン (NPD)，シハロホップブチル (NPD)，エンドリン (ECD) で変動が大きかった。

添加量は 0.2ppm としたが、Horwitz の式からこの濃度でのターゲット標準偏差を求めると 0.041ppm (20%) である。さといもの場合にはこれよりかなり良好な再現性が得られた農薬が多かったが、精米の場合は再現性が低いと考えられた。また、平均回収率も精米の方が低い傾向があった。

Scheme 1 の試験法を一部修正して用

いた機関 (F 及び G) の試験法を Scheme 2 及び 3 に示した。

2. 検出下限値 (LOD)

検討対象とした 104 項目を GC で一斉に分析するためには、これらの農薬が十分な感度で検出できることが必要条件である。そこで、各参加機関が標準溶液を用いて各農薬の LOD を求めた。その結果を Table 3 に示した。

これらの LOD が実用的に十分低いか否かは、第一には食品衛生法で定められている残留基準値との関係で決まる。さらに、食品衛生法の LOD も満たせば理想的である。(基準が「不検出」の農作物に関しては、この値が基準値となる。) その条件を満たす機関の数、及び各機関の LOD の最低値・最高値・中央値を一覧にして Table 4 に示した。

3 機関以上で基準値程度の LOD を達成できなかった農薬はなかった。2 機関で達成できなかったのは、エトプロホス (最も低い残留基準 0.005 ppm)，シプロコナゾール (同 0.01ppm)，テルブホス (同 0.005 ppm)，フルジオキシニル (同 0.02 ppm) の 4 種であった。これらについては、GC の能力の限界に近いところでの定量になっていると考えられる。従って、試験の運用に際しては LOD の把握に特に注意すべきである。

一方、食品衛生法で定める LOD を

達成できなかったケースは多数あった。食品衛生法では、各農薬に最適な試験法による LOD を想定しており、一斉試験でこれを達成できないのはむしろ当然である。しかし、食品衛生法の LOD が問題となる「不検出」基準の農薬に関しては、この LOD を達成できないケースはほとんどなかった。

上記の検討から、GC における LOD に関する限り 104 項目すべてを一斉分析の対象とできると考えられた。

3. 内部精度評価（添加回収）

各機関における添加回収試験の結果を Table 5-1 ～ 5-8 に示した。各農薬の添加回収率の最低値、最高値、中央値、平均値を農作物ごとに Table 6-1 ～ 6-4 に示した。添加回収率が 4 機関以上で 50 % 未満であった農薬は、メタミドホス（いちご）、チオメトン（精米）、EPTC（精米、乾燥とうもろこし）、ピリミカルブ（いちご）、シメトリン（いちご）、ジクロフルアニド（いちご、乾燥とうもろこし）の 6 項目であった。これらについては、一斉スクリーニングの対象とするのは不適当な可能性がある。他の農薬と作物の組み合わせについては、過半数の機関で 50% 以上の回収率が得られた。

4. 外部精度評価

外部精度評価の結果を Table 7-1 ～ 7-5 に示した。添加した農薬の種類及び濃度、各機関から提出されたデータ

を一覧にしてある。いずれの試験品においても、検出漏れや誤検出が見られたが、非常に正確な試験結果を出した機関もあった。

なお、内部精度評価でジコホールを測定不能としていた機関 G が、外部精度評価ではとうもろこし中のジコホールを良い精度で定量している。これは、内部精度評価で用いた標準混合溶液ではジコホールの感度が悪かった上、アルドリンのピークが分離できなかったためである。外部精度評価においては GC のカラムを別のものにしたために定量が可能になった。

①含有されていた農薬を正しく検出した比率

モニタリング検査の精度評価においては、「基準値以上の農薬が残留していた場合に漏れなく検出できる確率」が最も重要と考えられるが、このような評価手法は世界的に未確立である。なぜなら、残留農薬の検出の難易度は、個別の農薬の性質、試料の性質、残留濃度等によって異なり、一律に扱うことができないからである。

しかしながら、食品衛生上の要請から、モニタリングの実施は既定方針となっており、このような精度評価にも対応して行かざるを得ない。従って今回は、「すべての試料中のすべての農薬の検出の難易度は同程度である」という仮定の下に、以下の解析を試みた。

添加濃度は残留基準値付近である。

5回の外部精度評価試料の試験結果から、添加された農薬を各機関が正しく検出した比率を Table 8 にまとめた。このような試験を極めて多数回行えば、「漏れなく農薬を検出できる確率に関する、より精度の高い不偏推定値」が得られるはずである。本研究事業においては延べ49の農薬を検出対象とした。総合成績で見れば、C、F、G、Hの4機関は98%以上の比率で正しく検出しており、これらの機関が高いモニタリング効率を持つことが推定された。

母比率の信頼区間³⁾で示せば、機関Fが正しく農薬を検出する確率は93～100%であると5%の危険率で言える。同様に、機関C、G、Hの同確率は89～99.6%の範囲である。一方、検出効率の低かった機関A及びDの場合は、同確率は51～77%の範囲にある。

別の方法で記述すれば、非常に多数回の試験で90%の検出効率を示す機関を仮定した場合、この機関がFのように49農薬すべてを正しく検出する確率は0.6%に過ぎない。同様に、95%の検出効率であっても、8.1%でしかない。99%の場合は、61%の確率でこのような成績が出せる。

多数の農薬を添加したブラインド試験を繰り返すほど信頼区間は狭くなり、

不偏推定値の信頼性は高くなるが、その実施にはコストがかかる。また、同時に添加する農薬を多数にすると、GCの保持時間が近接した農薬が含まれる確率が高まり、検出の障害になる可能性もある。Fig.1に、機関ごとの検出効率をグラフで示した。検出効率は試料の種類や試験実施時期に依存するというよりは、機関に固有のものであることが読みとれる。そうであるとすれば、もっと少ない農薬数・試料数での結果から試験所の技能を評価することも正当化される可能性がある。

②含有されていない農薬を誤って検出と報告した頻度

Table 9 及び Fig.2 には、添加されていない農薬を誤って検出と報告した数をまとめた。目立って誤検出が多かったのは機関Aであり、次いでB及びHであった。機関C及びFは誤検出が無かった。

機関Aは農薬を正しく検出した比率も低かったことから、当該試験法に関して何らかのシステミックな問題がある可能性が高い。機関Hは検出効率が高かった試験所であるが、誤検出の多さから、「疑わしい場合は検出と判定しておく」という姿勢がうかがわれる。

誤検出は公定法による再試験のコストを生み、また、モニタリング結果によって食品の流通差し止めが行われる

場合には業者に損害を与える。試験所の技能評価を行う際には、誤検出の頻度に関しても何らかの目標値が必要と考えられる。

③ 定量値の信頼性

本研究事業はモニタリング検査の精度を確保することを目的としており、定量値の信頼性は厳格に要求されるわけではない。しかしながら、試験結果が定量値として示される以上、その値にどの程度の信頼性があるか把握しておくことは重要である。

そこで、定量値の信頼性も評価した。評価手法としては、付与された値との比較による方法、及び国際的に標準的な z 値を用いる方法の2とおりで行った。

(1) 付与された値との比較による方法

残留農薬の多成分一斉分析をモニタリングの目的で使用する際には、「基準値の50～70%以上が検出された場合は公定法による再検査」との指針で運用される場合が多い。「50%」が採用される場合を考えると、当該試験法によるデータの真値との比が50%以上であるか否かは実質的な意味を持つ。真値の50%未満の結果を与える試験法では、基準値以上が残留している検体を見逃す可能性があるからである。

一方、過大な定量値をどこまで許容するかについては150%、200%等の

異なる解釈があるが、本報告では便宜的に200%を用いた。

外部精度評価の全データについて、付与された値との比をTable 10に示した。乾燥とうもろこし中のメプロニルとレナシルは、全機関が200%を超える結果を出した。これは何らかの系統的原因によるものか、あるいはもとの試料にこれらの農薬が含まれていたと考えられる。この2農薬の数値は除いて、各定量値が付与された値との比で50%～200%の範囲内にあるか否かをカウントした結果をTable 11にまとめた。この評価法に従えば、機関F、Eの定量値は相対的に精度が高く、機関H、Aの定量値は精度が低かったと言える。特に機関Fは検出効率が100%であった上、定量値も98%が「付与された値」の50～200%内に入っており、一斉試験法を用いながら非常に高い定量精度を実現していると考えられる。

(2) z 値を用いる方法（参考）

英国 CSL が主催する技能評価プログラム FAPAS[®] では、 z 値算出の根拠として Horwitz の式に基づくターゲット標準偏差 (σ_p) が用いられている。本研究事業でも、 σ_p を用いる解析を行うこととした。

付与された値としては外れ値を除いた全データの平均値を採用するのが通常の方法である。例え人為的に添加し

た分析対象物質であっても、「添加濃度」ではなく「提出された定量値の平均値」が採用される。本研究事業の場合、定量値の平均と添加量のどちらが真値に近いかは判断し難かったが、 z 値の算出に関しては、通常の手法に従い、外れ値を除いた平均値を付与された値として用いた。

外部精度評価の全データの平均値、標準偏差、ターゲット標準偏差、 z 値を Table 12 に示した。標準偏差はターゲット標準偏差と同程度から 2 倍程度のものであったが、乖離が大きかった（3 倍以上）のは、冷凍ほうれんそう中のシベルメトリン・チオベンカルブ、冷凍いちご中のメフェナセット、冷凍ブロッコリー中の o,p' -DDT・ディルドリン・メチオカルブ、乾燥とうもろこし中のジコホール・フェンバレレートであった。これらについては、機関全体として定量値が大きくばらついたと言える。

また、個別の z 値の評価として FAPAS[®] では絶対値 2 以下を「満足」2 を超えたものを「不満足」としている。この基準でカウントした結果を Table 11 の下段に示した。この評価法に従えば、機関 E、G の定量値は相対的に精度が高く、機関 H、C の定量値は精度が低かったと言える。

z 値を用いる評価と付与された値との比による評価との相関は $r=0.599$ で

あり、ある程度の相関があると考えられた。どちらの評価法によっても、機関 E の定量精度は相対的に高く、機関 H の定量精度は低いと考えられた。

（機関 E は検出効率に関しては不偏推定値 88 % であり良好とは言えなかったが、この解析結果は検出した農薬の定量値に限ったものであることに注意。）

ただし、 z 値による評価はわずか 8 機関のデータでは信頼性が低く、平均値から付与された値を算出することにも相当問題があると考えられるため、あくまで参考値である。

④ 試料調製機関の問題

外部精度評価試料の調製は、被検機関である横浜検疫所と神戸検疫所の検査センターの職員が実施した。被験者とは別の職員が担当し、添加農薬の種類や濃度は機密とされたが、本来は主任研究者の所属機関で実施すべきであった。このような変則的な実施法となった理由は、当初、本スキームは内部精度評価を中心に設計され、外部精度評価は付随的に一次分のみ実施する予定であったこと、及び行政側から要請された研究期限が短く、主任研究者の機関では技術的な対応が間に合わないと考えられたからであった。しかし、一次分の外部精度評価データが予想外に深刻な内容であったため、途中でスキームを外部精度評価中心に変更した。

試料調製者の選択における不備は、本研究データの制約として認識しておく必要がある。

5. 内部精度評価と外部精度評価の関係

これまで、厚生労働省が告示・通知した農作物中残留農薬の公定試験法・迅速分析法・GLP基準等では、「添加回収率」による評価が最重要視されてきた。しかし、Horwitzら⁴⁾は、FAPAS[®]シリーズ 19 ラウンド 01～05（1997年7月～1999年1月）のデータの集計結果として、分析者みずから行う添加回収試験の値と外部で添加された農薬の試験結果との間には、「驚くことに何の相関関係もなかった」と記している。相関係数は+1になるべきところ、18のデータセットで-0.5～+0.7に分布しており、平均は+0.1であった。回帰直線は45度になるべきところ、内部精度評価の添加回収率100%付近の水平な線になった。その理由としてHorwitzらは「既知の添加量での試験の場合、多くの分析者が（意識的か無意識的かはともかく）自分の結果を加算または減算して100%に近づくように手を加えたことを示している」と推定している。

本研究事業においても、内部精度評価で得られた良好な結果が必ずしも外部精度評価の結果と整合性があるとは言えなかった。そこで、Horwitzらと

同様の解析を試みた。

内部精度評価と外部精度評価で同じ農作物を用いたのは、ほうれんそう、いちご、乾燥とうもろこしである。

（ただし、いちごは冷凍と生鮮の違いがある。）この中で、添加濃度の差が2倍以内かつ6機関以上が定量値を出した13通りの組み合わせについて解析した。（とうもろこし中のメプロニルとレナシルのデータは除いた。）なお、Horwitzは添加量未知試料で「不検出」のデータも回収率ゼロとして解析に加えていることから、本報告でもそれに従ったが、参考値として不検出データを除いた解析も行った。13のデータセット中7セットに不検出のデータが含まれていた。

相関係数の一覧をTable 13に、散布図をFig. 3に示した。相関係数は-0.2～0.78に分布し、Horwitzらの結果ほど完全に相関がないとは言い切れないが、相関係数の平均値は0.15と似通った値になった。いちご中のフルトラニルと乾燥とうもろこし中のEPTCについては、相関係数が0.7を超えており、添加回収試験が外部精度評価の結果を反映すると考えることもできた。しかし、やはり全体としては添加回収試験のデータを定量値の真度の指標にすることには問題があると結論せざるをえない結果である。

「分析者が自分の結果を加算または

減算して 100%に近づくように手を加える」原因としては、次のようなことが考えられる。結果が 100%から大きくはずれた場合、分析者はクロマトグラムを再度吟味することによって、妨害ピークの測り込みや、自動処理によるベースラインの不適切な引き方を発見して手直しし、より 100%に近い値を得ようとする。外部精度評価においてはこのようなフィードバックが行われないため、100%からはずれた値になりやすいものと考えられる。バイアスを排除した精度評価を行うためにも、外部精度評価は重要であると言える。

6. 自己点検結果

外部精度評価で誤った結果を出した機関（機関 F 以外の 7 機関）が、結果を受け取った後に自己点検して提出した報告を Report 1～7 に示した。

(1) 検出漏れの原因

含有されていた農薬を検出できなかった原因としては、個別検出器の GC と GC/MS の結果が一致しなかったためという理由が最も多かった。低濃度の農薬について、個別検出器では検出されたが GC/MS では検出下限値以下で確認できなかった例が多かった。

GC の保持時間が変動したため、検出漏れになった例もあった。これは標準溶液を頻繁に注入すれば防止できると考えられる。GC でピークが出ていたが、検出下限値以下の濃度だったた

め報告しなかった例があった。これは定量精度の問題でもある。

提案された試験法は、ミニカラムからの溶出画分を 2 つに分ける方法であるが、ある農薬が溶出する画分が、試験ごとに変動する場合がある。添加回収試験とは別の画分に溶出したため検出漏れとなった例があった。

添加されていた農薬を通知された後にクロマトグラムを見直したらピークがあった例が多い。一方、見直しても全くピークが無く原因がわからないという点検結果もあった。再注入したらピークが出たとの報告もあった。

(2) 誤検出の原因

含有されていない農薬を誤って検出と報告した理由として、個別検出器で妨害ピークの保持時間が標準品のそれと一致し、GC/MS (SIM) でイオンピークの強度比も一致したためとの理由が多かった。SCAN データを取得できればこのような誤検出は無かったと考えられる。提出期限に間に合わなかったため、GC/MS による確認をせず個別検出器付き GC の保持時間だけで報告した例もあった。

(3) 定量値が付与された値と大きく異なった原因

ブロッコリーは GC-FTD, NPD で多数の妨害ピークを与える。これらの妨害ピークを測り込んだことによって定量値が過大になったと考えられた。ま

た、GCのインサート等の汚れにより定量値が変動したとの報告もあった。

(4) 全般的な問題

提案された試験法では試験溶液の精製が十分とは言えず、GCのインサートやカラム入り口部分を汚染して定量や定性に問題を生じるとの意見が多かった。精製工程をもっと増やすべきであると考察した機関がいくつかあった。一方で、精製工程の増加は試験時間を長くしコスト上昇にもつながるため、GC/MS/MSによる確認を指向してはどうかとの意見もあった。

機関Fは非常に精度の高い結果を出したが、その試験法(Scheme 2)は精製工程がかなり複雑で、大量検体に対応する場合には他機関よりコスト面で不利になる可能性がある。

また、「今回のスキームは結果提出までの期間が短すぎた」との意見もあった。各機関とも通常業務をこなしながらスキームに参加しており、人員の面でも機器の面でも制約があった。そのため、時間切れでGC/MSによる確認ができず保持時間のみで報告して誤検出になる例や、確認用のGC/MSデータで定量も行わざるを得なかった例もあった。しかし、一般に精度評価においては期限内に試験結果を提出すること自体も重要な要件である。今回のスキームでは、全機関が期限内に提出した。

さらに「対象農薬が多すぎる」との意見が非公式に寄せられた。たしかに104項目という数は前例のない精度評価スキームである。(FAPAS[®] 2003年度は68化合物)。しかし、食品衛生行政上の要請に基づいて決定された試験項目である以上、対応していく必要がある。試料抽出やデータ解析過程をできる限り自動化する等の対応が考えられる。

「検出していたが報告ミス」との自己点検結果もあった。これは試験技術の問題ではないが、基本的に重要なことであり、注意する必要がある。

7. 今後の技能評価法のあり方

近い将来、農作物中の残留農薬多成分スクリーニングがより大規模に実施されると考えられるが、その際には技能評価の枠組みも整備されなければならない。今回の研究によって、添加回収試験を主とした技能評価には限界があることが示された。ブラインドスパイク試験による外部精度評価は欠くことができない。そのような試験として、FAPAS[®]が行われている。これについては第3章で文献調査の結果を示した。FAPAS[®]は定量精度の評価が主目的のプログラムであり、1ラウンドで添加される農薬数は2～4種程度である。従ってスクリーニング技能の評価に最適とは言えないが、現段階では各機関がFAPAS[®]へ参加することは現実的な

技能評価法である。また、国内機関が我が国の実状に応じた新たな外部精度管理の枠組み整備を進めることも有効と考えられる。

D. 結論

今回対象とした104項目の農薬に関して、農作物中における一斉残留スクリーニングがまったく不可能であると考えられるものはなかった。一部の作物中で検出が難しいと考えられるものは6項目あった。

試験方法については、研究班から示した試験法で相対的に信頼性の高い結果を出せた機関もあったが、そうでない機関もあった。独自の試験法を使用した2機関(F, G)の結果は良好であった。この結果から、研究班の示した試験法に改良の余地があると推定することもできるが、独自の試験法を工夫できる機関は他の機関よりスクリーニング試験に熟練しているために結果が良好であったと考えることもできる。試験法の厳密な評価のためには、その目的に特化したスキームを組む必要がある。(本研究事業は、試験法の評価ではなく試験所の技能評価が目的であった。)

参加各機関の多成分農薬スクリーニング技能に関しては、非常に信頼性の高い結果を出す機関もある一方で、実用的な技能を持つとは言いがたい機関

もあり、技能水準にかなり開きがあることがうかがえた。

自己点検の結果、妨害ピークを減らしてGCの状態を悪化させないための試験溶液精製法の追加や、データ解析の自動化等が今後の課題と考えられた。また、今後の継続的な技能評価方法としては、FAPAS[®]への参加、あるいは国内で我が国の実状に応じた外部精度管理の枠組み整備等が有効と考えられる。

なお、設備、人員等の体制が不十分なために良好な結果が得られなかったと考えられる参加機関においては、本研究報告書も資料として活用し、改善に向けた努力が行われることが望まれる。

E. 謝辞

研究に御協力いただいた参加各機関の関係者各位に深謝いたします。

F. 参考文献

- 1) JIS Q0043-1「試験所間比較による技能試験 第一部：技能試験スキームの開発及び運営」
- 2) JIS Q0043-2「試験所間比較による技能試験 第二部：技能試験スキームの選定及び利用」
- 3) 母比率の信頼区間をオンラインで簡単に求められるサイト：新潟大学医学部保健学基礎看護学講座高木廣文教