

独立行政法人農林水産消費安全技術センター

令和 7 年度

公 開 調 査 研 究 発 表 会

要 旨 集



日 時 : 令和 7 年 1 1 月 2 6 日 (水) 1 3 : 3 0 ~ 1 6 : 0 0

場 所 : 農林水産消費安全技術センター 大会議室

さいたま市中央区新都心 2-1 さいたま新都心合同庁舎検査棟 7 階

独立行政法人農林水産消費安全技術センター
令和 7 年 度 公 開 調 査 研 究 発 表 会
プ ロ グ ラ ム

日 時 : 令和 7 年 11 月 26 日 (水) 13:30~16:00
会 場 : 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 本部 大会議室
(さいたま市中央区新都心 2-1 さいたま新都心合同庁舎検査棟)

開会挨拶

理事長 木内 岳志

< 発表 (前半) >

1 加熱処理等による汚泥肥料中 PFAS の低減

肥飼料安全検査部 肥料鑑定課 調査官 眞鍋 典子
13:35~13:55

2 蜜蜂中に含有する農薬等の分析における分析対象農薬追加及び分析感度の改善の検討

農薬検査部 生態影響審査課 専門調査官 秋山 嘉大
13:55~14:15

3 愛玩動物用飼料中の糞便系大腸菌群の検出法の検討

肥飼料安全検査部 飼料鑑定第二課 専門調査官 大島 慎司
14:15~14:35

< 休 憩 > 14:35~14:55

< 発表 (後半) >

4 3次元蛍光測定による乾わかめの原料原産地判別について

表示監視部 技術研究課 主任調査官 坂井田 健一
14:55~15:15

5 脂質分析による生鮮豚肉の原産地判別法について

神戸センター 技術研究課 専門調査官 後藤 祐之介
15:15~15:35

6 かつおぶし中の多環芳香族炭化水素類分析法の妥当性確認

有害物質等分析調査統括チーム 主任調査官 寺田 昌市
15:35~15:55

※ 1 課題当たり発表時間 15 分、質疑応答 5 分

1. 加熱処理等による汚泥肥料中 PFAS の低減

眞鍋 典子、板橋 葵

(独) 農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

【はじめに】

ペルフルオロアルキル化合物及びポリフルオロアルキル化合物（以下「PFAS」という。）は、環境中において難分解性、高蓄積性であり生体への有害性が懸念されていることから、現在 POPs 条約及び化審法により国内外での製造・使用等が規制されている。環境中の PFAS は主に地下水や水道水から検出されており、加えて、下水処理場の流入水中の PFOS 及び PFOA は、その排水処理の工程において懸濁物や汚泥に移行することが報告されている¹⁾。

各地で PFAS の検出が報告されている一方で、水や土壌、模擬試料等を対象とした研究で、活性炭への吸着や加熱等により低減・分解されることも報告されている²⁾。農林水産省消費・安全局農産安全管理課より、汚泥肥料中の PFOS 及び PFOA の低減方法の検討を要請されたことを受け、本研究では、これまでに報告されている PFAS 低減方法の中から、加熱処理及び水洗浄処理を用いて汚泥肥料中の PFAS を低減できるか検証した。

【方法】

試料：保有する汚泥肥料を分析し、そのうち本検討において各処理による低減効果を確認できる程度の濃度で PFOS 及び PFOA を含んでいた汚泥肥料 3 点を検討用試料とした。

分析方法：肥料等試験法（2024）の 8.7.a) 有機ふっ素化合物-高速液体クロマトグラフタンデム質量分析法³⁾に準じて実施し内標準物質として $^{13}\text{C}_8$ -PFOS、 $^{13}\text{C}_8$ -PFOA、 $^{13}\text{C}_3$ -PFHxS の 3 種を使用した。なお、分析成分は、本試験法の妥当性が確認されている PFOS 及び PFOA のほか、真度評価の基準を満たした 14 成分⁴⁾を加えた計 16 成分とした。

低減方法：加熱処理及び水洗浄処理の 2 つの方法について、汚泥肥料中 PFAS の低減方法になりえ

るのか検証した。

(1) 加熱処理：汚泥肥料を電気炉で一定時間加熱することで加熱処理とした。加熱温度は、肥料等試験法でそれぞれ炭化・灰化の目安温度としている 300 °C、550 °C に加え、汚泥肥料の生産現場で焼成温度として一般的に利用されている 800 °C の 3 パターンとした。加熱時間は 2 時間及び 30 分又は 5 時間とし、各温度で 2 回ずつ試験を行った。なお、電気炉での加熱による試料の PFAS 汚染がないことを確認するために、加熱時は毎回ブランクとして空のるつぼも配置した。加熱前後の汚泥肥料中の PFAS 濃度を比較し、加熱処理による PFAS 低減効果を調べた。

(2) 水洗浄処理：検討する液固比を 5、10、20 とし、分析試料 2.0 g をはかりとり、液固比 5、10 及び 20 となるようにそれぞれ超純水 10 mL、20 mL 及び 40 mL を添加した。汚泥肥料の生産現場を考慮し、激しい混合操作が加わらないよう緩やかに手振りで混合し、一晚静置した。なお、静置試験との比較として振り混ぜ操作を伴う試験も実施した。振り混ぜは、振り混ぜ機を用いて、水平方向に 200 rpm で 30 分間行った。静置又は振り混ぜ後、遠心力 1700 ×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を除去し、水洗浄後の試料とした。水洗浄前後の汚泥肥料中の PFAS 濃度を比較し、水洗浄処理による PFAS 低減効果を調べた。

【結果及び考察】

(1) 加熱処理による汚泥肥料中 PFAS の低減

加熱処理前後の汚泥肥料中の PFAS 濃度について、代表として PFOS 及び PFOA 濃度を表 1 に示した。300 °C では 2 時間以上加熱処理することで、一部の成分は残存したものの、加熱前と比較して約 55 %～98 %低減された。550 °C 及び 800 °C で

は 30 分以上加熱処理することで、今回の対象試料から検出された 13 成分すべてが検出下限値未満まで低減された。加熱処理は汚泥肥料中 PFAS の低減方法として有効である可能性が示唆された。

表1 加熱前後の汚泥肥料中のPFOS及びPFOA濃度 (μg/kg)

PFOS (LOQ ^{a)} 0.5/LOD ^{b)} 0.2)				
試料番号		①	②	③
加熱前		73.0	12.6	13.6
300 °C	2時間	6.5	2.2	6.1
	5時間	— ^{c)}	—	0.3
550 °C	30分	—	—	—
	2時間	—	—	—
800 °C	30分	—	—	—
	2時間	—	—	—
PFOA (LOQ 0.5/LOD 0.2)				
試料番号		①	②	③
加熱前		133.3	39.1	213.5
300 °C	2時間	—	—	0.3
	5時間	—	—	—
550 °C	30分	—	—	—
	2時間	—	—	—
800 °C	30分	—	—	—
	2時間	—	—	—

a) Lower limit of quantitation (定量下限)

b) Lower limit of detection (検出下限)

c) 検出下限値未満: —

d) $n=1$

(2) 水洗浄処理による汚泥肥料中 PFAS の低減

水洗浄処理前後の汚泥肥料中の PFAS 濃度について、代表として PFOS 及び PFOA 濃度をそれぞれ図 1、図 2 に示した。なお、図中のエラーバーは分析精度の目安となる中間相対標準偏差 (±18 %) を表している。スルホン酸系 1 成分及び PFOA を含むカルボン酸系 5 成分について、浸水状態での静置による水洗浄処理で最大約 86 % 低減された。PFOS を含むスルホン酸系成分及び炭素数 9 以上のカルボン酸系成分に対しては、ほとんど低減されず、水洗浄処理による低減効果は極めて低いと考えられた。したがって、水洗浄処理は、汚泥

肥料中 PFAS の低減方法として、一部の成分には有効である可能性が示唆された。

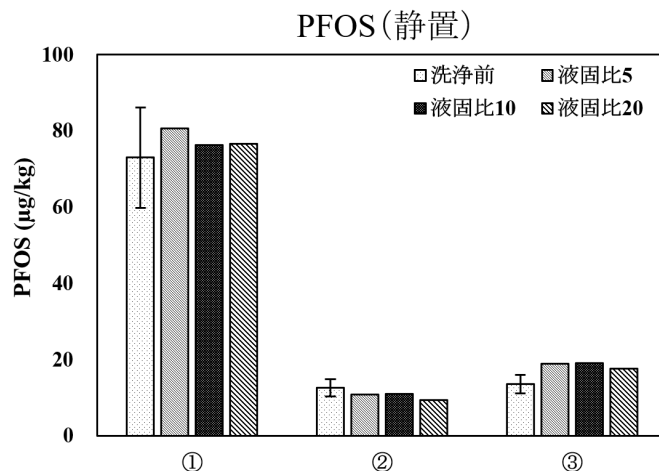


図 1 水洗浄前後の汚泥肥料中の PFOS 濃度

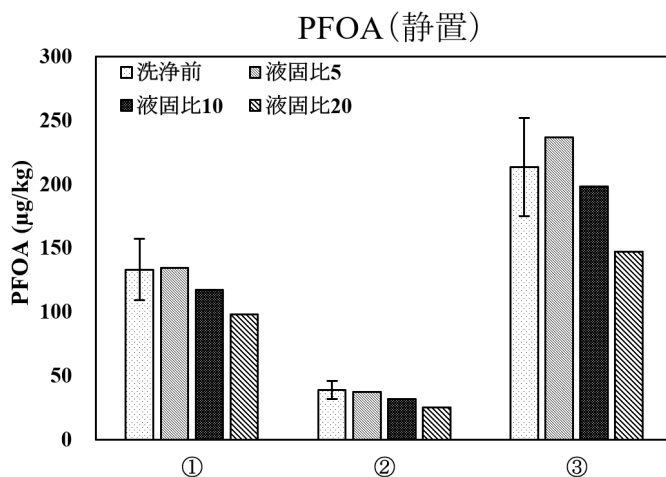


図 2 水洗浄前後の汚泥肥料中の PFOA 濃度

【参考文献】

- 1) 野添ら. 残留性有機フッ素化合物PFOS, PFOA の下水処理場における挙動調査. 環境工学研究論文集, 43, 105-110 (2006).
- 2) 谷口省吾. PFAS 汚染土壌に対する熱処理技術. 環境技術, 51(5), 251-255 (2022).
- 3) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC). 肥料等試験法, 768-780 (2024).
- 4) 白井ら, 有機ふっ素化合物の分析. 肥料研究報告, 15, 87-107 (2022).

2. 蜜蜂中に含有する農薬等の分析における分析対象農薬追加及び分析感度の改善の検討

秋山 嘉大¹、高野 優美¹、平松 未森¹、石原 悟²

¹（独）農林水産消費安全技術センター農薬検査部、²農林水産省消費・安全局

【はじめに】

農薬検査部生態影響審査課では、毎年農林水産省より発出される通知「蜜蜂被害軽減対策の推進について」に基づき蜜蜂死虫中の農薬成分の分析を実施している¹⁾。現在の分析法では、前処理をQuEChERS（Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe）法に準じて行い、測定に高速液体クロマトグラフトンデム型質量分析計（以下、LC-MS/MS）を用いた一斉分析法を採用している^{2) 3)}。農薬の登録及び適用等の状況に応じて、蜜蜂への暴露が想定される農薬成分を新たに定量分析対象とすることは、被害の発生原因解明に資する詳細な知見を得る上で重要であることから、既存の手法で分析可能な農薬成分の追加について検討した。また、既存の分析対象農薬成分についても、定量下限値（以下、LOQ）の改善について検討した。

【方法】

検討対象農薬成分の選定：国内に登録のある農薬の中から、以下に示す（1）または（2）に該当する農薬成分を選抜し、追加検討対象農薬成分とした（グループ A）。なお、LC-MS/MS（（株）島津製作所製 LCMS-8045）での分析で、イオン化せずピークが確認できない等、測定困難と判断した農薬成分については検討対象から除外した。

- （1）平成 30 年以降に新たに登録された殺虫剤の農薬成分。
- （2）蜜蜂に対して毒性の強い（接触又は経口毒性試験の LD₅₀ が 1 µg/bee 以下）農薬成分のうち、過去 3 年間の出荷量及び輸入量⁴⁾が多い農薬上位 10 成分。ただし、剤型や使用方法等から見て、蜜蜂が暴露しないと想定される農薬成分は除外⁵⁾。

その他、既に分析対象となっている農薬成分についても LC-MS/MS による感度確認を行い、現行の LOQ 未満の濃度でも十分な感度が得られ、LOQ の改善が可能と考えられた農薬成分を選抜し、分析感度改善検討対象成分とした（グループ B）。グループ A 及び B に含まれる農薬成分はそれぞれ以下のとおり。

グループ A（計 11 成分）：ダイアジノン、ホスチアゼート、マラチオン（マラソン）、プロフラニリド、メソミル、カルバリル（NAC）、テトラニリプロール、アフィドピロペン、トリフルメゾピリム、フルキサメタミド及びアシノナピル

グループ B（計 19 成分）：アセタミプリド、イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフラン、チアクロプリド、チアメトキサム、フルピリミン、フルピラジフロロン、シラフルオフエン、フェンプロパトリン、ジメトエート、プロチオホス、アラニカルブ、フェノブカルブ（BPMC）、ベンフラカルブ、トルフェンピラド、ピリダベン、シアントラニリプロール及びピリフルキナゾン

添加回収試験の実施：グループ A については、LC-MS/MS による感度確認の結果、LOQ 相当と考えられる濃度（LOQ 相当濃度）を設定し、LOQ 相当濃度、LOQ 相当濃度の 10 倍及び 100 倍の濃度の計 3 濃度となるよう各成分を調製した混合溶液を用いて添加回収試験を実施した。グループ B については、グループ A と同様に LC-MS/MS による感度確認を行い、LOQ 相当と考えられる濃度を設定し、添加回収試験を実施した。添加回収試験は、各濃度 5 連で実施した。添加回収試験は、異なる実施日（令和 5 年 11 月 7 日及び 11 月 28 日）に 2 回実施し、共に分析結果が目標値（回収率 70-120 %、相対標準偏差 20 % 以下）を満たした場合

に、検討対象農薬成分に対する本分析法の妥当性が確認されたと判断した。

添加回収試験用試料の調製：当センターにて飼育しているセイヨウミツバチ (*Apis mellifera* L.) 群 (巣板 7 枚群 (約 14,000 頭)、1 群) より、成虫 約 4,000 頭を採取した。採取したミツバチは-30℃で冷凍処理後、デシケーター内で解凍し、約 60 g ずつ分画し乳鉢を用いて磨砕した。磨砕後の試料を 50 mL 容遠心チューブに移し入れ、添加回収試験を実施するまで-80℃で冷凍保存した。試料は、事前に添加回収試験と同様の手法で前処理及び分析を行い、検討対象成分のピーク及び妨害ピークが検出されないことを確認し、添加回収試験用白試料とした。

添加回収試験用の試験溶液の調製：試料の前処理には、RESTEK 社製 Q-sep QuEChERS 抽出塩キット及び Q-sep QuEChERS 抽出液精製用 dSPE を用いた。解凍した試料 3 g に、各農薬成分の標準溶液を適宜アセトニトリル (以下、ACN) で希釈、混合することで調製した混合標準溶液 50 µL を添加した。その後、30 分間静置し、抽出溶媒 (超純水 : ACN : 1%酢酸 = 44 : 55 : 1) 27 mL を添加し、1 分間振とうすることで農薬成分を抽出した。これに内部標準溶液 (クロチアニジン d3 及びメチルダイムロン) 50 µL を正確に添加し軽く転倒混合した後、遠心分離した上層を「抽出溶液」とした。次に、抽出塩 (硫酸マグネシウム (MgSO₄) 6 g 及び酢酸ナトリウム (NaOAc) 1.5 g) を添加し、1 分間振とう後、5 分間遠心 (3,000 rpm) することで有機溶媒層を分離した。この有機溶媒層 1 mL を 2 mL 容の精製用のチューブ (硫酸マグネシウム (MgSO₄) 150 mg、エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル (PSA) 50 mg 及びオクタデシルシリル化シリカゲル (C₁₈) 50 mg を含む) に移し入れ、1 分間振とうすることで精製した。これを 10 分間遠心分離 (15,000 rpm) した上澄みを試験溶液とし、LC-MS/MS による定量分析を行った。なお、マトリクス成分による影響を考慮し、試験溶液の 4 倍または 100 倍 ACN 希釈液を調製し、併せて LC-MS/MS による定量分析を行

なった。

【結果及び考察】

グループ A に含まれる農薬成分のうち、アフィドピロペン、トリフルメゾピリム、フルキサメタミド、アシノナピル、ダイアジノン、ホスチアゼート、マラチオン (マラソン) 及びプロフラニリドの計 8 成分については、必要に応じて最終溶液の希釈を行うことで、全ての濃度で分析値が目標値を満たしたことから、当該一斉分析法による定量分析が可能であると考えられた。また、グループ B に含まれる農薬成分である、アセタミプリド、イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフラン、チアクロプリド、チアメトキサム、フルピリミン、フルピラジフロネ、シラフルオフェン、フェンプロパトリン、ジメトエート、プロチオホス、アラニカルブ、フェノブカルブ (BPMC)、ベンフラカルブ、ピリダベン及びピリフルキナゾンの計 19 成分についても、分析値が目標値を満たしたことから、LOQ の改善が可能と考えられた。

【参考文献】

- 1) 農林水産省. 農薬が原因の可能性がある蜜蜂被害事例報告件数及び都道府県による蜜蜂被害軽減対策の検証結果
https://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n_mitubati/report.html
- 2) 大石ら. 第 32 回農薬環境科学研究会シンポジウム講演集, 54 (2014).
- 3) 石原ら. 第 33 回農薬環境科学研究会・第 38 回農薬残留分析研究会合同シンポジウム・講演要旨集, 139-14 (2015).
- 4) 一般社団法人日本植物防疫協会. 農薬要覧 (2022).
- 5) 農林水産省. 農薬の登録申請において提出すべき資料について (平成 31 年 3 月 29 日付け 30 消安第 6278 号農林水産省消費・安全局長通知) 別紙 2 ミツバチへの影響評価ガイダンス (2020).

3. 愛玩動物用飼料中の糞便系大腸菌群の検出法の検討

近藤 勝¹、齊木 雅一¹、井上 直¹、大島 慎司²、野村 昌代²、時田 佳奈²

¹ (独) 農林水産消費安全技術センター札幌センター、² 同 肥飼料安全検査部

【はじめに】

近年、愛玩動物用飼料のサルモネラ汚染事例が報告されていることから、愛玩動物用飼料の製造及び取扱いにおける衛生管理の指標となる衛生指標菌の検出法が求められている。

糞便系大腸菌群は、食品衛生法に基づく「食品、添加物等の規格基準」²⁾において、食肉製品、冷凍食品等に成分規格が定められるなど、国内の食品分野では環境衛生管理に有用な衛生指標菌として広く用いられている。

そこで、愛玩動物用飼料中の糞便系大腸菌群の検出法確立を目的とし、食品衛生法に基づく加熱食肉製品（加熱後包装）及び乾燥食肉製品（以下「食肉製品」という。）の糞便系大腸菌群の試験法³⁾（以下「糞便系大腸菌群試験法」という。）が愛玩動物用飼料に適用できるか検討した。

【方法】

試料：市販の愛玩動物用飼料 6 点及び比較対象として市販の食肉製品 6 点を用いた。なお、愛玩動物用飼料の成型ジャーキー及び素材乾燥ジャーキー並びに食肉製品については、あらかじめ滅菌済みののはさみを用いて無菌的に切断し、長さを 20 mm 以下とした。

試験方法：図 1 のフローのとおり。

大腸菌添加試験：BIOBALL HIGHDOSE 10K *Escherichia coli* NCTC 9001 株（バイオメリュウ製）1 個をリン酸緩衝生理食塩水で溶解及び希釈して大腸菌添加液を調製した。試料 25 g を量ってストマッカー袋に入れ、試料中の菌濃度が 8、4、2、1 及び 0.5 CFU/g となるように大腸菌添加液をそれぞれ 1 mL 添加し、希釈液 225 mL を加えた後、30 分間静置した。これをストマッカー処理し、EC 発酵管に接種する大腸菌添加試料液とした。併せて、大腸菌を添加しないブランク試料液も調製した。

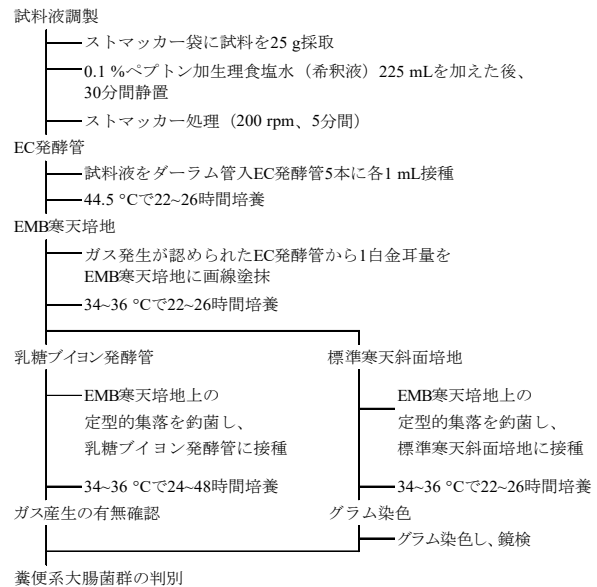


図 1 試験法のフロー

なお、試料は希釈液で 10 倍に希釈されており、その 10 倍希釈した試料液 1 mL を 5 本の EC 発酵管に接種することから、培地に接種される試料（以下「試験部位」という。）中に換算すると、菌濃度はそれぞれ 4、2、1、0.5 及び 0.25 CFU/試験部位となる。

大腸菌添加試料液及びブランク試料液は、 $n=6$ で試験を実施した。なお、ブランク試料液を用いた EC 発酵管による培養において、ガスが産生しないことを確認できたため、大腸菌添加試料液は EC 発酵管でのガス産生の有無により陰性及び陽性を判定した。

LOD₅₀ の算出：大腸菌添加試験で陽性と判定された試料数から、ISO 16140-2:2016⁴⁾における評価法により LOD₅₀（実施試験の 50 %が陽性となる菌量）を算出した。また、LOD₅₀ 算出の過程で、検出感度に影響を与えるマトリックス効果を表す値 F も併せて算出した。

マトリックス効果の評価：Wilrich ら⁵⁾が報告している方法を参照し、大腸菌添加試験の結果から、

陽性となる確率 (probability of detection、POD) と菌濃度との相関から示される相関曲線 (以下「POD 曲線」という。) を各試料で作成した。さらに、POD がマトリックスの影響を受けない理想的な状態 ($F = 1$) を仮定し、その理想的な POD 曲線の 95 %信頼区間を算出した後、各試料の POD 曲線が当該 95 %信頼区間の範囲内かを確認した。

【結果及び考察】

LOD₅₀ による検討：大腸菌添加試験を実施し、LOD₅₀ を算出した結果、愛玩動物用飼料の LOD₅₀ は表のとおり、0.41~0.54 CFU/試験部位であった。また、比較対象として実施した食肉製品の LOD₅₀ は 0.45~0.90 CFU/試験部位であった。他の食品の事例として、千葉ら⁶⁾は、冷凍食品の LOD₅₀ を 0.42~0.81 CFU/試験部位と報告している。本試験で得られた愛玩動物用飼料の LOD₅₀ は、食肉製品の LOD₅₀ 及び千葉らの報告と同程度の結果であった。

表 大腸菌添加試験結果

試料	菌添加濃度 ^{a)}					マトリックス 効果 F	LOD ₅₀ (CFU/試験部位)
	d_1	d_2	d_3	d_4	d_5		
ドライ(猫用)	6/6 ^{b)}	6/6	6/6	3/6	0/6	1.65	0.42
セミドライ(犬用)	6/6	5/6	4/6	4/6	4/6	1.52	0.46
ウェット(猫用)	6/6	6/6	4/6	3/6	2/6	1.46	0.48
成型ジャーキー(犬用)	6/6	6/6	3/6	4/6	1/6	1.27	0.54
素材乾燥ジャーキー(ハード)(犬用)	6/6	5/6	6/6	4/6	1/6	1.57	0.44
素材乾燥ジャーキー(ソフト)(犬用)	6/6	6/6	4/6	5/6	1/6	1.68	0.41

a) $d_1=4$, $d_2=2$, $d_3=1$, $d_4=0.5$, $d_5=0.25$ CFU/試験部位

b) 陽性結果の数/試験数

マトリックス効果の評価：作成した POD 曲線は図 2 のとおりであった。全ての POD 曲線が理想的な POD 曲線の 95 %信頼区間の範囲内であったことから、理想的な状態 ($F=1$) の仮説は棄却されず、愛玩動物用飼料及び食肉製品の全試料において、検出感度への有意なマトリックスの影響はないと考えられた。

以上より、愛玩動物用飼料と食肉製品で異なる傾向はなく、検出感度への有意なマトリックスの

影響も認められなかったことから、糞便系大腸菌群試験法の愛玩動物用飼料への適用が可能であり、愛玩動物用飼料等の検査法に収載された。

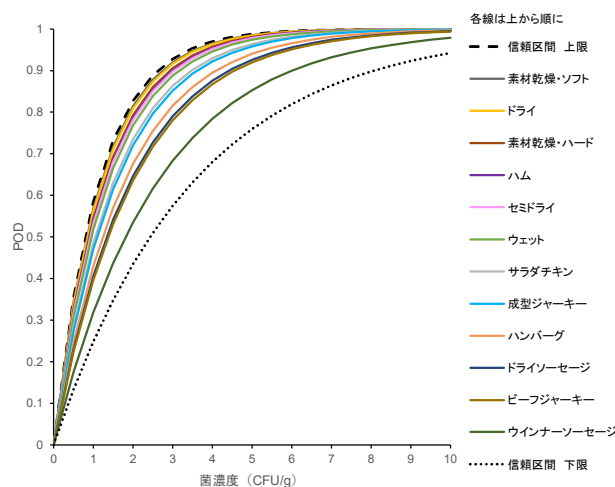


図 2 各試料及び理想的な状態 ($F=1$) における POD 曲線

【参考文献】

- 1) 独立行政法人農林水産消費安全技術センター 理事長通知. 「愛玩動物用飼料等の検査法」の制定について. 平成21年9月1日 (2009).
- 2) 厚生省告示. 食品、添加物等の規格基準. 昭和34年12月28日. 厚生省告示第370号 (1959).
- 3) 厚生省生活衛生局長通知. 食品衛生法施行規則及び食品、添加物等の規格基準の一部改正について. 平成5年3月17日. 衛乳第54号 (1993).
- 4) International Organization for Standardization. ISO 16140-2. Microbiology of the food chain - Method validation - Part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method. Geneva, Switzerland (2016).
- 5) Wilrich, C. et al. Estimation of the POD function and the LOD of a qualitative microbiological measurement method. J. AOAC Int., 92, 1763-1772 (2009).
- 6) 千葉ら. E. coli および黄色ブドウ球菌定性試験法における検出下限値の推定. 日本食品微生物学会雑誌, 39(4), 132-140 (2022).

4. 3次元蛍光測定による乾わかめの原料原産地判別について

坂井田 健一¹、西嶋 智輝²、世古 卓也³

¹ (独) 農林水産消費安全技術センター表示監視部、² 農林水産省消費・安全局

³ (国研) 水産研究・教育機構水産技術研究所

【はじめに】

乾わかめの輸入量は7,816トン¹⁾であり、輸入先は中国及び韓国である。一方、国産原料を使用した乾わかめについての統計はないが、養殖わかめ類の国内収穫量は49,588トン²⁾であり、その全てを乾わかめに換算したとしても1,983トン(歩留まり4%として換算³⁾)にしかならず、乾わかめの流通量の大半を輸入品が占めていると考えられる。外国産原料を使用した乾わかめは、国産原料を使用した乾わかめよりも安価であり、過去に外国産原料を使用した乾わかめの原料原産地を国産とした不適正表示の事例が発生していることから、乾わかめの原料原産地を判別する科学的手法が求められてきた。

化学分析による産地判別の方法としては、元素濃度を指標とした方法の検討が多くの食品で行われており、FAMICにおいても海藻類では、乾燥ひじき⁴⁾、湯通し塩蔵わかめ⁵⁾、乾わかめで元素分析による産地判別法を開発している。

一方で、元素分析は高額な分析装置を必要としランニングコストも高い。また、試料の前処理に時間を要する上に、有害な試薬による処理を必要とし、環境面、労働面でも負荷の高い方法である。そのため、簡易迅速な分析法の活用が求められている。

3次元蛍光測定は、蛍光指紋とも呼ばれ、試料に波長を変えた光を照射して、試料から発せられる蛍光の波長及び強度を測定する方法で、励起波長、蛍光波長、蛍光強度の3次元データからなり、アミノ酸、ビタミン、カロテノイドなどの複数成分を網羅的に計測することができる。また、比較的簡易な前処理で測定が可能であり、所要時間も短いという利点がある。食品の産地判別に応用する研究がなされており^{6,7)}、適用の可能性が考えら

れることから、蛍光分析による乾わかめの産地判別について、その可能性を検討した。

【方法】

試料：判別モデル構築のための試料は全て日本わかめ協会の協力を得て入手した。国産原料を使用した試料(以下「国産試料」という。)として、94点を、外国産原料を使用した試料(以下「外国産試料」という。)として、中国産35点、韓国産23点の合計58点を用いた。また、モデルの確認のために、市販の乾わかめ36点(国産22点、外国産14点)を入手した。

前処理：試料約5gを電動ミルサーで30秒間粉碎し、粒径をそろえるために目開き425μmのディスポーザブルフィルターを通した物を測定用試料とした。

測定：測定用試料を固体セルに封入し、励起波長(Ex)、蛍光波長(Em)いずれも220~750nm(10nm間隔)の範囲で蛍光を測定した。測定から得られた3次元データは、R.3.8.0を用いて反射光及び散乱光のデータを削除し、各波長の蛍光強度は相対値に換算した。

判別モデルの構築：モデル試料の蛍光データをPython 3.9.13、scikit-learn 1.1.1を用いて、線形判別(LDA)、ロジスティック回帰(LR)及び線形サポートベクターマシン(SVM)の3方法により国産／外国産の二値判別モデルの構築を行った。さらに、Leave-one-out cross validation (LOOCV)によりモデル試料の正答率を算出し、3方法の判別能力の比較を行った。

市販試料による確認：市販試料について、モデル構築試料と同様に測定を行い、その結果をモデルに当てはめて、判別が可能かどうか確認した。

【結果及び考察】

判別モデルの構築：LDA、LR、SVM の 3 方法で構築したモデルについて、LOOCV による正答率を表に示す。また、SVM モデルについて、判別境界からの距離を表す判別得点の度数分布を図に示す。計算方法による違いはほとんどなく、いずれの方法でも国産、外国産ともに 90 %以上の判別能力が得られた。

市販試料による確認：市販試料を測定し、得られたデータを元に SVM モデルで判別を行った結果、36 試料中 32 試料が表示産地と同じと判定された。

以上の結果から、蛍光測定による乾わかめの原料原産地判別が可能であることを確認できた。

- 2) 農林水産省. 漁業・養殖業生産統計. 令和 5 年.
- 3) 大房剛. 日本での最近の食用海藻業界の動向と問題点. *Algal Resources*, 4, 15-21 (2011).
- 4) 高嶋ら. 元素分析による乾燥ひじきの原料原産地判別法の開発. *食品関係等調査研究報告*, 44, 1-7 (2020).
- 5) 川井ら. 元素分析による湯通し塩蔵わかめの原料原産地判別法の開発. *食品関係等調査研究報告*, 47, 1-7 (2024).
- 6) 中村ら. 蛍光指紋によるサトイモの産地判別法開発. *日本食品工学会誌*, 14(3), 125-129 (2013).
- 7) 中村ら. 蛍光指紋計測によるマンゴーの産地判別. *日本食品科学工学会誌*, 59(8), 387-393 (2012).

【参考文献】

- 1) 財務省. 貿易統計. 令和 5 年.

表 判別モデルごとの正答率

	<i>n</i>	正答率		
		LDA	LR	SVM
全体	152	93.4 %	93.4 %	93.4 %
国産	94	94.7 %	94.7 %	93.6 %
外国産	58	91.4 %	91.4 %	93.1 %
中国産	35	94.3 %	94.3 %	97.1 %
韓国産	23	87.0 %	87.0 %	87.0 %

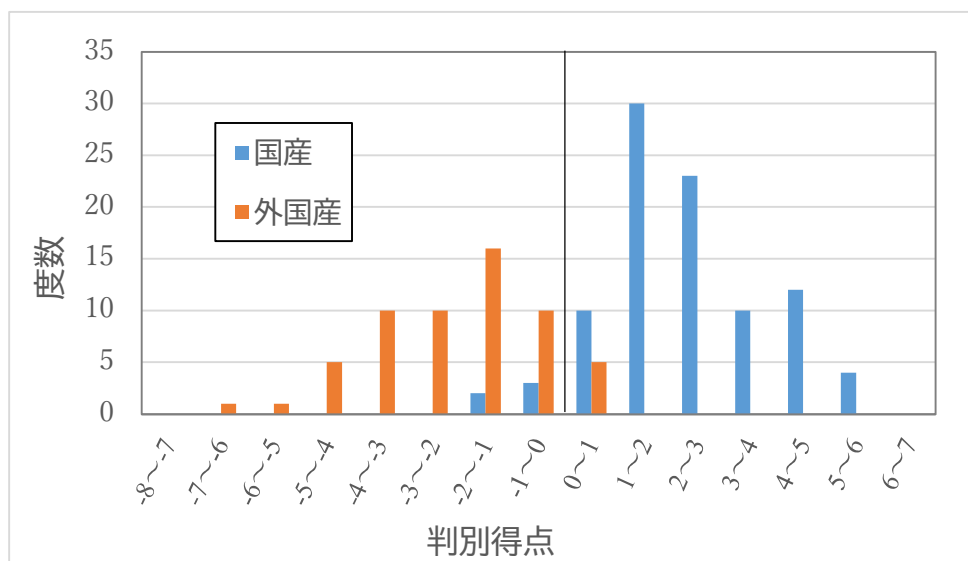


図 モデル試料の SVM 判別得点分布

5. 脂質分析による生鮮豚肉の原産地判別法の開発

後藤 祐之介¹、法邑 雄司²、川井 清明¹、松野 倫也¹、福元 雅代¹

¹（独）農林水産消費安全技術センター神戸センター、²同 横浜事務所

【はじめに】

豚肉の消費量は近年増加傾向にあり、令和5年度の自給率（農林水産省令和5年度食料需給表）は49%で国内生産量と輸入量は同程度となっている。輸入された豚肉は原産地が国産のものに比べて安価な傾向にあり、令和5年10月には学校給食において産地偽装が発生するなどの事例があり、消費者の産地表示に対する関心が高まっている。本研究では、脂質分析を用いた生鮮豚肉の国産／外国産の原産地を判別する方法を検討した。

【方法】

供試試料

試料は、生鮮豚肉のロースを対象とし、厚み10 mm以上にカットされたものを収集した。ただし、バークシャー種（黒豚）は対象外とした。原産地が国産の生鮮豚肉は、都道府県別の生産量割合¹⁾（3年間の平均）を参照して78点（以下「国産試料」という。）、外国産の生鮮豚肉は、国ごとの輸入量の割合²⁾（3年間の平均）を参照して42点（以下「外国産試料」という。）を判別法の検討に用いた。

試料調製

豚ロースの赤身（表面及び脂身を除去）を3 mm以下に細切して分析用試料とした。分析用試料5 gからヘキサン-2-プロパノール（3:2、v/v）混液により脂質成分を抽出した。その抽出脂質10 mgをヘキサン-酢酸エチル（1:1、v/v）混液500 µLに溶解してトリアシルグリセロール（TAG）測定試料とした。また、抽出脂質10 mgを誘導体化（メチルエステル化）し、ヘキサン500 µLに溶解して脂肪酸測定試料とした。

TAG 測定

ガスクロマトグラフ水素炎イオン化検出器

（GC-FID）に分析カラム Ultra ALLOY⁺-65 30 m×0.25 mm, 0.10 µm（FRONTIER LAB）を用いてスプリットレス注入法で試料0.5 µL中のTAGを測定した。脂質混合標準品（Merck）を内標準に用いた。

脂肪酸測定

GC-FIDに分析カラム DB-WAX 30 m×0.25 mm, 0.10 µm（Agilent）を用いてスプリット注入法で試料1.0 µL中の脂肪酸を測定した。

判別モデルの構築

測定結果から得られたピーク高さ又は面積を用いて試料中のTAG含有量及び脂肪酸組成を求めて、線形判別分析（Linear Discriminant Analysis：LDA）、二次判別分析（Quadratic Discriminant Analysis：QDA）及びサポートベクターマシン（SVM）による統計解析を行い、TAG含有量及び脂肪酸組成を説明変数とする判別モデルを構築した。構築した判別モデルの未知試料に対する的中率は、判別モデル構築用試料を用いたLeave-one-out cross validation（LOOCV）により確認した。

【結果及び考察】

豚肉抽出脂質から作製したTAG測定試料のクロマトグラムを図1に示す。TributylinからTricaprinの間に検出する一定の強度がある9ピークを測定対象とした。各ピークの高さから内標準法（Tricaprylin）により試料中の各TAG含有量を求めた。

脂肪酸測定試料のクロマトグラムを図2に示す。各ピークを脂肪酸混合標準液（Merck）を用いて同定し、安定した強度が得られた15成分を測定対象とした。各成分のピーク面積から内標準法（Pentadecanoic acid（C15:0））により試料中の各脂肪酸含有量を求め、15成分の総脂肪酸含有量に対する各脂肪酸組成を求めた。

国産試料 78 点及び外国産試料 42 点の TAG 含有量及び脂肪酸組成を用い、LDA により 10 成分 (TAG 4 成分、脂肪酸 6 成分) を説明変数とする国産／外国産判別モデルが得られた。このモデルを元に LOOCV により得られた判別得点の度数分布を図 3 に示す。判別得点が正の場合を国産と判別するとき、モデル構築に使用した試料のうち国産試料の 100 % (78/78)、外国産試料の 92.9 % (39/42) が正しく判別された。

以上の結果から、脂質分析による生鮮豚肉の国産／外国産の原産地を推定することが可能となった。

【参考文献】

- 1) 農林水産省. 畜産統計. 平成 29 年～平成 31 年.
- 2) 財務省. 貿易統計. 平成 28 年～平成 30 年.

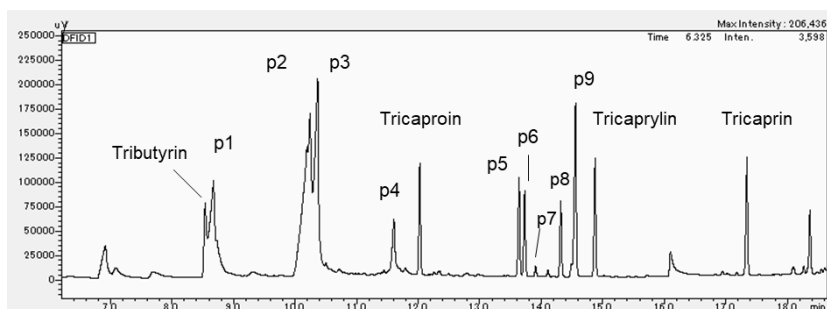


図 1 豚肉試料の TAG のクロマトグラム

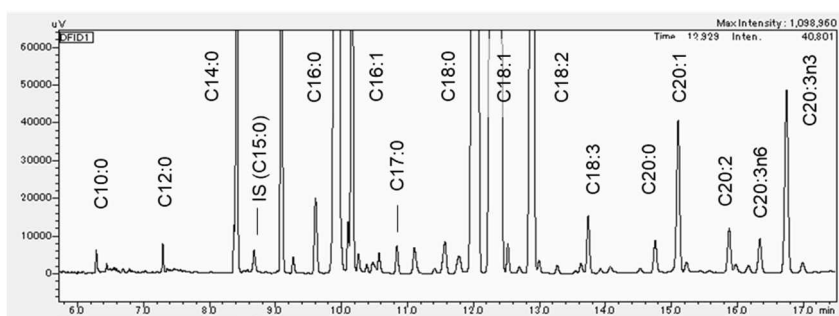


図 2 豚肉試料の脂肪酸のクロマトグラム

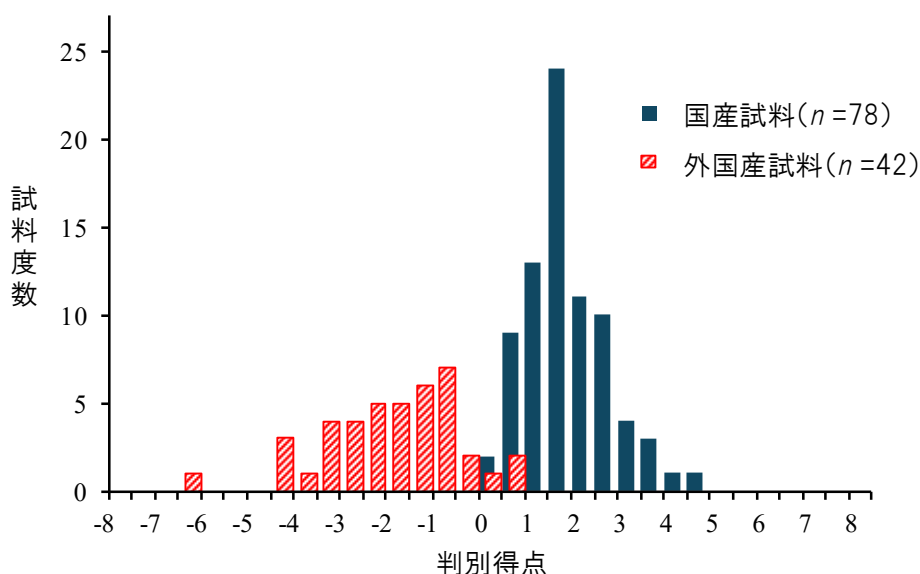


図 3 判別モデルの判別得点の度数分布

6. かつおぶし中の多環芳香族炭化水素類分析法の妥当性確認

寺田 昌市

(独) 農林水産消費安全技術センター有害物質等分析調査統括チーム

【はじめに】

多環芳香族炭化水素類 (PAHs) は芳香環 2 つ以上縮合した炭化水素化合物の総称で、有機物の不完全な燃焼や熱分解、各種の工業過程で生成される。食品に含まれる PAHs はベンゾ[a]ピレン (BaP、図 1) 等 30 種類程度が報告されており、肉・魚介類の燻製、直火で調理した肉、植物油、穀物製品などに多く含まれる。国際がん研究機関 (IARC) は 60 種類の PAHs を評価し、その多くに発がん性や遺伝毒性があること、あるいは、ヒトに対する発がん性が疑われることを報告している。このため、食品中の PAHs についての基準値 (主に BaP) が、EU、カナダ、韓国、中国、台湾などで設定されている。ちなみに、日本では基準値が設定されていない¹⁾。

かつおぶしにも PAHs が高い濃度で含まれるものがあることが分かっており、かつお節・削り節業界では、製造法の改善による低減対策に取り組み、PAH の低減ガイドラインを策定している。この中で、かつおぶしに含まれる PAHs のほとんどは、魚介類の焙乾工程で薪を燃焼する際に発生するくん煙に由来するため、ふしの表面に主に付着しており、表面部分を 10 %程度を除去すると、BaP 濃度を 20~60 %低減できると報告している²⁾。

このような含有実態の把握や低減対策の効果の確認には簡便な分析法が必要となる。これまでのかつおぶしの含有実態調査の分析法を見ると、溶媒抽出後にゲル浸透クロマトグラフィーによる精製、GC-MS/MS で測定する方法³⁾やアルカリ分解後に溶媒抽出、高分解能 GC-MS で測定する方法⁴⁾が使われている。今回は、ゲル浸透クロマトグラフや高分解能 GC-MS を用いない分析法について検討を行い、妥当性を確認した結果を報告する。測定対象とする PAHs は、欧州の食品科学委員会 (SCF) がマーカに推奨している 15 種に、食品添

加物専門家会議 (JECFA) が追加で推奨しているベンゾ[c]フルオレンを加えた 16 種の PAHs とする (表 1)。

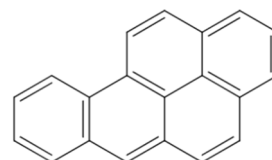


図 1 ベンゾ[a]ピレン

表 1 測定対象物質と内標準物質

ベンゾ[c]フルオレン	ベンゾ[a]ピレン
ベンゾ[a]アントラセン	インデノ[1,2,3-c,d]ピレン
シクロペンタ[c,d]ピレン	ジベンゾ[a,h]アントラセン
クリセン	ベンゾ[g,h,i]ペリレン
5-メチルクリセン	ジベンゾ[a,l]ピレン
ベンゾ[b]フルオランテン	ジベンゾ[a,e]ピレン
ベンゾ[k]フルオランテン	ジベンゾ[a,i]ピレン
ベンゾ[j]フルオランテン	ジベンゾ[a,h]ピレン
【内標準物質】	
ベンゾ[a]アントラセン-d12	
クリセン-d12	
ベンゾ[b]フルオランテン-d12	
ベンゾ[a]ピレン-d12	
ジベンゾ[a,h]アントラセン-d14	
ジベンゾ[a,i]ピレン-d14	

【方法】

分析試料

かつおぶし及びなまりぶしをフードプロセッサで粉碎し、よく混合して分析に供した。

分析方法^{3) 4) 5)}

分析試料 2.0 g を 50 mL 遠沈管に採取し、1.7 mol/L 水酸化カリウムエタノール溶液を加え、15 分振とう後、40 °C の超音波槽で 45 分アルカリ分解した。ヘキサン、水を加えて振とう抽出し、ヘキサン相を 3 %硫酸ナトリウム水溶液洗浄後、室

素乾固させた。残留物を酢酸エチル／アセトニトリル／水(16 : 64 : 20)に溶解し、Captiva EMR-Lipid (600 mg/6 mL)と Bond Elut PSA Jr (1 g)の連結カラムに全量負荷し、溶出液にヘキサン、3 %硫酸ナトリウム水溶液を加えて振とう抽出した。ヘキサン相を InertSep SIFF (1 g/6 mL)に全量負荷し、溶出液を窒素乾固させた。残留物を 100 µg/mL ポリエチレングリコール 300 トルエン溶液に溶解して GC-MS/MS 測定用試料とした (図 2)。

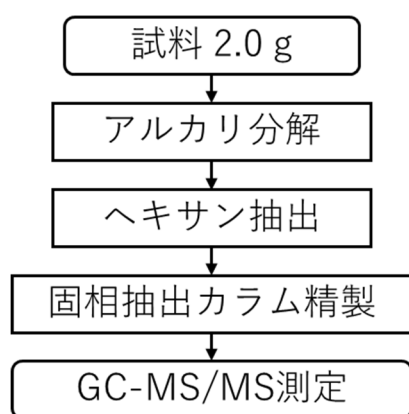


図 2 前処理フロー

妥当性の評価方法

16 種の PAHs について、選択性、真度、精度、検出限界、定量下限、検量線の直線性、マトリックス効果の影響を確認した。

- ① 選択性：妨害なく分析できることを確認
- ② 真度、精度：定量下限付近（低濃度）及びその 10 倍程度の濃度（高濃度）で人又は日を変えて 2 併行 5 回以上の添加回収試験を行い、平均回収率、併行相対標準偏差(RSDr)及び室内精度(RSDi)を求め、欧州委員会(EC)の定める性能基準に基づき評価⁶⁾
- ③ 検出限界、定量下限：定量下限付近の濃度の GC-MS/MS 測定用試料を 24 回繰り返し測定して、その標準偏差の 3.29 倍から検出限界、10 倍から定量下限を求め、EC の定める性能基準に基づき評価⁶⁾
- ④ 検量線の直線性：定量下限から必要と思われる上限濃度までの直線性の確認（相関係数 $R = 0.995$ 以上）

⑤ マトリックス効果の影響：GC-MS/MS 測定用試料と溶媒のみに対して定量下限付近となるように添加して 5 回繰り返し測定し、レスポンスを t 検定で評価

【結果】

真度（平均回収率）は 86.4～111.7 %、RSDr は 0.9～6.2 %、RSDi は 2.1～12.3 %、HorRat(i)は 0.1～0.6 の範囲にあり、EC の定める性能基準を満たしていた。

検出限界、定量下限は EC の定める性能基準（0.30 µg/kg 以下、0.90 µg/kg 以下）を十分に下回る濃度を確保することができた。

選択性、検量線の直線性、マトリックス効果の影響についても性能が十分であることが確認できた。

これにより、かつおぶし中の 16 種 PAHs 一斉分析法の妥当性が確認された。

【参考文献】

- 1) 内閣府食品安全委員会. ファクトシート 食品に含まれる多環芳香族炭化水素(PAH)（概要）(2023).
- 2) 鯉節安全委員会. かつおぶし・削りぶしの製造における多環芳香族炭化水素類(PAH)の低減ガイドライン（第 2 版）(2020).
- 3) 厚生労働省. 食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発に関する研究. 平成 25 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 (2014).
- 4) 農林水産省. 有害化学物質含有実態調査結果データ集（平成 23～24 年度）(2014).
- 5) Agilent. 食用油中の多環芳香族炭化水素化合物 13 種の測定. アプリケーションノート (2019).
- 6) Commission Regulation (EC) No333/2007 of 30 April 2004