

が基材として有用であり、接種したセレウス菌も冷蔵保存することにより、比較的安定的に28日間まで回収できることが明らかとなった。また、15%NaCl 溶液を用いることで保存温度の変化にも強い試料の作製が可能になった。外部精度管理における試料の輸送は、少なくとも2~3日程度の期間を考慮しなければならず、温度変化に強い検体は輸送時における環境変化での菌数の変動が少ないことを示す。このことは安定的な調査結果を得るためにも重要であると考えられる。一方、定性検査を指標とした場合、陽性対照菌として使用した2菌種は、いずれの選択培地においても陽性集落を認めたものの、陰性対照菌として使用した *B. subtilis* は使用する選択培地により全く集落形成を認めないことがあった。したがって、外部精度管理調査では添加菌をどのように設定するかは非常に難しい問題である。しかし、セレウス菌検査における陰性対照菌は少なくとも MYP 培地および PEMBA 培地において非典型集落を認めることから、菌数としては少なくとも確保できていると言える。そのため、NGKG 培地において集落が形成されなくとも、標準寒天培地等を用いた菌数測定や塗抹培養を行うことにより実際に試料中に対象菌が存在していることは確認できることから、現状で採用することが可能であると考えられた。

ビブリオ属菌は、不安定な菌であるため冷凍以外で長期間の保管が難しい菌種である。まず標準菌株の培養に Marine agar および Marine broth を用いて冷蔵および 22.5℃での保存の可否について検討した。その結果、いずれの温度でもビブリオ属菌の生存が138日間まで確認された。基材への菌の接種を踏まえて Marine broth 中に 10^3 cfu/mL 程度の菌数を接種した際の保存について確認した結果、冷蔵保存では28日目ではほとんどの菌は死滅し、安定的に接種菌を回収できなかった。しかし22.5℃保存では、3日目に 10^8 cfu/mL 程度まで菌数が上昇するものの、その後は安定した菌数が回収された。Marine agar と TCBS 寒天培地での菌数測定について比較した結果では、Marine agar で菌数測

定をした場合、経時的に安定した菌数が回収されるが、TCBS 寒天培地の場合は Marine agar での菌数測定に比べて1オーダー以上の差が認められた。このことは TCBS 寒天培地を用いて定量検査した場合と検査結果に大きな相違を生じる可能性を示唆する。TCBS 寒天培地を使用する場合は、用いる菌種により菌数が大きく変動することを考慮しなければならず、ビブリオ属菌検査用試料が開発できても定量検査を実施するには問題が残ることが示唆された。

(3) アレルギー関連物質検査のための適正試料の作製：

添加した卵の回収率の確認を兼ねて均一性試験を実施し、試料 8 (クッキー) では検出下限を上回る卵タンパク質が検出された。このクッキーには製造工場で卵を使用している旨の表示があり、製造過程で卵の混入があったものと考えられた。

試料 5 および試料 7 では FASTKIT エライザ Ver. II 卵 による測定でそれぞれ 1 機関 (同一機関) が LCL の範囲外および Z スコアの絶対値が 2 以上となった。報告書を詳細に検討すると、FASTKIT エライザ Ver. II 卵 による測定で標準溶液も含め吸光度が他機関に比べて高いことがわかった。また、同機関のモリナガ FASPEK 卵測定キットによる測定では、測定値および吸光度とも問題が認められなかった。両キットの測定に用いた抽出液は同じものなので抽出操作には問題がないものと考えられ、FASTKIT エライザ Ver. II 卵 による測定の際に抽出液の希釈、キット試薬の希釈、発色時間のいずれかにおいて操作ミスがあったのではないかと推察された。この事例のほかにも、試験を通して計算ソフトウェアの設定ミスに気付いた機関もあり、外部精度管理の実施が特定原材料検査の精度の向上に役立つ可能性が改めて示された。

確認試験の実施件数は、ELISA 法の件数に比例しているもののその約 20 分の 1 程度で、実施していない機関も 3 機関あり、特定原材料検査に関する外部精度管理を計画する場合、まず

ELISA 法による測定を対象とする試験から始めることがよいと考えられた。

ハンバーグ試料では基材のみでもカゼインと混同しやすい位置にはっきりしたバンドが認められており確認試験用の試料についてはさらに検討が必要であると考えられた。

(4) 組換え DNA 技術応用食品検査のための適正試料の作製検討：

穂山らは、DAS59132 試験法の多機関バリデーションの中でトウモロコシ粉末試料では DAS59132 トウモロコシの含量が重量混合比で 0.05% 試料まで全機関で陽性と判定されたことを報告している（第 45 回全国化学技術協議会講演要旨集, 2008）。しかし、DAS59132 トウモロコシおよび nonGM トウモロコシの抽出 DNA 溶液を混合して作製した 0.01%（10000 倍希釈）DNA 溶液試料で一部の機関において Ct 値が 38 以上となる測定があったことを報告している。このため、DAS59132 トウモロコシ DNA 溶液について nonGM トウモロコシ DNA 溶液を用いて段階希釈した液についてリアルタイム PCR による DAS59132 検出用試験で検出下限を検討したところ、DAS59132 トウモロコシ DNA 溶液の検出下限が 0.05% と考えられた。

Bt10 の検出下限および DAS59132 の検出下限の検討結果に基づき DNA 溶液試料を穂山らの報告に従ってトウモロコシ粉末試料として外部精度管理調査を実施した。1 機関の Bt10 確認用試験における測定を除き、陽性試料においては全て想定通りの結果が得られたため、外部精度管理試料の濃度の設定は適切であったものと考えられた。

試料 1 を陰性と報告した機関では、TaKaRa Ex Taq®（通常品）を使用したと判明し、誤った結果を報告した原因はホットスタート酵素を使用しなかったことにあるものと考えられた。通常の PCR 酵素を用いた PCR では 1 サイクル目の昇温過程においてプライマーが鋳型 DNA と非特異的にハイブリッドを形成したり、プライマー同士がハイブリッドを形成したりするため、非特

異的増幅物が生じやすい。また通知の Bt10 測定法はホットスタート酵素の使用を前提としているため最初の熱変性の時間が長く設定されており、酵素が失活した可能性も考えられた。これらの理由で陰性と報告した機関では Bt10 の検出感度が低下したのと考えられた。

リアルタイム PCR における増幅曲線の収束位置には、リアルタイム PCR 装置の蛍光感度よりもプライマー・プローブの濃度の影響が大きいたことが明らかになった。DAS59132 の測定に使用するプライマー・プローブはキットとしては市販されておらず、機関ごとにメーカーに合成を依頼することとなるため、バッチは全て異なっている。このため、メーカーによる差も含め、プライマー・プローブの濃度に誤差が生じやすいと考えられる。

E. 結論

1. 尾花分担研究

外部精度管理試験結果で、全ての農薬で良好な判定結果を得た機関は 3 機関、サンプリング試験結果では 5 機関であった。それ以外の機関では、一つ以上の評価項目がいずれかの測定機器で適正範囲外となった。この結果でも前回に比べて良好で、夾雑物が少なく測定が比較的容易な加工食品であったことも要因の一つと考えられる。また、抽出にヘキサソールとアセトニトリルを使用する分析法を採用する機関数が増加し、その多くが良好な結果を得たことも要因の一つと考えられた。適正範囲外となった農薬の多くは、特定の機関で外部精度管理試験とサンプリング試験で共通しているため、原因を類推することが可能であった。すなわち例示した分析法では、低極性農薬を GC で測定し、GC で測定困難な農薬のみを LC で測定することを想定しているため、全農薬を LC で測定することは想定外であり、LC 試験液の含水率によって溶解度が低下し、不具合が生じる原因となったと思われる。それ以外で不良な結果が得られた項目は、同一機関内で外部精度管理試験かサンプリング試験かのいずれかでほぼ良好な結果が得られて

おり、突発的な不具合が生じたものと考えられる。

2. 齊藤分担研究

今回構築した分析方法は、液状調味料のめんつゆを対象食品としてCPAを測定できることが実証された。また、めんつゆ中での *P. commune* の培養により CPA を産生する可能性のある菌株の存在が示された。更に CPA のポリクローナル抗体を作製することができ、今後、ELISA を用いた簡便で汎用性の高いスクリーニング測定法が構築できるものと考えられた。

3. 村山分担研究

農薬混合標準液の-20、4、40、60°Cにおける保存試験の結果では、-20°C保存群中では3ヶ月で2農薬、6ヶ月で4農薬、4°C保存群中では3ヶ月で15農薬、6ヶ月で31農薬、40°C保存群中では3ヶ月で2農薬、6ヶ月で21農薬、60°C保存群中では3ヶ月で39農薬、6ヶ月で47農薬において10%以上の減少が観察された。

4. 大島分担研究

(1) 理化学検査のための適正試料の作製：

残留動物用医薬品の検討では、鶏肉（むねおよびもも肉）はいずれも作製試料の均一性、ならびに70日間の冷凍保存および3回の凍結融解の安定性試験で、その安定性が確保されたことから、調査試料として適切であると考えられた。また、もも肉では冷蔵保存7日目で妨害ピークを観察しており、むね肉の方がより適切な調査試料であると考えられる。また、豚肉（ヒレ、カタ、カタローズおよびバラ肉）においても10種すべてのサルファ剤で70%以上の回収率を得ることができた。特にSDDについては80%以上の回収率を得ており、今後調査試料と

しての可能性が示唆された。

着色料に関する検討では、新たな基材として大根漬（3種）を用いて定性試験等を検討したが、抽出に用いる溶液により、TLCの結果が色調においてやや異なるものの、いずれの基材でも添加した12色素が基材成分の影響を受けることなく良好に検出され、これら色素の添加試料は使用可能であると考えられた。

(2) 微生物学検査のための適正試料の作製：

外部精度管理調査試料として新規項目を導入することを目的として、セレウス菌検査を対象とした調査試料の作製を検討した。

セレウス菌と対象菌株について市販の白米基材に菌を添加後、均一性と安定性を検討した結果では、冷蔵保存では28日目まで安定性を確保し、菌数のばらつきに大きな変化はなかった。定性検査の結果では、陽性対照として用いたセレウス菌は使用した全ての選択培地上で典型集落の形成を認めるが、陰性対照である枯草菌はNGKG寒天培地において集落形成を認めなかった。28日間冷蔵保存した後、白飯基材（15%NaCl溶液で調製）を22.5°Cで24時間保存してセレウス菌の菌数を確認したが、変化はほとんど見られなかった。外部精度管理調査を実施するにあたり、市販の白飯を基材としたセレウス菌の調査試料は、今後有用であることが示唆された。

一般にビブリオ属菌は保存環境の管理が難しく、長期保存には不安定な菌として認識されている。今回はMarine agarおよびMarine brothを用い、冷蔵および22.5°C保存下でビブリオ属菌の生存の可否を検討し、長期生存が確認された。菌液接種の方法を考慮し、Marine broth中でのビブリオ属菌の菌数変動をみると、ビブリオ属菌を 10^3 cfu/mLレベルで接種した場合、冷蔵保存で28日目までにはほぼ死滅することが明らかとなったが、22.5°Cで保存すると、保存開始3日目に 10^8 cfu/mL程度まで一旦上昇し、

その後安定化する傾向が認められた。定性検査および定量検査を TCBS 寒天培地で観察したところ、Marine agar での測定結果に比べて、菌数が少なくとも1オーダー以上の相違を認めた。すなわち、現時点ではビブリオ属菌検査について定量検査の実施が困難なことを示唆した。

(3) アレルギー関連物質検査のための適正試料の作製：

協力参加機関の測定値を解析した結果、測定操作に習熟した機関でも操作を誤った可能性があることや、使用する計算ソフトウェアにより定量値が違ってくることが明らかになり、外部精度管理が特定原材料検査の精度の向上に寄与できる可能性が示された。

牛乳試料作製の検討では、ELISA 法による測定値を一元配置の分散分析によりいずれの試料も均一と判定され、これらの試料は-20℃で16週間保存後においてもELISA法の測定で安定性が確認されたが、ウエスタンブロットによる確認試験の試料としては問題が残る試料もあった。

(4) 組換え DNA 技術応用食品検査のための適正試料の作製検討：

外部精度管理用調査試料の作製方法の検討では、Bt10 および DAS59132 トウモロコシを検査対象とした。Bt10 および DAS59132 トウモロコシの組換え DNA を含む DNA 溶液試料を作製するため、Bt10 については Bt10 陽性コントロールプラスミドを、DAS59132 については DAS59132 トウモロコシ DNA 溶液を段階希釈し、対応する検出系における検出下限を検討した。Bt10 陽性コントロールプラスミドでは 4000 倍希釈、DAS59132 トウモロコシ DNA 溶液では 0.05% (2000 倍希釈) が検出下限と考えられ、これらの濃度の組換え DNA を含む調査試料を作製し、外部精度管理調査を実施した。その結果、全機関で陽性の結果が得られ、検出下限の妥当性が確認できた。しかしながら、Bt10 陽性試料中の試料1の測定で、Bt10 を検出しなかった機関が

あったため、その原因を検討した。当該機関は PCR 酵素にホットスタート酵素を使用しておらず、そのため誤った結果を報告したことが明らかになった。また、プライマー・プローブの濃度の影響が大きいことも明らかとなった。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的所有権の取得状況

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）

「検査機関の信頼性確保に関する研究」

平成 21 年度 分担研究報告書

食品中に含まれる微量農薬の分析法と精度管理体制の構築に関する研究

分担研究者 尾花 裕孝

検査機関の信頼性確保に関する研究

分担研究報告書

食品中に含まれる微量農薬の分析法と精度管理体制の構築に関する研究

主任研究者	小島幸一	財団法人食品薬品安全センター秦野研究所 所長
分担研究者	尾花裕孝	大阪府立公衆衛生研究所 食品化学課長
研究協力者	畠山えり子	岩手県環境保健研究センター
	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
	田中健	奈良県保健環境研究センター
	上田泰人	神戸市環境保健研究所
	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
	山口理香	北九州市環境科学研究所

研究要旨

食品中の残留農薬基準は、主に使用後の残留を監視する目的で生鮮農産物を対象に設定されており、検査体制もそれに則っている。そのため、複数食材を加工、調理して製品化されている加工食品や冷凍食品に対しては、残留農薬分析は行われていなかった。しかし、平成 20 年初頭に冷凍餃子への農薬混入事件が発覚したため、加工食品に対する不安が急激に増大し、これを受けて加工食品に対する農薬分析の需要が喚起された。加工食品といってもその種類は多種多様であり、生鮮食品に準じた検査方法で農薬分析が行える範囲は限定的である。そこで、平成 20 年度に引き続き、地方衛生研究所を対象に加工食品を用いた外部精度管理試験を実施し、加工食品中の残留農薬分析への適応状況を検証した。参加した地方衛生研究所は岩手県、新潟県、愛知県、奈良県、大阪府、神戸市、広島市、徳島県、北九州市の 9 機関であった。

平成20年度には試料にレトルトカレーを用いて、内部精度管理試験及び外部精度管理試験を行った。のべ測定農薬数の8割で良好な結果を得たが、加工度が高く脂質を含む加工食品で高い精度を得ることは容易でなく、一部の評価項目で不良な結果が得られた。今回、精度管理試料には、小麦粉、牛乳、鶏卵を含有するパンケーキを用いた。添加農薬としては、平成20年度よりも多様性を持たせ、一部水溶性の高い農薬も含め、合

計10種類とした。使用する農薬標準品は試薬会社に発注し、全機関で共通化した。

全機関で添加試料を用いた外部精度管理試験を行い、平均回収率と変動係数を算出した。品質管理などに用いられているXbar-R管理図や、Zスコアによる評価を行った結果、全ての農薬で全評価項目が適正範囲に入ったのは3機関であり、その他の6機関では一つ以上の評価項目が適正範囲に入らなかった。また、添加試料と無添加試料のパンケーキを粉砕せず混合した試料を用意し、各機関で粉砕均一化を行うサンプリング試験も行った。この試験を外部精度管理試験と同様に評価したところ、全ての農薬で全評価項目が適正範囲に入ったのは5機関であった。この二つの試験を通じて共通して不良であった物質について調査したところ、通常はGCで測定する農薬をLC-MS/MSで測定したことに起因すると考えられた。これら以外では、概ね適正範囲内の結果が得られており、前年度と比較していくつかの改善があったと考えられた。まずパンケーキ試料が主に牛乳、卵と小麦粉という単純な構成であり、前年度のレトルトカレーより夾雑物が少なく、測定が比較的容易な加工食品であったこと。次に前年度の試験で好成績であった、抽出にヘキサンとアセトニトリルを使用する分析法を採用する機関数が増加し、その多くが良好な結果を得たこと。各機関が加工食品分析に対して経験を積んだこと。等が要因として挙げられる。

A. 研究目的

2007年12月から2008年1月に、中国で製造、輸入された冷凍餃子を原因食品とした健康被害事件が発生した。患者は有機リン系農薬による中毒症状を示したが、それは冷凍餃子に混入されていたメタミドホスが原因であった。これを契機に国民の間に食に対する不安が増した。事件発覚後に食品の生産、流通および販売の各段階では、多くの農薬等の残留検査が行われるようになった。

この事件に登場する冷凍餃子をはじめ、加工食品とは多種多様な食材を原料にした製品の総称である。流通するその種類は膨大で、かつ調理の手間を省ける手軽さから、消費する機会が増えつつある。農畜水産物などの単一の生鮮食品については、農薬等の残留基準が、食品衛生法

で規制されているが、加工食品については残留検査が行われて来なかった。そのため、農薬等の分析機関に対して、多様な食材から構成される加工食品における残留農薬分析への対応が、今後ますます期待されると予測される。この事件は、これまで行われていなかった加工食品中の微量残留農薬の分析への対応を分析機関に迫り、またそれを実現するための課題を浮かび上がらせた。

平成17～19年度厚生労働科学研究費補助金研究「検査機関の信頼性確保に関する研究」では、地方衛生研究所が行う残留農薬分析は、分析精度が良好であることを示した。しかし、加工食品に対してそもそも分析法は整備されておらず、生鮮食品に運用される方法では信頼性のある分析が可能とは言い切れない。そこ

で、本研究では加工食品における微量農薬検査を実施することを念頭にして、地方衛生研究所での対応の可否を検証する。21年度は、次の課題を検討した。

- 1) 農薬を添加した均一試料を調製し、参加機関には添加濃度を知らせず、濃度未知試料を用いた外部精度管理試験を行った。
- 2) 均一化作業およびサンプリング操作が分析精度に及ぼす影響を評価するため、添加農薬を不均一に含む試料を調製し、サンプリング試験を行った。
- 3) 参加機関で行う精度管理試験において、加工食品由来のマトリックスが、分析データの再現性および分析精度へ及ぼす影響を評価するための試験を行った。

B. 研究方法

1. 実施機関

大阪府立公衆衛生研究所は試料としてパンケーキを用い、外部精度管理試料、不均一試料の調製、送付、均質性確認、安定性確認および分析結果の解析を行った。さらに、試料調製班とは別に分析班を設定し、協力機関と同様に試料の分析を行った。

2. 協力機関

精度管理試験に参画した研究協力機関は、岩手県環境保健研究センター、新潟県保健環境科学研究所、愛知県衛生研究所、奈良県保健環境研究センター、神戸市環境保健研究所、広島市衛生研究所、徳島県保健環境センター、北九州市環境科学研究所の計8機関の地方衛生研究所であった。

3. 実施概要および日程

平成20年度に試料に使用したレトル

トカレーで、凍結融解で油脂が分離すると均質性が損なわれることが判明したため、今年度は調製段階で流動性があり、調理後は流動性が失われるパンケーキを食品試料に使用した。パンケーキを使用した外部精度管理試料の調製方法を平成21年8月までに検証した。パンケーキに10種類の農薬を添加したものを外部精度管理試料とし、無添加のパンケーキを対照用試料とした。また、添加試料と無添加試料を組み合わせたものを不均一試料とし、サンプリング試験に用いた。測定機器にはGC-MSおよびLC-MS/MSを使用することとし、分析結果等の報告期限は同年10月31日とした。

4. 加工食品中の農薬分析法

4-1. 例示分析法

平成20年度に例示したものとほぼ同じであるが、試料の水分含量が減少したため、無水硫酸マグネシウムの量を減らした。フードプロセッサーで均一化した試料5gをコニカルチューブにとり、無水硫酸マグネシウム3gと酢酸エチル20mLを加えてホモジナイザーで攪拌抽出した。その後3000rpmで5分間遠心分離を行い、上清を抽出液とした。この抽出液8mL(試料2.0g相当)をなす型フラスコに分取し、濃縮して溶媒を留去した。残渣をヘキサンに溶解させ別のコニカルチューブに移し、液量を約10mLとした。そこにヘキサン飽和アセトニトリル20mLを加え、激しく振盪した後に遠心分離を行い、アセトニトリル層をGCB/PSA固相カラムに負荷した。残ったヘキサン層に再びヘキサン飽和アセトニトリル20mLを加えて同じ操作を行い、アセトニト

リル層を同じ GCB/PSA 固相カラムに負荷した。固相カラムからの通過液はあわせてなす型フラスコに採取し、さらにアセトニトリル/トルエン (3 : 1) 30 mL を流出させ、通過液とあわせた。これを 40°C 以下で減圧濃縮後、アセトン 2 mL に溶解して GC 用試験液とした。このうち 0.25 mL を窒素気流下で乾固し、25%メタノールで 1 mL (試料相当 0.25 g/mL) に溶解したものを LC-MS/MS 用試験液とした。

4-2. 参加機関の分析法および測定条件

参加機関の分析法を表 1 にまとめ、機関の詳細なフロー図を資料 1 に示した。あらかじめ参加機関に示した B-4-1. 例示分析法と同じく、抽出溶媒に酢酸エチルを使用した機関は 4 機関、アセトニトリル+ヘキサンを使用した機関は 4 機関、その他の機関は水+アセトン+ヘキサンをを用いた。脱脂工程に 4 機関はヘキサン-アセトニトリル分配+C18 を用い、3 機関はヘキサン-アセトニトリル分配を、2 機関はゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) を用いた。精製工程では 5 機関で GCB/PSA を、他の機関は PSA、SAX/PSA を用いた。GC-MS および LC-MS/MS の測定条件を資料 2-3 に示した。

5. 農薬標準品

平成 20 年度は有機リン系、カーバメート系農薬を選択したが、今年度は対象農薬の種類を拡大し、水溶性の高い農薬も含めた。また、農薬の選択にあたっては協力機関の多くが通常業務で測定している 20 種類を選び、予備試験を行った上でエスプロカルブ、クロルピリホス、ジエトフェンカルブ、ブプロフェジン、クレソキシムメチル、テブフェンピラド、フ

ェナリモル、ビテルタノール、イミダクロプリド、テブフェノジドの 10 種類を添加する農薬に選択した。また、これらの混合溶液の調製を林純薬工業に委託し、高濃度添加溶液 (100 µg/mL : エスプロカルブ、ビテルタノール ; 120 µg/mL : クロルピリホス、ジエトフェンカルブ、クレソキシムメチル、イミダクロプリド ; 80 µg/mL : ブプロフェジン、テブフェンピラド、フェナリモル、テブフェノジド) と各 10 µg/mL 標準溶液を使用した。

GC システム評価試料として、林純薬 NAGINATA クライテリアサンプル Mix (シマジン、ペンタクロロフェノール、クロルピリホスメチル、フェニトロチオン、2,4-ジニトロアニリン、クロルピリホス、イソキサチオン、カプタホール ; 各 1 µg/mL、その他アルカン類等合計 51 種類含有 ジクロロメタン溶液) を使用した。

6. 精度管理試料の調製および送付方法

6-1. ブランク試料

ホットケーキミックス (日清製粉) 200 g/袋に対し、卵 1 個 (M 寸約 50 g)、牛乳 (明治 おいしい牛乳) 150 mL を加え、均一になるまでバーミックス (bamix M200) 及び攪拌機 (ケンミックス・アイコー KM-800) で混合し、生地を調製した。

(約 4 kg) この生地約 50 g を杓子で 160°C に設定したホットプレートへ移し、4 分間 (表 2 分+裏 2 分) 調理した。焼き上がったパンケーキは放置空冷後、フードプロセッサ (東芝精米機 QS-7) で細砕して、ブランク試料を作成した。これを約 200 g ずつジップロック袋に密封した。

6-2. 外部精度管理試料

外部精度管理試料はブランク試料と同

様に調製し、攪拌機でパンケーキ生地を攪拌する際に農薬を添加した。添加濃度はクロルピリホス、ジエトフェンカルブ、クレソキシムメチル、イミダクロプリドは 120 ng/g、エスプロカルブ、ビテルタノールは 100 ng/g、ブプロフェジン、テブフェンピラド、フェナリモル、テブフェノジドは 80 ng/g とした。これを約 200 g ずつジップロック袋に密封した。

6-3. 不均一試料

不均一試料は外部精度管理試料より 4 倍濃い濃度で調製したパンケーキ 1 個と、無添加パンケーキ 3 個を一組とし、合計約 200 g をジップロック袋に密封した。試料全体としての添加濃度はクロルピリホス、ジエトフェンカルブ、クレソキシムメチル、イミダクロプリドは 120 ng/g、エスプロカルブ、ビテルタノールは 100 ng/g、ブプロフェジン、テブフェンピラド、フェナリモル、テブフェノジドは 80 ng/g とした。

6-4. 試料の保管および発送

上記全ての分包した精度管理試料は調製後発送まで -20°C で保存した。全ての試料及び試薬（空白試料、外部精度管理試料、不均一試料、林純薬製 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 標準溶液および NAGINATA クライテリアサンプル Mix）は、2009 年 9 月 1 日午前中必着になるように冷凍宅配便で協力機関へ送付された。

7. 試験方法

7-1. 分析機器の再現性試験

配布した標準品を各機関の分析法において 0.1 $\mu\text{g}/\text{g}$ の濃度（例示した分析法の場合は 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）に調製し、GC-MS および LC-MS/MS で 5 回測定した。ひとつのデ

ータのピーク面積を 100 とし、残りをその比で示し、各農薬の平均と変動係数および Z スコアを求めた。

また、配布した空白試料の抽出液を用いて上記と同濃度のマトリックス標準液を調製し、同様に 5 回測定した。ひとつのデータのピーク面積を 100 とし、残りをその比で示し、各農薬の平均と変動係数および Z スコアを求めた。

7-2. 外部精度管理試験

配布した外部精度管理試料を並行数 5 で GC-MS および LC-MS/MS で測定し、測定値、平均回収率とその変動係数および Z スコアを求めた。各機関へは、「添加濃度 0.2 $\mu\text{g}/\text{g}$ 未満」と通知しており、濃度未知のブラインドテストとなった。

7-3. サンプルング試験

配布した不均一試料を粉碎均一化し、並行数 5 で GC-MS および LC-MS/MS で測定した。測定値、平均回収率とその変動係数および Z スコアを求めた。各機関へは、「添加濃度 0.2 $\mu\text{g}/\text{g}$ 未満」と通知しており、濃度未知のブラインドテストとなった。

7-4. GC システム評価試料測定

GC-MS を用いて、標準品や一連の加工食品試料を測定する前と後に林純薬 NAGINATA クライテリアサンプル Mix をスキャンモードで測定し、シマジン (m/z 201)、ペンタクロロフェノール (266)、クロルピリホスメチル (286)、フェニトロチオン (277)、2,4-ジニトロアニリン (183)、クロルピリホス (314)、イソキサチオン (105)、カプタホール (79) の各マスクロマトグラム上のピーク面積、高さの変化を比で求めた。

7-5、マトリックス効果調査

再現性試験で行ったマトリックス標準液の平均ピーク面積を、標準液の平均ピーク面積で除し百分率で求めた。

7-6、評価方法

各機関から報告された値について、基本統計量と Z スコアの算出を行い、外部精度管理試験においては Xbar-R 管理図の作成を行った。「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」では回収率（真度）が 70～120%とされているため、Xbar 管理図では添加濃度の 70～120%の区域で良好との判定をした。R 管理図では管理限界の為の係数を $n=5$ の 2.114 とし、上部管理限界（UCL）を設定した。Z スコアは 2 以下で良好とした。なお、これらの数値の計算には Microsoft Excel を使用した。

C. 研究結果

1. 外部精度管理試料の検討

1-1. 外部精度管理試料の調製

パンケーキは生地の状態では流動性があるため、添加した農薬を均一に混合しやすく、かつ加熱後は固まるため、凍結融解しても油脂が分離することなく、精度管理試料として適すると考えられた。しかし、生地は加熱調理で水分が蒸発するため重量が減少し、また熱に対する農薬の安定性について確証が乏しいため、試料調製試験を行って農薬の挙動を調査した。パンケーキ生地約 400 g に対して、協力機関の多くが通常業務で測定の実績がある農薬 20 種類を 100 ng/g の濃度で添加し、バーミックスで十分に攪拌した。これを約 50 g 秤量し、ホットプレート上で両面を加熱した合計時間を、3.5 分か

ら 60 分に変えて調理した。パンケーキは放冷後に秤量し、粉碎して均一化した後に、農薬分析を行い調理後重量あたり濃度および重量残存率を算出した。ただし、重量残存率とは、調理後のパンケーキ重量に対する調理前の生地重量の百分率である。生地の両面の加熱時間と調理後重量あたり濃度および重量残存率の関係は、表 2、図 1 に示した。各農薬の調理後重量あたり濃度は、15 分間以下の加熱では全ての農薬でほぼ 100 ng/g 付近で止まり、30 分間以上でも半数の農薬が同程度に収まった。

送付した外部精度管理試料は、ホットケーキ・ミックス、卵および牛乳の必要な全ての量を、一度に攪拌機で攪拌し、生地の調製を試みた。この際、ホットケーキ・ミックスの固まりが生じ、攪拌機では十分に混和できなかった。そのため、予め生地 1 kg 程度ずつに分けて調製するようにし、小型のバーミックスで丁寧に攪拌したところ、混和できた。

1-2. 外部精度管理試料の均質性試験

調製した外部精度試料について各協力機関に送付する前に均質性試験を実施した。試験では、送付試料間の農薬濃度の均一性を評価した。約 200 g ずつに分包された外部精度管理試料の中から、無作為に 6 個を選択し、1 個につき繰り返し 2 回採取し、B-4-1. 例示分析法に従い、添加した 10 種類の農薬濃度を測定した。各農薬濃度（添加濃度 80～120 ng/g）は 63.1～140.0 ng/g、回収率は 79～117%、変動係数は 4.3～19.2%であった。各農薬の均質性は、一元配置分散分析を行った結果、すべての農薬において有意水準

0.05を上回り、これらの農薬濃度に容器間において、差があると言えず均質性が確認された。(表3)

1-3. 外部精度管理試料の安定性試験

試料調製後、各協力機関が分析を行うまでの期間、試料中の農薬の安定性を証明するために安定性試験を実施した。調製した後、-20℃において約2カ月間凍結保存した外部精度管理試料1個を、並行数8で分析した。残存率は、当該濃度の送付前の濃度に対する百分率で算出した。フェナリモル(47.4%)、ピテルタノール(53.9%)およびエスプロカルブ(68.7%)を除いて、7種類の農薬の残存率は、70%以上であり、精度管理試験期間中の試料中の農薬の安定性は確認された。(表4)

上記3農薬の減少を追跡調査すべく、再度添加試料を調製し、冷凍保存後0、1、2、4、8週間後に分析した。(表5、図2)その結果、4週間後以降は、0週目と比較してやや減少傾向が見られたが、8週間後の残存率は90%程度であり、大幅な減少は確認できなかった。

2. 再現性試験結果

参加機関の再現性試験結果を表6～表9に示した。GC-MSでは、標準品連続測定においてはE、H、Iの3機関でのべ7農薬、マトリックス標準液連続測定においてはE、G、H、Iの4機関でのべ13農薬で変動係数が10%以上であった。のべ測定農薬数の約86%は変動係数が10%未満であり、概ね良好な再現性が得られていた。

LC-MS/MSでは、標準品連続測定においてはI機関で1農薬、マトリックス標準液連続測定においてはC、I機関でのべ2

農薬で変動係数が10%以上であったが、それ以外は安定して測定できた。LC-MS/MSについては、変動係数が10%を超えた例は両試験中でのべ3農薬のみで、のべ測定数の8～9割は変動係数が5%未満と非常に良好な再現性が得られた。

3. 外部精度管理試験結果

参加機関の外部精度管理試験結果を表10に示し、Xbar-R管理図(図3)に示した。これをB-7-6. 評価方法の基準で判定し、表11に示した。各農薬の添加濃度80～120 ng/gに対し、平均回収率はGCで97～105%、LCで85～108%であった。GCでは9機関中の6機関が全ての農薬でXbar、R、Zスコアの評価項目において良好な結果を示した。残り3機関でのべ9農薬がいずれかの評価項目で不適であったが、これは全機関の測定農薬数(9機関×8農薬)のうち約13%であった。LCでは4機関が全ての評価項目で良好な結果を示した。他の5機関でのべ17農薬が不良であったが、全機関の測定農薬数(9機関×10農薬)のうち約19%であった。

4. サンプルング試験結果

参加機関のサンプルング試験結果を表12に示し、Xbar-R管理図(図4)に示した。これをB-7-6. 評価方法の基準で判定し、表13に示した。各農薬の添加濃度80～120ng/gに対し、平均回収率はGCで93～102%、LCで84～102%であった。GCでは9機関中6機関が全ての農薬でXbar、R、Zスコアの評価項目において良好な結果であった。残り3機関でのべ4農薬がいずれかの評価項目で不適であったが、これは全機関の測定農薬数(9機関×8農薬)のうち約6%であった。LCでは6

機関が全農薬において良好な結果を示した。他の3機関でのべ14農薬が不良であったが、全機関の測定農薬数(9機関×10農薬)のうち約16%であった。試料の均一化を評価するために、5試行間の変動係数とR管理図について特に注目した。その結果、GC-MSではE機関においてテブフェンピラドとフェナリモルの変動係数が15%を超えた。このうちテブフェンピラドはR管理図においても適正域を外れた。また、I機関においてはブプロフェジンがR管理図で適正域を外れた。LC-MS/MSではI機関においてイミダクロプリドとテブフェノジドの変動係数が15%を超えた。

5. GCシステム評価

各機関のGC-MSシステム評価試料の測定結果を表14に示した。一連の加工食品試料の測定前後における、各物質のピーク面積とピーク高さの変化率を求め、ピーク面積変化率対ピーク高さ変化率の比を用いて、ピーク形状の変化を数値化した。GC-MSシステム評価試料に含まれる物質のうち、イソキサチオンとカプタホールはGC注入口、シマジン、ペンタクロロフェノール、2,4-ジニトロアニリンはカラム注入口側、フェニトロチオンはカラム検出器側の評価に用いられている。

(D機関でペンタクロロフェノール、H機関でカプタホールが測定不能)

D. 考察

1. 各機関での検討

1-1. メタノール濃度の真度に及ぼす影響

現在の一斉分析法は、試験液をGCとLCに分割し、検出器毎に測定農薬を分担するのが一般的である。今回の試験では、

可能な農薬はあえてGCとLCの質量分析計で測定した。そのため、一部の協力機関は、試験期間中にLC-MS/MSでの測定条件の検討を行った。

北九州市環境科学研究所は、試験液中の含水率について検討した。水溶性が高い農薬は含水率100%の試験液でも十分測定できるが、水溶性が低い農薬は、含水率が高くなるにつれて、器壁やマトリックスへの吸着がおこるため、回収率が低下したと報告した。広島市衛生研究所も同様の検討を行っており、メタノール濃度が低下するとクロルピリホスとエスプロカルブの測定値が低下し、その影響はマトリックスが含まれる方が顕著であったと報告した。岩手県環境保健研究センターは、LC移動相に用いる溶媒によって、マトリックス効果が異なることを報告した。移動相にメタノールを用いた場合は、マトリックスの有無で測定値があまり影響を受けないが、アセトニトリルを用いた場合は、クロルピリホスでイオン化促進が、テブフェンピラドでイオン化阻害が顕著であった。また、測定溶液のメタノール濃度による影響は、特にクロルピリホスで顕著であったと報告した。また一方で、試験液中のメタノール濃度を50%と100%で比較検討しており、メタノール濃度100%の場合に測定値が低下し、クロルピリホス、テブフェンピラドとエスプロカルブが特に顕著であったと報告した。

一連の検討結果から、通常GCで測定するような水溶性の低い農薬は、LCで測定する際の溶解液に十分注意をする必要がある、ということが示唆された。

1-2. 内部標準法と外部標準法の比較

回収率を補正する手段の一つに、内部標準物質を用いる手法があるが、愛知県衛生研究所では内部標準法と外部標準法で定量を行い、その差を比較した。その結果、GC-MS では内部標準を用いた方がより大きな定量値が得られ、平均で 1.2 倍であり、変動係数も平均で 0.3 倍と非常に小さくなった。LC-MS/MS においては定量値の変化はほとんどなく、変動係数の変化も一定でなかった。このことより、GC-MS においては、内部標準が分析操作上の誤差を補正し、良好な再現性が得られたと考えられた。

1-3. スキャン測定と MRM 測定の比較

奈良県保健環境研究センターでは、イオントラップ型 GC-MS を用いてスキャン測定と MS/MS 測定の比較を行った。その結果、フェナリモルのスキャン測定結果は、MS/MS 測定結果と比較して定量値が低下し、変動係数が大きかった。エスプロカルブやテブフェンピラドでも、MS/MS 測定により変動係数が低下する傾向が見られた。これは、スキャン測定では、対象測定物質をイオン化する際に、マトリックス由来の多量のイオンが存在したため、測定値や変動係数が影響を受けたが、MS/MS 測定することによりその他のイオンの影響を排除できたと考えられた。

1-4. 精製カラムの検討

徳島県保健環境センターでは、パンケーキ試料を用いてあらかじめ前処理法を検討し、各種固相カラムの検討を行った。ブランク抽出液を GC-MS でスキャン測定した結果、脂肪酸類と思われる夾雑物が見られ、これらのピーク強度が最も低か

った SAX/PSA カラムを選択した。

2. 外部精度管理試料の調製

ホットケーキ 1 枚について、約 50 g の生地を 160°C に設定したホットプレートで 4 分間（表 2 分＋裏 2 分）焼いた。農薬を含む生地は、焼く工程で高温に曝されるため、焼く前の生地と焼き上げたパンケーキ中では、その濃度に変化を生じる可能性が考えられた。第一に、生地を加熱調理すると水分が蒸発して重量が減少する。そのため、調理されたパンケーキ中では農薬が濃縮され、濃度が上昇することが推測された。一方で、生地を高温で焼く際に、添加された農薬自体が変質し、減少することも推測された。

160°C で 4 分間（表 2 分＋裏 2 分）焼く条件では、焼き上げたパンケーキの重量は、焼く前の生地のそれに比べて 10% 超減少した。一方、同条件での農薬の濃度については、焼き上げたパンケーキでも、焼く前の生地中の濃度と同等であった。これは予想に反して、生地に含まれる農薬が、加熱による水分蒸発と同時に、その一部が揮発するものと考えられた。（表 4）しかし、加熱時間を 30 分以上の場合に、20 種類の農薬の一部に急速な濃度の減少がみられた。これは、パンケーキ中に残留する農薬が熱によって分解したためとみられる。実際の加熱時間は 4 分間（表 2 分＋裏 2 分）と短時間であり、調理後重量あたりの濃度が変化の小さい範囲内にあるために、それが精度管理に及ぼす影響は無視できると考えられた。以上のことから、焼く工程を経ても、生地への添加濃度を、そのまま調製した試料の濃度とみなせると結論づけた。

3. 再現性試験およびマトリックス効果

GC-MS における変動係数を機関毎に比較すると、変動係数が大きくなった H、I 機関のマトリックス標準液連続測定は、一部の農薬で 2 回目以降に大幅に面積値が大きくなった。これは、1 回目のマトリックス注入によって GC 注入口の不活性部分がマスキングされ、2 回目以降の測定値が大きくなったと考えられた。E、G、H、I の 4 機関についてはマトリックス標準液の変動係数の方が大きかったが、これらはマトリックスによって GC システムが影響を受けたと考えられた。また全機関共通でエスプロカルブ、クロルピリホス、フェナリモル、ビテルタノールは変動が大きく、マトリックスの影響があると考えられた。

再現性試験の標準品連続測定とマトリックス標準液連続測定結果を比較し、マトリックス効果を比で表した。(表 15) GC-MS においてはマトリックスの影響により、多くの機関で全農薬が微増、ビテルタノールは突出して増加、という傾向であった。しかし、A 機関はマトリックスにより増加する項目と減少する項目に分かれ、E 機関は全項目で半減した。これは使用している GC 機器が、A 機関は MRM 測定、E 機関はイオントラップ型 GC-MS によるスキャン測定と他機関と異なっているためと考えられた。LC-MS/MS では 7 機関でほぼ変化無し、残り 2 機関で微増となり、パンケーキ由来のマトリックスの影響は少ないものと考えられた。

4. 外部精度管理試験

平成 20 年度は、添加濃度を通知して外部精度管理試験を行った結果、GC で 3 機

関、LC で 2 機関が全ての評価項目において良好な結果を示し、全機関を通じて GC で約 20%、LC で約 19%の農薬が不良であった。今年度は前年度と比較して全評価項目が良好であった機関数が増加していることから、参加機関が加工食品中の農薬分析に慣れてきており、分析精度が向上してきていると考えられた。一方で、適正範囲外となる農薬の約 85%が 3 機関に集中しており、さらにこのうち D、E 機関は LC の結果が類似した傾向を示していた。この 2 機関では GC での試験結果が概ね良好であったことから、前処理法自体に大きな問題点がないと考えられた。そこで、LC 用に試験液を調製する工程に着目し、全機関の比較を行ったところ、LC 試験溶液中のメタノール比率が異なることが判明した。資料 1 に示す通り、D、E 機関は 25%メタノール、その他 7 機関が 100%となっていた。D-1 の各機関の検討結果が示した通り、クロルピリホス、エスプロカルブ、テブフェンピラドは不良な結果が得られており、含水率が高い試験液ではこれらの農薬の溶解が不十分であり、測定値の低下や範囲の増大の原因になったと考えられた。また、I 機関では D、E 機関とは異なる農薬が不良であったが、これについての要因特定はできなかった。

なお、安定性試験の結果では、フェナリモル、ビテルタノールおよびエスプロカルブの残存率が 70%を下回ったが、再試験では全て 90%付近の残存率であったこと、各機関の測定値は添加濃度付近であったことから、外部精度管理試料に問題はなかったと考えられた。

5. サンプルング試験

当初、サンプルング試験において平均測定値は重視していなかったが、表 13 に示した評価結果は良好であり、外部精度管理試験よりも適正範囲外となる評価項目は少なかった。また、D、E 機関の LC では共に 4 農薬以上が不良となり、試験液中のメタノール濃度の影響で外部精度管理試験と同様の結果が得られたと考えられた。変動係数や範囲に関しては、外部精度管理試験と比較して著しく変化した例はなかった。このことから、各機関で行われている試料均一化は適切であったと考えられた。

6. 各種精度管理試験結果比較

再現性試験と外部精度管理試験およびサンプルング試験の結果を図 5 に示した。横軸を各農薬の平均回収率、縦軸を変動係数にとり測定機器ごとに散布図で示した。また、全機関の結果を再現性試験、外部精度管理試験およびサンプルング試験ごとに示した。

多くの機関で点が集中しており、非常に精度良く測定できたことがわかる。また、再現性試験結果と、外部精度管理試験およびサンプルング試験結果が個別のグループを作る例 (A 機関 LC、B 機関、D 機関 GC) が見られたが、これは分析操作中の回収率低下によってもたらされたと考えられる。

7. GC-MS と LC-MS/MS の結果比較

各機関の外部精度管理試験およびサンプルング試験における測定機器間の相関を、横軸を GC-MS 測定値、縦軸を LC-MS/MS 測定値として農薬ごとに散布図で示した。(図 6) 各農薬の中で、クレソキシムメ

チルは特に点が中央の斜線付近に集中しており、GC-MS と LC-MS/MS の測定値が一致し易い、定量値に影響の出にくい農薬であったことが示された。ブプロフェジン、フェナリモルでもこれに準ずる傾向が見られ、斜線より離れている点もあったが、全体としては斜線の上下にほぼ均等に分布していた。エスプロカルブ、クロルピリホス、テブフェンピラド、ピテルタノールでは、中央の斜線より下側に点が集中する傾向が見られ、GC-MS 測定値の方が大きな値が得られ易いことが示された。LC-MS/MS は GC-MS と比較して、再現性試験では変動係数が小さく、マトリックス効果も小さいという結果が得られている。このことより LC-MS/MS は測定上の問題が少ないと思われるが、回収率は GC-MS より低い。この点に関する原因は明らかではないが、気体中からイオン化させる GC よりも、移動相のバリエーションが豊富で、かつ物質が多い液体からイオン化させる LC の方が、様々な要因を含むためと考えられる。

7. GC システム評価

平成 20 年度のレトルトカレーを使用した試験の際には、4 機関でカラム注入口側の汚れを示す 2,4-ジニトロアニリンのピーク形状指数が 1.3-1.7 となり、ピークの高さよりも幅が拡大していた。今年度は 2,4-ジニトロアニリンでピーク形状指数が 1.2 を超えた機関はなく、パンケーキがレトルトカレーよりも GC システムに及ぼす影響が少なかったと考えられた。また、全機関のほぼ全ての評価物質の測定値は増大しており、ピーク面積、高さ共に増大していた。この変化

率は面積、高さ共に一致する傾向があり、ピーク形状が大幅に悪化した例は A 機関のフェニトロチオンと I 機関のペンタクロロフェノールのみであった。これはカラム注入口側または出口側の指標物質であり、パンケーキマトリックスによってカラムが劣化していることが示された。しかし、これら以外は全体的にピーク形状の変化は少なく、パンケーキ試料の注入による GC システムへの影響は小さいと考えられた。

E. 結論

外部精度管理試験結果で、全ての農薬で良好な判定結果を得た機関は A、B、H の 3 機関、サンプリング試験結果では A、C、F、G、H の 5 機関であった。それ以外の機関では、一つ以上の評価項目がいずれかの測定機器で適正範囲外となった。これは前年度の試験結果よりも良好であり、パンケーキ試料が主に牛乳、卵と小麦粉という単純な構成であり、前年度のレトルトカレーより夾雑物が少なく、測定が比較的容易な加工食品であったことも要因の一つと考えられる。また、前年度の試験で好成績であった、抽出にヘキササンとアセトニトリルを使用する分析法を採用する機関数が増加し、その多くが良好な結果を得たことも要因の一つと考えられる。また、適正範囲外となった農薬の多くは、特定の機関で外部精度管理試験とサンプリング試験で共通していたため、原因を類推することが可能であった。つまり、例示した分析法は、低極性農薬を GC で測定し、GC で測定困難な農薬のみを LC で測定することを想定しているため、全農薬を LC で測定することは

想定外であり、LC 試験液の含水率によって溶解度が低下し、不具合の原因となったと思われる。それ以外で不良な結果が得られた項目は、同一機関内で外部精度管理試験かサンプリング試験かのいずれかでほぼ良好な結果が得られており、突発的な不具合と考えることができる。以上のことより、本研究は 2 年目であり、各機関が前年度の経験を生かしてより良い精度が得られたと結論づけた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 岡本葉、高取聡、北川陽子、起橋雅浩、福井直樹、村田弘、住本建夫、田中之雄（大阪食品衛生協会）、尾花裕孝（大阪府立公衆衛生研究所）：LC-MS/MS による餃子中の農薬一斉分析法の検討，食品衛生学雑誌，50，10-15，2009.
- 2) 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（大阪府立公衆衛生研究所）：GC/MS を用いた加工食品中の残留農薬一斉分析法の検討，食品衛生学雑誌，50，198-207，2009.
- 3) 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（大阪府立公衆衛生研究所）：GC/MS/MS を用いた加工食品中の残留農薬一斉分析法の検討，食品衛生学雑誌，50，243-252，2009.
- 4) 畠山えり子、阿久津千寿子、梶田弘子、菅原隆志（岩手県環境保健研究センター）：Dispersive SPE を用いた加工食品中の残留農薬迅速一斉分析法の検討，岩

- 手県環境保健研究センター年報， 8， 81-86， 2009.
- 5) 小林ゆかり、土田由里子、岩崎奈津美、丹治敏英（新潟県保健環境科学研究所）：加工食品中の残留農薬分析法の検討，新潟県保健環境科学研究所年報，24，73-77，2009.
- 6) 上野英二、栴島由佳、大島晴美、大野勉、根本 了、米谷民雄（愛知県衛生研究所）：LC/MS による農産物中デメトン-S-メチル、オキシデメトンメチルおよびデメトン-S-メチルスルホンの分析，食品衛生学雑誌，50：64-69，2009.
2. 学会発表
- 1) 起橋雅浩、小阪田正和、内田耕太郎、永吉晴奈、山口貴弘、柿本健作、尾花裕孝（大阪府立公衆衛生研究所）：加工食品試料を用いた外部精度管理試料調製の検討，第 46 回全国衛生化学技術協議会年会，岩手，2009.
- 2) 福井直樹、高取聡、北川陽子、柿本幸子、柿本葉、村田弘、起橋雅浩、尾花裕孝（大阪府立公衆衛生研究所）：農産物を主原料とした加工食品の残留農薬実態調査，第 46 回全国衛生化学技術協議会年会，岩手，2009.
- 3) 畠山えり子、阿久津千寿子（岩手県環境保健研究センター）、梶田弘子（岩手県食肉衛生検査所）：LC/MS/MS を用いた加工食品中のグルホシネート及び代謝物の同時分析、第 32 回農薬残留分析研究会、島根、2009
- 4) 畠山えり子、阿久津千寿子、青木晴美（岩手県環境保健研究センター）、梶田弘子（岩手県食肉衛生検査所）：LC/MS/MS を用いた加工食品中のグルホシネートおよびグリホサートの同時分析、第 46 回全国衛生化学技術協議会年会、岩手、2009
- 5) 上野英二、大野春香、棚橋高志、大島晴美、三上栄一（愛知県衛生研究所）：畜水産物中の農薬分析における多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィーの応用，日本農薬学会第 32 回農薬残留分析研究会，島根，2009.
- 6) 上野英二、大野春香、棚橋高志、大島晴美、三上栄一（愛知県衛生研究所）：畜水産食品中アセフェート、オメトエートおよびメタミドホスの分析，日本食品衛生学会第 98 回学術講演会，北海道，2009.
- 7) 大野春香、棚橋高志、上野英二、大島晴美、三上栄一（愛知県衛生研究所）：GC- μ ECD による魚介類中の PCB、有機塩素系農薬及びクロルデン類の一斉分析法の検討，第 46 回全国衛生化学技術協議会年会，岩手，2009.
- 8) 苗床江理、山口理香、布川徹、徳崎健史、森下正人（北九州市環境科学研究所）：LC/MS を用いた食品中残留農薬等測定における基礎的研究 ～試験液中の水の及ぼす影響～，第 46 回全国衛生化学技術協議会年会，岩手，2009.
- H. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得：なし
 2. 実用新案登録：なし
 3. その他：なし

表1. 参加機関の分析法まとめ

機関名	A	B	C	D	E	F	G	H	I
試料量	10g	20g	10g	5g	10g	10g	5g	10g	5g
溶媒	ヘキサン25mL、 アセトニトリル 50mL、25mL	ヘキサン25mL、 アセトニトリル 50mL、25mL	水10mL、アセトン ：ヘキサン(2:3) 100mL、50mL	酢酸エチル20mL 無水硫酸Mg 3g	ヘキサン25mL アセトニトリル 50mL、25mL	酢酸エチル70mL 無水硫酸Na70g	酢酸エチル20mL 無水硫酸Mg 3g	アセトニトリル飽 和ヘキサン20mL、 ヘキサン飽和アセ トニトリル40mL、 40mL、20mL	酢酸エチル20mL 無水硫酸Mg 3g
抽出			内部標準添加						
方法	ホモジナイズ	ホモジナイズ	ホモジナイズ	ホモジナイズ	ホモジナイズ	ホモジナイズ	振とう、超音波	ホモジナイズ	ホモジナイズ
回数	2	2	2	1	2	1 (残渣洗×3)	1	3	1
分離	遠心分離	遠心分離	遠心分離	遠心分離	遠心分離	遠心分離	遠心分離	遠心分離	遠心分離
分配			濃縮 珪藻土カラム						
精製	100mLに定容	100mLに定容	濃縮	濃縮	100mLに定容	濃縮	濃縮	100mLに定容	濃縮
	C18 (1g)	C18 (1g)	GPC	アセトニトリル ：ヘキサン分配	C18 (500mg)	GPC	アセトニトリル ：ヘキサン分配	C18 (2g)	アセトニトリル ：ヘキサン分配
最終精製	無水硫酸Na 濃縮	無水硫酸Na 濃縮	SAX/PSA	GCB/PSA	無水硫酸Na 濃縮	濃縮		無水硫酸Na 濃縮	
	GCB/PSA	PSA	濃縮	濃縮	PSA	GCB/PSA	GCB/PSA	SAX/PSA	GCB/PSA
濃度	濃縮	濃縮	濃縮	濃縮	濃縮	濃縮	濃縮	濃縮	濃縮
GC測定液	0.5g/mL	1g/mL	1g/mL	1g/mL	1g/mL	2g/mL	0.1g/mL	1g/mL	1g/mL
LC測定液	0.05g/mL	0.2g/mL	0.2g/mL	0.25g/mL	0.2g/mL	0.2g/mL	0.1g/mL	0.2g/mL	0.25g/mL
定量	matrix補正	matrix補正	内部標準補正	matrix補正	matrix補正	内部標準補正	matrix補正	matrix補正	matrix補正
LC	補正なし	補正なし	内部標準補正	matrix補正	matrix補正	matrix補正	補正なし	matrix補正	補正なし

表2. 加熱時間の変化による調理後重量あたり濃度の推移

化合物名	濃度 (ng/g)								添加 農薬
	3.5min	4.5min	5.5min	7min	10min	15min	30min	60min	
エスプロカルブ	95.4	91.5	93.1	89.5	92.3	98.8	91.1	99.5	○
クロルピリホス	95.5	90.8	89.7	90.7	94.2	101.3	99.0	103.9	○
ジエトフェンカルブ	101.3	100.7	103.4	95.3	103.7	110.6	94.8	89.7	○
ブプロフェジン	95.5	89.7	89.7	82.8	89.1	101.1	94.8	103.9	○
クレソキシムメチル	98.8	93.1	93.1	92.2	96.2	104.1	100.5	102.9	○
テブフェンピラド	119.6	103.6	106.7	98.4	93.6	112.6	99.7	102.7	○
フェナリモル	93.7	87.5	89.0	88.6	90.9	96.8	80.5	69.6	○
ビテルタノール	91.4	87.7	86.6	85.0	87.4	94.1	70.5	79.0	○
イミダクロプリド	80.5	79.4	97.9	80.2	105.9	102.7	81.6	30.7	○
テブフェノジド	101.0	92.1	125.9	105.2	119.1	115.8	115.5	125.5	○
クロルプロファミ	99.3	93.9	94.0	91.0	97.0	104.1	99.0	79.7	
チオベンカルブ	93.7	92.3	91.3	88.8	90.4	97.4	92.4	94.1	
トリアジメノール	94.2	94.7	98.6	91.2	98.7	103.1	83.3	59.8	
フルトラニル	100.6	94.9	95.7	93.0	98.4	105.9	94.3	84.7	
ミクロブタニル	99.0	91.3	93.7	88.7	92.9	101.0	80.4	60.7	
オキサジキシル	95.4	96.7	89.6	93.7	91.4	97.6	67.4	24.5	
レナシル	90.1	86.8	87.0	86.3	87.0	95.1	67.3	29.4	
テニルクロール	90.1	84.7	83.2	79.8	86.0	83.0	67.7	65.3	
アゾキシストロビン	109.5	100.2	105.0	102.5	96.5	107.4	81.6	65.2	
重量残存率(%)	86.8	87.2	87.9	85.3	84.8	80.0	70.3	59.5	

EPN：妨害成分のため測定不能