

5. 食品化学研究室

本年度は行政依頼検査としてアレルギー物質を含む食品の検査、遺伝子組換え食品検査、加工食品中の残留農薬実態調査、ふぐ毒・貝毒検査、カビ毒検査、苦情食品検査を行った。調査研究事業としては日常食品中の汚染物摂取量調査、LC/MSによる乳中のプロモキシニル定量法の検討、LC/MSによる清涼飲料水、菓子類中のサイクラミン酸とズルチンの定量法の検討、アレルギー物質を含む食品の検査に関する検討及びビスフェノールA (BPA)に関する研究を行った。また、上記の他に保健所職員等の研修、保健所等試験検査の精度管理調査、外部精度管理調査、夏休みサイエンススクールを行った。

表1に平成18年度の検査実績を示す。検査総数が332検体、このうち行政検査が70%、研究室独自調査が30%であった。

食品種別の検体数の比率は、穀豆類23%、他の食品17

%、菓子類10%、次いで果実類、魚介類の順であった。今年度は、「カビ毒検査」においてナッツ類20検体、生落花生18検体、「遺伝子組換え食品検査」で大豆15検体、トウモロコシ21検体、豆腐類17検体、菓子類7検体、「アレルギー物質を含む食品の検査」で菓子類16検体、そうざい類16検体、麺類8検体、フラワーペースト類4検体、「加工食品中の残留農薬実態調査」で菓子類8検体、パスタ類8検体を検査したことにより、穀豆類、他の食品及び菓子類の比率が高くなった。

検査項目の比率では、残留農薬の検査が1検体当たり118～141項目を対象としているため、農薬検査項目が91%と高い比率を占め、16項目を検査する元素類が3%で続いた。食品種別では果実類、菓子類、嗜好飲料及び他の食品が、今年度、残留農薬検査を行ったため、比率が高くなった。

表1 検査実績

種別	依頼先及び検体数				検査項目及び項目数											
	合計検体数	行政計画	委託調査	苦情検査	合計項目数	農薬類	PCB・PCQ	ビスフェノールA	元素類	有機スズ	遺伝子組換え体	アレルギー物質	ふぐ毒・貝毒	カビ毒	その他	
魚介類	16	14	1	1	183	141	1	1	16	4	—	4	16	—	—	
肉類	5	—	1	4	167	145	1	1	16	4	—	—	—	—	—	
乳類	10	—	1	9	172	150	1	1	16	4	—	—	—	—	—	
穀豆類	77	74	3	—	572	423	3	3	48	—	57	—	—	38	—	
野菜類	13	11	2	—	344	282	2	2	32	4	22	—	—	—	—	
果実類	23	22	1	—	1117	1085	1	1	16	—	4	—	—	10	—	
菓子類	32	24	1	—	1279	1245	1	1	16	—	14	16	—	—	—	
嗜好飲料	9	8	1	—	1167	1149	1	1	16	—	—	—	—	—	—	
他の食品	58	54	3	1	1516	1399	3	3	48	—	19	28	—	—	2	
食品以外	89	4	85	—	93	—	8	85	—	—	—	—	—	—	—	
総計	332	218	99	15	6610	6019	22	99	224	16	116	48	16	48	2	

1) 行政依頼検査

(1) アレルギー物質を含む食品の検査

平成14年11月6日付け食発第1106001号厚生労働省医薬局食品保健部長通知に基づき16年度から開始した取去検査である。検査対象食品、検体数及び測定するアレルギー物質(特定たんぱく質)の内訳は、フラワーペースト4検体(乳の特定たんぱく質)、魚肉練り製品4検体(乳の特定たんぱく質)、麺類8検体(そばの特定たんぱく質)、菓子類16検体(小麦の特定たんぱく質8検体、落花生の特定たんぱく質8検体)、そうざい16検体(卵の特定たんぱく質8検体、小麦の特定たんぱく質8検体)で、合計48検体について各1項目の特定たんぱく質を検査した。

その結果、小麦の表示のあるそうざい8検体について小麦が陰性であった他はいずれも表示どおりの結果であった。そうざいに表示されている小麦は、使用されているしょうゆの原料の小麦で、酵素分解されているため、検査では陰性となったものと考えられる。

(2) 遺伝子組換え食品検査

ラウンドアップレディー大豆(加工品含む)の定量を32検体、ニューリーフ・Y及びニューリーフ・プラスジャガイモ加工品の定性を24検体、CBH351及びBt10トウモロコシ加工品の定性を24検体、55-1パパイヤの定性を4検体、合計84検体実施した。その結果、大豆については、すべての検体は基準値である5%未満であり、ジャガイモ、トウモロコシ及びパパイヤの各遺伝子組換え体は、いずれの検査項目もすべて不検出であった。

(3) 加工食品中の残留農薬実態調査(県衛生指導課委託)

本調査は、食品衛生法に基づく食品の規格基準を定めるために、加工食品における残留農薬の実態を把握することを目的として、厚生労働省委託(平成4年度~)事業として他県の衛生研究所と共同で実施してきたが、14年度で厚生労働省が事業を中止したことから、15年度以降は衛生指導課委託調査の事業形態で実施してきた。18年度は農薬等のポジティブリスト制度の導入に伴って加工食品にも基準が設定されたことから、取去検査として実施することとなった。

検体内訳は、ワイン類8検体(フランス産5検体、チリ産2検体、アメリカ産1検体)、果実缶詰類8検体(イタリア産2検体、中国産2検体、フィリピン産、ギリシャ産、マレーシア産、アメリカ産各1検体)、菓子類8検体(カナダ産2検体、フランス産、イギリス産、イタリア産、スペイン産、オーストラリア産、デンマーク産各1検体)、パスタ類8検体(イタリア産8検体)の計32検体である。農薬については有機塩素系農薬、有機リン系農薬、ピレスロイド系農薬、カーバメイト系農薬、トリアゾール系農薬等118~138項目について検査した。その結果、ワイン1検体からカルバリルが0.10ppm、菓子類2検体からピリミホスメチルが0.04ppm及び0.06

ppm、パスタ類1検体からEPNが0.04ppm検出されたが、いずれも原材料の基準値以内の値であった。

(4) 貝毒、ふぐ毒検査

県内産生かき5検体について麻痺性貝毒及び下痢性貝毒を、市販のふぐ加工品5検体についてふぐ毒を検査した。結果は、すべての検体で毒性は認められなかった。

(5) カビ毒検査

輸入ナッツ類20検体(アーモンド5検体、カシューナッツ5検体、ピーナッツ2検体、マカデミアンナッツ1検体、ピスタチオナッツ3検体、クルミ3検体、松の実1検体)、輸入乾燥果実類10検体(ブルーベリー4検体、レーズン3検体、いちじく1検体、ブルーベリー1検体、アンズ1検体)、県内産生落花生18検体、合計48検体についてアフラトキシンB1を検査した。結果は、すべての検体で不検出であった。

(6) 苦情食品の検査

平成18年5月に輸入乾牧草から基準を超えるプロモキシニルが検出された。千葉県でもこの牧草を購入した酪農家があったため、この酪農家から出荷された生乳を使用した牛乳についてプロモキシニルの検査を依頼された。その結果、いずれの牛乳検体もプロモキシニルは不検出(0.0004 μ g/g以下)であった。更にこの牧草で飼育された乳牛の筋肉、脂肪、腎臓についてもプロモキシニルの検査を依頼され、検査した結果、脂肪は不検出(0.005 μ g/g以下)であったが、筋肉から0.001~0.003 μ g/g、腎臓から0.02 μ g/g検出された。食堂でふぐを食べた喫食者が具合が悪くなったため、原因食品のふぐ刺身、皮、身欠きふぐについてふぐ毒の検査を行ったが、結果はいずれも陰性であった。また、食堂でとんかつを食べて喫食者が具合が悪くなったため、調理に使用した油の酸価と過酸化物質を測定した結果、酸価が2.5mgKOH/g、過酸化物質が5.1meq/kgで、弁当及びそうざいの衛生規範の揚げ処理中の油脂の酸価の基準値2.5mgKOH/gに相当していた。

2) 調査研究

(1) 日常食品中の汚染物摂取量調査(国立医薬品食品衛生研究所と共同研究:昭和58年~)

食品を介して摂取される汚染物(農薬、金属、PCB、有機スズ等)の実態を把握し、人の健康への影響を調査する目的で、マーケットバスケット方式により日常食品中の汚染物質摂取量を調査した。全国9府県の衛生研究所と共同で実施した。

調査方法は、国民栄養調査(厚生労働省)に基づき99種類の食品を一般市場より購入し、通常調理を必要とするものは調理し、表2のように13群に分類し、さらに、飲料水を第14群とした。各群毎に農薬については有機塩素系農薬、有機リン系農薬、ピレスロイド系農薬、カーバメイト系農薬、トリアゾール系農薬等141項目について検査した。元素類は16項目(水銀、ヒ素、カドミウム、鉛、臭素、クロム、セレン、ナトリウム、カリウム、マ

表2 食品群毎の分別

食品群	食品類	食品群	食品類
第I群	米・加工品	第VIII群	その他の野菜・茸類・海草類
第II群	穀類・種実類・芋類	第IX群	調味嗜好飲料類
第III群	砂糖・菓子類	第X群	魚介類
第IV群	油脂類	第XI群	肉・卵類
第V群	豆類	第XII群	乳類
第VI群	果実類	第XIII群	加工食品・その他の食品
第VII群	緑黄色野菜	第XIV群	飲料水

グネシウム、カルシウム、リン、鉄、銅、マンガン及び亜鉛)、PCB、有機スズ(トリブチルスズ、ジブチルスズ、トリフェニルスズ、ジフェニルスズ)等を検査した。

結果は、農薬及び有機スズはすべて不検出、PCBの第10群の一日摂取量は、 $0.157\mu\text{g}$ で平成17年度の約2/3の値であった。有害元素の水銀、ヒ素、カドミウム、鉛、臭素は、それぞれADIの1/9、1/57、1/3、1/19、1/11(臭素イオンとして)であった。

(2)LC/MSによる乳中のプロモキシニル定量法の検討

平成18年5月、輸入乾牧草から基準を超えるプロモキシニルが検出(2.5ppm)された。千葉県でもこの牧草を購入した酪農家があったため、この酪農家から出荷された生乳を使用した牛乳にプロモキシニルが残留しているかどうかを迅速に定量する必要が生じた。プロモキシニルの試験法は公定法では厚生労働省通知の「LC/MSによる農薬等の一斉分析法II(農産物)」のみで畜産物に対する試験法ならびに個別試験法は記載されていない。そこで、通知の方法をもとに前処理法を改変し、LC/MSを用いて乳中のプロモキシニルを迅速に定量する方法を検討した。

乳中のプロモキシニルを塩酸酸性下でアセトニトリルで抽出し、無水硫酸ナトリウムで脱水濃縮後、残留物をヘキサンに溶解し、アセトニトリル-ヘキサン分配を3回行い、脱脂した。アセトニトリル層を分取し、濃縮した後、残留物をメタノールに溶解して試験溶液とし、LC/MSで測定した。市販の牛乳にプロモキシニルを残留基準値である $0.07\mu\text{g/mL}$ になるように添加して5試行で添加回収試験を行った。平均回収率は97.5%、RSD%は2.7%と良好な結果が得られた。プロモキシニルのLC/MSにおける定量下限は $0.002\mu\text{g/mL}$ (S/N比>10)、検出限界は $0.0004\mu\text{g/mL}$ (S/N比>3)であり、検量線は 0.2ng/mL から $0.1\mu\text{g/mL}$ の範囲で直線性を示した($r=0.997$)。

なお、プロモキシニルはエステル化合物であるオクタン酸プロモキシニルとしても市販されており、加水分解した遊離型が除草剤としての効力を発揮する。通知法及

び上記の方法ではオクタン酸プロモキシニルは分析できないため、アルカリ性で遊離型に加水分解する操作を追加してオクタン酸プロモキシニルを測定する方法を更に検討した。今回は迅速定量を目的とし、加水分解後、OASIS-HLBで精製する方法を検討した。市販の牛乳にオクタン酸プロモキシニル、遊離型プロモキシニルを $0.1\mu\text{g/mL}$ になるように添加して3試行で添加回収試験を行った結果、平均回収率は86.0%、RSD%は2.79と良好な結果が得られた。また、遊離型プロモキシニルの平均回収率は95.0%、RSD%は0.12%で、加水分解による影響はみられなかった。

(3)LC/MSによる清涼飲料水、菓子類中のサイクラミン酸とズルチンの定量法の検討

小山らの方法(食衛誌Vol.46,72-78,2005)を参考にLC/MSによる清涼飲料水、菓子類中のサイクラミン酸とズルチンの定量法を検討した。試料中のサイクラミン酸とズルチンをリン酸緩衝液(pH7.0)-エタノール(1:1)混液でホモジナイズ及び超音波抽出し、抽出液をSep-pak Vac C18カートリッジカラムで処理し、溶出液を試験溶液とし、LC/MSで測定した。使用したカラムの種類及びLC/MSの機種、測定条件が異なっているため、保持時間、定量用モニターイオンが一部異なっていたが、清涼飲料水、菓子類に妨害ピークは見られず、測定には問題はなかった。サイクラミン酸とズルチンを清涼飲料水、菓子類に 0.025g/kg となるよう添加し、回収率を求めたところ、サイクラミン酸は108.9~119.0%、ズルチンは96.0~96.8%であった。定量下限値はサイクラミン酸が 0.001g/kg 、ズルチンが 0.005g/kg であった。

(4)アレルギー物質を含む食品の検査に関する検討

a 特定原材料検査におけるMultiplex PCR(M-PCR)法の検討

アレルギー物質を含む食品の検査法(通知法)では特定原材料5種のうち、小麦、そばおよび落花生については確認試験にPCR法を用いることとなっている。PCR法は抽出したDNAについて、PCR用鋳型としての妥当性確認のために植物検出用プライマー対によるPCRを

実施し、次に目的項目検出用プライマー対で2度目のPCRを行い、特定原材料の存在を確認する。そのため、最終的に検査結果が出るまでにPCR操作2回分の時間や試薬が必要である。そこで、1本の反応チューブで複数のPCRが1回で実施できるM-PCR法を用い、植物も含めた4項目の同時検出法について検討し、簡便、迅速、コスト性に優れた検出法を確立した。通知法の植物検出プライマー対では最適な条件が得られなかったため、新たにmtDNA遺伝子から植物検出用プライマー植物DNA検出用プライマー対を4対設計した。小麦、そば、落花生の原材料について適用性を検討した結果、Plant01プライマー対が植物検出プライマー対として最も良好であった。Plant01プライマー対および小麦、そば、落花生プライマー対を用いアニーリング温度を60℃に設定し、通知法のPCR条件によりM-PCRを行った結果、予測されるバンド長の増幅バンドが鋳型DNA種の数により2-4本見られ、各特定原材料が良好に検出できた。本検出法は植物、小麦、そば、落花生の4項目の同時検出が可能であり、通知法に比べ簡便、迅速でコストも安価で、特定原材料の検出法として有用と考えられた。

b 特定原材料検査に関する定性PCR法の検討

小麦、そば、落花生の確認検査であるPCR法において、増幅バンドが不明瞭となり、定性判断が困難となる検体が見られる。PCR法の条件検討の結果、アニーリング温度を57.1℃へ変更することにより、改善可能であることを既に報告したが、通知法の植物検出用プライマー対（通知プライマー対）においては、若干増幅量の向上がみられたものの、確実な定性は依然困難であった。そこで、新たに植物検出用プライマー対を作成し、小麦、そば、落花生及び植物8種（今後検出法の開発が必要と考えられる特定原材料に準じるもので、PCR定性が可能であるもの）について、その増幅を検討したところ、結果は以下のとおりであった。①Plant01プライマー対により、特定原材料に準じるものを含む11種すべてが定性可能であり、既報の57.1℃及び通知法温度の両温度で通知プライマー対より高増幅であった。②抽出した11種のうち、通知プライマー対では予想されるバンド長（124bp）より長くなるものがあったが、Plant01プライマー対では、すべて予想されるバンド長（161bp）であった。③通知プライマー対では、鋳型の種類により増幅量に差がみられたが、Plant01プライマー対では差はみられなかった。④通知プライマー対をPlant01プライマー対に変更し、アニーリング温度を57.1℃に設定することにより、より確実な定性が可能となった。

c 特定原材料（小麦）の定性PCR法における加工処理の影響

特定原材料の確認検査（定性PCR法）では、良好な結果を得るためには目的とするDNAの抽出や精製が重要となる。しかし、DNAの抽出や精製が適切であっても、食品の加工処理によっては検出の標的となるDNA

に断片化などの損傷が起き、表示があるにもかかわらずに検出できない食品も多い。特に小麦は菓子類、麺類、パン類、総菜類などでの使用頻度が高く、加工の種類が多いことから加工によるDNAの影響評価は小麦の確認検査上必須と考えられる。そこで、小麦の特異遺伝子から増幅バンド長の異なる4種のプライマー対を設定し、小麦含有加工食品及び加圧加熱小麦粉から抽出したDNAの増幅限界となるバンド長を検討したところ、結果は以下のとおりであった。①小麦含有加工食品及び加圧加熱小麦粉から夾雑物の少ない良好なDNAが抽出できた。②高温殺菌食品および一部の加工食品のDNAに断片化がみられた。また、加圧加熱小麦粉の結果から小麦DNAの断片化には常圧を超えた加圧加熱処理の影響が大きいことが推察された。③設定した4種のプライマー対で小麦DNAの増幅が可能であった。④高温殺菌製品以外的小麦含有加工食品から抽出したDNAでは392bpまで増幅可能であったが、高温殺菌製品から抽出したDNAでは増幅可能となるバンド長が短くなった。また、いずれの増幅バンド長においても増幅不可能な試料も確認された。⑤未処理小麦粉、80℃処理小麦粉及び100℃処理小麦粉から抽出したDNAでは392bpまで増幅可能であったが、121℃処理小麦粉では174bp以上が増幅不可能であった。

(5)ビスフェノールA（BPA）に関する研究

a 市販缶詰食品中のビスフェノールAの含有量調査

17年度に包装容器食品中のBPA含有量を調査し、缶詰食品48試料から0-842.3ng/g、プラスチック容器入り食品23試料から0-13.5ng/g、紙容器入り食品16試料から0-0.5ng/g検出され、缶詰食品が高い値を示した。18年度は更に缶詰食品について追加調査を行った。缶詰食品41試料について調査したところ、0-235.4ng/g検出された。17年度の調査では缶詰食品の中で外国産のスープやソース類の缶詰のBPA値が高かったが、18年度の調査でも同様に外国産のソース類の缶詰のBPA値が高かった。国内産の缶詰食品のBPA値は低く、特に千葉県産品は5ng/g以下と特に低い値を示した。

b ビスフェノールAの摂取量調査

18年度はプロジェクト研究「食品由来の内分泌攪乱化学物質（環境ホルモン）の健康リスク評価に関する研究」の一環としてビスフェノールAの摂取量調査を行った。マーケットバスケット方式による日常食品中の汚染物質摂取量調査の試料を用い、LC/MSで分析を行った。試料からのBPAの抽出は、当研究所で食品中のBPA分析のために考案した方法を用いた。最終液中に10.0ng/mLとなるように各群の試料中にBPA標準溶液を添加し、回収率を求めたところ70~120%の回収率が得られたので、本法は食品群中のBPAの測定に適しているものと考えられた。BPAはXI群の肉類から0.1ng/g検出され、一日摂取量をLC/MSの測定値から算出したところ、一日

摂取量は0.0002 μ g/kgbw/dayであり、暫定TDIの10 μ g/kgbw/dayの1/50,000以下であった。

c BPAがイエバエに及ぼす影響について（健康疫学研究室との共同研究）

環境条件に敏感に反応し、殺虫剤試験等に汎用されているイエバエ（WHO標準SRS）を用い、内分泌攪乱作用の簡便な試験系を確立することを目的とし、7世代にわたるBPAの暴露実験を行った。BPA（100ng/g）暴露により、雄の増加傾向、蛹重量増加、羽化日の遅れなどが観察された。この結果は以前に3世代について行った結果と同様であった。

3) その他の事業

(1) 保健所等試験検査の精度管理調査

18年度はパラオキシ安息香酸エステル類6項目のうちの何れか3項目について定性、定量した結果について精度管理調査を行った。

検査試料は、フレンチドレッシングとしょうゆの混合物にパラオキシ安息香酸メチル0.020g/kg、パラオキシ安息香酸プロピル0.050g/kg、パラオキシ安息香酸イソブチル0.300g/kgとなるように添加用標準液を加え、精製水で一定量とし、十分に混合して作成した（1月10日）。試料は1月12日に7参加機関（食品化学研究室を含む）に配布し、報告書提出締め切り日は2月15日とした。結果説明会は3月1日に実施した。

精度管理の結果は以下のとおりであった。①冷蔵庫（5℃）で1ヶ月間保管する間、各成分のいずれも経時的变化は認められなかった。②報告された検査値は7機関中1機関がパラオキシ安息香酸プロピルとパラオキシ安息香酸イソブチルにおいて非常に低い値を示したため、この機関の検査値は集計から除外し、6機関の検査値を集計した。パラオキシ安息香酸メチルは機関平均回収率：94.0%、回収率の範囲：84.5～103.5%、変動係数：1.13～5.31%、パラオキシ安息香酸プロピルは機関平均回収率：84.3%、回収率の範囲：77.8%～94.3%、変動係数：0.76～4.11%、パラオキシ安息香酸イソブチルは機関平均回収率：79.1%、回収率の範囲：72.5%～89.9%、変動係数：1.44～5.28%であった。検査項目全体における回収率は72.5～103.5%、変動係数は0.76～5.31%であった。概ね良好な結果であったが、機関毎のバラツキが見られ、また回収率の非常に低い機関が1機関あったことから、その原因及び改善策について論議が必要と考えられた。

精度管理は日々の検査の信頼性の確保に寄与していることから、今後も精度管理を継続し、検査における知識や経験を情報として共有し、県内の食品検査機関全体のレベルを向上させていくことが必要であると思われる。

(2) 外部精度管理調査

外部精度管理としては財団法人食品薬品安全センターが実施している「平成18年度食品衛生外部精度管理調査」に参加し、理化学調査のうち食品添加物検査Ⅰ（着色料

の定性：酸性タール色素、許可色素）、食品添加物検査Ⅱ（パラオキシ安息香酸ブチル及びパラオキシ安息香酸イソプロピルの定量）、残留農薬検査（クロルピリホス及びEPNの定量）、残留動物用医薬品検査（フルベンダゾールの定量）を実施した。評価はいずれの調査項目も「良好」との報告を受けた。