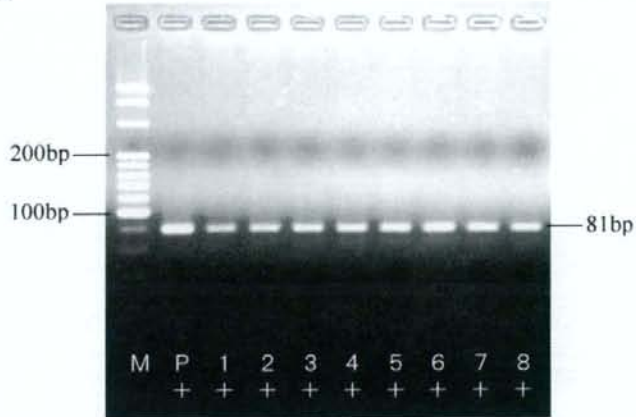


図3 外部精度管理調査の検討:陽性対照プライマー対による定性PCR増幅物の電気泳動像

A. GM quicker2



B. Genomic DNA Extraction Food Samples (APPENDIX A 法)



M 分子量マーカー(20bp ladder)


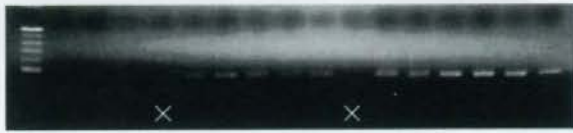
P 陽性対照プラスミド

1から8 上新粉B

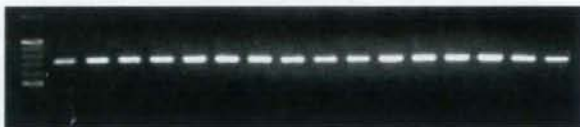
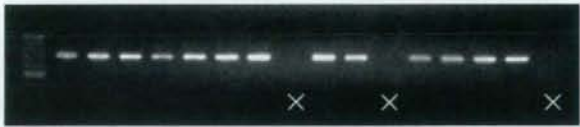
+ 目的の増幅バンドが確認された反応

図4 外部精度管理調査の検討:定性PCRにおける検出下限



A. Cry1Ac 検出用プライマー対

陽性対照 プラスミドの コピー数 (コピー/反応)	電気泳動像 ⁽¹⁾	増幅バンド 検出数 ⁽²⁾
5		16
2.5		14

B. Bt コメ検出用プライマー対

陽性対照 プラスミドの コピー数 (コピー/反応)	電気泳動像 ⁽¹⁾	増幅バンド 検出数 ⁽²⁾
165		16
80		13

C. Bt コメ確認用プライマー対

陽性対照 プラスミドの コピー数 (コピー/反応)	電気泳動像 ⁽¹⁾	増幅バンド 検出数 ⁽²⁾
5		16
2.5		11

(1) ×印は目的の増幅バンドが確認されなかった反応

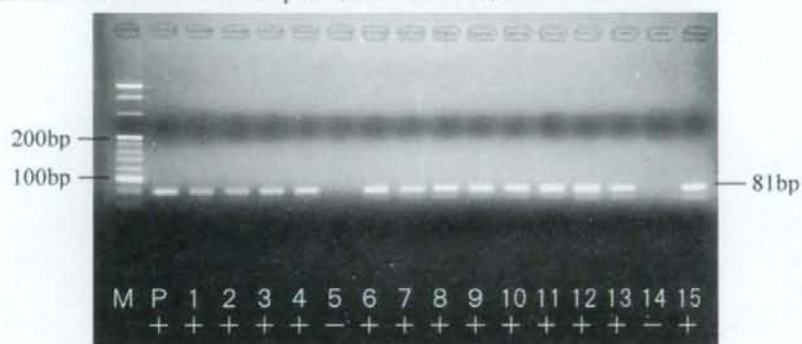
(2) 16 並行で実施した定性 PCR において増幅バンドが確認された反応の数

図5 各種コメ加工品粉砕物から抽出した DNA 確認の電気泳動像

A. GM quicker2



B. Genomic DNA Extraction Food Samples (APPENDIX A 法)



M 分子量マーカー (20bp ladder)

P 陽性対照プラスミド

1 コメ

2 上新粉 B

3 上新粉 A

4 台湾産ビーフン A

5 台湾産ビーフン B

6 タイ産ビーフン A

7 タイ産ビーフン B

8 タイ産ビーフン C

9 タイ産ビーフン D

10 ベトナム産ビーフン A

11 ベトナム産ビーフン B

12 ベトナム産ビーフン C

13 タイ産ライスペーパー

14 ベトナム産ライスペーパー

15 中華おこげ

+ 目的の増幅バンドが確認された反応

- 目的の増幅バンドが確認されなかった反応

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 20 年度

研究成果に関する刊行物一覧表

研究成果の刊行に関する一覧

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

誌上発表

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌名	巻号	ページ	出版年
尾花裕孝： 北川陽子、岡本葉、 高取聡、起橋雅浩、 村田弘、住本建夫、 尾花裕孝、田中之雄	健康危機事例への対応について—冷凍 餃子が原因とされる有機リン系農薬中 毒—	大阪府立公 衆衛生研究 所研究報告	Vol. 46	35-43	2008
梶島由佳、上野英二、 大島晴美、大野勉、 斎藤勲	愛知県における野菜・果実中の農薬残留 データに基づいたポジティブリスト制 度下での農薬検査対象設定方法の検討	食品衛生学 雑誌	Vol. 49	283-293	2008
上野英二、梶島由佳、 大島晴美、大野勉	データベースソフトウェアを用いた GC/MSによる農産食品中残留農薬の多成 分一斉分析法の検討	食品衛生学 雑誌	Vol. 49	316-319	2008
上野英二、梶島由佳、 大島晴美、大野勉	NCI モードGC/MS およびデュアルカラム GC-マイクロ ECD による畜水産物中残留 農薬の多成分分析	食品衛生学 雑誌	Vol. 49	390-398	2008

学会発表

発表者氏名	タイトル名	発表学会名	出版年
尾花裕孝： 起橋雅浩、高取聡、北川陽子、 岡本葉、田口修三、尾花裕孝	Pesticide Analysis in Processed Foods	7th EUROPEAN PESTICIDE RESIDUE WORKSHOP, Berlin, Germany	2008
岡本葉、高取聡、福井直樹、北 川陽子、起橋雅浩、村田弘、住 本建夫、尾花裕孝	加工食品中の残留農薬一斉分析法の開発 (1) —LC-MS/MS を用いた検討—	第96回食品衛生学会 学術講演会（神戸）	2008
北川陽子、起橋雅浩、高取聡、 岡本葉、福井直樹、村田弘、住 本建夫、尾花裕孝	加工食品中の残留農薬一斉分析法の開発 (2) —GC-MS および GC-MS/MS を用いた検 討—	第96回食品衛生学会 学術講演会（神戸）	2008

村田弘、織田肇、岩上正蔵、田中之雄、尾花裕孝、住本建夫、高取聡、北川陽子、柿本幸子、岡本葉（大阪府立公衆衛生研究所）、土田由里子（新潟県保健環境科学研究所）、上野英二（愛知県衛生研究所）、田中敏嗣（神戸市環境保健研究所）、宇野正清（奈良県保健環境研究センター）、木野善夫（和歌山市衛生研究所）、佐々木珠生（広島市衛生研究所）、堤泰造（徳島県保健環境センター）、花田喜文（北九州市環境科学研究所）	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（第3報）	第45回全国衛生化学技術協議会年会（佐賀）	2008
起橋雅浩、北川陽子、高取聡、岡本葉、福井直樹、村田弘、住本建夫、尾花裕孝	加工食品中の残留農薬分析	第31回農薬残留分析研究会（宮崎）	2008
上野英二、椛島由佳、大島晴美、大野勉（愛知県衛生研究所）	Analytical method for water-soluble pesticides in animal and fishery products by LC-MS (/MS)	7th EUROPEAN PESTICIDE RESIDUE WORKSHOP, Berlin, Germany	2008
上野英二、椛島由佳、大島晴美、大野勉（愛知県衛生研究所）	畜水産食品中デメトン-S-メチルおよびオキシデメトンメチルの分析	第96回食品衛生学会学術講演会（神戸）	2008
中澤裕之： 斉藤貢一、馬場奈美季、岩崎雄介、伊藤里恵、細江智夫、河合賢一、中澤裕之	LC/TOF-MSによるシクロピアゾン酸の分析	日本薬学会第129年会（京都）	2009年 3月
大島赴夫： 井上雪乃、笠間菊子、鈴木達也、大島赴夫、穂山浩、中島治、手島玲子	中国産安全性未審査遺伝子組換え米を対象とした外部精度管理調査における試料作製の検討	第96回日本食品衛生学会学術講演会（神戸）	2008年 9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」

平成 20 年度

研究成果に関する刊行物

論文発表

健康危機事例への対応について —冷凍餃子が原因とされる有機リン系農薬中毒—

北川陽子*1 岡本葉*1 高取聡*1 起橋雅浩*1 村田弘*1 住本雄夫*1 田中之雄*1 尾花裕孝*1

千葉県、兵庫県において輸入冷凍餃子を喫食した3家族、のべ10名が有機リン系農薬中毒症状を呈する健康危機事例が、平成19年12月末から平成20年1月にかけて発生した。3家族が喫食した輸入冷凍餃子の包装材や食品の一部から高濃度のメタミドホス及びジクロロホスの検出が報道された。当所においてもメーカーが自主回収している該当製品を喫食して、健康被害を訴える府民に対応するため、大阪府下の各保健所を通じて持ち込まれた検体についてメタミドホス及びジクロロホスの検査を行った。その結果、検査を行った40検体（包装材17検体、食品23検体）についてメタミドホス及びジクロロホスは検出されなかった。

キーワード：危機管理、冷凍餃子、加工食品、メタミドホス、ジクロロホス

keywords: risk management, frozen chinese dumpling, processed food, methamidophos, dichlorvos

平成19年12月末から平成20年1月にかけて、千葉県及び兵庫県の3家族（のべ10名）が、輸入冷凍餃子を喫食したところ、有機リン系農薬中毒の症状を呈し、数名が一時重症に陥るといって極めて重大な健康危機事例が発生した。3家族が喫食した輸入冷凍餃子は、中国の同一工場内で生産されており、輸入業者は、その工場で生産された製品について自主回収を行った。該当製品の一部から高濃度の有機リン系農薬（メタミドホス及びジクロロホス）の検出が確認されたため、該

当製品を喫食した消費者から、健康被害の相談が相次いで保健所等に寄せられた。当所においても、事件の一端から、府民の健康不安に対応するため、大阪府下の各保健所に持ち込まれた製品（包装材及び食品）について、メタミドホス及びジクロロホスの緊急検査を行った。

本報告では、保健所から持ち込まれた40検体（包装材17検体、食品23検体）について、メタミドホス及びジクロロホスの分析結果を報告するとともに、健康危機事例への対応を通じて、工夫した点や今後の課題等について報告する。

*1 大阪府立公衆衛生研究所 食品医薬品部 食品化学課

*2 社団法人 大阪食品衛生協会

The Correspondence to the Healthy Crisis Case

-The Organophosphorus Pesticide Poisoning in Which Frozen Chinese-made Dumpling-

by Yoko KITAGAWA, You OKAMOTO, Satoshi TAKATORI, Masahiro OKIHASHI, Hiroshi MURATA, Tatsuo SUMIMOTO, Yukio TANAKA and Hirotaka OBANA

実験方法

1. 試料

有機リン系農薬中毒事件に関連して、保健所に持ち込まれた40検体（包装材17検体、食品23検体）。食品の内訳は、メーカー自主回収対象食品19件（冷凍餃

子 14 検体、ロールキャベツ 3 件、豚肉ごぼう巻き 2 件) 及び対象外の食品 4 件 (冷凍餃子 2 件、レトルトカレー 2 件) であった。また、市販の国産冷凍餃子 1 検体を当所近くのスーパーで購入し、添加回収実験用に使用した。

2. 試薬

標準品及び試薬類は和光純薬工業社製を用いた。メタミドホス標準品及びジクロロボスの標準品は、残留農薬分析用標準品を用いた。無水硫酸マグネシウムは特級、ギ酸は HPLC 用をそれぞれ用い、その他の試薬は残留農薬分析用を用いた。C18 カラムは ENVI™-18 (3 mL) (SUPELCO 社製)、グラファイトカーボン/PSA 積層カラムは、ENVI™-CarbII/PSA (500/500 mg) (SUPELCO 社製) をそれぞれ用いた。

3. 機器

フードプロセッサーは、SQ-7 (東芝社製) を用いた。高速ホモジナイザーは、ポリトロン PT10 (KINEMATICA, Littau-Lucerne, Switzerland) を用いた。遠心分離器及びローターは、himac SCR20B 及び R12A5 (日立社製) を用いた。使用機器であるタンデム型質量分析器付きガスクロマトグラフ (GC/MS/MS)、タンデム型質量分析器付き液体クロマトグラフ (LC/MS/MS)、蛍光光度検出器付きガスクロマトグラフ (GC-FPD) 及びパルス式蛍光光度検出器付きガスクロマトグラフ (GC-PFPD) の分析条件は、分析条件の項目に記載した。

4. 試験液の調製

4-1) 包装材中のメタミドホス及びジクロロボスの分析方法

当初はメタミドホスのみが検出されたとの報道がなされたため、メタミドホスが溶解しやすいメタノールで溶出試験を行った。操作方法を図 1 に示す。包装

材の面積を測定し、表面積あたり約 2 mL に相当する 400 mL のメタノールを用いて室温で 30 分両面浸漬溶出を行った。その後、浸出液 100 mL を分取し、減圧濃縮を行った。これを 10% アセトン/ヘキサンで 5 mL に定容し、GC-PFPD 及び GC/MS/MS にて分析を行った。

4-2-1) 食品中のメタミドホス及びジクロロボスの分析方法

当所において行われている農薬検査の方法¹⁾を一部改変して前処理を行った。操作方法を図 2 に示す。フードプロセッサーで試料を均一化し、2 g を 50 mL ポリプロピレン製チューブに採取し、アセトニトリル 20 mL を加えて、ホモジナイザーで 1 分間攪拌抽出を行った。これに塩化ナトリウム 1 g 及び無水硫酸マグネシウム 4 g を加え、直ちに 1 分間振とう攪拌した。その後、遠心分離 (1200×g、10 分間) を行った。アセトニトリル層 5 mL (0.5 g 相当) をアセトニトリル 10 mL でコンディショニングした ENVI™-18 (上部) 及びアセトニトリル/トルエン (3/1) 30 mL でコンディショニングした ENVI™-CarbII/PSA (下部) を連続したカラムに負荷した。負荷後、アセトニトリル 10 mL で溶出し、ENVI™-18 を取り除いた後、ENVI™-CarbII/PSA をアセトニトリル/トルエン (3/1) 30 mL で溶出した。負荷した際の通過液及び溶出液を 100 mL ナス型フラスコに捕集し、減圧濃縮した。これを窒素気流下で乾固後、メタノールで 2 mL に定容し (2.0 g/mL)、水で 4 倍に希釈したものを LC/MS/MS にて測定を行った (0.5 g/mL)。

4-2-2) 食品中のメタミドホス及びジクロロボスの分析方法 (追加実験)

厚生労働省から、今回の冷凍餃子事件に対応するための分析法として「食品中に残留する農薬メタミドホスに係る試験法」が提示された²⁾。このため、この方

法を一部簡略化し、追加実験としてメタミドホス及びジクロロホスの分析に用いた。操作方法を図3に示す。試料2gに酢酸エチル15mL及び無水硫酸ナトリウム15gを添加し、ホモジナイザーで1分間攪拌抽出を行った。その後、遠心(1200×g, 10分間)し、上清0.75mL(0.1g相当)を採取した。これにアセトンを0.25mL添加し、GC-FPDにて分析を行った(0.1g/mL)。

5. 分析条件

包装材料については、GC-PFPDで定性を行い、GC/MS/MSで定量(添加回収実験)を行った。食品については、LC/MS/MS及びGC/FPDを用いて、それぞれ定性及び定量(添加回収実験)を行った。以下に個々の分析機器の測定条件を示す。

5-1) GC-PFPD条件

GC: 6890 (Agilent)
カラム: HP-5MS (30m×0.25mm, 0.25µm; J&W)
キャリアーガス: ヘリウム
注入口温度: 250°C
検出器温度: 300°C
カラム昇温: 50°C (1 min) → 25°C/min → 125°C (0 min) → 10°C/min → 300°C (6.5 min)
注入量・方式: 2 µL・パルスドスプリットレス (1 min)

5-2) GC/MS/MS条件

GC: CP-3800 (Varian)
MS/MS: 1200L (Varian)
イオン化モード: Electro-ionization, positive mode (EI)
カラム: Factor Four VF-5ms (30m×0.25mm, 0.25µm; Varian)
キャリアーガス: ヘリウム
注入口温度: 250°C
トランスファーライン温度: 250°C
イオン源温度: 200°C

MRM条件: (A) メタミドホス, Q1/Q3 [CE (V)] = 141/94 [5], (B) ジクロロホス, Q1/Q3 [CE (V)] = 185/93 [20]
カラム昇温: 50°C (1 min) → 25°C/min → 125°C (0 min) → 10°C/min → 300°C (6.5 min)
注入量・方式: 2 µL・パルスドスプリットレス (1 min)

5-3) LC/MS/MS条件

LC: 1100 Series (Agilent)
MS/MS: API 3000 (Applied Biosystems)
イオン化モード: Electrospray ionization positive mode (ESI)
カラム: ASCENTIS C18, 2.1×100 mm, 3µm (SUPELCO)
移動相: (A) 0.1% 酢酸水溶液、(B) 0.1% 酢酸含有メタノール溶液
グラジエント: (B) 25→95% (12 min: liner) → 95% (8 min)
流速: 200 µL/min
カラム温度: 40°C、注入量: 5 µL
電圧/温度: 4000V/450°C
MRM条件: (A) メタミドホス, Q1/Q3 [CE (V)] = 142/94 [19], (B) ジクロロホス, Q1/Q3 [CE (V)] = 221/109 [31]

5-4) GC-FPD条件

GC: GC-17A (Shimadzu)
カラム: DB-1701 (30m×0.25mm, 0.25µm; J&W)
キャリアーガス: ヘリウム
注入口温度: 250°C
検出器温度: 250°C
カラム昇温: 80°C (2 min) → 20°C/min → 180°C (0 min) → 4°C/min → 260°C (0 min) → 10°C/min → 280°C (5 min)
注入量・方式: 2 µL・スプリットレス (2 min)

結果及び考察

1. 添加回収実験

1-1. 包装材の添加回収実験

市販冷凍餃子の包装材にメタミドホス及びジクロロポスを10 µg 添加し、回収実験を実施した。結果を表1に示す。メタミドホスでは良好な回収率を得たが、ジクロロポスについては回収率が40%と低い値となった。この原因として、ジクロロポスは蒸気圧が高いため、添加した際に溶媒と一緒に揮散した可能性が考えられた。ジクロロポスは製剤中では水で希釈したときに乳化しやすいように界面活性剤やキシレンが添加されている。添加回収実験を行う際にジクロロポスの製剤を添加していれば、ジクロロポスが良好に回収されたかも知れない。今回は低い回収率となったが、検出器であるFPDは、通常のFPDよりも高感度であり、定量下限である0.01 ngの1/10の濃度まで測定可能であったため、低濃度のジクロロポスについても検出可能であると判断した。

1-2. 食品の添加回収実験

試験品のほとんどが冷凍餃子であったため、冷凍餃子を対照品として添加回収実験を行った。健康危機事例という観点から、中毒量を考慮し、添加量は通常の農薬検査で行っている0.1 ppmの10倍濃度である1 ppmを添加して行った。結果を表2に示す。LC/MS/MS(前処理方法4-2-1)及びGC-FPD(前処理方法4-2-2)のいずれについても良好な結果を得た。以上のことから、上記の分析方法は、食品中のメタミドホス及びジクロロポスを分析する上で、十分な精度を有すると結論づけられた。

2. 実試料の測定結果

大阪府下の各保健所から持ち込まれた40検体(包装材17検体、食品23検体)について前述の前処理方法を適用し、測定した結果、全ての検体についてメタミドホス及びジクロロポスは検出されなかった(表3)

これまで我々は、農産物を中心に残留農薬分析を行

ってきた^{3*)}。しかしながら今回の事例は、1) 検体が加工食品である、2) 検体数が未知数、3) 搬入される個々の検体量が少量、4) 中毒症状が出ている、5) 迅速で正確な測定が要求された。そこで、健康危機事例への対応として、A) 担当者が習熟した確実な方法、B) スケールを小さく、C) 前処理を最小で、D) 検出下限値を高く設定する等の方針をたて、この方針に基づき測定を行った。実際には、報道があった翌日に添加回収実験を行い、実験系を構築した。その結果、報道の2日後から実試料の測定に取りかかることができた。さらに、全ての検体について、搬入された翌日には結果を順次公表し、迅速な対応ができた。

保健所から搬入された検体(食品)は、冷凍餃子が最も多く16件であったが、その他ロールキャベツ(3件)、豚肉のごぼう巻き(2件)、レトルトカレー(2件)と多岐にわたっていた。レトルトカレーの分析については、添加回収実験を行った冷凍餃子よりもさらに脂質が多い事が予測されたため、4-2-2の方法に準じて別途添加回収実験(添加濃度1 ppm)を行った(表5)。その結果、メタミドホス及びジクロロポスいずれについても良好な回収率を得た。

健康危機事例の場合、搬入される検体重量が一定量ではない。今回の事件に関連して搬入された検体重量は3.6g~300gであり、数十gの検体も少なくなかった。これらのことから、前処理を小スケールで行うことの重要性が示唆された。また、本事例では、検体の搬入時刻がまちまちであったため、各担当者が、検体のそれぞれの情報(検体番号等)、前処理工程、結果の判定等の情報を共有することが難しかった。これに対応するため、検査工程確認表を作成し活用した。具体的には、搬入された検体毎に、商品名、保健所名、検体番号、検査部位の部別、検査工程及び結果判定等を表にし、掲示した。検査工程確認表の例を図4に示す。この表に検査担当者が、それぞれの担当した工程を書き込み、情報の共有化を行った。特に本件では、同じ

商品名の検体が重複して搬入されたため、検体の取り違え等の防止に有用であった。さらに、刻々と変化する検体搬入数、各検体の検査工程段階、結果の判定等の情報が一目瞭然となった。このように検査工程確認表の活用は、健康危機事例に有用な手段であると考えられた。

3. 今後の課題

今回の事例の場合、測定項目はメタマドホスとジクロロポスに限定されていたが、その他にも中毒原因物質が混入している可能性も否定できない。そのため、GC/MS 及び LC/MS 測定において、スキャンモードでの測定を行うことは重要である。GC/MS においては、データベースがかなり普及しており、多くの化学物質についてマススペクトルが検索可能である。一方、LC/MS においては、データベースが GC/MS ほど普及していないため、当所において現在スキャンデータを独自に蓄積しつつある。今後、このような事例が起こった場合、原因物質をはじめから限定せず、スキャンモードで測定することにより幅広く原因物質を検索することが必要であると考えられた。

残留農薬等に関する新しい制度（ポジティブリスト制度）の導入以前、加工食品の残留農薬の基準値は設定されていなかった。しかしながら、ポジティブリスト制度導入後、個別の基準値が設定された場合を除き、すべての食品が原則一律基準の対象となった。鶏糞油等の一部の加工食品については、個別に基準値が設定されているが、ほとんどの加工食品は、基準値が設定されておらず、原材料にさかのぼって判断しなければならない。さらに加工食品は油脂が多く含まれており、また、加熱処理により発生する食品成分の分解物、調味料、及び香料等も存在する。これらは農薬の分析に妨害成分となり、農産物を対象とした試験法を加工食品に適用することは困難である。このため、加工食品中の残留農薬は、検査所及び各都道府県の衛生研究

所等でもほとんど検査されていない。事件以降、様々な加工食品から農薬の検出事例が後を絶たないため、現在、当所では加工食品中の残留農薬の分析方法の確立をめざし、前処理方法等の検討を行っている。今回の健康危機事例への対応で得た経験や問題点を活かし、このような健康危機事例への迅速な対応、かつ分析精度の向上を目指したい。

謝辞

今回、検体の搬入にご尽力いただきました食の安全推進課及び各保健所の食品衛生監視員の皆様に感謝致します。

文献

- 1) 高取聡, 岡本崇, 北川陽子, 柿本幸子, 村田弘, 住本建夫, 起橋雅浩, 田中之雄: 農産物中の残留農薬検査に用いる新規一斉分析法, 大阪府立公衆衛生研究所 研究報告, 45, 67-75 (2007)
- 2) 食品中に残留する有機リン系農薬に係る試験法について, 厚生労働省平成 20 年 3 月 20 日通知 <<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/zanryu3/index.html>> (accessed 2008-4-2)
- 3) 小西良昌, 吉田耕作, 今井田雅示: 野菜および果実中の残留農薬の汚染実態-昭和 51 年度~昭和 60 年度-, 大阪府立公衆衛生研究所 研究報告, 食品衛生編, 18, 63-68 (1987)
- 4) 吉田耕作, 村田弘, 今井田雅示: 野菜および果実中の残留農薬の汚染実態-昭和 61 年~平成 2 年度-, 大阪府立公衆衛生研究所 研究報告, 食品衛生編, 22, 59-68 (1991)
- 5) 北川陽也, 村田弘, 今井田雅示: 野菜および果実中の残留農薬の汚染実態-平成 3 年度~平成 7 年度-, 大阪府立公衆衛生研究所 研究報告, 食品衛生編, 27, 49

～52 (1996)

6) 福島成彦, 北川幹也, 高取聡, 吉光真人, 桑原克義, 堀伸二郎: 野菜および果実中の残留農薬の汚染実態～平成8年度～平成12年度～, 大阪府立公衆衛生研究所 研究報告, 40, 117～125 (2002)

7) 北川陽子, 起橋雅浩, 尾花裕孝, 阿久津和彦, 柿本幸子, 岡本葉, 高取聡, 小西良昌, 村田弘, 住本健夫, 堀伸二郎, 田中之雄: 輸入農産物中の残留農薬の

実態調査～平成11年度～平成18年度～, 大阪府立公衆衛生研究所 研究報告, 45, 29～36 (2007)

8) 柿本幸子, 高取聡, 北川幹也, 吉光真人, 北川陽子, 岡本葉, 起橋雅浩, 小西良昌, 尾花裕孝, 福島成彦, 村田弘, 住本健夫, 堀伸二郎, 田中之雄: 国産野菜および果実中の残留農薬の汚染実態～平成13年度～平成18年度～, 大阪府立公衆衛生研究所 研究報告, 45, 37～42 (2007)



図1 包装材中のメタミドホス及びジクロルボスの分析方法

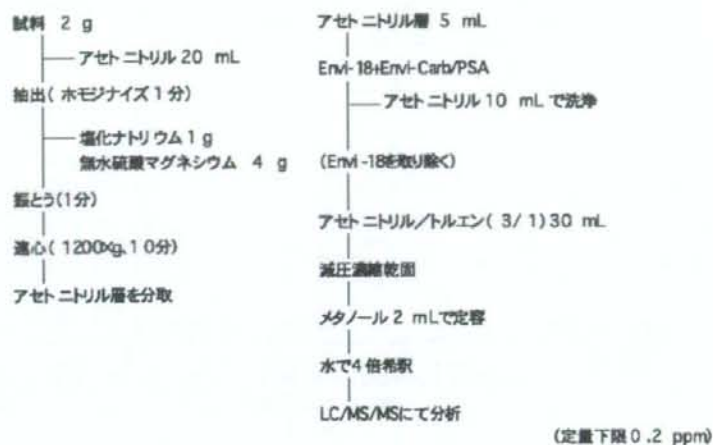


図2 加工食品中のメタミドホス及びジシクロルポスの分析方法

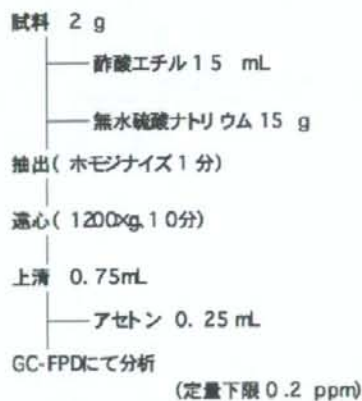


図3 加工食品中のメタミドホス及びジシクロルポスの分析方法
(追加実験)

表1. 包装材のメタミドホス及びジクロールボスの添加回収実験結果

	回収率(%)
メタミドホス	102
ジクロールロス	40

(n = 2)

表2 加工食品中のメタミドホス及びジクロールボスの添加回収実験結果

測定機器	LC/MS/MS		GC-FPD		
	平均回収率 ± 標準偏差 (%)	相対標準偏差 (%)	平均回収率 ± 標準偏差 (%)	相対標準偏差 (%)	相対標準偏差 (%)
メタミドホス	88 ± 4.6	5.4	91 ± 1.7	1.8	1.8
ジクロールロス	78 ± 2.5	3.2	104 ± 1.9	1.8	1.8

(n=5)

表3 実試料の測定結果

		検体数(件)		メタミドホス	ジクロールロス
		包装材	食品		
自主回収対象食品	冷凍餃子	15	14	検出せず	検出せず
	ロールキャベツ	1	3	検出せず	検出せず
	豚肉のごぼう 巻き	1	2	検出せず	検出せず
回収対象外	その他餃子	0	2	検出せず	検出せず
	レトルトカレー	0	2	検出せず	検出せず
合計		17	23		

表4 レトルトカレー 中のメタミド ホス 及びジクロルボスの 添加回収実験結果

	平均回収率±標準偏差(%)	相対標準偏差(%)
メタミドホス	95±5.0	5.2
ジクロルボス	90±3.1	3.5

(n=3)

表5 検査工程確認表の形式例 (検査担当者が担当工程が終わり次第チェックを入れていく)

品名	保健所	検体 番号	分析 部位	写真	重量測定	細切	秤量	ホモジ ナイズ	塩析	精製	留去	定容	LC	GC	判定

報文

愛知県における野菜・果実中の農薬残留データ（2001～2005年度）に基づいたポジティブリスト制度下での農薬検査対象設定方法の検討

(平成20年1月18日受理)

梶島由佳^{1,*} 上野英二¹ 大島晴美² 大野 勉² 斎藤 勲²

Study on the Method of Setting Limits for Pesticides Residues under the Positive List System Based on the Data for Pesticide Residues in Vegetables and Fruits Collected in Aichi Prefecture (Fiscal Years 2001-2005)

Yuka KABASHIMA^{1,*}, Eiji UENO¹, Harumi OSHIMA², Tsutomu OHNO² and Isao SAITO²¹Aichi Prefectural Institute of Public Health: 7-6 Nagare, Tsuji-machi, Kita-ku, Nagoya 462-8576, Japan;²Tokai COOP Federation, Food Safety and Quality Research Center, 1-178 Sagamine, Yazako, Nagakute-cho, Aichi 480-1103, Japan; *Corresponding author

Based on the data for pesticide residues in vegetables and fruits collected in Aichi prefecture (fiscal years 2001-2005), we selected groups of foods and pesticides that would allow efficient and effective inspection under the positive list system. Statistical analyses were done to examine the rates of detection of pesticides and the numbers of kinds of pesticides detected in samples of domestic vegetables, domestic fruits, imported vegetables, and imported fruits. The rate of detection of pesticides has decreased gradually in domestic vegetables. The number of different kinds of pesticides detected in each sample was significant higher in domestic fruits. Data for previous years were reassessed in terms of the present maximum residue limits (MRL), and classified as relative value to the MRL. The proportion of pesticides detected at levels that exceeded the MRLs showed a decreasing tendency. In addition, we were able to identify combinations of pesticides and agricultural commodities in which the MRLs were more likely to be exceeded.

(Received January 18, 2008)

Key words: 農薬残留 pesticide residue; ポジティブリスト制度 positive list system; 野菜 vegetable; 果実 fruit; ガスクロマトグラフィー gas chromatography (GC); 統計解析 statistical analysis

結 言

食品衛生法改正による残留農薬規制等のポジティブリスト制度が2006年5月から施行され¹⁾、これに伴い、対象外物質を除く原則すべての農薬に基準が設定された²⁾。この新たな制度に対応して、食の安全・安心を推進するための効率的かつ効果的な監視・検査業務を行うには、農薬の使用状況や食品中の残留実態を把握した上で、より適切な食品および対象農薬を選択することが必要となっている。

著者らは、これまで10年余りにわたって基準の有無にかかわらず愛知県内を流通する数多くの食品中農薬残留の実態調査に携わってきた。特に、ポジティブリスト制度施行直前までの5年間は、国内における輸入食品の増加、それに伴う食品の安全・安心に対する社会的関心の高まり、新制度に向けた残留規制強化など、残留農薬を取り巻く情勢は大きな変化を迎えていた期間であった。また、これまで残留実態に関する報告は多くされてきたが、統計的手法による客観的な評価はなされてこなかった。そこで2001～2005年度に実施した実態調査により得られた農薬残留データを集計することにより、全試料を対象として検出される頻度が高い農薬、および各食品から検出される頻度が高い農薬の組み合わせを明らかにした。また、農薬検出率の年次推移と傾向、1試料当たりから検出された農薬の種類数の概要と特色を把握するための検討を、ノンパラメトリックな統計的手法である独立性の χ^2 検定、傾向性のMantel-extension検定、Kruskal-Wallis検定

* 連絡先

¹ 愛知県衛生研究所: 〒462-8576 名古屋市区止町7-6² 東海コープ事業連合商品安全検査センター: 〒480-1103

愛知県愛知郡長久手町岩作三ツ番1-178

¹⁾ 平成15年5月30日、法律第55号(2003)²⁾ 平成17年11月29日、政令第345号(2005)³⁾ 平成17年11月29日、厚生労働省告示第497号(2005)⁴⁾ 平成17年11月29日、厚生労働省告示第498号(2005)⁵⁾ 平成17年11月29日、厚生労働省告示第499号(2005)

を用いて行った。さらに、ポジティブリスト制度で設定された基準値に照らして過去のデータを再判定し、“基準値の10%以下”、“基準値以下”、“基準値超過”の相対値により分類し、各検出農薬について3つの分類の割合と年度間との関連、および年次推移の傾向性について、検出率の解析と同様の統計学的手法を用いて検証した。また、再判定した結果から、ポジティブリスト制度下において基準を超える可能性の高い農薬と食品を抽出し、検査対象を適切に選択するための有用な知見を得たので、併せて報告する。

実験方法

1. 試料

2001～2005年度(2001年4月～2006年3月)に愛知県内で市販されていた野菜・果実822検体(国産品600検体、輸入品222検体)を対象とした。分析した試料の内訳をTable 1に示した。

2. 対象農薬

GCで分析可能な222種類の農薬について調査した(Table 2)。アザキシストロビンについては、2002年度から調査した。なお、試料から検出された農薬については、表頭 Detectedの欄に×を付けた。

3. 標準品および試薬

標準品および試薬は既報^{1)～6)}に準じた。

4. 装置および測定条件

GPC装置：(株)島津製作所製全自動GPC

GC/MS装置：Hewlett-Packard社製5972MSD/5890 II

GC-ECD装置：(株)島津製作所製GC-17A

GC-FPD/NPD装置：Hewlett-Packard社製5890 II

測定条件は既報^{1)～6)}に準じた。

5. 試験溶液の調製

試料50gについて、既報の方法^{1)～6)}に従い、試験溶液を調製した。すなわち、アセトニトリル抽出、メキシリンゲルを用いた吸引蒸・還析および水層分離操作、酢酸エチル再溶解・超音波脱液操作を行った後、グラファイトカーボンカラムを装着したGPC装置に試料原液を注入し、農薬画分を分取した。農薬画分をシリカゲル/PSAミニカラムで精製し、GC/MSおよびGC-FPD/NPD用試験溶液(試料濃度5g/mL)とした。さらに、この溶液をフッ化ジルコニウムカラムで追加精製、2画分したものをGC-ECD用試験溶液とした(試料濃度5g/mL)。なお、定量限界値は0.005 μ g/g、検出限界値は0.001 μ g/gとした。検出限界値以上で定量限界値未満の値で農薬の残留が確認できたときは痕跡値とした。

6. 統計解析

統計解析⁷⁾はSPSS for Windows ver.11.5を用い⁸⁾、以下に示す4つの検討を行った。

1) 度数分布表による検出頻度の高い農薬と食品の抽出最初に、全試料を対象として、検出された農薬を集計した度数分布表を作成し、検出された農薬の種類と頻度を明

らかにした。また、各農薬について既留濃度範囲と中央値を示すとともに、検出された食品の種類数および農薬の検出度数が最も多い食品を示した。次に、分析した試料数が5以上ある食品については、農薬検出率(分析した試料数に対する農薬が検出された試料数の割合(%))を示し、食品ごとに検出された農薬の度数分布表を作成し、各食品から検出される頻度の高い農薬の組み合わせを明らかにした。

2) 農薬検出率の年次推移

農薬検出率と年度間の関連について、国産品と輸入品別に、独立性の χ^2 検定を用いて解析した。また、年次推移に傾向性があるかどうかを、Mantel-extension検定を用いて解析した。検定の結果から国産品については、農薬検出率と年度間に関連があり、年次推移に傾向の有意性も認められたことから、さらに詳細に検討するために、野菜・果実別に層別化して同様に解析を行った。

3) 1試料当たりから検出された農薬の種類数

農薬が痕跡値を含め1種類以上検出された試料について、国産野菜、国産果実、輸入野菜、輸入果実の4群に分類し、1試料当たりから検出された農薬の種類数のヒストグラムを作成し、分布の把握を行った。分布については、正規性の検定により4群いずれも正規性が棄却されたことから、独立した多群の代表値の差を同時に比較する検定法であるKruskal-Wallis検定を用いて、1試料当たりから検出された農薬の種類に差があるかどうかを解析した。

4) ポジティブリスト制度下の基準値に基づく過去の農薬残留データの再判定と、相対値による分類

ポジティブリスト制度下の基準値に照らして過去の農薬残留データを再判定し、“基準値の10%以下”、“基準値以下”、“基準値超過”の相対値により分類し、各検出農薬について3つの分類の割合と年度間に関連があるかどうかを独立性の χ^2 検定を用いて解析した。また、年次推移に傾向性があるかどうかをMantel-extension検定を用いて解析した。

これらの検定法は、いずれも分布について仮定を設けないノンパラメトリックな手法であり、危険率 $\alpha < 0.05$ をもって有意とした。

結果および考察

1. 度数分布表による検出頻度の高い農薬と食品の抽出

野菜・果実822検体を222種類の農薬について調査した結果、603検体(73.4%)から痕跡値を含め、延べ1,833農薬が検出された(Table 3)。検出頻度は高いものから順に、クロロフェナピル、イプロジオン、クロロピリホス、シパルメトリン、プロシメトドンと続き、計105種類の農薬が検出された。累積相対度数(%)から、延べ検出農薬数(1,833農薬)の95%を上位61種類の農薬が占めており、検出頻度の高い農薬はかなり限られていることが分

Table 1. The list of investigated samples

Domestic				Imported			
Vegetables	Number of samples	Fruits	Number of samples	Vegetables	Number of samples	Fruits	Number of samples
Anhitaba	1	Akebi	1	Asparagus	3	American cherry	6
Broccoli	3	Apple	26	Beans with pods	2	Avocado	19
Burdock	1	Cherry	3	Broccoli	13	Banana	13
Cabbage	25	Dekopon	1	Burdock	1	Blueberry	4
Carrot	6	Fig	9	Carrot	1	Cherry	2
Carrot leaves	1	Grape	13	Cauliflower	1	Grapefruit	24
Celery	3	Hasaku	1	Celery	2	Grape	1
Chinese cabbage	11	Iyotan	2	Garlic	10	Kiwifruit	14
Cucumber	29	Japanese pear	16	Ginger	3	Lemon	14
Egg plant	33	Kinkan	2	Okra	2	Mango	12
Garlic	1	Kiwifruit	3	Onion	3	Mangostin	1
Ginger	1	Lemon	1	Paprika	5	Melons	4
Go ya	1	Lime	1	Peas with pods	8	Navel orange	1
Hiratake	1	Loquat	1	Pumpkin	8	Orange	21
Japanese green	3	Other citrus fruit	1	Shitake	3	Papaya	3
Japanese radish	7	Peach	10	Spring onion	7	Pineapple	2
Japanese radish leaves	8	Pear	9	Sprout of garlic	1	Rambutan	1
Japanese yam	9	Persimmon	17	Taro	1	Strawberry	6
Karimori	3	Plum	7				
Komatsuna	28	Pomegranate	1				
Koushimsai	2	Prune	4				
Lettuce	33	Strawberry	19				
Mizuna	6	Sudachi	2				
Morohaiya	3	Unshu orange	12				
Nabana	2	Yuzu orange	2				
Okra	3						
Onion	8						
Parsley	9						
Peas with pods	3						
Perilla	24						
Pimento	11						
Potato	4						
Pumpkin	7						
Qing geng cai	16						
Rucola	1						
Sanfousai	1						
Shitake	2						
Soybeans	2						
Spinach	50						
Spinach (salad)	1						
Spring onion	17						
Sprout of garlic	1						
Sunny lettuce	1						
Sweet corn	3						
Sweet potato	2						
Taro	2						
Tomato	32						
Tomato (mini)	1						
Turnip leaves	2						
Turnipmurasaki	2						
Watercress	3						
Wax gourd	6						
Yousai	1						
Total	436		164		74		148