称号及び氏名	博士（環境学）　平田　祥太郎
学位授与の日付	2024 年 3 月 31 日
論　文　名	これまで検査困難であった食品を対象とした残留農薬および動物用医薬品の試験法開発
論文審査委員	主　査　　星　英之
	副　査　　竹中　規訓
	副　査　　興津　健二

博士学位論文要旨

農薬および動物用医薬品（以下、農薬等）としてテトラサイクリン系抗生物質および抗寄生虫薬が用いられている。食品衛生法により農薬等の食品残留基準が設定されている。残留基準への適合判定法として、厚生労働省から通知された試験法（通知法）があるが、対象食品が限定されている。本論文では、通知法対象外の加工食品および未加工食品を対象に残留農薬等の試験法を開発した。

第 1 章 緒論

食の安全安心に関わる社会システム：残留農薬による健康危害が発生して以降、多様な食品を対象に安全確保が求められた。厚生労働省は食品衛生法を改正し、ポジティブリスト制度を導入した。全ての農薬等を規制対象とし、許容残留量リストを示す方式である。

残留農薬等試験法の概要：安全な食品を消費者に届けるためには、継続的な試験検査が必要である。試験検査には高速液体クロマトグラフ(HPLC)等の機器分析を用いた試験法が採用されている。残留農薬等試験法は試験溶液調製（溶媒による抽出、固相等による精製）および機器分析(HPLC による測定）から構成されている。

本論文の構成：これまで検査困難であった食品を対象に残留農薬等試験法を開発した。開発にあたっては、高額な試薬や機器を必要としない手法を志向した。第 2 章から第 4 章においては、畜水産加工品、香辛料、果実加工品を対象とした残留テトラサイクリン系抗生物質試験法を開発した。これらの章で得られた知見を活かして、第 5 章と第 6 章においては牛や野生鳥獣の食用部分を対象とした残留抗寄生虫薬試験法を開発した。

第 2 章 畜水産加工品を対象とした残留テトラサイクリン系抗生物質の試験法

目的：畜水産動物の疾病を防除する目的でテトラサイクリン系抗生物質が投与される。しかし、通知法は一部の未加工食品のみを対象としており、畜水産加工品は対象外となっ

ている。本章では豚カツやかまぼこ等の畜水産加工品を対象に 4 種テトラサイクリン系抗生物質（オキシテトラサイクリン、テトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、ドキシサイクリン）の試験法開発を目指した。

結果および考察：

(1)通知法を畜水産加工品に適用すると、ヘキサン分配において強固なエマルジョンが発生し、試験溶液調製が困難であった。

(2)改良法として、アセトニトリルーメタノール混液による除タンパク抽出を追加した試験法を検討した。その結果、エマルジョンが発生せず、試験溶液調製が可能となった。

(3)改良法の性能評価のために、添加回収試験(n=IO：試験者 1 人、1 日 2 併行、5 日間）を行った。その結果、真度および精度は厚生労働省妥当性ガイドラインの目標値（真度：70-120%、併行精度：10%未満、室内精度：15%未満）を満たした。

これより簡便な除タンパク抽出操作の追加だけで、畜水産加工品を対象とした残留テトラサイクリン系抗生物質試験が可能となった。本法は畜水産加工品の安全確保に有用な手法と言える。

第 3 章 シナモンを対象とした残留オキシテトラサイクリンの試験法

目的：シナモンはチャイニーズシナモンあるいはセイロンシナモンの樹皮から製造される香辛料である。シナモンは世界各国の料理で汎用されており、流通および消費が多い香辛料である。原産国においてはシナモン病害を防除する目的で殺菌剤が散布されている。しかし、オキシテトラサイクリン通知法はシナモン（樹皮）を対象としていない。そこで本章では、シナモンを対象とした残留オキシテトラサイクリンの試験法開発を目指した。

結果および考察：

(1)通知法をシナモンに準用すると、試験溶液に黄色色素が残存していた。また、クロマトグラムを評価すると、オキシテトラサイクリンの保持時間に測定妨害ピークが確認された。これより、 通知法では精製操作が不十分であることが分かった。

(2)農産物の黄色色素除去には Z-sep による分散固相精製が適すると報告されている。そこで、Z-sep で試験溶液を精製できるか評価したところ、シナモン由来の黄色色素および測定妨害ピークを除去できる事が確認された。

(3)添加回収試験(n=10)により性能評価を行ったところ、真度および精度は妥当性ガイドラインの目標値を満たすことが分かった。

改良法は簡便な分散固相精製の追加だけで、シナモンを対象とした残留オキシテトラサイクリン試験が可能となった。本法はシナモンの安全確保に有用な試験法と言える。

第 4 章 りんごジュースを対象とした残留オキシテトラサイクリンの試験法

目的：りんご病害を防除する目的でオキシテトラサイクリンが散布されている。りんごはりんごジュース（透明タイプおよび混濁タイプ）として喫食されることが多い。りんご

ジュースは乳幼児の喫食量の多い加工食品である。そのため、りんごジュースを対象とした残留農薬等の試験法開発は、食品衛生上有用な取り組みである。しかし、通知法はりんごジュース（果実加工品）を対象としていない。そこで本章では、りんごジュースを対象とした残留オキシテトラサイクリンの試験法開発を目指した。

結果および考察：

(1)通知法を混濁タイプに準用すると固相精製の際に通液困難であった。また、添加回収験（n=3)により性能評価すると、混濁タイプにおける回収率は 73%であった。ガイドライン目標値の下限近傍であり、回収率の改善が求められた。これより、通知法では混濁タイプに不適であることが分かった。

(2)固相カラムの通液改善には試験溶液調製の小スケール化が適すると報告されている。試料量および固相量の小スケール化が適するか評価したところ、混濁タイプにおいても通液および回収率を改良できる事が確認された。

(3)添加回収試験（n=10)により性能評価を行ったところ、真度および精度は妥当性ガイドラインの目標値を満たすことが分かった。

小スケール化することで、迅速にりんごジュース中オキシテトラサイクリンの試験が可能となった。本法はモニタリング検査に有用な手法と言える。

第 5 章 多様な牛の畜産物を対象とした残留抗寄生虫薬の試験法

目的：牛の寄生虫感染症の治療および予防を目的として抗寄生虫薬が投与されている。抗寄生虫薬が過度に残留した食品を摂取した場合に健康危害が懸念されるため、残留基準が設定されている。牛における残留基準は「筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、その他の食用部分」の 5 部分に対して設定されている。しかし、通知法は筋肉、脂肪、肝臓、腎臓のみが対象で、その他の食用部分は対象外であるケースが多い。本章では、通知法の対象部分に加えて、その他の食用部分（舌、心臓、第一胃および尻尾）を対象に抗寄生虫薬の一斉試験法を検討した。畜産業で使用される抗原虫薬、抗吸虫薬、抗線虫薬、外部寄生虫駆除剤の 16 物質（アンプロリウム、チアベンダゾール、5-ヒドロキシチアベンダゾール、クロビドール、スルファチアゾール、スルファジミジン、モランテル、オクスフェンダゾール、フェンベンダゾール、フェパンテル、ニトロキシニル、トリクラベンダゾール、ケドトリクラベンダゾール、デコキネート、ペルメトリン、メトプレン）を選択した。

結果および考察：

(1)移動相として 0.05%トリフルオロ酢酸およびアセトニトリルを用いたグラジェント溶出により、16 物質を分離できた。

(2)第 2 章で確立した試験溶液調製を一部改変して応用したところ、筋肉だけでなく第一胃においても十分な回収率が確認された。

(3)筋肉と第一胃以外の食用部分を対象に添加回収試験(n=3)を行ったところ、良好な回収率および相対標準偏差であることが認められた。

本法は汎用分析機器を用いて十分な感度と精度が得られる試験法であり、 畜産物の安全確保に活用することができる。

第 6 章 北海道産ジビエを対象とした残留プラジクアンテルの試験法

目的：近年野生鳥獣の狩猟が振興されており、野生鳥獣由来の食品（ジビエ）の消費が活性化している。北海道では野生鳥獣がエキノコックスを保有しており、その駆虫を目的に抗寄生虫薬プラジクアンテルが環境散布されている。そのため、野生鳥獣のプラジクアンテル摂取を介してジビエに残留しているおそれがある。しかし、ジビエを対象とした残留プラジクアンテル試験法は報告されていない。そこで本章では、ジビエを対象に残留プラジクアンテルの試験法開発を目指した。

結果および考察：

(1)プラジクアンテル通知法をジビエ（エゾシカおよびヒグマの筋肉） に準用すると、固相カラム精製の際に通液困難であった。また、減圧濃縮の際に突沸多発が生じた。添加回収 試験（n=3）により性能評価すると、両ジビエにおいてやや低回収率（エゾシカ筋肉： 74%、ヒグマ筋肉：71%）が確認された。これより、通知法はジビエに不適であることが分かった。

(2)第 5 章で確立した試験溶液調製を応用したところ、操作性に課題は確認されなかった。

また、添加回収試験(n=3)により性能評価すると、両ジビエにおいて 80%以上の回収率が確認された。これより、本法はジビエに適すると考えられた。

(3)添加回収試験(n=10)により性能評価を行ったところ、真度および精度は妥当性ガイドラインの目標値を満たすことが分かった。

本法は簡便なジビエ中プラジクアンテルの試験法であり、多くの行政検査機関における業務の中で十分運用できるものと考えられた。

総括

畜水産加工品、シナモン、りんごジュース、ジビエに対して、通知法が準用困難であるケースが確認された。 また、抽出操作や精製操作を食品性状に合わせて改良することにより試験可能となることを見出した。新規食品を試験する際には、食品性状に合わせて試験法を精査することが重要である。本論文の知見を活かすことで、これまで検査困難であった食品を対象に残留農薬等の試験検査が実施可能となる。これより、食の安全安心に資することができたと言える。

初出一覧

第 1 章：本論文が初出

第 2 章：Hirata.S et al.: Determination of residual antibacterial substances in processed foods manufactured from livestock and marine products using HPLC. Jpn. J. Food Chem. Safety, 28, 138- 145 (2021）を加筆、修正

第 3 章：Hirata.S et al.: Development of residual oxytetracycline analysis in cinnamon by dispersive solid-phase extraction using HPLC. Jpn. J. Food Chem. Safety, 30, 37-42 (2023) を日本語訳、加筆、修正

第 4 章：Hirata.S et al.: Analytical method of residual oxytetracycline in apple juices using HPLC. Jpn. J. Food Chem. Safety, 30, 178-183 (2023）を加筆修正

第 5 章：Hirata.S et al.: Simultaneous determination of residual anthelmintics in cattle livestock products using HPLC with a photo-diode array detector. Ann. Rep. Osaka Inst. Pub. Health, 6, 83-90 (2022)を加筆、修正

第 6 章：Hirata.S et al.: Development of HPLC-PDA method for the detennination of residual praziquantel in game meats hunted in Hokkaido. Jpn. J. Food Chem. Safety, 30, 121-127 (2023）を加筆、修正

学位論文審査結果の要旨

学位論文審査委員会

本論文は、行政検査機関で汎用されているフォトダイオードアレイ（PDA）検出器を装着した高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いて「これまで検査が困難であった食品」に対する残留農薬及び動物用医薬品の試験法を開発し、食品の安全性を確保するという明確な目的をもって遂行されている。

最初に、食の安全安心に関わる社会システム、食品における農薬等の残留基準及び食品残留農薬等の試験法について既往研究等を的確に整理しており、研究の位置づけが明確である。

次に、厚生労働省から通知された試験法（通知法）では、分析困難とされていた豚カツやサバ水煮等の畜水産物加工品を対象として、除タンパク抽出溶媒（アセトニトリルとメタノールを 1:1 で混合した溶液）による除タンパク抽出を行うテトラサイクリン系抗生物質（TCs）の試験法を改良した。この改良により、残留基準の適合判定に必要な分析能力（妥当性評価）が確保され、畜水産物加工品における TCs 残留の試験が可能となった。同様に、黄色色素の影響で分析が難しかったシナモンにおけるオキシテトラサイクリン（OTC）についても、黄色色素除去を行う改良試験法を開発した。黄色色素は Z-Sep（Sigma-Aldrich 社製）を用いた分散固相精製で除去した。この改良により、シナモンにおける OTC 残留の試験が実施可能となった。乳幼児の喫食量が多いりんごジュースにおいても、通知法での試験が難しい問題に対応すべく、改良試験法を開発した。通知法では混濁タイプのジュースにおいて固相精製の工程で通液困難となり試験不可能だった。そこで、試料量及び固相量の小スケール化をした改良試験法を開発したところ、りんごジュースにおける OTC 残留を試験可能となった。最後に通知法の対象外である牛の畜産物（舌、心臓、第一胃及び尻尾）及び野生獣肉（ヒグマ及びエゾシカ）における残留抗寄生虫薬の改良試験法を開発した。HPLC の移動相の変更により抗寄生虫薬 16 物質の分離が可能となった。また前述の除タンパク抽出を行うことにより、牛の通知法対象外の畜産物及び野生獣肉の抗寄生虫薬の残留の試験が実施可能となった。

これらの新規に開発した分析法は、これまで検査が困難であった食品に対する残留農薬等の試験を可能にし、食の安心安全に寄与するものと考えられる。

提出された論文は、既往研究等のレビューが的確で、課題と研究目的が明確である。本研究の成果は食品衛生分野の発展に大きく寄与するのみならず、多様な食品及びその加工品を試験する行政検査機関で簡便かつ低コストで実施できる試験法であることから研究目的である食品の安全性確保に対応した結論が適切に導き出されていた。

本研究には、査読付きの学術雑誌に掲載されている論文が 5 編含まれ、5 編のうち 1 編の論文が英語で記述されており、本審査委員会は、本論文が現代システム科学専攻の博士論

文審査基準を満たしていると判断した。

以下に、現代システム科学専攻の博士審査基準の 1)～5）を参照して結果を述べる。

1）博士学位申請者が主体的に取り組んだ研究であることについて

研究指導者との打ち合わせによる研究計画立案の後、第 2 章の「畜水産物加工品を対象とした残留テトラサイクリン系抗生物質の試験法」、第 3 章の「シナモンを対象とした残留オキシテトラサイクリンの試験法」、第 4 章の「りんごジュースを対象とした残留オキシテトラサイクリンの試験法」、第 5 章の「多様な牛の畜水産物を対象とした残留抗寄生虫薬の試験法」ならびに第 6 章の「北海道産ジビエを対象とした残留プラジクアンテルの試験法」は、申請者自らが勤務先である（地独）大阪健康安全基盤研究所で研究を実施し、改良試験法の開発を行ったものであることから、申請者が主体的に取り組んだ研究であることが明確である。

2）研究内容に新規性及び独創性を有することについて

通知法による試験が対象外もしくは困難だった食品について、改良試験法の開発により簡便かつ低コストで残留農薬等の試験を可能としていることから、新規性があり、また非常に独創的であると言える。

3）当該研究分野の発展に貢献する学術的価値が認められることについて

本論文は、これまで検査が困難又は対象外であった食品を対象として残留農薬等を検査する試験法を開発したものである。現代社会では、食品の多様化が進んでいることから、農薬等の検査が困難又は対象外だった食品が検査可能になったことは、食品衛生学分野において、大きな進歩だと考えられ、分野の発展に貢献する学術的価値が十分に認められる。

4）論文の構成及び内容が適切であり、論文としての体裁が整っていることについて

前述したように、本論文では、通知法では検査が困難又は対象外の食品について、残留農薬等を簡便かつ低コストで検査可能な試験法を開発するという明確な目的をもって遂行されている。まず、食品残留農薬による健康被害、食品中の残留抗菌性物質をめぐる社会的問題、食品における農薬等の残留基準及び食品残留農薬等の試験法に関して、既往研究等を的確に整理され、研究の位置づけが明確である。また、研究目的に即して通知法で測定困難になる原因について実験結果を考察しながら改良法を開発している点においても的確と言える。また、総合総括においても、開発した改良試験法が食肉検査所をはじめとする多くの行政検査機関へ普及可能であることなど、大局的に事象を捉えることができており、論文としての体裁が整っていると言える。

5）学位論文の公聴会での論文内容の発表及び質疑応答が論理的に明確に行われていることについて

公聴会では、約 50 分間にわたり論文内容の説明が行われた。論文内容は理解しやすい丁寧な発表であった。プレゼンテーション資料の作成においても適切であり、プレゼンテーション能力にも問題がないことが確認できた。また、副査からの質問に関しては、科学的見

地から論理的に応答できていた。

以上のように、本審査会は、本研究が科学的に優れた論文だけでなく、獲得した知見を食品の安全性確保を目的として申請者自身が実践してきた成果でもあり、現代システム科学専攻に相応しい内容であるとともに、食品衛生学分野の研究領域に新たな可能性を開く可能性を有していると判断した。

したがって、本審査会は、本研究が現代システム科学専攻の博士論文審査基準を満たしており、申請者が自立して研究活動を行うのに十分な能力と知識を有していると結論付けた。