

Sample 10 g

add internal standard

homogenize with 100 ml of ethyl acetate

centrifuge (3100 rpm, 5 min)

evaporate

make up to 5 ml with ethyl acetate

Dual CCC

Acetonitrile layer (3~8 min)

evaporate

dissolve in 0.5 ml of 1 % methanol

Test solution

ESI LC/MS/MS

Scheme 1 Analytical procedure

Table 1 Compound-specific ESI MS/MS conditions

Organophosphorus pesticides	Precursor ion (m/z)[*]	Cone voltage (V)	Collision energy (eV)	Monitor ion (m/z)
Methamidophos	142	15	20	94
Acephate	184	20	10	143
Acephate-d6	190	15	15	149
Dimethoate	230	15	10	199

*** [M+H]⁺**

Table 2 Recoveries of the pesticides from oils and flour

Samples	Fortified (mg/kg)	Methamidophos		Acephate		Dimethoate	
		Recovery ^a (%)	C.V. ^b (%)	Recovery ^a (%)	C.V. ^b (%)	Recovery ^a (%)	C.V. ^b (%)
Rapeseed oil	0.5	99	6.3	103	1.1	91	5.8
	0.1	94	1.8	99	1.5	102	6.7
Olive oil	0.5	98	2.1	102	1.7	85	3.6
	0.1	95	3.4	100	1.6	105	6.1
Soybean oil	0.5	95	2.3	100	3.1	95	3.2
	0.1	96	3.4	100	1.7	101	7.8
Wheat flour	0.05	103	5.4	103	3.8	113	5.2
	0.01	78	3.4	104	5.2	107	10.4
Whole wheat flour	0.05	95	3.4	111	2.4	109	5.0
	0.01	107	3.7	100	6.0	108	3.8
Rye flour	0.05	93	1.9	98	1.4	108	7.4
	0.01	88	6.6	101	6.1	92	5.1

^aAverage of 5 trials. ^bCoefficient of variation.

Table 2 Recoveries of the pesticides from bread

Samples	Fortified (mg/kg)	Methamidophos		Acephate		Dimethoate	
		Recovery ^a (%)	C.V. ^b (%)	Recovery ^a (%)	C.V. ^b (%)	Recovery ^a (%)	C.V. ^b (%)
White bread	0.5	70	8.4	86	1.4	92	4.1
	0.05	62	0.9	97	1.5	110	4.2
Whole wheat bread	0.5	67	2.7	102	1.1	87	4.4
	0.05	65	2.9	97	4.5	97	3.3
Rye bread	0.5	64	3.1	100	1.1	91	7.4
	0.05	65	2.9	89	1.0	101	4.0

^aAverage of 5 trials. ^bCoefficient of variation.

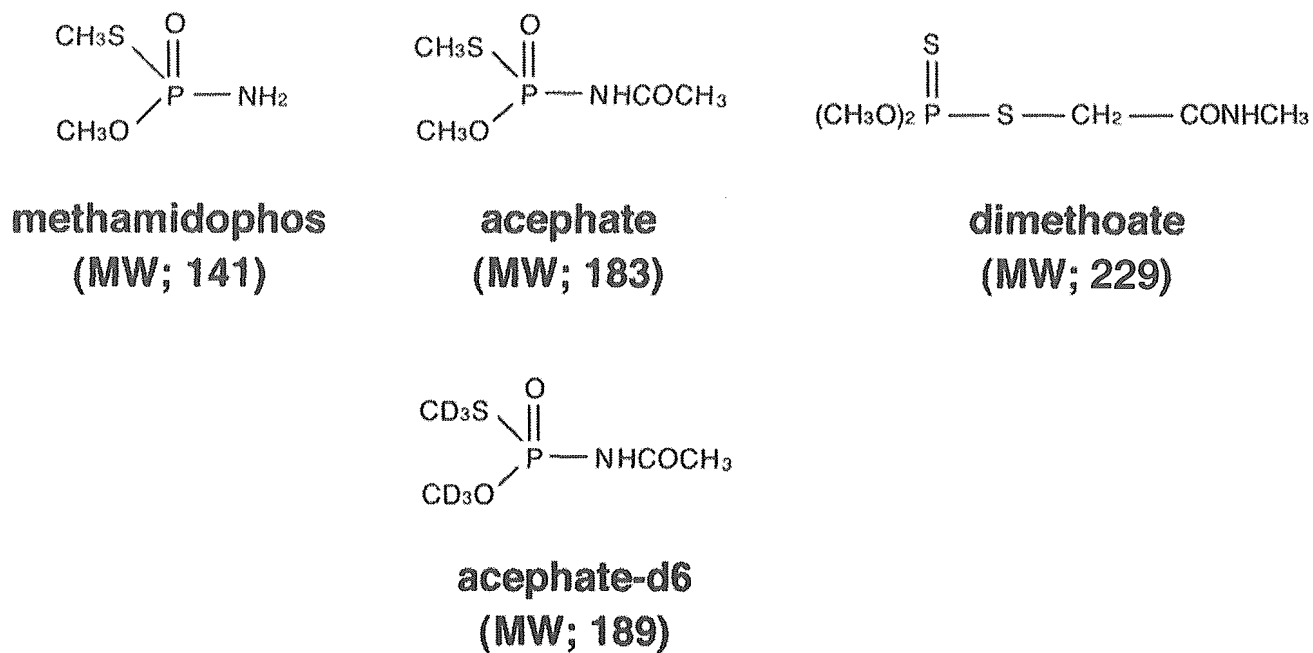
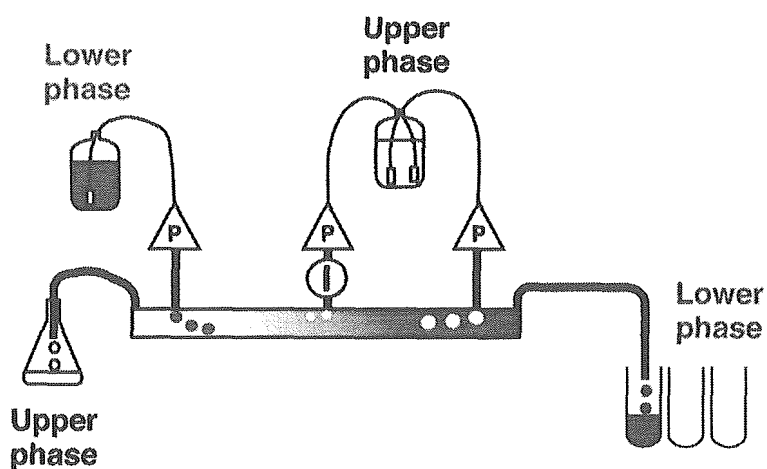


Figure 1 Chemical structures of the pesticides



Dual CCC conditions

Solvent system: n-hexane/acetonitril

Flow rate: 2 ml/min (lower phase, head feed)

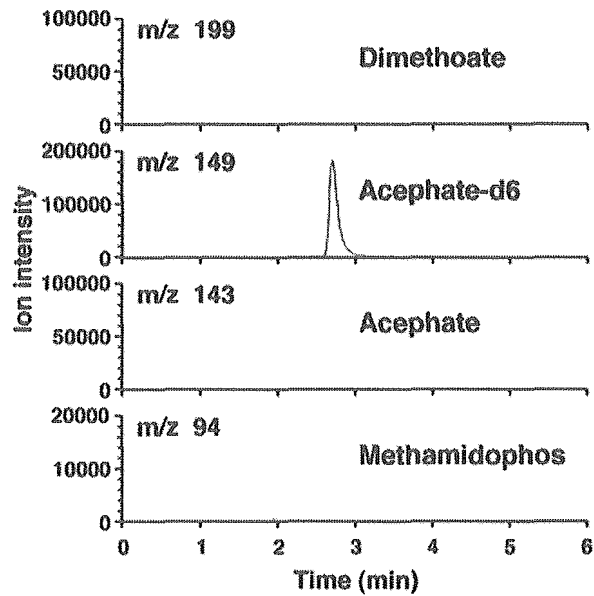
1.8 ml/min (upper phase, tail feed)

0.2 ml/min (upper phase, sample feed)

Revolution speed: 700 rpm

Figure 2 Dual CCC system

a) Rape seed oil (control)



b) Fortified with the organophosphorus pesticides at the concentration of 0.1 mg/kg

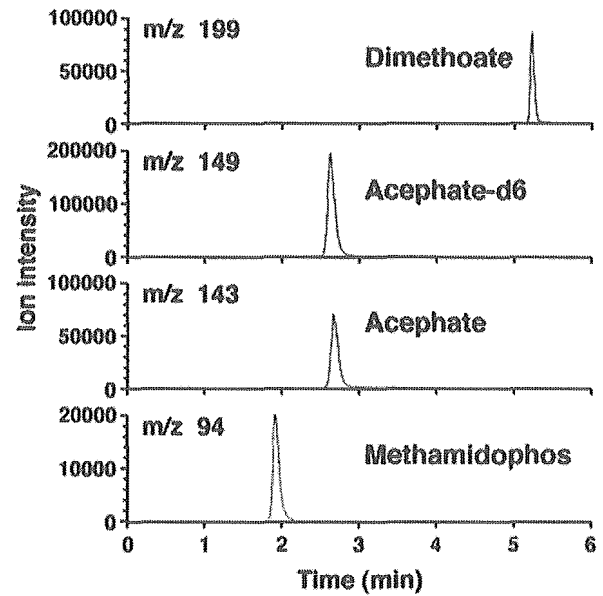


Figure 3 Typical MRM profiles of the fortified rapeseed oil sample

Ⅱ. 分担研究報告書

3. 残留農薬等の急性参照用量に関する調査研究

分担研究者 菅野 純

残留農薬等の急性参照用量に関する調査研究

菅野純 国立医薬品食品衛生研究所 毒性部
/高木篤也 国立医薬品食品衛生研究所 毒性部

研究要旨 FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議（JMPR）における急性参照用量（Acute reference dose; ARfD）設定のガイダンス（2002年）以後の改訂版（2004年）、2005年に JMPR のグループにより発表された ARfD に関する論文、EPA の ARfDs に関するガイダンス等の情報を収集し、安全係数の設定の考え方及びヒトのデータの取り扱い等について整理した。

A. 研究目的

残留農薬のリスク評価にこれまで ADI が用いられてきたが、これは一生涯の暴露における安全指標である。一方、一回、あるいは短期暴露影響については残留農薬の観点からはことさら取り上げてこなかったが、ある種の農薬（アドリカーブ）の残留事例として、単回暴露で急性毒性症状を示唆する事象が生じた。この場合、明らかに生涯暴露により設定された ADI は、不適當である。このような短期暴露時におけるリスクアセスメントのために acute reference dose (ARfDs) の概念が作られ、JMPR や一部の国では ARfDs の設定が実施されているが、我が国では ARfDs の設定は行われていない。そこで残留農薬の急性参照用量（ARfDs）及びそれに関連した国際的な動向を調査した。

B. 研究方法

本年度は、JMPR における ARfDs 設定のガイダンス（2004）及び米国 EPA の ARfDs 設定のガイダンスを中心に参考資料を収集し、分析した。参考としたのは次の資料である。

1. JMPR (2004) Guidance on the establishment

- of acute reference doses. Pesticide residues in food-2004. Report of the JMPR 2004, FAO Plant Production and Protection Paper, 178, FAO, Rome, pp.3-9.
2. Soleski R., Davies L., Dellarco V., Dewhurst I., Raaji M. and Tritscher A. (2005) Food and Chemical Toxicology, 43, 1569-1593.
3. A review of the reference dose and reference concentration process (2002) EPA, Final report.
4. Acute reference dose. Office of pesticide program's guidance, EPA
5. Protections for subjects in human research (2006) Final rule, Federal Register, 71, 24, 6138-6158.
6. World Medical Association declaration of Helsinki. (1997) Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects, JAMA, 277(11):925-6.

C, D. 結果と考察

2002年のJMPRにおいてARfDs設定のガイダンスを公表したが、新たにいくつかの項目を追加したものを2004年に公表した。なお、2004年のARfDsのガイダンスと同様の詳細な内容の論文がWHOよりFood and Chemical Toxicology (2005)に発表されており、双方を参照しつつ、EPAのARfDs設定のガイダンスとの比較も行った。

(1) ARfDsの定義について

ARfDsは2002年のJMPRにおいて、「化学物質のARfDsは評価時点での全ての知見に基づき把握可能な健康リスクの無い24時間またはそれ以下の時間に摂取された体重当たりを表される食事 and/or 飲水中の物質の総量の値と見積もられる」新たに定義された。2004年のJMPRではそのまま採択され、変更は無かった。

(2) ARfDsの設定における一般的考えについて

ARfDsの設定は全ての化学物質について考慮されるべきであるとの2002年の文章に加えて、仮に計算上ARfDsが5mg/kg体重を超えることが予想されるならば、現実問題としてそのようなことが起こると予測されないことから、ARfDsを設定する必要は無いと2004年のガイダンスに追記した。

(3) ARfDs設定の過程

500mg/kgまで急性影響を示す所見が見られず、単回経口投与試験で1000mg/kgの用量まで死亡が見られない場合はARfDsを設定する必要は無いとの2002年の内容から変更は無かった。単回投与試験のデータが無い場合に反復投与試験のデータを用いることが出来るとの記載も2004年のJMPRで変更は無かった。一方、EPAでは反復投与試験で急性

の毒性が投与開始の数日(1週間以内)に起こった場合にのみ使用するとしており、JMPRと比較して、反復投与試験の利用の仕方に制限がかかっている。

(4) 安全係数

安全係数については2002年のガイダンスで以下に示す25のデフォルトファクターが記載されているのが特徴的である。

「対象となる作用が化合物と薬理学的標的との可逆的相互作用(例:受容体、イオンチャンネル)や直接の刺激のためであり、物質の総摂取量よりも濃度(例えば最大血漿中濃度(Cmax))が全体のAUC(Area-under the curve)より関連性が高い時、あるいはトキシコキネティクスの分散が2倍以下と確認された時、動物での試験に25のデフォルトファクターが用いられ(例:種間、種内ファクター10x10の代わりに、5x5)、そしてヒトでの試験では5(10の代わりに)が用いられる。」としている。2004年版の、ガイダンスではこの記載はなく、Chemical-specific adjustment factor (CSFA)(WHOのドラフトガイダンスキュメント)を検討するようとしているが、Food Chemical Toxicology (2005)には25のデフォルトファクターについて2002年のガイダンスと同様に記載しているため、基本的に25のデフォルトファクターを適用するケースがあることについては変更ないものと思われる。EPAのガイダンスでは25の安全係数についての記載は無く、デフォルトの安全係数は100であると思われる。

(5) 異なった母集団でのARfDsの設定

2002年のJMPRのガイダンスでは異なった母集団でのARfDsの設定について子供は大

人の集団として取り扱ってよいとしている。しかし、ARfDs 設定のエンドポイントが発生毒性試験の児への影響の結果による場合は、その値は出産可能年齢の女性に設定し、一般の人には、その他のエンドポイントを用いるべきとしている。2004 年の JMPR のガイダンス及び EPA のガイダンスも同様の内容である。なお、EPA では出産可能な女性を「13 才以上の女性」としている。

(6) ヒトのデータの使用

2002 年の JMPR のガイダンスでは農薬におけるヒトのデータはボランティアにおける試験、あるいは職場や環境での暴露に関わらず、極めて高い価値があり ARfDs 設定に使用しない時でも評価されるべきであるとしている。また、ヒトのデータの使用において以下の問題について考慮すべきであるとしている。

- 最初に考慮するのは科学的メリットであるべきである。動物試験と同様に、ヒトで不十分に計画された試験や不十分に実施された試験は ARfDs 設定に用いるべきで無い。
- 一群当たりの妥当な人数は個人差と毒性でないと考えられる暴露レベルといった要因に依存するであろう。重要な作用の試験における検出力も検討されるべきである。
- 化学物質特異的調整要因として IPCS ガイダンスはグループサイズとして最低 5 人を提案している。但し、2 ないし 3 用量のレベルを組み合わせたり、安全係数を大きくしたりすれば、5 人未満のグループサイズの試験も使えるかもしれない。
- 動物実験で同定したエンドポイントのうちで重要なものはヒトの試験において適切に調べられるべきである。

- もし、単一の性、特別の年齢グループのみが用いられたなら、可能であるならば、その結果の一般のヒトへの適用の際には動物試験データを用いて確認すべきである。
- 1998 年の JMPR で推奨されたように、最近のヒトでの試験は国際的に受容された倫理基準に合致して実施されたという明らかな記述を含まなければならない。より古い試験では、現在の基準と試験が実施された時の倫理基準を考慮に入れるべきである
- 倫理原則に合致せずに実施された試験で、科学的に価値がある場合は、受容可能なヒトでの暴露量がそのような試験の使用なしで決定されたレベルより低い場合においてのみ用いられるべきである。

2004 年の JMPR のガイダンスでも基本的な考え方に変化は無く、ボランティアのヒトへの農薬の投与実験は「ヘルシンキ宣言」（ヒトを対象とする医学研究の倫理的原則で世界医師会において採択された）のような倫理的基準を満たせば問題はないとの立場をとっている。一方、米国においては農薬のヒトへの投与を行った試験は種々の点で適当でないとの反対意見が強く、これまでその適否についての論争があり訴訟にまで発展している。ヒトへの農薬の投与実験への賛成意見としては、ヒトのデータは貴重でありリスク評価の不確実性を減らせる、倫理基準に従えば問題は無い等である。反対意見としては、投与されたヒトの人数は動物試験や医薬品の臨床試験に比較して少ない。また子供などのデータも無く農薬の潜在リスクを検出出来ない。医薬品と異なり被験者に利益が無く倫理的問題が有る、ヒト試験は基準を緩くするために行われている等がある。これらを受けて EPA は 2006 年 2 月の Federal Register にヒト

を用いた実験の規制を強化する方針を打ち出した。内容としては妊婦と子供に対する新規暴露実験の禁止、試験計画のEPAへの提出、新規試験計画や過去のヒト試験を審査する独立したヒト試験レビューボードの設立等である。

(7) ARfDs 設定の特別のガイダンス

2004年のJMPRでは、ARfDs設定に関わるいくつかのエンドポイントについてガイダンスを新たに追加した。項目としては、血液毒性、免疫毒性、神経毒性、腎臓及び肝臓、内分泌攪乱影響、発生影響である。なお、Food and Chemical Toxicology (2005)にはより詳細に説明がされている。ただし、これらに関しては固定されたものでなく科学的知見の進歩により将来的にさらに変更される可能性が高いものであると思われる。

(8) 単回投与試験プロトコール

2004年のJMPRでは単回投与試験プロトコールの項目を新たに追加した。詳細については記載されていないが、ドラフトはOECDに送られ、検討されることになっている。

E. 結論

残留農薬等の急性参照用量 (ARfDs) に関連する情報を収集・整理するため、JMPRにおける

「ARfDs 設定のためのガイダンス」(2004)ならびにEPAのARfDsのガイダンスを中心に情報を収集した。ARfDsの安全係数についてはJMPRでは25のデフォルトの安全係数を提案しているが、EPAでは100であり一致は見られなかった。また、ヒトの農薬の投与試験の取り扱いについても、JMPRとEPAで相違が見られ、それらの取り扱いについては我が国においても慎重に判断していかなければならない問題であると結論づけられた。

F. 健康危惧情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

H. 知的財産所有権の出願・登録状況 (予定も含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Ⅱ. 分担研究報告書

4. 食物摂取量調査から見た残留農薬等の暴露評価の
精密化手法の検討及び残留農薬等の短期暴露評価法の検討

分担研究者 吉池 信男

食物摂取量調査から見た残留農薬等の暴露評価の精密化手法 及び残留農薬等の短期暴露評価法の検討

分担研究者	吉池 信男	独立行政法人国立健康・栄養研究所研究企画評価主幹
研究協力者	山田 友紀子	農林水産省消費・安全局消費・安全政策課課長
	小林 秀誉	農林水産省消費・安全局消費・安全政策課
	石脇 亜紗子	お茶の水女子大学大学院生活環境研究センター
	由田 克士	独立行政法人国立健康・栄養研究所健康・栄養調査研究部
	山本 茂	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部

研究要旨

食品摂取量調査からみた暴露評価の手法について、国民健康・栄養調査や関連の調査データの詳細な解析を通じて検討を行った。平成16年度には2年分のみが利用可能であった栄養調査データセットを3年分(188,640レコード)に拡大し、その分析を行い、今後暴露評価に必要な個別食品の分布を求めDB化した。特に、作物残留量の個体間変動試験を実施している葉菜(白菜など)については他の調査によって得られたデータベースも活用し、多食者の分布について詳細な検討を行った。また、これまでデータがほとんど無かったハーブ及びスパイスに関して、摂取量データの利用可能性の検討を行った。

さらに、FAO/WHO合同残留農薬専門家会議によって急性参照量が設定されているエンドスルファンについて、ハクサイと大根葉を用いて残留試験を行い、各50検体の残留濃度を分析した結果、それぞれ残留濃度の変動係数が2.3及び1.3と算出された。また、同専門家会議によって推定された農作物から加工食品への加工係数のデータベースを作成した。

A. 研究目的

食品添加物及び汚染物質等の暴露に関するリスクアナリシスは、ますます重要性を増している。特に、暴露評価をより科学的に、またより実態に即した形で行うためには、個々の食品に対する摂取量データが必須である。厚生労働省の国民健康・栄養調査における食品摂取量データ等を用いて、これまでも残留農薬等の暴露量評価は行われてきた。しかし、食品群として大きく括った摂取重量の平均値を主に用いていたために、多食者における摂取実態を考慮することが出来ずに、急性暴露影響等の検討はほとんどされていない。

特に、近年、FAO/WHO合同残留農薬専門家会議(JMPR)や欧州連合、アメリカなどで残留

農薬のリスク評価の際、慢性毒性だけではなく、1日の摂取による健康影響も評価し、健康への悪影響がある場合には急性参照量を設定している。さらに、短期摂取量を推定し、健康リスクを判定している。Codex委員会においては、短期摂取推定量が急性参照量を超える場合、基準値の採択はしないという決定がなされている。

そこで、本研究では、国民健康・栄養調査から得られた食品摂取量データを最大限に活用するとともに、他の複数日の摂取量を調べた調査データベースを用いて、暴露評価、特に急性暴露影響評価に必要な多食者における摂取量及び分布型について検討を行った。ま

た、残留農薬及び動物用医薬品に対するポジティブリストの導入等に際して考慮すべき点である、ハーブ及びスパイスについて、摂取量データの利用可能性を検討した。

さらに、急性暴露評価のための既存の数式や残留データを評価するとともに、加工係数や可食部中の残留率のデータベースを作成し、変動係数その他推定に必要な要因に関して、葉菜検体における変動係数の検討及び加工係数のデータベース作成を行った。

B. 研究方法

1) 国民健康・栄養調査の食品番号に対応した暴露量試算のためのデータベースの構築

平成16年度の本研究では、2年分のデータのみが利用可能であったが、今年度は3年分に拡大し、データセットを完成させた。

2001年、2002年の国民栄養調査及び2003年の国民健康・栄養調査データを今回の検討に用いた。対象となっている者は、1歳以上35,077名である(表1)。

表1 年齢階級別対象者数

年齢階級	人数
1-6歳	2,123
7-14歳	3,026
15-19歳	1,866
20歳以上	28,062
計	35,077

国民健康・栄養調査(2002年までは国民栄養調査)では、基本的に5訂食品成分表に準拠した食品番号体系が用いられ、本成分表に記載されている食品として約1800種類、それらに加えてこの調査独自に、特定保健用食品、栄養素が調製された食品、食品に強化された栄養素並びにサプリメント等について食品番号が設定されている(表2)

表2 食品データの内訳

食品データの種類	データ数
食品成分表収載食品	1769
ビタミン剤・特定保健用食品	377
その他の追加食品	35
計	2181

対象者の調査日(11月の平日のある1日)の食物摂取状況は、食品番号と摂取重量(g)として記録されている。今回、検討の対象とした35,077名の1日の食事データでは、1747の食品番号について何らかの摂取が記録されていた。これらの食品について、ある一日に摂取した者の人数(割合)、摂取者における平均摂取量、摂取量分布(50, 90, 95, 97.5パーセンタイル)、並びに非摂取者も含めた摂取量平均を年齢階級別(1~6歳、7~14歳、15~19歳、20歳以上)に求めた。この結果を用いて、白菜等の摂取量分布を検討した。

2) ハーブ及びスパイスの摂取量データの利用可能性に関する検討

上記1)のデータベースを基に、ポジティブリスト制で香辛料に分類される食品の日本国民の摂取状況(摂取頻度、摂取量)を算出した。その際、ポジティブリスト制において、スパイス及びハーブに分類される全食品のうち、国民健康・栄養調査の食品成分表に含まれる食品を、暫定基準を適用する分類ごとに示した(表3)。なお、本表においては、とうがらしのように、食品成分表で「生」、「乾」等、二種類以上の食品番号をもつものについては全て並べて示した。対応のないものは「-」とした。

3) 地域における食品摂取量調査データベースを用いた個別食品の摂取量分布の検討

国民健康・栄養調査では11月の特定の1日における摂取実態を調べているので、野菜、

果実、魚介類のように季節によって摂取量に変動がみられるものについては、当該調査結果に十分に反映されない。そのようなデータ上の制約を克服するために、協力の得られた地域において、年4回、連続しない3日間の半秤量食事記録法による調査を実施している(図1)。

今回は、予備的な検討として、本データベースから成人(20~69歳)の摂取量データ(延べ7416人=2472人×3日間、男性1099人、女性1373人)を抜き出して、葉菜を中心に、秋1日(国民健康・栄養調査のデータセットを想定)、秋3日間平均、春・夏・冬各3日間の平均、年間12日の平均について、摂取量分布(特に50及び95パーセンタイル)を算出した。

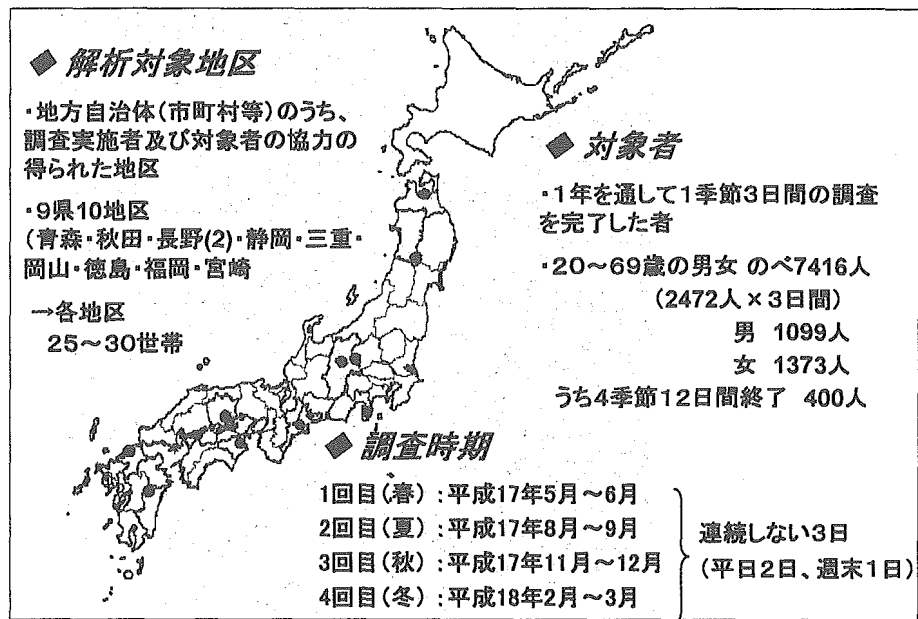


図1 4つの季節における食品摂取量データベースの概要

4) 葉菜の変動係数の分析

(a) 農薬としてエンドスルファンを選択し、農作物として結球葉菜であるハクサイ及び非結球葉菜であるダイコン葉を選択した。

(b) 農林水産省が定めている使用基準の最大値に準じてエンドスルファン(30%乳剤)の作物残留試験を露地にて行った。本残留試験は、試験条件を指定して社団法人日本植物防疫協会に再委託した。条件は以下の右表のとおりである。

(c) 定量可能な残留を達成するため、休薬機関の30日から21または20日への短縮を行った。

(d) 作物残留試験の後、ハクサイとダイコン各々60株を採取し、そのうち50株の葉部について、 α -、 β -エンドスルファンおよびエンドスルファン硫酸濃度をガスクロマトグラフで分析した。他の一部は回収試験、貯蔵試験、

不確かさの測定などに使用した。なお、分析は財団法人日本食品分析センターに再委託した。無処理の試料としては市販品を用いた。

残留試験の条件の概要

	ハクサイ	ダイコン
使用基準		
倍率	500-1000倍	500-1000倍
回数	1回散布	4回散布
最終散布	収穫30日前	収穫30日前
試験散布		
倍率	500倍	400倍
散布量	200 l	100-200 l
(10 aあたり)	慣行散布	慣行散布
回数	1回	4回(7日おき)
最終散布	収穫21日前	収穫20日前

(e) 分析法は以下に示すとおりである。

1) 試薬

ジエチルエーテル、ヘキサン、アセトニトリル(以上、残留農薬試験用)
アセトン(電子工業用)

トルエン（試薬特級）

水：精製水(MILLIPORE 社製 Milli-RX12α 装置で精製)

多孔性けいそう土カラム (CHEM ELUT CE1020) [Varian]

フロリジルカートリッジカラム (Sep-Pak Florisil Plus) [Waters]

グラファイトカーボン-NH₂ 積層カラム (ENVI-Carb/LC-NH₂) [Sigma Aldrich]

2) 器具及び装置

遠心管, なす形フラスコ, 試験管, メスフラスコ, ホールピペット, 吸引ろ過器, 振とう機, ローターエバポレーター, 吸引マニホールド
ガスクロマトグラフ (ECD)

3) 分析操作

① 試料の前処理

受領した検体は, 泥を除いた後, ハクサイは約 2 cm 角に, ダイコン葉は約 3 cm 幅に細切して, 家庭用ミキサーを用いて磨砕した。

② アセトン抽出

①で調製した試料 20 g を遠心管に量りとり, アセトン 100 ml を加え 30 分間振とうした。吸引ろ過した後, アセトンを用いて 200 ml に定容した。

③ 多孔性けいそう土カラムクロマトグラフィーによる精製

②の 4 ml (試料 0.4 g 相当) を遠心管に分取し, 水 10 ml を加え軽く振り混ぜた後, 多孔性けいそう土カラムに移し 5 分間放置した。次いで, ヘキサン 100 ml を流下させ, α-エンドスルファン, β-エンドスルファン及びエンドスルファン硫酸を溶出させた。溶出液を 200 ml のなす形フラスコにとり, 40 °C 以下で約 1 ml まで減圧濃縮後, 窒素ガスを通じて乾固した。

④ フロリジルカラムクロマトグラフィーによる精製

あらかじめフロリジルカートリッジカラムをヘキサン 10 ml を流下させ洗浄した。②で得られた残留物をヘキサンに溶解し 10 ml に定容した。この 5 ml (試料 0.2 g 相当) をフロリジルカートリッジカラムに移し流下させた後, ヘキサン 15 ml を流下させ流出液を捨てた。次いで, ジエチルエーテル及びヘキサンの混液(1:1) 20 ml を流下させ α-エンドスルファン, β-エンドスルファン及びエンドスルファン硫酸を溶出させた。溶出液を 40 °C 以下で約 1 ml まで減圧濃縮後, 窒素ガスを通じて乾固した。

⑤ グラファイトカーボン-NH₂ 積層カラムによる精製

ダイコン葉からの試料については, ④の後, グラファイトカーボン-NH₂ 積層カラムによる精製を行う。

あらかじめグラファイトカーボン-NH₂ 積層カートリッジカラムをアセトニトリル及びトルエンの混液(4:1) を流下させ洗浄した。③で得られた残留物 (ハクサイ試料) または④で得られた残留物 (ダイコン葉試料) をアセトニトリル及びトルエンの混液(4:1) 5 ml に溶解した後, カラムに移した。次いで, アセトニトリル及びトル

エンの混液(4:1) 15 ml で容器を洗いながらカラムに移し流下させ, α-エンドスルファン, β-エンドスルファン及びエンドスルファン硫酸を溶出させた。溶出液を 40 °C 以下で約 1 ml まで減圧濃縮後, 窒素ガスを通じて乾固した。

⑥ ガスクロマトグラフィーによる定量

④で得られた残留物をヘキサンに溶解し 2 ml に定容した後, 適宜希釈した。この 1 µl をガスクロマトグラフに注入し, α-エンドスルファン, β-エンドスルファン及びエンドスルファン硫酸の濃度を測定した。

<ガスクロマトグラフ操作条件>

a. ハクサイ中の α-エンドスルファン分析条件
機種：6890 [Agilent Technologies]

検出器：ECD

カラム：DB-1701 [J&W Scientific] φ0.25 mm×30 m, 膜厚 0.25 µm

温度：試料注入口 250 °C、検出器 300 °C、カラム 80 °C (2 min 保持)

→30 °C/min→190 °C→3.6 °C/min→280 °C (5 min 保持)

注入方法：スプリットレス

ガス流量：ヘリウム(キャリアーガス) 1.0 ml/min 窒素(追加ガス) 30 ml/min

注入量：1 µl

b. ハクサイ中の β-エンドスルファン及びエンドスルファン硫酸の分析ならびにダイコン葉中の α-, β-エンドスルファン及びエンドスルファン硫酸分析の条件

機種：6890 [Agilent Technologies]

検出器：ECD

カラム：DB-35MS [J&W Scientific] φ0.25 mm×30 m, 膜厚 0.25 µm

温度：試料注入口 250 °C、検出器 300 °C、カラム 80 °C (2 min 保持)→30 °C/min→190 °C

→3.6 °C/min→280 °C (5 min 保持)

注入方法：スプリットレス

ガス流量：ヘリウム(キャリアーガス) 1.5 ml/min 窒素(追加ガス) 30 ml/min

注入量：1 µl

(f) 総エンドスルファン濃度として, α-, β-エンドスルファン及びエンドスルファン硫酸の総和を 50 検体各々について計算し, それらの平均と 97.5 パーセンタイル値から変動係数を求めた。

5) JMPR によって推定された加工係数・可食部における残留割合のデータベース化

より現実的な摂取量推定を行うために, わが国でも摂取されている加工食品 (単一成分) について, 原料農作物の加工試験に基づいて推定された加工係数を, 1998~2004 年の JMPR レポートから抽出した。

C. 研究結果

1) 国民健康・栄養調査の食品番号に対応した暴露量試算のためのデータベースの構築

構築したデータベースの一部を附表に示した。このデータベースを用いて、葉菜（白菜、大根葉）におけるエンドスルファンの残留量の個体差試験の結果と組み合わせて、JMPR やアメリカ、オランダなどで使用されている短期経口摂取量推定法（特に確率論的手法）を用いたシミュレーションを行う予定である。

この結果から、調査日において白菜を摂取した者での95パーセンタイルの摂取量は、白菜の生重量として、1～6歳75g、7～14歳98g、15～19歳167g、20歳以上200g、全年齢176gであった。その分布を図2に示す。

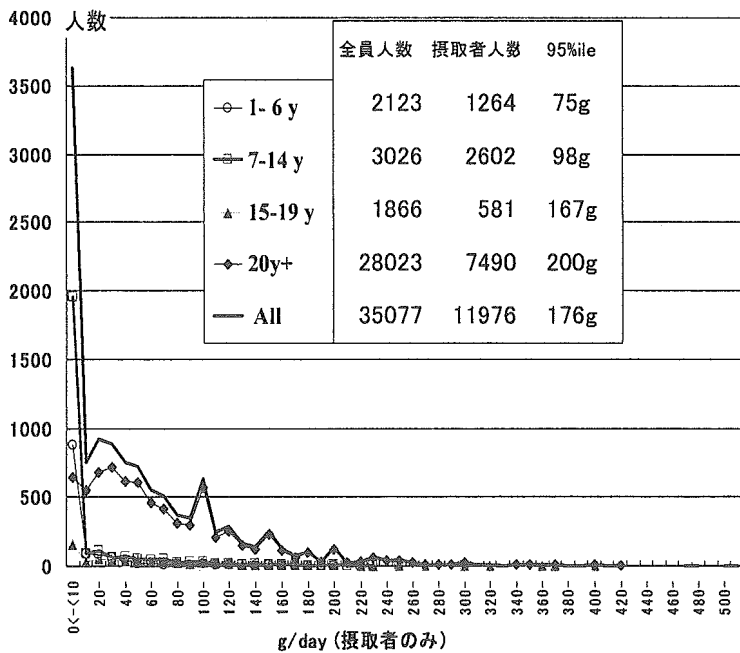


図2 11月の1日における「白菜」の摂取量の分布

3) 地域における食品摂取量調査データベースを用いた個別食品の摂取量分布の検討

本データベースは現在もデータ収集を継続的に行っているものであり、今回は予備的な検討として、白菜、ほうれん草、小松菜等の葉菜類について、分布型を示した（図3）。

2) ハーブ及びスパイスの摂取量データの利用可能性に関する検討

表3において食品成分表と対応のあった食品について、摂取頻度と摂取者における1日あたりの平均摂取量を表4に示した。

表4. スパイス及びハーブ摂取状況

ポジティブリストにおける名称	食品番号	食品成分表における名称	出現頻度 (/10,000人・日)	摂取量平均 (g/day)
スパイス				
ごま	5017	ごま(洗い)	6.3	4.3
	5018	ごま(炒り)	3111.7	3.1
	5019	ごま(むき)	5.4	6.3
しょうが	17068	粉しょうが	2.3	3.1
	6103	しょうが	1459.9	4.0
とうがらし	17073	とうがらし粉	87.2	0.5
	6171	生とうがらし	12.5	9.2
	6172	乾燥とうがらし	82.1	0.4
ニンニク	17075	ガーリックパウダー	11.4	0.5
	6223	にんにく	1226.2	2.7
パプリカ	17079	パプリカ	3.4	1.4
ホースラディッシュ	6270	ホースラディッシュ	0.9	13.3
ゆずの果皮	7142	ゆず(皮)	131.4	3.4
わさび	17080	わさび粉	5.7	1.0
	6322	生わさび	23.9	2.0
アサノミ	5003	麻の葉	0.6	1.1
ケシノミ	5015	けしの葉	1.4	30.04
シソ	6096	しその葉	24.8	3.8
マスタード	17057	からし粉	8.0	1.1
サンショウ	17066	粉さんしょう	11.7	0.7
オールスパイス	17055	オールスパイス	0.6	0.5
コショウ	17065	こしょう(混合)	442.2	0.3
ナツメグ	17074	ナツメグ	9.7	0.3
クローブ	17062	クローブ	0.3	0.2
シナモン	17067	シナモン	12.0	0.6
ハーブ				
クレソン	6077	クレソン	14.0	14.4
セロリ	6119	セロリ	136.3	29.6
ニラ	6207	にら	1637.0	9.8
パセリ	6239	パセリ	1332.8	1.3
	17078	乾燥パセリ	16.8	3.2
シソ	6095	しそ葉	220.1	1.8
ミョウガ	6280	みょうが	48.2	11.1
ヨモギ	6301	よもぎ	7.4	32.4
エシャロット	6307	エシャロット	29.9	20.0
ルバーブ	6310	ルバーブ	0	-
ルッコラ	6319	ロケットサラダ	13.4	23.1
セージ	17070	セージ	2.3	0.5
タイム	17071	タイム	0.3	0.1
バジル	17077	粉末バジル	9.4	2.6

2001-2003年国民栄養調査(国民健康・栄養調査)結果による (n=35,077)

図3a 特定の野菜（特に葉菜類）についての摂取量分布の季節的違い

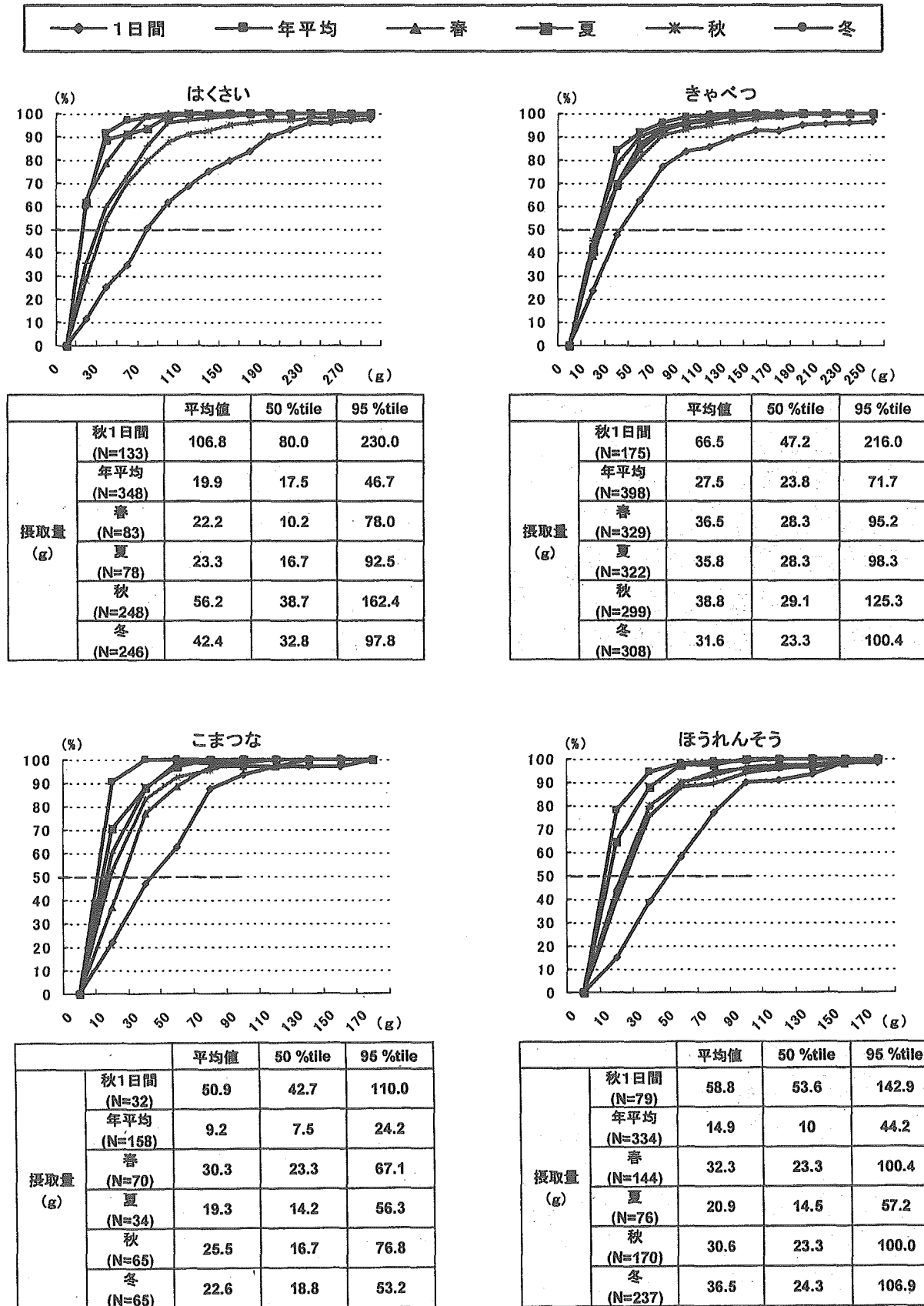
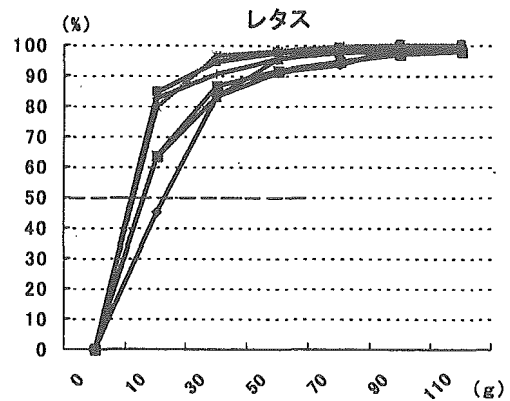
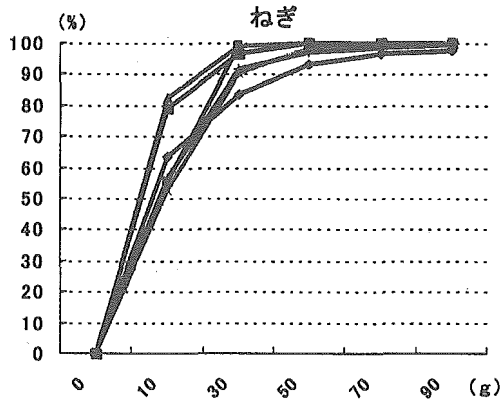
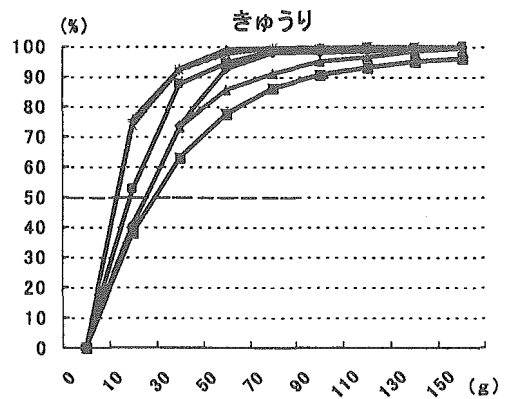
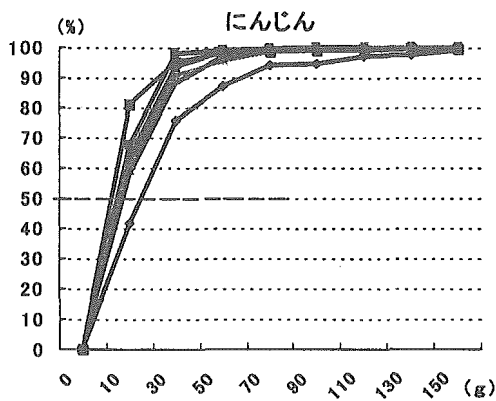


図3b 特定の野菜（特に葉菜類）についての摂取量分布の季節的違い



		平均値	50 %tile	95 %tile
摂取量 (g)	秋1日間 (N=233)	22.9	10.0	70.0
	年平均 (N=398)	10.4	9.2	23.3
	春 (N=305)	7.9	6.7	22.3
	夏 (N=333)	9.4	6.7	30.0
	秋 (N=357)	15.8	10.0	40.0
	冬 (N=365)	14.6	10.0	43.3

		平均値	50 %tile	95 %tile
摂取量 (g)	秋1日間 (N=89)	29.7	25.0	81.7
	年平均 (N=351)	12.6	8.3	42.5
	春 (N=259)	24.6	16.7	63.2
	夏 (N=224)	24.6	16.7	83.3
	秋 (N=164)	16.0	12.4	40.2
	冬 (N=211)	17.7	10.8	60.0



		平均値	50 %tile	95 %tile
摂取量 (g)	秋1日間 (N=33.2)	33.2	24.8	105.0
	年平均 (N=401)	18.2	15.8	35.8
	春 (N=365)	19.6	17.1	45.2
	夏 (N=368)	17.1	13.3	45.3
	秋 (N=371)	21.6	16.0	56.7
	冬 (N=380)	23.5	18.8	50.3

		平均値	50 %tile	95 %tile
摂取量 (g)	秋1日間 (N=156)	30.6	25.0	70.0
	年平均 (N=394)	24.0	19.6	61.7
	春 (N=351)	35.6	25.0	101.1
	夏 (N=353)	47.4	29.7	144.1
	秋 (N=262)	17.6	12.8	46.5
	冬 (N=272)	17.2	11.3	48.8

4) 葉菜の変動係数の検討

① α -、 β -エンドスルファン及びエンドスルファン硫酸の定量限界、繰り返し分析の相対標準偏差、添加回収率は各々ハクサイとダイコン葉で、以下のものであり、許容範囲内であった。

ハクサイ

α -エンドスルファン	
LOQ (mg/kg)	0.004
RSDr (%) (0.05 mg/kg)	5
Recovery (%)	
0.01 mg/kg	79
0.05 mg/kg	91
1 mg/kg	89
β -エンドスルファン	
LOQ (mg/kg)	0.005
RSDr (%) (0.05 mg/kg)	4
Recovery (%)	
0.01 mg/kg	96
0.05 mg/kg	94
1 mg/kg	87
エンドスルファン硫酸	
LOQ (mg/kg)	0.002
RSDr (%) (0.05 mg/kg)	3
Recovery (%)	
0.01 mg/kg	77
0.05 mg/kg	88
1 mg/kg	94

ダイコン葉

α -エンドスルファン	
LOQ (mg/kg)	0.003
RSDr (%) (0.05 mg/kg)	3
Recovery (%)	
0.05 mg/kg	78
5 mg/kg	89
β -エンドスルファン	
LOQ (mg/kg)	0.002
RSDr (%) (0.05 mg/kg)	5
Recovery (%)	
0.05 mg/kg	87
5 mg/kg	92
エンドスルファン硫酸	
LOQ (mg/kg)	0.005
RSDr (%) (0.05 mg/kg)	6
Recovery (%)	
0.05 mg/kg	90
5 mg/kg	97

② 検体に α -、 β -エンドスルファン及びエンドスルファン硫酸を 1 ppm 相当添加し、添加直後、7 日後、17 日後に B-1 (e) ②-⑥ の操作 (ハクサイの場合、⑤を除く) を 2 回行い、

α -、 β -エンドスルファン及びエンドスルファン硫酸を定量した。

17 日間で、 α -、 β -エンドスルファン及びエンドスルファン硫酸の有意な減少は認められなかった。

③ ハクサイ 50 検体を個別に分析した総エンドスルファン残留濃度は 0.054-1.5 mg/kg であり、平均値 0.58 mg/kg、標準偏差 0.41 mg/kg であった。

④ ダイコン葉 50 検体を個別に分析した総エンドスルファン残留濃度は 7.2-1.3 mg/kg であり、平均値 11 mg/kg、標準偏差 2.1 mg/kg であった。

⑤ 変動係数についてはいろいろな定義があるが、単一ロットにおける各ユニットの残留農薬濃度の変動係数として広く用いられている 97.5 パーセンタイル値を平均値で除した商を算出すると、ハクサイについては 2.5、ダイコン葉については 1.3 となった。

5) JMPR によって推定された加工係数・可食部における残留割合のデータベース化

附表 2 を参照のこと。

D. 考察

本研究課題は「残留農薬基準設定における暴露評価の精密化に関する意見具申」(1998年)に対応し、その推進に必要な食物摂取量データを整備することを目的としている。さらに今日的な課題としては、急性暴露影響評価に対応するためのデータ基盤を整え、JMPRやアメリカ、オランダなどで使用されている短期経口摂取量推定法(特に確率論的手法)を用いたシミュレーション手法の我が国での適合性を検証することがある。

本研究により得られた成果は、食品中の残留農薬等の急性及び慢性暴露影響を検討するための基礎データとして活用される。特に今回作成した国民健康・栄養調査(2001~2003年)の摂取量DBを基に、各食品について出来るだけ原材料に分解した2次DBを作成することにより、食品中に残留する農薬や動物用医薬品の暴露量推定をより精密に行うことが可能となる。

今回、ポジティブリスト制導入において、今まで以上に個別的に考慮することが望まれるハーブやスパイスについて、個人ごとの摂取量データがどの程度利用可能かを検討してみた。

もともと、国民健康・栄養調査も含めて、“健康評価”の一環として、食品の摂取量を求める調査においては、栄養素を中心として摂取量を把握することが第一義的課題であり、“具体的な食べ方”としては、食品群別の摂取重量で表すことがほとんどである。そのため、料理等の下味として使うハーブや香辛料についても細かく把握することは、通常行われない。実際に、国民(健康・)栄養調査の「必携」(調査員のマニュアル)においても、「香辛料(こしょう、七味等)については、記入の必要はない」と記述されている。

このような取り扱い、食品の摂取について事細かく記録を求めることは、調査対象者

にとって大きな負担となることから、調査の目的や優先的に考えるべき精度を思料すると、香辛料については優先度が低く、その記述を無理に求めないことで、その他の食品に関する記録の精度を落とさないようにしたものである。

今回、そのような調査上の大きな制限を理解した上で、国民健康・栄養調査における食品摂取データを精査し、ポジティブリスト制においてスパイス及びハーブに分類される個々の食品をとり上げて、検討した。国民健康・栄養調査も含めたほとんどすべての食事調査(食品摂取量調査)が基盤としている「五訂増補 日本食品標準成分表」(文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会)に記載されている、すなわち“通常”の食事調査でカバーされ得る最大範囲と、今回対象としたスパイス及びハーブとの関係を表3a、bからみると、1/3程もカバーされていないことがわかった。また、個々の食品について考えると、例えば日常生活では“カレー粉”として多く使われ、また摂取者に“認識”されているスパイスについて、どこまで個別的にデータを扱うことができるかどうかは疑問である。

表4には、データベース上記録されている範囲のデータで、対象となったスパイス及びハーブについて1日の食事における摂取頻度(10000人・日として記載)及び摂取者における摂取量平均を算出し、示した。前述の理由からのこの「摂取頻度」については、過少に推定されている可能性が強い(すなわち、食べていても、調査の回答者に認識されていない、あるいは「書かなくてもよい」ということで記録しなかった)。また、摂取者数が少ない食品については、摂取量平均の数値が安定しない(例:摂取者5名の「けしの実」等)ケースもあろう。いずれにしても、表4は参考程度に留める必要がある。個々のスパイス