

Table 7 検査数の多い農薬

2007年		2006年	
汚染物名	検査数	汚染物名	検査数
クロルピリホス	4474	クロルピリホス	4341
マラチオン	4428	マラチオン	4304
フェニトロチオン	4418	ピリミホスメチル	4223
ダイアジノン	4385	フェニトロチオン	4214
プロチオホス	4236	ダイアジノン	4136
ピリミホスメチル	4198	エトプロホス	4030
パラチオンメチル	4172	プロチオホス	4025
トルクロホスメチル	4026	エトリムホス	3999
フェンチオン	3987	トルクロホスメチル	3973
フェンバレレート	3956	パラチオンメチル	3914
E P N	3947	キナルホス	3849
ブタミホス	3938	E P N	3829
ペルメトリン	3907	ペルメトリン	3801
シペルメトリン	3875	フェンバレレート	3778
フェントエート	3850	シペルメトリン	3745
エトリムホス	3834	フェントエート	3539
キナルホス	3829	ブタミホス	3500
エトプロホス	3791	パラチオン	3431
クロルプロファム	3670	シハロトリン	3350
パラチオン	3664	ジメトエート	3189

**Table 8** 検出率の高い農薬

農薬名	分析数	検出数	検出率(%)
OPP	242	23	9.5
イマザリル	975	89	9.1
酸化フェンブタスズ	123	10	8.1
チアベンダゾール	1178	85	7.2
クミルロン	272	17	6.3
カルベンダジム	264	14	5.3
アセタミプリド	1539	74	4.8
イミダクロプリド	993	46	4.6
アゾキシストロビン	932	39	4.2
クレソキシムメチル	2662	88	3.3
クロルピリホス	4474	147	3.3
プロシミドン	2729	86	3.2
チアメトキサム	861	25	2.9
クロルフェナピル	2799	75	2.7
クロロタロニル	1478	37	2.5
メパニピリム	363	9	2.5
クロチアニジン	687	17	2.5
ボスカリド	367	8	2.2
トリフルミゾール	873	19	2.2
シペルメトリン	3875	79	2.0

Figure 1 各群からの汚染物摂取量 (ND=0)

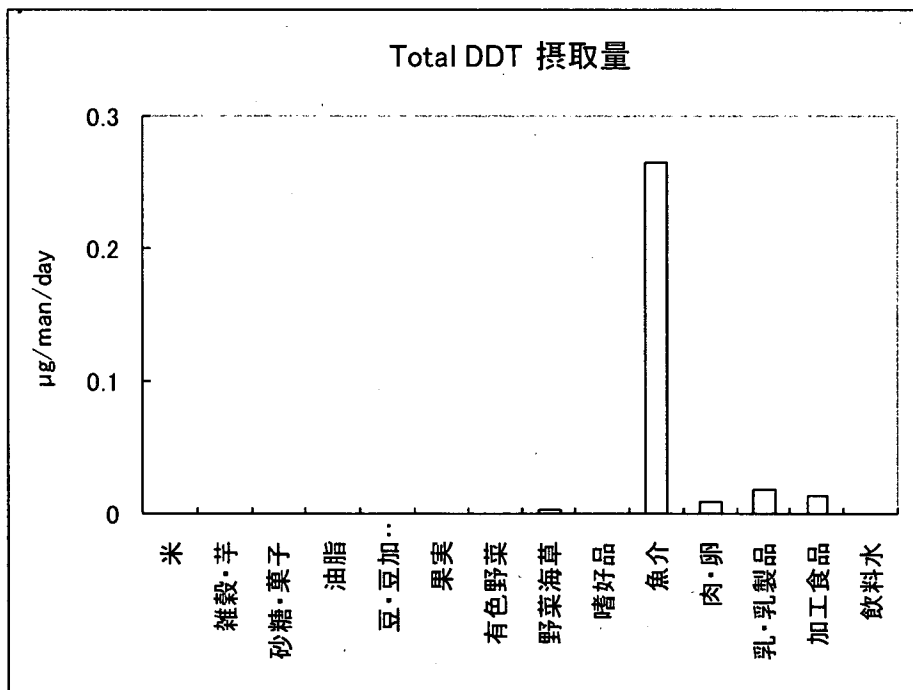
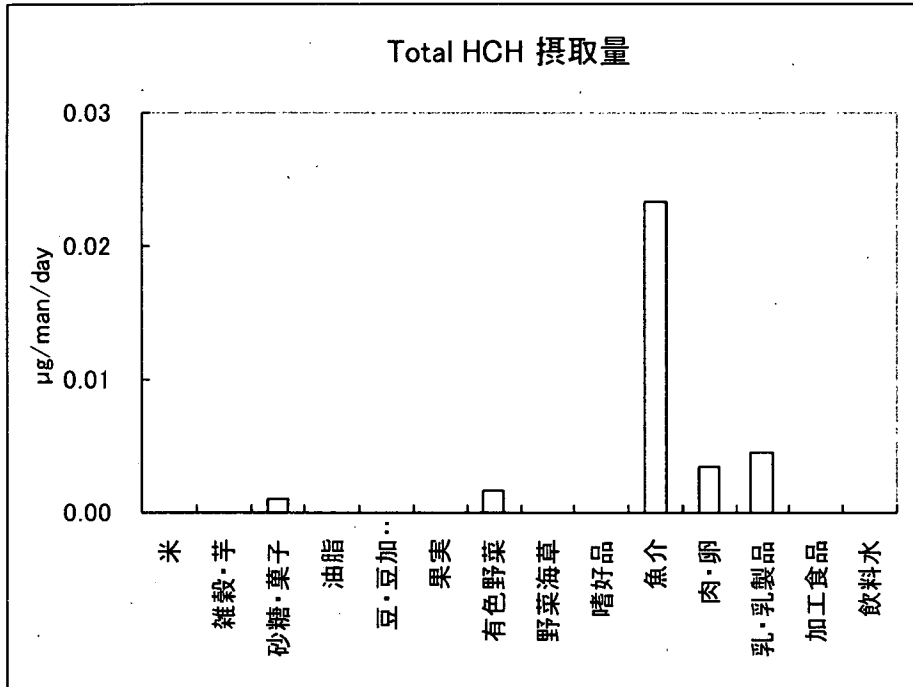


Figure 1 続き

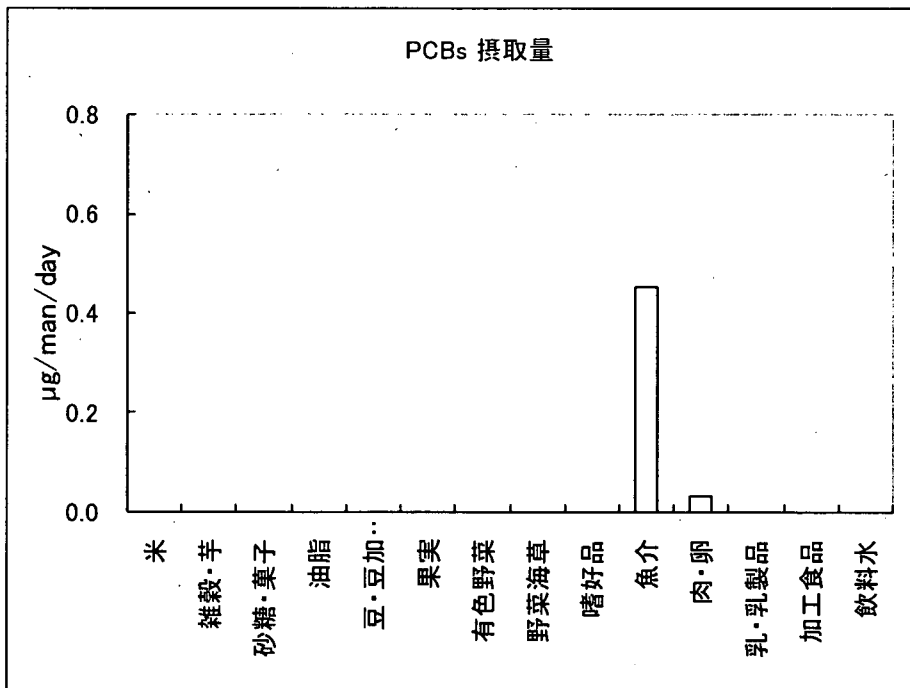
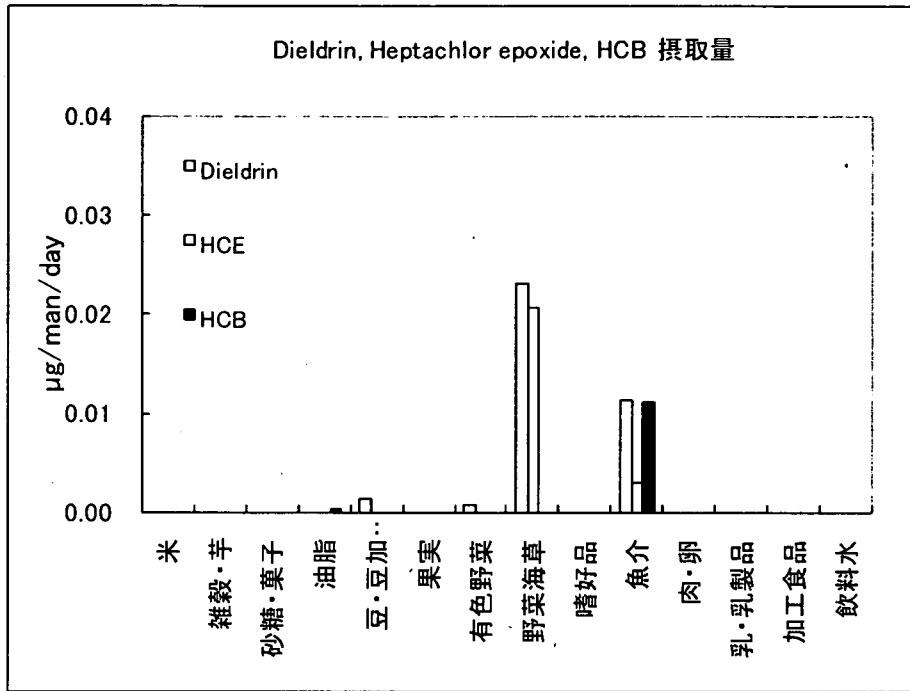


Figure 1 続き

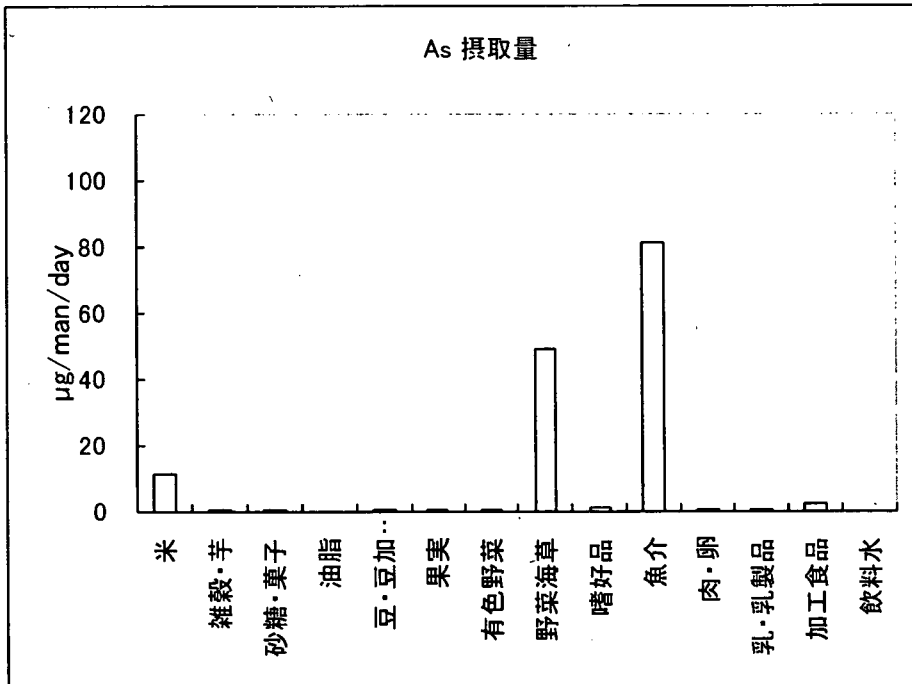
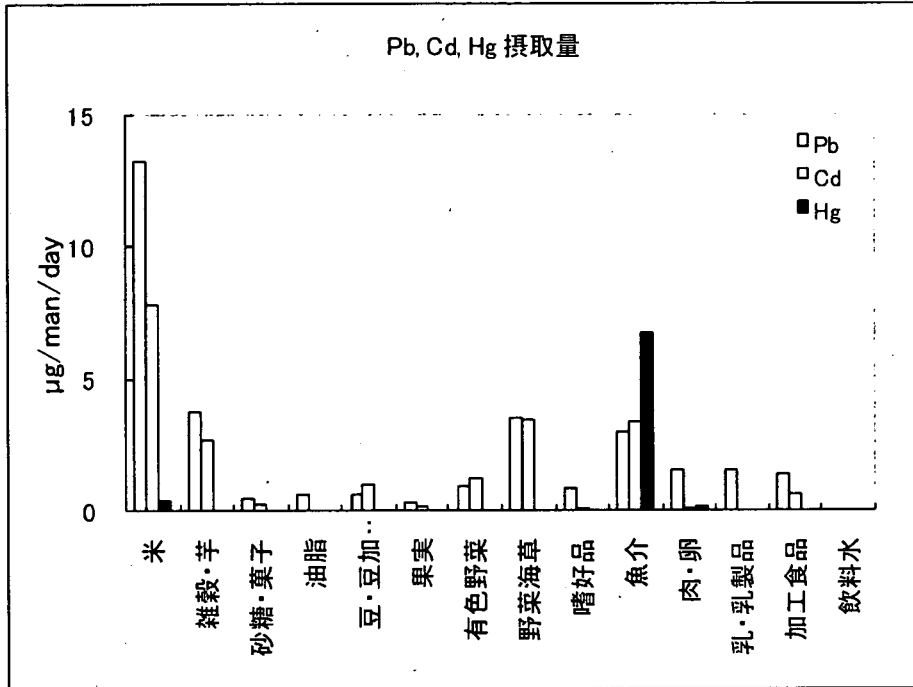
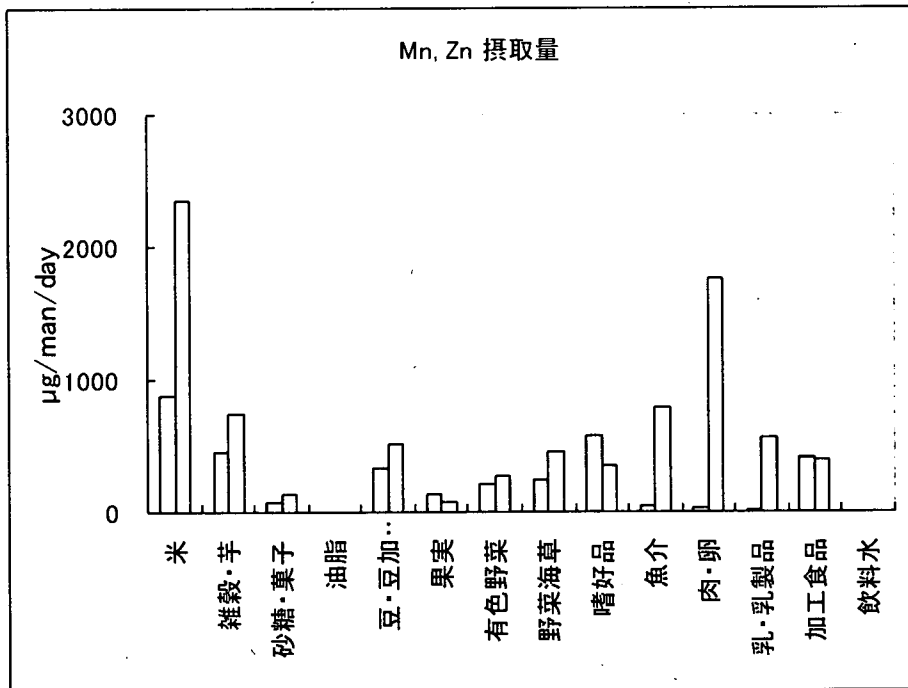
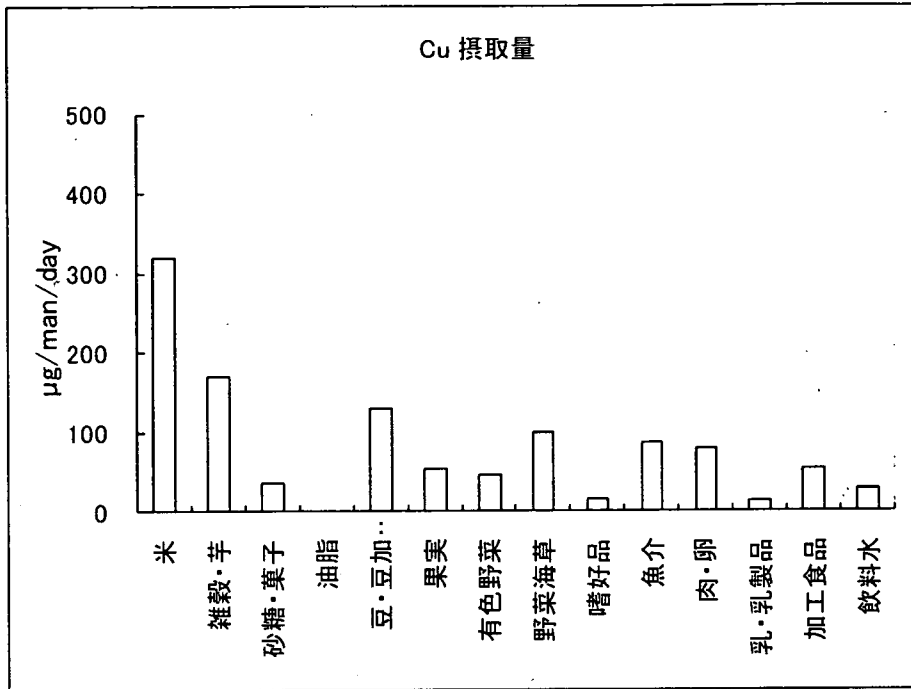


Figure 1 続き



# 分 担 研 究 報 告

摂取量調査の信頼性向上に関する研究

長岡 恵

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）  
分担研究報告書

摂取量調査の海外における方法の調査

分担研究者 長岡 恵 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨：食品汚染化学物質や食品添加物の一日摂取量を推定する方法としては、種々の方法が提案され、実際に用いられている。各方式ごとにそれぞれ長所と短所があり、当然ながら、ある仮定のもとに推定されるため、過少な推定になったり過大な推定になったりする。どの方法を用いるかは、推定する目的と、費やせる費用、労力、時間などによる。代表的な推定方法について、その特徴、国内外での実施状況を調査した。また、魚介類中のメチル水銀分析法の改良法（高濃度塩酸酸性トルエン抽出－システイン・アセテート溶液転溶－塩酸酸性トルエン再抽出－キャピラリーカラム・ECD-GC 法改良法を採用し、同時に環境省法のように抽出処理した検量線を用いる方法）につき 3 種の模擬試料を用い、10 機関による共同試験を行い、実際には 8 機関のよる分析の結果につき、分散分析を行った。認証標準品 2 種をもちいた場合の結果では、総水銀については得られた室間再現精度は Horwitz の式から予想される室間再現精度と比べると、 $HORRAT_R$  値は両者ともに 0.8 であり、また、バイアスは -0.6～1.0% と非常に小さい値であり真度は良好であったが、一方メチル水銀については、 $HORRAT_R$  値は 1.7～1.8 であり、またバイアスは 25.3～23.9% と大きい値であり、真度は良好とはいえない結果であった。なお、分散分析を行わなかった機関においては指定した濃度ではない検量線を作成していたが、分析値自体は良好であった。

研究協力者

米谷 民雄 国立医薬品食品衛生研究所・  
食品部長

河野 洋一 (財) 日本食品分析センター  
多摩研究所

なお、10 機関による共同試験においては、北海道立衛生研究所、千葉県衛生研究所、広島市衛生研究所、石川県保健環境センター、東京都健康安全研究センター、福岡市保健環境研究所、山形県衛生研究所、京都市衛生公害研究所、新潟市衛生環境研究所、長野県環境保全研究所の協力を得た。

A. 研究目的

摂取量調査の信頼性向上に関する研究においては、現在のところ、トータルダイエット試料を用いた摂取量調査を実施しているが、この方法では国民全体の平均的な摂取量をかなり精密に評価できる一方、平均から外れた特に摂取量が高いグループについての情報が得られない。そこで摂取量推定の信頼性の向上を目的として、陰膳法、行政検査による方法、香料分野で用いられている PCTT 法、モンテカルロ法等の



摂取量調査方法についてその特徴、国内外での実施状況を調査する。

我国においては、水銀は総量として摂取量が調査されてきた。一方、JECFAでは水銀の毒性について、1972年には総水銀とメチル水銀について定めていたが、2003年からはメチル水銀についてのみ定めており、毒性の評価については化学形態を考慮した評価が必要である。2000年に米国 National Research Councilがメチル水銀の健康影響に関する報告を議会に提出したのをきっかけに、2001年にはメチル水銀による健康影響（特に胎児毒性）の観点から、米国FDAは妊婦等が特定の種類の魚介類を摂取するのを制限するように勧告を出した<sup>1)</sup>。その後、各国が同様の勧告を出したが、厚生労働省も2003年6月3日に「水銀を含有する魚介類等の摂食に関する注意事項」を出した<sup>2)</sup>。また、2004年3月にはJECFAがメチル水銀のPTWI（暫定耐容週間摂取量）を3.3 µg/kg体重/週から1.6 µg/kg体重/週に変更した（ただし、総水銀のPTWIは5 µg/kg体重/週のまま継続されている）。さらに、平成17年8月12日に厚生労働省は、「妊婦への魚介類の摂食と水銀に関する注意事項」の変更案<sup>3)</sup>を示した。

現在の厚生労働省によるメチル水銀分析の公定法<sup>4)</sup>は、塩酸酸性ベンゼン抽出－システイン・アセテート溶液転溶－塩酸酸性ベンゼン再抽出－パックドカラム－ECD-GC分析によるものであるが、この方法では抽出過程でエマルジョンが形成され、また、メチル水銀の濃度が低くでるとの指摘がなされている。エマルジョンの形成には試料中のタンパク質や脂肪等が関与しているとされており、分析に際しては、

これら試料成分の影響をできるだけ排除する必要がある。また、メチル水銀の抽出溶媒や再抽出溶媒としてベンゼンなどを使用することは、人への健康影響や排水基準の観点から問題がある。そこで平成16～18年度の厚労科学研究において、従来法をベースに、高濃度塩酸酸性トルエン抽出－システイン・アセテート溶液転溶－塩酸酸性トルエン再抽出－キャピラリーカラム－ECD-GC法を採用し、同時に、環境省法のように、抽出処理した検量線を用いる方法を採用した改良法を検討し、メバチマグロ乾燥粉末試料を用いた、3機関による共同試験を実施した結果、良好な分析値が得られたことから、今年度は、10機関による共同試験を行い、分析法の性能の評価を行った。

## B-1. 研究方法

文献調査は主としてPubMedやSTNを用いて実施した。

## B-2. 研究方法

### 1. 試料の調製

検体として市販のキンメダイを購入した。可食部（筋肉）約3kgを細切し、ステンレストレーに入れ、凍結乾燥器により凍結乾燥した。試料をフードミルを用いて粉碎均一後、密閉容器50個にそれぞれ約5g入れ、分析用模擬試料を作製した。また、凍結乾燥前後の重量差から可食部の水分を算出した。密閉容器には番号を付して識別を行った。これらの分析用模擬試料のうち、ランダムに選択した10個（メチル水銀については選択した10個のうち5個）を均質性試験に供し、別途ランダムに選択した5個を安定性試験に供した。残りを共同試

験に用いた。

模擬試料 2 として標準試料 (ツナ、CRM 463、BCR、メチル水銀の認証値：3.04±0.16 mg/kg 乾重量 (メチル水銀として)、すなわち 2.83±0.15 mg/kg (水銀として)、総水銀の認証値：2.85±0.15 mg/kg (水銀として))、模擬試料 3 として標準試料 (ツノザメ、DORM-2、NRC、メチル水銀の認証値：4.47±0.32 mg/kg 乾重量 (水銀として)、総水銀の認証値：4.64±0.26 mg/kg (水銀として)) を共同試験のために用いた。

## 2. 均一性試験および安定性試験

作製した分析用模擬試料 1 について、その均質性確認のため均質性試験を実施した。また、共同試験実施期間中の安定性確認のために、共同試験終了後安定性試験を実施した。安定性試験を実施するまでは、試料は冷凍状態で保管した。均質性試験及び安定性試験とも 5 回試料前処理を実施した。

## 3 試験方法

### 3.1 メチル水銀の定量

#### ① 試薬

塩化メチル水銀：純度 98%以上 (GL サイエンス社)

トルエン：残留農薬試験用 5000

無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用

塩化ナトリウム：特級

L-システイン塩酸一水和物：特級

濃塩酸：特級

酢酸ナトリウム三水和物：特級

pH 試験紙：ユニバーサル pH スティック (pH 0-14)

その他の試薬は特級を使用した。

#### ② 試薬の調製

9 mol/L 塩酸：蒸留水に濃塩酸 150 ml を加

えて 200 ml とする。

20%塩化ナトリウム溶液：塩化ナトリウム 200 g を蒸留水に溶かして 1000 ml とする。

システイン・アセテート溶液：L-システイン塩酸一水和物 1.0 g、酢酸ナトリウム三水和物 0.8 g、無水硫酸ナトリウム 12.5 g

を水に溶解して 100 ml とする。(用時調製)

塩化メチル水銀標準原液：塩化メチル水銀 12.5 mg を精秤後、トルエンに溶解して正確に 100 ml とする (Hg として 100 µg/ml)。

塩化メチル水銀標準溶液：塩化メチル水銀標準原液 5 ml を 50 ml メスフラスコに採り、トルエンで正確に 50 ml とする (10 µg/ml)。

1%システイン溶液：L-システイン塩酸一水和物 1.0 g、酢酸ナトリウム三水和物 0.8 g を水に溶解して 100 ml とする。

メチル水銀・システイン標準溶液：共栓付試験管に塩化メチル水銀標準溶液 (10 µg/ml) 1ml と 1%システイン溶液 10 ml を加えて 3 分間振とうし、暫時静置後、上層の大部分を駒込ピペット等で吸い取って捨て、下層 (水層) を別の共栓付試験管にとり、2500rpm で 10 分間遠心分離する (1 µg/ml)。(用時調製)

#### ③ 装置条件

GC：電子捕獲検出器付ガスクロマトグラフ (Agilent Technologies 6890 SERIES II (ECD-GC))

カラム：ULBON HR-Thermon-Hg (信和化工株式会社 0.53mm×15m)

ガードカラム：中極性不活性化カラム

カラム温度：100°C (1min)-10°C/min-160°C (5min)、あるいは 140°C

注入口温度：200°C

検出器温度：230°C

キャリアーガス：He(8～10ml/min)

注入量：スプリットレス、2 $\mu$ l

注入口側に 30 cm 程度のガードカラムをインナーシールコネクターを用いて接続し、測定日毎に交換した。同時にインサートも、測定日毎に交換した。但し感度低下が認められた場合にもこれらを交換した。

#### ④ 試料前処理法

使用する器具等は予めアセトン、ヘキサン(残留農薬試験用)で順次洗浄した。

模擬試料(乾燥粉末) 0.25 g を精密に量り、ガラス栓付き 50 ml 遠心管に入れ、9 mol/L 塩酸 2.5 ml を加えてガラス棒でよく攪拌混合する。トルエン 20 ml を加え、5 分間振とう抽出し、2500 rpm で 10 分間遠心分離後、トルエン層を駒込ピペットで 200 ml 容分液ロートに移す。さらに 3 回、トルエン 20 ml を加えて同様に操作し、トルエン層を合わせる。合わせたトルエン層を 20% 塩化ナトリウム溶液 20 ml で 3 回洗浄する。3 回目の洗液が中性(pH 6～7)であることを確認する。もし pH 6 以下であればさらに洗浄を行うが、メチル水銀の回収率が低下する可能性があるため、洗浄操作は注意深く行う。200 ml 容分液ロート中のトルエン層を別の 200 ml 容分液ロートに移す。トルエン層にシステイン・アセテート溶液 6 ml を正確に加え、5 分間振とう抽出する。暫時静置後、下層(水層)を 10 ml 容共栓付試験管に移し、2500 rpm で 10 分間遠心分離する。ホールピペットで下層(水層)3 ml を正確に共栓付試験管に採り、濃塩酸 1 ml、トルエン 4 ml を正確に加え、5 分間振とう抽出する。暫時静置後、トルエン層を無水硫酸ナトリウム約 2 g 加えた共栓付試験管に移す。よく振とうし、脱水

後、直ちにトルエン層(上澄み)を別の共栓付試験管に移して ECD-GC の試験溶液とする。

別に試料を用いずに同様に操作し、空試験とする。

#### ⑤ メチル水銀の検量線作成

メチル水銀・システイン標準溶液(1  $\mu$ g/ml (Hg として)) 0、20、40、80、120、160 $\mu$ l をガラス栓付き 50ml 遠心管にそれぞれ正確に採る。以下は、試験操作中の 9 mol/L 塩酸を加える操作から、同様に操作して検量線用標準溶液を調製する。すなわち、メチル水銀・システイン標準溶液を単に希釈した標準溶液を注入して検量線を得るのではなく、それらを試験溶液を得たときと同じ条件で処理したものについて検量線を作成する。

最終トルエン溶液中のメチル水銀濃度(Hg として)は 0、2.5、5、10、15、20 ng/ml となる。

検量線用標準溶液(Hg として 0、2.5、5、10、15、20 ng/ml) のピーク面積を測定する。空試験の面積値を用いて、検量線用標準溶液の値を補正する。補正したメチル水銀のピーク面積から最小二乗法により検量線を作成する。

#### ⑥ メチル水銀濃度および含量計算

試験溶液のピーク面積を測定し、空試験のピーク面積値を差し引いて試験溶液の値を補正する。検量線から試験溶液中のメチル水銀濃度(Hg として)を求め、次式から試料中のメチル水銀濃度(Hg として)を算出する。

試料中のメチル水銀濃度( $\mu$ g/g、Hg として) =  $A \times 1/1000 \times 4 \times 6/3 \times 1/W$

A : 試験溶液中のメチル水銀濃度

(ng/ml)

W：試料採取量(g)

#### 4. 2 総水銀

##### ① 試薬

水銀標準液：原子吸光分析用[関東化学株式会社]

硝酸(1.38)：精密分析用[シグマアルドリッチジャパン株式会社]

硫酸：精密分析用[和光純薬工業株式会社]

過マンガン酸カリウム：特級[シグマアルドリッチジャパン株式会社]

塩化ヒドロキシルアンモニウム：特級[関東化学株式会社]

塩化すず(Ⅱ)二水和物：特級[シグマアルドリッチジャパン株式会社]

##### ② 検量線の作成

水銀標準液を適宜希釈した後、0~0.08  $\mu\text{g/ml}$  を段階的に測定し、得られた吸光度より検量線を作成した。

##### ③ 装置および条件

〈還元気化原子吸光光度計操作条件〉

機種：HG200 及び HG-320J[平沼産業株式会社]

波長：253.7 nm

##### ④ 分析操作及び定量

それぞれの模擬試料 1 の密栓容器から 0.25 g を還流冷却器を付けた 100 ml 容なす形フラスコに量りとり、硝酸約 20 ml 及び硫酸 4 ml を徐々に加え、石棉上直火で褐色の煙の発生が終わるまで加熱した。冷後、過マンガン酸カリウム約 0.5 g を加え、加熱した。液の紫紅色が消えたときは、更に過マンガン酸カリウム約 0.5 g を加え、加熱した。

冷後、還流冷却器を水で洗い、その洗液

を合わせた後、液の色が無色透明となるまで 20%塩酸ヒドロキシルアミン溶液を滴下した。100 ml 容メスフラスコに移し替えた後、水で定容したものを試験溶液とした。

試験溶液の適量を 200 ml 容三角フラスコに取り、水を加えて全量を 100 ml とした後、三角フラスコを水銀測定用原子吸光分析装置に設置し、10%塩化第一すず溶液 2 ml を加え、密栓した後、バブリングを開始し、総水銀の定量を行った。

均質性試験については 10 回、安定性試験については 5 回分析操作を実施した。

#### 5. 共同試験

模擬試料 1、模擬試料 2 および模擬試料 3 を用いてメチル水銀および総水銀を分析し、10 機関による共同試験を行った。メチル水銀分析は、3.1 メチル水銀の定量に記したとおりに行った。ただし、カラムの温度条件やガス流量については各機関にて最適条件になるよう調整した。総水銀の分析は、各機関で通常行っている方法で測定することとした。

模擬試料 1 についてはメチル水銀および総水銀をそれぞれ 2 回分析した。模擬試料 2 と模擬試料 3 についてはメチル水銀および総水銀をそれぞれ 5 回分析した。各機関の模擬試料 2 および模擬試料 3 の値については、5 回の併行分析結果×機関数のデータを分散分析 (JIS Z 8402 -2 参照) により解析し、併行精度と室間再現精度を求めた。なお、模擬試料 1 でのメチル水銀および総水銀の平均値について、Grubbs の検定を用いて外れ値の有無を調べ、外れ値となった機関の模擬試料 2 および模擬試料 3 の分析値については、分散分析に採用しないこととした。また、検量線について、指定

した濃度範囲(0.0025~0.02 µg/mL)とは異なる濃度範囲で作成した機関の分析値についても同様に、分散分析には用いないこととした。

### C-1. 研究結果と考察

食品汚染化学物質や食品添加物の一日摂取量を推定する方法としては、種々の方法が提案され、実際に用いられている。各方式ごとにそれぞれ長所と短所があり、当然ながら、ある仮定のもとに推定されるため、過少な推定になったり過大な推定になったりする。どの方法を用いるかは、推定する目的と、費やせる費用、労力、時間などによる。以下に、参考文献9、10を参照し、代表的な推定方法について記す。

#### 1. マーケットバスケット方式

厚生労働省が残留農薬やダイオキシン類の摂取量調査に現在採用している方法であり、食品添加物の摂取量調査にも使用される。市販食品を購入し、国民健康・栄養調査による各食品の摂取量に応じて食品群別に混合し、場合によっては簡易調理を施し、食品群別試料中の対象化合物を分析する方法である。

食品では14群、食品添加物では加工食品のみが対象となるため7群（Ⅰ群：調味嗜好飲料、Ⅱ群：穀類、Ⅲ群：いも・豆・種実類、Ⅳ群：魚介・肉類、Ⅴ群：油脂・乳類、Ⅵ群：砂糖・菓子類、Ⅶ群：果実・野菜・海藻類）に分けられる。国民平均の数値を得るためには、全国の地域ブロック毎の値を平均したり、平均的と考えられる地域での数値を求めたりする。検出値がNDの場合は、数値を0としたり、検出限界の何分の一かの値で計算したりする。厚生労働省調査においては、残留農薬では検出限界の20%、汚染物質やダイオキシン類では0と50%が採用されているが、食品添加物では一般的に0とされることが多い。

この方法では国民全体としての平均値や特定地域内での平均値が推定される。方法の長所としては、実際の試料について分析を行うため、数値の信頼性が高い事があげられる。国民健康・栄養調査のデータが入手できれば、年齢層別の値も得ることができる。短所としては、費用と労力がかかることである。また、実施する季節により食品の種類が違ってくるが、その時期における対応食品の摂取量データがない場合がある。さらに、群内で多くの食品を混合するため、分析値がNDとなりやすい傾向がある。また、食品添加物の調査においては、天然由来か食品添加物由来かの割合が不明な点があげられる。

#### 2. モンテカルロ法による方法

上記のマーケットバスケット方式による摂取量調査では、国民平均あるいは地域内平均の値が推定される。しかし、最近のリスク管理においては、高暴露群の摂取量が必要となる場合が多い。その際によく用いられるのが、確率論的手法であるモンテカルロ法である。

この方法を採用するためには、食品中の対象化合物の含有量分布と、その食品の摂取量の分布が必要であり、それぞれを確率論的に多数回掛け合わせることにより、その食品からの対象化合物の摂取量分布を得ることができる。当然、両方のデータベースが充実しているほど、特にNDでないデータが充実しているほど、信頼性の高い値が得られる。最近では、わが国における

米中カドミウムの実質的規制値 0.4ppm の正当性を Codex に示すために、この方法が用いられた。

### 3. 陰膳方式

協力者に依頼して、1日に摂取したすべての飲食物について、同じ種類の同じ量の食品を集めて提供してもらい、それを分析する方法と、1週間程度のモデル献立表を作り、その内容で調理したものを分析する方法がある。これらの方法も、実際に食したり食する予定の食品を分析するため、正確な値が得られる。特定対象者群の調査に適している方法である。特定の個人の値であり、また、日によって食事内容が異なるため、得られる数値は対象化合物によって大きな幅を示す。これらのことが、この方法の長所でもあり短所でもある。この方法では、どの食品（群）の寄与が大きいかの情報は得られない。また以前には、協力者が普段よりも良い食事をする傾向があるとの指摘がなされたこともある。

### 4. 生産流通量から推定する方法

この方法は、食品添加物の摂取量を推定するために用いられる方法の1つである。食品添加物の製造・輸入・流通業者や食品加工業者にアンケート調査し、年間の生産量や輸入量、食品への使用量を回答してもらい、得られた数値を人口と日数で割り算して一日摂取量を推定する方法である。この方法では、アンケート調査結果の信頼性が、推定が正しいかどうかを直接的に左右することになる。アンケートの高い回収率はもちろんのこと、業者が正直に自社の数値を提供してくれることが前提となる。そのため、調査の実施母体に中立性と秘密厳守が要求される。

この方法の特徴は、他の方法では得られない個々の食品添加物としての値が得られることである。すなわち、ある化合物のナトリウム塩とカリウム塩の値が別々に得られる。また、実験的な分析を伴わないため、費用は少なくすむ。短所としては、業者が提出してきた量のすべてが食品添加物として食品に使用されたかが確認できない点である。食品添加物以外の目的で使用される場合もあるし、ある食品添加物品目の化合物が他の食品添加物の製造原料になる場合もあることを念頭に置いて、推定作業を行う必要がある。また、たとえ食品に使用されたとしても、最終的にその全部を摂取するわけではない。さらには、輸入食品中に使用されている量を直接的には把握できないため、適切に見積もる必要がある。そのため、国内においてこの方法が用いられる際には、専門家によるデータの検討がなされてきたが、いずれにしても過剰見積りの傾向になることはいない。

なお近年、硝酸塩の摂取量が問題となっているが、この方法では食品添加物として使用された硝酸塩の量が推定できる。

### 5. 行政検査結果を用いる方法

この方法も食品添加物の摂取量調査に用いられている方法である。わが国には膨大な数の行政検査結果があるため、それらのデータを有効に利用して摂取量を求めようというものである。食品中の含有量には行政検査結果の平均値を用い、食品の摂取量としては国民健康・栄養調査結果を使用し、両者を乗じて摂取量を推定する。当然ながら、全国の自治体に依頼して、デー

タを送付してもらう必要がある。

この方法の長所は、既存データを有効利用するため費用が安いこと、人員が少なくてすむことである。また、食品毎の寄与を明らかにもできる。一方、短所としては、行政検査が実施される食品と食品添加物の組み合わせが偏っていることがあげられる。このため、特定の用途（保存料や甘味料など）の食品添加物についての推定のみが可能である。たとえば極端な例では、4. で述べた硝酸塩については、行政検査の多くが使用基準のある食肉等について実施されるため、そのデータは多いが、摂取量に最大の寄与をする野菜類のデータがない。その結果、推定量が非常に小さな値になってしまう。また、行政検査を実施する機関毎に検出限界が違っていることが多いが、調査を正確なものにするには、その違いをできるだけ小さくする必要がある。

#### 6. バジレット方式ほか

バジレット方式は食品添加物の使用基準の妥当性を確認するための方法であり、摂取量を推定する方法ではない。農薬における TMDI 試算に相当し、使用基準ぎりぎりまで使用されていると仮定して、その総和を ADI と比較するものである。JECFA では摂取量調査を行う必要性を判断するためのスクリーニング法としてバジレット方式を位置づけており、計算で求めた摂取量が ADI を超える可能性がある場合には、マーケットバスケット方式などを用いて摂取量調査を行う方針のようである。また、北欧諸国では食品添加物の使用基準設定の際に用いられている。

この他にも、国民栄養調査成績に基づく

方法が過去に用いられたこともある。また、尿中排泄量から推定する方法もある。これは、体内で代謝されず、蓄積もせず、尿中に排泄される化合物に対しては有効な方法である。ただし、分析試料の入手を慎重に行う必要があり、結果は協力者の食事内容に大きく依存している。

#### 7. 食品香料化合物の摂取量を推定するための方法

わが国で使用されている食品香料化合物の数は、平成 12 年度の厚生科学研究の報告では 2,577 品目に達している。このように数が膨大であるのに加えて、食品中の香料化合物の残存量が少ないために、香料化合物においてはマーケットバスケット方式などの方法を用いて分析を行うことができない。また、天然に常在成分として存在する化合物が多い。さらに、香料化合物は揮発性が高い。そこで、香料化合物の摂取量を推定するために、多くの方法が考案されている。実際に分析ができないため、上記の 4. と 6. の方法に類似した方法となる。

方法は大きく分けて、2つに分類される。1つは、食品の摂食量と、その食品への香料化合物の添加量を乗じて、それらの総和を求めるものである。用いる添加量としては、最大添加量が用いられる場合（TAMDI 法、理論的添加最大一日摂取量と呼ばれる）と、実際の使用量を推定する場合がある。方法により、困難さや正確さが異なってくるのは当然である。

もう一方は、香料化合物の総生産量から推定する方法である。香料化合物に限った方法ではないが、この分類に属する PCTT (Per Capita X 10) 法は JECFA やわが

国で香料化合物の安全性評価の際に用いられている方法であるため、それについて記す。この方法は安全性評価のための方法であり、米国やEUでも採用されている。

PCTT法は、人口の10%のみがその香料化合物を摂取する（消費者人口＝人口×0.1）として、年間生産量を基に計算する方法である。その際、アンケート調査の報告率（60%や80%の数値が用いられる）で補正される。4. で述べた生産流通量から推定する方法では国民平均の値となるが、安全性評価の点から消費者人口を10%として計算するものである。この方法は迅速簡便であり、他の方法に比べて過小評価になることはないので、安全性評価には適した方法である。ただし、報告されてきたデータをどう検証するかが問題となる。また、輸出入される食品香料製品の見積もり、業者間での階層的取引（ある業者の製品を原料として調合香料を製造する場合など）の重複回避など、難問も多いが、安全側によった推定ができれば、有効な手法である。

以上のように、食品汚染化学物質や食品添加物の摂取量調査には多くの方法が使用されているが、どの方法においても長所と短所がある。そのため、いくつかの方法を併用して相互に比較し、また、調査を繰り返して実施することが必要と考えられる。

特に、魚介類中のメチル水銀の摂取量を推定する際には、妊婦と高暴露群についての数値が得られる方法を用いることが望ましい。その点からはモンテカルロ方式が望ましいが、信頼性の高い推定摂取量を得るためには、それなりの分析データを集積する必要がある。水産庁や農林水産省では

マグロやカジキ類について、大規模なメチル水銀の実態調査を実施している。厚生労働省の国民健康・栄養調査結果と総合することにより、日本人のメチル水銀摂取量の実態が明らかになることが望まれる。

## C-2. 研究結果と考察

### 1. 共同試験のための試料作製

模擬試料1としてキンメダイ乾燥粉末試料を作製した。キンメダイ乾燥前の重量は3,287.19g、かつ乾燥後の重量は949.19gとなり、水分含量は71.1%であった。

### 2. メチル水銀標準溶液の検量線

メチル水銀標準溶液(Hgとして)濃度、0、0.0025、0.005、0.01、0.015、0.02 µg/mlを用いて作成した検量線の1例をFig. 1に示した。相関係数は0.999以上であり、直線性は良好であった。メチル水銀の定量下限濃度とした0.0025 µg/mlと、検量線に用いた最高濃度の0.02 µg/mlのときのクロマトグラムをFig. 2, 3に示した。メチル水銀の定量下限の濃度0.0025 µg/mlにおいても、ピークが明らかに認められ、定量は可能であった。

### 3. 模擬試料1の均一性試験および安定性試験結果

均質性試験におけるメチル水銀及び総水銀の結果並びに総水銀に対するメチル水銀の比率をTable 1-1に示した。作製した分析用模擬試料のクロマトグラムの一例をFig. 4に示した。

メチル水銀については平均値2.27 µg/g、標準偏差0.074 µg/g、変動係数3.2%、総水銀については平均値2.39 µg/g、標準偏差0.09 µg/g、変動係数3.8%であり、作製した標準試料の均質性は概ね担保されていると思われた。



なお、総水銀に対するメチル水銀の比率は94%と非常に高いことがわかった。

#### 4 安定性試験

安定性試験におけるメチル水銀及び総水銀の結果並びに総水銀に対するメチル水銀の比率をTable 1-2に示した。

メチル水銀については平均値2.16 µg/g、標準偏差0.10 µg/g、変動係数4.8%、総水銀については平均値2.44 µg/g、標準偏差0.12 µg/g、変動係数4.8%であった。

3. の均質性試験結果との比較から、作製した模擬試料1における共同試験実施期間中の安定性は確保されているものと考えられた。

#### 5 模擬試料2と模擬試料3の分析値

模擬試料2と模擬試料3は認証標準試料（ツナ、CRM 463、BCR、メチル水銀認証値：2.83±0.15 mg/kg（水銀として）、総水銀の認証値：2.85±0.15 mg/kg（水銀として））であり、模擬試料3は認証標準試料（ツノザメ、DORM-2、NRC、メチル水銀の認証値：4.47±0.32 mg/kg 乾重量（水銀として）、総水銀の認証値：4.64±0.26 mg/kg（水銀として））である。これらの分析結果をTable 2に示した。また、クロマトグラムをFig. 2, Fig. 3に示した。模擬試料2について5倍希釈し分析したときのクロマトグラムをFig. 2に、模擬試料については10倍希釈し分析したときのクロマトグラムをFig. 3に示した。模擬試料2のメチル水銀および総水銀の定量値はそれぞれ2.79 mg/kg、2.81 mg/kgであり、認証値の範囲であった。また模擬試料3のメチル水銀および総水銀の定量値はそれぞれ4.17 mg/kg、

4.44 mg/kgであり、認証値の範囲であった。以上のように、改良した分析法を用いて認証標準試料の分析を行ったところ、真度は良好であることが確認された。

#### 6 共同試験結果

6. 1 模擬試料1（キンメダイ）を用いたときの共同試験結果

模擬試料1の共同試験結果をTable 3-1、Table 3-2に示した。メチル水銀および総水銀の2回測定の平均値について、Grubbsの検定を用いて外れ値の有無を調べたところ、外れ値となった機関は見られなかった。検量線について、指定した濃度範囲（0.0025～0.02 µg/mL）とは異なる濃度範囲で作成した機関が2機関みられ、濃度範囲は機関8で0～0.125 µg/mL、機関10で0～0.15 µg/mLであった。これら2機関の模擬試料2および模擬試料3の分析値は分散分析には用いないこととした。

6. 2 模擬試料2および模擬試料3を用いたときの共同試験結果

JIS Z 8402-2に示された分散分析により解析を行い、併行精度（Repeatability,  $RSD_r$  (%)）および室間再現精度（Reproducibility,  $RSD_R$  (observed) (%)）を求めた。なお、Horwitzの式から予測される室間再現精度（ $RSD_R$  (predicted) (%)）を用い、分析法の性能として評価できる値としてHORRAT値（ $HORRAT = RSD_R$  (observed) /  $RSD_R$  (predicted)）を求めた。評価の基準としてはHORRAT値が2以下のときは本分析法が許容できる範囲とみなし、2を超えるときは再現性に乏しい方法であるとみなした。

模擬試料2の共同試験結果をTable 4-1、4-2、4-3に示した。分散分析の結果、メチル水銀の併行精度は7.3%と良好であった。室間再現精度は22.7%と、Horwitzの式から予想される室間再現精度13.7%と比べるとHORRAT値2以下であった。一方、バイアスは-25.3%と高い値であり、真度は良好ではなかった。総水銀については、併行精度は2.3%、室間再現精度は10.6%と、Horwitzの式から予想される室間再現精度13.7%と比べるとHORRAT値0.8であり、非常に良い精度が得られた。またバイアスも-0.6%と小さく真度は良好であった。

模擬試料3の共同試験結果をTable 5-1、5-2、5-3に示した。分散分析の結果、メチル水銀の併行精度は4.9%と良好であった。室間再現精度は23.4%と、Horwitzの式から予想される室間再現精度12.8%と比べるとHORRAT値2以下であった。一方、バイアスは-23.9%と高い値であり、真度は良好ではなかった。総水銀については、併行精度は2.1%、室間再現精度は9.8%と、Horwitzの式から予想される室間再現精度12.7%と比べるとHORRAT値0.8であり、非常に良い精度が得られた。またバイアスも1.0%と小さく真度は良好であった。

なお、検量線の濃度範囲が指定したもののよりも高い範囲であったために、分散分析に用いることができなかつた、機関8と機関10のメチル水銀および総水銀の値についてはそれぞれ、模擬試料2では2.73 µg/g、2.19 µg/g、模擬試料3では4.55 µg/g、3.69 µg/gであり、いずれも他の機関の値に比べて高めの値であつ

た。かつ機関8の値は、10機関の中で唯一、認証値の範囲の分析値であつた。機関8や機関10では、メチル水銀の感度がよくないという理由で、検量線作成のための濃度範囲を高くなるように変更したとの報告がなされた。このため、模擬試料2、模擬試料3のいずれにおいても、試験溶液の希釈は行わずに測定された。なお、複数の機関から、今回のような低濃度の検量線の場合、感度不足との報告が出された。今回、低濃度での検量線作成を行った理由は、メチル水銀量の多い魚類だけではなく、それ以外の試料についての応用を考慮したためである。検量線の濃度が低濃度のため、魚類試料中のメチル水銀を測定する場合、試験溶液の希釈が必要となつた。したがって、今回の共同試験において、検量線の最高濃度が高く設定されていれば、試験溶液の希釈も必要なく容易に測定できた可能性が考えられた。また、一般的に、希薄な試料の測定の場合、装置内に汚染がある場合、試料が吸着してしまうため、分析値が低くなることがある。今回、各機関に対して、ECD-GCの試料導入部で用いるインサートについては提供したため、試料導入部での汚染は考えられない。しかし、共同試験のための分析法において、例えばオートサンプラーから試料導入までの洗浄については記載をしなかつた。各機関において低濃度のメチル水銀の感度がよくなかつたのは、メチル水銀は装置内の汚染成分に吸着してしまつた可能性が考えられた。なお、今回参加した機関は、ECD-GCには熟練をしているが、メチル水銀の分析は日常的には行つ

ていない機関の方が多い。操作を行う上で、メチル水銀分析の分析用カラムの内径は通常の農薬分析用のカラムの内径よりも太いなど、カラムを扱う際においてもメチル水銀の分析は通常の農薬分析とは異なる。なお、メチル水銀をシステム溶液を用いて反応させた後、直ちに測定しないと分析値の安定性に影響があることが経験的にわかっている。分析法にはすでに“用時調製”と記載してあるのだが、メチル水銀の分析には抽出操作が煩雑であり熟練を要するため、時間がかかり、メチル水銀の分析値が低めになったのかもしれないと考えられた。昨年度は3機関での共同試験を行い、室内精度もよく、平均値もバラつかなかったことから、今年度は多機関での共同試験の実施を行ったのだが、これら3機関はすべて日常的にメチル水銀の分析経験を有する機関であった。

#### D-1. 結論

食品汚染化学物質や食品添加物の摂取量調査には多くの方法が使用されているが、どの方法においても長所と短所があるため、いくつかの方法を併用して相互に比較し、また、調査を繰り返して実施することが必要と考えられた。

特に、魚介類中のメチル水銀の摂取量を推定する際には、妊婦と高暴露群についての数値が得られる方法を用いることが望ましい。その点からはモンテカルロ方式が望ましいが、信頼性の高い推定摂取量を得るためには、それなりの分析データを集積する必要がある。

#### D-2. 結論

作成した模擬試料、および認証標準品を

模擬試料として用い、メチル水銀分析の改良法により8機関での共同試験を行い、分析法の性能を評価した結果、HORRAT値は2以下であったが、バイアスは高く、真度は良好とはいえない結果であった。

#### E. 参考文献

- 1) <http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/admehg.html>
- 2) <http://www.mhlw.go.jp/shingi/2003/06/s0603-3.html>
- 3) <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/suigin/dl/050812-2.pdf>
- 4) 「魚介類の水銀の暫定的規制値について」(昭和48年7月23日環乳第99号)の別紙2
- 5) 厚生労働省監修：食品衛生検査指針理化学編(2005)(社)日本食品衛生協会
- 6) 環境省編：水銀分析マニュアル、28-42(2004)
- 7) <http://www.mhlw.go.jp/shingi/2003/06/s0603-4g.html>
- 8) A. I. Cabanero et al.: Biol. Trace Elem. Res. 103, 17-35 (2005)
- 9) 石綿 肇、山田 隆：食品衛生研究、48(9)、67-79(1998)
- 10) 平成13年度厚生科学研究報告書「食品用香料及び天然添加物の化学的安全性確保に関する研究(主任研究者：米谷民雄)、分担研究報告書「食品香料の規格のあり方及び流通量調査による暴露量評価に関する研究」(分担研究者：米谷民雄、研究協力者：日本香料工業会)

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

Tamio Maitani, Megumi Hamano Nagaoka and Kazuomi Itano: Improvement of the analytical method for methylmercury in fish and shellfish and a collaborative study. Tenth International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Hyphenated Chromatographic Analyzers (HTC-10) & Tenth International Symposium on Advances in Extraction Techniques (ExTech (R) 2008)) (Bruges, Belgium)

## G. 知的財産所有権の出願・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