

短 報

山形県特産果物を対象とした残留農薬分析における均一化法の比較

篠原秀幸, 本間弘樹

Comparison of homogenization methods in pesticide residue analysis for Yamagata prefecture specialty fruits

Hideyuki SHINOHARA, Hiroki HOMMA

食品中の残留農薬分析において、作物中の農薬成分の分布は部位により異なるため、分析試料をサブサンプリングする際の試料の均一性が定量精度に影響する。特に果物類等は均一化の際に果皮や種子等の固形分と、果実由来の水分が分離することがある。

そこで、一般的な室温での均一化法とドライアイスを用いた凍結粉砕法で均一化した試料について、粒度分布、一元配置分散分析、変動係数により均一性を比較した。その結果、凍結粉砕法の方が試料の均一性が高く、サブサンプリングに起因する定量値の変動が軽減される可能性が示唆された。

Key words : 残留農薬分析 pesticide residue analysis, 凍結粉砕 freeze grinding method, 一元配置分散分析 one-way analysis of variance

I はじめに

食品中の残留農薬検査では、試料となる作物中の農薬成分の分布が部位により異なるため、分析試料をサブサンプリングする際の試料の均一性が重要となる。

厚生労働省の公示試験法（GC/MSによる農薬等の一斉試験法（農産物））では、試料約1 kgを均一化した後、分析試料として20.0 gをサブサンプリングする^{文献1}。このとき、試料が適切に均一化されていることを前提としている。しかし、果物類を一般的な室温での均一化方法（以下、室温粉砕法）で均一化した場合、果皮や果実、種子で硬度が異なる等の要因により、果皮や種子の一部が細かく粉砕されないことがある。また、果皮等の固形分と果実に由来する水分で比重等が異なるため、一定時間が経過した際にそれらが分離することがある。このような試料ではサブサンプリングした分析試料の組成に偏り

が生じ、定量精度が低下するおそれがある。一方、ドライアイス等で試料を凍結した後に均一化する方法（以下、凍結粉砕法）では試料が粉末状になり、固形分と水分の分離が抑制できると報告されている^{文献2,3}。このことから、果物類の均一化に凍結粉砕法を用いることで、室温粉砕法と比べて試料の均一性が向上すると考えた。

山形県の特産品にはおうとうや西洋なしなどの果物類が挙げられる。これら特産果物の更なる安全性確保を主眼に置き、果物類を対象とした残留農薬検査の精度向上が必要と考えた。そこで、山形県特産果物を対象に凍結粉砕法による均一化を検討し、粒度分布、一元配置分散分析、変動係数により均一性を室温粉砕法と比較した。なお、一元配置分散分析、変動係数の比較では、実残留試料の代わりに、収穫後に農薬を付着させた試料（以下、模擬残留試料）を用いた。

Ⅱ 材料と方法

1. 試料

おうとう、ぶどう、西洋なし、かき、りんご（山形県内で生産または市販されたもの）

2. 試薬等

1) 農薬製剤（括弧内は有効成分）

日産化学工業製トレファノサイド（トリフルラリン）、ストロビーフロアブル（クレソキシムメチル）、テルスターフロアブル（ビフェントリン）、ダウ・アグロサイエンス日本製ダズバン乳剤（クロルピリホス）、住友化学製マラソン乳剤（マラチオン）、BASF ジャパン製ゴーゴースン（ペンディメタリン）、日本曹達製コテツフロアブル（クロルフェナピル）。

2) 試薬等

富士フィルム和光純薬製農薬混合標準液 PL-1-2、クロルピリホス標準液、フェナントレン d_{10} 標準液、アセトニトリル、アセトン、トルエン、ヘキサン、無水硫酸マグネシウム（以上、全て残留農薬試験用）、クエン酸三ナトリウム二水和物、塩化ナトリウム（以上、全て特級）、関東化学製クエン酸水素二ナトリウム 1.5 水和物（特級）、ジーエルサイエンス製 InertSep GC/NH2（500 mg/ 500 mg/ 6 mL）

3. 測定機器・分析条件

1) フードプロセッサー

Cuisinart 社製 DLC-NXJ2SS

2) 粒度分布測定装置

日機装製マイクロトラック MT3300ExII

試料は十分混和した後、湿式測定（分散媒：水）で粒径範囲 0.02～2000 μm の粒度分布を測定した。

3) ガスクロマトグラフ質量分析計

Agilent Technologies 社製ガスクロマトグラフ質量分析計（ガスクロマトグラフ：Agilent 7890A，オートサンプラー：Agilent 7693A，質量分析計：Agilent 5975A），カラム：Agilent Technologies 社製 HP-5MS UI（内径 0.32 mm，長さ 30 m，膜厚 0.25 μm ），昇温条件：70 $^{\circ}\text{C}$ （2 min）→25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ →150 $^{\circ}\text{C}$ （0 min）→3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ →200 $^{\circ}\text{C}$ （0 min）→8 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ →280 $^{\circ}\text{C}$ （10

min），注入口温度：250 $^{\circ}\text{C}$ ，イオン源温度：230 $^{\circ}\text{C}$ ，四重極温度：150 $^{\circ}\text{C}$ ，インターフェイス温度：280 $^{\circ}\text{C}$ ，キャリアーガス：ヘリウム，注入方法：スプリットレス，注入量：2.0 μL

4. 模擬残留試料の作製

精製水 1500 mL に 2.1) の農薬製剤をそれぞれ 0.5 mL ずつ加えて攪拌した。藤田らの方法^{文献 4}を参考に、この薬液に試料約 3 kg を数秒間浸漬した後、薬液をよく切って 2 日間自然乾燥した。

5. 模擬残留試料の均一化

4. で作製した模擬残留試料 3 kg について食品衛生検査指針を参考に可食部を分離した後、無作為に約 1 kg ずつ 2 回分取し、以下の方法で処理した。なお、均一化時間はいずれも 5 分とした。

1) 室温粉碎

試料約 1 kg を室温にてフードプロセッサーで粉碎、均一化した。

2) 凍結粉碎

千葉ら、佐々野らの方法^{文献 2, 3}を参考に、試料約 1 kg に等量のドライアイスを加えて予備凍結した後、フードプロセッサーで粉碎、均一化した。

6. 凍結粉碎法における均一化時間の検討

ぶどうをモデル試料として、試料約 1 kg を凍結粉碎法により均一化した。均一化開始から 5, 10, 20, 30 分経過後に試料約 10 g を分取し、粒度分布を測定した。得られた粒度分布を統計的手法によって解析し、各均一化時間で比較した。

7. 均一性の評価

1) 外観

各均一化法で処理した試料の外観について、果物の種子や果皮等の固形分と果実に由来する水分の分離を目視で確認した。

2) 粒度分布

各均一化方法により処理した試料約 1 kg から約 10 g を分取し、粒度分布を測定した。得られた粒度分布を統計的手法によって解析し、果物毎に均一化法間で比較した。

3) 一元配置分散分析および変動係数の算出

均一化した試料約 1 kg を等量ずつ 10 分割し、そのうち 5 分割を無作為に選択、それぞれから 10.0 g ずつ 2 回分取した。均一化方法毎に計 10 試料について図 1 に従い試験溶液を調製した後、ガスクロマトグラフ質量分析計で測定し、各農薬成分のクロマトグラムからピーク面積を求めた。得られたピーク面積から農薬成分それぞれについて一元配置分散分析によって区分間/区分内の分散比 F を求め、区分数 5、併行数 2、有意水準 5% に対する棄却限界値 (5.192) と比較した^{文献 5, 6}。加えて、10 試料のピーク面積の変動係数を算出し、均一化法間で比較した。

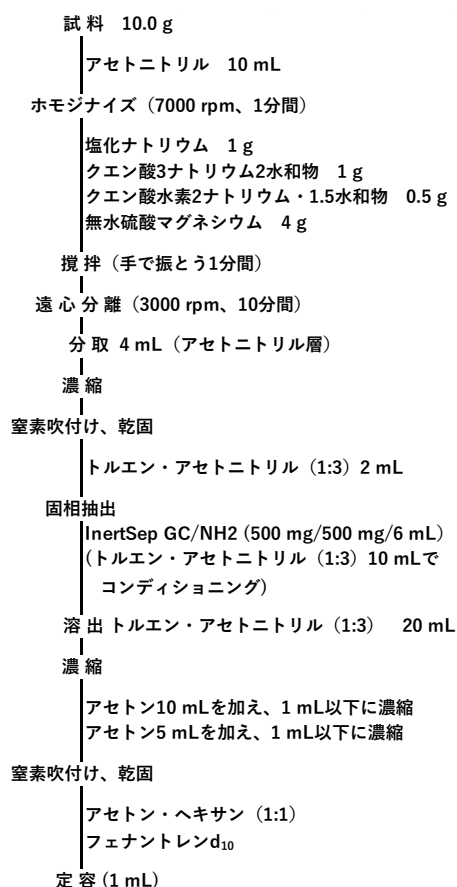


図 1 試験溶液の調製

Ⅲ 結果

1. 凍結粉碎法における均一化時間の検討

各均一化時間で得られた粒度分布について、シャ

ピロ・ウィルク検定を行い各分布の正規性を確認したところ、すべての粒度分布で正規性が棄却された（データ示さず）。そこで、ノンパラメトリック検定であるクラスカル-ウォリス検定により分布の差を比較した。その結果、各均一化時間における粒度分布に差はなかった。外観では均一化時間 5 分で試料全体が粉末状に均一化されており、それ以降では変化がなかった。

2. 均一性の評価

1) 試料の外観

室温粉碎法による均一化では特にぶどう、西洋なしで固形分と水分の分離が顕著だった。かき、おうとうは果実に粘性があり、室温で粉碎すると一部が塊状となり、細かく粉碎することが困難だった。りんごは固形分と水分の顕著な分離はなかったが果皮の一部が粉碎されずに残っていた。

一方、凍結粉碎法で処理した場合には全ての果物が粉末状に均一化され、固形分と水分の分離は見られなかった。ただし、おうとうでは試料の一部が塊状になっていた。

2) 粒度分布

得られた全ての粒度分布についてシャピロ・ウィルク検定により正規性を確認した（図 2）。その結果、全ての粒度分布で正規性が棄却されたため、ノンパラメトリック検定であるコルモゴロフ=スミルノフ検定を用いて果物毎に均一化方法間の粒度分布を比較した。優位水準 0.01 で分布形状に差があったのはかき、りんごだった。おうとうを除く果物において、室温粉碎法と比べ凍結粉碎法で均一化した際に粒径が小さい粒子の頻度が増加する傾向があった。

3) 一元配置分散分析および変動係数

室温粉碎法ではおうとう 1 成分、凍結粉碎法ではおうとうを含む 3 試料延べ 8 成分で分散比 F が棄却限界値以上であった（表 1）。変動係数はおうとう（ピフェントリン、かき（クレソキシムメチル）を除き室温粉碎法に比べ凍結粉碎法の方が小さい値を示した（表 2）。

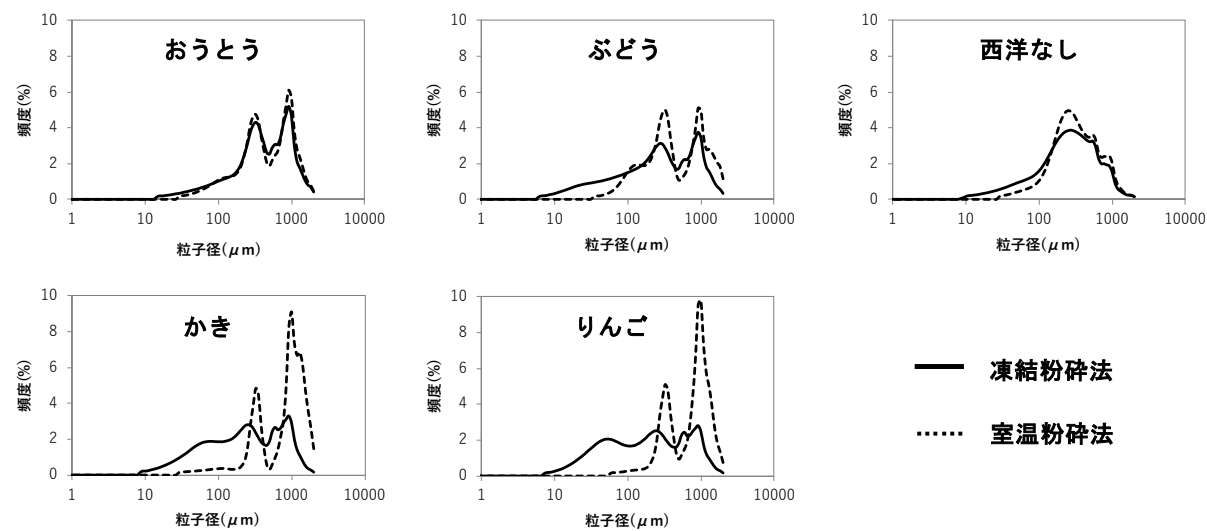


図 2 各作物における均一化後の粒度分布

表 1 各作物における均一化法毎の分散比 F

農薬成分	分散比F									
	おうとう		ぶどう		西洋なし		かき		りんご	
	凍結	室温	凍結	室温	凍結	室温	凍結	室温	凍結	室温
トリフルラリン	4.095	1.809	0.803	1.203	1.484	1.233	0.817	0.817	0.479	0.432
マラチオン	1.382	<u>7.249</u>	1.245	0.562	2.679	1.405	0.234	1.186	<u>5.919</u>	0.868
クロルピリホス	<u>15.380</u>	1.606	1.505	1.197	1.705	1.507	0.233	1.591	<u>11.848</u>	0.446
ベンディメタリン	<u>12.650</u>	1.711	0.075	1.041	3.259	1.771	0.199	2.259	<u>5.965</u>	0.419
クレソキシムメチル	1.696	4.243	2.911	0.576	1.031	0.714	0.599	3.865	1.652	1.439
クロルフェナビル	<u>6.340</u>	1.298	3.102	0.418	2.420	1.191	0.234	1.562	2.833	0.612
ピフェントリン	<u>5.296</u>	2.836	3.102	0.553	<u>5.875</u>	0.964	0.432	1.268	1.553	0.630

*下線:棄却限界値(5.192)以上となった項目

表 2 各作物における均一化法毎のピーク面積の変動係数 CV %

農薬成分	変動係数CV%									
	おうとう		ぶどう		西洋なし		かき		りんご	
	凍結	室温	凍結	室温	凍結	室温	凍結	室温	凍結	室温
トリフルラリン	14	19	4.0	14	4.9	10	15	37	6.1	13
マラチオン	7.7	13	2.9	10	4.4	12	13	25	12	14
クロルピリホス	11	15	3.8	15	6.8	16	13	24	14	15
ベンディメタリン	13	16	2.5	16	6.9	18	13	27	10	17
クレソキシムメチル	6.0	7.8	3.6	16	5.2	7.5	<u>15</u>	<u>10</u>	11	13
クロルフェナビル	11	13	4.4	17	5.5	14	13	19	10	15
ピフェントリン	<u>16</u>	<u>10</u>	2.1	15	5.1	25	11	17	10	16

*下線:室温粉砕法に比べ凍結粉砕法で大きい値となった項目

Ⅳ 考察

室温粉碎法による均一化において、特にぶどうや西洋なしでは果皮と果実の硬度差が大きく水分量が多いため、果皮等の固形分が分離しやすい。一方、凍結粉碎法では試料中の水分を凍結させることにより、水分と固形分の分離を抑制している。また、果物のように水分を多く含む食品では粉碎時に水が可塑剤として働くが、凍結により可塑性が失われ、試料全体が脆化する^{文献 7}。そのため、凍結粉碎法では果皮等の固形分を微細に粉碎でき、試料の均一性が向上すると推察される。しかし、おうとうを凍結粉碎した際に目視で試料の一部が塊状になっていた。凍結粉碎法では基本的に試料を粉碎前に予備凍結するが、荒木らの報告によると、作物によっては試料の一部が粉碎されずに塊状に残ることがある^{文献 8}。その場合、試料を予備凍結せずにドライアイスと共に均一化すると改善する可能性があり、作物によっては予備凍結の方法を検討する必要がある。

一元配置分散分析で、凍結粉碎法の方が室温粉碎法より分散比 F が棄却限界値を超える農薬成分が多かった。この理由として、分散比 F を算出する際の区分間および区分内の変動の大きさが影響していると考えられる。変動係数は凍結粉碎法の方が室温粉碎法の場合よりもサンプリングした 10 試料のピーク面積のばらつきが小さく、分散分析における区分間および区分内の変動も小さくなる傾向があった。しかし、分散比を求めると、各変動の値が小さいために両者の差が大きく影響し、分散比 F が棄却限界値を超える場合があったと推察される。

今回、山形県の特産果物を対象に凍結粉碎法による均一化の検討を行い、得られた試料の均一性を評価した。凍結粉碎法はサンプリングに伴うピーク面積のばらつきが小さく、定量精度が高い可能性が示唆された。よって、果物類の残留農薬検査において凍結粉碎法を用いることで、より精確な検査結果が

得られ、食の安全性の担保に寄与するものと考えられる。今後は他の作物および農薬成分でも検討を行い検査への導入を目指していく。

Ⅴ 謝辞

本研究の実施にあたりご協力いただきました山形県工業技術センター高橋俊祐研究員に感謝いたします。

本研究は、大同生命厚生事業団主催平成 30 年度地域保健福祉研究助成により実施した。

Ⅵ 文献

1. 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知，食安発第 0124001 号，平成 17 年 1 月 24 日。
2. 千葉美子，滝沢裕，大内亜沙子 他：宮城県保健環境センター年報，33，41-45，2015。
3. 佐々野遼一，小西賢治，柏木春奈 他：食品衛生学会第 106 回学術講演会要旨集。
4. 藤田俊一，和田豊，高橋義行：植物防疫，67，55-61，2013。
5. 起橋雅浩，尾花裕孝，堀伸二郎 他：食品衛生学雑誌，51，253-257，2010。
6. 宮本伊織，角谷直哉，山野哲夫：大同生命厚生事業団主催平成 27 年度地域保健福祉研究助成 研究報告。
7. 羽倉義雄：日本食品工学会誌，10，199-206，2009。
8. 荒木啓佑，江崎康司，佐野達也 他：平成 28 年川崎市健康安全研究所年報，105-107。

短 報

山形県における性感染症の発生動向について(2006-2019 年)

小川直美, 細谷翠, 小松秀一, 長岡由香

Occurrence trend of sexually transmitted disease
in Yamagata prefecture (2006-2019)

Naomi OGAWA, Midori HOSOYA, Shuichi KOMATSU, and Yuka NAGAOKA

山形県感染症発生動向調査において、2006 年から 2019 年に報告された性感染症の報告について分析した。定点把握疾患は全体的に報告数が減少または横ばいであったが、性器クラミジア感染症と性器ヘルペスウイルスの報告数は、20 代後半から 30 代では報告数は増加傾向がみられた。梅毒は、近年女性の報告数が増加しており、そのほとんどが 20 代から 30 代であることから先天性梅毒の発生が危惧される。

Key Words : 感染症発生動向調査, 性感染症, 梅毒

I はじめに

性感染症は自覚症状が軽度または無症状のことが多く、本人が感染に気付かない場合も多い。また、感染の自覚があっても、医療機関を受診することに抵抗感を覚える患者も多く、早期の治療に結びつきにくい一面がある。そのため、適切な医療を受けられないままパートナーへの感染や母子感染、不妊につながるなど、問題が大きい。

性感染症の発生状況は、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（平成十年法律第百十四号）第十四条の規定に基づく発生動向調査により把握されている。

今回我々は、山形県感染症発生動向調査により得られた情報を分析し、県内の性感染症の発生動向についてまとめたので報告する。

（National Epidemiological Surveillance of Infectious Disease : NESID）を用いて集計を行い、疾患ごとに年齢分布や男女比、病型などについて分析した。

対象疾患と県内の定点医療機関数は以下の通り。

- 1) 対象疾患
 - ① 定点把握感染症（月報対象）
 - ・性器クラミジア感染症
 - ・性器ヘルペスウイルス感染症
 - ・尖圭コンジローマ
 - ・淋菌感染症
 - ② 全数把握感染症
 - ・梅毒
- 2) 定点医療機関数（STD 定点）
 - 10 医療機関（婦人科、泌尿器科）

II 方法

山形県感染症発生動向調査において、2006 年から 2019 年に県内の医療機関から報告された性感染症の症例について、感染症サーベイランスシステム

III 結果

1) 定点把握疾患

山形県内における性器クラミジア感染症、性器ヘルペスウイルス感染症、尖圭コンジローマ、淋菌感

感染症の発生動向の推移を、図1, 2に示した。なお、山形県のSTD定点医療機関は、泌尿器科に比べて婦人科が多いため、定点当たり報告数は男性が少なく、女性が多くなる傾向がある。性器クラミジア感染症は、女性の定点当たり報告数が、最も多かった2013年に全国平均の1.5倍となるなど、全国平均を上回ることが多かった。しかし、2016年以降減少傾向となり、2018-19年は全国平均を下回った。性器ヘルペスウイルス感染症は女性の報告数が増加傾向であり、2009年以降ほとんどの年で全国平均を上回っていた。尖圭コンジローマと淋菌感染症は男女ともに横ばいか減少傾向で推移していた。(図1)

男性の報告数を年代別にみると、性器クラミジア感染症の報告は20代後半から30代で多く、この年代の報告数は2013年頃からやや増加傾向にある。性器

ヘルペスウイルス感染症と尖圭コンジローマは報告数が少なく、はっきりした傾向はみられなかった。淋菌感染症は2012年頃までは、20代から30代に報告数のピークがみられたが、それ以降はピーク年代の報告数が減少し、はっきりしたピークがみられなかった。女性の報告数を年代別にみると、最も報告数の多い性器クラミジア感染症では、全調査期間で20代から30代前半に報告数のピークがみられ、10代後半の報告も多かった。性器ヘルペスウイルス感染症は、2014年ごろまでは報告数のピークが20代にあったが、2015年以降は30代がピークであり、ピーク年齢の後方スライドがあった。尖圭コンジローマと淋菌感染症は2014年ごろまでは20代の報告数が多かったが、2015年以降は減少し、全体的に報告が少なくなっている。(図2)

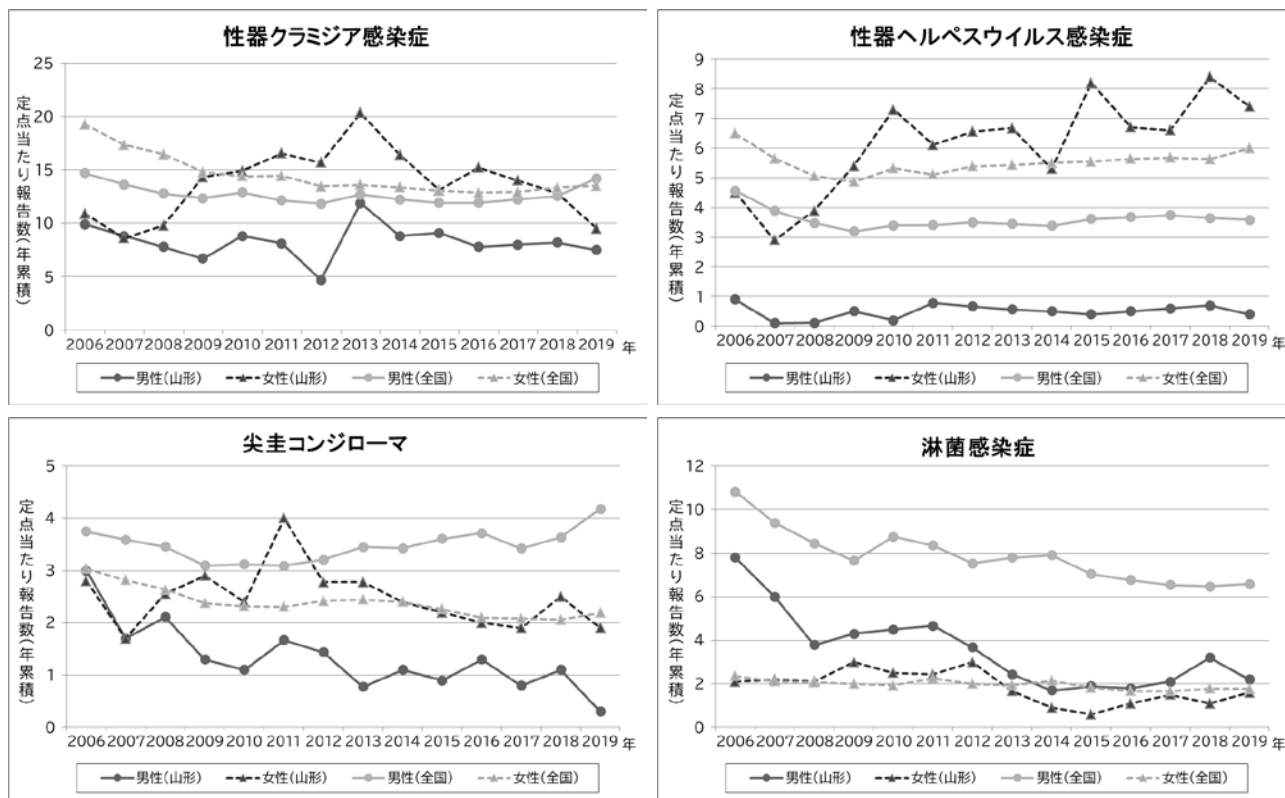


図1 定点当たり報告数の推移

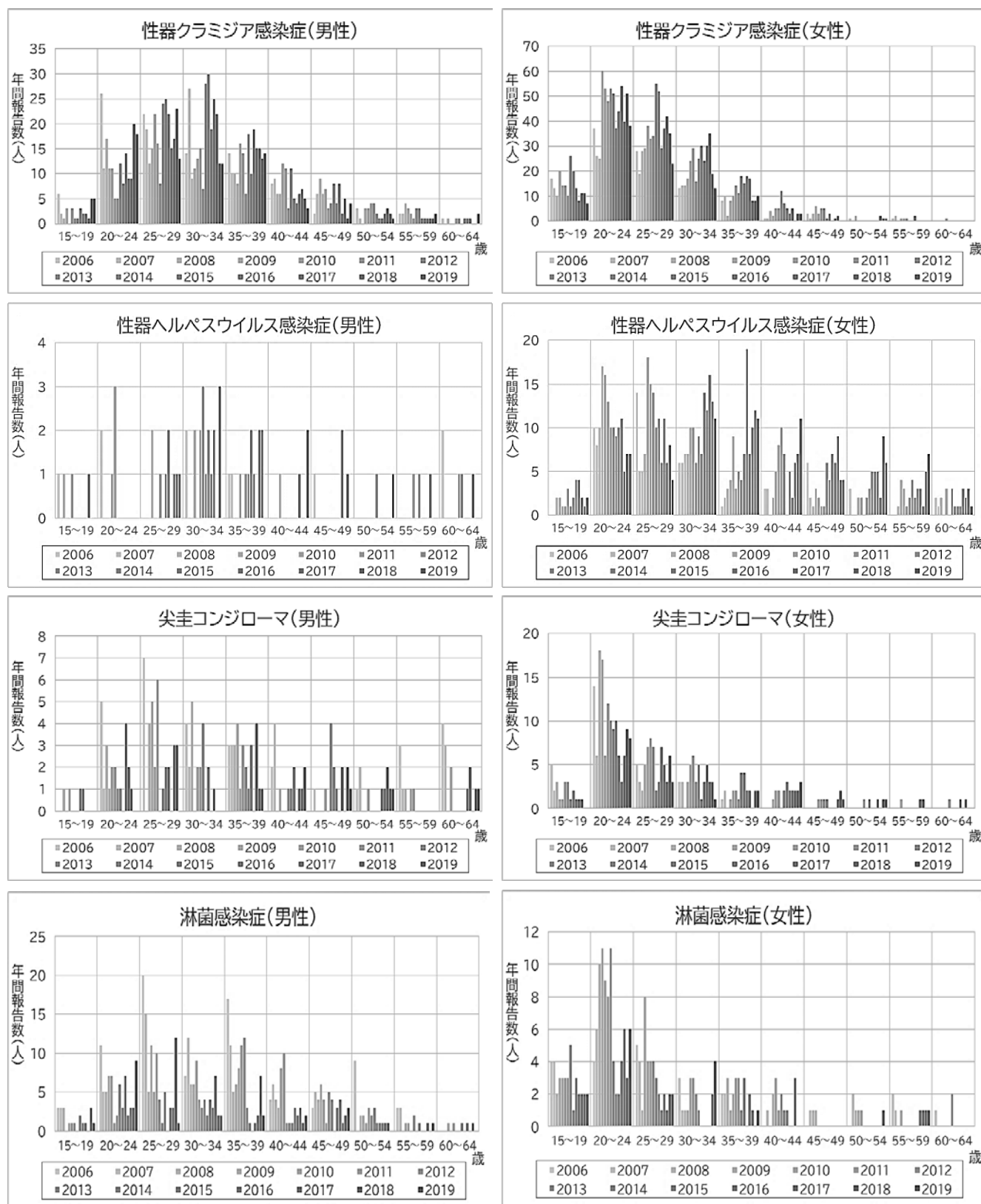


図2 年代別報告数

2) 全数把握疾患

梅毒の報告数を図 3,4 に示した。山形県、全国ともに 2013 年頃から報告数が増加傾向であり、男性・女性ともに報告数の増加がみられた（図 3）。県内の報告数を年代別にみると、男性では 30 代から 40 代にピークがあるものの、20 代から 60 代まで幅広い年代で多くの報告がみられた。女性では、20 代から 30 代前半の報告が多く、7 割以上がこの年代であった。2016 年以降、20 代から 30 代前半の女性の報告数が増加傾向にある（図 4）。

報告数を病型別にみると、男性では無症候から晩期まで様々な病型が報告されるが、近年は無症候または早期顕症梅毒（Ⅰ期）の報告が増加している。女性では、全体的に無症候の報告が多かった。（図 5）

感染経路は、全報告が性的接触による感染で、男性は 7 割、女性は全ての報告で異性間の性的接触による感染であった（図 6）。推定感染地に記載があった人のうち、男性は 6 割、女性は 9 割が山形県内での感染であった（図 7）。

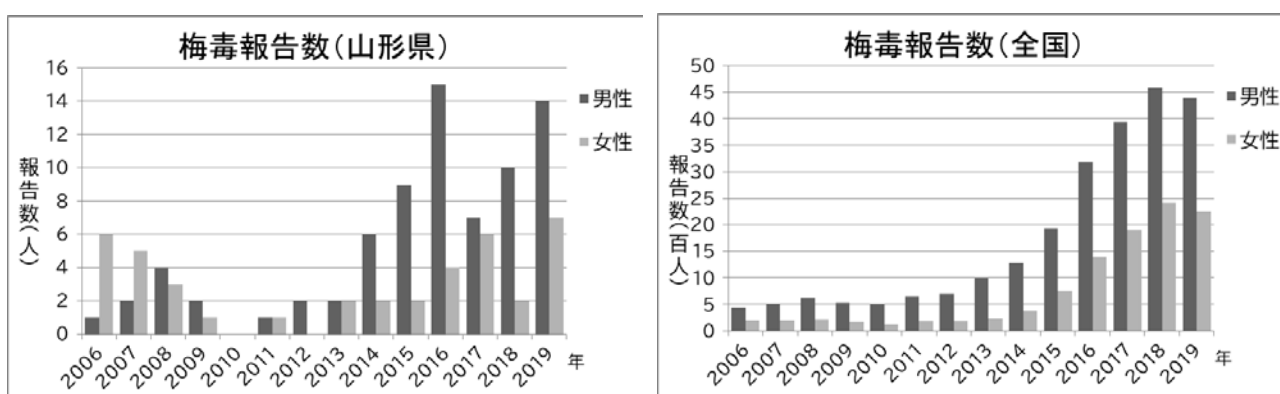


図 3 梅毒報告数

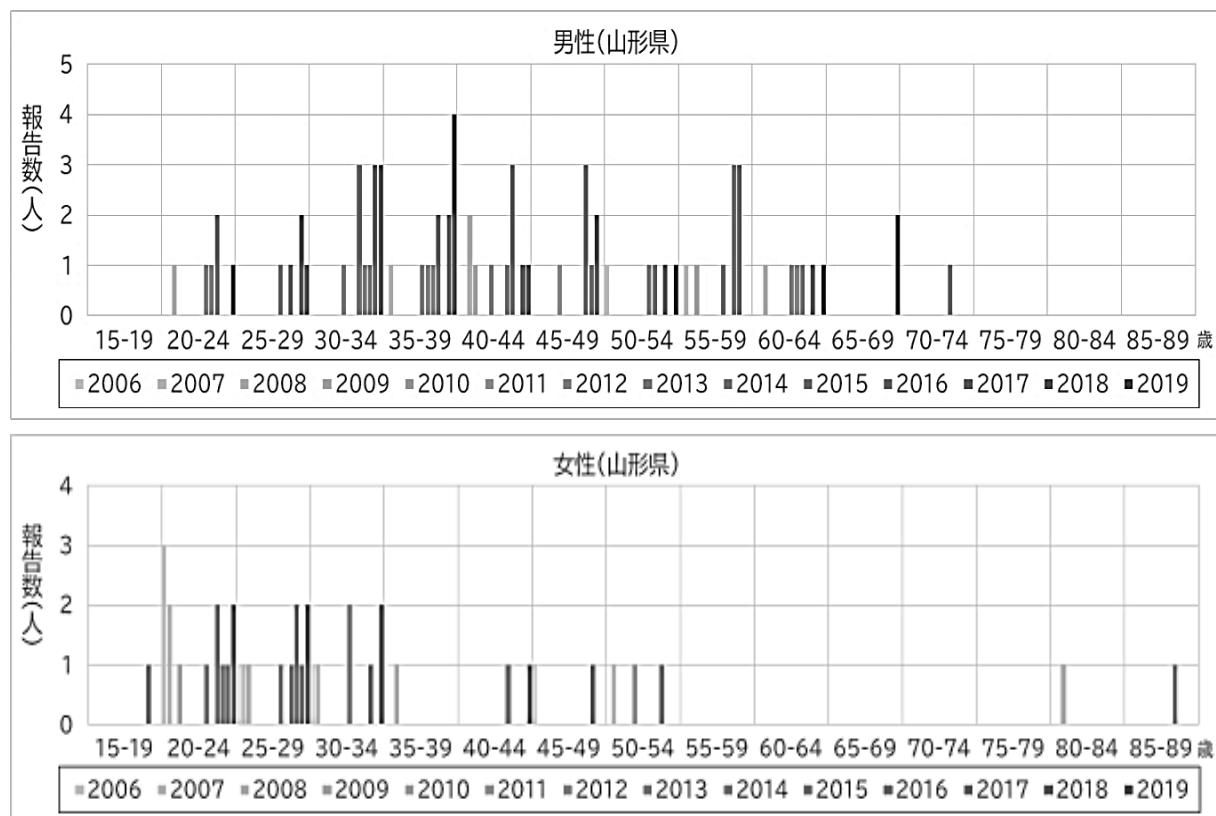


図 4 梅毒 年代別報告数

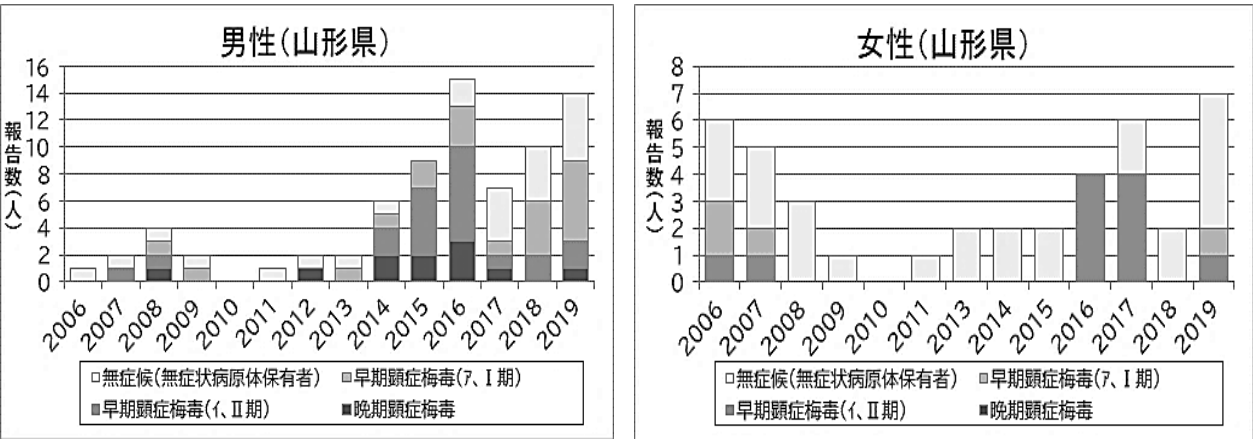


図 5 梅毒 病型別報告数

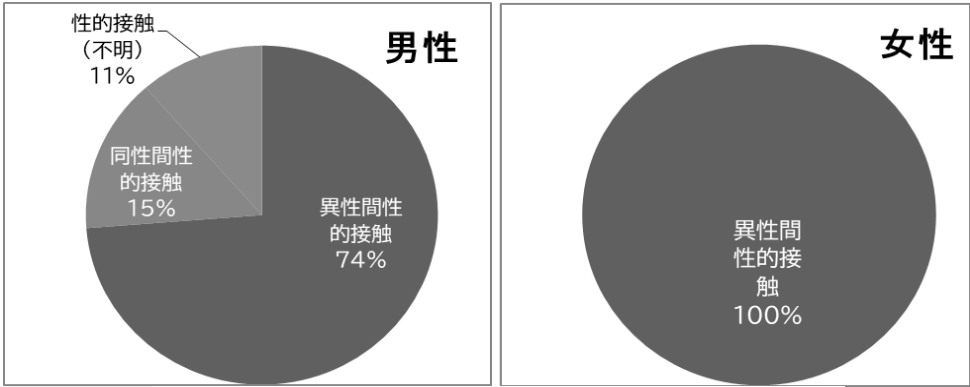


図 6 梅毒 男女別感染経路

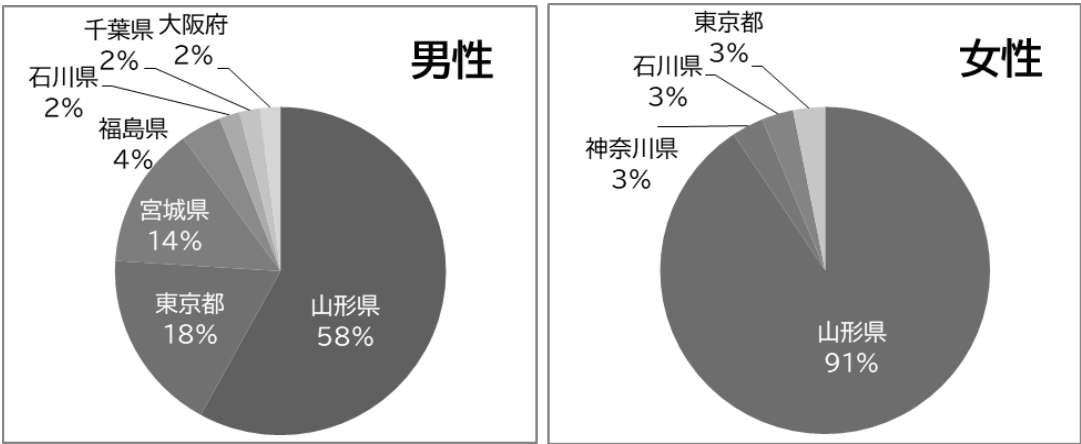


図 7 梅毒 男女別推定感染地

Ⅳ 考察

定点疾患の報告数は、全体の数としては横ばいか、減少しているように見える。しかし、性器クラミジア感染症と性器ヘルペスウイルスの報告数は、出産数の多い20代後半から30代では報告数の減少しておらず、むしろ増加傾向にある。10代から20代前半では全体的に報告数は横ばいであるが、若年層の人口が急激に減少している状況を考えると、罹患率は増加している可能性も考えられる。

梅毒は、近年山形県でも全国と同様に女性の報告が増加している。出産数の多い20代から30代前半の報告が多く、そのほとんどが無症候である。本調査期間中に先天性梅毒の報告はなかったが、今後も母児感染の発生に注意していく必要がある。

Ⅴ 結語

インターネットやSNSが普及し、性交渉を取り巻く状況が多様化、低年齢化している一方で、性感染症に関する正しい情報は十分に浸透しているとは言えない状況にある。山形県感染症情報センターは、感染症発生動向調査により得られた情報を分析し、わかりやすい形で県民へ提供することにより、県内の感染症蔓延防止に貢献していきたいと考えている。

Ⅵ 文献

- 1) 厚生労働省：性別にみた性感染症（STD）報告数の年次推移
(<https://www.mhlw.go.jp/topics/2005/04/tp0411-1.html>（アクセス日：2020年7月10日）)
- 2) 小野寺昭一, 近年の我が国における性感染症の動向, モダンメディア 58-7, 201-218, 2012