

どの急性毒性を発現する有害な物質であることに加えて、毒性が高いアフラトキシンとの同時汚染が起こることも報告されている。そのため、CPA やアフラトキシン摂取による健康被害が懸念されている。

また CPA はその構造式に特徴を有している。図1に示したように、CPA の構造式中には、麦角菌によって産生されるアルカロイドの誘導体として有名なリゼルギン酸ジエチルアミド、いわゆる LSD と同じセロトニン骨格を有している。また、CPA はアフラトキシン B₁ と同様な β ジケトン骨格があるといった、興味深い構造を有している。CPA は、アフラトキシンやデオキシニバレノールなど他のマイコトキシン類に比べると、食品衛生上の関心は未だ低いが、LSD やアフラトキシン B₁ と構造上の類似骨格を有していることから、今後はその薬理作用や分析法について更なる研究が必要と思われる。

従来、アフラトキシンを始めとして、マイコトキシンの分析法は数多く報告されているが、CPA の分析報告は未だ少なく、また規制値も設定されていない。これまでの当分担研究班では、実際に CPA 産生が疑われた我が国古来の伝統的発酵食品の一つである液状調味料(めんつゆ)や、農産物の中でも特にアフラトキシン汚染などカビ毒が発生しやすい食品として、ピーナッツとコーンを選択して、LC-UV や LC-TOFMS を用いた簡便・迅速な CPA 定量分析法を構築した。また、CPA 汚染食品の標準マテリアル作製に着手し、更に内部・外部精度管理へのトライアルを行って、構築した CPA 分析法および作製した“CPA 汚染標準マテリアル”の妥当性評価を試みてきた。

本年度は、簡便でフィールドで使える ELISA の開発を行うと共に、定量分析法としての精度が問われる ELISA について、測定値の信頼性を評価するための分析法バリデーションなど基礎検討を行うこととした。

B. 研究方法

1. ELISA プレートの調製

CPA に対するウサギポリクローナル抗体の作製は、W.Yuら(J.Agric.Food.Chem., 1998, 46, 1012-1017)の方法に準じて行った。すなわち、CPA と活性化 Keyhole limpet hemocyanin (KLH)とを反応させて CPA ポリクローナル抗体作製の抗原(CPA-KLH)を調製し、ウサギに Freund's Complete Adjuvant や Freund's Incomplete Adjuvant と等量混和したエマルジョンを数回投与した。その後、抗体価の上昇を ELISA にて確認し、抗 CPA 抗体として血清を得た。

CPA-KLH conjugate (1μg/ml Carbonate Buffer pH8.5) 50 μL をグライナー社製マイクロプレートに加え、2 時間放置して固相化を行った。1%スキムミルク-PBS を 360 μL 加え、1 時間放置してブロッキングを行った後、0.02% Tween-20-PBS で 3 回洗浄を行い、CPA 測定用 ELISA プレートを調製した。

2. CPA 測定

ELISA プレートに希釈系列を 50 μL および第一抗体 (CPA ウサギ抗血清) を 100 μL 加え、1 時間反応させた。希釈系列は、CPA 標準品 1000 ng/mL を調製し、この液を、適宜 PBS で希釈したものと、ブランクとしての PBS の、計 8 種類を用いた。反応後、B/F 分離を行い、第二抗体 (Anti Rabbit IgG(H+L), HRP conjugate) を 100 μL 加え 1 時間放置し、ウェルに結合した第一抗体に第二抗体を反応させた。その後、再び B/F 分離を行い、TMB 100 μL を加え、10 分間放置して発色させた後、1 N 硫酸 100 μL を加え反応を停止し、直ちにプレートリーダーを用いて波長 450 nm で測定した。

3. 試料溶液の調製

食品試料には、*Aspergillus* 属や *Penicillium* 属などのカビによる汚染が考えられる食品として液状調味料(めんつゆ)を用いた。試料のクリーンアップとしては、①原液の希釈のみ、②液液抽出および③液液抽出

+固相抽出の3種類の手法をそれぞれ行った。原液の希釈は PBS で行い、また液液抽出では試料 5 mL の pH を 1N NaOH で 9.0 に調整し、精製水で 10 mL にメスアップし NaCl 5 g を加えた。酢酸エチル 10 mL を加えて振とう抽出し、5°C、10000 g で 5 分間遠心分離し、上清を回収した。この操作を 3 回繰り返し、合わせた上清を減圧濃縮により溶媒除去し、1%メタノールで再溶解した。固相抽出では、前記の 1%メタノールで再溶解したものを Oasis HLB カートリッジ (1 cc) を用いて固相抽出し、再び減圧濃縮により溶媒除去し、1%メタノール- PBS の混液で再溶解したものを測定用試料とした。

4. 分析法バリデーション

真度、併行精度および室内再現精度など分析法バリデーションのために添加回収試験を行った。食品試料には、液状調味料として市販のめんつゆを選択し、原液を PBS で 10 倍希釈したものを測定用試料とした。CPA 添加濃度は 1000 ng/mL とし、一日に 2 回測定を併行して繰り返し、これを 5 日間行って得られたデータを一元配置法で統計解析した。

C. D. 研究結果および考察

1. ELISA の最適化

抗体はウサギを動物種としたポリクローナル抗体を作製し、間接競合法による ELISA 構築を目指した。固相化に用いる CPA-conjugate のキャリアタンパク質には、カプトガニヘモシアニン (KLH) を用い、CPA-conjugate の濃度について 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で検討したところ、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では発色が不十分であり、また、3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では、発色の度合いは 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の方が強かったが、測定感度は 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の方が良好であったことから、分析コストも考慮して低濃度の 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を採用することにした。次に、第一抗体の濃度について 12500 倍希釈~50000 倍希釈の範囲で検討したところ、

12500 倍希釈と 25000 倍希釈が、50000 倍希釈よりも良好な感度を示した。12500 倍希釈と 25000 倍希釈ではほぼ同等の結果が得られたが、コスト面を考慮して 25000 倍希釈を採用した。第二抗体の濃度について 1500 倍希釈~6000 倍希釈の範囲で検討したところ、1500 倍希釈、3000 倍希釈、6000 倍希釈のいずれも良好な検量線が得られたが、6000 倍希釈では発色が弱かったため、3000 倍希釈を採用した。

以上の条件で、CPA 標準品 0.001 ng/mL ~ 1000 ng/mL の範囲で、縦軸に B/B₀ を、横軸を濃度の対数とした片対数グラフで検量線をプロットしたところ、逆シグモイド曲線が得られ、更に 1 ng/mL ~ 100 ng/mL の範囲で良好な直線性が得られた(図 2)。

ELISA 法の検出限界を、逆シグモイド曲線と接線を作図する方法(薬学雑誌(2005), 125(3), 323-325)から求めたところ、0.4 ng/mL であり、また 50%阻害濃度(IC₅₀)値は 16.7 ng/mL であった(図 2)。

2. 実試料分析におけるマトリックス効果の影響検討

実試料を ELISA で分析した場合のマトリックス効果の影響について検討するため、試料に液状調味料のめんつゆを選び、その前処理法について検討した。その結果、前処理クリーンアップが十分な液液抽出と固相抽出法を併用した場合はもちろん、液液抽出または試料原液の希釈(10 倍希釈)だけでも、それぞれ作成したマトリックス検量線は、マトリックスが存在しない CPA 標準品の検量線と良好に一致した(図 3)。このことから、ELISA における、マトリックスの影響を除外するためのめんつゆの簡便な前処理法として、原液の希釈法が採用できると考えられた。

次に、めんつゆの希釈倍率についての至適値を検討した。めんつゆ原液、原液を PBS で 5 倍希釈したもの、10 倍希釈したもの、および 100 倍希釈したものを調製し、これらで CPA 標準品を希釈して希釈系列を作製し、

実験を行った。その結果、めんつゆ原液では、マトリックスの影響を強く受けて検量線を描くことが困難であったが、5倍以上希釈したものでは、いずれもPBSで希釈系列を調製した場合と同等な検量線が得られた(図4)。なお、実際の測定には製品の種類やロットの差による影響を考慮して、PBS希釈倍率は10倍希釈を採用した。

なお、ELISAに供する試験溶液としたメタノール-PBS混液中の、至適メタノールの濃度について検討した。0.5%、1%、10%メタノールを調製して希釈系列を作製し、実験を行ったところ、いずれの濃度でも良好な検量線が得られた。メタノールが抗体に及ぼす影響を考慮し、低濃度の1%メタノールを採用した。

3. 分析法のバリデーション

構築したELISAの妥当性を検証するために、添加回収試験を行って、真度、併行精度および室内再現精度など分析法バリデーションを行った。その結果、検量線測定範囲の5、10、50および100 ng/mLの4点について平均回収率から真度の差を検証したところ、表1に示すようにほぼ同等の値が得られ、この範囲での測定値に信頼性があることが確認された。

また、一元配置法により、上記測定ポイントにおける併行精度と室内再現精度を求めたところ、併行精度は23.0~31.1%、室内再現精度は17.0~30.6%と、いずれも相対標準偏差の数値としては若干高めであったが、併行精度と室内再現精度の数値がほぼ同レベルであったこと、ならびに本実験がプレート作製から行うELISAであることを考慮すると、スクリーニング法としてほぼ満足できる値であると思われた。

なお、検量線測定範囲の5、10、50および100 ng/mLを横軸に取り、対応する各標準偏差の値を縦軸にプロットするとU字型の再帰曲線が得られた。この場合、極小値はほ

ぼ10~50 ng/mLの範囲であり、上記の標準品を用いた実験で得られたIC₅₀付近と一致したことから、ELISAにおける定量値はIC₅₀付近(10-50 ng/mL)が最も精度が高いことが確認された。

以上の結果から、本法は、CPA汚染が危惧される食品の実態調査においてスクリーニングとして適用可能であり、本研究を遂行することによって、輸入食品など市場に流通する食品の安心・安全性評価や、今後の規制値導入の検討に際して重要な情報を提供することに大いに寄与することが期待される。

今後の研究計画としては、更に本分析法の精度管理を行うために、昨年度までの研究で検討した標準マテリアルを用いて、室間再現精度を検討すると共に、ピーナツやコーンなどマイコトキシン汚染事例の多い固体食品試料へ、開発したELISAの適用を検討する予定である。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表(論文発表および学会発表)

1. 齊藤貢一, 渡邊みどり, 佐々木美香, 馬場奈美季, 岩崎雄介, 中澤裕之; “高速溶媒抽出-LC/UV法によるシクロピアゾン酸の分析”, 第101回日本食品衛生学会学術集会(2011年5月, 東京)
2. 番場一恵, 齊藤貢一, 青山知未, 岩崎雄介, 伊藤里恵, 中澤裕之, “ELISAによる液状調味料中に含まれるシクロピアゾン酸の分析”, 日本薬学会第132回年会(2012年3月)

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

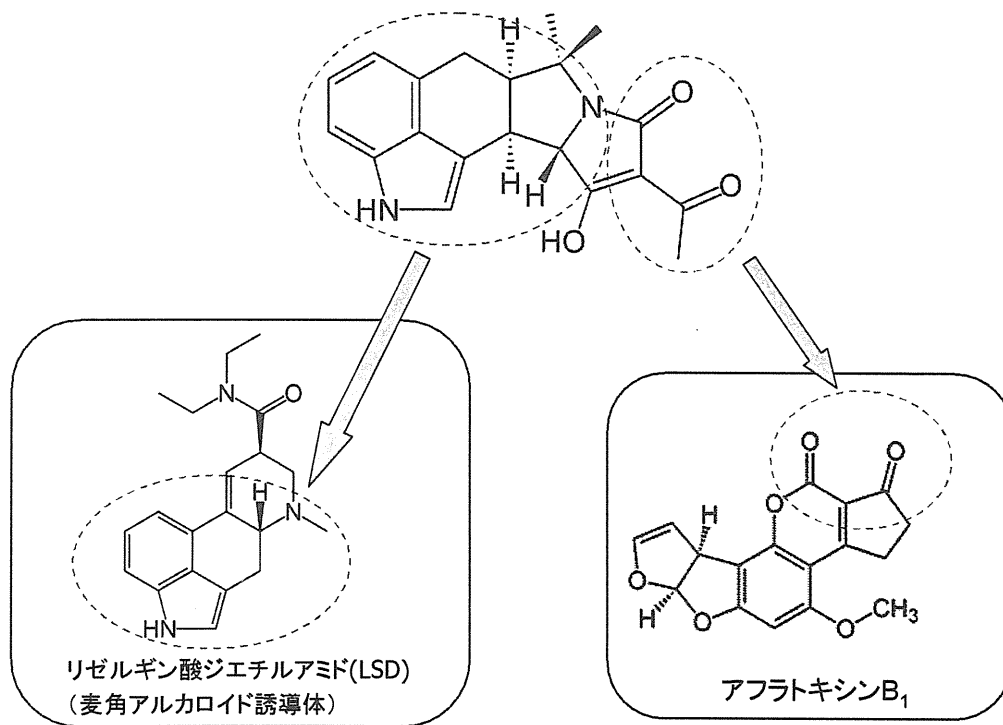


図1 CPAの化学構造式の特徴 (LSDとAFB₁との類似性)

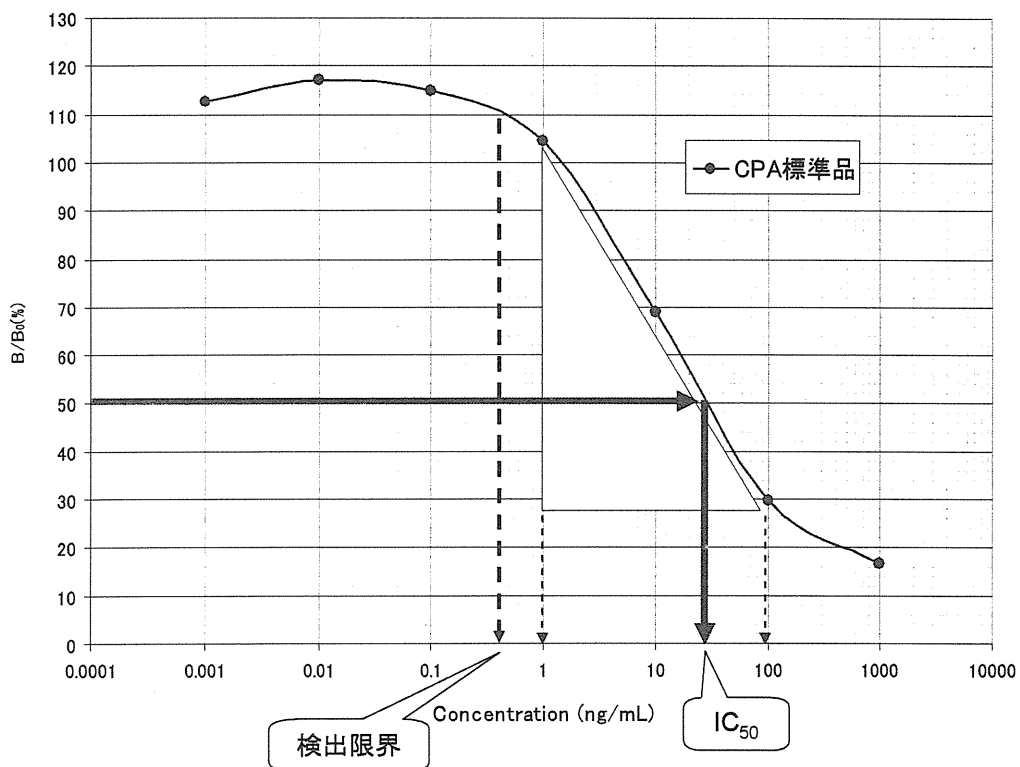


図2 検量線範囲, 検出限界およびIC₅₀の検討

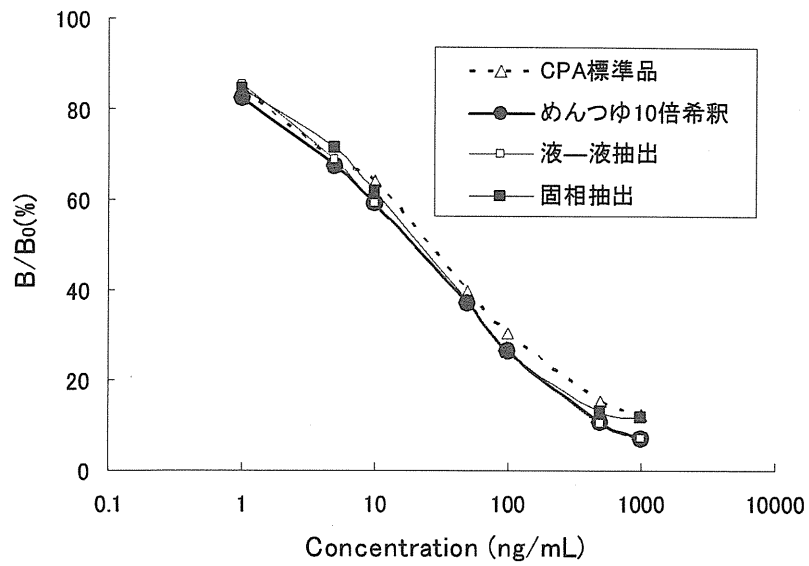


図3 試料前処理方法の検討

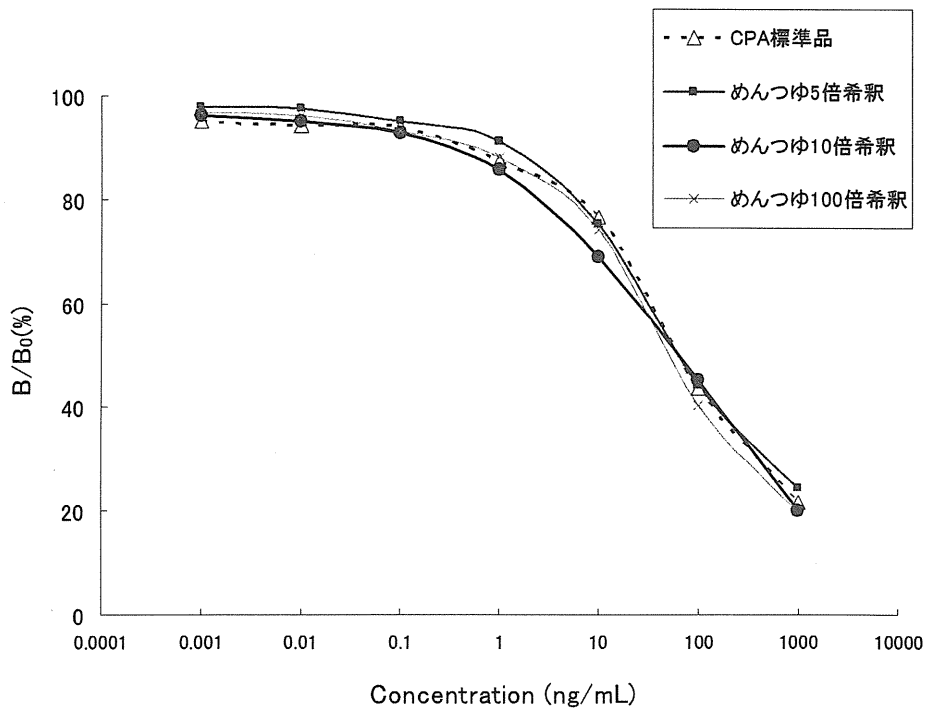


図4 試料(めんつゆ)希釈倍率の検討

表1 分析法バリデーション

検量線濃度 (ng/mL)	回収率 (Mean, %)	併行精度 (RSD, %)	室内再現精度 (RSD, %)
5	119	23.0	26.4
10	132.9	27.6	23.7
50	116.4	22.0	17.0
100	122	31.1	30.6

(n=10)

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全推進研究事業)

検査機関の信頼性確保に関する研究

平成 23 年度 分担研究報告書

食品中の残留農薬等試験検査におけるマトリックスの

影響評価に関する研究

分担研究者 村山 三徳

平成 23 年度厚生労働化学研究費補助金(食品の安全確保推進事業)

検査機関の信頼性確保に関する研究

分担研究報告

食品中の残留農薬等試験検査におけるマトリックスの影響評価に関する研究

主任研究者 小島幸一 (財)食品薬品安全センター 所長
分担研究者 村山三徳 (社)日本食品衛生協会食品衛生研究所 課長
協力研究者 伊藤偵啓、吉田裕一 (社)日本食品衛生協会食品衛生研究所

研究要旨

食品中の残留農薬等試験検査においては、ガスクロマトグラフ質量分析計、液体クロマトグラフ質量分析計を用いた試験検査方法が汎用されている。質量分析計を検出器として用いた方法は、検出可能な化合物が多いうえに選択性が高ことから、様々な試験検査の場において応用が広がっているが、検体由来のマトリックスの影響を受けやすく、測定値の安定性が従来の検出器より劣る欠点がある。本研究では、クロマトグラフィーの質量分析計検出器におけるマトリックス効果の軽減を目的とし、下記の2課題について実施した。

1. 食品成分等の常在化合物によるマトリックス効果の評価

各種クロマトグラフ質量分析計を用いた試験検査方法において、マトリックスは検体の種類により異なり、試験検査の抽出、精製方法により異なる。マトリックス効果を補正するにはマトリックス標準品を用いる方法が一般的であるが、その手法についての具体的な研究はされていない。本研究では、脂質、たんぱく質、ミネラル等の食品中の常在化合物によるマトリックス効果を評価するとともに、マトリックス標準による補正の最適化を目的とする。本年度は研究計画を検討した。

2. 添加物等の人為的化合物の試験検査に及ぼす影響の評価

食品添加物の中には酸化剤、抗酸化剤等反応性が高い化合物がある。一方、残留農薬等にも反応性が高い化合物があり、食品中の添加物と反応することが予想される。残留農薬等試験検査においては、添加回収試験を実施して試験検査操作の正当性を確認しているが、同一種類の検体においても回収率に明らかな差がある等、添加物の影響が疑われる場合がある。本研究では、食品添加物と農薬等の反応性を検証するとともに、添加物の添加回収試験への影響を排除する方策について検討することとし、本年度はマラカイトグリーン試験法における亜硫酸の影響について検討した。その結果、マラカイトグリーンと食品添加物である亜

硫酸を反応させることにより、マラカイトグリーンが消失することを見出した。

(参考資料) 食品中の放射性セシウム検査の精度管理のための基礎資料

東日本大震災に伴う福島第一原子力発電所の放射性物質放出事故により、食品の放射能汚染が注目され、多くの検査機関が放射性物質検査を実施するようになった。

食品中の放射性セシウム検査の中核を担うゲルマニウム半導体ガンマ線スペクトル測定装置は、事故当初と比べてより多くの検査機関に普及してきたが、精度管理についての取り組みは緒に就いたばかりである。

ゲルマニウム半導体ガンマ線スペクトル測定装置は、検査機関が通常取り扱う試験検査機器と比べて、測定対象、測定原理が特異的であり、正確な測定結果を得るには習熟を要する。また、精度管理のためには測定装置の諸元、性質を把握しておかなければならない。本資料は食品中の放射性セシウム検査の精度管理のための基礎資料として、ゲルマニウム半導体ガンマ線スペクトル測定装置の諸元、性質を調査したものである。

A. 研究目的

わが国における、食の安全・安心施策を推進するため、厚生労働省は、平成18年度に、ポジティブリスト制度を導入し、800種類を超える農薬等に残留基準を設定した。また、検疫所並びに登録検査機関においては、海外から輸入される食品中の残留農薬レベルについてのモニタリング検査や輸入検査の実施を、また、地方自治体の衛生研究所等においては、国内市場の食品についての収去検査等の実施を、食の安全確保のリスク管理施策の一環として実施している。これらの検査の中でも、特に、輸入食品検査においては、違反の判定結果の精度の不確かさが2国間での貿易上の摩擦等が生じる危険性があることから、輸入食品検査に用いる検査法については、その精確さが厳しく求められている。

ポジティブリスト制度以来、増大する残留農薬等試験検査に対応するために、ガスクロマトグラフ質量分析計、液体クロマトグラフ質量分析計を用いた方法が多用されるよう

になってきた。質量分析計を検出器として用いた方法は、その選択性の高さから定性方法として汎用されるのみならず、多成分一斉分析等では定量にも欠かせない検出方法となっている。しかしながら、質量分析計は検体由来のマトリックスの影響を受けやすく、測定値の安定性が従来の検出器より劣る欠点がある。質量分析計は測定対象化合物をイオン化して、その質量数に応じて電磁氣的に分別して測定する手法であるが、イオン化の段階で共存するマトリックスにより測定対象化合物のイオン化が増進あるいは抑制される現象が起きる。また、イオン化後の電磁氣的分別の段階においても、共存マトリックスによる飽和、二次衝突等により影響を受けることが知られている。

質量分析計におけるマトリックスの影響を軽減するためには、抽出、精製の段階において測定対象化合物以外のマトリックスを極力排除することが基本であるが、多成分一斉分析等の化学的性質の異なる測定対象化合物を他のマトリックスから分別回収する

ことは困難である。また、適正な安定同位体をサロゲートとして用いる方法は、マトリックス効果の補正のみならず、抽出、精製における回収率の補正にも有効であり、質量分析計を検出器として用いる分析では最良の方法であるが、すべての測定対象化合物に最適な安定同位体が準備されていない。

質量分析計におけるマトリックスの影響を軽減するために、現状で一般的に行われている方法はマトリックス標準による補正である。検体由来のマトリックスに標準品を加えることにより、マトリックスの影響の度合いを測り、検体中の測定対象化合物の測定値を補正することを目的とする。具体的な手法としては、抽出、精製操作を繰り返してマトリックス溶液を集め、標準溶液をマトリックス溶液で希釈して標準検量線を作成する方法(マトリックス検量線法)、検体に標準溶液を添加して抽出、精製操作を行う方法(標準添加法)、抽出、精製操作を行い得られた試験溶液に標準溶液を添加、希釈する方法(標準希釈法)等がある。マトリックス検量線法は、一定のマトリックスが安定して得られる試験法に有効な手法である。標準添加法は、抽出、精製における測定対象化合物の回収率の補正にも有効であるが、抽出、精製操作および測定が2回分以上になる。標準希釈法は、抽出、精製操作は簡便であるが、測定は2回分以上になる。これらのマトリックス効果補正方法は、経験的に使い分けられており、補正方法の選択の目安は明確にされていない。

本研究では、課題1として種々の残留農薬等試験法における各種マトリックス効果補正方法の特性を調査し、補正効果の最適化を図ることを目的とする。

また、課題2として食品添加物の残留農薬等試験法に及ぼす影響について調査検討する。食品添加物の中には酸化剤、抗酸化剤等の反応性の高い化合物がある。一方、残留農薬等にも反応性の高い化合物があり、食品中の添加物と反応することが予想される。食品中の残留農薬が消失することは食品衛生上望ましいことではあるが、添加物と残留農薬等の反応性についての研究はされておらず、その反応生成物についての毒性評価はされていない。さらに、残留農薬等試験検査においては、添加回収試験を実施して試験検査操作の正当性を確認しているが、同一種類の検体においても回収率に明らかな差が認められることがあり、特に加工食品においては、数%オーダーで存在する可能性のある食品添加物の影響が疑われる場合がある。本研究では、食品添加物と農薬等の反応性を検証するとともに、添加物の添加回収試験への影響を排除する方策について検討する。

B. 研究方法

1. 食品成分等の常在化合物による

マトリックス効果の評価(課題1)

1-1) 農薬混合標準液

平成20年度厚生労働化学研究費補助金(食品の安心・安全推進研究事業)検査機関の信頼性確保に関する研究—分担研究報告—残留農薬標準品の溶解性及び安定性に関する研究にて調製した76種類の農薬混合標準液(10 mg/L アセトン/ヘキサン(1:1)溶液、表1-1~3)の安定性確認後、使用する予定である。

1-2) 試験法

一斉試験法を中心に協力機関(予定)

と調整中である。

2. 添加物等の人為的化合物の試験 検査に及ぼす影響の評価(課題2)

2-1) 試薬

- ・マラカイトグリーン・シュウ酸塩(97.2%、シグマ・アルドリッチ製)
- ・ロイコマラカイトグリーン(99.9%、林純薬製)

2-2) 装置および測定条件

- ・液体クロマトグラフ質量分析計

液体クロマトグラフ: alliance 2695
(Waters 製)

多波長検出器: 2996 フォトダイオードア
レイ検出器(Waters 製)

質量分析計: micromass ZQ システム
(Waters 製)

- ・カラム: Inertsil ODS-3(粒径 3 mm、内径
3 mm×長さ 15 cm、GLサイエンス製)
- ・カラム温度: 40°
- ・移動相: アセトニトリルおよび
10 mM ギ酸アンモニウムによる
グラジエント溶出
- ・流速: 0.4 mL/min
- ・測定条件:
多波長検出器; スキャン 200~600 nm、
測定波長 620 nm
質量分析; 測定方式 ESI+
測定質量(m/z); スキャン 100~700、
モニターイオン; MG 329、LMG 331
質量分析計測定パラメータ;
キャピラリー電圧 3.5 kV
コーン電圧 60 V
エクストラクター電圧 5 V
RFレンズ電圧 0.1 V
ソース温度 100°

脱溶媒温度 400°

窒素ガス流速; コーン 50 L/hr、

脱溶媒 700 L/hr

2-3) 操作

マラカイトグリーンおよびロイコマラカイトグ
リーンのアセトニトリル溶液に亜硫酸水素ナ
トリウム水溶液(SO₂として 1~1000 ppm 相
当)を加え、液体クロマトグラフ質量分析計
により、マラカイトグリーンおよびロイコマラカ
イトグリーンの挙動を調査した。

C. D. 研究結果・考察

1. 食品成分等の常在化合物による マトリックス効果の評価(課題1)

マトリックス検量線法、標準添加法、標準
希釈法によるマトリックスの影響に対する補
正効果の評価するために、検体、測定対象
化合物、試験方法等プロトコルについて検
討中である。

2. 添加物等の人為的化合物の試験 検査に及ぼす影響の評価(課題2)

マラカイトグリーンに亜硫酸を加えると、マ
ラカイトグリーンの青緑色が直ちに消えた。
液体クロマトグラフ質量分析計により測定し
たところ、マラカイトグリーンはほぼ消失して
いた。マラカイトグリーンおよびロイコマラカ
イトグリーンと亜硫酸との反応は安定しておら
ず、生成物の解析はできなかった。

E. 結論

1. 残留農薬等試験検査において測定結果
の精度に影響をおよぼすマトリックス効果に
ついて、マトリックス検量線法、標準添加法、
標準希釈法による補正効果の評価するため
の、検体、測定対象化合物、試験方法等を

検討中である。

2. 食品衛生法により食品中への残留が禁止されている動物用医薬品マラカイトグリーンと、食品添加物である亜硫酸を反応させることにより、マラカイトグリーンが消失することを見出した。

F. 健康危機情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表等

1) 小島幸一, 村山三徳:厚生労働化学研究費補助金(食品の安心・安全推進研究事業)検査機関の信頼性確保に関する研究—分担研究報告—残留農薬標準品の溶解性及び安定性に関する研究(2008～2010)

2) 藤田和弘, 仲西亜希子, 石原三知代, 伊藤裕信, 中村宗知, 渡井正俊, 谷口誠, 村山三徳:LC-MS/MSによる畜水産食品中のピコザマイシンの定量, 食衛誌, 50, 52-57 (2009)

3) 村山三徳:食品中の残留動物用医薬品の規制, 食衛誌, 51, 360-362 (2010)

4) 村山三徳:放射性物質検査の実際, 食品化学新聞(2011年6月30日号)

5) 村山三徳:食品中放射性物質の安全確

保対策, 月刊食料と安全, 9(12), 24-29 (2011)

2. 学会発表等

1) 村山三徳:食品の安全性を求めて～食品検査の現場から見た輸入食品等の現状～, 第7回食品衛生講演会(2010.10.15)

2) 村山三徳:食品中の放射性物質検査の実際, 食品中の放射性物質にかかわる講演会(2011.6.27)

3) 村山三徳:食品中の放射性物質検査について, 第8回食品衛生講演会(2011.9.14)

4) 村山三徳:近年の輸入食品の検査状況, 輸入食品検査検討会(2011.10.4)

5) 村山三徳:食品の放射能測定, フードシステムソリューション 2011 フードセーフティセミナー(2011.10.26)

6) 村山三徳:食品等における放射性汚染物質の検査の実際, 工業技術会講習会(2011.10.31)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

表 1 - 1 農薬混合標準液の原料、原料純度及び目標仕込み量（純度補正值）

No.	原料	原料メーカー	Lot No.	純度 (%)	純度補正值 (mg)
1	<i>p, p'</i> -DDD	Dr. Ehrenstorfer	51021	98.0	30.6
2	<i>p, p'</i> -DDE	Dr. Ehrenstorfer	71205	98.5	30.5
3	α -BHC	Dr. Ehrenstorfer	70830	97.5	30.8
4	β -BHC	Dr. Ehrenstorfer	50405	98.4	30.5
5	γ -BHC	Dr. Ehrenstorfer	51031	98.5	30.5
6	δ -BHC	Dr. Ehrenstorfer	51128	99.0	30.3
7	アクリナトリン	Dr. Ehrenstorfer	70830	96.5	31.1
8	アラクロール	Dr. Ehrenstorfer	51102	99.5	30.2
9	イソプロカルブ	Dr. Ehrenstorfer	80118	99.5	30.2
10	エスプロカルブ	関東化学(株)	810X7110	99.9	30.0
11	エトプロホス	Dr. Ehrenstorfer	70402	93.0	32.3
12	カズサホス	Dr. Ehrenstorfer	80114	98.5	30.5
13	カフェンストロール	関東化学(株)	703X7102	99.5	30.2
14	キナルホス	Dr. Ehrenstorfer	80104	96.0	31.3
15	クレソキシムメチル	Dr. Ehrenstorfer	91129	98.0	30.6
16	クロルピリホス	Dr. Ehrenstorfer	60110	98.5	30.5
17	クロルフェンビンホス	Dr. Ehrenstorfer	70413	95.5	31.4
18	クロルプロファム	関東化学(株)	904X7110	99.6	30.1
19	クロルベンジレート	Dr. Ehrenstorfer	50503	96.5	31.1
20	ジエトフェンカルブ	Dr. Ehrenstorfer	50623	97.0	30.9
21	シハロトリン	和光純薬工業(株)	ALQ8567	99.7	30.1
22	シフルトリン	Dr. Ehrenstorfer	60303	97.5	30.8
23	シプロコナゾール	Dr. Ehrenstorfer	61117	99.0	30.3
24	シペルメトリン	Dr. Ehrenstorfer	70416	92.0	32.6
25	ジメトエート	Dr. Ehrenstorfer	70927	98.0	30.6
26	シメトリン	関東化学(株)	709X7106	99.8	30.1
27	ダイアジノン	Dr. Ehrenstorfer	70320	96.0	31.3
28	チオメトン	Dr. Ehrenstorfer	71010	46.0	65.2
29	チフルザミド	和光純薬工業(株)	ALM0728	100.0	30.0
30	テトラコナゾール	Dr. Ehrenstorfer	61114	98.0	30.6
31	テニルクロール	関東化学(株)	011X1398	100.0	30.0
32	テブコナゾール	Dr. Ehrenstorfer	80418	98.8	30.4
33	テブフェンピラド	Dr. Ehrenstorfer	70629	99.5	30.2
34	テフルトリン	Dr. Ehrenstorfer	60207	98.0	30.6

表 1 - 2 農薬混合標準液の原料、原料純度及び目標仕込み量（純度補正值）

No.	原 料	原料メーカー	Lot No.	純度 (%)	純度補正值 (mg)
35	デルタメトリン	Dr. Ehrenstorfer	71206	99.0	30.3
36	トラロメトリン	Dr. Ehrenstorfer	80228	90.5	33.1
37	トリアジメノール	Dr. Ehrenstorfer	61212	98.0	30.6
38	トリアゾホス	Dr. Ehrenstorfer	80131	78.0	38.5
39	トリフルラリン	関東化学(株)	012X1474	99.8	30.1
40	パクロブトラゾール	Dr. Ehrenstorfer	70618	98.5	30.5
41	パラチオンエチル	Dr. Ehrenstorfer	70606	99.0	30.3
42	パラチオンメチル	Dr. Ehrenstorfer	60120	98.5	30.5
43	ハルフェンプロックス	Dr. Ehrenstorfer	70309	98.5	30.5
44	ビテルタノール	Dr. Ehrenstorfer	81104	98.5	30.5
45	ビフェントリン	Dr. Ehrenstorfer	70821	99.5	30.2
46	ピラクロホス	関東化学(株)	906X7137	99.3	30.2
47	ピリプチカルブ	関東化学(株)	804X7105	99.6	30.1
48	ピリプロキシフェン	Dr. Ehrenstorfer	60720	99.0	30.3
49	ピリミノバックメチル (E体)	和光純薬工業(株)	TFS9854	99.7	30.1
50	ピリミノバックメチル (Z体)	和光純薬工業(株)	TFS9855	99.1	30.3
51	ピリミホスメチル	Dr. Ehrenstorfer	60505	99.0	30.3
52	フェナリモル	関東化学(株)	706X7101	99.9	30.0
53	フェニトロチオン	Dr. Ehrenstorfer	60920	98.0	30.6
54	フェンチオン	Dr. Ehrenstorfer	80714	97.3	30.8
55	フェントエート	Dr. Ehrenstorfer	71009	96.6	31.1
56	フェンバレレート	Dr. Ehrenstorfer	50630	98.0	30.6
57	フェンプロパトリン	Dr. Ehrenstorfer	70301	99.5	30.2
58	ブタクロール	関東化学(株)	909X1526	99.1	30.3
59	ブタミホス	関東化学(株)	708X7110	99.2	30.2
60	フルジオキサニル	関東化学(株)	006X1233	99.9	30.0
61	フルシトリネート	Dr. Ehrenstorfer	71210	92.0	32.6
62	フルトラニル	Dr. Ehrenstorfer	60512	99.5	30.2
63	フルバリネート	関東化学(株)	905X7101	98.0	30.6
64	プレチラクロール	関東化学(株)	008X1499	99.8	30.1
65	プロピコナゾール	関東化学(株)	904X7104	99.6	30.1
66	ヘキサコナゾール	Dr. Ehrenstorfer	81013	97.0	30.9

表 1 - 3 農薬混合標準液の原料、原料純度及び目標仕込み量（純度補正值）

No.	原 料	原料メーカー	Lot No.	純度 (%)	純度補正值 (mg)
67	ペルメトリン	Dr. Ehrenstorfer	80311	94.0	31.9
68	ペンコナゾール	Dr. Ehrenstorfer	70307	99.2	30.2
69	ペンディメタリン	関東化学㈱	712X7101	99.2	30.2
70	ホサロン	関東化学㈱	102U1764	99.3	30.2
71	ホスチアゼート	Dr. Ehrenstorfer	70618	96.5	31.1
72	マラチオン	Dr. Ehrenstorfer	70328	99.0	30.3
73	メトラクロール	関東化学㈱	909X1525	99.9	30.0
74	メフェナセット	関東化学㈱	012X1278	99.8	30.1
75	メプロニル	関東化学㈱	807X7102	99.9	30.0
76	レナシル	Dr. Ehrenstorfer	80318	99.0	30.3

(参考資料) 食品中の放射性セシウム検査の精度管理のための基礎資料

東日本大震災に伴う福島第一原子力発電所の放射性物質放出事故により、食品の放射能汚染が注目され、多くの検査機関が放射性物質検査を実施するようになった。

食品中の放射性セシウム検査の中核を担うゲルマニウム半導体ガンマ線スペクトル測定装置 (Ge- γ 線測定装置) は、事故当初と比べてより多くの検査機関に普及してきたが、精度管理についての取り組みは緒に就いたばかりである。

Ge- γ 線測定装置は、検査機関が通常取り扱う試験検査機器と比べて、測定対象、測定原理が特異的であり、正確な測定結果を得るには習熟を要する。また、精度管理のためには測定装置の諸元、性質を把握しておかなければならない。本資料は食品中の放射性セシウム検査の精度管理のための基礎資料として、Ge- γ 線測定装置の諸元、性質を調査したものである。

調査に使用した Ge- γ 線測定装置は、社団法人日本食品衛生協会所有の CANBERRA 社製 GC3520 で、 γ 線検出部に直径 50 mm、高さ 50 mm の円柱形の高純度 Ge 半導体を有し、Co-60 の相対効率 は 38.9% である。厚さ 100 mm の鉛遮蔽体を装備し、 γ 線検出部の冷却は液体窒素による。測定容器は、2 L マリネリ容器 (旧科学技術庁タイプ)、または U8 容器 (最大容量 100 mL) を用いた。

Ge- γ 線測定装置の測定原理は以下のとおりである。高純度 Ge 半導体に γ 線が照射されると、電離作用により Ge 半導体中に電荷を生じる。電荷の発生量は γ 線のエネルギーに対応している。 γ 線のエネルギーは放射性物質により異なるため、Ge 半導体に生じた電荷の量から放射性物質を同定することができる。放射性セシウムから放出される γ 線のエネルギーは、Cs-134 で 569.29、604.66、795.76 keV など、Cs-137 では 661.64 keV が知られている。さらに一定時間内にカウントされた γ 線から放射能を求めることができる。図 1 に標準線源の γ 線スペクトルの例を示した。図 1 の横軸は γ 線のエネルギーを示し、縦軸は γ 線のカウント数を対数で示している。

γ 線により Ge 半導体中に生成された電荷は、マルチチャンネルアナライザーにより解析されて、 γ 線のエネルギーとカウント数が記録される。 γ 線はあらゆる方向に放射されるので、検体から放射される γ 線のうち、Ge 半導体に到達して検出されるのはごく一部のみである。したがって Ge- γ 線測定装置による測定は相対的分析法であり、標準線源を用いた放射性物質の同定のためのエネルギー校正、定量のためのピーク効率校正が不可欠である。測定の際には、校正に用いた標準線源と同一形状の容器に検体を充てんしなければならない。

Ge- γ 線測定装置による検出限界の求め方の代表例はCooper法で、分析対象とする放射性物質のエネルギー位置における γ 線量(図2(a))が、その前後の位置のバックグラウンドの γ 線量(図2(b)、(c))の標準偏差の3倍以上認められた時を検出とし、標準偏差の3倍の値を検出限界値とする。標準偏差の3倍を閾値とした場合の検出判定は99.7%以上の正確さを持つが、放射性物質の量が増すほどピーク(図2(a))のエリアは大きくなり、ピーク両端のカウント数も増大する。これに伴い、ピーク前後の位置の γ 線量(図2(b)、(c))の変動も大きくなるため、図3に示したとおり放射性物質の量が増すほど検出限界は大きくなる。図3は放射能の異なる検体を1,800秒間測定した際のCs-137の定量値と検出限界をプロットしたグラフで、累乗近似の相関性が高いことが分かる。計測するピーク前後の位置(図2(b)、(c))をピークから離すことによりこの影響は縮小できるが、選択性、正確さが損なわれることになる。また、検体によってピーク前後の位置(図2(b)、(c))に夾雑ピークが現れることがあり、同一の測定条件でも一定の検出限界が得られるとは限らない。

理化学的分析分野においては検出限界を標準偏差の3倍とすると、定量下限は標準偏差の10倍とすることが多いが、これは分析結果の分布が正規分布であることを前提としている。ところが放射線の分析結果の分布はポアソン分布であることが知られている。図4に示した通り、正規分布は平均値を中心に左右対称であるが、ポアソン分布は平均値より大きい側に歪んだ形であり、定量値が真の値よりも大きくなる可能性をはらんでいる。ポアソン分布はガンマ線のカウント数が1,000以上の場合、ほぼ正規分布とみなすことができると言われているが、必要とされる定量下限の信頼性を確保するためには、測定装置ごとに真度、再現性を評価して測定条件の設定を行わなければならない。検出限界のみから定量下限の信頼性を推測することは適切でない。

一般的に検体の量が多いほど、また測定時間が長いほど、 γ 線のカウント数が多くなり、検出限界および定量下限を引き下げることができる。図5にCs-137を1,800 Bq/kg含む検体を2 Lマリネリ容器で5回繰り返し測定した際の各定量値(○)、平均定量値(●)および相対標準偏差(RSD)と測定時間との関係を示した。図6はCs-137を3,700 Bq/kg含む検体をU8容器(98 mL)で5回繰り返し測定した際の各定量値(□)、平均定量値(■)およびRSDと測定時間との関係である。2 Lマリネリ容器による測定では測定時間600秒以上でRSD 1%以下であるのに対して、U8容器による測定では測定時間3,600秒でもRSD 1%以上であった。RSDが大きいほど定量値の信頼性は低く、検出限界値は高くなる。さらに新基準値案に採用されている100 Bq/kg以下の測定精度は、2 Lマリネリ容器による測定では測定時間1,800~3,600秒以上でRSD 1%以下とすることができたが、U8容器による測定では図

7、8に示したとおり測定時間 36,000 秒（10 時間）でも RSD 5%以上であった。図 7、8 は Cs-134（33 Bq/kg）および Cs-137（35 Bq/kg）を含む検体を U8 容器で 5 回繰り返し測定した際の各定量値（△）、平均定量値（▲）および RSD と測定時間との関係である。

上記データは、あくまで社団法人日本食品衛生協会所有の Ge- γ 線測定装置におけるものであり、使用する装置ごとに性能を評価して最適な測定条件を設定しなければならない。

厚生労働省は 2011 年 12 月 28 日に公示したパブリックコメント「水道水中の放射性物質に係る指標の見直し案に関する意見の募集について」において、新基準値案 10 Bq/kg を確認するための検査方法として検出限界値 1 Bq/kg を目標とし、検査体制の確保のために測定容器を大容量のものに変更したり、測定時間を長くしたりする必要があるとしている。定量下限 10 Bq/kg および検出限界 1 Bq/kg を満足する測定時間は、社団法人日本食品衛生協会所有の Ge- γ 線測定装置において、2 L マリネリ容器で 1～2 時間、U8 容器においては 3～5 日間を要する。

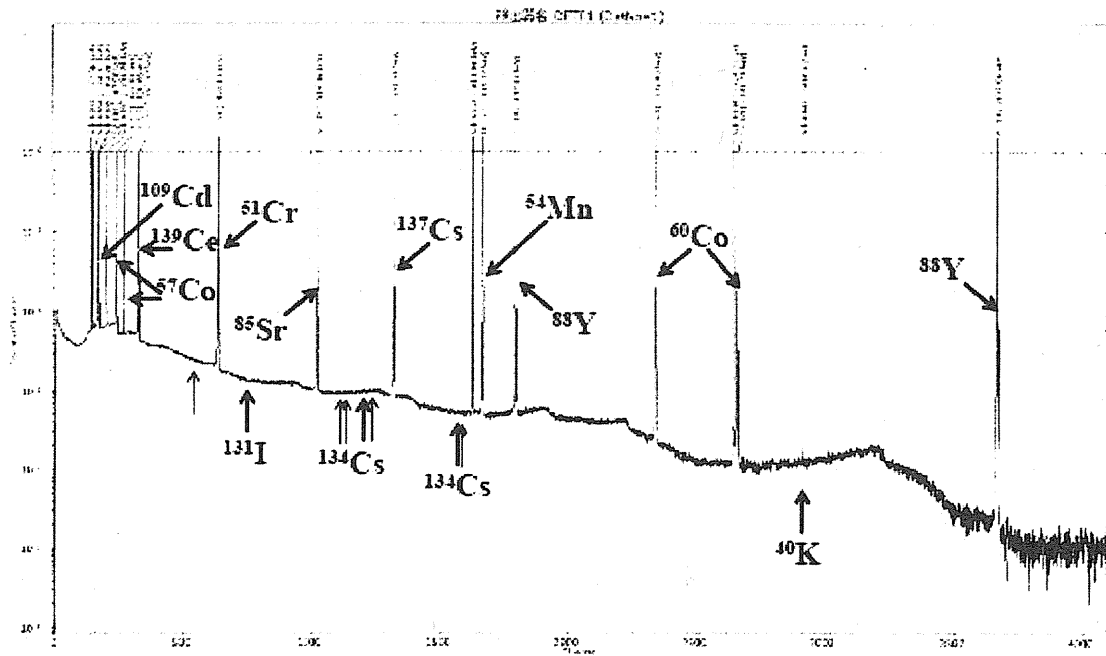


図1 Ge- γ 線測定装置によるガンマ線スペクトル

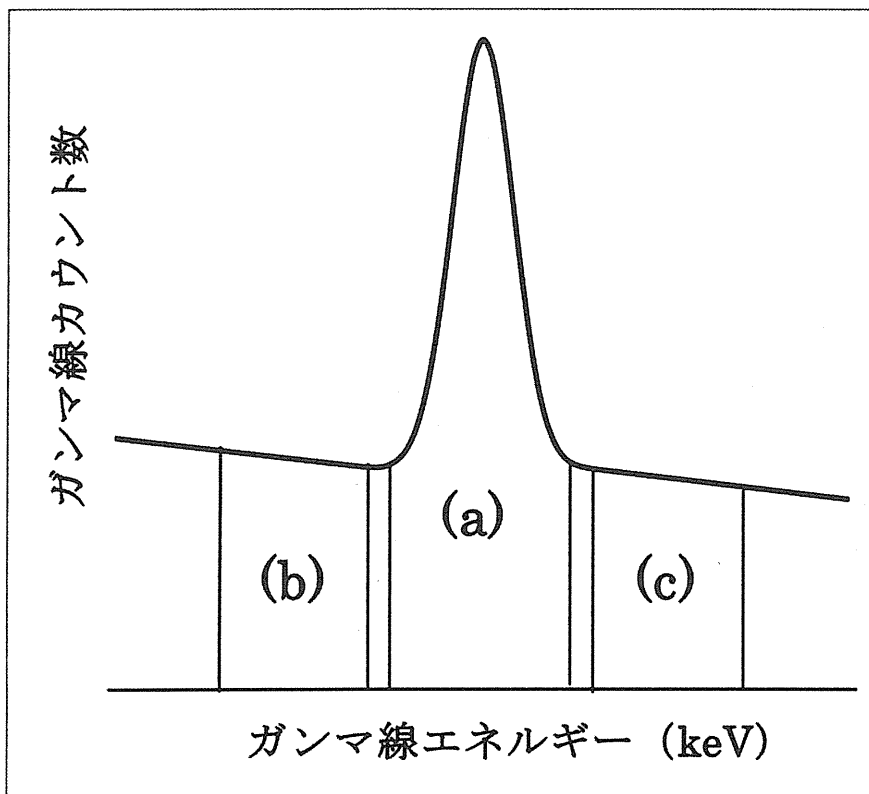


図2 ガンマ線スペクトルにおけるピーク検出

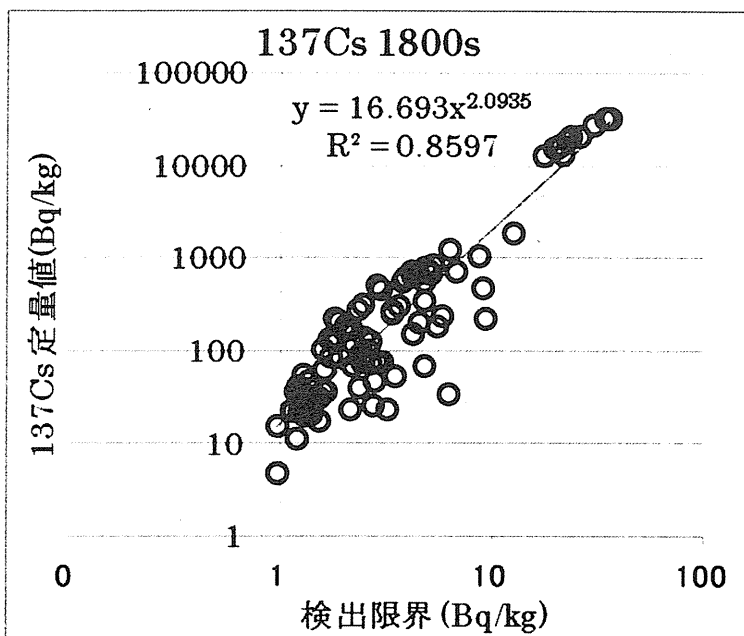


図3 Ge- γ 線測定装置における定量値と検出限界

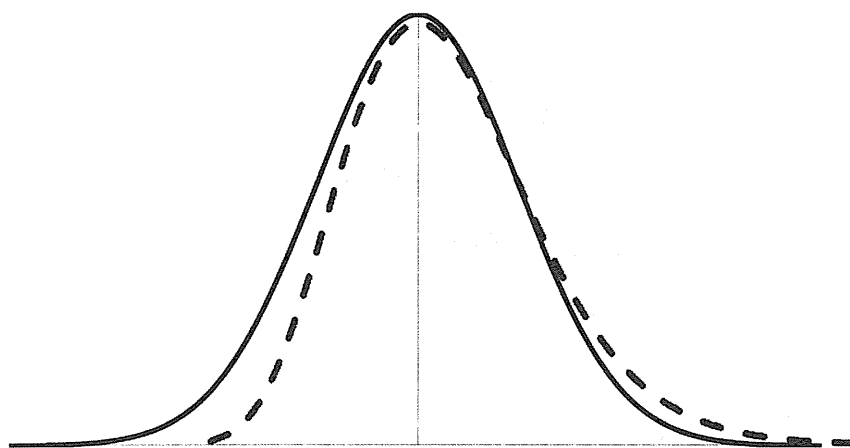


図4 正規分布（実線）とポアソン分布（破線）