

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業
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 17 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 18 年（2006 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	9
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 ...	251
加藤保博	
2. 食品からのCd暴露と健康影響に関する研究	267
堀口兵剛	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	277
IV. 研究成果の刊行物・別刷	279

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

I. 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）

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

：水稲，小麦，大豆に適用があり，この3品目からの厚生労働省暫定基準に基づく理論的最大1日摂取量(TMDI)がADIを超えるか大きな割合を占めており，特に精密な暴露量評価が必要になると考えられる農薬のうち，今年度は，カルボフラン(玄米，大豆，小麦)，クレトジム(大豆)，エスフェンバレレート(大豆)，マラチオン(玄米)，マンゼブ(玄米，小麦)を対象とした。米国の4州の5箇所の試験圃場で水稲，小麦，大豆を栽培し，これに米国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条件で薬剤処理した。所要の分析法を開発し，精米と炊飯，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異なったが，調査した大部分の農薬と主な加工品では処理濃度に余り影響されなかった。小麦粉および全粒粉中のマンゼブは製パン過程で分解してETUを生じた。暫定基準によるカルボフラン，マンゼブ，マラチオンの米，小麦，大豆(カルボフランのみ)からのTMDI(1~6歳幼小児)はADI(JMPR；マラチオンは厚生労働省)のそれぞれ1.5倍，0.8倍，2.1倍であるが，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，それらからの1日摂取量はTMDIの3%以下，ADIの5%以下であると推定された。クレトジムおよびエスフェンバレレートの大豆からの摂取量も実際の残留量と加工を考慮すると，TMDIの5%以下になると推定された。

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

：畜産食品中の残留農薬の暴露量評価に関し，昨年度に提案した国際機関等での畜産品への残留基準設定手順を基にした評価法，すなわち，GAP最大残留条件で農薬処理した際の飼料中の最高残留量またはMRLではなく，中央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の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て推定一日摂取量(EDI)を算定するという方法，の有効性を検証した。検証の対象にできたのは，畜産品に基準があり，ADIが判明している約170種の農薬のうち，畜産品からのTMDIのADI占有率の大きいもので，EDI評価に必要なデータが入手でき

た 25 農薬であった。提案した方法で評価した EDI は、大部分の農薬で TMDI の < 20% となり、提案の方法は有効な方法と考えられた。一部の農薬では TMDI から大きくは減らないものもあったが、それらは LOQ が畜産品の基準値に設定されているものであった。

2. 食品からのカドミウム暴露と健康影響に関する研究:

最も Cd 暴露が高い地域 F にて農家女性の腎機能および骨密度などを主体に、健康影響調査を行った。Cd 暴露に影響を与える喫煙者、腎臓疾患の既往者、および、骨密度に影響を与える女性性器疾患罹患者、性ホルモン製剤および副腎皮質ホルモン使用者などを解析対象者から除外した、350 名を対象に、血中および尿中の Cd 濃度と、尿中の α 1-および β 2-ミクログロブリン濃度、骨密度、尿中カルシウム濃度との関連を、年齢を独立変数として多変量解析した。この調査した集団では、Cd 暴露による骨密度低下への影響は見られず、カルシウム排泄量の増加も見られなかった。腎機能の低下に最も影響を与えるのは加齢であり、Cd 暴露指標は有意な因子とはならなかった。現行の暫定週間耐用摂取量を超える Cd 暴露を受けてきたと考えられる集団でも、明らかな腎機能障害の増悪は見られなかった。

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
一環境医学部門助教授

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薬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 $7\mu\text{g}/\text{kg}$ 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

B. 研究方法

分担研究 1-1

摂取量が多い米、小麦、大豆に適用があり、この 3 品目からの TMDI だけでも ADI を超

えるか大きな割合を占める農薬として、今年度はカルボフラン（玄米，大豆，小麦），クレトジム（大豆），エスフェンバレレート（大豆），マラチオン（玄米），マンゼブ（玄米，小麦）を調査対象農薬とした。これらの製剤を米国の4つの州の計5箇所の試験圃場で、水稻（ジャポニカ種），小麦（春小麦），大豆（在来種）に散布（マンゼブの水稻への処理は，種子処理）し，粳米，小麦，大豆を収穫した。製剤にはカルボフランは粒剤と水溶剤，クレトジム，エスフェンバレレート。マラチオンは乳剤，マンゼブはフロアブル剤とドライ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，すべて米国の適正農業規範（GAP）に準拠した。

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。

分析対象物質は我が国残留基準の残留定義に含まれているものと同一としたが，マンゼブの場合はETUも測定した。また，カルボフランについては，カルボフラン，3-OH・カルボフランのほか，3-keto・カルボフランも測定した。マンゼブは，木船らの報告を参考にしHPLC/UVで測定する分析法を開発した。

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最終案修正版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。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]

推定摂取量（EDI）の算定は昨年度報告書に記載した方法で行い，JMPRで評価されている農薬の場合，JMPRの評価書（FAO Plant Production and Protection Paper, Pesticide Residues in food - Evaluations）に記載のSTMRをEDI試算に使用した。また，肉の脂肪含量は，牛では20%，豚，家禽では10%とし，筋肉よりも脂肪の濃度の方が高い場合は，牛，豚，馬，山羊のすべてで肉中の脂肪含量を20%

として計算した。その逆の場合は脂肪含量を10%として計算した。

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

平成 15 年度の地域Eおよび地域Fで行われたトータルダイエツトスタディーおよび全国のトータルダイエツトスタディーの Cd 暴露を、新田らが行った方法を用いて、確率論的な方法 (Monte Carlo simulation) で推計した。さらに、これまでの全国 8 カ所の調査地域の中で、最も Cd 暴露が高い地域Fにて農家女性の腎機能および骨密度などを主体に、健康影響調査を行った。Cd 暴露に影響を与える喫煙者および、骨密度に影響を与える女性性器疾患罹患者、性ホルモン製剤および副腎皮質ホルモン使用者などを除外し、350 名を最終的な解析対象者 (閉経前期 41-48 歳: 48 名, 閉経移行期 49-55 歳: 93 名, 閉経後前期 56-65 歳: 126 名, 閉経後後期 66-75 歳: 68 名) とし、月経分類別に解析した。

C. 結果及び考察

分担研究1-1

精米によって、玄米中のカルボフラン (含量値) およびマラチオンのそれぞれ、50%と85%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 30~39%および 10~23%であった。両薬剤は米磨ぎと炊飯によって更に消失し、炊飯白米中の残留量は白米中の 1/20 以下、玄米中の数%以下となり、カルボフラン自体は、炊飯玄米および炊飯白米のいずれにおいても検出されなかった。マラチオ

ンの炊飯による消失率は、炊飯白米で白米残留量の 74~91%、炊飯玄米では玄米残留量の 61~74%であった。

小麦では、カルボフラン、マンゼブとも、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 3~23%であった。食パン、うどん、中華麵への 2 次加工では、カルボフランは小麦粉食パンでは検出されないが、全粒粉食パンでは玄麦中残留量のほぼ全量が残っていた。中華麵玉およびうどん玉への加工においても小麦粉中残留量は消失しなかった。マンゼブは加熱を伴う製パン過程では、全粒粉パンと小麦粉パンのいずれの場合も、ETU に顕著に分解した。すなわち、小麦粉には玄麦中残留量の 14~22%のマンゼブが残留していたが、小麦粉パンから検出されるマンゼブは玄麦中残留量の <11~7.7% となった。これは ETU への分解によるものであり、マンゼブと ETU (マンゼブ換算値) との合量値では 14~22%が残っていた。全粒粉パンでも、マンゼブは玄麦中残留量の 14~44%が、ETU (マンゼブ換算値) との合量値では 76~105%が残った。製麵では顕著な残留量の減少はなかった。また、ETU もほとんど生成しなかった。

大豆では、調査した 3 薬剤は浸漬大豆に大豆中残留量の約 60%以上残留した。豆腐にはエスフェンバレレートは検出されず、カルボフランおよびクレトジムは大豆中残留量の約 11~29%が移行した。

今回調査した全ての薬剤において、各試料での加工係数はそれぞれの移行率と同様の傾向を示した。

1~6 歳までの幼小児における米、小麦、大豆の 3 品目からの理論的一日最大摂取量は、厚生労働省の暫定基準を基にすると、ADI

(JMPR または厚生労働省) の、カルボフランでは 1.5 倍、マンゼブでは 0.8 倍 (米と小麦では 0.4 倍)、マラチオンでは 2.2 倍 (米と小麦では 2.1 倍) となる、GAP 範囲の 1 X 区で認められた残留量と、米については白米への、小麦では小麦粉への、大豆については豆腐への加工をそれぞれ考慮すると、この 3 品目からの 1 日摂取量はいずれも ADI の約 5% 以下と推定される。マラチオンの小麦と大豆については今回調査しなかったが、以前に行った同様な調査 (国内栽培、5X で実施) の結果と合わせて整理すると、ADI の 2% 以下と推定される。クレトジムは米、小麦に適用がなく、大豆のみの TMDI で ADI の 2 倍を超えるが、実残留濃度と豆腐への加工を考慮すると摂取量は 2% 程度になると推定される。エスフェンバレートの 3 品目からの TMDI は ADI を超えるが、エスフェンバレートならびにフェンバレートは日本と米国のいずれにおいても米および小麦への適用が登録されておらず、両作物での試験はできなかった。大豆からの摂取量は TMDI の 0.1% 程度になると算定される。

分担研究 1-2

畜産食品中の残留農薬の暴露量評価に関し、昨年度に提案した国際機関等での畜産品への残留基準設定手順を基にした推定一日摂取量 (EDI) 評価法、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 (牛では 8:2, 豚, 家禽では 9:1) 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の有効性を検証した。検証の対象にできたのは、畜産品に基準があり、ADI が判明している約 170 種の農薬のうち、畜産品からの TMDI の ADI 占有率の大きいもので、EDI 評価に必要なデータが入手できた 25 農薬であった。

提案した方法で評価した EDI は、大部分の農薬で TMDI の <20% となったが、一部の農薬では TMDI から大きくは減らず、ADI 比も 40% を超えたものもあった。それらのうちの 1 例 (ハロキシホップ) は、ADI が著しく低い (0.3 μ g/kg/d) ため、提案の推定法のみでは対応できないと判断されるものであったが、その他 (テルブホス、ピテルタノール) は、LOQ が基準値に設定されており、食餌由来一日負荷を大きく超える (>10 倍) 投与レベルで給餌試験をした場合でも暴露評価における残留量を LOQ で評価したことによるものであった。このような場合は、負荷に対応した LOQ 未満の値を暴露評価に採用することが適当と考えられた。

分担研究 2

月経分類別に比較検討した。

血中 Cd 濃度: E 地域、F 地域では米中カドミウム濃度の最も低かった A 地域に比べて明らかにそれぞれの月経分類で血中濃度は高かった。また、E 地域と F 地域との比較ではそれぞれの月経分類で E 地域が高い傾向があったが、閉経後後期で F 地域の方が高いことが明らかとなった。

尿中 Cd 濃度: すべての月経分類で E 地域より F 地域の方が高い平均値を示し、現在の Cd 暴露は E 地域の方が高いが、過去の Cd 暴露は F 地域の方が高かったと考えることが出来る。

骨密度, 尿中カルシウム濃度: 骨密度は加齢とともに低下していくが, 閉経後前期で, A 地域より E 地域は有意に低く, 閉経後後期で, A 地域より E 地域および F 地域は低かった。尿中カルシウム濃度では閉経前期, 閉経移行期, 閉経後前期で, A 地域より E 地域および F 地域は有意に高かった。

腎機能: 尿中 $\alpha 1$ -ミクログロブリン濃度は閉経移行期で F 地域がむしろ低く, 尿中 $\beta 2$ -ミクログロブリン濃度は, F 地域の閉経後期のみで A 地域より高くなっていた。この変化を総合的に評価すれば, 平均値の比較では腎機能には影響がないと考えられた。

骨密度, 尿中カルシウム濃度: 骨密度の大きな交絡因子である BMI(body mass index)と非利き手の握力は, 地域, 各月経階層で差がなかった。それぞれの交絡因子を調整するため, 骨密度(BMI)を従属変数とし, 年齢, BMI, 握力, Cd 暴露指標として対数変換した血中 Cd 濃度または対数変換した尿中 Cd 濃度 (クレアチニン補正後), 腎機能指標として対数変換した尿中 $\alpha 1$ -ミクログロブリン濃度 (クレアチニン補正後) または尿中 $\beta 2$ -ミクログロブリン濃度 (クレアチニン補正後) を独立変数として重回帰分析を行った。骨密度は年齢, BMI や握力には有意の相関がみられるが, Cd 暴露指標や腎機能指標とは相関していないことが明らかとなった。また, 尿中カルシウム濃度に関しては, 尿中 $\alpha 1$ -ミクログロブリン濃度または $\beta 2$ -ミクログロブリン濃度と相関が見られたが, カドミウム暴露指標とは相関は見られなかった。

D. 結論

残留農薬の暴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暴露量評価法の精密化, ならびに(3)農村女性の Cd 暴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): カルボフラン, クレトジム, エスフェンバレレート, マラチオン, マンゼブの TMDI は, 主要農産物の一部 (米, 小麦, 大豆) のみでも ADI の 0.8~2 倍 (幼児) 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暴露量は, 精米, 小麦粉への製粉, 豆腐への加工を考慮するだけでも顕著に小さくなる。

(2): 畜産品からの残留農薬の暴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暴露量を算定するとの昨年度提案の方法が有効であった。

(3): F 地域の被験者はこれまでの調査地域の中で, カドミウム暴露が最も高い集団であると見なされるが, カドミウム暴露による骨密度低下への影響は見られず, カルシウム排泄量の増加も見られなかった。

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) M. Saka, K. Iijima, M. Nishida, Y. Koma, N. Hasegawa, Y. Suzuki, Y. Kato: 11th IUPAC ICPC, Poster presentation (August) 「Effect of processing and cooking on the levels of pesticides in rice, soybean, and wheat」
- 2) 坂 真智子, 飯島和昭, 狛 由紀子, 長谷川直美, 加藤保博: 日本食品衛生学会第 92 回学術講演会・口頭発表 (10 月) 「小麦の加工・調理による残留農薬濃度変化に関する試験—第 2 報マンゼブー」

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

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

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：
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）

厚生労働省科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）
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、カルボフラン（玄米、大豆、小麦）、クレトジム（大豆）、エスフェンバレレート（大豆）、マラチオン（玄米）、マンゼブ（玄米、小麦）を対象農薬とし、米国の4つの州の5箇所の試験圃場で水稻、小麦、大豆を栽培し、これに米国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。玄米および小麦試料におけるマンゼブの分析方法を開発し、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、調査した大部分の農薬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。小麦粉中のマンゼブは製パン過程で分解してETUを生じた。暫定基準によるカルボフラン、マンゼブ、マラチオンの米、小麦、大豆（カルボフランのみ）からの理論的一日最大摂取量（TMDI；1~6歳幼小児）はADI（JMPR；マラチオンは厚生労働省）のそれぞれ1.5倍、0.8倍、2.1倍であるが、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、それらからの1日摂取量はTMDIの3%以下（それぞれ、2.9%、2%、0.8%）、ADIの5%以下（それぞれ、4%、2%、2%）と推定された。クレトジムおよびエスフェンバレレートの大豆からの摂取量も実際の残留量と加工を考慮すると、TMDIの5%以下になると推定された。

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
狛 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もの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、今年度はカルボフラン、クレトジム、エスフェンバレレート、マラチオン、マンゼブを対象農薬とした。

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 4 社，Mid-South Ag Research 社，Research 2000, Northern Plains Ag Research 社および Bennett Ag Research 社の、アーカンサス州、カリフォルニア州、アイオワ州、ノースダコダ州、ミズーリー州の計 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、エスフェンバレレート、マラチオン、カルボフラン、マンゼブ、およびクレトジムの製剤を、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、玄米、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) カルボフラン

カルボフランは多くの作物の幅広い虫に対して用いられる殺虫剤・殺線剤である。

水稻には収穫前約 60 日の分けつ期に粒剤を GAP 最大施用量の 5 倍量（3 lb ai/A）で 1 回散布した [Plot 2 (AR01), Plot 5 (CA01)]。

小麦と大豆には水溶剤を 2 回散布した。Plot 8 (ND01 小麦), Plot 11 (MO01 小麦), Plot 14 (AR02 大豆), Plot 17 (IA01 大豆) には GAP 最大施用量の 1 倍量(0.25 lb ai/A) を、Plot 9 (ND01 小麦), Plot 12 (MO01 小麦), Plot 15 (AR02 大豆), Plot 18 (IA01 大豆)には 5 倍量(1.25 lb ai/A) をそれぞれ 2 回散布した。小麦、大豆に実際に処理された施用量は計画量の 96~101% であった。最終散布から収穫までの期間（PHI）は、小麦で 21 または 22 日、大豆では 20 または 24 日であった。

2) クレトジム

クレトジムは大豆を含め幅広い作物の発芽から完熟前までの雑草に用いられる除草剤である。

クレトジム乳剤を大豆試料に 59~62 日の PHI で 1 回散布した。施用量は、Plot 15 (AR02), Plot 18 (IA01)には 1 X 倍量 (0.25 lb ai /A) を、Plot 14 (AR02), Plot 17 (IA01)には 5X 倍量 (1.25 lb ai /A)とした。実際の施用量は計画量の 100~102%であった。

3) エスフェンバレレート

エスフェンバレレートは、大豆も含め幅広い作物に用いられる殺虫剤である。

エスフェンバレレート乳剤を 20~24 日の PHI で散布した。施用量は Plot 14 (AR02), Plot 17 (IA01)には 1X 倍量 (0.05 lb ai /A), Plot 15 (AR02), Plot 18 (IA01)には 5X 倍量 (0.25 lb ai /A)とした。施用量は計画量の 96~100%であった。

4) マラチオン

マラチオンはアブラムシ・カイガラムシ・ハダニまた果物・野菜・観賞用植物につく虫に対して用いられる殺虫剤である。

マラチオン乳剤を水稻に 5 または 8 日の PHI で 5 回散布した [Plot 3 (AR01), Plot 6 (CA01)]。計画施用量は GAP 最大背用量の 1X 倍量 (2 lb ai /A)であり、実際の施用量はその 99.6~102%であった。

5) マンゼブ

マンゼブは畑作物・果物・野菜・堅果・商業用芝に用いる。防カビ剤であり、また穀物・畑作物の種子の処理にも用いられる。

水稻にはフロアブル剤を GAP 最大施用量の 1 倍量 [Plot 2 (AR01), Plot 5 (CA01)], または 5 倍量 [Plot 3 (AR01), Plot 6 (CA01)]を 1 回散布した。

小麦にはドライフロアブル剤を 26 または 27 日の PHI で 3 回散布した。施用量は、Plot 9 (ND01), Plot 12 (MO01)には 1 X 倍量 (1.6 lb ai /A), Plot 8 (ND01), Plot 11 (MO01)には 5X 倍量 (8 lb ai /A)とした。実際に処理された施用量は計画量の 96.7~101%であった。

2. 農薬および農薬代謝物標準品

2.1. カルボフラン (対象化合物: 図 1)

2.1.1. カルボフラン

林純薬工業製の農薬分析標準品 (99%) 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、200 mg/L 溶液を調製し、標準原液とした。

2.1.2. 3-keto カルボフラン

林純薬工業製の農薬分析標準品 (99%) 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、200 mg/L 溶液を調製し、標準原液とした。

2.1.3. 3-OH カルボフラン

林純薬工業製の農薬分析標準品 (99%) 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、200 mg/L 溶液を調製し、標準原液とした。

2.2. クレトジム (対象化合物: 図 1)

林純薬工業製の農薬分析標準品 (スルホン体, 99.6%)を用いた。この標準品を正確に量りとしてアセトニトリルで溶解し、200 mg/L 溶液を調製し、標準原液とした。

2.3. エスフェンバレレート (対象化合物：図1)

和光純薬工業製の農薬分析標準品 (99.9%) 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. マラチオン (対象化合物：図1)

和光純薬工業製の農薬分析標準品 (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、500 mg/L 溶液を調製し、標準原液とした。

2.5. マンゼブ (対象化合物：図1)

和光純薬工業製の農薬分析標準品 (91.0%) を用いた。この標準品を正確に量りとしてシステイン-EDTA 溶液で溶解し、200 mg/L 溶液を調製し、標準原液とした。

2.6. ETU (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メタノールで溶解し、200 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。

- ・システイン-EDTA 溶液：L-システイン塩酸塩一水和物 (和光純薬工業製) 11.14 g と EDTA ニナトリウム (和光純薬工業製) 11.07 g に水 160 mL を加えて溶解

した後、12 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 (約 14~15 mL) を用いて、pH9.6 に調整したものを使用。

- ・システイン/アセトニトリル溶液：L-システイン塩酸塩一水和物 2.5 g にアセトニトリル 150 mL を加えて、超音波洗浄機を15分間かけたものを使用。
- ・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)
- ・C₁₈ ミニカラム：Bond Elut C₁₈, 1 g/6 mL (Varian 製)
- ・シリカゲルミニカラム：Sep-Pak シリカゲルカートリッジ，プラス (Waters 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)
- ・アルミナミニカラム：Sep-Pak アルミナNカートリッジ，プラス (Waters 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)
- ・遠心分離機：KUBOTA7930 (久保田製作所製)
- ・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)
- ・籾摺り器：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 (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 (UV 検出器) シリーズ (株式会社島津製作所)

5. 機器操作条件

5.2. ガスクロマトグラフの操作条件

5.2.1. カルボフラン, 3-keto-カルボフラン

カラム：Rtx-5 (Restek 製), 内径 0.53 mm, 長さ 15 m, 膜厚 1.0 μ m

温度：カラム 50 $^{\circ}$ C 1 min-10 $^{\circ}$ C/min-220 $^{\circ}$ C 2 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

5.2.2. 3-OH-カルボフラン

5.2.2.1. 小ふすまおよび中華麺玉以外の試料

カラム：Rtx-5 (Restek 製), 内径 0.53 mm, 長さ 15 m, 膜厚 1.0 μ m

温度：カラム 80 $^{\circ}$ C 1 min-10 $^{\circ}$ C/min-220 $^{\circ}$ C 10 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

5.2.2.2. 小ふすまおよび中華麺玉試料

カラム：Rtx-5 (Restek 製), 内径 0.53 mm, 長さ 30 m, 膜厚 1.5 μ m

温度：カラム 80 $^{\circ}$ C 1 min-10 $^{\circ}$ C/min-220 $^{\circ}$ C

10 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

5.2.3. エスファンバレレート

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 265 $^{\circ}$ C, 注入口 280 $^{\circ}$ C, 検出器 300 $^{\circ}$ C

ガス流量：キャリアー (He) 20.9 mL/min, 空気 60 mL/min, 水素 3 mL/min
 注入量：2 μ L

5.2.4. マラチオン

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 200 $^{\circ}$ C, 注入口 250 $^{\circ}$ C, 検出器 280 $^{\circ}$ C

ガス流量：キャリアー (He) 20.9 mL/min, 空気 60 mL/min, 水素 3 mL/min
 注入量：2 μ L

5.3. 高速液体クロマトグラフの操作条件

5.3.1. マンゼブ

カラム：L-column ODS (化学物質評価研究機構製), 内径 4.6 mm, 長さ 250 m

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

溶離液：水/アセトニトリル (60:40, v/v)

流速：1.0 mL/min

測定波長：272 nm

注入量：20 μ L

5.3.2. ETU

カラム：CAPCELL PAK C₁₈ AQ
(資生堂製)，
内径 4.6 mm，長さ 250 mm
カラム温度：40℃
溶離液：水/メタノール (98:2, v/v)
流速：0.8 mL/min
測定波長：240 nm
注入量：10 μL

5.3.3. クレトジム

カラム：L-column ODS
(化学物質評価研究機構製)，
内径 4.6 mm，長さ 250 mm
カラム温度：40℃
溶離液：メタノール/水/リン酸
(60:40:0.1, v/v/v)
流速：1.0 mL/min
測定波長：励起 254 nm
注入量：20 μL

6. 加工調理および分析試料の調製

6.3. 米

付表 2 に詳細を示すように、籾米(穀粒)を脱穀して玄米と籾殻に分離したのち、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。籾米(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 試験溶液調製 (抽出・精製) 方法

7.1.1. カルボフランおよび 3-keto-カルボフラン

概要を図 2-1 のフローシートに示す。

7.1.1.1. 玄米, 白米, 水洗玄米, 水洗白米 および糠

前処理し均質化した試料 10 g (糠は前処理せず 2 g) を採取した後, これにリン酸緩衝液 [1/15mol/L Na_2HPO_4 +1/15mol/L KH_2PO_4 (95:5, v/v)] 20 mL, 0.1mol/L 硝酸銀 2 mL を加え, 室温で 30 分間放置する。アセトン 100 mL 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°C 以下で減圧濃縮し, アセトンを留去する。これに水 100 mL および塩化ナトリウム 10 g を加え, ジクロロメタン 100 mL, 50 mL 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°C 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°C 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/酢酸エチル(90:10, v/v)混液 10 mL を 2 回に分けて (5+5 mL) 加え溶解し, あらかじめヘキサン/酢酸エチル(90:10,

v/v) 混液 5 mL で洗浄したシリカゲルミニカラムに移し流下する。次にヘキサン/酢酸エチル (80:20,v/v)混液 25 mL を流下して, 溶出液を分取する。溶出液を 40°C 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乾固させ, アセトンに溶解して試験溶液とした。

7.1.1.2. 炊飯玄米および炊飯白米

試料 20 g を採取した後, これにリン酸緩衝液 [1/15mol/L Na_2HPO_4 +1/15mol/L KH_2PO_4 (95:5,v/v)] 20 mL, 0.1mol/L 硝酸銀 2 mL, アセトン 80 mL を加え, ホモジナイザーで研磨均一化し, シャフトに付着した試料をアセトン 20 mL で洗い, 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, ロータリーエバポレーターを用いて 40°C 以下で減圧濃縮し, アセトンを留去する。これに水 100 mL および塩化ナトリウム 10 g を加え, ジクロロメタン 100 mL, 50 mL 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°C 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°C 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/酢酸エチル(90:10, v/v)混液 10 mL を 2 回に分けて (5+5 mL) 加え溶解し, あらかじめヘキサン/酢酸エチル(90:10, v/v)混液 5

mL で洗浄したシリカゲルミニカラムに移し流下する。次にヘキサン/酢酸エチル(80:20, v/v)混液 25 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乾固させ、アセトンに溶解して試験溶液とした。

7.1.1.3. 玄米とぎ汁, 白米とぎ汁および浸漬水

試料 50 mL を採取する。これに水 50 mL および塩化ナトリウム 10 g 加え、ジクロロメタン 100 mL, 50 mL 各 5 分間で振とう抽出する。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、ロータリーエバポレーターを用いて 40℃以下で減圧濃縮して約 1 mL とし、最後は窒素気流を吹き付け乾固させる。これにヘキサン/酢酸エチル(90:10, v/v)混液 10 mL を 2 回に分けて (5+5 mL) 加え溶解し、あらかじめヘキサン/酢酸エチル(90:10, v/v)混液 5 mL で洗浄したシリカゲルミニカラムに移し流下する。次にヘキサン/酢酸エチル(80:20, v/v)混液 25 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. 大豆, 浸漬大豆, 豆腐, おから, 豆乳, 非凝固液, 末粉および 60%粉

前処理し均質化した試料 10 g (豆乳, 非凝固液は前処理せず 20 mL, 末粉, 60%粉は前処理せず 10 g) を採取し、これにリン酸緩衝液 [1/15 mol/L Na_2HPO_4 +1/15 mol/L KH_2PO_4 (95:5, v/v)] 20 mL, 0.1 mol/L

硝酸銀 2 mL を加え、室温で 30 分間放置する。アセトン 100 mL 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、ろ液を合わせたものをアセトンで 200 mL に定容する。これを半量分取し、水 100 mL および塩化ナトリウム 5 g を加え、ジクロロメタン 50 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/酢酸エチル(90:10, v/v)混液 10 mL を 2 回に分けて (5+5 mL) 加え溶解し、あらかじめヘキサン/酢酸エチル(90:10, v/v)混液 5 mL で洗浄したシリカゲルミニカラムに移し流下する。次にヘキサン/酢酸エチル (80:20, v/v)混液 25 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乾固させ、アセトンに溶解して試験溶液とした。

7.1.1.5. 大ふすまおよび小ふすま

試料 2 g を採取した後、これにリン酸緩衝液 [1/15 mol/L Na_2HPO_4 +1/15 mol/L KH_2PO_4 (95:5, v/v)] 20 mL, 0.1 mol/L 硝酸銀 2 mL を加え、室温で 30 分間放置する。アセトン 80 mL 加え、ホモジナイザーで研磨均一化し、シャフトに付着した試料をア

セトン 20 mL で洗い、洗液を合わせ、15 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、ろ液を合わせたものをアセトンで 200 mL に定容する。これを半量分取し、水 100 mL および塩化ナトリウム 5 g を加え、ジクロロメタン 50 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°C 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る。ヘキサン 20 mL を 3 回に分けて (10+5+5 mL) 加え溶解し、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°C 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る。これをヘキサン/酢酸エチル(90:10,v/v) 混液 10 mL を 2 回に分けて (5+5 mL) 加え溶解し、あらかじめヘキサン/酢酸エチル(90:10, v/v)混液 5 mL で洗浄したシリカゲルミニカラムに移し流下する。次にヘキサン/酢酸エチル(80:20, v/v)混液 25 mL を流下して、溶出液を分取する。溶出液を 40°C 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乾固させ、アセトンに溶解して試験溶液とした。

7.1.1.6. 中華麺玉およびうどん玉

試料 10 g を採取した後、これにリン酸緩衝液 [1/15 mol/L Na_2HPO_4 +1/15 mol/L KH_2PO_4 (95:5,v/v)] 20 mL, 0.1mol/L 硝酸銀 2 mL, アセトン 80 mL 加え、ホモジナイザーで研磨均一化し、シャフトに付着した試料をアセトン 20 mL で洗い、洗液を合

わせ、15 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、ろ液を合わせたものをアセトンで 200 mL に定容する。これを半量分取し、水 100 mL および塩化ナトリウム 5 g を加え、ジクロロメタン 50 mL で 2 回、各 5 分間振とう抽出する。ジクロロメタン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°C 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る。ヘキサン 20 mL を 3 回に分けて (10+5+5 mL) 加え溶解し、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°C 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る。これをヘキサン/酢酸エチル(90:10, v/v)混液 10 mL を 2 回に分けて (5+5 mL) 加え溶解し、あらかじめヘキサン/酢酸エチル(90:10, v/v)混液 5 mL で洗浄したシリカゲルミニカラムに移し流下する。次にヘキサン/酢酸エチル (80:20, v/v)混液 25 mL を流下して、溶出液を分取する。溶出液を 40°C 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乾固させ、アセトンに溶解して試験溶液とした。

7.1.2. 3-OH・カルボフラン

概要を図 2-2 のフローシートに示す。

7.1.2.1. 玄米, 白米, 水洗玄米, 水洗白米, 糠, 炊飯玄米, 炊飯白米, 大豆, 浸漬大豆, 豆腐, おから, 豆乳, 玄麦, 60%粉, 大ふすま, 小ふすま, 末粉および食パン (60%粉, 全粒粉)