

表2. 食品添加物IIにおける変動係数

年度	検査対象	基材	添加量 (g/kg)	変動係数 (従来法)	変動係数 (ロバスト法)
2002	ソルビン酸	ジャム	0.34	0.1356	
2003	サッカリンナトリウム	しょう油	0.46	0.0805	
2004	サッカリンナトリウム	シロップ	0.15	0.0570	
2005	サッカリンナトリウム	ジャム	0.06	0.0798	
2006	パラオキシ安息香酸イソプロピル	清涼飲料水	0.02	0.0627	
	パラオキシ安息香酸ブチル	清涼飲料水	0.04	0.0925	
2007	安息香酸	清涼飲料水	0.18	0.0819	
	パラオキシ安息香酸ブチル	清涼飲料水	0.02	0.0943	
2008	ソルビン酸	シロップ	0.18	0.0468	
	安息香酸	シロップ	0.06	0.0528	
2009	安息香酸	しょう油	0.12	0.0576	0.0365
2010	サッカリンナトリウム	飲料	0.08	0.0472	0.0320
2011	ソルビン酸	シロップ	0.95	0.0639	0.0305
2012	ソルビン酸	漬物	0.34	0.0590	0.0527

計算ミスも考えられる。次に、 $\bar{X}$ 管理図で平均値、中央値から大きく外れた場合は、マトリックスの種類や採用する分析操作手順の違いにより添加量に対する期待回収率基準管理線から外れる機能数が増える場合もある。一方、平均値から大きく離れた場合には、試験品の管理、試薬等の管理および試験法について内部点検を行うことを推奨する。また、一連の検査操作のばらつき状態を示す目安となるR管理図で管理限界線を越えた場合は、再現性の悪い操作で検査していることを示しているため、操作の熟練度および試験法について内部点検を行うことを推奨する。最後に、zスコアの絶対値が限界外となった場合は、上述したように、仮に各検査機関の報告値の平均値が正規分布ないしはそれに近い場合にはzスコアの絶対値が2以上である確率は全体の分布の両端約4.5%に位置することとなるため、統計的な観点から、zスコアがこの範囲に入ることもこの

程度の確率で起こりうることであり、言い換えると各参加機関の適切な内部精度管理の遵守を薦めるものである。そのため、zスコアによる評価を試験の点数と判断せず、それぞれの検査機関が信頼性確保システムを検証する目安として考えていただきたい。また、絶対値が3以上の場合にはこれに加えて試験法のバリデーションの実施も推奨する。

#### 6. おわりに

外部精度管理調査の結果は「ただ単に、ある日、ある場所で、ある人がある試料を用いて検査をして得られた結果に過ぎない」ということで、1回の結果が悪かったということが検査施設として悪いという判断にはならず、「重要なのは、その結果をどう判断し、どう活用したかである。」ことである。

厚生労働科学研究費補助金(食品の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 25 年度

研究成果の刊行物・別刷

学会発表

## B-6

### 簡易分析法による照射生レバー中 2-アルキルシクロブタノンの測定

○北川陽子<sup>1</sup>、起橋雅浩<sup>1</sup>、高取聡<sup>1</sup>、梶村計志<sup>1</sup>、尾花裕孝<sup>1</sup>、西山利正<sup>2</sup>、古田雅一<sup>3</sup>

<sup>1</sup>大阪府立公衆衛生研究所、<sup>2</sup>関西医科大学、<sup>3</sup>大阪府立大学

【目的】重篤な食中毒事件の発生を受け、平成24年7月から牛レバーの生食用としての販売・提供が禁止された。生食の安全性を確保する手段として、放射線照射による殺菌処理が考えられる。食品への放射線照射は、国内ではじゃがいもの芽止めを除いては禁止されているが、諸外国では食中毒予防やカビ毒の発生防止等を目的に放射線照射が実施されている。その照射履歴検知法として、我々はこれまで脂肪含有食品に適用されるアルキルシクロブタノン（ACB）法に着目し、簡易分析法を開発した<sup>1)</sup>。本研究ではこの分析法を用い、照射生レバー中のACBの分析を行ったので報告する。

【方法】1. 試料：市販の鶏生レバー及び牛生レバーを用いた。  
2. 試験溶液の調製：簡易分析法<sup>1)</sup>に準じ、一部を生レバーの分析用に変更した。均一化した試料5 gを乳鉢に採取し、約7~8 gの珪藻土を加え乳棒で混和した。試料をヘキサンで2回抽出した後、抽出液を濃縮した。抽出脂肪の重量を測定した後、これをヘキサン2 mLで溶解し、パスツールピペットヘシリカゲルを1 g充填して作成したカラム2本に1 mLずつ負荷し、精製を行った。カラム溶出液を濃縮し、0.1 ppm内部標準溶液0.5 mLで溶解したものを試験溶液とし、GC/MSにて分析した。内部標準法により、ドデシルシクロブタノン（2-DCB）とテトラデシルシクロブタノン（2-TCB）の試料当たり濃度を算出した。

3. 照射試料：大阪府立大学の放射線照射施設にてコバルト60線源による $\gamma$ 線を照射した。鶏生レバーには0.5、0.8、1.8、2.4および3.5 kGyの各線量、牛生レバーには3.4 kGyの線量を照射した。

【結果及び考察】1. 抽出脂肪重量：鶏生レバー5gから抽出された脂肪は、0.1~0.15 gであり、脂肪含量は約2~3%であった。同様に牛生レバー中の脂肪含量も約3~4%であった。簡易法では抽出脂肪0.2 gを採取し、脂肪当たり濃度でACBの算出を行っていたが、生レバー中の脂肪含量が低いため、ACBの算出は試料当たり濃度を用いて算出した。

2. 添加回収試験：非照射の鶏生レバー5 gに対して5 ng/gとなるように2-DCBおよび2-TCBを添加し、回収試験（試行数5）を行った。平均回収率は2-DCBが74%、2-TCBが87%であり、RSDも5%未満で良好な結果であった。

3. 照射試料中ACBの測定：全ての照射鶏生レバーから2-DCBおよび2-TCBを検出した。またACBの生成量は、照射線量に比例して増加した。同様に照射牛レバーからも2-DCBおよび2-TCBが検出された。非照射の試料からACBは検出されなかった。以上のことから、本分析法は脂肪含量の比較的低い食肉試料についても適応可能と考えられた。本研究の一部は厚生労働科学研究費補助金「検査機関の信頼性確保に関する研究」により実施した。

1) 北川、起橋他、「第103回日本食品衛生学会 学術講演会要旨集 p, 55(2012)

## B-7

### 照射試料を用いた 2-アルキルシクロブタノン測定における技能試験

○起橋雅浩<sup>1</sup>、北川陽子<sup>1</sup>、高取聡<sup>1</sup>、梶村計志<sup>1</sup>、尾花裕孝<sup>1</sup>、古田雅一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>大阪府立公衆衛生研究所

<sup>2</sup>大阪府立大学

【目的】食品への放射線照射履歴を判別する方法は、対象食品に応じて各種存在するが、我々はこれまで脂肪含有食品に適用される2-アルキルシクロブタノン法に着目し、簡易分析法を開発した<sup>1)</sup>。本研究では、この分析法を利用した場合の、食肉加工食品における照射履歴鑑別の可能性を判断する目的で、当所を含め8機関の地方衛生研究所（岩手県環境保健研究センター、愛知県衛生研究所、奈良県保健環境研究センター、堺市衛生研究所、和歌山県環境衛生研究センター、広島市衛生研究所、高知県衛生研究所）に協力を得て技能試験を実施した。

【方法】分析法は、まず試料5 gをケイソウ土と混合し、ヘキサンで2回振とうを行い、脂質を抽出した。精製は2段階とし、脂肪抽出液をアセトン/アセトニトリル混液に溶解した後に-20℃に冷却し、脂質の大半を沈殿させて除去した。さらにパスツールピペットヘシリカゲル1 gを充填して作成したカラムにより精製し、GC-MSで測定を行った。協力機関にこの分析法を提示し、技能試験を実施した。対象食品は加熱前状態のハンパバーグパテを使用し、陽性試料は大阪府立大学の放射線照射施設で照射線量を0.8 kGy、2.0 kGyとした2種を作成した。これと非照射の陰性試料の合計3種を、フードプロセッサで細切し、ミキサーで混合しつつ食用タール色素を加えて着色の上、配布用試料とした。参加機関は提示した分析法を用いて併行数5で試

験し、2-ドデシルシクロブタノン（2-DCB）及び2-テトラデシルシクロブタノン（2-TCB）の脂肪当たり濃度を定量し、照射履歴の陽性または陰性の判定を行った。

【結果】参加機関が同時に行った添加回収試験結果は、67～122%と概ね良好であった。各機関より報告された2-DCB、2-TCBの測定値については、中央値を目標値として $\bar{X}$ -R管理図により平均値と範囲を評価した。8機関中3機関が1項目以上で管理限界を超えたが、照射履歴の判定に関しては、全ての機関で適正な回答を得た。さらに照射線量に比例して2-DCB、2-TCB量も増加した。また、平均値が管理限界を超えた機関を調査した結果、標準品測定時に良好なピーク形状が得られなかったことと、夾雑物の影響を受けたことが主な原因であった。

【考察】2-DCB、2-TCB共にモニターイオンが小さく妨害を受け易いこと、一部の機関で標準品でも良好なピーク形状が得られず測定条件が合わなかったこと等の問題点は見られたが、食品照射検知を全く経験したことがない各機関が実施した試験において、誤検知が全く無い結果を得ることができたことから、今回使用した照射検知法は実用性が極めて高いと判断できた。本研究は厚生労働科学研究費補助金「検査機関の信頼性確保に関する研究」により実施した。

1)北川、起橋他、第103回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集 p.55(2012)

## 2-アルキルシクロブタノンを指標とした食品の照射履歴の簡易分析法の検討

○北川陽子<sup>1\*</sup>, 起橋雅浩<sup>1</sup>, 福井直樹<sup>1</sup>, 高取聡<sup>1</sup>

梶村計志<sup>1</sup>, 尾花裕孝<sup>1</sup>, 西山利正<sup>2</sup>, 古田雅一<sup>3</sup>

<sup>1</sup>大阪府立公衆衛生研究所, <sup>2</sup>関西医科大学, <sup>3</sup>大阪府立大学

### 【目的】

食品への放射線照射は、発芽防止や殺菌、殺虫等を目的として、諸外国で許可されている。日本国内では、発芽防止の目的でバレイショへの照射が許可されているが、これ以外に食品への照射は認められていない。現在、厚生労働省から通知されている照射履歴の検知法には、熱ルミネッセンス法、2-アルキルシクロブタノン法(ACBs法)、電子スピン共鳴法がある。このうち、ACBs法は、脂肪を含む食品に適用可能な方法であり、放射線照射により、脂肪からラジカル反応を介して特異的に生成するACBsを測定する方法である。測定対象とするACBsには、パルミチン酸およびステアリン酸が放射線照射を受けた際に生成する2-ドデシルシクロブタノン(DCB)および2-テトラデシルシクロブタノン(TCB)が選定されている。これらの物質は、通常環境中には存在しないため、検知指標として非常に有用である。現在、厚生労働省より通知されている方法は、抽出にソックスレー抽出法、精製にオープンカラムを使用する方法であるため、6検体の前処理に約2日必要である。さらに溶媒の使用量も多く、カラムの活性化等も煩雑な方法であることから、多検体を測定する方法としては課題が多い。

本研究では、多検体の同時処理が可能であり、かつ簡易で迅速な分析法を考案し、様々な脂肪を含む食品において本簡易分析法が適用可能かどうかを調べた。

### 【方法】

#### 1) 分析法

試料5gを等量の珪藻土と乳鉢上でよく混和し、*n*-ヘキサン30mLおよび20mLを用いて2回振とう抽出を行った。抽出液を濃縮し、試料中の脂肪重量の測定を行った。抽出脂肪のうち、0.2gをガラス製試験管に採取し、アセトン2.5mL、次いでアセトニトリル0.5mLを加えよく混和した。これを-20℃で30分間冷却し、脂肪を析出させた。遠心後、有機層を別の試験管に採取し、窒素気流下にて濃縮した。残留物を*n*-ヘキサン2mLで溶解し、シリカゲルカラムで精製した。カラム溶出液を濃縮後0.1ppmの内部標準溶液(2-シクロヘキシルシクロヘキサノン)0.2mLで定容したものを試験溶液とし、GC-MSで測定を行った。

#### 2) 添加回収試験

試料は非照射の牛肉、豚肉、パルメザンチーズ、鶏唐揚げ、ハンバーグ、餃子および牛丼を用いた。各々の試料から抽出した脂肪0.2gに対してDCBおよびTCBを各々10ng添加し、回収率を算出した(添加濃度50ppb)。

### 3) 照射試料の分析

試料は添加回収試験と同様に牛肉、豚肉、パルメザンチーズ、鶏唐揚げ、ハンバーグ、餃子および牛井を用いた。これら試料に<sup>60</sup>Coを線源としたガンマ線を冷凍条件下で照射（1.0 kGy および 2.6 kGy）し、照射食品を調製した。照射食品中の ACBs を本分析法により測定した。

表1 添加回収試験結果

食品	DCB		TCB	
	平均回収率	RSD	平均回収率	RSD
牛肉	84	2	70	5
豚肉	78	4	77	2
パルメザンチーズ	67	12	73	5
鶏唐揚げ	81	3	86	3
ハンバーグ	74	4	76	2
餃子	88	5	86	2
牛井	72	7	71	7

(n=3)

#### 【結果】

簡易分析法は、*n*-ヘキサンを用いて振とう抽出、アセトンおよびアセトニトリル転溶後の冷却による脱脂、シリカゲルカラムによる精製から構成した。本分析法を用いて、非照射の試料からそれぞれ抽出した脂肪に ACBs を添加し、回収試験を行った結果、DCB および TCB の平均回収率はそれぞれ 67~88%、70~86%であった。また RSD もパルメザンチーズの DCB を除いて 10%以下となり良好であった（表 1）。

照射食品中の ACBs を分析した結果、全ての照射食品から DCB および TCB が検出され、その生成量は照射線量に依存していた。非照射食品から DCB および TCB は検出されなかった。分析結果の一例として、ハンバーグのクロマトグラムを図 1 に示した。DCB および TCB のピーク近辺に妨害ピークは認められず、良好なクロマトグラムであった。

本分析法を用いて 6 検体を前処理するのに必要な時間は約 8 時間であり、前処理に約 2 日を要する通知法と比較して迅速な方法であった。また、溶媒の使用量も少なく、特殊な装置も使用しない汎用性の高い方法であった。

今後は、本簡易分析法を用いて、牛レバーへの適用の可否について検討を行っていく予定である。

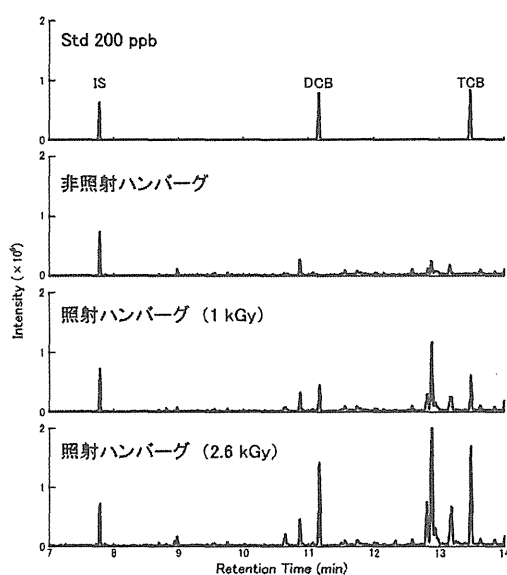


図1 ハンバーグのマス کروマトグラム例 (m/z 98)

連絡先： ykkitaga@iph.pref.osaka.jp

## ELISA および GC/MS 法によるビール中に残留する

### デオキシニバレノール分析法の検討

○高橋拓海<sup>1</sup>, 岩崎雄介<sup>1</sup>, 伊藤里恵<sup>1</sup>, 斉藤貢一<sup>1</sup> (星薬大)

【目的】デオキシニバレノール (DON) は、食欲減退、嘔吐、下痢など消化器系への障害が知られるカビ毒である。本研究では DON の汚染対象である穀類を主原料とするビールを試料として選択し、前処理法を検討することにより、市販 ELISA キットのスクリーニング法としての実用性について検証した。更に、ELISA と GC/MS 法を併用することにより、定性能力を高めると共に、定量値の信頼性確保の評価を行った。

【方法】ハイフロスーパーセルおよび MycoSep#227 を用いて抽出・精製し、ELISA 用の試験溶液とした。GC/MS 法で測定する際には、トリメチルシリル化を行った。

【結果および考察】ビールの前処理法を検討することで、スクリーニング法としての ELISA の有用性が確認された。更に、GC/MS 法を併用することで高感度且つ高精度な定性・定量性が確保され、信頼性の高い評価が可能となり、食品衛生分野における活用が期待される。

日本の動物用医薬品の法制度と求められる安全対策  
The Japanese Regulation on Residual Veterinary Drugs and Feed Additives in  
Foodstuffs

公益社団法人 日本食品衛生協会 食品衛生研究所 村山三徳

食品に残留する動物用医薬品および飼料添加物に対する規制は、食の安全への要求の高まりと、分析技術の進歩を受けて、1990年以降急速に拡充されてきた。1960年代に原則無残留規制が施かれて以降、毒性評価結果から残留基準を設定する体制に移行し、さらにはいわゆるポジティブリスト制へ移行してきた。

食品に残留する動物用医薬品および飼料添加物に対する規制のあるべき姿を探る。

#### 規格基準の歴史

太平洋戦争終結後の食糧事情の悪化をうけ、粗悪食品による食中毒多発に対処するべく、日本国憲法施行から7ヶ月を経た1947年12月24日に食品衛生法(昭和22年法律第233号)が制定された。1959年12月28日には、随時発出されてきた規格をまとめて、食品、添加物等の規格基準(厚生省告示第370号)が制定された。その後も規格基準は随時改定、追加され、2003年にいわゆる農薬等のポジティブリスト制の導入を経て現在に至る。

動物用医薬品および飼料添加物については、抗生物質および合成抗菌剤の乱用による人の健康への危害防止、耐性菌の出現抑制のために、食品、添加物等の規格基準(厚生省告示第370号)において、食品は抗生物質を含有してはならないこと、加えて畜水産食品は合成抗菌剤を含有してはならないことが規定された。個別の動物用医薬品等については、随時試験法が通知され、試験法の検出限界を超えて検出されてはならない、すなわち原則として無残留規制がしかれたが、食品、添加物等の規格基準(厚生省告示第370号)には収載されなかった。試験法としては当初はマイクロバイオアッセイが示されていたが、寄生虫用剤等の微生物の感受性が低い化合物を対象とする必要性から、理化学的試験も取り入れられるようになっていった。1990年までに31種類の抗生物質に対してマイクロバイオアッセイ、35種類の抗生物質以外の動物用医薬品等に対してガスクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー等による理化学的試験法が示された。1990年には厚生省による輸入畜水産食品中の残留有害物質モニタリングが開始され、1991年に横浜および神戸検疫所に輸入食品・検疫検査センターが設置されて、輸入食品の残留有害物質モニタリング体制が確立した一方で、規制の国際協調が強く要求されるようになり、国際食品規格(CODEX)に従い、1995年にオキシテトラサイクリン、イベルメクチン、クロサンテル、フルベンダゾール、ゼラノール、トレンボロンについて食品、添加物等の規格基準(厚生省告示第370号)に、オキシテトラサイクリンが乳及び乳製品の成分規格等に関する省令(昭和26年12月27日厚生省令第52号)に残留基準値および試験法が規定された。同時に薬事・食品衛生審議会において科学的毒性試験結果を基に一日摂取許容量(ADI: Acceptable Daily Intake(mg/kg 体重/日)、一生涯に渡って毎日摂取し続けたとしても、危



害を及ぼさないと見なせる体重 1kg 当たり一日許容摂取量)を設定し、ADI を超えないように残留基準値を設定する体制が確立された。しかし、個別動物用医薬品等の試験法通知は廃止されず、残留基準値が設定されていない動物用医薬品等についての無残留規制は維持された。その後、2003 年のポジティブリスト制導入までに 34 化合物に対して残留基準値および試験法が規定された。

#### 現在の規制

現行規制はリスクマネジメントの手法を取り入れている。科学的根拠に基づきリスクを評価し、関係行政機関が連携してリスクを管理し、関係行政機関、民間機関、事業者および消費者相互のリスクコミュニケーションによってよりよい体制を構築し、リスクを減らそうとしている。関係行政機関は、より多くの情報を公開し、施策決定をする際には、パブリックコメントにより広く意見聴取を行っているほか、随時フォーラム、ワークショップ、説明会等を開催して情報の周知、民間からの意見聴取に努めている。

#### 1. 登録制度

動物用医薬品の製造、輸入販売は、薬事法(昭和 35 年 8 月 10 日法律第 145 号)により、農林水産大臣の許可を受けた者のみに認められている。登録制度の代表的な流れの例を示す。

農林水産大臣の許可を得るには、農林水産大臣に登録申請を行う。申請を受けた農林水産大臣は厚生労働大臣に残留基準値設定を依頼する。厚生労働大臣は食品安全委員会に毒性評価を依頼する。食品安全委員会は動物用医薬品専門調査会または肥料・飼料等専門調査会において、科学的毒性試験結果を基に ADI を設定し厚生労働大臣に通知する。厚生労働大臣は薬事・食品衛生審議会に残留基準等食品規格の設定について諮問し、薬事・食品衛生審議会は ADI を超えないように残留基準値を設定する。農林水産大臣は薬事・食品衛生審議会動物用医薬品等部会に承認の妥当性について諮問し、動物用医薬品等部会は有効性、副作用、環境影響、残留性、抗生物質および合成抗菌剤にあっては耐性菌出現等を総合的に評価して承認の妥当性を判断する。承認がなされる際には、残留基準値を超えないように用法・用量、使用禁止期間(休薬期間)等が設定され、動物用医薬品にあっては動物用医薬品の使用の規制に関する省令(昭和 55 年 9 月 30 日農林水産省令第 42 号)、飼料添加物にあっては飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令(昭和 51 年 7 月 24 日農林省令第 35 号)に登録される。

#### 2. 残留規制

平成 15 年に導入されたポジティブリスト制度は、使用される可能性のある農薬、動物用医薬品、飼料添加物全てに残留基準を設定する制度である。食品は、残留基準が定められている場合を除き、抗生物質および合成抗菌剤を含有してはならないとする他、ポジティブリストには 280 種類の動物用医薬品等がリストアップされている。その内訳は、不検出基準が適用される動物用医薬品等が 13 種類、リスク評価が終了して残留基準値が設定されているもの 40 種類、残りは過去の基準または日本と同等の手法でリスク評価された結果から定められた諸外国の基準を適用した暫定基準である。

### 3. 残留監視体制

日本国内の食品の残留有害物質監視は、厚生労働省、農林水産省の指導の下、地方自治体が実務を担当している。地方衛生研究所、食肉衛生検査所、保健所等が収去、検査にあたり、違反事例には行政措置を行う。監視状況の公表は自治体ごとに異なり、全国規模での状況を把握することは難しい状況である。ちなみに東京都から公表されている2008年度の監視状況では、総検査品目数70,871(国産48,107,輸入22,764)、違反品目数66(国産36,輸入30)であり、後述する厚生労働省検査所調べによる輸入食品の違反率と比較して1/5~8程度になっている。

輸入食品にあつては、厚生労働省検査所が監視指導している。検査所では輸入食品の5%以上を検査対象とするように監視指導計画を策定し、モニタリング検査を実施している。違反事例が認められると、検査件数割合を引き上げて対応し、違反頻度が高い場合には全品検査、違反の及ばず影響が重篤であると判断される場合には、関係行政機関長の協議および薬事・食品衛生審議会の意見を受けて、包括的な輸入・販売禁止措置を執ることができる。

厚生労働省が公表している監視指導結果の概要を表1、2にまとめた。2004年度から2011年度まで、輸入食品届出件数は176~210万件、輸入重量は3,060~3,340万トンで緩やかな増減はあるが、違反件数は1,014~1,559件、動物用医薬品等の違反件数は54~246件と増減が大きい。これは、2003年に発出されたポジティブリスト制度が2006年5月に施行されたため、従来から違反が多いサルファ剤、テトラサイクリン系抗生物質等に加えて、不検出基準が適用されたクロラムフェニコール、ニトロフラン類、マラカイトグリーン等の違反事例が追加されたためである。

表1 輸入食品届出・検査・違反状況

年度	届出件数 (件)	輸入重量 (千トン)	検査件数 (件)	検査件数 (%)	違反件数 (件)	違反件数 (%)
2004	1,808,830	32,018	187,553	10.4	1,017	0.056
2005	1,871,173	31,825	190,959	10.2	1,014	0.054
2006	1,845,995	31,555	203,001	11.0	1,515	0.082
2007	1,797,086	32,261	198,542	11.0	1,150	0.064
2008	1,759,123	31,551	193,917	11.0	1,150	0.065
2009	1,821,269	30,605	231,638	12.7	1,559	0.086
2010	2,001,020	31,802	247,047	12.3	1,376	0.069
2011	2,096,127	33,407	231,776	11.1	1,257	0.060

表2 輸入食品検査・項目別違反状況

年度	違反 件数 (件)	微生物規格 違反件数 (件) / (%)	食品添加物 違反件数 (件) / (%)	残留農薬 違反件数 (件) / (%)	有害・有毒 物質 違反件数 (件) / (%)	動物用 医薬品等 違反件数 (件) / (%)
2004	1,017		364 / 35.8	76 / 7.5		72 / 7.1
2005	1,014	346 / 34.1	334 / 32.9	57 / 5.6	179 / 17.7	54 / 5.3
2006	1,515	297 / 19.6	263 / 17.4	455 / 30.0	242 / 16.0	246 / 16.2
2007	1,150	296 / 25.7	160 / 13.9	265 / 23.0	194 / 16.9	158 / 13.7
2008	1,150	260 / 22.6	142 / 12.3	359 / 31.2	181 / 15.7	115 / 10.0
2009	1,559	273 / 17.5	188 / 12.1	309 / 19.8	146 / 9.4	105 / 6.7
2010	1,376	289 / 21.0	199 / 14.5	272 / 19.8	186 / 13.5	76 / 5.5
2011	1,257	230 / 17.6	208 / 15.9	226 / 17.3	225 / 17.2	133 / 10.2

#### 今後の課題

第一にあげられる問題点は、リスク評価に時間を要することである。300種類近い動物用医薬品等に対して、毒性が評価されてADIおよび残留基準値が設定されているのは53種類である。さらに毒性未評価の動物用医薬品等は、評価するためのデータが整えられていない場合があり、暫定基準のまま取り残される可能性が高い。科学的根拠に基づいた規制を支えるために、リスク評価は欠かせない。

第二にリスク管理のあり方について、関係行政機関の連携不足が指摘される。特に、国内監視体制が地方自治体に依るところが大きいと、情報の共有が困難となっている。また、輸入食品検査においては厚生労働省指導により、国際的な評価に耐えうる水準の検査体制を保持しているが、国内監視体制における検査水準は明確ではない。

第三にリスクコミュニケーションの不足による、不安の拡大、フードファディズムの発生がある。正確な情報が伝わらないために、風評被害を生んだり、特定の食材の摂食を避けるあまりにバランスを欠いた食生活を招くおそれがある。関係行政機関は情報を発信する際には、一部の専門家でなければ理解できないような内容ではなく、一般の消費者が納得できるような内容にするべく細心の注意を払うべきである。また、民間からの意見聴取においても、現状では食の安全に興味を持つ人の意見だけが採り上げられる傾向があるが、より広くコミュニケーションを図ってこそ、リスクマネジメントの有効性が上がる。

#### まとめ

規制は変化する社会情勢にあわせて柔軟性が高くなければならない。リスクマネジメントシステムは、PDCAサイクル（計画・実施・評価・改善を繰り返すシステム）を経て完成度を高めていく必要があり、活発なリスクコミュニケーションと、規制のあり方についての再評価を繰り返して、より実効性の高い規制の構築を目指すべきである。

## 農薬が残留した大豆粉末を試験試料とした技能試験

○ 鎗田 孝、青柳 嘉枝、大竹 貴光、沼田 雅彦、高津 章子  
( 産業技術総合研究所 計量標準総合センター )

### 1. はじめに

客観的に信頼される残留農薬分析を行うためには、妥当性が確認された分析法の適用や内部精度管理に加えて、技能試験などによる外部精度管理が欠かせない。現在、国内外のプロバイダーによって残留農薬分析の技能試験が定期的に行われており、多くの検査機関が参加している。しかし、ほとんどの場合、野菜ピュールなどに分析対象物質（農薬）を添加して調製した試験試料が用いられているため、特に抽出過程において、分析対象物質が実分析試料とは異なる挙動を示す懸念がある。

一方、産業技術総合研究所計量標準総合センター（NMIJ）では、残留農薬分析用の認証標準物質（CRM）を開発している。CRMの形状や物理的及び化学的性質は、実分析試料にできるだけ類似していることが望ましい。そこで、値付けの対象農薬が適当量残留するように過剰の薬剤を散布した農産物を栽培し、これを原料に用いてCRMの候補品（認証値を決定する前のCRM）を調製している。

このようにして調製したCRMの候補品は、技能試験の試験試料としても有用であると考えられる。そこで、昨年度、当時開発中であった大豆CRM（NMIJ CRM 7509-a）の候補品を試験試料とした技能試験を主催した。この候補品にはダイアジノン、フェントロチオン、クロルピリホス及びペルメトリンが残留しており、技能試験ではこれらのすべてを試験項目とした。技能試験には43機関が参加し、このうち40機関が分析結果を提出した。報告された分析結果は、これらを統計処理して算出した付与値を基にZスコアで評価した。また、我々もCRMの値付け分析法によって分析し、その結果によっても評価した。

### 2. 試験試料

#### 2.1. 調製

ダイアジノン、フェントロチオン、クロルピリホス及びペルメトリンが適当量残留するように栽培した大豆（品種：エンレイ）を脱粒後、凍結粉砕した。得られた粉末をロックミキサーによって混合し、瓶詰め（10g入）した。これをγ線照射によって滅菌して調製したCRMの候補品を、技能試験の試験試料とした。技能試験の参加機関には、試験試料2本を送付した。

#### 2.2. 均質性の評価

調製した208本の瓶から無作為に抜き取った10本について、各瓶内の異なる2部位をサンプリングし、各々に含有する農薬を分析した。分析には、分析対象物質の安定同位体置換農薬（ $d_0$ -クロルピリホス、 $d_0$ -ダイアジノン、 $d_6$ -フェントロチオン及び $d_6$ -*trans*-ペルメトリン）を内標準とした同位体希釈質量分析法（IDMS）を適用した。また、試料の前処理は、アセトンによる抽出→抽出液を5%食塩水/ヘキサン分配→ヘキサン層をヘキサン/アセトニトリル分配→アセトニトリル層を濃縮後に固相抽出（カートリッジ：フロリジル

→グラファイトカーボン)とした。

得られた分析結果を分散分析した結果、すべての農薬について瓶間のばらつきは有意ではなかった ( $p < 0.05$ )。CRMに関する国際基準である ISO Guide 35<sup>1)</sup>に従って求めた均質性に関する不確かさは4%以下であり、試験試料は良好な均質性を有することが確認された。

### 2.3. 安定性の評価

参加機関による試験期間(2012年5~7月)の前後に試料を分析し、試験試料の安定性を評価した。適用した分析方法は5.1で記述する分析法1であり、また、試験試料の保管条件は、参加機関に対して指示した保管条件(20°C~30°C程度)とした。試験期間前の分析結果を1として、試験期間後の分析結果を比較した結果を図1に示す。各農薬の濃度に有意な変化は見られず、指示した保管条件において試験試料が安定であったことが確認された。

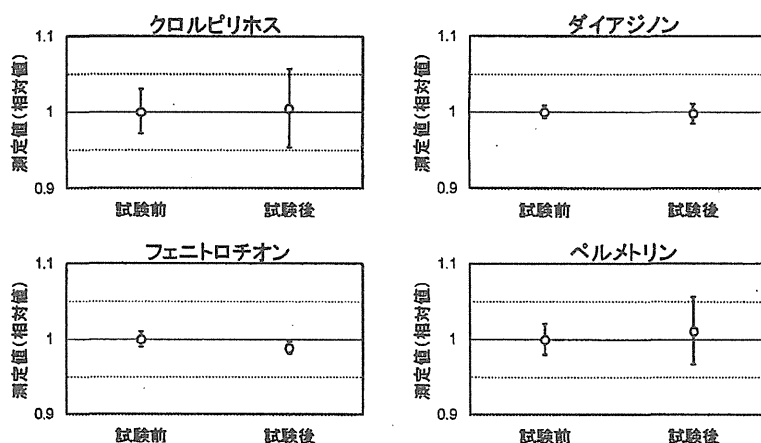


図1 技能試験の試験期間前後の農薬濃度の分析結果  
(エラーバーは標準偏差を示す)

### 3. 参加機関とその分析法

分析結果を報告した参加機関の内訳は、受託検査機関:12機関、食品メーカー:9機関、農林水産関連業種:8機関、大学・公的研究機関:4機関、その他(分析メーカー等):7機関であった。

本技能試験では、参加機関に対して、各機関が採用した分析方法(測定機器の校正に用いた標準液、抽出・精製法、測定法)についての報告を求めた。それによると、抽出・精製法としては、全体の約半数である22機関が、厚生労働省通知である食安発第0124001号(通知法)の「GC/MSによる農薬等の一斉試験法」<sup>2)</sup>の一斉試験法またはそれに準拠した方法を採用していた。これに対して、アセトンを用いた抽出法を採用したのは4機関であった。また、比較的迅速な抽出・精製法と考えられるQuEChERS法やSTQ法を適用したのが7機関、同じく超臨界流体抽出法(SFE)を適用したのが4機関あった(その他:

3 機関)。一方、測定法については、26 機関が GC/MS を適用していたが、GC/MS/MS を適用した機関も 11 機関（分析対象物質に応じて GC/MS と使い分けた機関を含む）あった（その他：3 機関）。測定においては、マトリックスマッチングを行わずに標準液を測定した機関が 15 機関あったのに対し、ブランク大豆の抽出物によるマトリックスマッチングを行った機関が 12 機関、PEG によるマトリックスマッチングを行った機関が 11 機関あった（その他・不明：各 1 機関）。参加機関のほとんど（33 機関）は、抽出・精製過程などにおける回収率の補正を行わずに分析結果を報告したが、SFE 法を適用した 3 機関を含む 7 機関では、回収率を補正した分析結果を報告した。

#### 4. 参加機関の分析結果とその評価

##### 4.1. 付与値の算出

参加機関から提出された分析結果のヒストグラムを図 2 に示す。分析結果の分布に特異的な偏りは見られなかった。

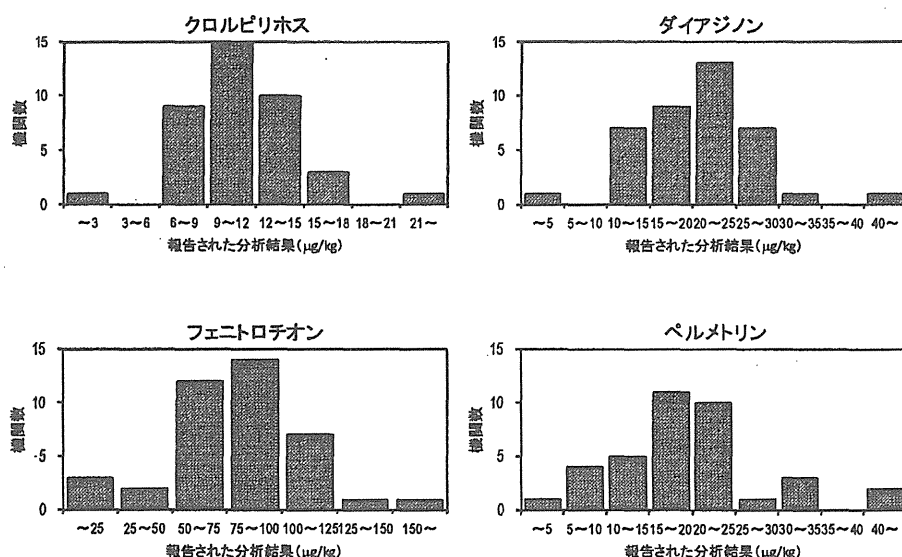


図 2 報告された分析結果のヒストグラム

分析結果の評価はロバスト法<sup>3)</sup>によって行った。まず、参加機関の分析結果から、明らかに単位の換算間違いと考えられる 1 機関の結果を除外した後、さらに外れ値検定 (Cochran 検定と Grubbs 検定) を行い、クロルピリホスについて 1 機関、ダイアジノンについて 1 機関、ペルメトリンについて 2 機関の結果を棄却した。次に、棄却されなかった有効データからメジアンを算出し、本技能試験の付与値とした。さらに、第 3 四分位数 (3/4 分位) と第 1 四分位数 (1/4 分位) の差から、正規四分位数範囲 (NIQR) を算出した。その結果を表 1 にまとめる。

表1 付与値の算出のまとめ

農薬	順位統計量 (μg/kg)			
	1/4 分位	メジアン (付与値)	3/4 分位	NIQR
クロルピリホス	8.9	10.0	12.9	2.9
ダイアジノン	16.0	20.3	24.1	6.0
フェントロチオン	69.5	80.7	98.3	21.3
ペルメトリン	14.5	18.1	22.5	6.0

NIQRは、3/4 分位 1/4 分位の差に正規化係数 0.7413 を乗じて算出

#### 4.2. 参加機関の分析結果の評価

次の式に従って  $z$  スコアを算出した。

$$z = (x_i - X) / NIQR \quad (1)$$

ここで、 $z$  :  $z$  スコア、 $x_i$  : 参加各機関の分析結果、 $X$  : 付与値 (参加機関の分析結果 (有効データ) のメジアン)、 $NIQR$  : 参加機関の分析結果 (有効データ) の正規四分位数範囲、である。

各参加機関の  $z$  スコアの分布を図 3 に示す。一般に、参加機関の分析結果は、 $z$  スコアに応じて次の通りに評価される。

$$\begin{aligned}
 |z| \leq 2.0 & : && \text{“満足”なパフォーマンス} \\
 2.0 < |z| < 3.0 & : && \text{“疑わしい”パフォーマンス} \\
 3.0 \leq |z| & : && \text{“不満足な”パフォーマンス}
 \end{aligned} \quad (2)$$

この評価基準に基づいて分類した参加機関数を、農薬毎に表 2 にまとめる。各農薬について、全体の 8 割以上の機関では  $|z|$  は 2.0 以下であり“満足な”パフォーマンスと評価されたが、 $|z|$  が 3.0 以上の機関も 2 ないし 3 機関あった。これらの機関には、自所の分析法や操作を見直すことが求められる。

表 2 参加機関の  $z$  スコア

農薬	報告数	$ z  \leq 2.0$	$2.0 <  z  < 3.0$	$3.0 \leq  z $
クロルピリホス	39	34	3	2
ダイアジノン	39	37	0	2
フェントロチオン	40	35	3	2
ペルメトリン	37	31	3	3

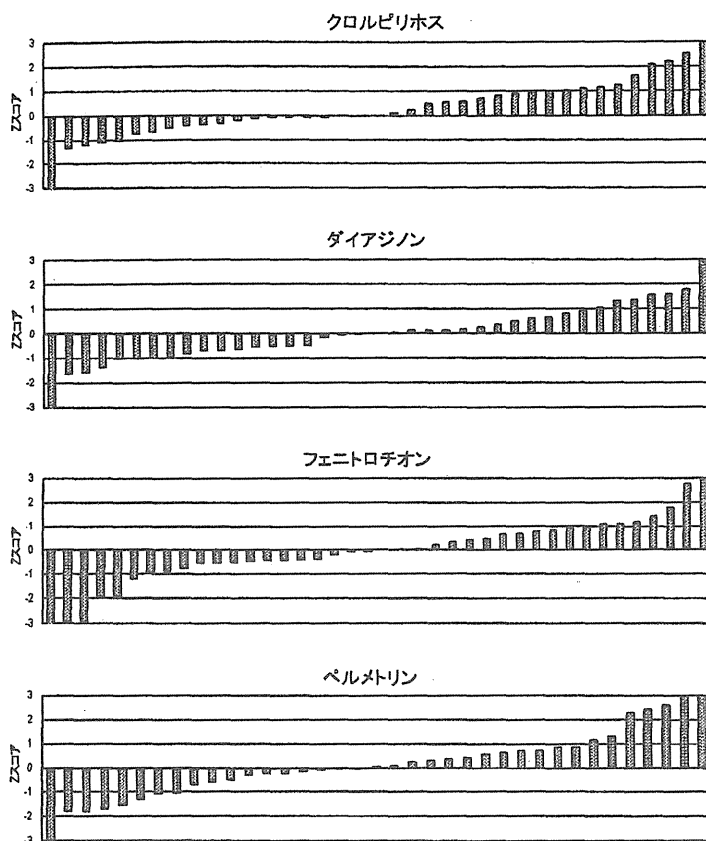


図3 Zスコアの分布

#### 4.3. 参加機関の分析結果のばらつきの評価

技能試験における各参加機関の結果のばらつきは、参加した機関の技量や参加機関が適用した分析方法に依存する。そこで、本技能試験における参加機関の結果のばらつきの程度を、以下のように評価した。

食品試料を対象とした化学分析では、分析対象成分の濃度が低くなるほど、参加機関の結果のばらつきが大きくことが知られている。そして、その度合いは、分析対象成分の種類や適用した分析方法とは関係なく、Horwitz の修正式<sup>4)</sup>によって与えられる。Horwitz の修正式は、技能試験における室間再現相対標準偏差 ( $RSD_R$ ) と分析対象物質の濃度 ( $C$ ) との関係を示した経験式であり、次式によって与えられる。

$$RSD_R (\%) = \begin{cases} 22 & (C < 1.2 \times 10^{-7}) \\ 2 C^{-0.1505} & (1.2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0.138) \\ C^{-0.5} & (0.138 < C) \end{cases} \quad (3)$$



本技能試験の試験試料中の各農薬の濃度は120 µg/kg以下であるため(表1)、 $RSD_R$ は22%と算出される。一方、本技能試験における、参加機関の実際の室間ばらつきは、表1に示す  $NIQR$  で与えられている。そこで、 $RSD_R$  に対する参加機関の実際の室間ばらつき (=  $NIQR$ ) の比である HorRat 値を求めたところ、4種類の農薬について1.20~1.50であった。HorRat は技能試験そのものの妥当性を評価するパラメータとして用いられており、例えば AOAC Int.では0.5~2 が許容範囲とされている。すなわち、本技能試験における参加機関の結果のばらつきは、通常の商品分析における技能試験のばらつきと比較して妥当な範囲であった。

## 5. 当所の分析結果

### 5.1. 分析方法と結果

我々は残留農薬分析用の CRM を開発しており、その値付け分析には一次標準測定法(国際単位系(SI)への計量計測トレーサビリティを原理的に確保しうる分析法)の一つである IDMS を適用している<sup>9)</sup>。そこで、GC/MS による IDMS によって本試験試料を分析した。安定同位体置換農薬としては、 $d_{10}$ -クロルピリホス、 $d_{10}$ -ダイアジノン、 $d_6$ -フェントロチオン、 $^{13}C_6$ -*cis*-ペルメトリン及び  $^{13}C_6$ -*trans*-ペルメトリンを使用した。また、試料の前処理法は、「GC/MS による農薬等の一斉試験法」<sup>10)</sup>の一斉試験法[分析法1とする]または個別試験法[有機リン系を対象としたものを分析法2、ペルメトリンを対象としたものを分析法3とする]をベースとしており、あらかじめ大豆ブランク試料等を用いてその妥当性を確認した。分析法の概略を図4に示す。

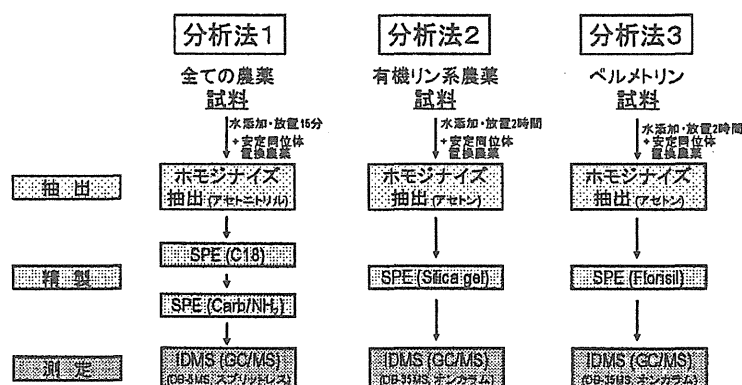


図4 当所の分析方法の概略

分析法1~3によって得られた農薬濃度を図5に示す。図中のエラーバーは、分析の再現性に関する拡張不確かさを示している。農薬毎に2種類の分析法を適用したが、得られた結果はいずれも不確かさの範囲で一致していた。

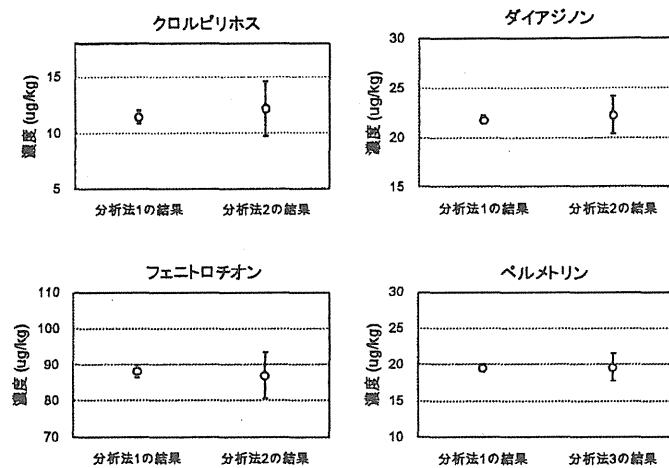


図5 当所の分析結果  
(エラーバーは分析の再現性に関する拡張不確かさを示す。)

そこで、各分析法に関する不確かさの逆数を“重み”とした平均値を、当所の分析値とした。また、抽出や GC/MS 測定の再現性や校正用標準液に関する不確かさ、試験試料の均質性に関する不確かさ、試験試料の安定性に関する不確かさを合成して、当所の分析値の拡張不確かさを算出した (表 3)。これらの値は、CRM の認証値とその不確かさに相当するものである。当所の分析値は、参加機関の分析結果を用いて決定した付与値と比較して 7~16 %高かった。IDMS では、分析対象物質の安定同位体置換物質を内標準として分析試料に添加した後、分析操作を行う。そのため、各分析過程においては、分析対象成分と安定同位体置換物質は同じ挙動をとるため、分析対象成分の損失 (回収率の低下) が補正された分析値が得られる。以上のことが、IDMS による分析値が付与値よりも高くなった原因の一つと考えられた。

表 3 当所の分析結果

農薬	分析値 (μg/kg)	拡張不確かさ (μg/kg)
クロルピリホス	11.6	1.6
ダイアジノン	21.8	1.4
フェニトロチオン	87.9	11.6
ペルメトリン	19.9	4.0

## 5.2. 当所の分析結果による参加機関の分析結果の評価

ISO/IEC 17043 では、CRM の認証値など絶対的な測定法による参照値の方が、参加機関の分析値から算出した参照値よりも不確かさが小さくなるとしている。そこで、表 2 に示した分析値を用いて参加機関の分析結果を試験的に評価し、次式から得られる zスコアを参考情報として提供した。

$$z = (x_i - X_{NMIJ}) / SD_R \quad (4)$$

ここで、 $z$  :  $z$ スコア、 $x_i$  : 参加各機関の分析結果、 $X_{NMIJ}$  : 当所 (NMIJ) の分析値、 $SD_R$  : Horwitz の修正式から求めた室間再現標準偏差 (今回の対象農薬では、当所の分析値の 22 %) である。

参加機関の  $z$ スコアを農薬毎に表 4 にまとめる。表 2 が参加機関全体の分析結果における相対的なスコアを示しているのに対して、表 4 では、低めの分析値を報告した機関の  $z$ スコアは相対的に大きくなり、高めの分析値を報告した機関の  $z$ スコアは小さくなった。

表 4 当所の分析結果を用いて算出した参加機関の  $z$ スコア

農薬	報告数	$ z  \leq 2.0$	$2.0 <  z  < 3.0$	$3.0 \leq  z $
クロルピリホス	39	35	2	2
ダイアジノン	39	34	3	2
フェニトロチオン	40	33	3	4
ペルメトリン	37	26	7	4

## 6. まとめ

農薬が残留した大豆から調製した試験試料を用いた技能試験を主催した。参加機関の報告値から付与値を算出し、各機関の分析結果を  $z$ スコアによって評価した。一方、当所でも、標準物質の値付け分析法である IDMS を用いて試験試料を分析したところ、得られた分析値は付与値よりも 7~16 %高かった。さらに、この分析値によっても、参加機関の分析結果を試験的に評価した。各参加機関には、評価方法の特徴に留意した上で、自所の技能を評価することが望まれる。

## 謝辞

試験試料の調製と均質性の評価試験にご協力いただいた株式会社環境総合テクノスと一般財団法人日本食品分析センターに感謝する。また、本技能試験にご参加いただいた全参加機関、ならびに、ご協力いただいた方々に感謝する。

## 文献

- 1) ISO Guide 35: Reference materials-General and statistical principles for certification, ISO, 2006.
- 2) GC/MS による農薬等の一斉試験法 (農産物), 平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号厚生労働省医薬食品局食品安全全部長通知 別添, 2005.
- 3) ISO/IEC 17043: Conformity assessment-General requirements for proficiency testing, ISO, 2010.
- 4) M. Thompson and R. Wood, *Pure. Appl. Chem.*, 65, 2123-2144, 1993.
- 5) 例えば T. Otake et al., *Food Chem.*, 138, 1243-1249, 2013.

## 残留農薬分析用大豆粉末標準物質の開発

○ 鎗田孝<sup>1</sup>、大竹貴光<sup>1</sup>、青柳嘉枝<sup>1</sup>、黒田陽子<sup>1</sup>、沼田雅彦<sup>1</sup>、  
 岩田仁<sup>2</sup>、渡井正俊<sup>2</sup>、光田均<sup>3</sup>、藤川敬<sup>3</sup>、太田秀和<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>(独)産業技術総合研究所計量標準総合センター、  
<sup>2</sup>(一財)日本食品分析センター、<sup>3</sup>(株)環境総合テクノス

【目的】食品中の残留農薬分析の信頼性を確保するためには、分析法バリデーションや内部精度管理が不可欠である。その手段の一つとして、分析試料と類似した組成をもつ標準物質の利用が有効であることから、我々は農薬濃度を認証した農産物標準物質の開発に取り組んでいる。今回その一環として、大豆粉末標準物質(NMIJ CRM 7509-a)を開発した。

【方法】標準物質の調製：表記載の農薬を適量残留するように散布して大豆を栽培した。これを凍結粉砕、混合、瓶詰め(各10g、208本)、 $\gamma$ 線照射して標準物質を調製した。均質性評価：調製した標準物質から層別後に無作為に選んだ10本を分析した。得られた結果を分散分析して、農薬濃度の瓶間不均質性を評価した。安定性評価：約-80℃に保管中の標準物質を約1年間定期的に分析し、農薬濃度の経時変化を評価した。値付け分析：厚生省通知試験法の一斉試験法(GC/MS法)と個別試験法2法に、対象農薬の $d_4$ 又は $^{13}C$ -置換体を用いた同位体希釈質量分析法(ID-GC/MS)を適用し(図)、値付けを行った。

【結果と考察】均質性評価：分散分析の結果、瓶間不均質性は有意ではなく、標準物質の均質性は良好であると評価された。均質性に関する不確かさは1.9~4.0%(相対値)であった。安定性評価：すべての農薬濃度に有意な経時変化はなかった。標準物質の有効期間を55ヶ月に設定し、安定性に関する不確かさを6.7~11.5%(相対値)と見積もった。値付

け分析：1種類の分析法によって値付けを行った場合、妨害成分等のために分析結果が偏りを含む可能性がある。そこで、対象農薬毎に2種類の分析法を適用したところ、分析結果は農薬毎に良好に一致しており、各分析結果の正確さが互いに担保された。認証値の算出：標準物質の国際基準であるISO Guide 34に従い、値付け分析の結果の重み付け平均を認証値とした。また、値付け分析、均質性及び安定性に関する不確かさを合成して、認証値の不確かさを算出した(表)。

農薬が残留した大豆から調製した本標準物質は、特に抽出操作の妥当性評価に有効であり、現在広く用いられている添加回収試験との相補的な利用が期待される。

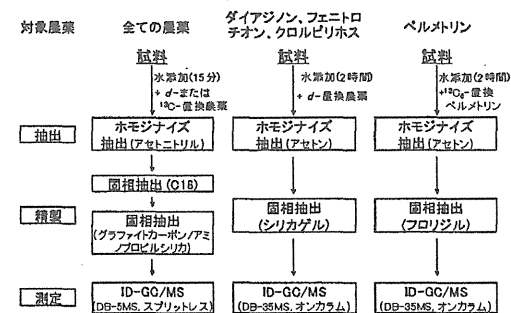


図 値付け分析に用いた分析法

表 認証値と不確かさ

農薬	認証値と拡張不確かさ ( $k = 2$ ) ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
ダイアジノン	21.7 ± 3.2
フェニトロチオン	88 ± 21
クロルピリホス	11.1 ± 3.2
ペルメトリン	20.1 ± 4.3