

2004 01141 A

厚生労働科学研究費補助金

食品の安全性高度化推進研究事業
食品中の残留農薬、汚染物質の摂取量等に関する研究

平成 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者

財団法人残留農薬研究所 化学部 加藤保博

平成 17 年 (2005 年) 3 月

目次

I. 総括研究報告	
食品中の残留農薬, 汚染物質の摂取量等に関する研究	1
加藤保博	
II. 分担研究報告	
1.1 食品中の残留農薬の摂取量等に関する研究: 暴露量精密化係数の測定	8
加藤保博	
1.2 食品中の残留農薬の摂取量等に関する研究: 畜産水産食品中残留農薬暴露評価 ...	181
加藤保博	
2. 食品からのCd暴露と健康影響に関する研究	200
堀口兵剛	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	209
IV. 研究成果の刊行物・別刷	210

1. 総括研究報告書

食品中の残留農薬，汚染物質の摂取量等に関する研究

主任研究者 加藤保博

(財団法人残留農薬研究所)

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全性高度化推進研究事業)
総括研究報告書

食品中の残留農薬、汚染物質の摂取量等に関する研究
主任研究者 加藤保博 財団法人残留農薬研究所 化学部長

研究要旨

残留農薬の残留基準の設定とより精緻な暴露量評価に資するため、農産物の加工調理に伴う残留農薬の量的変化(1-1)と、各国における畜産・水産食品中の残留基準の設定方法、暴露量評価法に関する研究(1-2)を行った。また、カドミウム(Cd)のリスク評価と管理に資するため、農村女性集団における食品からのCd暴露量と健康影響に関する研究(2)を行った。

1-1 食品中の残留農薬の摂取量等に関する研究:農作物中残留農薬の暴露量精密化係数の測定: 水稻, 小麦, 大豆に適用があり, この3品目からの国際基準または厚生労働省暫定基準(案)に基づく理論的最大1日摂取量(TMDI)がADIを超えており, 特に精密な暴露量評価が必要になると推測される農薬のうち, 今年度は, ジメトエート, メチルパラチオン, フェニトロチオン, カルバリル(水稻のみ), ジクワット, および参考にパラコート(大豆のみ)を選び, 米国で水稻, 小麦, 大豆を栽培し, 日本, 米国, または豪州の登録使用条件を参考にして2種濃度で農薬処理した。この際, ジクワットとパラコートは除草剤としてではなく, 収穫前乾燥剤として使用した。ジクワットとパラコート, およびその他4剤の各同時定量法を開発し, 粳米または玄米の精白化と炊飯, 小麦の製粉と製パン・製麺, 大豆の豆乳化と豆腐製造の各加工品への残留農薬の移行率と加工係数を測定した。暫定基準値相当の3種有機リン剤とジクワットならびにカルバリルを含んだ米, 小麦, 大豆の3品目からのTMDI(1~6歳小児)はADI(JMPR)のそれぞれ, 4~11倍, 8.5倍, および4.3倍であったが, 登録使用条件に基づく実際の残留濃度と白米, 小麦粉, 豆腐への加工により, 3種有機リン剤のそれらからの1日摂取量はいずれもADIの6~10%, ジクワットが約20%, およびカルバリルが約30%(小麦と大豆は以前に調査したデータから評価)にそれぞれなると算定された。同時に調査したパラコートは大豆加工でジクワットとほぼ同様な挙動を示した。

1-2 食品中の残留農薬の摂取量等に関する研究:畜産水産食品中残留農薬の暴露量評価法: 畜産・水産食品中の残留農薬に関して厚生労働省の暫定基準(第2次案)が提案されている約220種の農薬について, 畜産品からのTMDIを試算するとともに, ADIが分かったもの約160種についてADIに占めるその割合を試算した。30種の農薬は畜産品からのTMDIのみでADIの50%を超えており, 優先してより詳細な暴露量評価が必要と位置付けられた。しかし, このTMDI算定値は実態調査に基づく暴露量とは大きく乖離していた。より精密な暴露量算定法として国際機関, 米国等での畜産品への残留基準設定手順を基にした方法, すなわち, 理論的食餌由来最大負荷量ではなく, 当該農薬をGAP最大残留条件で処理した餌中濃度の中央値(または平均値)に相当する残留農薬を含んだ餌を摂取した際の家畜組織中濃度

中央値（または平均値）を組織中残留濃度として使用し、これに肉中の筋肉と脂肪の割合を加味し、更に牛と豚で基準値に大きな差がある場合には牛と豚別とした畜産食品摂取量データを使って暴露量を算定する方法を提示した。

2. 食品からのカドミウム暴露と健康影響に関する研究：昨年度と同じF地域において、198名の農家女性受診者を得て現地調査を行った。被験者の血中および尿中のCdを測定して、暴露レベルを調査するとともに、尿中α1-およびβ2-ミクログロブリンの測定等により腎機能への影響等、健康影響を検討した。前年度と比較して尿中Cdの分布は余り異ならないが、血中Cd濃度は低いことから、過去の暴露は同程度であるが、近年は暴露が低下している可能性があると考えられた。腎機能への影響はF地域でもほとんど見られないと考えられた。

分担研究者

加藤保博 財団法人残留農薬研究所
化学部長

堀口兵剛 自治医科大学地域医療学センタ
ー環境医学部門助教授

葉の暴露評価について、国際機関および主要国における基準値設定状況等を調査し、より精密な暴露量の評価法と今後整備等すべき情報等を整理する。

分担研究2では、食品を経由したカドミウム(Cd)暴露について、第55回及び第61回FAO/WHO 合同食品添加物専門家会合でCdの暫定週間耐用摂取量(PTWI)は7μg/kg体重を維持することとなったことに鑑み、PTWIを超えるCd暴露を受けている被験者が含まれる集団で腎機能障害などの健康影響を調査し、より正確な摂取許容量算定に有用なデータを得ることを目的とした。

A. 研究目的

農産食品への残留農薬基準を設定するに当たり、日本型推定1日摂取量方式による暴露量評価を行う際に、一部の農薬については実際の残留量を考慮した暴露量評価のほかに非可食部の除去ならびに加工調理に伴う残留濃度の消長等の要因までを考慮することが必要となる。また、ポジティブリスト制度の導入に伴い、基準設定の対象が畜産水産食品にも拡大され、国際基準等を参考に残留基準を設定することが必要となる。

そこで、分担研究1-1では、残留農薬基準が未設定または見直しが計画されている農薬のうち、理論的1日最大摂取量(TMDI)による暴露量がADIを特に大きく超えるもの数種を選び、その主要な農産物について加工調理係数、可食部係数等のデータを収集・解析して、より精密な暴露量評価を可能にすることを目的とした。

分担研究1-2では、畜産水産食品中の残留農

B. 研究方法

分担研究1-1

日本人の摂取量の多い米、小麦、大豆に適用があり、この3品目からのTMDIだけでADIを大きく超える農薬として、今年度はジメトエート、メチルパラチオン、フェニトロチオン、カルバリル、およびジクワットを調査対象農薬としたほか、参考にパラコート(大豆のみ)を調査した。これらの製剤を米国の3つの州の計5箇所(ジャポニカ種;1圃場)、小麦(春小麦;2圃場)、大豆(在来種;2圃場)に散布し、籾米、小

麦，大豆を収穫した。製剤にはジクワットとパラコートは水溶剤，ジメトエートとメチルパラチオン，フェニトロチオンは乳剤，カルバリルはフロアブル剤を用い，次に述べる登録使用条件内で最大残留量を与える条件（最大施用量，最大散布回数，最短収穫前禁止期間）と，施用量をその5倍とした2つの条件で薬剤処理した。基準とした使用条件は，ジクワットの水稲と小麦，およびジメトエートの水稲への使用については豪州の適正農業規範（GAP），フェニトロチオンはすべて日本の使用基準，その他の農薬と作物の組み合わせについては米国のGAPに準拠した。ただし，ジクワットとパラコートは，低残留量となる播種前除草剤としての使用ではなく，米国では大豆に，豪州では水稲と小麦に認められており，高い残留を生じる乾燥剤としての使用を調査の対象にした。

米は粳米または玄米の精米化と炊飯，小麦は製粉と製パン・製麺（うどん，中華麺），大豆は豆乳化と豆腐製造までの各工程の主産物と副産物（計25種／3種農産物）中の農薬残留量を測定し，加工品または加工副産品への原料中残留農薬の移行率と加工係数（製品中濃度／原材料農産物中濃度）を決定した。

分析対象物質は国際基準の残留定義に含まれているものと同じとし（すべて親化合物のみであった），ジクワットとパラコートについては，硫酸加熱還流抽出，PS-2ミニカラムおよびPoly-Prep AG-50W-X8ミニカラムによる精製，蛍光誘導体化後にマトリックス検量線を用いてHPLC/FLDで測定するという同時分析法を開発して分析した。3種の有機リン剤およびカルバリルは以前に開発したGC/NPD法で同時分析した。小児（1~6歳）に対する暴露量とその対ADI比率の算出に用

いた日本人による米，小麦，大豆の1日当たり摂取量と小児の体重は，平成10~12年の国民栄養調査の結果に基づき，それぞれ，97.7，82.3，33.7g，体重15.8kgとした。

分担研究 1-2

厚生労働省暫定基準第2次案を畜産品からの暴露量評価に使用した。ADIは日本で設定されている場合はそれを，無い場合はJMPRのADIを参照した。日本およびJMPRのADIが無い場合は米国またはEUのADIを参照した。畜産品の残留基準設定に係るFAO，米国EPA，EU，豪州APVMAの試験ガイドラインは当該機関のホームページ，またはOECD残留化学専門家会合等で収集した。畜産品からの残留農薬のTMDI方式による1日当たり摂取量[mg/kg]は，次式から算出した。

$$\text{摂取量} = (a \cdot A + b \cdot B + c \cdot C + d \cdot D + e \cdot E) / 1000$$

a~e：それぞれ，筋肉+脂肪，それ以外の内臓肉，乳，鶏の筋肉，脂肪，内臓肉，鶏卵の1日当たり摂取量。平成10~12年の国民栄養調査の結果に基づき，国民全体ではそれぞれ，56.2，1.3，142.7，20.2，40.0g，小児は32.4，0.5，196.9，18.5，28.2g，妊婦は，59.7，0.8，183.1，16.2，37.0g。

A：牛，豚，馬，山羊の筋肉と脂肪についての基準値の中で最も高い値[mg/kg]。

B：牛，豚，馬，山羊の内臓可食部に関する基準値の中の最も高い値[mg/kg]。

C：乳に対する基準値[mg/kg]

D：鶏の筋肉，脂肪，内臓可食部に関する基準値[mg/kg]

E：鶏卵の基準値[mg/kg]

暴露量の対ADI比率算定に使用した体重は，平成10~12年の国民栄養調査の結果に基づい

て、国民全体、幼小児(1~6歳)、妊婦でそれぞれ、53.3, 15.8, 55.6 kgとした。

分担研究2

現在の日本国内でCd濃度の高い米が見出される頻度の最も高いF地域で、198名の農家女性に対して住民健康診断を行った。この集団はPTWIを超えるCd曝露を受けている被験者が半数近く含まれる集団である。Cd曝露量の指標として、尿および血中、および受診者が持参した米中のCd濃度を測定した。健康影響に関しては、尿中 α_1 および β_2 ミクログロブリンを測定して腎臓の尿細管機能を検査した。年齢階級ごとにCd暴露量、健康影響を比較して解析した。

C. 結果及び考察

分担研究1-1

精米によって、玄米中の2種の非浸透性有機リン殺虫剤(メチルパラチオンとフェニトロチオン)、カルバリル、およびジクワットの50%以上が糠に除去され、白米に移行したのは、玄米中残留量のそれぞれ、約25%、40%、10~20%であった。対照的に、浸透性有機リン殺虫剤のジメトエートは、玄米中残留量の65%が白米に移行した。調査した白米中の全ての農薬は米磨ぎと炊飯によって更に消失し、炊飯白米中の農薬は白米中の約1/2~1/20、玄米中の残留量の数%以下となった(ジメトエートを除く)。小麦では、調査した全薬剤とも、玄麦中残留量の大部分が製粉でふすま等に除去され、小麦粉(60%粉)に移行したのは玄麦中残留量の4~13%であった。食パン、うどん、中華麺への2次加工では、ジメトエートは製パンで小麦粉(全粒粉食パンの場合は玄麦)中残留量の40~50%が失われたが、その他の農薬では、製パン、製麺で顕著には

減少しなかった。豆腐にはメチルパラチオンとフェニトロチオンは大豆中残留量の約40~60%、ジクワットは25%程度が移行したが、ジメトエートは<6%しか移行しなかった。主な加工係数は、白米で<0.1~0.4(ジメトエートは0.7)、炊飯白米で0.01~0.03、小麦粉(60%粉)で、0.07~0.2、食パンが0.03~0.12、全粒粉食パンが0.35~0.7、うどんが0.04~0.15、中華麺が0.04~0.13、豆乳が0.09~<0.5、豆腐が<0.03~<0.5の範囲であった。

暫定基準値(第2次案)相当の3種有機リン剤とジクワットならびにカルバリルを含んだ米、小麦、大豆の3品目からのTMDI(1~6歳幼小児)はADI(JMPR)のそれぞれ、4~11倍、8.5倍、および4.3倍であったが、GAPまたは使用基準に基づく実際の残留濃度と白米、小麦粉、豆腐への加工により、3種有機リン剤のそれらからの1日摂取量はいずれもADIの6~10%、ジクワットが約20%、およびカルバリルが約30%(小麦と大豆は以前に調査したデータから評価)になると算定された。また、調査した全農薬とも、白米の炊飯処理で更に残留が顕著に低下すること、ならびに、小麦粉の製パン、製麺でも残留が低下したことから、摂取量は更に低くなると考えられた。同時に調査したパラコートは大豆加工でジクワットとほぼ同様な挙動を示した。

分担研究1-2

暫定基準第2次案で畜産品に基準が設定された218農薬についてTMDIを試算し、ADIの判明した163農薬についてはTMDIのADI比を算定した。ADIの判明した農薬の約1/2は幼小児のTMDIがADIの10%未満であったが、約2割の農薬ではADIの50%、また、1割の農薬はADIを超えた。このADIの50%を超えた農薬のうち、過去に厚労省が実施したマーケ

ットバスケット方式による農薬の1日摂取量調査(平成14年度)ならびに平成13年度畜産食品モニタリング調査で調査対象にされていた10農薬について、調査結果を基に暴露量を算定したところ、いずれもADIの数%未満であり、先のTMDI方式による暴露量算定(TMDI:8農薬はADIの1~9倍,2農薬は約7割)は著しく過大な評価をしていることが明らかであった。

畜産品からの残留農薬の暴露量評価を精密化する際の因子として、次の5つの要因を検討した:①暴露量評価に採用する畜産品中の残留濃度,②肉中の脂肪と筋肉の割合,③当該農薬によって飼料が処理されている割合,④陸生哺乳類の肉摂取量データベースの精密化,⑤屠畜後流通過程,調理加工による影響。③と⑤は対応するデータは無かったが、その他(特に①と②)は現段階でも利用可能であり、採用による効果を試算した。

①は、暴露量評価に採用する畜産品中の残留濃度として、理論的食餌由来最大負荷量を摂取させた際の家畜組織等における残留量の最大値ではなく、中央値または平均値を暴露量評価に採用するか、もしくは、理論的食餌由来最大負荷量ではなく、当該農薬をGAP最大残留条件で処理した飼料中の濃度の中央値または平均値に基づく食餌由来負荷量に対応した家畜組織中濃度の中央値または平均値を採用するというものである。

②は肉(内臓肉を除く)中の脂肪と筋肉の比率に関することであるが、現在、肉(内臓肉を除く)を筋肉と脂肪に分けての動物種別の摂取量統計は無く、牛、豚、その他陸生哺乳動物について設定されている筋肉および脂肪における残留基準の間で最も高い値を肉中の残留値として選び、これに陸生哺乳類の脂肪+筋肉の摂取量を乗じて、

内臓肉を除く肉からの摂取量を算定している。このため、筋肉よりも脂肪に高濃度に残留する脂溶性物質については、多くの場合、肉の大部分を占める筋肉を脂肪とみなして暴露評価する現行の方式では過大評価となる。JMPRは2002年に肉中の脂肪含有量(または筋肉と脂肪に由来する残留物摂取量の比)について、国際的推定1日摂取量(IEDI)評価の際には、肉中の筋肉と脂肪の割合(または脂肪中濃度の残留物を含む肉の摂取割合)を、牛肉では80%と20%、豚および家禽肉では90%と10%として算定するとしており、これを採用する。

④陸生哺乳類肉摂取量データベースの精密化:農薬の場合、動物種が異なっても陸生哺乳動物の同種組織の間で異なる残留基準が設定されるのは、ラットと反芻胃動物での代謝が異なる場合に限られており、例は多くはないが、牛肉と豚肉で基準値が大きく異なる場合には、牛と豚に分けた摂取量データの採用は有益と考えられる。

以上3点を組み合わせることは、暴露量評価の精密化に有効と考えられた。

分担研究2

Cd暴露量の評価:F地域の16年度産米中のCd濃度は昨年よりも低いことが明らかとなった。血中Cd濃度は、隣接するE地域との比較では、50歳代まではあまり差は見られないが60歳代になるとF地域が高かった(40歳代:3.45と3.42 μ g/dl,60歳代:3.93と4.49 μ g/dl)。尿中Cd濃度は、E地域対F地域の比較では、全年齢でそれぞれ4.08対6.37 μ g/g cre,40歳代で3.59対4.35 μ g/g cre,50歳代で4.01対6.11 μ g/g cre,60歳代で4.50対7.65 μ g/g creであった。尿中Cdは、過去の曝露を表していることから、

F 地域は曝露が長年 E 地域より高かったことが明らかとなった。

腎機能の評価：平均値で比較すると尿中 $\alpha 1$ -ミクログロブリンおよび $\beta 2$ -ミクログロブリン濃度は F 地域で E 地域より高くはなく、特に対照群の A 地域と比較しても大きな差は見られなかった。この結果から、平均的には F 地域は E 地域より高い曝露を長年受けていたにもかかわらず、加齢による変化を調整すれば、明らかな腎機能障害はないという結果となった。F 地域は尿中 Cd の高い被験者が見られるものの尿中 $\beta 2$ ミクログロブリンが高値を示す被験者は見られなかった

D. 結論

残留農薬の曝露量評価と残留基準設定、ならびに Cd のリスク評価とリスク管理に資するため、(1)農産物の加工調理に伴う残留農薬の量的変化、(2)畜産物中残留農薬の曝露量評価法の精密化、ならびに(3)農村女性の Cd 曝露状況と腎機能障害に関する研究を実施し、次のような有用な研究成果を得た。

(1)：ジメトエート，メチルパラチオン，フェニトロチオン，カルバリル，ジクワットの TMDI は、主要農産物の一部（米，小麦，大豆）のみでも ADI の 4~11 倍（幼小児）となるが、調理加工を含めたそれら 3 農産物からのより実態に近い曝露量は、精米，小麦粉への製粉，豆腐への加工を考慮するだけでも ADI の 30%以下（幼小児）になる。

(2)：畜産品からの残留農薬の曝露量算定の精密化には、餌中濃度の中央値（または平均値）の残留農薬を含む餌を摂取した際の家畜組織中濃度中央値（または平均値）を組織中残留濃度として使用し、これに肉中の脂肪含量を加味し、さらに牛と豚で基準

値に大きな差がある場合には牛と豚別の摂取量データを使って曝露量を算定することが有効と考えられた。

(3)：前年度と比較して尿中 Cd の分布はあまり異ならないが血中 Cd 濃度が低いことから、過去の曝露は同程度であるが近年は曝露が低下している可能性があると考えられた。全国で最も高い Cd 曝露を受けている F 地域でも腎機能への影響はほとんど見られないと考えられた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Horiguchi H, Oguma E, Sasaki S, Miyamoto K, Ikeda Y, Machida M, Kayama F: Environmental exposure to cadmium at a level insufficient to induce renal tubular dysfunction does not affect bone density among female Japanese farmers. *Environ Res.* 97 (1): 83-92, 2005

2. 学会発表

1) なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働省科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進研究事業）

Ⅱ．分担研究報告書

1.1 食品中の残留農薬の摂取量等に関する研究

分担研究者 加藤 保博

（財団法人 残留農薬研究所）

厚生労働省科学研究費補助金（食品の安全性高度化推進研究事業）
分担研究報告書

食品中の残留農薬の摂取量等に関する研究：暴露評価精密化係数の測定

分担研究者 加藤保博 財団法人 残留農薬研究所 化学部長

研究要旨

農産物からの残留農薬の暴露量評価をより精緻なものとし、残留農薬基準値の設定に役立てるため、食品摂取量の大きい米、小麦、大豆について加工調理による農薬残留量の変化を調べる。今年度は、ジメトエート、メチルパラチオン、フェニトロチオン、カルバリル（水稲のみ）、ジクワットおよびパラコート(大豆のみ)を対象農薬とし、米国の3つの州の5箇所の試験圃場で水稲、小麦、大豆を栽培し、これに日本、米国、または豪州で登録されている使用条件の範囲内で最大の残留量を生ずる条件および最大散布量の5倍の2つの条件で薬剤処理した。この際、ジクワットとパラコートは発芽前処理除草剤としてではなく、脱水剤として使用した。ジクワットとパラコートおよびその他の4剤の各同時分析法を開発し、籾米の脱殻と玄米の精米化および炊飯、大豆の豆乳化と豆腐製造、小麦の製粉と製パン・製麺（うどん、中華麺）の各過程における残留農薬の収支と加工係数を測定した。原料農産物中残留農薬の各加工品への移行率および加工係数は、農薬および加工品ごとに変ったが、ジクワットの小麦を例外として、調査した農薬の大部分と主な加工品では処理濃度が5倍異なっても余り影響されなかった。暫定基準値(第2案)相当量の3種有機リン剤とジクワットならびにカルバリルを含んだ米、小麦、大豆の3品目からの理論的一日最大摂取量(TMDI; 1~6歳幼小児)はADI(JMPR)のそれぞれ、4~11倍、8.5倍、および4.3倍だが、登録使用条件に基づく実際の残留濃度と白米、小麦粉、豆腐への加工を考慮すると、3種有機リン剤のそれらからの1日摂取量はいずれもADIの6~10%、ジクワットが約20%、およびカルバリルが約30%（小麦と大豆は以前に調査したデータから評価）にそれぞれなると算定された。同時に調査したパラコートは大豆加工でジクワットとほぼ同様な挙動を示した。

研究協力者

坂 真智子 財団法人 残留農薬研究所
飯島 和昭 財団法人 残留農薬研究所
西田 真由美 財団法人 残留農薬研究所
粕 由紀子 財団法人 残留農薬研究所
長谷川 直美 財団法人 残留農薬研究所
鈴木 陽子 財団法人 残留農薬研究所

A. 研究目的

残留農薬基準を設定するに当たり、ADIに基づいて日本型 EDI 方式による暴露量評価を行なう際に、一部の農薬については実際の残留量を考慮した暴露量評価のほか、に非可食部の除去ならびに加工調理に伴う

残留濃度の消長等の要因までを考慮することが必要となる。本研究では、残留農薬基準が未設定または見直しが計画されている農薬のうち、特に精密な暴露量評価が必要となることが推測されるもの数種を選択し、その主要な農産物について加工調理係数、可食部係数等のデータを収集・解析する。

対象とする農産物は、日本人による摂取量の多い米、大豆、小麦とし、それらを、国内および/または海外（米国および豪州）で栽培する。当該国の使用基準（GAP）内で最大残留量となる散布条件および/または GAP の最大 5 倍量の濃度で処理し、収穫期試料を得る。米は玄米の精米化と炊飯までの過程の他、必要に応じて籾からの残留農薬濃度の消長を調べ、加工係数を算定する。小麦は玄麦から小麦粉まで、大豆は豆腐への加工調理における残留農薬の消長を調査する。当該農薬の小麦に対する国際残留基準または主要国の残留基準が収穫後処理を含んで設定されている場合は、収穫後処理した試料についても同様な調査を行う。

水稻、小麦、大豆に適用がある農薬で、それらからの国際残留基準または厚生労働省暫定基準（案）に基づく理論的最大一日摂取量(TMDI)が ADI を超えていて、特に精密な暴露量評価が必要になると推測される農薬のうち、今年度はジクワット、ジメトエート、メチルパラチオン、およびフェニトロチオンを対象農薬とした。そのほか、暫定基準を基にした場合の 3 品目による TMDI は ADI を超えてはいない（国際基準による TMDI は ADI を大きく超える）が、ジクワットと同様な残留挙動を示すと推定されるパラコート（大豆）についても調査

した。

B. 研究方法

1. 試料

米国の作物残留試験専門会社エクセル社（Excel Research Services Inc. ; 3021 West Dakota Avenue, Suite 110 Fresno, CA 923722, USA）を通して、米国の作物栽培専門会社 3 社、Mid-South Ag Research 社、Bennett Ag Research 社、および Northern Plains Ag Research 社の、アーカンソー州、アイオワ州、ノースダコダ州の計 5 箇所の試験圃場でそれぞれ、水稻（ジャポニカ種）、大豆（在来種）、小麦（春小麦）を栽培し、ジクワット、パラコート、ジメトエート、メチルパラチオン、フェニトロチオン、およびカルバリルの製剤を、日本、米国、またはオーストラリアの使用基準（GAP）に従って散布し、籾米、大豆および小麦を収穫し、凍結して日本に輸入した。表 1 に作物品種、試験地、製剤、散布回数、散布量、散布日、収穫日等を纏めた。

1) ジクワット

ジクワットは除草剤のほか、日本では認められていない乾燥剤としての使用が米国では大豆に、オーストラリアでは水稻と小麦等に認められている。除草剤としての使用は播種前使用であるのに対して、乾燥剤としての使用は収穫直前であることから、除草剤に比べて高い残留を生じる。このため、ジクワットについては、米国またはオーストラリアの乾燥剤としての GAP 内の最大散布量（1 X）とその 5 倍量（5 X）で、GAP 内の最短の収穫前使用禁止期間（PHI）にあたる、水稻には収穫 5 日前に、

大豆および小麦には収穫 7 日前に 1 回、それぞれ、Syngenta Crop Science 社の Reglon®またはこれに相当する水溶剤を茎葉散布処理した。水稲はアーカンソー州の 1 箇所の圃場で、大豆と小麦（春小麦）は、それぞれ、アイオワ州とノースダコダ州の異なる郡に位置する各 2 箇所の試験圃場で栽培した。

2) パラコート

パラコートもジクワットと同様に除草剤のほか、日本では認められていない乾燥剤としての使用が米国では大豆に認められている。一方、水稲および小麦に対しては、GAP 情報が得られた日、米、オーストラリア、ニュージーランドでは播種前の使用しか認められておらず、低い残留しか生じないため、加工を扱う当研究の対象からは外した。アイオワ州内の異なる郡の 2 つの試験圃場で乾燥剤としての米国 GAP 内の最大使用量とその 5 倍量で、GAP 内の最短 PHI(15 日)で 1 回、Syngenta Crop Science 社の Gramoxone Max®水溶剤を茎葉散布した。

3) ジメトエート

水稲はアーカンソー州の、大豆はアオイワ州の、小麦（春小麦）はノースダコダ州の各 1 箇所の試験圃場で栽培した。ジメトエートの水稲への適用は米国では認められていないが、日本とオーストラリアでは認められており、使用条件も日本とオーストラリアでほぼ同等であることから、オーストラリアの GAP に従い、最大散布量とその 5 倍量で、収穫 28 日前まで 4 回散布した。大豆と小麦への散布については米国 GAP に対応し、大豆は収穫前 21 日まで、小麦は 7 日前まで、どちらも最大散布量の

1 X と 5 X の 2 種薬量で、4 lb/gal 乳剤を 2 回散布した。

4) メチルパラチオン

水稲、大豆、小麦（春小麦）はそれぞれ、アーカンソー州、アイオワ州、ノースダコダ州の各 1 箇所の試験圃場で栽培した。メチルパラチオンは日本では登録失効しているが、米国、オーストラリア等では使用されており、水稲、大豆、小麦のいずれについても米国 GAP の最大残留条件とその 5 倍の 2 種用量で、水稲と小麦は収穫 15 日前まで、大豆は 20 日前まで、いずれも 4 lb/gal 乳剤を 2 回散布した。

5) フェニトロチオン

水稲、大豆、小麦（春小麦）はそれぞれ、アーカンソー州、アイオワ州、ノースダコダ州の各 1 箇所の試験圃場で栽培した。フェニトロチオンは米国では登録失効しており、全作物とも日本の使用基準に基づいて薬剤処理した。最大使用量とその 5 倍濃度の 2 濃度で、水稲と大豆は収穫 21 日前まで 3 回、小麦は収穫 7 日前に 1 回、住友化学株式会社のスミチオン 50%乳剤を散布した。

6) カルバリル

米国の GAP を基に最大残留条件とその 5 倍量の 2 用量で、アーカンソー州の 1 箇所の試験圃場で栽培した水稲に収穫の 14 日前迄、Bayer 社の Sevin 4 F フロアブル剤を 2 回散布した。カルバリルは、小麦（日本、米国）および大豆（米国）への適用が登録されているが、米国の GAP (1.5 lb/A, 4 回散布, PHI=21 日) で最終散布のみを GAP 濃度の 2 倍にして実施した大豆の結果¹⁾とポストハーベスト処理を基に設定された Codex 基準 (5 mg/kg) に対

応してポストハーベスト処理した小麦での結果²⁾が既にあるため、小麦と大豆については本研究では実施しなかった。

2. 農薬および農薬代謝物標準品

2.1. ジメトエート (対象化合物: 図 1)

和光純薬工業製の農薬分析標準品 (99.5%) を用いた。この標準品を正確に量りとしてアセトンで溶解し、1000 mg/L 溶液を調製し、標準原液とした。

2.2. メチルパラチオン (対象化合物: 図 1)

和光純薬工業製の農薬分析標準品 (99.0%) を用いた。この標準品を正確に量りとしてアセトンで溶解し、500 mg/L 溶液を調製し、標準原液とした。

2.3. フェニトロチオン (対象化合物: 図 1)

和光純薬工業製の農薬分析標準品 (99.8%) を用いた。この標準品を正確に量りとしてアセトンで溶解し、500 mg/L 溶液を調製し、標準原液とした。

2.4. カルバリル (対象化合物: 図 1)

和光純薬工業製の農薬分析標準品 (100%) を用いた。この標準品を正確に量りとしてアセトンで溶解し、1000 mg/L 溶液を調製し、標準原液とした。

2.5. ジクワット (対象化合物: 図 1)

和光純薬工業扱い AccuStandard 製の農薬分析標準品 (Diquat dibromide monohydrate, 99%) を用いた。この標準品を正確に量りとして水で溶解し、500 mg/L 溶液を調製し、標準原液とした。

2.6. パラコート (対象化合物: 図 1)

和光純薬工業製の農薬分析標準品 (99.0%) を用いた。この標準品を正確に量りとして水で溶解し、500 mg/L 溶液を調製し、標準原液とした。

3. 試薬

一般試薬および有機溶媒は特級品またはそれに準ずる等級のもの、または残留農薬試験用のものを使用した。水は、日本ミリポア・リミテッド製の Milli-Q 純水製造装置で調製した高純度水を用いた。

- ・多孔性ケイソウ土カラム: CE1020 (Varian 製)
- ・消泡剤: SH 5503 (東レ・ダウ・コーニング・シリコン製)
- ・フロリジルミニカラム: Sep-Pak フロリジルカートリッジ, プラス (Waters 製)
- ・ポリスチレンミニカラム: Sep-Pak PS-2 カートリッジ, プラス (Waters 製)
- ・陽イオン交換樹脂ミニカラム: Poly-Prep · AG-50W-X8, H⁺ 200~400 mesh, ベットボリューム 2 mL (Bio-Rad 製)

4. 装置

- ・天秤: メトラー精密天秤, Model PB 3002, AG245 (メトラー・トレド製)
- ・ホモジナイザー: POLYTRON (KINEMATICA 製)
- ・精米機: QS-3 (東芝製)
- ・米とぎカップ: 貝印製
- ・炊飯器: RCK-6DX (東芝製)
- ・糎摺り器: YANMAR ST50 (ヤンマー農機株式会社製)
- ・豆乳メーカー: マイコン電気豆乳メーカー

- ー (ツインバード工業製)
- ・ホームベーカリー：PY-D535 (ツインバード工業製)
- ・超遠心粉碎機：ZM-100 (Retsch 製)
- ・ガスクロマトグラフ：6890/ChemStation (NPD) システム (Agilent Technologies 製)
- ・高速液体クロマトグラフ：島津 10A VP (FLD) シリーズ (株式会社島津製作所)

5. 機器操作条件

5.1. ジメトエート, メチルパラチオン, フェニトロチオンおよびカルバリル (GC)

5.1.1. 穀粒, もみ殻, 玄米, 白米, 糠, 水洗玄米, 玄米とぎ汁, 水洗白米, 白米とぎ汁, 炊飯玄米, 炊飯白米, 豆乳, おからおよび豆腐試料

カラム：Rtx-200 (Restek 製), 内径 0.53 mm, 長さ 30 m, 膜厚 1.5 μ m

温度：カラム 70 $^{\circ}$ C 1 min-3 $^{\circ}$ C/min-205 $^{\circ}$ C 0 min-10 $^{\circ}$ C/min-240 $^{\circ}$ C 1 min,

注入口 250 $^{\circ}$ C, 検出器 280 $^{\circ}$ C

ガス流量：キャリアー (He) 10 mL/min, 空気 60 mL/min, 水素 2 mL/min

注入量：2 μ L

5.1.2. 大豆, 水浸漬大豆, 浸漬水, 非凝固液, 玄麦, 大ふすま, 小ふすま, 60%粉, 末粉, 食パン (60%粉), うどん玉および中華麺玉試料

カラム：Rtx-50 (Restek 製), 内径 0.53 mm, 長さ 30 m, 膜厚 1.0 μ m

温度：カラム 100 $^{\circ}$ C 1 min-5 $^{\circ}$ C/min-270 $^{\circ}$ C 1 min, 注入口 250 $^{\circ}$ C, 検出器 280 $^{\circ}$ C

ガス流量：キャリアー (He) 10 mL/min,

空気 60 mL/min, 水素 2 mL/min

注入量：2 μ L

5.1.3. 食パン (全粒粉) 試料

カラム：INERTCAP5 (GLサイエンス製), 内径 0.53 mm, 長さ 15 m, 膜厚 2.0 μ m

温度：カラム 70 $^{\circ}$ C 1 min-5 $^{\circ}$ C/min-260 $^{\circ}$ C 1 min, 注入口 250 $^{\circ}$ C, 検出器 280 $^{\circ}$ C

ガス流量：キャリアー (He) 10 mL/min, 空気 60 mL/min, 水素 2 mL/min

注入量：2 μ L

5.2. ジクワットおよびパラコート (HPLC)

カラム：Prodigy ODS3 (Penomenex), 内径 4.6 mm, 長さ 250 mm

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

溶離液：水/アセトニトリル (90:10, v/v)

流速：0.6 mL/min

測定波長：励起 340 nm, 蛍光 430 nm

注入量：10 μ L

6. 加工調理および分析試料の調製

6.1. 米

付表 2 に詳細を示すように, 粳米 (穀粒) を脱穀して玄米と粳殻に分離したのち, 精米した (玄米の 8% w/w を除去)。玄米および白米を 1.5(v/w)倍の水で 20 秒間磨いだ。これを更に 3 回繰り返したのち, 家庭用炊飯器で水洗玄米と水洗白米を炊飯 (50 分間または 115 分間) した。粳米 (穀粒) もみ殻, 玄米 (脱穀), 白米, 糠 (精米処理), 水洗玄米, 玄米とぎ汁, 水洗白米, 白米とぎ汁 (水洗処理), 炊飯玄米, 炊飯白米 (炊飯処理) の計 11 種類を分析試料とした。

各加工品の生成重量比は結果の表に含めた。

6.2. 大豆

付表 3 に詳細を示すように、室温にて大豆を 5 倍量 (v/w) の水に一夜浸したのち、乾燥大豆の 3.1 倍(v/w)の水を加えて市販の豆乳メーカーで破碎蒸豆し、濾過して豆乳とおからに分離した。70℃に加温した豆乳ににがりを加えて豆腐を調製した。大豆、水浸漬大豆、浸漬水、豆乳、おから、豆腐、非凝固液（調理加工処理）の計 7 種類を分析試料とした。各加工品の生成重量比は結果の表に含めた。

6.3. 小麦

財団法人 穀物検定協会に委託して「食品分析法（日本食品工業会，食品分析法編集委員会編）に定められた小麦粉試験法に準拠してビューラー式テストミルで製粉し、大ふすま，小ふすま，60%粉（小麦粉），末粉に分別した。

付表 4 に詳述する方法で，60%粉を食パン，中華麺玉，うどん玉に加工したほか，玄麦を単に超遠心粉碎機で粉碎しただけの全粒粉と被験物質が含まれていないことを予め分析して確認した市販の強力粉を 3:4 の重量比で混合して全粒粉食パンに加工した。

玄麦，大ふすま，小ふすま，60%粉，末粉（一次加工，製粉），食パン（60%粉），食パン（全粒粉），うどん玉，中華麺玉（二次加工，調理加工）の計 9 種類を分析試料とした。

各製粉画分の生成重量比率は付表 5 の穀物検定協会による分析試験成績書の写しに含まれている。各二次加工品の生成重量比

は結果の表に含めた。

7. 分析方法

すべての試料とも 3 連で分析した。

7.1 試験液調製（抽出・精製）方法

7.1.1. ジメトエート，メチルパラチオン，フェニトロチオンおよびカルバリル概要を図 2-1 のフローシートに示す。

7.1.1.1. 穀粒，もみ殻，玄米，白米，糠，水洗玄米，水洗白米，大豆，玄麦，小麦粉（60%粉），末粉および小ふすま

前処理して均質化した試料 10 g（もみ殻 2 g，糠は前処理せず 2g，小ふすまは前処理せず 4 g）を採取し，これに水 20 mL を加え，室温で 30 分間放置する。アセトン 100 mL を加え，30 分間振とう抽出し，吸引ろ過する。残渣をアセトン 50 mL で洗浄し，ろ液を合わせ，ロータリーエバポレーターを用いて 40℃以下で減圧濃縮し，アセトンを留去する。これに 塩化ナトリウム 5 g および水 100 mL を加え，酢酸エチル 80 mL で 2 回，各 5 分間振とう抽出する。有機層を分取して合わせ，無水硫酸ナトリウム 50 g を加えて脱水し，40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし，最後は窒素気流を吹き付けて乾固させた。ヘキサン 20 mL を 3 回に分けて（10+5+5 mL）加えて溶解し，多孔性ケイソウ土カラムに移し，5 分間放置する。ヘキサン飽和アセトニトリル 80 mL を 4 回に分けて（20+20+20+20 mL）流下して溶出する。溶出液を 40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし，最後は窒素気流を吹き付けて乾固させる。これをヘキサン

5 mL に溶解し、あらかじめヘキサン 5 mL で洗浄したフロリジルミニカラムに移し流下する。次にヘキサン/アセトン(70:30, v/v) 混液 30 mL を流下して、溶出液を分取する。溶出液を 40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させ、アセトンに溶解して試験溶液とした。

7.1.1.2. 玄米とぎ汁，白米とぎ汁，浸漬水 および非凝固液

試料 50 mL（浸漬水および非凝固液は 20 mL）を採取する。これに塩化ナトリウム 5 g および水 50 mL（浸漬水および非凝固液は 80 mL）を加え、酢酸エチル 80 mL で 2 回、各 5 分間振とう抽出する。有機層を分取して合わせ、無水硫酸ナトリウム 50 g を加えて脱水し、40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させる。これをヘキサン 5 mL に溶解し、あらかじめヘキサン 5 mL で洗浄したフロリジルミニカラムに移し流下する。次にヘキサン/アセトン(70:30, v/v) 混液 30 mL を流下して、溶出液を分取する。溶出液を 40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させ、アセトンに溶解して試験溶液とした。

7.1.1.3. 水浸漬大豆，豆乳および豆腐

前処理して均質化した試料 20 g（豆乳は前処理せず 10 mL）を採取する。これにアセトン 100 mL を加え、30 分間振とう抽出し、吸引ろ過する。残渣をアセトン 50 mL で洗浄し、ろ液を合わせる。ろ液をロータリーエバポレーターを用いて 40℃以

下で減圧濃縮し、アセトンを留去する。ここに塩化ナトリウム 5 g および水 100 mL を加え、酢酸エチル 80 mL で 2 回、各 5 分間振とう抽出する。有機層を分取して合わせ、無水硫酸ナトリウム 50 g を加えて脱水し、40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させる。ヘキサン 20 mL を 3 回に分けて (10+5+5 mL) 加えて溶解し、多孔性ケイソウ土カラムに移し、5 分間放置する。ヘキサン飽和アセトニトリル 80 mL を 4 回に分けて (20+20+20+20 mL) 流下して溶出する。溶出液を 40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させる。これをヘキサン 5 mL に溶解し、あらかじめヘキサン 5 mL で洗浄したフロリジルミニカラムに移し流下する。次にヘキサン/アセトン(70:30, v/v)混液 30 mL を流下して、溶出液を分取する。溶出液を 40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させ、アセトンに溶解して試験溶液とした。

7.1.1.4. 大ふすま，食パン（60%粉）および食パン（全粒粉）

前処理して均質化した試料 10 g（大ふすまは前処理せず 4 g）を採取する。これに水 20 mL を加え、室温で 30 分間放置する。アセトン 80 mL を加え、ホモジナイザーで磨砕均一化する。シャフトに付着した試料をアセトン 20 mL で洗浄し、洗液を合わせ、20 分間振とう抽出し、吸引ろ過する。残渣をアセトン 50 mL で洗浄し、ろ液を合わせる。ろ液をロータリーエバポレーターを用いて 40℃以下で減圧濃縮し、アセトンを留去する。ここに塩化ナトリウム 5 g

および水 100 mL を加え、酢酸エチル 80 mL で 2 回、各 5 分間振とう抽出する。有機層を分取して合わせ、無水硫酸ナトリウム 50 g を加えて脱水し、40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させる。ヘキサン 20 mL を 3 回に分けて (10+5+5 mL) 加えて溶解し、多孔性ケイソウ土カラムに移し、5 分間放置する。ヘキサン飽和アセトニトリル 80 mL を 4 回に分けて (20+20+20+20 mL) 流下して溶出する。溶出液を 40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させる。これをヘキサン 5 mL に溶解し、あらかじめヘキサン 5 mL で洗浄したフロリジルミニカラムに移し流下する。次にヘキサン/アセトン(70:30, v/v) 混液 30 mL を流下して、溶出液を分取する。溶出液を 40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させ、アセトンに溶解して試験溶液とした。

7.1.1.5. 炊飯玄米および炊飯白米

試料 20 g を採取する。これに水 10 mL を加え、アセトン 80 mL を加え、ホモジナイザーで磨砕均一化する。シャフトに付着した試料をアセトン 20 mL で洗浄し、洗液を合わせ、20 分間振とう抽出し、吸引ろ過する。残渣をアセトン 50 mL で洗浄し、ろ液を合わせる。ろ液をロータリーエバポレーターを用いて 40℃以下で減圧濃縮し、アセトンを留去する。ここに塩化ナトリウム 5 g および水 100 mL を加え、酢酸エチル 80 mL で 2 回、各 5 分間振とう抽出する。有機層を分取して合わせ、無水硫酸ナトリウム 50 g を加えて脱水し、40℃以下

で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させる。ヘキサン 20 mL を 3 回に分けて (10+5+5 mL) 加えて溶解し、多孔性ケイソウ土カラムに移し、5 分間放置する。ヘキサン飽和アセトニトリル 80 mL を 4 回に分けて (20+20+20+20 mL) 流下して溶出する。溶出液を 40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させる。これをヘキサン 5 mL に溶解し、あらかじめヘキサン 5 mL で洗浄したフロリジルミニカラムに移し流下する。次にヘキサン/アセトン(70:30, v/v) 混液 30 mL を流下して、溶出液を分取する。溶出液を 40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させ、アセトンに溶解して試験溶液とした。

7.1.1.6. おから

前処理して均質化した試料 10 g を採取する。これに水 10 mL を加え、アセトン 100 mL を加え、30 分間振とう抽出し、吸引ろ過する。残渣をアセトン 50 mL で洗浄し、ろ液を合わせる。ろ液をロータリーエバポレーターを用いて 40℃以下で減圧濃縮し、アセトンを留去する。ここに塩化ナトリウム 5 g および水 100 mL を加え、酢酸エチル 80 mL で 2 回、各 5 分間振とう抽出する。有機層を分取して合わせ、無水硫酸ナトリウム 50 g を加えて脱水し、40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させる。ヘキサン 20 mL を 3 回に分けて (10+5+5 mL) 加えて溶解し、多孔性ケイソウ土カラムに移し、5 分間放置する。ヘキサン飽和アセトニトリル 80 mL を 4 回に分けて

(20+20+20+20 mL) 流下して溶出する。溶出液を 40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させる。これをヘキサン 5 mL に溶解し、あらかじめヘキサン 5 mL で洗浄したフロリジルミニカラムに移し流下する。次にヘキサン/アセトン(70:30, v/v)混液 30 mL を流下して、溶出液を分取する。溶出液を 40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させ、アセトンに溶解して試験溶液とした。

7.1.1.7. うどん玉および中華麺玉

試料 10 g を採取する。これにアセトン 80 mL を加え、ホモジナイザーで磨砕均一化する。シャフトに付着した試料をアセトン 20 mL で洗浄し、洗液を合わせ、20 分間振とう抽出し、吸引ろ過する。残渣をアセトン 50 mL で洗浄し、ろ液を合わせる。ろ液をロータリーエバポレーターを用いて 40℃以下で減圧濃縮し、アセトンを留去する。ここに 塩化ナトリウム 5 g および水 100 mL を加え、酢酸エチル 80 mL で 2 回、各 5 分間振とう抽出する。有機層を分取して合わせ、無水硫酸ナトリウム 50 g を加えて脱水し、40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させる。ヘキサン 20 mL を 3 回に分けて (10+5+5 mL) 加えて溶解し、多孔性ケイソウ土カラムに移し、5 分間放置する。ヘキサン飽和アセトニトリル 80 mL を 4 回に分けて (20+20+20+20 mL) 流下して溶出する。溶出液を 40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させる。これをヘキサン 5 mL に溶解し、あらかじめヘキサン 5 mL

で洗浄したフロリジルミニカラムに移し流下する。次にヘキサン/アセトン(70:30, v/v)混液 30 mL を流下して、溶出液を分取する。溶出液を 40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付けて乾固させ、アセトンに溶解して試験溶液とした。

7.1.2. ジクワットおよびパラコート

概要を図 2-2 のフローシートに示す。

7.1.2.1. 大豆、浸漬大豆、豆腐および豆乳試料

前処理して均質化した試料 10 g (浸漬大豆および豆腐 20 g, 豆乳は前処理せず 20 mL) を採取する。これに水 100 mL, 9mol/L 硫酸 10 mL および消泡剤 1 mL を加えた後、5 時間加熱還流抽出 [マントルヒーター, 60V(15 分間)→沸騰後 35V] し、吸引ろ過する。残渣を水 50 mL で洗浄し、ろ液を合わせる。水を用いて、200 mL 定容とする。その 20 mL (試料 1 g 相当量) を分取し、あらかじめメタノールおよび水 5 mL を流下して前処理したポリスチレンミニカラムに移し流下する。さらに 0.45 mol/L 硫酸 10 mL を流下し、全流出液を取る。これを飽和塩化ナトリウム溶液 10 mL (流速 0.3 mL/min) および水 20 mL (流速 0.8 mL/min) を流し前処理した陽イオン交換樹脂ミニカラムに移し流下する。水 5 mL, 2 mol/L 塩酸 5 mL, 水 5 mL および 1 mol/L 塩化アンモニウム溶液 5 mL を順次流下し、流出液を捨てる。次に 5 mol/L 塩化アンモニウム溶液 10 mL を流下し、溶出液を分取する。この溶出液の 5 mL (大豆:1g 相当, 浸漬大豆および豆腐:

2 g 相当, 豆乳: 2 mL 相当) に 9 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 30 mL, 1%フェリシアン化カリウム溶液 5 mL および 1%過酸化水素水 10 mL を加え, 室温で 5 分間放置する。その後, 100 mL 容分液漏斗に移し, クロロホルム 20 mL で 2 回 5 分間振とう抽出し, クロロホルム層を分取する。クロロホルム層を硫酸ナトリウム 50 g をのせたガラスろ過器を通過させ, 脱水する。40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし, 最後は窒素气流を吹き付けて乾固させ, 水に溶解して試験溶液とした。

7.1.2.2. 玄麦, 小麦粉(60%粉), 大ふすま, 小ふすま, 末粉, 食パン, うどん玉, 中華麺玉, 穀粒, 玄米, 白米, 糠, 籾殻, 水洗玄米, 水洗白米, 炊飯玄米, 炊飯白米, おから

前処理して均質化した試料 10 g (大ふすま, 小ふすまおよび糠は前処理せず 5 g, 籾殻 5 g, 食パンおよびおから 20 g, うどん, 中華麺, 炊飯玄米および炊飯白米は前処理せず 20 g) を採取する。これに水 100 mL, 9 mol/L 硫酸 10 mL および消泡剤 1 mL を加えた後, 5 時間加熱還流抽出 [マントルヒーター, 60V(15 分間)→沸騰後 35V] し, 吸引ろ過する。残渣を水 50 mL で洗浄し, ろ液を合わせる。水を用いて, 200 mL 定容とする。その 20 mL (試料 10 g→1g, 5 g→0.5g, 20 g→2 g 相当量) を分取し, あらかじめメタノールおよび水 5 mL を流下して前処理したポリスチレンミニカラムに移し流下する。さらに 0.45 mol/L 硫酸 10 mL を流下し, 全流出液を取る。これを飽和塩化ナトリウム溶液 10 mL (流速 0.3 mL/min) および水 20 mL (流速 0.8

mL/min) を流し前処理した陽イオン交換樹脂ミニカラムに移し流下する。水 5 mL, 2mol/L 塩酸 5 mL および水 5 mL を順次流下し, 流出液を捨てる。次に 5 mol/L 塩化アンモニウム溶液 20 mL を流下し, 溶出液を分取する。この溶出液の 5 mL (試料 1 g→0.25 g, 0.5 g→0.125 g, 2 g→0.5 g 相当量) に 9mol/L 水酸化ナトリウム溶液 30 mL, 1%フェリシアン化カリウム溶液 5 mL および 1%過酸化水素水 10 mL を加え, 室温で 5 分間放置する。その後, 100 mL 容分液漏斗に移し, クロロホルム 20 mL で 2 回 5 分間振とう抽出し, クロロホルム層を分取する。クロロホルム層を硫酸ナトリウム 50 g をのせたガラスろ過器を通過させ, 脱水する。40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし, 最後は窒素气流を吹き付けて乾固させ, 水に溶解して試験溶液とした。

7.1.2.3. 浸漬水

試料 10 mL を採取し, 0.9 mol/L 硫酸 10 mL を加え混合する。あらかじめメタノールおよび水 5 mL を流下して前処理したポリスチレンミニカラムに移し流下する。さらに 0.45mol/L 硫酸 10 mL を流下し, 全流出液を取る。これを飽和塩化ナトリウム溶液 10 mL (流速 0.3 mL/min) および水 20 mL (流速 0.8 mL/min) を流し前処理した陽イオン交換樹脂ミニカラムに移し流下する。水 5 mL, 2mol/L 塩酸 5 mL および水 5 mL を順次流下し, 流出液を捨てる。次に 5 mol/L 塩化アンモニウム溶液 20 mL を流下し, 溶出液を分取する。この溶出液の 5 mL (試料 2.5 mL 相当) に 9mol/L 水酸化ナトリウム溶液 30 mL, 1%フェリシアン化カリウム溶液 5 mL および