

令和6年度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）

食品衛生検査施設等の検査の信頼性確保に関する研究

総括研究報告書

研究代表者 渡辺 卓穂 一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所 副所長

研究要旨

輸入食品や国内食品の流通段階で健康危害リスクを及ぼすような種々の有害物質等を監視するために、行政検査は国民の食生活の安全を担保している。検査において、誤判定を避けるために、各検査機関では分析値の信頼性確保が必須である。現在、食品の輸出の促進と輸入の増加により、誤判定の回避は輸出入国間での係争を回避するためにも重要である。これまで我々は、検査の信頼性を確保するために外部精度管理調査を検査施設に提供しており、ISO/IEC 17043認定取得をできたことで国際的にも認められた技能試験提供者となった。この外部精度管理調査（技能試験）を継続的に検査施設に提供することで、各検査機関の検査結果において信頼性の維持に寄与することができる。外部精度管理プログラムは、検査されているすべての項目に対して開発されていることが理想であるが、調査試料作製の困難さから、一部の検査項目についてしか開発されていない。新規の外部精度管理調査の開発を困難にしている要因は試料の安定性や均質性を担保することの技術的課題にある。本研究では、外部精度管理調査プログラムの改善と開発を目的に、これまで、均質で安定な外部精度管理調査試料の開発にスプレードライヤを用いることが有用であることを見出した。そこで、今年度は、1. 外部精度管理調査プログラム用適正試料の改善と開発に関する研究（梶原研究分担）では、スプレードライヤを用いてハウレンソウパウダーを基材としたパイロットスタディ用残留農薬検査試料を作製し、課題5に供した。器具・容器包装の検査項目の基礎検討では、試料基材にABSペレット、測定対象物質をカドミウム及び鉛、溶解溶媒にジクロロメタンを用いて作製したシート状試料を用いて室間共同試験（パイロットスタディ）を実施した。微生物検査については、硫化水素（ H_2S ）非産生サルモネラ属菌を用いた調査試料の開発としてパイロットスタディを実施し、参加した50機関のうち、35機関のみが正しく判定した。2. 食品添加物試験法及び動物用医薬品試験法の開発に関する研究（今井研究分担）では、指定外添加物（甘味料）であるサイクラミン酸について、新規誘導体剤を用いた分析法の開発を行ってきた。本年度は、昨年度までに報告した抽出操作及び固相精製操作における課題について追加検討した。また、HPLC測定感度を向上させるため、固相精製後の溶出液全量を誘導体化した結果、HPLC測定におけるピーク面積は、昨年度と比較して約5倍に増大した。検討した試験法について、試料としてブルーベリージャム等を用いて添加回収試験を実施した結果、真度及び併行精度は目標値に適合していた。

また、頑健性の高い動物用医薬品の試験法を開発するため、LC-MS/MSを用いた動物用医薬品の試験法のLC-MS/MS測定条件及び前処理法について検討した。本年度は、酸性条件下で分解しやすい動物用医薬品の真度を向上させることを目的として、抽出時におけるギ酸添加及び抽出液へのpH緩衝液の添加について検討した。検討した試験法について、鶏肉ペースト試料を用いて添加回収試験を実施した結果、測定対象項目129項目中97項目の真度及び併行精度が目標値に適合していた。3. 重金属類試験法の改良と妥当性評価に関する研究（新矢研究分担）では、マイクロウェーブ分解－ICP質量分析による試験法を肉試料において検討し、その分析妥当性を確認した。また、市販粉末肉の有害重金属類含有量を調査し、外部精度管理ブランク試料としての適用性を確認できた。4. 下痢性貝毒検査の試験所間比較に関する研究（鎗田研究分担）では、オカダ酸（OA）群の精確な分析方法として、昨年度開発した分析法に酸添加/高温抽出法を適用し、実試料分析における有効性を示した。また、アセトニトリルを抽出溶媒に用いた分析法も検討し、従来法で必要であった固相抽出精製を要しない簡便な分析が可能であることを示した。さらに、昨年度調製した試験所間比較試験の調査試料の均質性評価試験を実施し、良好な均質性を有することを示した。5. 残留農薬分析の外部精度管理に関する研究（大竹研究分担）では、課題1で作製した玄米中農薬の2年間の安定性評価をした結果、いずれの農薬も濃度が減少傾向にあるが、分析値の保証はせず、均質な精度管理試料として使用可能であった。また、パイロットスタディに用いるほうれんそう試料の均質性は良好であり、試験期間中の安定性は問題なかった。パイロットスタディの結果、IDMSによる精確な参照値を参加者の中央値と比較すると、マラチオンを除きおおそ一致していた。詳細は今後の検討が必要である。

研究分担者名＝梶原三智香（（一財）食品薬品安全センター秦野研究所室長）、今井浩一（埼玉衛生研究所化学検査室長）、新矢将尚（（地独）大阪健康安全基盤研究所衛生化学部食品安全課課長）、鎗田 孝（茨城大学農学部教授、大竹貴光（（国研）産業技術総合研究所上級主任研究員）

A. 研究目的

輸入食品や国内食品の流通段階で健康危害リスクを及ぼすような種々の有害物質等を監視するために、行政検査は国民の食生活の安全を担保している。検査において、誤判定を避けるために、各検査機関では分析値の信頼性確保が必須である。現在、食品の

輸出の促進と輸入の増加より、誤判定の回避は輸出入国間での係争を回避するためにも重要である。これまで申請者は、検査の信頼性を確保するために外部精度管理調査を検査施設に提供しており、ISO/IEC 17043 認定取得をできたことで国際的にも認められた技能試験提供者となった。この外部精度管理調査（技能試験）を継続的に検査施設に提供することで、各検査機関の検査結果において信頼性の維持に寄与することができる。

外部精度管理調査プログラムは、検査されているすべての検査項目に対して開発されていることが理想であるが、調査試料作製の困難さから、一部の検査項目について

しか開発されていない。新規の外部精度管理調査の開発を困難にしている要因は、試料の安定性や均質性を担保することの技術的課題にある。本研究では、外部精度管理調査プログラムの改善と開発を目的に、これまで、均質で安定な外部精度管理調査用試料の開発にスプレードライヤを用いることが有用であることを見出した。この粉体工学技術を残留農薬検査用試料作製に応用検討し、新規の基材開発を1～3年を通して行い、学術的に有用な方法を確認する。微生物学検査では、基材の改善を行い、新規の検査項目を開発すると共に対象菌の検出下限値を掌握する。また、新たに、調査項目になかった器具・容器包装の検査項目の基礎検討を行う。さらに、食品添加物、貝毒及びアレルギー物質検査試料を検討し、開発されたこれらの調査試料は研究分担において外部精度管理調査パイロットスタディとして最終年までに実施し、実行可能性を検討する。

これらの研究は、リスク管理をより堅実なものとし、健康危害の未然防止や食品の輸出入の係争回避に直結する成果が期待でき、検査機関においては、ISO/IEC 17025 認定取得の補助となる。従って、現在の食品流通において必要かつ早急に着手すべきである。実施する5つの研究課題は、互いに密接に連携し、相互に研究成果をフィードバックし進行することが特色である。

B. 研究方法

1 外部精度管理調査プログラム用適正試料の改善と開発に関する研究（梶原研究分担）

1.1 スプレードライヤを用いた残留農薬検査用試料の開発：

パイロットスタディ用残留農薬検査用試料はハウレンソウパウダーを用い、10%懸濁溶液は、ハウレンソウパウダー1 kgを30%アセトニトリル溶液4 Lに懸濁させ、スプレードライヤに供した。また、20%懸濁溶液は、ハウレンソウパウダー2 kgを30%アセトニトリル溶液8 Lに懸濁させ、スプレードライヤに供した。さらに、15%懸濁溶液はハウレンソウパウダー1.5 kgをこれらの懸濁液に30%アセトニトリル溶液8.5 Lに懸濁させ、ダイアジノン ($0.40 \mu\text{g/g}$)、フェニトロチオン ($0.20 \mu\text{g/g}$)、マラチオン ($0.20 \mu\text{g/g}$) およびクロルピリホス ($0.10 \mu\text{g/g}$) を添加した。

研究開発用窒素ガス密閉循環型スプレードライヤ CL-8i を用いて作製した。すなわち、ハウレンソウパウダー懸濁溶液は事前にホモミキサーで攪拌し、均一な懸濁溶液とし、原液タンクに移し、攪拌しながらペリスタポンプでアトマイザに1.1～2 kg/h で送液した。アトマイザにはロータリー式を用い、ディスクは MC-50 型を使用した。回転数は 20000 rpm に、入口温度は 100℃に設定し、作製した。得られたハウレンソウパウダーは平均粒子径を測定し、顕微鏡下で粒子の観察を行った。得られたハウレンソウパウダーは課題5のパイロットスタディで使用した。

1.2 器具・容器包装の原材料の材質別規格に関する調査試料作製検討：

食品衛生法において一般規格となるプラスチックの材質ポリマーについて、昨年度の検討結果より試料基材に ABS ペレット、作製容器にステンレス製バットを用いることで濃度確認では1シート内の部位による

濃度差が小さく良好な結果が得られ、ポリマーの溶解に用いる有機溶媒（以下、溶解溶媒）残存率を室温下で減圧乾燥することにより低減化が可能であることが示唆された。今年度はこれらの結果から ABS ペレットのシート状試料を作製し、パイロットスタディとして室間共同試験を行った。なお、調査試料の品質評価として 1 個の作製容器内（1 シート）のカドミウムおよび鉛の均質性の確認試験、また、10 個の作製容器間（10 シート）のカドミウムおよび鉛の均質性および安定性の確認試験を行うと同時にジクロロメタンの残留溶媒測定を実施した。添加に用いる標準品は SPEX 製カドミウム及び鉛（いずれも 5000 µg/g、Base Oil 75）、溶解溶媒には、ジクロロメタンを用いた。

1.3 特定原材料検査（卵）技能試験プログラムのパイロットスタディ：

本年度は特定原材料を乳タンパク質として外部精度管理調査に関するパイロットスタディを実施した。

参加機関は公定法及び標準操作手順書に従い、こちらで指定した通知法準拠の市販キット 2 種を用いて試験し、得られた結果を提出することとした。サンプリング数は 1 試料につき 2 抽出、ELISA 測定は 1 抽出につき 3 ウェル併行とした。

回収したデータについてメジアン・クリーニング（MC）後、ロバスト方式による統計解析をキットごとおよび試料ごとに実施した。得られたロバスト平均値および標準偏差から $\bar{x}$ -R 管理図を代用した方法による評価および σ スコアの算出を行った。

1.4 サルモネラ属菌検査用試料の開発：

サルモネラ属菌検査用調査試料の開発として、2023 年度に引き続きパイロットスタ

ディを実施した。

H₂S 非産生株を用いたサルモネラ属菌検査用調査試料の開発では 50 機関の参加機関に対してパイロットスタディを実施した。パイロットスタディでは、H₂S 非産生サルモネラ属菌 2 菌株およびサルモネラ陰性菌 1 菌株の計 3 菌株を個別に添加した 3 本の調査試料を配付した。なお H₂S 非産生株は 2023 年度の厚生労働科学研究費補助金にて実施したパイロットスタディに使用した 1 菌株と、別途スクリーニング試験でクエン酸利用能試験の反応が比較的わかりやすい 1 菌株を選択、採用した。調査試料は性能評価を実施し、1 か月間の冷蔵保存で安定していることを確認してから同一ロットの資材で配付用調査試料を作製し、参加機関に配付し報告値の回収および解析を実施した。なお配付用調査試料は配付前の均質性確認、報告期限後の安定性確認で調査試料の品質評価を実施した。

2 食品添加物試験法及び動物用医薬品試験法の開発に関する研究（今井研究分担）

サイクラミン酸試験法の新規誘導体化剤を用いた分析法について、昨年度までに報告した抽出操作及び固相精製操作における課題を改善するため、試料採取量を検討した。また、HPLC 測定感度を向上させるため、誘導体化する溶出液の量、液-液分配の回数、減圧乾固による濃縮の影響について検討した。検討した試験法を評価するため、試料としてブルーベリージャム等の 4 食品を用いて 5 併行の添加回収試験を実施した。

動物用医薬品の試験法開発は、測定対象成分、LC-MS/MS 条件及び前処理法について

検討した。測定対象成分は、過去の報告及び他地方衛生研究所の検査実績を参考に選定し、各成分のピーク感度 (S/N) 等を確認した。LC-MS/MS条件は、SRM条件、分析カラム及び移動相条件を検討した。前処理法は、三層分離抽出法に基づき、抽出時のギ酸の有無、抽出液へのpH緩衝液の添加の有無、抽出回数、抽出液の濃縮条件、及び精製に用いる固相ミニカラム等について検討した。検討した試験法について、鶏肉ペースト試料を用いて5併行の添加回収試験を実施した。

3 重金属類試験法の改良と妥当性評価に関する研究 (新矢研究分担)

近年輸出実績が増大傾向にある畜産肉を対象とし、前年度に検討したマイクロウェーブ分解-ICP 質量分析法を適用し、3 種の認証標準物質 (Bovine Liver、Pig Kidney、Bovine Muscle) を用いて分析妥当性の評価を行った。付与されている認証値は、Bovine Liver が Pb、Cd、As を含む 20 元素、Pig Kidney が Pb、Cd を含む 7 元素、Bovine Muscle が Cd、As を含む 7 元素であった。また、市販肉 (牛肉、豚肉および鶏肉のそれぞれ無添加パウダー食品、ならびに無添加国産牛の干し肉) の有害重金属類含有量を調査し、外部精度管理調査に資するか検討を行った。

試料をテフロン製分解容器に採り、硝酸および過酸化水素水を加えてマイクロウェーブ分解装置により加熱分解した。試料分解液を室温まで冷却後、超純水を加えて定容したものを試験原液とし、適宜希釈して測定液とした。ICP-MS による定量は内標準法で行い、標準モード (No Gas モード)、コ

リジョンモード (He モード)、およびリアクションモード (H₂ モード) で検討した。

妥当性評価は、分析者 2 名が併行数 2 で 3 日間の枝分かれ試験で実施した。「食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に従って、一元配置の分散分析により真度、併行精度および室内再現精度を求めた。

市販肉試料の添加回収試験では、粉末にした牛干し肉を用い、Pb については 0.1 mg/kg、Cd については 0.05 mg/kg、As については 0.5 mg/kg になるよう添加して回収率を求めた。

4 下痢性貝毒検査の試験所間比較に関する研究 (鎗田研究分担)

4.1 抽出方法の精確化の検討

本法は、昨年度開発した分析法の抽出操作を改良した方法である。

抽出操作の概略を以下に示す。ホタテガイ試料 2.0 g に 0.5 %酢酸/メタノール溶液 9 mL を加え、60 °C で 5 分間加熱した後にホモジナイズし、遠心分離によって上清を得た。沈殿物に 0.5 %酢酸/メタノール溶液 9 mL を加えてホモジナイズした後に遠心分離し、上清をとった。得られた上清を合一し、さらに 90 % (V/V) メタノールを加えて正確に 20 mL とした。

得られた抽出液の 2 mL を、昨年開発した方法によって加水分解、ヘキサン洗浄、HLB カートリッジによる精製を順次行い、試料溶液を得た。さらに、この試料溶液を LC-MS/MS によって測定し、含有する OA 群を定量した。

4.2 抽出方法の簡易化の検討

本法は、下痢性貝毒分析法の抽出溶媒に

広く使用されているメタノールの代替に、アセトニトリルを用いた方法である。

ホタテガイ試料 2.0 g にアセトニトリル 9 mL を加えてホモジナイズし、遠心分離によって上清を得た。沈殿物に 90 %アセトニトリル 9 mL を加えてホモジナイズし、遠心分離によって上清をとり、前述の上清と合わせ、90 %アセトニトリルを加えて 20 mL とした。このうちの 2 mL に 2.5 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 250 μ L を加え、76 $^{\circ}$ C で 40 分間加水分解し、さらに 2.5 mol/L 塩酸を 250 μ L 加え中和した。得られた処理液に塩化ナトリウムを 3 g 加えて塩析させ、有機層をとった。水層にアセトニトリルを 9 mL 加えて振とうして有機層をとり、前述の有機層と合わせた後、アセトニトリルによって適当倍に希釈して試料溶液を得た。この試料溶液を LC-MS/MS によって測定し、含有する OA 群を定量した。

4.3 均質性評価試験

昨年度の本事業で調製した調査試料から 10 本を無作為に選択し、各瓶について 2 回ずつ、合計 20 サブサンプルを分析した。分析には、昨年度開発した分析法に内標準法を適用した方法を適用した。

5 残留農薬分析の外部精度管理に関する研究（大竹研究分担）

(1) 玄米中農薬の長期安定性評価

2022 年度及び 2023 年度に、本研究で分析を行った玄米試料中農薬（スプレードライヤの噴霧温度は 100 $^{\circ}$ C の試料）を約 1 年後に分析することで、長期安定性を評価した（今回で 3 年目）。分析には、IDMS を適用した一斉試験法を用いた。

(2) 試料調製の条件検討のための残留農

薬検査用ほうれんそう試料の分析

IDMS を適用した一斉試験法を用いて、食品薬品安全センター秦野研究所がスプレードライヤにより開発した残留農薬検査用ほうれんそう試料中の対象農薬を分析した。試料の調製条件は、噴霧温度：100 $^{\circ}$ C、懸濁液濃度：20 %、溶媒のアセトニトリル濃度：30 vol%であった。得られた結果は、試料調製における農薬の添加濃度等と比較した。

(3) パイロットスタディのためのほうれんそう試料の均質性評価

ISO Guide35（標準物質—認証のための一般的及び統計的な原則）に基づき、食品薬品安全センター秦野研究所が調製した 150 本から無作為に選んだ 10 本について、2 回ずつ農薬濃度を分析した。分析法は、IDMS を適用した一斉試験法を用いた。

(4) パイロットスタディのためのほうれんそう試料中農薬の安定性評価

パイロットスタディの試験期間前後における農薬の安定性を評価した。分析には、IDMS を適用した一斉試験法を用いた。

(5) パイロットスタディ用ほうれんそう試料中農薬の値付け

(3) で均質性が確認されたほうれんそう試料中の対象農薬の濃度を分析した。分析には、IDMS を適用した一斉試験法、STQ 法を用い、不確かさの算出も行った。

(6) 残留農薬含有のほうれんそう試料を用いた外部精度管理調査のパイロットスタディ

30 機関から参加申し込みがあった。これらの機関に対して、2025 年 2 月 17 日に、食品薬品安全センター秦野研究所より、試験試料を冷凍便により送付した。

(2025 年 2 月 19 日着とした)。参加機関は、独立した分析（試料の抽出及び精製、GC/MS 等による機器測定等）を 2 回行い、得られた結果と、適用した分析方法（機器の校正に用いた校正用標準、抽出・精製法、測定法等）を報告することが求められた。最終的に 30 機関が、分析結果を報告した。

C.D. 研究結果および考察

1 梶原研究分団

1.1 スプレードライヤを用いた残留農薬検査用試料の開発：

これまで玄米粉を基材として残留農薬検査用試料作製を検討し、添加した 4 種の農薬の回収率が良好な条件を見出してきた。その条件を参考に野菜を基材として適用するためにハウレンソウパウダーを用いた。このハウレンソウパウダーは玄米粉より粒子径は小さく均質なパウダーであり数 μm ~200 μm の粒度分布で平均粒子径は 26.76 μm である。昨年度残留農薬検査用野菜試料としてハウレンソウパウダーを使用し、作製条件を検討した。ハウレンソウパウダーは粘張度が高いことから 10%懸濁液として検討した。しかし、処理量が少ないことから、最終的に玄米粉と同様に 20%懸濁溶液を用い検討した。昨年度、噴霧温度（入口温度）を 100℃、懸濁溶媒には 30%アセトニトリル溶液を用い良好な結果が得られたことから同一の条件で検討を行った。すなわち、昨年度最適化した条件の 20%懸濁液で再度作製した。20%懸濁液は粘性が高くまた、粒子径の大きなハウレンソウパウダーは乾燥が不完全でありアトマイザから噴霧されると装置の壁に線状

に付着した。得られたハウレンソウパウダーの平均粒子径は 54 μm であり 30 μm ~100 μm の微細な粉体を得られた。しかし、粉体の回収率は約 60%であり、パイロットスタディを行う必要量には達しなかった。そこで、再度 2 倍量の作製を行うこととした。パイロットスタディの必要量である 1.2 kg 以上作製を目標とした。20%懸濁液は粘性が高く前回は回収率が約 60%であったが、今回はそれを下回る 56%であり、得られた粉体は 660g と低かった。この原因としては、前回のハウレンソウパウダーに比べ今回用いたパウダーは粘性がやや高く、処理量が前回の 1.7kg/h に対して 1.1kg/h と低かったためと考えられた。得られたパウダーの平均粒子径は 50 μm であり、前回作製した時とほぼ同様の粒子径であった。これまでの結果から、20%懸濁液では収量は期待できるが、粘性が高いことから処理量を低くする必要があり結局得られる粉体の回収が低く必要量に達しなかった。そこで、粘性を加味して 15%懸濁液を用いることとした。基本的な条件はこれまでの条件と同一であるが、処理量は 2kg/h が達成できた。それにより回収された粉体は 1267g であり、回収率は 90%と良好であり、必要量は確保できた。得られた粉体の平均粒子径は 46 μm となり、20%懸濁液の場合と同様の粒子径が得られた。得られたハウレンソウパウダーは、課題 5 に供与し、パイロットスタディのために、均質性、安定性試験に供した。

1.2 器具・容器包装の原材料の材質別規格

に関する調査試料作製検討：

今年度は、昨年度の検討結果より食品衛生法において合成樹脂一般を対象とした一般規格の材質試験として、試料基材に ABS ペレット、測定対象物質をカドミウム及び鉛、溶解溶媒にジクロロメタンを用いて作製したシート状試料を用いて室間共同試験（パイロットスタディ）を実施し以下の結論を得た。作製した試料は、1 個の作製容器内および 10 個の作製容器間のいずれでもカドミウムおよび鉛で良好な均質性および安定性が得られた。作製直後に行った均質性確認試験で得られた各濃度（平均値）は理論作製濃度に対し、いずれも回収率 80% 以上であり、作製濃度のコントロールも可能であると考えられた。この方法で作製した調査試料を用いて室間共同試験を実施した結果、正規確率プロット中のデータ分布においてもいずれの測定対象物質でも概ね直線状に分布しており、妥当な結果が得られたと考えられた。また、試料採取量が 0.1 g 以上 0.3 g 未満で 3 機関、0.5 g 以上 0.7 g 未満で 3 機関あり、公定法の 1 g より少量であったが、いずれの機関でもカドミウムおよび鉛ともに $n=5$ のばらつきに問題なく、 $n=5$ の平均値も妥当な結果であった。今回の 25 機関中、1 機関がエネルギー分散型蛍光 X 線装置による定量値を報告していたが、特に鉛において理論作製濃度とよく一致していた。カドミウムにおいても全体で見ると高濃度側の測定値を報告しており、理論作製濃度に近似する傾向があった。この傾向は 1 機関のみのデータであり、今後も蛍光 X 線装置によるデータの蓄積は必要である。全体 25 機関で使用された測定装置は原子吸光分光光度計（フレイム方

式）が 12 機関で最も多く、次いで、ICP-OES が 9 機関、ICP-MS が 3 機関、蛍光 X 線装置が 1 機関であった。データ数は異なるが本調査研究結果では、原子吸光分光光度計、ICP-OES および ICP-MS の装置において、報告値に明らかな差は認められなかった。これらの結果より、本作製による調査試料は外部精度管理用調査試料として各機関が一般的に用いる各種試験法に対応可能な堅牢性を有し、十分に適用できることが示唆された。

以上より、今後は、理論作製濃度を変えて同様に試料を作製し、これらのカドミウムおよび鉛の均質性および安定性の確認試験を行い、本試料を用いたパイロットスタディの実施を計画する。

1.3 特定原材料検査（卵）技能試験プログラムのパイロットスタディ：

特定原材料として乳を添加した 2 種の試料を用いてパイロットスタディを行った。

標的となる特定原材料が不含であることを確認したとうもろこしペーストとベビーフードを基材とし、これらに乳タンパク質を添加して作製した試料を調査試料とした（試料 1：とうもろこしペースト、試料 2：ベビーフード）。

参加 24 機関は公定法に従い、こちらで指定した 2 種のキットを用いて試験を行った。回収したデータの統計解析はキットごとおよび試料ごとに行った。

その結果、MC で除外された機関は認められなかった。また、全 4 試験系中 $\bar{X}$ 管理図及び R 管理図で管理限界線を超えた機関はそれぞれ 1 機関認められた。 z -スコアの絶対値が 3 以上となった機関はのべ 2 機関であった。

R 管理図で外れ値を出した機関は外れ値を出した試験系以外では範囲内となった。したがって、施設としての試験方法に問題はないと考えられた。

zスコアで外れ値を出した機関はどちらも同じ機関であり、当該機関は残りの2種の試験系においてzスコアは範囲内であるものの片方は全体中最高値を、もう片方は最低値を示した。以上の結果から、当該機関は試験操作または使用機器に何らかの問題がある可能性が考えられた。

1.4 サルモネラ属菌検査用調査試料の開発：

サルモネラ属菌調査試料は性能評価、均質性確認、安定性確認ともに評価基準を満たしていた。参加した50機関のうち、35機関が正しく判定した。14機関がNo.1を陰性と誤判定、1機関がNo.2を陰性と誤判定、1機関がNo.3を陽性と誤判定した。さらに3種とも陰性、3種とも陽性と判定した機関がそれぞれ1機関、3種とも誤判定した機関はなかった。本調査研究においてTSI培地でガス産生が認められないことを理由に陰性と判定した機関が一定数存在していた。これらの機関においては硫化水素非産生サルモネラ属菌を検出できないリスクを含んでいる可能性が示唆された。食品衛生上の硫化水素非産生サルモネラ属菌が原因となる事故割合は不明であるが、公定法の求める水準に対し、サルモネラ属菌検査に対する知見が不足している検査機関が想定より多いことが懸念される結果となった。

2 今井研究分担

サイクラミン酸試験法の新規誘導体化剤

を用いた分析法について、ビスケット試料を用い、試料採取量を従来の10gから5gに減らして検討した結果、抽出操作時の加熱中の攪拌が容易となり、ダマも生じなかったことから、固相ミニカラムの目詰まりは発生しなかった。

溶出液全量を誘導体化し、試験溶液の最終容量を5mLとする方法を検討した。昨年度の方法と比較して検体採取量を半分に抑えた一方で、誘導体化に使用するシクロヘキシルアミンの量を5倍に増加させ、さらに誘導体化後の液量を2倍に濃縮した。その結果、HPLCクロマトグラムにおけるピーク面積は昨年度と比べて約5倍に増加した。添加回収試験では、検討した何れの試料においても、ブランク試料にサイクラミン酸の定量を妨害するピークは認められなかった。真度は93.2～103.9%、併行精度は0.3～4.3%であり、目標値に適合していた。

動物用医薬品の一斉分析法について、147成分のSRM条件を設定した。分析カラムは、6種類のカラムを比較し、L-column ODS (2.1 x 100 mm、3 μm、(一財)化学物質評価研究機構製)が最も多くの成分においてMSの感度(S/N)とピーク形状が良好であったため採用した。移動相は、蒸留水、アセトニトリル及びギ酸のグラジエント溶出とした。測定対象成分は、S/N、ピーク形状及び検量線の相関係数が良好であった129成分とした。前処理法について、三層離抽出法を用いた方法について検討した。ギ酸を加えずに抽出したところ、酸性条件下で分解しやすいベンジルペニシリンやエリスロマイシン等の成分の抽出率は良好であったが、テトラサイクリン系等の成分の抽出率が目標値に適合しなかった。次いで1回目の抽出では

ギ酸を添加せず、2 回目の抽出でギ酸を添加したところ、ベンジルペニシリン等が抽出液中で分解した。そこで 1 回目の抽出液に pH 緩衝液として酢酸アンモニウム溶液を加えた後 2 回目の抽出液をあわせたところ、ベンジルペニシリン等は分解しなかったが、テトラサイクリン系の抽出率が目標値に適合しなかった。最終的に、3 回目の抽出操作を追加し、抽出液を合わせることにした。この抽出液を窒素気流下で濃縮した後、固相精製ミニカラムを用いて精製することとした。濃縮は、5 mL の抽出液を 2 mL まで実施することとした。固相精製に用いる固相ミニカラムは、4 種類から検討し、Oasis PRiME HLB (60mg/3 cc、Waters 製) が最も多くの成分で良好な回収率であったため採用した。

検討した試験法について鶏肉ペースト試料を用いて添加回収試験を実施した結果、測定対象成分 129 成分中 97 成分の真度及び併行精度が目標値に適合した。一方、酸性条件下で分解しやすい成分であるベンジルペニシリンの真度は約 50%と検討前に比べ大幅に改善されたが、引き続き改良が必要と考えられた。

3 新矢研究分担

使用した認証標準物質 (Bovine Liver、Pig Kidney、Bovine Muscle) のいずれにおいても、測定した元素濃度は認証値とほぼ一致し、真度、併行精度および室内再現精度は目標値を満たしていた。ただし、Bovine Liver 中の K においては認証値が高く、Bovine Muscle 中の Cd においては認証値が低かったことから、検討した条件では妥当性を確認できなかった。外部精度管理において多

元素を設定する場合には、それぞれの濃度範囲に留意して、引き続き検討を行う必要がある。

一方、重金属類を調査した市販肉試料においては、海外で規制値が設定されている Pb、Cd、As が含まれていないか、As がわずかに含まれる程度であり、重金属類の精度管理におけるブランク試料として有効であることが示唆された。これら 3 元素の海外規制値レベルでの添加回収試験の結果は良好であり、本分析法による市販粉末肉の精度管理試料への適用可能性が確認された。

来年度は粉末肉を用いた外部精度管理試料の作製方法の検討やその品質評価を行い、パイロットスタディとしての室間共同試験に向けた検討を行う予定である。

4 鎗田研究分担

4.1 抽出方法の精確化の検討

検討した方法によって添加回収試験を行った。その結果、酸の添加による OA 群の分解は認められず、良好な回収率が得られた。実試料分析に必要な分析種の抽出力は、添加回収試験に必要な抽出力よりも高い。そのため、令和 4 年度に実施したホタテガイ中 OA 群の試験所間比較試験の調査試料も分析した。その結果、自然に毒化された DTX1 について、検討した酸添加/高温抽出法による結果が従来法よりも良好と考えられた。試験所間比較に試験において参照値を付与する際には、この方法を採用することが有効である。

4.2 抽出方法の簡易化の検討

はじめに、アセトニトリルを抽出溶媒とした場合でも OA 群が加水分解されるかを検証し、溶媒の種類に関わらず同等の分析

結果が得られることを確認した。

そこで、この方法による精製の程度を、マトリックス効果 (ME) を指標として評価した。なお、 ME 値は次式から求めた。

$$ME = \frac{\text{[試料溶液の OA 群の面積]}}{\text{[標準液の OA 群の面積]}}$$

検討した分析による ME 値は、一般的な許容範囲とされる 0.8~1.2 をわずかに超えた。そこで、3 種類の分散固相抽出による精製を検討したが、PSA を用いた場合には OA 群の回収率が低下し、ODS や HLB (相当品) を用いた場合はマトリックス効果の低減は認められなかった。一方で、検討した分析法による処理液をさらにアセトニトリルで希釈した場合に ME 値が 0.8~1.2 になることが確認されたため、処理液を希釈のみすることにした。以上より、本法は従来必要とされている固相抽出処理を要しない簡易な分析法であることが示された。

4.3 均質性評価試験

調査試料から無作為に選んだ 10 本について、各瓶内の 2 か所を採取して分析した。得られた分析結果を ISO Guide 35 に則り統計処理し、均質性に関する不確かさを評価した。その結果、瓶間均質性標準偏差 s_{bb} ($=$

$$\sqrt{\frac{MS_{\text{among}} - MS_{\text{within}}}{n}})$$
 と、測定の際のばらつきに

$$\text{由来する } u_{bb} (= \sqrt{\frac{MS_{\text{within}}}{n}} \sqrt{\frac{2}{v_{MS_{\text{within}}}}})$$
 は OA

について 0.26 % 及び 2.0 %、DTX1 について 5.6 % 及び 1.5 % であった (いずれも分析値の平均に対する相対値)。 s_{bb} と u_{bb} の大きい方を均質性に関する標準不確かさとした。

JIS Z 8405 では、外部精度管理に用いる調査試料の均質性に関して、試料間標準

偏差 (S_s) と技能評価のために標準偏差 (σ) が次式を満たすことを求めている。

$$S_s \leq 0.3 \sigma$$

今回均質性を評価した調査試料を用いた試験所間比較試験は 2025 年度に実施予定である。そのため調査試料の予備分析結果を Horwitz の修正式に代入することによって、試験所の結果のばらつきの予測値を求めた。結果として、調製した調査試料は、試験所間比較試験における試験所の結果のばらつきの予測値の 0.3 倍以下であることが示された。すなわち、本調査試料は試験所間比較試験での使用のために十分な均質性を有することが示された。

5 大竹研究分担

(1) 玄米中農薬の長期安定性評価

2022 年度及び 2023 年度に得られた結果と比較すると、ダイアジノンとクロルピリホスは濃度が減少傾向であり、フェントロチオンは今年度に特に濃度が減少したことがわかった。一方、マラチオンも濃度が減少しているようにも思える結果であったが、分析のバラツキの範囲内である可能性もあり、これまでの結果からは濃度減少しているかどうかを明確に判断できないと考えられる。以上から、もし技能試験後に玄米試料を精度管理用試料として使用する場合、例えば分析値の保証はせずに均質な精度管理試料として使用してもらう等であれば、使用可能であると考えられる。

(2) 試料調製の条件検討のための残留農薬検査用ほうれんそう試料の分析

食品薬品安全センター秦野研究所より提供された残留農薬検査用ほうれんそう

試料（試料の調製条件は、噴霧温度：100℃、懸濁液濃度：20%、溶媒のアセトニトリル濃度：30 vol%）の4種類に含まれる対象農薬を、一斉試験法によって分析した。食品薬品安全センター秦野研究所によると、添加濃度はクロルピリホス：0.1 mg/kg、ダイアジノン：0.4 mg/kg、フェントロチオン、マラチオン：0.2 mg/kgであった。本研究で得られた結果を用いて、調製時の回収率を計算した結果より、スプレードライヤの添加濃度に対する回収率の範囲は、51%から67%であった。昨年度も、スプレードライヤの条件検討を行ったが、回収率に多少の差は見られたものの、問題になるような低い回収率となる結果はなかった。そこで、試料のハンドリングや収量が良い条件を優先に選択するのが適切であると考え、パイロットスタディに用いる試料は、噴霧温度：100℃、懸濁液濃度：15%、溶媒のアセトニトリル濃度：30 vol%の条件で調製することとした。

(3)パイロットスタディに用いるほうれんそう試料の均質性評価

得られた分析結果を分散分析したところ、すべての対象農薬の瓶間濃度に統計的な有意差は見られず、試料が均質であることが示された。また、分散分析の結果を基から、均質性試験の不確かさは0.49%から1.38%と十分に小さく、パイロットスタディに用いるためには問題ない品質であることが示された。

(4)パイロットスタディに用いるほうれんそう試料中の農薬の安定性評価

得られた結果より、今回対象としたすべての農薬に対して、有意な濃度減少は見られなかった。よって、試験期間中の安定性

に問題ないことが示された。

(5)パイロットスタディ用ほうれんそう試料中農薬の値付け

各分析法によって得られた結果を用いて、IDMSによる精確な参照値と拡張不確かさを算出した。この値と、参加者の中央値を用いて算出された参照値の比較を、以下の(6)で行う。

(6) 残留農薬含有のほうれんそう試料を用いた外部精度管理調査のパイロットスタディ

参加者の中央値を用いて算出された参照値と、IDMSによって得られた参照値を比較すると、マラチオンを除きおおそ一致していた。マラチオンの分析値の差の原因は、マトリックス効果や校正用標準溶液の種類の違い等が考えられたが、詳細は今後の検討が必要である。参加者の中央値を用いた参照値だけでなく、われわれがIDMSによる精確な分析値も参照値として付与したことにより、より信頼性が高い参加者の技能評価を行うことができた。

E. 研究発表

1. 論文発表

1) Shibata T., Nakasaka T., Narushima J., Taguchi C., Sugino M., Yoshida S., Soga K., Kajiwar M., Watanabe T. and Kondo K: Laboratory Performance Study of the Japanese Official Method to Detect Genetically Modified Papaya Line PRSV-YK., Food Hygiene and Safety Science, 65, 61-66 (2024).

2) 鳥居塚南, 上原由理香, 長谷川守文, 渡辺卓穂, 鎗田孝, 親水性-親油性バランス型充填剤を用いた簡便な固相抽出精製に

よる二枚貝中オカダ酸群の精密定量, 分析化学, 73, 185-191、(2024)

3) Otake T., Nakamura K., Hirabayashi N. and Watanabe T: A reliable quantification of organophosphorus pesticides in brown rice samples for proficiency testing use in Japanese official analytical method, QuEChERS, and modified QuEChERS combined with isotope dilution mass spectrometry, Journal of Pesticide Science, 49, 179-185 (2024)

2. 学会発表

1) 若栗忍、伊藤里恵、内田華那、細谷まい、岩崎雄介、穂山浩、渡辺卓穂: 市販品を含むアレルゲン(卵タンパク質)含有試料を用いた特定原材料検査の技能試験プログラムのためのパイロットスタディ: 日本食品衛生学会第 120 回学術講演会(愛知), 2024.

2) 中村圭介、大竹貴光、羽成修康、平林尚之、渡辺卓穂: スプレードライヤを用いて調製した玄米試料中の有機りん系農薬を対象とした超臨界流体抽出の評価: 日本食品衛生学会第 120 回学術講演会(愛知), 2024.

3) 梶原三智香、中阪聡亮、堀田実和、高坂典子、渡辺卓穂: 硫化水素非産生株を用いたサルモネラ属菌検査の技能試験プログラム開発: 第 120 回日本食品衛生学会学術講演会(愛知)、2024

4) 茂呂寛紀、今井浩一、石井里枝、渡辺卓穂: 新規誘導体化剤を用いたサイクラミン酸分析法の検討: 第 120 回日本食品衛生学会学術講演会(愛知)、2024

5) 油谷藍子、村野晃一、村上太郎、新矢将尚: マイクロウェーブ分解-ICP-MS 法による食品中元素分析法の妥当性評価, 日本食

品衛生学会第 120 回学術講演会(愛知), 2024.

6) 大竹貴光、中村圭介、平林尚之、渡辺卓穂: 技能試験の玄米試料に含まれる有機リン系農薬に対する信頼性が高い定量値の付与: 日本農薬学会第 47 回農薬残留分析、第 41 回農薬環境学会 共同研究会(徳島)、2024.

7) 柴田識人、田口千恵、曾我慶介、菅野陽平、細川葵、梶原三智香、渡辺卓穂、杉野御祐、成島純平、吉場聡子、安達玲子、近藤一成: 安全性未審査遺伝子組み換えパパイヤ検知法における DNA ポリメラーゼと PCR 機種との組み合わせの影響: 第 61 回全国衛生化学技術協議会年会(大阪)、2024.

8) 茂呂寛紀、今井浩一、石井里枝、高坂典子、渡辺卓穂: 食品添加物検査の技能試験プログラムのためのパイロットスタディ(サイクラミン酸): 第 61 回全国衛生化学技術協議会年会(大阪)、2024.

9) 柳瀬望、小玉玲菜、栗本悠可、鎗田孝、下痢性貝毒分析における精確な LC-MS/MS 測定のための移動相の検討, 日本分析化学会関東支部第 18 回茨城地区分析技術交流会(水戸), 2024.

10) 栗本悠、柳瀬望、中居杏瑞、鎗田孝、アセトニトリル抽出を用いた迅速な下痢性貝毒分析法の開発, 日本分析化学会関東支部第 18 回茨城地区分析技術交流会(水戸), 2024.

F. 知的所有権の取得状況

なし