

厚生労働科学研究費補助金研究  
(食品の安心・安全確保推進研究事業)

## 【検査機関の信頼性確保に関する研究】

### 平成18年度 総括・分担研究報告書

#### ■主任研究者

財団法人 食品薬品安全センター 遠 藤 明

#### ■分担研究者

大阪府立公衆衛生研究所 田 中 之 雄

星薬科大学 薬品分析化学教室 中 澤 裕 之

社団法人 日本食品衛生協会 松 木 容 彦

国立医薬品食品衛生研究所 米 谷 民 雄

国立医薬品食品衛生研究所 渡 邊 敬 浩

国立医薬品食品衛生研究所 町 井 研 士

財団法人 食品薬品安全センター 大 島 赴 夫

平成19年(2007年)4月

## 目次

I.	総括研究報告	
	検査機関の信頼性確保に関する研究 -----	1
	遠藤 明	
II.	分担研究報告	
1.	農薬等のポジティブリスト化に伴う検査の精度管理に関する研究 -----	19
	田中之雄	
2.	ベンゾフェノン類による環境・生体汚染モニタリングと分析法の精度評価 -----	123
	及び食品香料のキラル純度評価に関する研究	
	中澤裕之	
3.	市販農薬標準品の純度比較に関する研究 -----	130
	松木容彦	
4.	食品中ダイオキシン類検査の外部精度管理用 -----	146
	適正調査試料の作製および評価法の検討	
	米谷民雄	
5.	組換え DNA 技術応用食品検査の信頼性確保に関する研究 -----	154
	渡邊敬浩	
6.	貝毒検査の外部精度管理用適正調査試料の作製と -----	170
	信頼性確保に関する研究	
	町井研士	
7.	食品外部精度管理調査における適正調査試料作製と -----	187
	信頼性確保に関する研究	
	大島赴夫	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表 -----	224
IV.	研究成果の刊行物 -----	228

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)

「検査機関の信頼性確保に関する研究」

平成 18 年度

総括研究報告書

主任研究者 遠藤 明

平成 19 年(2007 年)4 月

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）

検査機関の信頼性確保に関する研究

総括研究報告書（平成 18 年度）

主任研究者 遠藤 明 財団法人食品薬品安全センター 理事長

#### 研究要旨

輸入食品の急増、国内における広域流通食品の増加により多種多様な食品を検査対象とした食品衛生検査が実施されており、食品の安全性を確保するためには、病原微生物、残留農薬、動物用医薬品、遺伝子組換え食品、アレルギー性物質、貝毒、ダイオキシン類を含む汚染有機化学物質など多くの検査項目についての的確な検査が行われなければならない。検査の実施にあたっては、標準品の品質レベルや表示が適正でなければならず、国際標準化も開始され、併せて検査精度に関する検討も求められている。したがって、検査機関における検査結果の信頼性確保システムの構築は、必要不可欠な状況にあり、信頼性を担保するうえでの精度管理の実施体制を充実させる必要がある。さらに、食品衛生検査施設における検査等の業務管理要領の改正に伴い、「検査の信頼性確保のための精度管理（内部精度管理および外部精度管理）」を定期的実施するように計画の作成が要求されている。精度管理の実施にあたっては、適正な評価のための適切な調査試料が必要であるが、これにはより実際の食材に近い調査試料の開発が求められている。また、精度管理実施体制の整備や適正な精度管理用調査試料の開発と提供、およびこれを用いた精度管理の実施は、検査機関の検査精度の確認ならびに検査結果の信頼性確保に重要な役割を果たし、食品の安心・安全確保に大きく貢献するものと考えられる。本年度は、1.農薬等のポジティブリスト化に伴う検査の精度管理に関する研究（田中分担研究）、2.ベンゾフェノン類による環境・生体汚染モニタリングと分析法の精度評価および食品香料のキラル純度評価に関する研究（中澤分担研究）、3.市販農薬標準品の純度比較に関する研究（松木分担研究）、4.食品中ダイオキシン類検査の外部精度管理用適正調査試料の作製および評価法の検討（米谷分担研究）、5.組換え DNA 技術応用食品検査の信頼性確保に関する研究（渡邊分担研究）、6.貝毒検査の外部精度管理用適正調査試料の作製と信頼性確保に関する研究（町井分担研究）、7.食品衛生外部精度管理調査における適正調査試料の作製と信頼性確保に関する研究（大島分担研究）の 7 研究課題を実施したので、その成果を報告する。

分担研究者名＝田中之雄（大阪府立公衆衛生研究所食品化学課長）、中澤裕之（星薬科大学教授）、松木容彦（（社）日本食品衛生協会食品衛生研究所検査センター長）、米谷民雄（国立医薬品食品衛生研究所食品部長）、渡邊敬浩（国立医薬品食品衛生研究所研究員）町井研士（国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部第二室長）、大島赴夫（（財）食品薬品安全センター秦野研究所部長）

#### A. 研究目的

輸入食品や国内食品の流通段階においてヒトの健康に悪影響を与える恐れのある様々な危害物質等を行政検査により検査・確認し国民の食生活に安全と安心を提供することは、食品安全確認行政の重要な課題であり、その一貫として食品衛生に係わる検査施設の精度管理や検査成績の信頼性を確保することは必要不可欠である。平成15年5月の食品衛生法の改正により一定の検査能力を有する民間法人にも食品衛生検査への参入が認められることとなり、多くの食品衛生検査機関から提出される検査成績の信頼性を確保するために食品衛生検査機関に対する外部精度管理体制の充実を図ることは重要な課題である。加えて国内外を問わず環境汚染化学物質等の食品汚染は重大な社会的関心事のひとつであり、それら汚染物質による食品の汚染状況を把握し、その分析法の開発、検査方法のバリデーションの検討、ならびに危害物質等に係わる精度管理の実施は、行政の取り組むべき重要かつ緊急な課題として挙げられる。先の食品衛生法の一部改正に伴い導入された食品衛生検査機関に対する理化学的検査ならびに微生物学的検査の外部精度管理調査については、その進め方や得られた結果の基

本的な評価方法について構築してきたが、実食材を基材とする高品質な調査試料の作製、適切な評価方法の選定、信頼性の高い認証値の付与などは、特に難しい課題として継続した検討が必要である。また、これまでの微生物学的検査における調査結果より日常実施されている検査法の問題点も浮上している。貝毒検査、組換えDNA食品検査、食品中ダイオキシン類検査、ならびにアレルギー食品検査に係わる外部精度管理調査も基本的な問題点を解決しながら、精度管理体制のより一層の充実化を図ることが必要であると考えられる。これらに加えて残留農薬、動物用医薬品、飼料添加物のポジティブリスト制（平成18年5月29日施行）に伴い、食品中の有機汚染物質（残留農薬、動物用医薬品、ベンゾフェノン類など）の検討は、環境由来食品汚染物質のモニタリング、リスク評価、分析法の検討とそのバリデーションにより国際的にも優れた水準の外部精度管理体制の構築が期待される。また、これらの測定法の国際標準化に対応すべく、市販農薬標準品について、それらの純度の確認ならびに比較検討を行い、標準品の純度を統一することは、検査精度や信頼性確保に大きく貢献する基本的課題でもある。これらの検討により精度管理システムの整備、ならびに精度管理のための適正調査試料の作製検討とその提供により食品衛生に係わる検査機関から提出される検査成績の信頼性確保をより充実させ、円滑な行政活動に資することが当研究班の目的である。

#### B. 研究方法

1. 田中分担研究： かぼちゃ、にんじん

およびほうれん草ペーストを基材として農薬（アトラジン、チオベンカルブ、プロフェジン、メタラキシル、エチオン、プロピサミド、マラチオン、メタラキシル、テルブホス等）を添加した試料を作製し、検査協力機関（9 機関）に配布して検査を実施した。また同様に野菜ペーストに 0.1ppm となるように農薬混合標準液を添加した内部精度管理試料を作製し、検査協力機関に送付した。なお、内部精度管理試料については 1 食材につき 3 機関とした。検査方法は各機関で通常行っている標準操作手順書（SOP）に従って実施し、検査回数は 5 回とした。なお、結果の評価方法は、報告された定量値について統計処理を行い、これについて  $\bar{X}-R$  管理図、 $z$ -スコアにより行った。2. 中澤分担研究：1) スターバー抽出法によるベンゾフェノン類の測定—ポリジメチルシロキサンがコーティングされたガラス製攪拌子を用いて対象物質を抽出し（スターバー抽出法）、加熱脱着装置の搭載された GC/MS で測定した。2) 食品香料の純度試験—市販されているボルネオールおよびイソボルネオール（計 7 種）の標準品を検査対象とし、純度試験は GC-水素炎イオン化検出器（FID）を用いた。なお評価方法は各標準品 100mg を正確に量り取り、アセトン 100mL に溶解させ、これを被験物質溶液とした。各被験物質溶液について得られた GC のクロマトグラム上の被験物質および不純物ピークの総面積に対する被験物質面積比を求め、計 5 回の平均値を含量（%）とした。3. 松木分担研究：各メーカーから市販されている残留農薬標準品 34 物質を検査対象とした。純度測定のための使用機器は、検出器の特性を考慮し、

HPLC—紫外分光高度型検出器（UV）および GC—水素炎イオン化検出器（FID）を用いた。また、HPLC に多波長検出器（PDA）を接続し、測定波長以外の波長で検出される不純物質の確認を行った。標準溶液（被験溶液）の調製は、採取した標準品を各溶媒で 100mL 容褐色メスフラスコに移し入れ、100mL に定容し、1000 $\mu$ g/mL 溶液を調製し、被験溶液とした。また、溶解液は GC 測定溶液ではアセトン、HPLC 測定溶液ではアセトニトリルとした。ただし、溶解できない場合にはその他の溶媒を用いて溶解性について検討することとした。なお、低濃度溶液は、被験溶液を適宜希釈して作製して被験溶液の 1 万分の 1 の低濃度溶液（0.1 $\mu$ g/mL）に調整し、SN10 程度を満たすこととし、それより小さい場合には、0.5、1、2 $\mu$ g/mL と順次濃度を上げていき、SN10 程度を満たす濃度の溶液を低濃度溶液と定めた。GC による測定は、低濃度溶液、3 社の被験溶液の順でそれぞれ 5 回、GC-FID による測定を行った。また、HPLC による測定は、同様に低濃度溶液、3 社の被験溶液の順でそれぞれ 5 回、HPLC-UV-PDA による測定を行った。試験結果の処理は、SN 比の算出法により、被験物質ピークの前後 30 秒に現れるノイズの最大値（E1）と最小値（E2）との幅の 2/5 をノイズ幅（N）とした。一方、ノイズの中央値（C）をベースラインとし、ベースラインのノイズを元にピークトップ（D）を決めて、この幅をピーク高さ（S）とした。不純物質ピークの採否については、各被験物質の低濃度溶液を 5 回繰り返し測定して得られたピーク面積の平均値を基準とし、それ以上の面積を有するピークを不純物として採用した。含量

の計算は、各被験物質（1000 $\mu$ g/mL 溶液）または直線性を示すまで希釈した溶液について得られた HPLC および GC のクロマトグラム上の被験物質および不純物質ピークの総面積に対する被験物質面積比を求め、5 回の平均値を被験物質の含量 (%) とした。また、含量比較は、各標準品の HPLC および GC による測定から求められた含量と、各メーカーの純度表示値または添付情報より得た標準品の純度表示値とを比較し、それらの表示値に対する含量比 (%) を求めた。

4.米谷分担研究：魚（カレイ）の筋肉部を均一に混合し粉末としたものを調査試料とし、分析機関（5 機関）に配布して技能試験を行った。結果の評価は、5 機関からの報告値について頑健な平均、標準偏差、相対標準偏差を求めた。なお、頑健な統計量の算出には ISO 5725 Part-5 の algorithm A を用いた。また通常の統計量と頑健な統計量を用いた 2 種類の z-スコアを計算し比較を行った。

5.渡邊分担研究：GM 大豆および non-GM 大豆をそれぞれ高速遠心粉砕機で粉砕した後、凍結乾燥を行った。混合粉体試料の作製は GM 大豆に各種 non-GM 大豆を加え 1% および 5% の重量比となるように調製した。混合 DNA 試料は、GM 大豆粉体試料および各種 non-GM 大豆粉体試料から DNA をそれぞれ抽出し、1% および 5% となるように DNA 重量として混合することにより調製した。なお、DNA の抽出には GM quicker 法もしくは DNeasy Plant Mini Kit を用いた方法を改変して行った。Non-GM 大豆 10 種および GM 大豆から抽出した DNA についてアガロースゲル電気泳動により分離し、エチジウムブロマイドで染色した後、UV 照射装

置上で画像解析を行った。さらに定量 PCR 法による定量値の比較を行った。

6.町井分担研究：下痢性貝毒検査用調査試料の作製のため、バイアルあるいはろ紙にオカダ酸を吸着させた後、これを冷凍、冷蔵、室温の 3 種の条件下で保存した後、蛍光 HPLC 法およびマウスバイオアッセイにより測定した。また、オカダ酸の加熱処理は、ヒーティングブロック内にバイアルを静置することにより行った。なお、このときの加熱温度は 50~150 $^{\circ}$ C、加熱時間は 48 時間以内とした。加熱処理後の回収率は  $n=5$  で測定することにより行った。

7.大島分担研究：1)理化学調査用試料の作製— 重金属（カドミウム）検査試料はカドミウム高濃度添加玄米を作製し、カドミウム濃度を原子吸光光度法により測定した後、これにカドミウム無添加玄米を混合し、粉砕することにより作製した。有機リン系残留農薬検査用試料の作製は、かぼちゃおよびサツマイモペーストを用いた。これに EPN、クロルピリホス、ダイアジノン、フェニトロチオン、フェンチオン、マラチオンを加え、攪拌することにより作製した。なお、均一性の測定はガスクロマトグラフ法を用いた。残留動物用医薬品検査用試料は、ミンチ状とした食肉にサルファ剤 8 種（スルファジジン、スルファメラジン、スルファジミジン、スルファモノメトキシシ、スルファメトキサゾール、スルファジメトキシシ、スルファキノキサリン、スルファメトキシピダジン）を含むメタノール溶液を添加し、よく混合することにより作製した。なお、測定法は食品衛生法に準拠し、高速液体クロマトグラフにより行った。

2)微生物学調査用試料の作製— 大腸菌群検査用調査試

料として市販の4種の魚肉練り製品（ちくわ2種、つみれ、かまぼこ）を採用し、これに *Klebsiella oxitoca* または *Acinetobacter calcoaceticus* を接種し、冷蔵で28日間保存した。これらの調査試料について経時的に生菌数測定を行った。また菌液接種28日後については公定法に従い大腸菌群検査を行い、各種培地での増菌の有無、ガス産生等について確認した。3)アレルギー関連物質検査用調査試料の作製—タンパク質の定量は化学的方法には2-D Quant Kitを使用した。また、免疫化学的方法（ELISA法）は卵タンパク質の測定にはモリナガ FASPEK 卵測定キット（卵白アルブミン）、FASTKIT エライザ Ver. II 卵を、牛乳タンパク質の測定には、モリナガ FASPEK 牛乳測定キット（カゼイン）、FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳を使用し、通知法に従って操作した。精度管理試料の作製は以下のとおりとした。すなわち、卵は Egg Solids、乳はスキムミルク粉末を厚生労働省の通知の標準品規格に従って抽出し、自家製抽出液とした。次に、食材をフードプロセッサで均一化後、1gを50mL容の遠沈管に量り取り、自家製抽出液をタンパク質量として約5または10 $\mu$ g添加した。牛乳については高濃度標準溶液を同様に添加した試料も作製した。また別途、市販の乾燥マッシュポテト、ゲル化剤およびPBSを混合した模擬食材に全卵またはスキムミルク粉末の水溶液を卵または牛乳タンパク質量として約10 $\mu$ g/gとなるように添加して調製した。

### C. 研究結果

#### 1. 田中分担研究： 調製した試料中の各農

薬検査項目は、設定添加量に対して平均回収率91.5~98.9%、変動係数1.5~6.7%であり、いずれの農薬についても変動係数が10%以内と小さいことから、設定濃度に近似した試料を調製することができた。また試料の均一性について一元配置分析を行ったところ、試料間に有意差は認められず均一性が確認された。添加農薬の検出については、かぼちゃ（アトラジン、チオベンカルブ、ブプロフェジン、メタラキシル）、にんじん（エチオン、プロピサミド、マラチオン、メタラキシル）、ほうれん草（クロロピリホス、テルブホス、フルシトリネート）より全機関が正しく検出した。また、それぞれの機関の5回測定値の平均値に異常値は認められなかった。かぼちゃペースト中のアトラジンのGC/MSによる測定値は添加量に対して95%を示し、zスコアが1機関で2以上であったが、LC/MS/MSによる測定値は添加量に対して106.7%を示し、R管理図において1機関が適正域を外れた。チオベンカルブのGC/MSによる測定値は添加量に対して104.7%を示し、R管理図において1機関が適正域を外れたが、LC/MS/MSによる測定値は添加量に対して109.7%を示し、R管理図において1機関が適正域を外れた。ブプロフェジンのGC/MSによる測定値は添加量に対して85.8%を示し、LC/MS/MSによる測定値は添加量に対して89.7%を示した。なお、結果は両者において全機関で結果は良好であった。メタラキシルのGC/MSによる測定値は添加量に対して94.3%を示し、zスコアが1機関で2以上であったが、LC/MS/MSによる測定値は添加量に対して101.6%を示し、R管理図において1機関が適正域を外れた。に

んじんペースト中のエチオンの GC/MS による測定値は添加量に対して 82.4%を示し、R 管理図において 1 機関が適正域を外れたが、LC/MS/MS による測定値は添加量に対して 86.1%を示し、R 管理図において 1 機関が適正域を外れた。プロピサミドの GC/MS による測定値は添加量に対して 85.9%を示し、R 管理図および z-スコアにおいて 1 機関が適正域を外れたが、LC/MS/MS による測定値は添加量に対して 94.4%を示し、全機関で結果は良好であった。マラチオンの GC/MS による測定値は添加量に対して 82.8%を示し、LC/MS/MS の測定値は添加量に対して 87.3%を示した。なお、両者において全機関で結果は良好であった。メタラキシルの GC/MS による測定値は添加量に対して 91.1%を示し、LC/MS/MS による測定値は添加量に対して 98.1%を示した。なお、両者において全機関で結果は良好であった。ほうれん草中のクロルピリホスの GC/MS による測定値は添加量に対して 102.8%を示し、Xbar 管理図、R 管理図および z-スコアで 1 機関が適正域を外れたが、LC/MS/MS による測定値は添加量に対して 86.5%を示し、全ての機関で結果は良好であった。テルブホスの GC/MS による測定値は添加量に対して 104.5%を示し、Xbar 管理図において 2 機関が上部境界線を超えたが、LC/MS/MS による測定値は添加量に対して 90.6%を示し、全機関が結果は良好であった。フルシトリネートの GC/MS による測定値は添加量に対して 84.0%を示し、Xbar 管理図において 1 機関が上部境界線を超えたが、LC/MS/MS による測定値は添加量に対して 83.8%を示し、全機関が結果は良好であっ

た。メタラキシルの GC/MS による測定値は添加量に対して 90.1%を示し、R 管理図で 1 機関が適正域を外したが、LC/MS/MS による測定値は添加量に対して 100.5%を示し、Xbar 管理図および R 管理図で 1 機関が適正域を外れた。また内部精度管理として添加回収試験を行ったところ、かぼちゃでは平均回収率が 90.3~101.8%、にんじんでは 80.8~97.0%、ほうれん草では 91.8~97.6%と良好であった。さらにこのときの HorRat 値は 1 未満であり、各機関の分析法の妥当性が確認された。2.中澤分担研究：1)スターバー抽出法によるベンゾフェノン類の測定— 河川水についてベンゾフェノン (BP) 類を測定したところ、BP-10 は検出限界以下であったが、BP は 21.0 および 22.8pg/mL、BP-3 は 8.9 および 12.0pg/mL が検出された。一方、尿試料を用いて同様に測定したところ、BP-3 が ND~12.0ng/mL、BP-10 が ND~1.5ng/mL、BP-OH が ND~3.7ng/mL であった。2)食品香料の純度試験— ボルネオールおよびイソボルネオールについて純度試験を行ったところ、概ね表示値に近い値となった。また関東化学のボルネオールに含まれる不純物質はイソボルネオールであることを確認した。同様にキラル純度試験を行ったところ、和光純薬工業および関東化学製ボルネオールはボルネオールおよびイソボルネオールのラセミ体で、シグマアルドリッチのイソボルネオールはイソボルネオールのラセミ体として存在していることを確認した。また表示名に R 体、S 体の指定がある標準品については、概ね表示値どおりの結果となった。3.松木分担研究：メーカーにより提供されている標準品の純度表示値が

通知試験法中に示す純度を満たしているか検討したところ、57物質中47物質については規格値を満たしていた。また、HPLCとGCの測定結果を規格値と比較すると、HPLCでは57物質中48物質、GCでは56物質中45物質については純度規格を満たしていた。さらに、含量比については、約8割の純度測定結果が各メーカーの純度表示値と同等の純度を示した。HPLC分析では、純度測定の際に選択した波長の違いにより、メーカーの表示純度とは異なる結果が得られた標準品も認められた。このうち、フェノカルブについて見ると、A社およびB社とともにHPLC-UVを用いて純度表示を行っているが、2社ではその測定波長が異なっている。今回、A社の採用している波長に近い波長で測定したところ、A社の表示している純度は今回の測定結果と同等であったが、B社の表示している純度は4%程度低い値を示した。このように、標準品によっては測定波長を変えたときに目的物質と不純物質の強度比の変化が認められ、純度表示に際しては、事前の検討において波長を変えて不純物質の有無について十分に調べることが重要であることが示された。さらに、別途14物質についても同様に純度試験を行ったところ、ほぼ全ての標準品で表示純度の±2%以内の純度が得られた。これに対して、GC-FIDで測定したカルベタミドは、表示純度の50%未満であった。GC-MSによりカルベタミドを測定し、ピークの同定を行ったところ、カルベタミドおよび熱分解物であるフェニルイソシアネートが確認された。

4. 米谷分担研究：PCDD、PCDFではRSD%が数%程度から70%以上の異性体があり、異性体間で室間

精度が異なった。また、PCBについてはほとんどが30%程度のRSD%であったが、2',3,4,4',5-PeCBは150%のRSDとなった。TEQのRSDは4%であった。頑健な統計量を計算すると、2',3,4,4',5-PeCBのRSD%は55%となった。このとき5機関中1機関で他の機関の10倍以上の値を報告していた。またその他の異性体では他の機関とかけ離れた値を報告した機関はなく、通常の統計量と頑健な統計量はほぼ一致した。通常の統計量を用いて計算した各異性体のzスコアには3を超える値は現れず、外部精度管理の評価では全ての機関で問題ないと評価されたが、頑健な統計量により計算したzスコアでは1機関の2',3,4,4',5-PeCBが15を超える値となり、この機関の分析結果が満足できるレベルにないことが示された。

5. 渡邊分担研究：10種のnon-GM大豆およびRRS粉体試料から改変GM quicker法を用いてDNAを抽出し、アガロースゲル電気泳動を行った結果、19kbp以上の明瞭なバンドが観察されるとともに、そのバンドから低分子方向に薄い帯をひくスメアが観察された。また、品種間でバンドの強度ならびにスメアの程度に明瞭な差は認められなかった。RRSを1%または5%で含む10品種のnon-GM大豆をマトリクスとした混合粉体試料から上記方法によりDNAを抽出した。さらにDNAの質を評価するために200~320nmの波長域で吸光度を測定し、OD260/280nmの比(タンパク質残存の指標)、OD260/230nmの比(糖類残存の指標)を使用して判断した。その結果、タンパク質についてはIA3006およびタンレイをマトリクスとする試料を除く試料については1.8を超える結果が得

られたことから、タンパク質については良好な精製が行われたと判断できた。一方、糖類については IA3006 およびタンレイ、あやこがねをマトリクスとした試料で基準を下回る結果となり、特に IA3006 およびタンレイでは RRS の混合比率に係わらず基準を下回る結果が得られた。また吸光度から算出した DNA 濃度はあやこがねおよび SO880 で混合率に係わらず、他の品種よりも濃度が高くなる傾向が認められた。なお、あやこがねならびに SO880 については吸光度測定法と蛍光測定法で DNA 濃度に大きな差が認められた。1%および 5%混合粉体試料を対象にそれぞれ抽出した DNA 試料液を用いて定量 PCR 法を実施したところ、全試料において RRS の重量混合比よりも高い値で算出された。このとき真値と定量値の差異が最も大きいものはリュウホウをマトリクスとした試料で最大となり、152.8%であった。一方、DNA 重量として混合率を規定した混合 DNA 試料における OD260/280nm 比は全試料で 1.8 を上回り、OD260/230nm 比についてはミヤギシロメ、あやこがねおよびリュウホウを除いて 2.0 を上回った。混合粉体試料と同様に混合 DNA 試料についても定量 PCR 法により測定を行ったところ、真値と定量値の際は最大で-12.9% (5% PS-36 試料) であったが、その大きさと方向に品種依存性は認められなかった。6.町井分担研究： オカダ酸を遮光バイアルに吸着させた後、これを冷凍、冷蔵あるいは室温にて保存し、その回収率を測定したところ、全ての保存条件において少なくとも 6 ヶ月間は安定であることが確認された。これに対して、オカダ酸を加熱処理したところ、50℃では 48 時間安定で

あったが、100℃では経時的に回収率が減少し、48 時間においては 30%程度であった。さらに 120℃では 8 時間で 30%以下に、150℃ならびに 200℃では 1 時間の加熱により回収率は 0%となった。また、貝ホモジネートとろ紙に吸着させたオカダ酸を用いることにより、3 機関で下痢性貝毒検査を行ったところ、2 機関では陽性試料において全ての動物が死亡したが、1 機関においては 3 匹中 2 匹の動物が死亡したのみであった。7.大島分担研究： 1)理化学検査のための適性試料の作製— 重金属検査用試料の作製において、使用するカドミウム溶液の酸濃度について検討したところ、0.005mol/L、0.01mol/L の硝酸濃度においても浸漬液中のカドミウム濃度の約 1.2 倍となったが、0.1mol/L では浸漬液中カドミウム濃度の約 1/3 となった。さらに浸漬時間を 6、24、48 時間としてカドミウム濃度を測定したところ、いずれの時間においてもカドミウム濃度に差は認められなかった。以上のことから、浸漬液の酸濃度を 0.01mol/L、浸漬時間を 24 時間としたところ、予定作製濃度である 0.41ppm に対して、実測値は  $0.405 \pm 0.004$ ppm となり、作製予定濃度に近似した値が得られた。さらに 120 日後におけるカドミウム濃度は作製当日の  $99.5 \pm 0.8\%$  であり、十分な安定性が確認された。一方、有機リン系農薬を添加したかぼちゃおよびサツマイモペーストにおける均一性を確認したところ、かぼちゃペーストではいずれの農薬についても 92~106%の回収率であった。これに対してサツマイモペーストでは回収率が 84~94%であった。またそれぞれのペーストの物性として比較を行うと、かぼちゃペーストではハ

ンドミキサーを用いた攪拌を行うことができたが、サツマイモペーストでは含水量が少なく、ハンドミキサーでは攪拌することができなかった。このため、かぼちゃペーストを基材として採用した。またこれに添加する農薬はクロルピリホスならびに EPN とし、作製当日に対する 100 日後の濃度はクロルピリホスが 95.0%、EPN が 96.0% であり、十分な安定性が確認された。豚肉に 8 種のサルファ剤を添加し、その回収率について検討したところ、ほとんどのサルファ剤で作製予定濃度よりも低く、かつばらつきも大きかった。2) 微生物学検査のための適性試料の作製— 大腸菌群検査用調査試料として市販の魚肉練り製品に接種することにより調査試料を試作するため、4 種の魚肉練り製品を高圧蒸気滅菌処理し、その物性変化を観察したところ、かまぼこで形状の変化および変色が認められたが、これ以外の試料では若干の褐変が認められるものの、大きな物性変化は認められなかった。しかしながら、2 種のちくわでは高圧蒸気滅菌する際の設置方法により著しく変形することが明らかとなった。また、4 種の魚肉練り製品に *K. oxytoca* または *A. calcoaceticus* を接種した後、これを冷蔵保存したときの接種菌の安定性について菌数測定を行うことにより確認したところ、ちくわ B を除く 3 種の試料では菌液接種後 7 日目において *K. oxytoca*、*A. calcoaceticus* の両者において約 2 オーダーの菌数増加が認められ、その後 28 日目まで安定して接種菌を回収することができた。これに対してちくわ B は *A. calcoaceticus* では菌液接種後 28 日目まで安定して接種菌を回収することができたが、*K. oxytoca* では経時的に

減少する傾向にあり、28 日目には菌液接種時と比較して約 1 オーダーの減少が認められた。さらにこれら 4 種の調査試料について菌液接種後 28 日目に大腸菌検査を実施したところ、培地中での増菌、ガス産生および選択培地上での典型集落の形成を認めたことから、接種菌を公定法に従って検査した場合に、明らかに検出できることを確認した。3) アレルギー関連物質検査のための適正試料の作製— 乳を使用した旨の表示のない食材に牛乳高濃度標準溶液を添加し、回収率からマトリックスの影響について検討したところ、クッキー、クラッカー、パイでは添加タンパク質量に対する回収率がいずれの ELISA キットでも 70% 以上であり、キット間の測定値にも大きな差はなかった。また 3 測定間の RSD はパイにおいて FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳で大きかった。試料添加用の牛乳抽出液を作製するために、スキムミルク粉末より抽出を行ったが、抽出率、回収率ともにほとんど差がなかった。これについて SDS-PAGE を行ったところ、牛乳のパターンと類似したバンドが認められた。さらに、得られた自家製抽出液について  $-80^{\circ}\text{C}$  で保存したときの安定性について確認したところ、12 週目においても回収率は 94% 以上であり、 $-80^{\circ}\text{C}$  における安定性を確認することができた。マッシュポテト基材にスキムミルク粉末の水溶液を混合することにより調製した試料について回収率を求めたところ、モリナガ FASPEK 牛乳測定キットでは 93.5%、FASTKIT エライザ Ver. II 牛乳では 74.9% であったが、 $-20^{\circ}\text{C}$  で保存することにより 12 週まで安定性を確認することができた。一方、Egg Solids 抽出液をハンバーグおよ

びクリームサンドクッキーに添加した際の安定性について確認したところ、 $-20^{\circ}\text{C}$ において 14 週まで安定であることが確認された。さらにマッシュポテト基材に全卵の水溶液を混合して作製した試料についても同様に $-20^{\circ}\text{C}$ での安定性を確認したところ、1、4、12 週のいずれにおいても回収率は 90%以上であり、12 週までは安定であることが確認された。

#### D. 考察

1. 田中分担研究： 試料調製方法の妥当性と試料の均質性および安定性の確認では、それぞれの試料の測定値について一元配置分散分析を行った結果、試料間で有意差が認められなかったことから均質性が確認され、 $-20^{\circ}\text{C}$ で 1 ヶ月間冷凍保存した場合でも統計上の差異は認められなかったことから、少なくとも検査期間内は安定であることが確認された。GC/MS による測定結果を解析すると、一部に Xbar-R 管理図および z-スコアによる評価で各検査項目において適正域に入っていない機関を認めた。これに対して LC/MS/MS による測定結果では、適正域に入っていない機関がわずかに認められたものの、全体で良好な結果であった。GC/MS と LC/MS/MS による測定値の比較では、LC/MS/MS の測定値が GC/MS の測定値と同等あるいはそれ以上の精度であった。これは LC/MS/MS を採用した機関の全てが GC/MS を採用した機関よりも最終液が 2~20 倍も希釈されていたことから、食品マトリックスが薄められたことや MS/MS によりマトリックス由来のイオンが排除されたことで定量性、再現性において信頼性の高い結果が得られたものと考え

られた。また、外部精度管理の精度を RSD で評価すると、かぼちゃおよびにんじんは全機関で 10%以下であったが、ほうれん草では 3 機関でクロルピリホス 0.01ppm で 15%程度、他の 6 機関は 10%程度であった。さらに添加濃度による変動は認められず、Horwitz の各濃度の RSD と比較しても良好であった。前年度から SOP の変更があった 3 機関は、前年度の適正率 81.3%から今年度の適正率 95.8%、同じく 70.9%から 91.7%、同じく 91.7%から 100%と本年度の成績がさらに良くなっていることから、適切な分析法を用いることで検査精度の正確さ・精密さに寄与していることが示唆された。内部精度管理と外部精度管理の関係をみるために平均回収率を指標として観察すると、内部精度管理と外部精度管理で同様の平均回収率を示さないことがあった。すなわち、分析法は同じで、添加量が既知と未知の違いで結果が異なっているケースが認められ、「精度管理の一般ガイドライン」の 70~120%の範囲を確保するに止まらず、真値に近づけるような分析法の開発を行うことも精度の向上につながるものと思われる。また今回、関東化学の農薬混合液 31 および 32 の同一ロットを使用した。その結果、各機関とも検量線の濃度範囲が数 ppb~数 100ppb の 3 点以上の検量線濃度で行っており、10ppm の市販の農薬混合標準液からほぼ同程度の濃度に調製されていた。農薬混合標準液を使用したことにより、標準品による各機関の検査精度のばらつきによるファクタが少なくなり、検査精度に大きく寄与したものと思われる。また、ポジティブリスト制に対応した数多くの標準品からの調製、保存、スペース、時間の短縮等の

メリットがあるので、検査機関では農薬標準混合液の活用が多くなるものと思われる。リファレンス機関によって認証された農薬標準混合液がさらに望まれる。また、各機関に GC/MS システム評価用試料（クライテリアサンプル）を配布し、精度管理調査試料測定前と測定後のピーク形状とピーク強度を各機関から提出してもらったが、多くの対象物質において定量値、ピーク形状も良かったことから、ほぼ良好な状態の GC/MS による測定が行われていたと推察される。なお、一部の対象物質では装置の程度の目安がよくない機関もあったが、これには添加農薬の劣化に対する感受性が高いことによる可能性が考えられた。これらのことから、精度管理を維持向上するためにはこのような評価用試料を用いて分析装置の管理に留意することも重要であると思われる。外部精度管理調査試料の最終液（1g/mL）をブラインドで分析機器メーカーに送付し GC/MS 農薬データベース解析法（TDB 法）による測定を行ったところ、各メーカーで定量値は全般的によく一致していた。このことから TDB による相対定量法の実用性があることが確認できた。定量性においても添加農薬のうち 2、3 種類が少し一致しない定量値が得られているが、TDB 補正等を併用することにより定量値が一致することが示唆された。TDB 法は農薬のスクリーニングとして補完的に利用することにより、農薬検査の有効な手段となりうるものと考えられる。

**2. 中澤分担研究：**スターバー抽出法を用いたベンゾフェノン類の測定を河川水を対象に行ったところ、極めて簡便かつ高感度に測定することができ、化学物質のモニタリングに有用な

手法であると示唆された。また、尿試料について測定したところ、ng/mL レベルで検出されたことから、恒常的に曝露されている可能性が示唆された。ベンゾフェノン類のヒトへの残留調査を行うことにより、ヒトへの曝露状況レベルを把握することができる。現在は未だリスク評価が十分行われていないが、その理由のひとつに測定方法の整備および精度管理システムが未だ不十分な点が挙げられる。特に血液や尿など生体試料中のベンゾフェノン類についてはその残留量が極めて微量であることが予想されるため、従来の測定方法では得られたデータの精度が問題視されることがあった。そのため高感度かつ高精度な分析法を確立することにより、環境、食品、医薬品など様々な経路を通じた汚染を把握するために有効に活用されることが期待される。一方、ボルネオールの純度試験では、概ね表示どおりの値が得られた。同様にキラル純度試験では一部ラセミ体として存在すること、ならびに R 体、S 体の指定がある標準品については、概ね表示どおりの値が得られることが明らかとなった。ボルネオール以外にも光学異性体を指定する食品香料があり、これらについても純度試験およびキラル純度試験を行う必要があるものと推察される。

**3. 松木分担研究：**標準品の純度測定を HPLC および GC により行い、その表示値と比較したところ、約 8 割が表示値と同等であった。なお、今回採用した試験方法はできるだけ同一の測定方法で実施し、できるだけ多くの不純物を検出するためスプリットレス法を採用した。その結果、対象として選択した標準品には熱分解しやすいものはないと考えられるが、スプリットレス

注入法においてはスプリット法に比べ試料の移動速度が遅く、さらに高濃度溶液を注入するために、試料の全てがカラムに移行するまでに時間を要するために、一部の標準品では滞留時間が延びたことにより熱分解が生じ、結果として本来よりわずかに低い濃度を示した可能性も考えられた。そのため、このような要件を考慮すると大部分の標準品はメーカーの表示値と同等であるものと考えられた。さらに HPLC 分析では測定する波長の違いにより、表示純度とは異なる値が得られる標準品もあった。クロマトグラム上で検出された不純物の構造や吸光係数は不明であるため、純度の低下が必ずしも質量の低下として考えることは妥当ではないが、その標準品の構造特性に基づき、検査の際に一般的に用いられる波長での不純物に係わるデータの使用者への提示は必須であるものと考えられる。また、HPLC により純度測定を行う場合には、検査に汎用される波長以外の波長においても不純物の確認を行うなどの確認手順を新たに組み入れる必要があることが示された。また別途、14 種の市販農薬について同様に純度測定を行ったところ、ほぼ全ての標準品で表示値の±2%以内であったが、カルベタミドの GC-FID による結果は表示値の 50%未満であった。カルベタミドは熱により分解することが報告されていることから、GC-MS1 によるカルベタミドの測定を行ったところ、熱分解物であるフェニルイソシアネートが確認された。以上のことから、HPLC-PDA による測定では、GC のように試料を加熱する過程がないため、カルベタミドの分解がおこらず、不純物ピークが生じなかったものと考えられた。そのため、

純度試験では測定対象物質の物性を考慮し、適切な分析法を選択する必要があるものと示唆された。4.米谷分担研究： 濃度の低い異性体が必ずしも大きなばらつきを示すわけではなく、外れ値の存在が考えられた。しかし、参加機関数が少なく外れ値を除外して機関数を減らすことは適切ではないため、頑健な統計量を計算した。その結果、2',3,4,4',5-PeCB の分析結果は通常の統計計算では RSD が 155%であったのに対して、頑健な統計計算では 55%となった。5 機関の参加機関のうち 1 機関で他の機関の 10 倍以上の値を報告しているため、通常の計算方法では大きな平均および標準偏差が得られるが、頑健な平均は通常の平均の 1/2 以下、標準偏差は 1/3 程度となり、外れ値の影響が除かれた。なお、2',3,4,4',5-PeCB は昨年度の調査においても大きな室間精度を与えており、妨害ピークとの分離が困難等の分析上問題のある異性体の可能性がある。しかし、今回使用したカレイ試料ではこの異性体の濃度は 20pg/g で比較的小さく、また毒性等価係数も小さいことから、TEQ への影響は見られなかった。通常の統計量を用いて z-スコアを算出すると、3 を超える機関は認められなかったことから、外部精度管理の評価では全く問題がないと評価されるが、頑健な統計量で計算された z-スコアでは 2',3,4,4',5-PeCB で 15 を超える機関が 1 機関認められ、この機関の分析結果が満足できるレベルにないことが示された。5.渡邊分担研究： 混合粉体試料を用いた検討において抽出した DNA の質について確認したところ、IA3006 およびタンレイをマトリックスとして使用した場合に RRS 粉体試料の混合率に係わらず基準

を下回る結果が得られており、これらの品種からは OD260/230nm の比を低下させる要因を除去することが難しいと示唆された。また、同一品種の混合粉体試料から併行抽出した 3 点間の DNA 濃度のばらつきは、リュウホウおよびあやこがねを除き 20.0% を下回った。さらに併行抽出時のばらつきと比較して品種間でのばらつきのほうが大きかったことから、マトリックスに使用した大豆の品種によって DNA の収量に変動する可能性が示唆された。混合粉体試料について、それぞれ抽出した DNA 試料液を用いて定量 PCR 法を実施したところ、定量値は RRS 粉体の重量混合比に比べて高い値で算出されたが、この bias の大きさはマトリックスとした non-GM 大豆の品種に係わらず一定して正の方向に向かっており、さらに RRS の混合率に係わらず同品種の non-GM 大豆では、その大きさが同程度になる傾向があった。これには使用した大豆試料に含まれる水分やその他の成分の組成比など、試料に由来する要因と DNA 抽出法あるいは定量 PCR 法の手法に依存した要因に大別されると考えられた。しかしながら、全ての品種についてカールフィッシャー法により水分含量を測定したところ、RRS 粉体試料のほうが全ての non-GM 大豆粉体試料よりも高い値を示したことから、粉体試料の水分含量が定量値に影響を及ぼす要因であるとは考えることができなかった。一方、DNA 抽出法を改変 GM quicker 法から mini 法へと変更して同様に実施したが、得られた結果に大きな差は認められなかった。このことから、少なくとも改変 GM quicker 法と mini 法を比較する限りでは、定量 PCR 法により得られる定量値に対

する影響には DNA 抽出法は含まれているとは考えられなかった。しかし両抽出法は、ともにシリカ膜への DNA の吸着を基本原理とする DNA 抽出法であることから、セチルトリメチルアンモニウムブロミド (CTAB) を使用する手法や、イオン交換タイプのカラムを使用する手法等、他の DNA 抽出法についても今後、検討する必要があるものと考えられた。DNA 濃度を吸光度測定法と蛍光測定法で比較すると、吸光度測定法で大きなばらつきを示したが、吸光度に基づき DNA 濃度を算出した場合、OD260nm に吸光を有する DNA 以外の物質が、算出される DNA 濃度およびそのばらつきに影響を与えること、その影響の大きさには品種依存性が認められることが確認された。また、混合 DNA 試料について定量 PCR 法を実施し、その定量値を真値と比較したところ、その bias は最大で-12.9% であり、その大きさおよび方向には明確な品種依存性は認められなかった。このことから、各大豆試料より DNA を個別に抽出した後、DNA 重量比として RRS を混合した場合には、混合率に合致した定量値が得られ、そのばらつきの大きさは定量 PCR 法に原理的に含まれるばらつきの範囲内であると考えられた。蛍光測定法により測定した DNA 濃度に基づき DNA 収量による定量値の補正を行ったところ、約半数の試料で bias の低下が認められたが、一部の試料では bias が大きくなるものも認められた。このことから品種依存的な DNA 収量の差以外にも定量値に影響を及ぼす要因が存在することが考えられた。6.町井分担研究：遮光バイアルにオカダ酸を吸着させた後、冷凍、冷蔵および室温にて保存したところ、

どの保存条件においても少なくとも6ヶ月間は安定であることが明らかとなった。このことから、外部精度管理試料として用いる場合には、いずれの条件でも保存ができるものと考えられた。また、オカダ酸の吸着したバイアルに温度をかけることにより加熱試験を行ったところ、120°Cを超える条件下において著しく回収率が低下することが明らかとなったことから、通常の外部精度管理を行ううえで、輸送ならびに分析手順において予測される温度に対しては安定であるものと考えられた。さらに3機関において貝ホモジネートとろ紙ディスクを用いた下痢性貝毒検査を行ったところ、分量のオカダ酸が含まれていると考えられたにも係わらず、1機関において、3匹中2匹の死亡が認められたに留まった。これ以外の機関では全ての動物の死亡が確認された。このことから、ろ紙への毒素の含浸方法あるいは新たな添加方法について検討する必要があるものと考えられた。さらに投与時間帯によりマウスの感受性が異なるという現象が認められていることから、この点についてさらなる検討が必要であると考えている。

7.大島分担研究：1)理化学検査のための適性試料の作製— あらかじめ作製したカドミウム高濃度玄米の濃度を測定した後、カドミウム無添加玄米を加えることにより、作製予定濃度の調査試料を作製できることが明らかとなり、さらに小分けした試料容器間のカドミウム濃度のF比が1.462と、濃度の均一性も確保でき、当作製方法が調査試料の作製方法として適切であると判断した。また、市販かぼちゃペーストおよびサツマイモペーストに有機リン系農薬を添加して、濃度の均一性および安

定性を確認した。その結果、かぼちゃペーストではいずれの添加農薬においても高い回収率が得られた。これに対してサツマイモペーストではかぼちゃペーストと比較すると低いものの、回収率は84~94%であり、試料を適切に作製できることが明らかとなった。また、安定性について確認したところ、100日まで安定であることが確認できた。以上のことから適切な調査試料を作製できた。一方、残留動物用医薬品の精度管理試料として食肉を採用する要望が高い。そこで豚肉のミンチにサルファ剤を加えることによる回収率について検討した。その結果、ほとんどのサルファ剤で作製予定濃度よりも低い値となり、かつばらつきも大きいものであった。このことから今後、ペースト状の肉にサルファ剤を添加し、混合する方法、および肉をやわらかくするための水添加等が必要であるものと考えられた。

2)微生物学検査のための適性試料の作製— 実食材を用いて大腸菌群検査のための調査試料を試作し、高圧蒸気滅菌後の物性変化および菌液接種後の接種菌の変動、公定法による接種菌の検出について検討した。大腸菌群検査用調査試料の基材として市販の4種の魚肉練り製品を採用した。各基材を高圧蒸気滅菌することにより、かまぼこでは形状の大きな変化が認められたが、その他の基材では大きな形状の変化や褐変は認められなかった。このことから滅菌処理した後に試料を作製することを前提として考えた場合にはかまぼこは調査試料として不向きであると考えられた。そこで、これらの基材に *K.oxytoca* あるいは *A.calcoaceticus* を接種した後の菌数変化について観察したところ、菌液接種後28日目ま

で比較的安定して接種菌を回収することができた。さらに 28 日目に公定法に従って大腸菌群検査を実施したところ、液体培地中での増菌、ガス発生および選択培地上での典型集落の形成が認められた。このことから今回作製した魚肉練り製品を対象とした大腸菌群検査用調査試料は外部精度管理調査に十分に耐えるものと考えられた。しかしながら、大腸菌群数検査を考慮すると、より接種菌数の少ない状態で安定な基材または接種方法を検討する必要があると考えられた。3)アレルギー関連物質検査のための適正試料の作製— 乳を使用した旨の表示のない食材に高濃度標準溶液（牛乳標準品、二次希釈液）を添加し、その回収率等について検討したところ、一部回収率の低い食材も認められたものの、クッキー、クラッカーおよびパイで 70%以上の回収率が認められた。さらに 3 測定間の RSD を考慮するとクッキーおよびクラッカーの 2 種が牛乳用抽出液添加用基材として使用可能であると考えられた。乳抽出液の作製をスキムミルク粉末、スキムミルクおよび Whole Milk Powder を用いて行い、そのタンパク質量を化学的方法および ELISA 法で測定したところ、Whole Milk Powder で ELISA 法による抽出率、回収率が 10%以上低かった。さらにこの抽出液について SDS ポリアクリルアミド電気泳動を行ったところ、Whole Milk Powder ではレーン全体が染色され、バンドがクリアではなかった。また、Whole Milk Powder が放射線滅菌されていたことを考慮すると、放射線照射に伴いタンパク質の構造が変化した可能性が考えられた。マッシュポテト基材にスキムミルク粉末の水溶液を混合して作製した試料につ

いて、その安定性を確認したところ、 $-20^{\circ}\text{C}$  保存により 12 週まで安定であることが確認された。さらに $-20^{\circ}\text{C}$ で 2 ヶ月保存した試料についてウェスタンブロット法による確認試験を行ったところ、スキムミルク添加模擬食材の抽出液はカゼイン抗体および $\beta$ -ラクトグロブリン抗体のいずれにおいても食材への添加量として  $5\mu\text{g/g}$  に相当する重層量までバンドを確認することができた。同様に自家製抽出液（卵）を添加したクッキーを作製し、 $-20^{\circ}\text{C}$ で約 1 ヶ月保存後に抽出したものについてウェスタンブロット法により確認したところ、自家製抽出液（卵）添加クッキーでも  $5\mu\text{g/g}$  に相当する添加量までバンドを確認することができた。

## E. 結論

1.田中分担研究： 外部精度管理では、均質性、安定性を確認したかぼちゃ、にんじん、ほうれん草の精度管理試料に、一律基準値付近の低濃度の添加農薬を含めた 12 種類の結果は、全機関が添加農薬を全て検出した。また、各農薬の全体の平均値は良好な結果であった。また一部の機関で  $\bar{X}$ -R 管理図および  $z$ -スコアにおいて適正域に入らなかったが、前年度と比較するとかなり良好な結果が得られた。GC/MS と LC/MS/MS でその測定値を比較すると、LC/MS/MS の測定値が GC/MS と同程度あるいはそれ以上の精度の高い結果が得られた。一方、内部精度管理ではそれぞれの機関が妥当な分析法により検査が実施されていることが示され、30 農薬の添加回収率は、厚生労働省一斉分析法における添加回収の A 評価と一致した。しかし、内部精度管理で得られた結果と外部精度管理調査の結果

は一致しなかった。さらにクライテリアサンプルを用いた検討では、各機関において良好な状態の GC/MS により測定が行われていたものと判断された。2.中澤分担研究：本年度は2つの課題について研究を行った。ベンゾフェノン類の環境・生体曝露調査を行ったところ、スターバー抽出法を用いることにより簡便かつ高感度に対象物質を測定することが可能となり、河川水ならびに尿試料中からベンゾフェノン類を検出した。これらは恒常的に曝露されているものと考えられた。この分析法が確立されることにより、環境、食品等における汚染を把握するうえで有効に活用されることが期待される。また、ボルネオールを対象とした純度試験およびキラル純度試験を行い、ボルネオール中の不純物がイソボルネオールであることを確認した。また純度は概ね表示どおりであった。キラル純度試験では、ボルネオールおよびイソボルネオールのラセミ体として存在しているものがあつたが、R体、S体の表記のある標準品では概ね表示どおりの結果であつた。3.松木分担研究：市販農薬標準品の純度試験を試みた結果、今回の測定結果と表示純度について比較したとき、一部の標準品については含量比の低下が認められたものの、概ねメーカーの表示値と近似した値が得られた。検査結果の信頼性確保の観点から標準品の管理について言及する場合、標準品の純度よりも保存時の劣化の有無について注目される。しかし、定量分析において用いられる標準品は測定の絶対的な尺度であるため、その純度は劣化の有無と同様に重要である。今回の調査により標準品の表示値の正確性や純度規格への適合性が概ね良好であることが

示されたが、一方では、一部の標準品において HPLC では測定条件の違いなどによりメーカーの表示とは異なる標準品も認められた。化学物質の正確な純度を測定することは一般的に困難であり、純度を測定するための統一手法も示されていないが、メーカーとしてできるだけ精製度の高い標準品を提供することが最善の方法であり、標準品としての純度表示を保証する最も確実な方法であると考えられる。しかし、標準品に含まれる複雑な組成の不純物を精製するためには、その技術に加え多大な時間と経費が必要となることから、高品質の標準品は極めて高価なものとなり、食品分野における農薬検査のように膨大な検査対象項目がある場合には、すべての標準品について高純度を求めることは難しい。そのため、純度表示にあたっては、ひとつの条件下での純度を示すのではなく、可能なかぎりの物理化学的手法を用いて、いくつかの視点から純度を検証することにより、使用者に対してより多くの情報を与えることが必要であると考えられた。4.米谷分担研究：技能試験の結果から、TEQ が 1.7pg/g 程度の魚試料において、TEQ の試験室間の変動は 4.8%程度であることが示され、我が国における食品中のダイオキシン類分析値の信頼性が保証された。参加機関数が減少しており、技術水準の高い機関が残ったとも考えられる。しかし、異性体によっては他機関と大きく外れた報告値があつたが、z-スコアは 3 以下となつた。これに対して頑健な統計量を用いることにより外れた値には 3 を超える z-スコアが計算された。外部精度管理の目的は、他機関と比較して分析上の問題点を見出し、是正していくことである。

この目的から参加機関数が少なく、外れ値の発生が予測される場合には頑健な統計量による評価のほうが望ましいと考えられる。

5. 渡邊分担研究： 遺伝子組換えダイズ (RRS) を対象とした定量 PCR 法により得られる定量値に RRS が混入する際のマトリックスとなる non-GM 大豆の品種が及ぼす影響について明らかにすることを目的に検討を行った。その結果、使用した 10 種の non-GM 大豆の全てにおいて得られる定量値が RRS の粉体重量混合率に比べて、高い値になることが明らかとなった。また、各大豆品種から抽出される DNA の収量に明らかな差異が認められた。さらに、DNA 重量の比として RRS 混合率を規定した試料を測定して得られた定量値は規定した混合率と一致した。これらの結果から、粉体重量と定量 PCR 法の直接の分析対象物質である DNA 重量との間で混合率が保持されていない可能性が考えられた。しかし、DNA の収量を考慮しても、定量値と粉体重量混合率との間に大きな差が認められる試料の存在も明らかとなった。本研究において示唆された可能性について明らかにするためには、試料とする大豆品種を増やすとともに、基本原理を異とする DNA 抽出法を用いるなどして、さらに検討することが必要であると考えられる。

6. 町井分担研究： 遮光バイアルに吸着させたオカダ酸は、冷凍、冷蔵、室温のいずれの保存条件においても 6 ヶ月間は安定であった。このことから、外部精度管理試料として用いる際にはどの温度帯においても使用可能であるものと考えられた。またオカダ酸の熱に対する耐性を確認するため、温度負荷に伴う回収率について検討したところ、50℃では 48

時間は安定であり、通常の分析や試料送付を行う際の輸送条件においては影響がないものと考えられた。さらに、3 機関で貝ホモジネートとろ紙ディスクを用いた下痢性貝毒検査を行ったところ、2 機関では全ての動物に死亡が認められたが、1 機関は 3 匹中 2 匹の死亡に留まった。このことから、ろ紙への毒素の含浸法の検討あるいは新たな添加方法について検討する必要があるものと考えられた。さらにはマウスへの毒素の投与方法の実際についての聞き取り調査や指導についても検討する必要があると考えられた。

7. 大島分担研究： 1) 理化学検査のための適性試料の作製— あらかじめカドミウムを添加して作製した玄米のカドミウム濃度を測定し、これにカドミウム無添加玄米を加えて希釈し、遠心粉砕機で粉砕・混合する方法が、目的とする作製予定濃度の試料を作製できること、および均一性が確保できる方法であることが明らかとなった。かぼちゃおよびサツマイモペーストを使用し、有機リン系農薬 6 種を添加することにより、均一な濃度の試料を作製できることがわかった。かぼちゃとサツマイモペーストで比較すると、回収率ならびに再現性の点からかぼちゃペーストを採用した。なお、この試料は安定性も確認され、適正な試料であることがわかった。豚肉をミンチにしてサルファ剤を添加したが、良好な均一性は得られなかった。

2) 微生物学検査のための適性試料の作製— 魚肉練り製品を対象とした調査試料を作製すべく、市販製品を対象菌を接種することにより、その安定性および基本性状について検討した。4 種の魚肉練り製品を高圧蒸気滅菌し、その物性の変化について確認したところ、一部