

食の安全性確保に係わる化学物質に関する研究

高野 伊知郎^a, 橋本 常生^a, 大石 充男^b, 牛山 博文^b, 藤沼 賢司^b, 木村 圭介^b, 田口 信夫^b, 貞升 友紀^c, 中里 光男^{c,i}, 平田 恵子^f, 松本 ひろ子^f, 神谷 信行^g, 小林 麻紀^a, 大塚 健治^a, 田村 康宏^a, 富澤 早苗^a, 木下 輝昭^h, 上條 恭子^a, 岩越 景子^a, 影山 百合子^a, 佐藤 千鶴子^a, 永山 敏廣^a, 田端 節子^b, 岩崎 由美子^b, 飯田 憲司^b, 松野 郁子^b, 小島 好恵^b, 宮川 弘之^c, 安井 明子^c, 荻本 真美^c, 羽石 奈穂子^c, 植松 洋子^c, 小澤 秀樹^b, 茅島 正資^b, 森内 理江^b, 守安 貴子^d, 蓑輪 佳子^d, 門井 秀郎^d, 中嶋 順一^d, 岸本 清子^d, 坂本 美穂^d, 中村 絢^d, 清水 雅子^d, 濱野 朋子^d, 中江 大^d, 森 謙一郎^d, 荻野 周三^d, 橋本 秀樹^e, 佐々木 由紀子^e, 大石 向江^e, 三栗谷 久敏^e, 佐藤 かな子^e, 中川 順一^e, 井部 明広^{e,j}, 大山 謙一^e, 矢口 久美子^e

平成21年度から3年間、化学物質に起因する健康被害発生時の対応強化を目的として、重点研究プロジェクトに取り組んだ。本研究は、初動対応システムの構築、原因究明のための分析法開発、検査の信頼性確保に関する8つの個別テーマで構成され、各々以下の成果を挙げた。1) 食品を介した化学物質による健康被害発生時の迅速対応システムとして検査迅速対応マニュアル並びに化学物質や自然毒による食中毒及び苦情検査事例の分析法を中心としたデータベースと検索システムを作成した。2) 食品中の急性毒性の高い農薬及び中毒事例の多い農薬を対象に簡易迅速分析法を作成し、実用性を検証した。3) 食品中のカビ毒について汚染実態調査のための個別分析法並びに健康被害事件対応のための一斉スクリーニング法を開発した。4) 食品及び食品添加物中のメラミン関連化合物の迅速分析法を作成し、器具・容器包装からの溶出実態を明らかにした。5) 多元素同時分析装置を用いた食品中有害性金属類の迅速試験法を作成し、各種食品を用いて分析精度を確認した。6) 超高速LCライブラリーを用いた健康食品中の医薬品成分迅速探索法を構築した。また、新規検出成分の構造解析手法について迅速化を図った。7) 化学物質検査に用いる標準品について品質確保手法を開発した。8) 精度管理に用いる試料の作製方法を検討した。これらの成果は、今後の健康被害への迅速な検査対応へ活用できるものであった。

キーワード：化学物質，健康被害，迅速対応システム，食中毒，苦情事例，データベース，分析法，農薬，カビ毒，メラミン，有害性金属，健康食品，医薬品，精度管理

-
- ^a 東京都健康安全研究センター食品化学部残留物質研究科
169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1
 - ^b 東京都健康安全研究センター食品化学部食品成分研究科
169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1
 - ^c 東京都健康安全研究センター食品化学部食品添加物研究科
169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1
 - ^d 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部医薬品研究科
169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1
 - ^e 東京都健康安全研究センター精度管理室
169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1
 - ^f 東京都健康安全研究センター多摩支所食品衛生研究科（当時）
190-0023 東京都立川市柴崎町 3-16-25
 - ^g 東京都健康安全研究センター企画調整部健康危機管理情報課
169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1
 - ^h 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部環境衛生研究科
169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1
 - ⁱ 現所属：財団法人 東京顕微鏡院
104-0055 東京都中央区豊海町 5-1
 - ^j 現所属：実践女子大学
191-8510 東京都日野市大阪上 4-1-1

はじめに

近年、未承認添加物の使用、輸入農産物の残留農薬問題、相次ぐ食品の偽装問題や異物混入問題、あるいはダイエットを目的とした健康食品摂取による健康被害の発生等により消費者の食に対する信頼が揺らいでいる。特に、食料自給率低下による輸入食品の増大、ライフスタイルの変化による加工食品や外食の利用増大等食を取り巻く環境の変化に伴い、食品に含まれる危害要因（ハザード）も多様化している。そんな中、中国産冷凍ギョウザへの農薬混入、カビ毒による米の汚染、乳製品へのメラミン添加といった消費者の判断だけでは簡単に逃れられない事件が発生したことは記憶に新しい。消費者の抱く食品の安全に対する不安・不信任感を払拭し、信頼を確保するには、科学的根拠や客観性に基づいた信頼度の高い分析データの提供と健康被害への迅速な対応が必要であり、このことが重要な行政課題となっている。そこで、食の安全性確保に係わる化学物質の調査研究を推進することにより、化学物質に起因する健康被害発生時の検査対応態勢構築を目的として本研究を計画した。本研究は、大きく3つの目的から構成される。

第一は健康被害発生時の初動対応に関する研究である。食を介した健康被害が発生した場合、その原因として細菌やウイルス等の微生物、植物性や動物性の自然毒、また農薬やカビ毒等の化学物質等が考えられる。食品に起因する健康被害発生時には速やかに原因を特定し、適切な措置を行うことが求められる。中国産冷凍ギョウザ事件にみられるように、初動対応は原因究明を素早く導く上で特に重要であり、一歩対応を誤ると解決が遅れ被害が拡大する恐れがある。そこで本研究では食品による危害発生時に適切な初動対応を行うシステムの構築を目指した。また、適切で迅速に対応するための手段として、過去の食中毒事例や苦情事例で用いた分析法を整理し、対応方法等のデータベースを作成することとした。

第二は、健康被害発生の原因となる農薬、カビ毒、有害性の添加物や金属類さらに医薬品成分等の化学物質を正確に素早く測定するための分析法開発に関する研究である。

第三は、検査の信頼性確保に関する研究である。化学物質の迅速な検査は健康被害の原因究明、被害拡大防止に不可欠であるが、分析値が誤っていた場合、多方面に多大な損害や迷惑を与えるばかりでなく、さらに検査機関としての信頼を喪失する。分析値の信頼性を保証し、検査の精度を向上させるためには、精度管理が重要となる。そこで今回、有害化学物質の検査の基準となるべき標準品の調製方法、保存方法、保存時の変化（分解、濃縮等）について検討し、標準品の品質確保手法を検討した。また、精度管理を実施するにあたり使用する試料の作製方法や安定性について検討し、実際の精度管理への応用を考察した。

以下、これら3つの目的に関する8つの研究成果について概説する。

1. 健康被害発生時における迅速対応システムの構築に関する研究

目的

食品衛生上危害となり得る化学物質の緊急検査時に速やかで幅広い範囲の的確な検査対応と情報提供を可能とすることにより、食品衛生の向上と消費者の食の安全・安心を得ると共に技術的な手法の蓄積を目的とする。

この目的を遂行するために、まず、検査迅速対応マニュアルを作成する。また、化学物質や自然毒による食中毒並びに苦情検査事例で用いた手法をデータベース化し、検索機能を持たせる。次に、これらを連携させることで食品を介した化学物質による健康被害発生時の迅速対応システムを構築する。

方法

1) 検査迅速対応マニュアル

マニュアルの構成を検討するため、化学物質、毒物及び微生物等による危害防止の対応マニュアル等の情報収集を実施し、当センターでの検査対応に充分役立つ内容をピックアップし、マニュアルの作成を実施した。

2) 苦情検査事例等のデータベース及び検索システム

苦情検査事例のデータベース化に向けて、苦情検査事例のデータの解析、データベース作成に必要な市販ソフトウェアの調査を行い、テーブル、クエリ、ファイル構造等を検討した。

結果及び考察

検査迅速対応マニュアルは平成22年に地方衛生研究所全国協議会理化学部会が発表した「食品由来健康被害原因物質検査マニュアル（2009年度版）」をベースとし、東京都健康安全研究センターの関連部署における検査対応に則した内容で作成した。特に初動調査による食品や有症者の情報から原因物質を的確に推定するためのデータや検索サイトを掲載し、検体採取、取扱いについてもマニュアル化し良好な管理ができる内容とした。分析法については、薬毒物、自然毒等の化学物質を対象に、地方衛生研究所が過去に対応又は開発した手法を中心に文献を掲載し、迅速な原因解明の一助となるマニュアルを作成した（図1）。

苦情検査事例等のデータベースはソフトにMicrosoft Accessを選択し、食品苦情、食中毒に関する研究年報の報告事例をもとに「検索・閲覧」、「検索結果印刷」及び「登録・修正」のフォームを作成した。検索・閲覧フォームはキーワード検索、全文検索機能を持つとともに、写真等の画像ファイル、検査法ファイルの表示・印刷機能を持たせた（図2）。以上のことから危害発生による緊急時において検査事例の活用が可能となった。

成果の活用と今後の課題

本研究の成果は、食品衛生上危害となり得る化学物質の緊急検査と情報提供に活用していく予定である。苦情検査

事例等データベースの最終の利用形態は、ネットワークによる共有化であるが、パソコンからの共有ディスク上のデータベースの利用については、十分な検討ができなかった。また、研究年報はすでに電子化されているため、テキスト、図・表・写真のデータベースへの登録は容易であったが、電子化されていない多くの食品苦情、食中毒の検査事例のデータベース化が必要である。現在、食品苦情、食中毒の検査事例について関連学会や研究年報で公表を進めており、これらについて随時データベースへ登録している。また、検査迅速対応マニュアルやデータベースの更新、システム管理、共有化等について引き続き検討する予定である。

発表実績

- 1) 田口信夫, 下井俊子, 観 公子, 他: 食品の苦情事例 (平成21年度), 東京健安研七報, **61**, 273-280, 2010.
- 2) 田口信夫, 下井俊子, 観 公子, 他: 食品の苦情事例 (平成22年度), 東京健安研七報, **62**, 209-218, 2011.
- 3) 田口信夫, 下井俊子, 観 公子, 他: 食品の苦情事例 (平成22年度), 東京健安研七報, **63**, , 2011. (投稿中)

2. 食品中の急性毒性の高い農薬の迅速分析法開発に関する研究

目的

食品テロや自殺等を含めた健康被害発生時の緊急対応強化が急務となっている。急性毒性の高い農薬が食品に混入した場合、重度の健康被害を及ぼす危険性があるため、農薬の混入事例に対応できる分析法を開発する。今回は、特に健康被害防止の観点から優先度の高い有機リン系農薬、カルバメート系農薬等を対象に、加工食品中の迅速かつ簡便な迅速分析法を検討する。

方法

試料は、東京都内で市販されていたインスタントラーメン、ハクサキムチ、コンビーフ、ウナギ蒲焼き、乾燥エビ、冷凍ギョウザ、レトルトカレー、ワイン、チーズ及びバターを用いた。

検討対象農薬は、毒物及び劇物取締法により、毒物及び劇物に指定されている農薬、急性毒性の指標である急性参照用量 (ARfD) が0.01 mg/kg/日よりも低く設定されているアルジカルブ、トリアゾホス及びメタミドホス等を含む有機リン系農薬64種、カルバメート系農薬21種、ピレスロイド系農薬7種、有機窒素系農薬32種、その他の農薬7種及びこれらの異性体を含む合計131種類について検討した。

装置は、以下のものを用いた。

1) ガスクロマトグラフ

GC-FPD: GC-2010 ((株) 島津製作所製), カラム: DB-5ms (0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚0.25 μm) (Agilent社製), カラム温度: 50°C (1 min) →20°C/min→150°C (0 min) →6°C/min→300°C (5 min), 注入口温度: 250°C, 検出器

温度: 280°C, 注入量: 1 μL (スプリットレス)

2) ガスクロマトグラフ質量分析計

GC-MS: GC部6890, MSD部HP5973, カラム: DB-5ms (0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚0.25 μm) (Agilent社製), カラム温度: 50°C (1 min) →25°C/min→125°C (0 min) →10°C/min→300°C (5 min), 注入口温度: 250°C, 検出器温度: 270°C, 注入量: 1 μL (スプリットレス), インターフェース温度: 300°C, イオン化モード: EI (70 eV), 分析モード: SIM

各種条件検討の後, 作成した前処理操作法を示した (図3)。

結果及び考察

食品中の農薬分析は、様々な食品成分の影響を受けるため、煩雑で複雑な工程が必要であり、特に、ギョウザやレトルトカレー等の加工食品ではスパイスのような調味料や油脂等、測定妨害となる成分が多く含有されている。迅速性を図るために、試料を無水硫酸ナトリウムで脱水しながら酢酸エチルで抽出し、抽出液の濃縮を行わず、複数の固相抽出カラムを用いて脱脂操作と精製操作を同時に行うことにより時間を短縮し、測定までの迅速化を検討した。

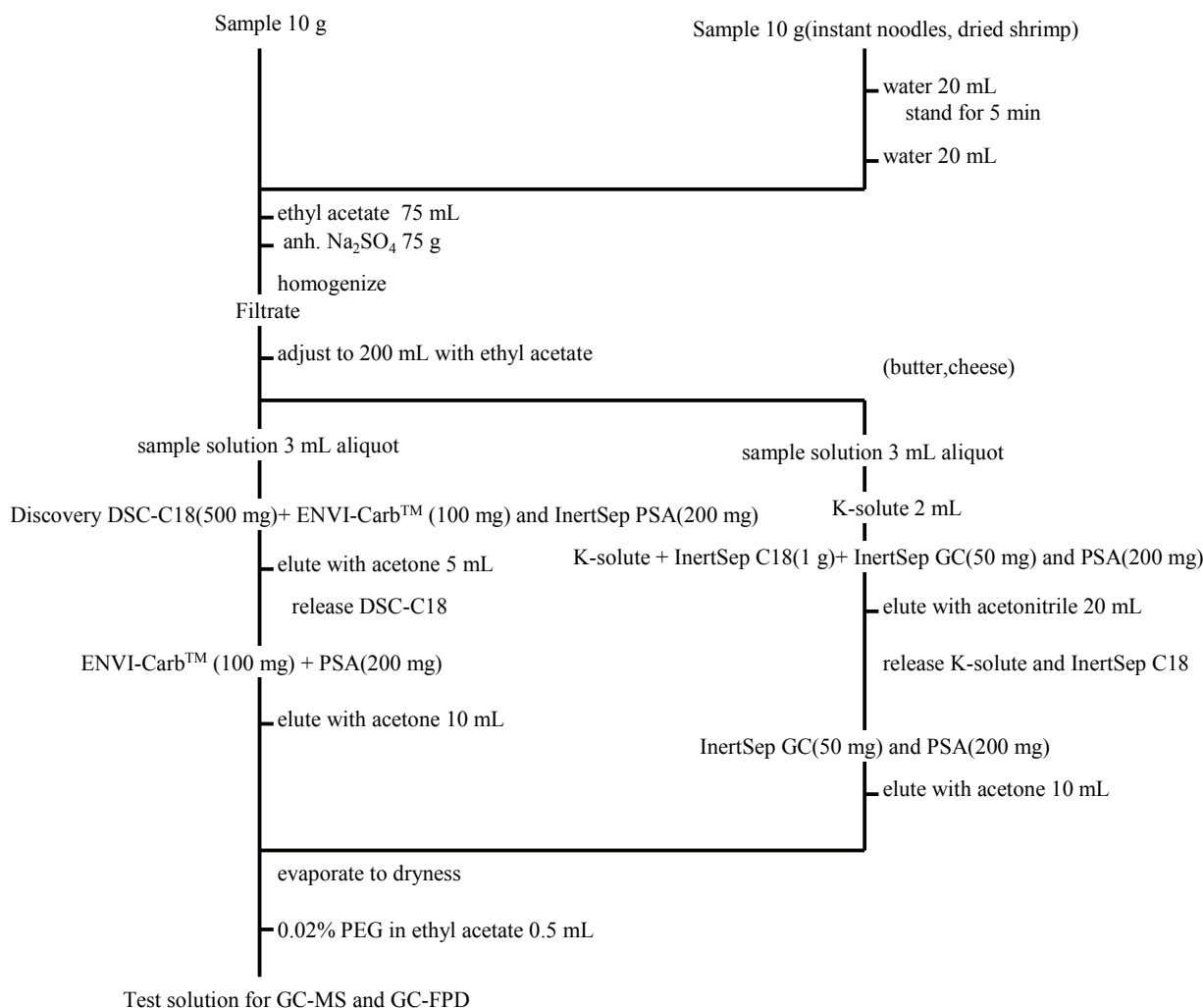
冷凍ギョウザ、レトルトカレー等の10種類の加工食品で検討対象とした131農薬の添加回収試験を行ったところ、試料によっては、食品成分の影響により回収率が40%未満と低いもの、あるいは定量が困難なほど高いものもあった。脂質の多いバターやチーズ、濃縮や醗酵による夾雑成分やアルコールの影響の考えられる乾燥エビやワイン等で定量が困難な農薬が多かった。また、多検体を連続測定すると試料成分の影響により、GC-MS及びGC-FPDではピークとして検出されなくなる現象が見られたが、いずれもマトリックス成分の分析カラムへの過負荷による影響と推察された。そこで、試料溶液を10倍に希釈して再度測定したところ、食品マトリックス成分の影響が少なくなり、回収率は概ね70~120%となった。実際の農薬混入による健康被害発生時には、数千~数万ppmの範囲で農薬が検出されている。この場合には、さらに試料溶液を希釈して対応することから、本法は、健康被害発生時の迅速分析法として十分使用できるものと考えられた。

成果の活用と今後の課題

食品に急性毒性の高い農薬が混入し、健康被害を及ぼす危険性がある事例について、従来、抽出から測定終了まで検体搬入から1検体あたり最短で約3時間要していたところを本法により約50分とすることができた。現在LC-MS/MSも導入し、分析対象農薬数の拡大を図っている。今後、本法を食品への農薬混入による健康被害発生時の検査対応に活用していく予定である。

発表実績

- 1) 加工食品試験法 I ~ 農薬高濃度残留確認迅速試験法の

図3. 加工食品中の高濃度残留農薬分析フローチャート発表実績2)

開発～, 第46回全国衛生化学技術協議会, 盛岡, 2009, 11月.

- 2) GC-MS及びGC-FPDを用いた加工食品中混入農薬の迅速分析法の検討, 食衛誌, 52, 226-236, 2011.

3. 食品中のカビ毒分析法の検討

目的

カビが産生する化学物質であるカビ毒は, 強い毒性を有するため, 食品衛生上重要な課題である. 現在, 我が国では, アフラトキシン, パツリン及びデオキシニバレノールの3種に基準値(暫定的基準)が設定されている. 各種カビ毒について汚染実態調査を行っているが, カビ毒の中には, 既存の分析法では測定が困難な食品があるため, 分析法の検討を行う.

また, 近年, 食品に故意に毒物を混入する事件が発生しており, カビ毒も使用される恐れがある. 緊急の事態に対応するため, 毒性の強い複数のカビ毒を迅速にスクリーニングできる試験法を検討する.

方法

1) パツリン

行政検査の要請があったため, 各種乾燥果実等中のパツリン分析法を検討した. 夾雑物質が多いため, GC-MSのSIMモード測定においても, 測定を妨害するピークがあり, 種々の精製法及びGC-MS測定条件について検討を行った.

2) フモニシン

既存法では回収率が低かったコーンスナック等のトウモロコシ加工品について, 抽出溶媒, 精製法, LC-MS/MS条件について, 種々の検討を行った.

3) 迅速一斉スクリーニング法

アフラトキシン, トリコテセン系カビ毒等の16種類のカビ毒を迅速に同時分析するため, 抽出溶媒, 精製法, LC-MS/MS分析条件について検討を行った.

結果及び考察

1) パツリン

抽出液の水洗, 多段階の固相抽出を行うことにより, 乾燥果実において70%以上の回収率を得ることができた.

2) フモニシン

これまで検査不能であった幅広いトウモロコシ加工品に適用できる分析法を作成した。本分析法について、代表的な5種類のトウモロコシ加工品を用いて、フモニシンB₁、B₂及びB₃の添加回収試験 (n=5) を行ったところ、回収率は88.9~109%、変動係数は0.3~2.9%と良好であり、試料あたり0.001 ppmまで定量が可能であった。また、その他の市販トウモロコシ加工品18試料についても、同様の良好な結果が得られた。

3) 迅速一斉スクリーニング法

LC-MS/MSで化学構造の異なる多種類のカビ毒を同時に測定するために、正と負のモードの切り替えが必要であったが、移動相を検討した結果、ポジティブモードのみでの分析が可能となり、感度も良好となった。

抽出及び精製法について検討を行い、回収率、精製効率が良い分析法を作成した。

個別分析法により各種カビ毒の分析結果を得るためには、試料量が最低300 g必要であり、分析に数日を要したが、本分析法では、急性毒性で健康被害が危惧される量が含有されているか否かを少量 (5 g) の試料を用いて、迅速 (3時間) に判定することができた。

成果の活用と今後の課題

多量に含まれる夾雑物質のために、これまで分析が困難であった乾燥果実等に含まれるパツリンの分析が可能となり、当センター広域監視部の調査事業「乾燥果実中のカビ毒汚染実態調査」におけるパツリンの検査に活用できた。

開発したフモニシン分析法により、既存の分析法では回収率が非常に低かったコーンスナック等の加工品中のフモニシンの分析が可能となり、今後、これまで検査対象としていなかったトウモロコシ加工品についても、行政検体として対応することが可能となった。

16種類のカビ毒について少量の試料を用いて3時間で結果の出るスクリーニング法が構築できたことにより、今後、カビ毒の混入が疑われる健康被害事件への対応や被害の未然防止に活用できる。今後、開発した分析法について論文を作成し、学術雑誌等に投稿する予定である。

発表実績

- 1) 田端節子, 岩崎由美子, 飯田憲司, 他: 穀類加工品のデオキシニバレノール及びフモニシン汚染, 日本食品衛生学会第97回学術講演会 (東京), 2009.
- 2) 田端節子, 岩崎由美子, 飯田憲司, 他: 各種果実のパツリン汚染の可能性と汚染実態, 日本食品衛生学会第98回学術講演会 (函館), 2009.
- 3) 田端節子, 松野郁子, 飯田憲司, 他: 果実加工品中のパツリン分析法の検討, 第47回全国衛生化学技術協議会年会 (兵庫), 2010.
- 4) 田端節子, 小島好恵, 市川有二郎, 他: トウモロコシ加工品中のフモニシン分析法, 日本食品衛生学会第

102回学術講演会 (秋田), 2011.

- 5) 田端節子, 小島好恵, 市川有二郎, 他: トウモロコシ加工品のHPLCによるフモニシン分析法の問題点, 第48回全国衛生化学技術協議会年会 (長野), 2011
- 6) 木村圭介, 田端節子, 飯田憲司, 他, 健康被害事故発生時におけるカビ毒の迅速簡易一斉分析法の検討, 日本薬学会第132年会 (札幌), 2012.

4. 食品, 食品添加物及び容器包装のメラミンの分析に関する研究

目的

中国におけるメラミンの牛乳や飼料への添加により2008年 (平成20年) に世界的な規模で乳製品や鶏卵を使用した加工食品中からメラミンが検出され, 大きな問題となった。また, 食品添加物である炭酸水素アンモニウムにメラミンが混入していたために, 同添加物を使用した食品にメラミンが混入したことが疑われた。さらに, メラミンはメラミン樹脂の原料であり, メラミン樹脂製の器具・容器包装から溶出することも懸念された。また, メラミン製造時に副生成するシアヌル酸は, メラミンと同時に摂取されると, これらの二つの化合物からなる複合体を形成し, より低い濃度で人体に障害を与えるとされている。

以上のことから, 本研究では食の安全確保のために, 食品, 食品素材, 食品添加物及びその製剤中に含まれ, また容器包装から溶出するメラミン及び関連化合物について試験法を作成し行政処置の根拠となるデータを提供することを目的として, 1) 食品中メラミン分析法の標準作業書 (SOP) 作成, 2) 作成した分析法の食品添加物製剤等への応用, 3) 食品中のメラミン及びシアヌル酸の分析法の作成と一日摂取量調査試料への応用, 4) メラミン樹脂で作られた食品用器具・容器包装からのメラミンの溶出実態の解明を行った。

方法

1) 食品中のメラミンのSOPの作成

厚生労働省通知のLC/MS/MSを用いる試験法例¹⁾を基に, 抽出溶媒, 抽出溶媒量を検討してSOP案となる分析法を作成した。その後, 10種類の試料に, 0.5 mg/kg (定量限界) 及び5 mg/kgの2種類の添加濃度の添加試料を2併行, 合計4検体を分析し, この分析を5日間実施した。得られた結果から回収率, 室内精度等を求め, 分析法の妥当性を評価した。

2) 方法1)の分析法の食品添加物製剤等への応用

方法1)で作成した分析法を用い, 成分規格が窒料含有量に関連する, 12試料の食品添加物及びその製剤等を分析し, 試料中のメラミン濃度を測定した。

3) 食品中のメラミン及びシアヌル酸の同時分析法の作成と一日摂取量調査試料への応用

FDAにより示された分析法²⁾に, 固相抽出後の試料溶液を濃縮して感度を向上させる等の改良を加え, LC/MS/MS

による食品中のメラミンとシアヌル酸の同時分析法を作成した。この方法を幼児用食品添加物一日摂取量調査試料48試料に適用し、試料中のメラミン及びシアヌル酸を測定した。

4) メラミン樹脂でつくられた食品用器具・容器包装からのメラミンの溶出実態の解明

市販のメラミン樹脂製容器類13試料について、水、4%酢酸、20%エタノール、ヘプタンを用いてメラミン溶出量を測定した。

また、上記の試料について食器洗浄器で50回繰り返し洗浄し、メラミン溶出量の変化を測定した。

結果及び考察

1) 食品中のメラミン分析法の作成

広範な種類の試料に適用できるよう厚生労働省から示された試験法例に改良を加え、細部を決定してSOP案を作成した。

このSOP案を用い方法1)に示した通り添加回収試験を行い、得られた結果を解析して妨害ピークの有無を確認するとともに、真度(回収率)、併行精度、室内精度等を算出し妥当性評価を行った。1名の試験者において試験品のロット違いによると思われる妨害ピーク、それに伴う真度の外れが観察されたが、おおむね回収率は94~120%、併行精度は1~8%の範囲にあることから、作成した分析法の妥当性を確認することが出来た。

2) 方法1)の分析法の食品添加物製剤等への応用

1)で妥当性が確認されたSOPを用いて方法2)で述べた食品添加物等12試料中のメラミンを分析した。いずれの試料からも定量限界値以上の濃度のメラミンは検出されなかった。

3) 食品中のメラミン及びシアヌル酸の同時分析法の作成と一日摂取量調査試料への応用

FDAにより示された食品中のメラミン及びシアヌル酸の分析法を改良し試験法を作成した。定量限界(LOQ)は、メラミン、シアヌル酸とも0.5 µg/g、検出限界(LOD)は0.05 µg/gであった。作成した分析法を用いて、平成21年に全国6都市の地方衛生研究所で作成された1~8群の幼児用食品添加物一日摂取量調査試料48試料中のメラミン及びシアヌル酸を分析した(表1)。

表1. 食品群分類表

| 群番号 | 食品群 |
|-----|-------------|
| 1群 | 調味料・嗜好飲料 |
| 2群 | 穀類 |
| 3群 | いも類・豆類・種実類 |
| 4群 | 魚介類・肉類・卵類 |
| 5群 | 油脂類・乳類 |
| 6群 | 砂糖類・菓子類 |
| 7群 | 果実類・野菜類・海藻類 |
| 8群 | 特定保健用食品 |

いずれの試料からも定量限界値以上のメラミン及びシアヌル酸は検出されなかった。4試料からは検出限界値程度のメラミンを確認することができた。FDAにより示された耐容一日摂取量(TDI)の参照値(0.063 mg/kg体重/日)を用いて計算すると、この程度の量のメラミンは、幼児において許容される食品試料中の濃度を大幅に下回っていた(表2)。

表2. 各食品群におけるメラミン測定結果

| 機関名 | 食品群 | | | | | | | |
|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|
| | 1群 | 2群 | 3群 | 4群 | 5群 | 6群 | 7群 | 8群 |
| A | ND | ND | ND | ND | ND | ND | Tr | ND |
| B | ND | ND | ND | ND | ND | ND | Tr | ND |
| C | ND | ND | ND | ND | ND | ND | Tr | ND |
| D | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| E | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| F | ND | ND | ND | ND | ND | ND | Tr | ND |

ND : <0.05 µg/g (LOD) , 0.05µg/g ≤ Tr < 0.5µg/g (LOQ)

4) メラミン樹脂でつくられた食品用器具・容器包装からのメラミンの溶出実態の解明

メラミン樹脂製品からの溶出液中に含まれるメラミンのLC/MS/MSによる定量法を整備した。溶出液中のメラミンの定量限界は5 ng/mLであった。水を用いたときの溶出量は5~110 ng/cm²であった。4%酢酸を用いたときは10~150 ng/cm²であり、各試料において水溶出量の0.8~6倍であった。20%エタノールでは同様に水溶出量の0.6~2倍、ヘプタンでは水溶出量の最大0.1倍であった。13試料中11試料で4%酢酸における溶出量が最も多いことから、メラミンは酸性食品に移行しやすい傾向があると推察された(表3)。

表3. 各種メラミン樹脂製容器からのメラミン溶出

| 試料 | 溶出量(ng/cm ²) | | | |
|-------|--------------------------|------|--------------|------|
| | 水 | 4%酢酸 | 20% エタノール | ヘプタン |
| 小鉢-A | 5.4 | 32 | 27 | ND |
| 小鉢-B | 5.4 | 10.0 | 8.8 | ND |
| 小鉢-C | 35 | 39 | 33 | ND |
| 小鉢-D | 60 | 100 | 42 | ND |
| 皿-A | 47 | 38 | 28 | ND |
| 皿-B | 13 | 29 | 27 | ND |
| 皿-C | 110 | 150 | 55 | ND |
| 皿-D | 7.5 | 11 | 7 | ND |
| 茶碗-A | 71 | 120 | 60 | ND |
| 茶碗-B | 5.0 | 88 | 7 | ND |
| コップ-A | 23 | 64 | 16 | ND |
| コップ-B | 62 | 150 | 54 | 8.3 |
| れんげ | 19 | 14 | 15 | ND |

ND<5.0 ng/cm²

また、メラミン製品は丈夫なため食器洗浄機の使用が可能とされている。そこで、繰り返し食器洗浄機を使用したときのメラミン溶出量を測定したところ、洗浄機使用前の溶出量が最も多く、50回洗浄後の測定値は、使用前の6~34%に減少していた。また、試料から溶出されたメラミンがすべて食品に移行した場合の食品中メラミン量は、計算上最大0.19 mg/kgとなり、国の通知法における食品中のメ

ラミン定量限界の1/2以下であった (図4)。

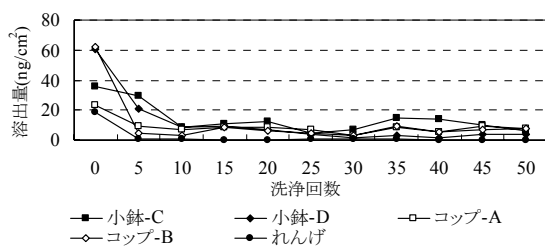


図4. 食器洗浄機使用後のメラミン溶出量

成果の活用と今後の課題

食品中のメラミン分析法のSOPを整備したことにより、行政から依頼される検査に的確に対応することができるようになった。本法は、食品添加物やその製剤等へも応用できることが証明され、これらの検査にも対応できるようになった。別にメラミンとシアヌル酸の同時分析法を作成した。また、容器包装類については、メラミン樹脂製容器類から溶出する微量のメラミン分析法を作成した。これらについて今後、SOPとして整備することにより、検査依頼に対応が可能と考える。

今後もメラミンに汚染された食品が流通する可能性はあり、特に中国産の乳製品についてこれからもメラミンやシアヌル酸等関連化合物の検査を行い、安全性を担保する必要がある。また、今後もさらに一日摂取量調査試料中のメラミン及び関連化合物の分析を行い、安全性を担保する必要がある。さらに、有害であると思われるメラミン関連物質は他にもあることから、食品中のこれらの物質の検査法を整備することも必要である。

文献

- 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長：食安監発第1002002号，食品中のメラミンの試験法について（通知），2008。
- FDA: Laboratory Information Bulletin No.4422, 2008.

発表実績

- 羽石奈穂子，金子令子，中里光男：食器洗浄機を用いたメラミン製品のメラミン及びホルムアルデヒドの溶出量調査，日本食品化学学会第16回総会・学術講演会（大阪），2010。
- 羽石奈穂子，金子令子，小林真理，中里光男，植松洋子：メラミン樹脂製品のメラミン及びホルムアルデヒド溶出量調査，東京健安研七報，61, 199-204, 2010。
- 宮川弘之，安井明子，貞升友紀，荻本真美，羽石奈穂子，植松洋子：LC/MS/MSによる食品添加物一日摂取量調査試料中のメラミン及びシアヌル酸の分析，平成23年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部理化学研究部会（群馬県前橋市），2012。
- 宮川弘之，安井明子，貞升友紀，荻本真美，羽石奈穂

子，小林千種，植松洋子：食品中のメラミンの定量法の検討，東京健安七報，63，，2012（投稿中）

5. 食品中の有害性金属等の迅速分析法の開発

目的

本研究では、食中毒、食品苦情等、食品中の有害性金属類に起因する健康被害発生時に速やかにその原因物質を解明するための迅速簡易分析法を開発することを目的とした。

方法

1) 誘導結合プラズマ発光分光分析装置（以下ICP-AESと略す）を用いた方法の検討

健康被害発生時に、手馴れた日常検査法で対応できることが望ましいことから、現在使用している清涼飲料水成分規格試験の検査法を用い、食品中に混入する可能性のある有害元素類及び過去に人為的に混入された有害元素類、銅 (Cu)、スズ (Sn)、鉛 (Pb)、水銀 (Hg)、ヒ素 (As)、亜鉛 (Zn)、セレン (Se)、クロム (Cr)、タリウム (Tl)、カドミウム (Cd) 及びゲルマニウム (Ge) の11元素について、ICP-AESによる迅速なスクリーニング法を検討した。

2) 誘導結合プラズマ質量分析計（以下ICP-MSと略す）を用いた方法の検討

健康被害が発生した際、その原因究明のために使用できる検査対象試料量が極少量に限られる場合が想定されることから、より高感度なICP-MSによる方法を検討した。

3) 多元素高感度迅速分析法の開発

試料の前処理における硫酸・硝酸分解法を改良し、その後の分析をICP-AES及びICP-MSを併用して69元素を同時に高感度迅速分析する手法を開発した (図5)。

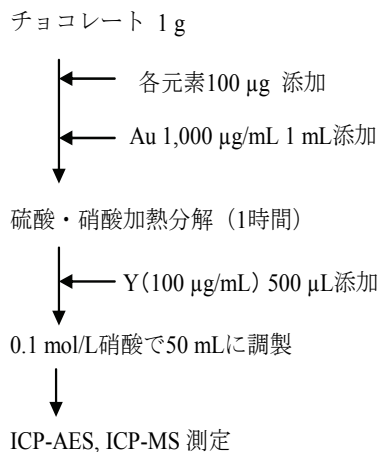


図5. 有害性金属迅速分析フローチャート

結果及び考察

1) ICP-AES法の添加回収試験として、チョコレート1gに対し各標準元素100 µgを添加し、その回収率を求めた (表4)。その結果、セレン (回収率39%) 及び水銀 (回収率64%) を除く9元素について、86~118%と良好な回収率が得られた (n=3)。セレン及び水銀の低回収率は分解処

理時における揮散のためと思われた。水銀の回収率についてはさらに検討が必要であるが、セレンについては、分解時にロジウムを1mg添加することにより揮散が回避できた(回収率95%)。一般的に、従来のケルダールフラスコを用いた湿式分解法は、秤量から定量までの時間は一日程度必要といわれているが、我々が清涼飲料水成分規格試験で使用している硫酸添加硝酸分解法を用いた結果では、秤量から定量まで3時間程度で終了することができ、健康被害発生時の迅速な定量に本法は有用と考えられた。

表4. ICP-AES法による11元素の添加回収実験

| 元素名/ 測定波長(nm) | 回収率 (%) | C.V. (%) |
|------------------|------------|-------------|
| Cu / 324.7 | 96.5 | 2.8 |
| Sn / 189.9 | 91.4 | 2.4 |
| Pb / 220.3 | 95.9 | 2.3 |
| Hg / 184.9 | 64.0 | 3.9 |
| As / 193.7 | 118.0 | 1.6 |
| Zn / 202.5 | 99.6 | 5.7 |
| Se / 196.0 | 38.7 | 50.1 |
| Cr / 267.7 | 99.2 | 8.3 |
| Tl / 351.9 | 98.1 | 3.7 |
| Cr / 267.7 | 94.2 | 3.1 |
| Ge / 209.4 | 86.4 | 1.5 |

試料：チョコレート，C.V.：変動係数

2) ICP-MS法では、試料量が少ない場合に特に有効であり、前処理開始から測定終了までの総分析所要時間は2.5時間程度であり、より多くの金属を高感度で分析できることがわかった。

本法の分析精度についてFAPAS外部精度管理プログラムへの参加並びに認証標準物質の購入を通して確認した。FAPASプログラムの結果では、カドミウム(Cd)濃度 0.134 ± 0.008 mg/kg (FAPAS 07126, Cd Assigned value 0.137 ± 0.023 mg/kg), 認証標準物質 Corn Branでの結果では、Cd濃度 0.010 ± 0.000 mg/kg (NIST SRM 8433, Cd Assigned value : 0.012 ± 0.05 mg/kg) が得られ、十分な分析精度があることを確認できた。

3) 多元素同時分析を特徴とするICP-AES及びICP-MS分析機器をフル活用するため、69元素同時分析に対応できる混合標準溶液を作成し、半定量分析メソッドを作成した。硫酸・硝酸分解法による前処理法をさらに少量化した結果、1時間程度の短時間で分析用の試料調製が可能になった

(図6)。また、本試験溶液を用いて、ICP-AES及びICP-MSの両機器の同時並行分析が可能となった。食品を用いた添加回収試験を行った結果、80%以上の良好な回収率を得ることができた。

図6. 多元素高感度同時分析法の対象元素

■で示す69元素を分析対象とした。

成果の活用と今後の課題

本法は簡易迅速に食品中の有害性金属の存在を把握できる方法であることから、緊急時には極めて有効な手法と考える。今回の検討では試料の前処理に開放系で酸分解操作を行うため、水銀、セレンのような揮散しやすい元素の回収率の低下は免れず、両元素の回収率は50%程度であった。今後、密封系での酸分解すなわちマイクロウェーブを用いた酸分解装置を導入することにより、これらの元素についても揮散を防ぎ、回収率の向上を目指したい。健康安全部食品監視課からの食中毒、食品苦情検体及び当センター広域監視部食品監視指導課からの有害性金属類に起因すると思われる健康被害発生時に本法を用いて速やかに原因物質を解明することで、迅速な行政の対応が可能となり、消費者の健康被害拡大を防止できると考える。

6. 健康食品中の医薬品成分迅速探索法と新規検出成分の解明

目的

インターネットが普及した昨今では、健康食品の販売や購入が手軽になっているが、製品の品質は様々である。健康食品中には、効果を高めるために医薬品成分が添加される事例が後を絶たない。中でも強壮やダイエットを目的とした健康食品には、既存の医薬品成分(シルデナフィル、シブトラミン等)のみならず、その類似体や医薬品として開発された経緯を持つ化合物が検出されることがある。これらの類似体や新規検出成分は人体に対する安全性が明らかではなく、摂取した際には健康被害が懸念される。こうした健康被害を未然に防止するため、健康食品中の医薬品成分や新規検出成分等の解明における迅速化を目指した。

方法

1) 試料溶液の調製

超高速LC/PDAライブラリー等作成のため、医薬品研究科で保有する医薬品標準品約900化合物を秤取し、50% MeOHで約10 ppmとなるように調製した。ただし、50% MeOHに溶解性の低い水溶性化合物については水を用い、脂溶性化合物については100% MeOHを用いて溶解した。

2) 超高速LC/PDA及びMS条件

カラム：ACQUITY UPLC HSS C18 (1.8 μm , 2.1 mm i.d., LC/PDAは50 mm, LC/MSは150 mm), カラム温度：50°C, 流速：0.6 mL/min (LC/PDA) 及び0.4 mL/min (LC/MS), 移動相：A液-5 mMギ酸アンモニウム5%アセトニトリル (ギ酸でpH 3.0), B液-0.1%ギ酸含有アセトニトリルのグラジェント, 注入量：1 μL , PDA検出波長：210 nm~400 nm, MS条件：ESIモード, コーン電圧20 V~100 V, スキャン範囲m/z 50~800.

3) 新規収集化合物

新規検出成分の迅速化を目的として, 本研究期間に新たに収集及びスペクトルデータを蓄積した phosphodiesterase-5阻害作用化合物20種と既保有化合物12種を表5に示す.

表5. Phosphodiesterase-5阻害作用化合物 (新規収集及び既保有化合物)

| Name | Exact Mass | Chemical Formula |
|------------------|------------|--|
| シルデナフィル | 474.20 | C ₂₂ H ₃₀ N ₆ O ₄ S |
| ホモシルデナフィル | 488.22 | C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S |
| ヒドロキシホモシルデナフィル | 504.22 | C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₅ S |
| ノルネオシルデナフィル | 459.19 | C ₂₂ H ₂₉ N ₅ O ₄ S |
| メチソシルデナフィル | 488.22 | C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S |
| デスマチシルデナフィル | 460.19 | C ₂₁ H ₂₈ N ₆ O ₄ S |
| ウデナフィル | 516.25 | C ₂₅ H ₃₆ N ₆ O ₄ S |
| ベンゾキシホモシルデナフィル | 608.24 | C ₃₀ H ₃₆ N ₆ O ₆ S |
| チオデナフィル | 490.18 | C ₂₂ H ₃₀ N ₆ O ₃ S ₂ |
| チオアイルデナフィル | 504.20 | C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₃ S ₂ |
| ホモチオデナフィル | 504.20 | C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₃ S ₂ |
| ヒドロキシチオホモシルデナフィル | 520.19 | C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S ₂ |
| ホンデナフィル | 466.27 | C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₃ |
| ヒドロキシホンデナフィル | 482.26 | C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₄ |
| ゲンデナフィル | 354.17 | C ₁₉ H ₂₂ N ₄ O ₃ |
| カルボデナフィル | 452.25 | C ₂₄ H ₃₂ N ₆ O ₃ |
| デスエチルアセチルデナフィル | 438.24 | C ₂₃ H ₃₀ N ₆ O ₃ |
| ビベリジノアセチルデナフィル | 437.24 | C ₂₄ H ₃₁ N ₅ O ₃ |
| ノルホンデナフィル | 452.25 | C ₂₄ H ₃₂ N ₆ O ₃ |
| アセチルアシッド | 356.15 | C ₁₈ H ₂₀ N ₄ O ₄ |
| ヒドロキシチオホンデナフィル | 498.24 | C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₃ S |
| バルデナフィル | 488.22 | C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S |
| ヒドロキシバルデナフィル | 504.22 | C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₅ S |
| プソイドバルデナフィル | 459.19 | C ₂₂ H ₂₉ N ₅ O ₄ S |
| デスエチルバルデナフィル | 460.19 | C ₂₁ H ₂₈ N ₆ O ₄ S |
| イミダゾサガトリアジノン | 312.16 | C ₁₇ H ₂₀ N ₄ O ₂ |
| タダラフィル | 389.14 | C ₂₂ H ₁₉ N ₃ O ₄ |
| アミノタダラフィル | 390.13 | C ₂₁ H ₁₈ N ₄ O ₄ |
| クロロプレタダラフィル | 426.10 | C ₂₂ H ₁₉ ClN ₃ O ₅ |
| ムタプロデナフィル | 629.22 | C ₂₇ H ₃₅ N ₉ O ₅ S ₂ |
| キサントアントラフィル | 389.16 | C ₁₉ H ₂₃ N ₃ O ₆ |
| チオキナビペリフィル | 448.20 | C ₂₄ H ₂₈ N ₆ O ₅ S |

結果及び考察

1) 超高速LC/PDAライブラリー等の作成

健康食品に含有される違法な成分が, 既知の医薬品成分であるか新規検出成分であるかを迅速に判別するために, 超高速LCライブラリーを作成した.

(1) LC条件を検討した結果, カラムには汎用性の高いC18カラムを用いることとし, スクリーニングを目的として使用することが多い超高速LC/PDAには, 分析時間短縮化の観点から50 mmのものを用いることとした. 一方, 超

高速LC/MSでは, 同様にC18カラムを用いることとしたが, 確認目的で用いることが多いことから, 高分離の得られる150 mmを用いることとした.

移動相には, PDAとMSのデータ比較を可能とするため同一の溶液を用い, 5 mMギ酸アンモニウム5%アセトニトリル (ギ酸でpH 3.0) と0.1%ギ酸含有アセトニトリルによるグラジェント分析を行うこととした.

この条件下で分析して得られた個々のPDAスペクトルを機器に登録し, PDAライブラリーを作成した. MSについては, 機器による検索に時間を要することが判明したため機器への登録は行わず, データベースとして保存し, Excelファイルと組み合わせて活用することとした.

(2) 本データベースの作成により, 行政検体として搬入される健康食品試買検体, 健康被害が疑われる事故・苦情検体, その他違法ドラッグに含有される医薬品成分等に含有される医薬品成分を探索する際に, 標準品を同時に分析することなくスクリーニングすることが可能となった. また, 超高速LCを用いることにより, 1分析に90分かかってきたこれまでの分析時間を約1/5に短縮することができた.

2) 新規検出成分の迅速化

違反事例が多い強壮系健康食品に含有される可能性の高い化合物として, phosphodiesterase-5阻害作用を持つ化合物に着目し, これらの新規検出成分を迅速に解明するための検討を行った.

(1) 新規検出成分を検出した場合に備え, 既存保有標準品12種に加え, 新たに20種を収集し, その¹H-NMR, PDA, MSスペクトルデータを蓄積した. また, 標準品が入りできなかった化合物については, 文献よりスペクトルデータを収集した. これにより, 新規phosphodiesterase-5阻害作用成分を検出した場合には, 蓄積した各種スペクトルデータを活用すると共に, 構造解析に有用な手法として新たに導入した¹H-¹⁵N NMRを用いることにより, 構造決定までの時間を短縮することが可能となった.

(2) Phosphodiesterase-5阻害作用を有する化合物の中で, 分子量やUVスペクトルが同じであり, クロマト上での挙動が酷似している化合物類について識別方法を検討した. 図7にion-trap MS/MSスペクトルを1例として示したが, UVスペクトル及び分子量が同じであるチオアイルデナフィルとホモチオシルデナフィル (いずれも分子量504.20) 及びアイルデナフィルとホモシルデナフィル (いずれも分子量488.22) は, m/z 90以下及びm/z 400~480に出現するマスマフラグメントの違いにより, 識別が可能であった. このように, MS, ion-trap MS/MS, GC/MSに出現するスペクトルの違いから, 類似化合物が識別可能であることを明らかとした.

成果の活用と今後の課題

1) 成果の活用

例年, 東京都で実施している健康食品の試買調査のみならず, 健康被害が疑われる事故・苦情検体, 無承認無許可

医薬品, その他違法ドラッグに含有される医薬品成分等の探索に活用できる. また, 新規検出成分を検出した際には, 収集した標準品やスペクトルデータにより, 構造解明の迅速化に活用できる.

2) 今後の課題

(1) 健康食品には, 原材料由来の夾雑成分が多数含まれる. 既知医薬品成分と新規検出成分との判別をさらに迅速化するためには, 健康食品に含まれる医薬品成分だけでなく, 添加物や原料由来成分等についても, ライブラリー登録を進める必要がある.

(2) 新規検出成分は, 構造解析により化合物の特定は可能でも, 定量用標準品を確保することが難しい場合が多々ある. このため, 標準品を用いない定量法, q-NMR等の開発が必要である.

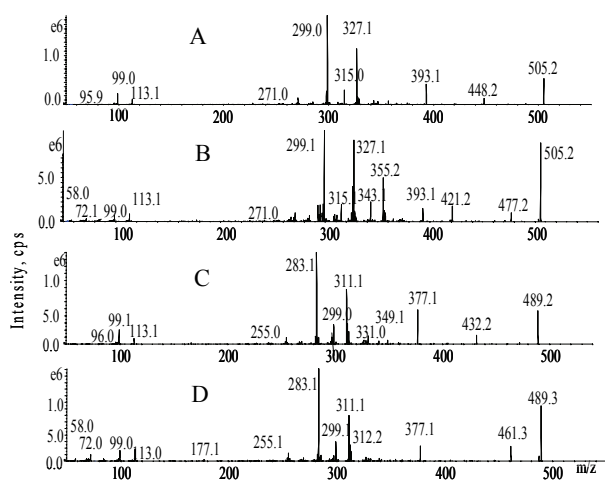


図7. チオアイルデナフィル, ホモチオデナフィル, アイルデナフィル及びホモシルデナフィルの ion-trap MS/MS スペクトル

A:チオアイルデナフィル, B:ホモチオデナフィル, C:アイルデナフィル, D:ホモシルデナフィル

発表実績

- 1) 蓑輪佳子, 守安貴子, 岸本清子, 門井秀郎, 中嶋順一, 坂本美穂, 森謙一郎, 荻野周三, 安田一郎: 強壮効果を標榜する健康食品から検出された医薬品成分の分析事例, 第42回日本薬剤師会学術大会 (大津), 2009.
- 2) 守安貴子, 蓑輪佳子, 門井秀郎, 岸本清子, 中嶋順一, 坂本美穂, 鈴木仁, 長嶋真知子, 金井千恵子, 清水雅子, 森謙一郎, 荻野周三: 無承認無許可医薬品検査へのアプローチ, 第46回全国薬事指導協議会 (佐賀), 2009.
- 3) 坂本美穂, 蓑輪佳子, 岸本清子, 門井秀郎, 守安貴子, 森謙一郎, 荻野周三: 超高速液体クロマトグラフ/質量分析計による強壮系薬物の検索法, 液体クロマトグラフィ研究懇談会 第15回LCテクノプラザ (千葉), 2009.
- 4) Takako Moriyasu, Miho Sakamoto, Keiko Minowa, Kiyoko

Kishimoto, Hideo Kadoi, Tomoko Hamano, Haruhiko

Fukaya, *J. AOAC Int.*, **94**, 1770-1777, 2011.

- 5) 守安貴子, 蓑輪佳子, 岸本清子, 坂本美穂, 門井秀郎, 中嶋順一, 濱野朋子, 中江大, 健安研七 年 報, **62**, 25-40, 2011.

7. 化学物質分析に用いる標準品の取扱に関する研究

目的

食品衛生検査の信頼性を確保し, 検査の精度を向上させるため, 試験の際に基準となるべき標準品の取扱及び管理が重要である. 標準品はメーカーより提供され分析に供しているが, これら標準品の取扱いについて検討した例は少ない^{1,2)}. そこで, 市販標準品の品質管理 (保存性等) について調べ, その知見より検査精度を確保し, ひいては食の安全に資することを目的として研究を行った.

方法

市販標準品の一例として有機リン系農薬 (20種), EPN, アセフェート, クマホス, クロルピリホス, ジクロルボス, ジメトエート, ダイアジノン, チオメトン, バミドチオン, パラチオン, フェニトロチオン, フェントエート, ホサロン, ホスホチアゼート, ホスファミドン, ホレート, マラチオン, メタミドホス, モノクロトホス (いずれも和光純薬製) を用いた. これらの1000 µg/mLと1 µg/mLのアセトン溶液を作製し, 褐色ガラス製高気密保存びんを用い, 冷蔵 (4°C) 及び冷凍 (-20°C) 下で保存し, 定期的にその濃度を測定することにより経時的な変化を観察した. 測定はAgilent社製GC7890 (FPD検出器付き) を用い, 厚生労働省通知試験法³⁾により行った.

結果及び考察

有機リン系農薬20種を定期的に測定したところ, 測定開始から18ヶ月経過した時点においては特段の変化は認められなかった (表6). このことから標準品は適切に管理されれば, 比較的安定した状態である程度長期間試験に供することができるものと考えられる. ただし, 標準品溶液は実際の試験では冷却下から室温への温度変化, 容器の開閉等が頻繁に行われることが予想され, このような点を考慮して一回ずつの小分けにして密封保存しておく等, 取り扱われるべきであると考えられる.

成果の活用と今後の課題

標準品は適切な保存条件下ではある程度長期 (18ヶ月) に試験に供することができることを確認できた. このことは標準品の有効期限設定の参考となるものと考えられる. ただし, 実際の試験においては, 頻繁な温度変化や開封等, 他の条件も加味することが必要である.

今回は, 農薬といった一部の化合物に限った実験結果であるが, 今後は他の化合物についても検討していく必要がある. また, 市販混合標準品はメーカーにより混合状況が

異なるが、その安定性や相互作用についての知見は得られていない。そこで、今後それらの相互作用等を考慮した検討が必要になるものと考えられる。

文献

- 1) 平原嘉親, 成田美加子, 岡本浩一郎, 他: 衛生化学, **40**, 393-398, 1994.
- 2) 小山和志, 山本昭彦, 本間健, 他: 長野県環境保全研究所研究報告, **7**, 69-74, 2011.
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長: 食安発第0124001号, 食品に残留する農薬, 飼料添加物及び動物用医薬品の成分である物質の試験法 (通知), 2005.

表6. 標準品の濃度変化 (1 µg/mL) (冷蔵)

| 品名/保存期間(月) | (n=2) | | | |
|-------------|-------|------|------|------|
| | 0 | 6 | 12 | 18 |
| 1 EPN | 1.00 | 0.98 | 0.98 | 0.99 |
| 2 アセフェート | 1.00 | 0.99 | 0.99 | 0.98 |
| 3 クマホス | 1.00 | 0.99 | 0.98 | 0.99 |
| 4 クロルピリホス | 1.00 | 0.98 | 0.99 | 0.98 |
| 5 ジクロルボス | 1.00 | 0.99 | 0.98 | 0.97 |
| 6 ジスルホトン | 1.00 | 0.98 | 0.98 | 0.98 |
| 7 ジメトエート | 1.00 | 0.99 | 0.98 | 0.98 |
| 8 ダイアジノン | 1.00 | 0.98 | 0.98 | 0.99 |
| 9 チオメトン | 1.00 | 0.98 | 0.98 | 0.98 |
| 10 パミドチオン | 1.00 | 0.99 | 0.98 | 0.99 |
| 11 パラチオン | 1.00 | 0.98 | 0.98 | 0.98 |
| 12 フェニトロチオン | 1.00 | 0.99 | 0.99 | 0.99 |
| 13 フェントエート | 1.00 | 0.97 | 0.98 | 0.98 |
| 14 ホサロン | 1.00 | 0.98 | 0.98 | 0.98 |
| 15 ホスチアゼート | 1.00 | 0.99 | 0.99 | 0.99 |
| 16 ホスファミドン | 1.00 | 0.98 | 0.99 | 0.98 |
| 17 ホレート | 1.00 | 0.98 | 0.98 | 0.98 |
| 18 マラチオン | 1.00 | 0.99 | 0.98 | 0.98 |
| 19 メタミドホス | 1.00 | 0.98 | 0.98 | 0.98 |
| 20 モノクロトホス | 1.00 | 0.99 | 0.99 | 0.98 |

8. 精度管理試料の作製に関する研究

目的

食の安全性を確保するため食品衛生検査は不可欠である。その信頼性を確保し、検査の精度を維持するために、精度管理は必須である。その精度管理において重要である精度管理試料について検討し、適切な精度管理の実施に資することを目的とする。

ここでは、精度管理試料の市販状況調査からその活用、及び自家調製試料の精度管理試料利用への問題点を検討した。

方法

1) 市販試料の応用

英国食料環境研究庁 (The Food and Environment Research Agency, FERA)では、精度管理調査 (Food Analysis Performance Assessment Scheme, FAPAS) を実施している。この残余試料が市販されているので、これらを手し、精

度管理に応用することを試みた。

2) 自家調製試料の作製

(1) 清涼飲料水 (スポーツ飲料) の応用 (図8A)

スポーツ飲料に保存料 (0.1 g/kg安息香酸及び0.01 g/kgパラオキシ安息香酸エステル) を添加し、その安定性を経時的に観察した。

(2) 固形食品 (いちごジャム) の応用 (図8B)

保存料 (0.5 g/kgソルビン酸) と着色料 (食用赤色102号) を添加した。「いちごジャム」の製造及び150 g保存びんへの滅菌密封を専門業者に委託した。その均一性及び冷蔵保存時における安定性を添加物無添加のジャムと比較しながら、経時的に観察した。

添加物の測定は両者ともWaters社製600 Pump (PDA検出器付) を用い、食品中の食品添加物分析法¹⁾に従って行った。



A

B

図8. 精度管理用モデル試料

A: 清涼飲料水 (スポーツ飲料)

B: 固形食品 (いちごジャム)

結果及び考察

1) 市販試料の応用

FAPASの試料を用いて検査を実施したところ、十分精度管理に応用できるものであった。食品添加物、残留農薬等、対象項目も種々あり、定量分析を行うものについては多数施設の結果が統計学的に処理され提供されるので、有用であると考えられる。ただし、入手できる数量が限定されていることや価格が高いことが問題点である。

2) 自家調製試料

(1) 清涼飲料水の応用

保存料を添加した清涼飲料水 (スポーツ飲料) は、冷蔵保存下1年間その安定性を観察したが精度管理試料として、特に問題なく使用でき、日常の精度管理に応用できることが確認された (表7)。

(2) 固形食品の応用

保存料及び着色料を添加したいちごジャムは、冷蔵保存下において1年間、保存料及び着色料に変化は認められず、精度管理試料として問題なく使用でき日常の精度管理に応用できることが確認された (表8)。また、複数の試料のばらつきについても検討したが、特に問題なく、均一に調製されていることが確認された (表9)。

表7. スポーツ飲料中の安息香酸、パラオキシ安息香酸エステルの経時変化

| 品名/保存期間(月) | (n=2) (g/kg) | | | | | | |
|---------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 |
| 安息香酸 | 0.11 | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.10 | 0.10 |
| パラオキシ安息香酸エステル | 0.009 | 0.010 | 0.008 | 0.008 | 0.008 | 0.008 | 0.009 |

表8. いちごジャム中のソルビン酸の経時変化

| 品名/保存期間(月) | (n=3) (g/kg) | | | | | | |
|------------|--------------|------|------|------|------|------|------|
| | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 |
| ソルビン酸 | 0.48 | 0.48 | 0.47 | 0.48 | 0.47 | 0.48 | 0.48 |
| 変動係数(%) | 1.7 | 1.6 | 2.1 | 1.2 | 1.5 | 1.2 | 1.5 |

表9. いちごジャム試料の均一性試験結果

| 試料 | n | (day=0) | |
|-----|---|------------|----------|
| | | 平均値 (g/kg) | 変動係数 (%) |
| A | 5 | 0.48 | 2.1 |
| B | 5 | 0.48 | 2.1 |
| C | 2 | 0.47 | — |
| D | 2 | 0.47 | — |
| E | 2 | 0.47 | — |
| 無添加 | 2 | 0.00 | — |

ジャム50本中5本を無作為抽出してソルビン酸量を測定

成果の活用と今後の課題

1) 市販試料の活用

市販されている精度管理試料の種類は必ずしも多くないが、FAPASの試料は分析結果が提供されること、試験項目も比較的多いこと等、その有用性は高い。数量が限定されていることや高価である等の問題点は残るが、自家調製が困難なものも提供されており、試験項目によっては、利用価値が高いと考えられる。これらの試料の活用は精度管理に役立つことを明らかにした。

2) 自家調製試料

自家調製試料は比較的安価に作製できることから、均一性や安定性が確保できれば精度管理に応用するには適切なものと考えられる。自家調製できる試験項目は限定されるものの、今回報告したスポーツ飲料やジャムのように自家調製試料の活用は精度管理に有効であることが明らかとなった。今後は、その他の試験項目について自家調製が可能であるかどうか検討していく必要があると考える。

文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全全部基準審査課長：食安基発0528第3号、食品中の食品添加物分析法の改正について（通知）、2010。

ま と め

以上、食の安全性確保に係わる化学物質に関する8つの個別テーマについて概説した。

本研究の第一の目的である健康被害発生時における迅速対応システムの構築に関しては、初動対応に必要な情報やデータを数多く掲載した検査迅速対応マニュアルを作成し、緊急時において検査事例の活用が可能となる苦情検査事例等のデータベースを作成できた。今後の活用が期待される。

第二の目的である分析法の開発に関しては、急性毒性の高い農薬、カビ毒、メラミン、有害性金属、健康食品中の医薬品成分について、それぞれ迅速分析法の開発と実用性検証を完了したことで当初の目的をほぼ達成した。

第三の目的である精度管理手法の開発に関しては、標準品の保存方法や精度管理用試料の均一性、安定性について限定的ではあるが、一定の水準を知ることが出来た。今後の精度管理への活用が期待される。

今回のプロジェクトにより得られた成果は、当センターの検査対応態勢をより強化し、食を介した健康被害発生時における速やかな原因究明に有効と考える。また、これらを通じた的確な治療と被害拡大の防止に繋がるものと期待される。今後、さらにシステムの性能向上、データの蓄積、分析法の開発・改良に取り組み、様々な行政施策を支えていきたい。

Research on Chemicals in Food Safety Assurance

Ichiro TAKANO^a, Tsuneo HASHIMOTO^a, Mitsuo OISHI^a, Hirofumi USHIYAMA^a, Kenji FUJINUMA^a, Keisuke KIMURA^a, Nobuo TAGUCHI^a, Yuki SADAMASU^a, Mitsuo NAKAZATO^{a,b}, Keiko HIRATA^a, Hiroko MATSUMOTO^a, Nobuyuki KAMIYA^a, Maki KOBAYASHI^a, Kenji OTSUKA^a, Yasuhiro TAMURA^a, Sanae TOMIZAWA^a, Teruaki KINOSHITA^a, Kyouko KAMIJO^a, Keiko IWAKOSHI^a, Yuriko KAGEYAMA^a, Chizuko SATO^a, Toshihiro NAGAYAMA^a, Setsuko TABATA^a, Yumiko IWASAKI^a, Kenji IIDA^a, Ikuko MATSUNO^a, Yosie KOJIMA^a, Hiroyuki MIYAGAWA^a, Akiko YASUI^a, Mami OGIMOTO^a, Nahoko HANEISHI^a, Yoko UEMATSU^a, Hideki OZAWA^a, Masasi KAYASIMA^a, Rie MORIUCHI^a, Takako MORIYASU^a, Keiko MINOWA^a, Hideo KADOI^a, Jyunichi NAKAJIMA^a, Kiyoko KISHIMOTO^a, Miho SAKAMOTO^a, Aya NAKAMURA^a, Masako SHIMIZU^a, Tomoko HAMANO^a, Dai NAKAE^a, Kenichiro MORI^a, Syuzo OGINO^a, Hideki HASHIMOTO^a, Yukiko SASAKI^a, Hisae OISHI^a, Hisatoshi MIKURIYA^a, Kanako SATO^a, Junichi NAKAGAWA^a, Akihiro IBE^{a,c}, Kenichi OYAMA^a, and Kumiko YAGUCHI^a

From fiscal years 2009 to 2011, the Tokyo Metropolitan Institute of Public Health worked on the following projects to strengthen the responsiveness to health hazards due to chemical substances. The study consisted of 8 projects to create an initial response system for health hazards, develop analytical methods to identify the causes of health hazards, and ensure the reliability of such examinations. The details are as follows. 1) An initial response system to health hazards due to food-derived chemical substances has been developed. A database system of analytical methods for chemical or natural food poisoning has been established. 2) Fast and easy methods for detecting the residues of acutely toxic pesticides and the pesticides in which many cases of accidental poisoning were reported have been developed and validated for practical use. 3) A single analytical method for contamination surveys and a multiple screening method to investigate the causes of health damage related to mycotoxin in food have been developed. 4) An easy detection method for melamine-related substance residues in food and food additives has been established and used to investigate residues from containers. 5) Fast methods of detection of hazardous metals in food through a simultaneous multi-element analysis system have been developed. 6) A quick research method for the medicinal constituent in so-called health foods by an ultra-fast liquid chromatograph library has been developed. A method developed for structural analysis of unknown medicinal constituents reduced analytical time. 7) A quality assurance method for chemical standards has been developed. 8) A method to prepare samples for the accuracy control has been developed. The development of these analytical methods has improved health risk management.

Keywords: chemical substance, health hazard, initial response system, food poisoning, database, analytical method, pesticide, mycotoxin, melamine, injurious metal, health food, medicinal constituent, quality assurance

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

^b Tokyo Kenbikyoin Foundation,
5-1, Toyomi-cho, Chuo-ku, Tokyo 103-0015, Japan

^c Jissen Women's University,
4-1-1, Osakaue, Hino Tokyo 191-8510, Japan