畜肉中の残留有機塩素系農薬及び合成抗菌剤の系統的分析法並びに 合成抗菌剤の GC/MS による確認法の検討

長谷川眞住,^a 関口幸弘,^a 鯉口 智,^a 鎌倉和政,^a 成田美加子,^a
 平原嘉親,^a 三好智子,^a 宮田昌弘,^a 前田憲二,^a 外海泰秀^b
 神戸検疫所輸入食品・検疫検査センター,^a 国立衛生試験所大阪支所^b

Studies on the Systematic Determination of Residual Organochlorine Pesticides and Synthetic Antibacterials in Cattle Meats and Confirmation of the Antibacterials by GC/MS

MASUMI HASEGAWA,^a YUKIHIRO SEKIGUCHI,^a SATOSHI KOIGUCHI,^a KAZUMASA KAMAKURA,^a
 MIKAKO NARITA,^a YOSHICHICA HIRAHARA,^a TOMOKO MIYOSHI,^a
 MASAHIRO MIYATA,^a KENJI MAEDA^a and
 YASUhide TONOGAI^b

*Kobe Quarantine Station, Center for Inspection of Imported Foods and Infectious Diseases,^a
 1-1, Toyahama-cho, Hyogo-ku, Kobe 652, Japan and National Institute of
 Health Sciences, Osaka Branch,^b 1-1-43, Hoenzaka, Chuo-ku,
 Osaka 540, Japan*

(Received May 31, 1995)

Organochlorine pesticides as well as synthetic antibacterialagents in cattle meats were extracted with acetonitrile, and the extract was divided into two parts for the individual clean-up. One part of the extract was cleaned up by silica gel column chromatography, and determined by electron capture detector-gas chromatography (ECD-GC) for organochlorine pesticides. Another part of the extract was cleaned up by washing with *n*-hexane in the case of edible meats, or by solid phase extraction with Sep-pak Alumina N or tC₁₈ mini column in the case of edible viscera, and determined by HPLC with a UV detector for the synthetic antibacterialagents. Recoveries of 7 organochlorine pesticides in edible meats spiked at 0.1 ppm were 54.3–104.6%, and recoveries of 13 antibacterialagents in edible viscera spiked at 0.4 ppm were 59.1–105.3%. Confirmation of nicarbazin (NCZ) in chicken, trimethoprim (TMP) spiked in pork by GC-MS were studied.

Key words — organochlorine pesticide; synthetic antibacterial; simultaneous extraction; HPLC; Sep-pak cartridge; TMP

緒 言

我が国の食生活は輸入食品に大きく依存し、平成6年度現在カロリーベースで総食糧消費量の54%が輸入されている。これら輸入食品の安全性を確保するため厚生省では以前から食品中の残留物質実態調査を行ってきたが、平成3年の輸入食品・検疫検査センターの発足と共に、積極的に横浜及び神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センターを中心として、輸入食品中の残留農薬や残留抗菌性物質のモニタリ

ングを実施している。また厚生省は牛、豚肉など畜水産食品に残留する抗菌性物質、ホルモン剤など動物用医薬品の残留基準を設定するため、平成6年1月21日食品衛生調査会に対して7品目を諮問した。

著者らは輸入畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査項目のうち、抗生物質については微生物検定法^{1,2)} 合成抗菌剤については平成5年4月1日付厚生省通知衛乳第78号(以下公定法³⁾ という)、有機塩素系農薬については昭和62年8月27日付衛乳第

42号厚生省通知（以下公定法⁵⁾という）に基づき検査を行ってきた。当検査センターでは、年間約1200件の畜水産食品について有害物質残留検査を実施しているが、今後更に検査検体数の増加が予想される。

これら検査業務の省力化、迅速化を図る目的で、有機塩素系農薬及び合成抗菌剤を1試料から同時に抽出し、それぞれをクリーンアップした後、前者はガスクロマトグラフィー(GC)、後者は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)でスクリーニングする方法について検討した。また本法を用いて畜肉中両物質のGC/MSによる確認法についても検討した。

実験方法

1. 試料 輸入並びに神戸市内で購入した牛肉、豚肉、鶏肉、馬肉、羊肉及び牛、豚の肝臓、腎臓を使用した。

2. 試薬、試液 有機塩素系農薬標準品——*p*、*p'*-DDT、*p*、*p'*-DDE、*p*、*p'*-DDD、アルドリン、ディルドリン、ヘプタクロル、ヘプタクロルエポキシドは和光純薬工業(株)製、残留農薬試験用。

合成抗菌剤標準品——スルファメラジン(SMR)、スルファジミジン(SDD)、スルファジメトキシシン(SDM)、スルファキノキサリン(SQX)、オルメトプリム(OMP)、トリメトプリム(TMP)、ピリメタミン(PYR)、ジフラゾン(DFZ)、クエン酸モランテル(MRT)：シグマ社製、スルファモノメトキシシン(SMM)：第一製薬(株)製、ナイカルバジン(NCZ)：大日本製薬(株)製、クロビドール(CLP)：ダウケミカル社製、カルバドックス(CDX)：バイエル社製。

有機塩素系農薬標準原液——各標準品の100 mgをそれぞれ *n*-ヘキサンに溶かし、100 mlとした(1 mg/ml)。

有機塩素系農薬標準溶液——検量線作成時及び添加回収試験時に有機塩素系農薬標準原液を *n*-ヘキサンで適宜希釈して使用した。

合成抗菌剤標準原液——SMR, SDD, SMM, SDM, SQX, OMP, TMP, PYR, DFZ, CLP, MRTは各10 mgをメタノールに溶解させ、100 mlとした(100 µg/ml)。また、CDXとNCZは各10 mgをアセトニトリル-水(1:1)に溶解し、100 mlとした(100 µg/ml)。

合成抗菌剤標準溶液——検量線作成時及び添加回収試験時に抗菌剤標準原液をアセトニトリル-水(1:1)で適宜希釈して使用した。

n-ヘキサン、石油エーテル、ジクロロメタンは残

留農薬試験用、アセトニトリル、メタノールはHPLC分析用。

TMS試薬——東京化成工業(株)製、*N*-(*tert*-butyldimethylsilyl)-*N*-methyltrifluoroacetamide。

3. 装置、器具 Sep-pak Alumina N——Waters社製。

Sep-pak tC₁₈——Waters社製。

シリカゲル——Merck社製、Kieselgel 60(0.063—0.100 mm)。

シリカゲルカラム——内径1.5 cm、長さ30 cmのガラスカラムに10%含水シリカゲル15 gを乾式充填する。

高速液体クロマトグラフ——東ソー(株)製、システムコントローラーSC 8020、デュアルプランジャーポンプCCPM(2台)、検出器：紫外検出器UV 8020及びフォトダイオードアレイ検出器WATERS社製991 J型を直列につないだ。

ガスクロマトグラフ——ヒューレットパカード社製、5890 II電子捕獲型(ECD)検出器付き。

ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)——島津製作所(株)製、QP 2000。

ホモジナイザー——Kinematica AG製 ポリトロンPT 3000。

4. 試験溶液の調製法 4.1. 試料からの抽出操作——試料15 gを200 ml遮光遠沈管に入れ、アセトニトリル70 ml及び無水硫酸ナトリウム30 gを加えてホモジナイズし3000 rpm、5分間遠心分離した。アセトニトリル層を分取し、残渣にアセトニトリル70 mlを加え、同様に操作した。両アセトニトリル層を合わせ150 mlの定容とし、抽出液とした。

4.2. 有機塩素系農薬用試験溶液の調製法——抽出液100 mlを採り、約10 mlまで濃縮した後、飽和塩化ナトリウム溶液50 ml、*n*-ヘキサン100 mlを加え、分液ロートで5分間振とうした。*n*-ヘキサン層を分取し、水層に*n*-ヘキサン100 mlを加え同様に操作した。両*n*-ヘキサン層を合わせ無水硫酸ナトリウムで脱水後、減圧乾固した。残留物を石油エーテル-ジクロロメタン(4:1)10 mlに溶かし、シリカゲルカラムに負荷した。石油エーテル-ジクロロメタン(4:1)140 mlで溶出後減圧乾固し、*n*-ヘキサン2 mlに溶解し、ECD-GC用試験溶液とした。

4.3. 合成抗菌剤用試験溶液の調製法——抽出液50 mlを採り、アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン25 mlを加えて5分間振とうし、アセトニトリル層を遮光ナスフラスコに分取した。1-プロパノール10 mlを加えて減圧乾固した後、残留物をアセトニトリル-

水 (4:6) 1 ml に溶解し, アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 0.5 ml で洗浄し, HPLC 用試験溶液とした。牛, 豚の肝臓, 腎臓については残留物をアセトニトリル-水 (95:5) 10 ml に溶解し, 以下既報³⁾に従って Sep-pak Alumina N 及び Sep-pak tC₁₈ で精製した。ただし, Sep-pak tC₁₈ からの溶出液はメタノールの代わりに 1% 酢酸含有 40% アセトニトリルを用い, 最終溶液はアセトニトリル-水 (1:1) の代わりに (3:7) を用いて, HPLC 用試験溶液とした。

5. 測定条件 GC 条件——カラム: J & W Scientific DB-5 (0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚 0.25 μm), カラム温度: 150°C (2 min)—10°C/min—250°C (13 min), 注入口及び検出器温度: 270°C, 注入量: 2 μl (スプリットレス)。

GC/MS 条件——カラム: J & W Scientific DB-5 (0.25 mm i.d.×30 m 膜厚 0.25 μm), 温度: C.T 60°C (2 min)—10°C/min—250°C (15 min), I.T 250°C, 注入量: 2 μl (スプリットレス), イオン化法: EI, イオン源温度: 250°C。

HPLC 条件——カラム: 東ソー(株)製, TSKgel ODS-80 Ts (4.6 mm i.d.×150 mm), 溶離液: A 液; 水-酢酸 (100:0.3), B 液; アセトニトリル-水-酢酸 (80:20:0.3), グラジエント条件; 0 分 (A 液 85%, B 液 15%)→直線勾配→30 分 (A 液 0%, B 液 100%) 10 分間保持, 流速: 1.0 ml/min, 検出

波長: 270 nm, NCZ のみ 350 nm, 注入量: 20 μl, カラム温度: 40°C。

結果及び考察

1. 標品の GC 及び HPLC による分析

ECD-GC においては, キャピラリーカラムを用いる昇温分析により 7 種の有機塩素系農薬は Fig. 1 に示したように, 感度, 分離度とも良好に測定できた。検量線は各農薬とも 0.1—0.5 ppm において良好な直線性を示した。

HPLC において合成抗菌剤の各ピークは Fig. 2 に示したように, クロマトグラム上で 9 分から 20 分の間において良好なピーク形状並びに分離を示した。検量線は OMP, TMP, MRT は 1.0—5.0 ppm, その他は 0.5—2.5 ppm において良好な直線性を示した。

筋肉部位を試料とした場合, 夾雑ピークは 9 分以前に出現するため公定法⁴⁾によるクリーンアップで分析上問題は無かったが, 牛, 豚の肝, 腎臓を試料とした場合は 9 分以降のベースラインの上昇並びに夾雑ピークが多数出現したので, 既報³⁾に従い Sep-pak Alumina N 及び tC₁₈ でさらに精製する必要があった。(なお, 魚介類に使用されるキノロン系(オキシリン酸, ナリジクス酸, ピロミド酸)は今回の検討から除外した。)

Fig. 1. Gas Chromatogram of 7 Organochlorine Pesticides by ECD-GC
GC conditions are shown in the text. Concentration=0.5 ppm.

Fig. 2. HPLC Chromatogram of 13 Synthetic Antibacterials with Gradient Elution
HPLC conditions are shown in the text. Concentration=2.0 ppm.

TABLE I. Amount of Fat in 10 g of Each Sample

Kind of animal	Beef	Pork	Chicken	Horseflesh	Mutton
Weight(g) ^{a)}	1.03	1.26	1.14	1.14	1.06

a) Amount of fat in 10 g of each sample was measured by extraction with 100 ml (twice) of acetone-*n*-hexane (1:2).

2. 試験溶液の調製法についての検討

2.1. 試料採取量 有機塩素系農薬についての公定法⁵⁾は、試料 50 g をアセトン-*n*-ヘキサン (1:2) で抽出し、200 ml に定容した抽出液の 40 ml (10 g 相当) を減圧乾固して脂肪量を測定する。その 500 mg を用い、シリカゲルカラム及び Sep-pak Florisil でクリーンアップして試験溶液を作製する。一方、合成抗菌剤についての公定法⁴⁾では、試料 5 g をアセトニトリルで抽出し、その全量を用い、*n*-ヘキサン洗浄して試験溶液を作製する。

著者らは 1 試料について有機塩素系農薬と合成抗菌剤の 2 項目の検査を行うにあたり、アセトニトリルを用いて、これらを同時に抽出する方法を検討した。また、この抽出法においては、脂肪がほとんど抽出されず、脂肪量の正確な測定ができないため、あらかじめ 10 g の試料中にどれほどの脂肪が含まれているか、畜種ごとにアセトン-*n*-ヘキサン (1:2) で抽出し脂肪含量を測定した。

Table I に示したように、今回用いた畜種では全

て 1 g 以上の脂肪が採取された。また四訂日本食品標準成分表⁶⁾によると、輸入牛肉の脂肪付着割合は約 10%、国産豚肉は約 12% となっている。これらのことから有機塩素系農薬に用いる試料は 10 g、合成抗菌剤に用いる試料は公定法⁴⁾通り 5 g で十分であるため、本法による試料採取量は 15 g とした。したがって、試料 15 g をアセトニトリルで抽出して 150 ml の定容とし、その 100 ml を有機塩素系農薬分析用、残りの 50 ml を合成抗菌剤分析用とした。

2.2. 抽出液のクリーンアップ法 1) 有機塩素系農薬——アセトニトリル抽出液 100 ml を濃縮して *n*-ヘキサンに再抽出する際の、抽出率に及ぼす飽和塩化ナトリウム溶液量及びアセトニトリル量について検討した。Table II に示したように、飽和塩化ナトリウム溶液を用いないと有機塩素系農薬の抽出率が低下し、アセトニトリル量が多い場合には特にこの傾向が著しかった。したがって、アセトニトリル抽出液 100 ml を 10 ml に濃縮し、飽和塩化ナトリウム溶液 50 ml を加え *n*-ヘキサン 100 ml で 2 回

TABLE II. Effect of the Volume of Saturated NaCl Solution and Acetonitrile on the Recoveries of Organochlorine Pesticides

			Recovery (%) ^{a)}						
			Heptachlor	Aldrin	Hep. epoxide	<i>p, p'</i> -DDE	Dieldrin	<i>p, p'</i> -DDD	<i>p, p'</i> -DDT
1. Sat. NaCl 0 ml									
Acetonitrile	5 ml		89.6	95.2	107.9	92.8	95.1	105.2	114.1
	10 ml		98.7	102.4	100.7	100.5	100.4	98.8	111.6
	50 ml		86.3	91.1	60.2	90.1	70.1	45.8	89.0
2. Sat. NaCl 50 ml									
Acetonitrile	5 ml		95.3	88.3	98.8	94.5	100.6	107.4	116.9
	10 ml		84.9	72.6	85.1	81.4	87.4	94.5	97.7
	50 ml		108.9	92.0	105.1	101.4	109.6	116.4	127.8
3. Sat. NaCl 100 ml									
Acetonitrile	5 ml		115.5	106.0	103.5	119.6	103.2	101.2	100.3
	10 ml		105.2	111.3	111.4	113.4	112.3	97.6	99.2
	50 ml		110.3	89.6	109.3	107.3	118.6	107.9	115.5

a) 100ml (twice) of *n*-hexane was used for extracrión. The sample was spiked at 0.1 ppm of each pesticide.

TABLE III. Recovery of Organochlorine Pesticides from Each Sample

Pesticides	Recovery (%) ^{a)(n=3)}				
	Beef	Pork	Chicken	Horseflesh	Mutton
Heptachlor	58.4	72.0	79.2	80.4	93.8
Aldrin	54.3	65.0	72.1	60.8	76.5
Heptachlor epoxide	69.4	74.3	82.3	82.4	92.4
<i>p, p'</i> -DDE	62.5	71.9	76.2	70.9	83.7
Dieldrin	57.3	75.3	82.7	78.1	61.9
<i>p, p'</i> -DDD	71.2	81.2	90.4	91.0	104.6
<i>p, p'</i> -DDT	67.9	80.3	83.8	89.7	104.2

a) Each pesticide was spiked at 0.1 ppm.

抽出することとした。

n-ヘキサン抽出液の精製は公定法⁵⁾通り 15%含水シリカゲルカラムで行った。公定法ではさらに Sep-pak Florisil で精製しているが、本法ではアセトニトリル抽出しているためか ECD-GC 上妨害は少なく、Sep-pak Florisil 処理は必要としなかった。

2) 合成抗菌剤——畜肉の筋肉部を試料とするものについては、アセトニトリル抽出液 50 ml を公定法⁴⁾に従ってクリーンアップした。牛、豚の肝臓、腎臓を試料とするものについては、著者らの既報³⁾に従って精製した。ただし、Sep-pak tC₁₈ からの抽出液が原法ではメタノールであったが、この方法では夾雑物も溶出する場合があったので、今回は 1% 酢酸含有 40% アセトニトリルとした。また最終溶液をアセトニトリル-水 (1:1) に溶解してアセトニトリル飽和 *n*-ヘキサンで洗浄すると乳化現象を起こすため、最終溶液の溶解にはアセトニトリル-水 (3:7) を用いた。

3. 添加回収試験

各有機塩素系農薬を 0.1 ppm 各種畜肉に添加したときの本法による回収率を Table III に示した。牛肉については 54.3—71.2% とやや低めの値を示したが、その他についてはおおむね良好な結果を得た。各種合成抗菌剤を 0.4 ppm 牛、豚の肝、腎臓に添加したときの本法による回収率を Table IV に示した。いずれについてもおおむね良好な結果を得た。また畜肉の筋肉部についての添加回収率は表には示さなかったが、良好であった。

4. 有機塩素系農薬の検出感度

牛肉数件から検出された有機塩素系農薬のガスクロマトグラムを Fig. 3 の (A) に示した。試験溶液中に *p, p'*-DDT, *p, p'*-DDE とされるピークが検出され、その濃度は 0.06 μg/ml と低く、GC/MS での確認はできなかった。また同一検体を公定法⁵⁾通りに処理したときのガスクロマトグラムを Fig. 3 の (B) に示した。改良法で検出されたピークはいずれも公定法⁵⁾では検出できなかった。このこ

TABLE IV. Recovery of 13 Synthetic Antibacterials Spiked to Edible Viscera

Antibacterials	Recovery (%) ^{a)} (n=3)			
	Bovine liver	Bovine kidney	Swine liver	Swine kidney
CLP	89.1	95.0	87.5	92.1
SDD	84.0	88.4	74.7	93.3
SMM	82.8	87.5	83.8	95.1
MRT	95.9	94.7	77.0	77.4
SDM+SQX	86.6	89.4	99.5	93.4
PYR	71.2	70.1	90.2	93.4
NCZ	59.3	59.1	90.5	96.4
CDX+SMR	82.9	86.7	88.6	98.1
TMP	93.9	98.8	77.0	88.2
OMP	94.7	94.7	99.4	105.3
DFZ	78.1	77.5	88.0	96.7

a) The sample was spiked at 0.4 ppm of each antibacterial.

Fig. 3. Gas Chromatograms for Test Solution of Beef

A, fat 500 mg/ml. B, fat 250 mg/ml.

とは本法での脂肪採取量が公定法の約2—3倍になり、検出感度が高くなったためと考えられた。公定法の検出限界が0.05 ppmであるのに対して、本法では0.02 ppmであった。

5. 合成抗菌剤のGC/MSによる確認試験

5.1. NCZ HPLCによる測定でNCZが鶏肉から0.09 ppm検出され、検出限界は0.02 ppmであった。これをフォトダイオードアレイ検出器でUVスペクトルを測定したところ、極大吸収波長350 nmが標品と一致した。この試験溶液を乾固後、残留物をアセトンで湿らせ、希塩酸を加えて150°C

で15分間加水分解し、生じた

-ニトロアニリンを酢酸エチルで抽出する能勢らの方法⁷⁾で処理し、GC/MSで測定した。

Fig. 4に示したように、ターゲットイオンを138, 108, 92に選び、SIM (selected ion monitor) 分析を行ったところ、検体中のNCZは標品と同じ保持時間にピークを持つことが確認された。

また、市販の牛の肝臓20検体、腎臓15検体、豚の肝臓11検体、腎臓11検体、鶏の肝臓2検体のうち、牛の肝臓1件から0.03 ppmのNCZを検出した。本来、抗原虫薬として鶏の飼料と混合して使用

[p-Nitroaniline from NCZ]

[TMP after TMS derivatization]

[p-Nitroaniline] ↓

[Standard TMP]

[Sample]

[Spiked Sample]

Fig. 4. Mass Spectrum of *p*-Nitroaniline and SIM Chromatograms of *p*-Nitroaniline and Sample

Fig. 5. Mass Spectrum of TMP and SIM Chromatograms of TMP and Sample spiked at 0.1 ppm of TMP after TMS Derivatization

される NCZ が牛の肝臓から検出されたことは、牛の飼料との誤使用等が考えられる。

5.2. TMP HPLC による合成抗菌剤分析において、TMP の検出感度は他の合成抗菌剤に比べて低く、フォトダイオードアレイ検出器による UV

スペクトル測定等の確認試験も試料中からの検出濃度が低い場合、困難な場合が多い。

そのため、比較的感度の高い GC/MS を用いた TMP の確認法を検討した。著者らはこれまで種々の合成抗菌剤の GC/MS による確認法⁸⁾を検討して

きたが、TMPのGC/MSによる確認は今まで報告例がなく、幾種類かの誘導体化を検討した結果、TMS誘導体化が最適であった。

TMP 0.1 ppmを添加した豚肉を用いて星野らの方法⁹⁾により抽出した試験溶液を減圧乾固した後、TMS試薬0.1 mlを加えて十分溶解させた。容器を密栓して80°Cで1時間反応させ、これをGC/MSの試験溶液とした。TMS化した標品のピークは3本確認されたため、比較的感度が高く、保持時間の長いピークのフラグメントイオン461, 405, 202をターゲットイオンに選び、SIM分析を行った。

Fig. 5に示したように、SIM分析により添加試料中のTMPは感度良く確認された。本法での検出下限値はおおむね0.05 ppmであった。

要 約

1. 畜肉中の7種有機塩素系農薬及び13種合成抗菌剤を試料から同時に抽出し、それぞれをクリー

ンアップした後、前者はGC、後者はHPLCで測定、スクリーニングする方法について検討した。

2. 試料採取量は15 gとし、アセトニトリルにより両物質を同時抽出後、有機塩素系農薬は*n*-ヘキサンに転溶し、10%含水シリカゲルカラムでクリーンアップし、ECD-GCで測定した。

3. 筋肉中の合成抗菌剤についてはアセトニトリル抽出液を濃縮後、*n*-ヘキサンで洗浄し、HPLCで測定した。臓器中の合成抗菌剤についてはアセトニトリル抽出液を乾固後、Sep-pak Alumina N及びtC₁₈でクリーンアップし、HPLCで測定した。

4. 本法により有機塩素系農薬を0.1 ppm添加したときの回収率は54.3—104.6%であった。また牛、豚の肝臓、腎臓に0.4 ppm添加したときの回収率は59.1—105.3%であった。

5. 実試料から検出されたNCZをGC/MSで確認し、TMPについてもGC/MSによる確認法を検討した。

引 用 文 献

- 1) 厚生省通知，“畜水産食品中の残留抗菌性物質簡易検査法，”平成3年10月11日，衛乳第95号。
- 2) 厚生省通知，“畜水産食品中の残留抗菌性物質の分別推定法，”平成3年10月11日，衛乳第95号。
- 3) 鯉口 智，長谷川眞住，鎌倉和政，平原嘉親，成田美加子，岡本浩一郎，宮田昌弘，山名孝善，外海泰秀，伊藤誉志男，衛生化学，**40**，286 (1994)。
- 4) 厚生省通知，“平成5年度輸入畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査の実施について，”平成5年4月1日，衛乳第78号。
- 5) 厚生省通知，“DDT等の残留する輸入食肉の流通防止について，”昭和62年8月27日，衛乳第42号。
- 6) 科学技術庁資源調査会編，“四訂 日本食品標準成分表，”女子栄養大学出版部，東京，1985，pp. 124—143。
- 7) 能勢憲英，星野庸二，菊池好則，山田文子，河内佐十，食衛誌，**22**，496 (1981)。
- 8) 鎌倉和政，長谷川眞住，鯉口 智，宮田昌弘，岡本浩一郎，成田美加子，平原嘉親，山名孝善，外海泰秀，伊藤誉志男，衛生試験，**110**，61 (1993)。
- 9) 日本薬学会編，“日本薬学会第114年会公衆衛生協議会資料，”東京，p.15—24。