

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

農薬等の一律基準と加工食品基準及び急性暴露評価に関する研究

平成 16～18 年度 総合研究報告書

主任研究者 国立医薬品食品衛生研究所食品部 米谷 民雄

平成 19 (2007) 年 4 月

目 次

I. 総合研究報告書

農薬等の一律基準と加工食品基準及び急性暴露評価に関する研究…………… 1

米谷 民雄

一律基準に係わる毒性データの解析に関する研究(平成16年度)

白石 寛明

一律基準に係わる分析上の課題に関する研究(平成16年度)

佐々木 久美子

GC/MSによる加工食品中の残留農薬分析法の開発(平成16-18年度)

根本 了

LC/MSによる加工食品中の残留農薬分析法の開発(平成16-18年度)

伊藤 裕子(平成16年度)

岡 尚男(平成17年度)

寺田 久屋(平成18年度)

残留農薬等の急性参照用量に関する調査研究(平成16-18年度)

菅野 純

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

(平成16-18年度)

吉池 信男

残留農薬等の短期暴露評価法の検討(平成16-18年度)

小林 秀誉(山田 友紀子)(平成16年度)

吉池 信男(平成17-18年度)

II. 研究成果の刊行に関する一覧表…………… 35

III. 研究成果の刊行物・別刷

I. 総合研究報告書

農薬等の一律基準と加工食品基準及び急性暴露評価に関する研究

主任研究者 米谷 民雄

農薬等の一律基準と加工食品基準及び急性暴露評価に関する研究

主任研究者 米谷民雄 国立医薬品食品衛生研究所 食品部長

研究要旨

農薬等のポジティブリスト制における一律基準の設定にあたっては、農薬等の毒性に関するエンドポイントや分析法における定量限界を考慮する必要がある。そこで、①信頼性のある毒性評価結果および農作物中の残留濃度調査結果を基に、対象化学物質のリスク評価を行った。また、②定量限界に関する情報を収集し、通常の試験検査では、農薬/食品の全てに一律0.01 mg/kgの定量下限を達成することは困難であるという結論を得た。この一律基準に関する2つの分担課題は、予定通り平成16年度の単年度で終了した。

今回のポジティブリスト制では、加工食品も対象であるため、加工程度が低くかつ流通量が多い食品について、分析法を開発することを企図した。そこでGCを用い、③加工食品に基準値が設定された農薬を含む約180農薬について、先ず加工食品の中で基準値設定品目数が最も多い食用植物油に対する残留農薬分析法を検討し、珪藻土カラムとC18カラムの連結カラムで脱脂後、シリカゲルカラム及びPSAカラムで精製し、GC/MS測定する簡便で迅速な一斉分析法を開発した。また、一般のスプリットレス注入法の注入量の数十倍となる40 μ Lを注入可能な大量注入-GC/MS法を開発し、これを上記の食用植物油残留農薬分析法に適用することにより、分析の迅速化・効率化を図ることができた。次に、製粉化穀類、乾燥果実、果実果汁及びトマト加工品に対する残留農薬分析法について検討し、試料をアセトニトリル抽出し塩析及びトルエン添加-無水硫酸ナトリウム脱水により水を除いた後、非脂肪性食品についてはそのまま、脂肪性食品についてはC18カラムで精製後、ENVI-Carb II/PSAカラムで精製するGC/MS一斉分析法を開発した。さらに、次の3項目について検討し、これらの新規技術が加工食品中の残留農薬分析の迅速化・効率化に有効であること及びその適用範囲を明らかにした。i) SBSE法（stir bar sorptive extraction法）を用いる果実果汁中の残留農薬GC/MSスクリーニング分析法の検討、ii) Low-pressure GC

(LP-GC) を用いたGC/MS/MS (ガスクロマトグラフィー・タンデム型質量分析法) (LP-GC/MS/MS) の検討、iii) SFE法 (超臨界流体抽出法) を用いる製粉化穀類中の残留農薬スクリーニング分析法の検討。ついでLCを用いて、④複雑なマトリックスを含有する加工食品中の残留農薬分析法を開発するため、双方向向流クロマトグラフィー (Dual countercurrent chromatography, Dual CCC) を利用した試料精製法及び水系ゲル浸透クロマトグラフィー (水系GPC) を利用した試料精製法を検討した。これらの試料精製法と液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計 (LC/MS/MS) を組み合わせることにより、食用油、穀物粉、食パン中のカーバメート系農薬及び有機リン系農薬の迅速な分析法及び乾燥果実、香辛料中のカーバメート系農薬、殺菌剤の一斉分析法を開発した。

一方、残留農薬の暴露評価を行うにあたり、急性毒性評価手法の確立が課題となっているため、⑤残留農薬の急性毒性評価をNOAELを指標に行う手法を確立する一貫として、残留農薬等の急性参照用量 (ARfD) に関連する情報を収集・整理するとともに、いくつかの有機リン系農薬のARfD設定について、JMPR、EPA、EU、オーストラリア等の手法を比較し、相違点について整理した。その結果、JMPRではchemical-specific adjustment factor(CSAF)に基づき、安全係数を下げる場合があること (例えば25に)、その他の機関はCSAFを採用していないこと、エンドポイント (コリンエステラーゼ活性) の採用について各機関の間に差が見られることなどを明らかにした。また、⑥残留農薬の短期暴露評価のための確率論的アプローチでは、i)多食者における摂取量の情報が必要となることから、国民健康・栄養調査データから利用可能な情報を出来るだけ活用し、暴露評価に特化した摂取量データベースを作成した。ii)残留農薬濃度については、JMPRでARfDが設定されている農薬を選び、当該農薬をGAPの最大条件の下で施用した場合の残留濃度のデータを抽出した。iii)食品摂取量及び各農作物の残留濃度のデータベースに基づいて、確率論的アプローチによるシミュレーションにより短期摂取量を推定した。これらにより、わが国においてもシミュレーション手法が適用できることを確認した。

分担研究者 (番号は以下の分担研究課題 に対応している)

- ①白石寛明（（独）国立環境研究所）
- ②佐々木久美子（国立医薬品食品衛生研究所）
- ③根本 了（国立医薬品食品衛生研究所）
- ④平成16年度
伊藤裕子（愛知県衛生研究所）
平成17年度
岡 尚男（金城学院大学薬学部）
平成18年度
寺田久屋（名古屋市衛生研究所）
- ⑤菅野 純（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター）
- ⑥吉池信男（（独）国立健康・栄養研究所）
及び平成16年度のみ山田友紀子（（独）食品総合研究所）、年度内交替後、小林秀誉（（独）食品総合研究所）

協力研究者

- ①今泉圭隆（（独）国立環境研究所）
- ③平成16年度
後藤智美（愛知県衛生研究所）
岡 尚男（愛知県衛生研究所）
平成17年度
伊藤裕子（愛知県衛生研究所）
後藤智美（愛知県衛生研究所）
寺田久屋（名古屋市衛生研究所）
平成18年度
丸山吉正（名古屋市衛生研究所）
加藤陽康（名古屋市衛生研究所）
岡 尚男（金城学院大学薬学部）
- ⑤高木篤也（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター）
- ⑥平成17年度
山田友紀子（農林水産省消費・安全局）
小林秀誉（農林水産省消費・安全局）
石脇亜紗子（お茶の水女子大学大学院）
由田克士（（独）国立健康・栄養研究所）
山本 茂（徳島大学大学院）
平成18年度
山田友紀子（農林水産省消費・安全局）

A. 研究目的

平成15年5月に改正食品衛生法が公布された。その目玉として、残留農薬・動物用医薬品等にポジティブリスト制度が導入されることになった。このポジティブリスト制度のもとでは、基準未設定の農薬等は、厚生労働大臣が定める一定基準を超えて食品に残留することが禁止される。その設定にあたっては、①農薬等の毒性に関するエンドポイントや②分析法における定量（検出）限界を考慮する必要がある。そこで、これらの情報を収集し、一律基準設定の際の資料とすることを目的とした。

また、今回のポジティブリスト制度では、新たに加工食品にも基準値が設定された。加工食品に対しては、これまで農薬の残留基準がほとんど設定されていなかったことから、その残留分析法も整備されていない。そこで、③GC/MSによる加工食品中の残留農薬分析法について検討した。平成16、17年度は、行政検査のニーズに適する試験法開発を目的として、従来技術を応用して食用植物油、製粉化穀類、果実果汁、乾燥果実及びトマト加工品に対する残留農薬GC/MS一斉分析法を開発した。平成18年度は、分析の一層の迅速化・効率化を図るために、SBSE法、LP-GC/MS/MS、SFE法などの新規技術の加工食品中の残留農薬分析への活用について検討した。④一方、LC/MSによる加工食品中の残留農薬分析法についても検討した。食品衛生行政の現場では、簡便で信頼性が高く、高感度な加工食品中の残留農薬分析法の開発が必要とされている。加工食品は、複雑なマトリックスを有しており、これらの食品を分析対象とするには夾雑物質を効率良く除去できる試料精製法の開発が最も重要である。そこで、平成16、17年度はDual CCC、平成18年度は水系GPCを利用した試料精製法を検討した。また、平成18年度は検査

業務の効率化を図る目的で、高速溶媒抽出装置を利用した自動抽出法についても検討した。これらの試料精製法とLC/MS/MSを組み合わせることで、食用油、穀物粉、食パン中のカーバメート農薬及び有機リン系農薬の迅速分析法、乾燥果実、香辛料中のカーバメート系農薬及び殺菌剤の一斉分析法の開発を試みた。

⑤残留農薬のリスク評価にこれまではADIが用いられてきたが、これは一生涯の暴露に対する安全指標である。一方、単回あるいは短期の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られてこなかったが、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対して設定されたADIは、不相当である。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急性参照用量（acute reference dose、ARfD）の概念が作られ、JMPRや一部の国ではARfDの設定が実施されているが、我が国ではARfDの設定は行われていない。今後の設定の可能性に鑑み、残留農薬の急性参照用量（ARfD）に関わる国際的な動向を調査・整理することにした。

⑥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、急性暴露影響等の検討はほとんどされてこなかった。特に、近年、JMPR、EU、米国などでは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用量を設定している。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用量を超える場合には、基準値の採択はしないという決定がなされている。短期暴露評価のための確率論的アプローチを行うためには、出現頻度の低い食品も含めた多食者における摂取量の情報が必要となるため、出来るだけ多くの日数分の摂取量データを用いる必要がある。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も用いて、暴露評価、特に急性暴露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。

他方、残留農薬濃度については、JMPRでARfDが設定されている農薬を選び、当該農薬をGAPの最大条件の下で施用した場合の残留濃度のデータを抽出し、モンテカルロ法によるリスクシミュレーションツール@RISKを使用して、シミュレーションを試行し、わが国においてもこのような手法が適用できることを確認することとした。

B. 研究方法

①対象化学物質である農薬等670品目（当時）に関して、約190に分類された食品ごとに設定された暫定基準をデータベース化し、各農薬等について厚生労働省、JMPRおよびJECFAが評価したADIに関するデータを収集した。また、対象化学物質に関して厚生労働省が実施した残留農薬実態調査の結果を、データベース化した。実態調査が行われた農薬の検出限界値として、厚生労働省が公表した値を収集した。食品分類は残留基準における食品分類に従った。各食品の摂取量の全国平均値および地域ごとの平均値をまとめたデータは、分担研究者6から提供された。それらの収

集データ・データベースを用いて、理論最大一日摂取量 (TMDI) および推定一日摂取量 (EDI) を算出し、両者の相関関係や、それぞれのADIに対する割合に関して整理・解析した。また、一律基準値がTMDIに及ぼす影響について解析した。

②約220農薬についての標準溶液をGC/MS(SIM)で測定し、定量下限を求めた。さらに、作物試験溶液に約130種の農薬を0.01 mg/kg相当量添加し、GC/MSによる測定の可否を求めた。暫定基準設定予定の540農薬について食品衛生登録検査機関(22機関)の受託分析における定量下限を調査し、平均的な定量下限を求めた。また、公定試験法について通知された定量下限、諸外国における残留農薬モニタリングの報告限界及び検出下限について調査した。一律基準としては安全性の観点から0.01 mg/kgが提案されていたため、それに基づいて調査結果の解析を行った。

③食用植物油中の残留農薬GC/MS一斉分析法については、脱脂方法としてゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) 法と珪藻土カラムを用いる方法について比較するとともに、測定時のマトリックス効果を軽減するための精製方法について検討した。得られた分析法を用いて加工食品に基準値が設定された農薬を含む約180農薬の食用植物油からの添加回収実験を行った。また、大量注入-GC/MS法を開発し、食用植物油に対する一斉分析法への適用について検討した。製粉化穀類、乾燥果実及び果実果汁に対する残留農薬のGC/MS一斉分析法については、厚生労働省より通知されたGC/MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)(厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知、食安発第1129002号、平成17年11月29日)を参考として、精製カラム及び脱水法について検討した。得られた分析法を用いて約180農薬の小麦全粒粉、乾燥果実、果実果汁及びトマト加工品からの添加回

収実験を行った。平成18年度には、加工食品中の残留農薬分析の一層の迅速化・効率化を図るために次の3項目について検討した。i) SBSE法を用いる果実果汁中の残留農薬GC/MSスクリーニング分析法については、試料の前処理法及びSBSE条件について検討し、得られた方法を用いて農薬の果実果汁からの添加回収実験を行った。ii) LP-GC/MS/MS法の検討では、LP-GC及びMS/MSの測定感度や精度に影響を与える様々な因子について最適化を行った。iii) SFE法を用いる製粉化穀類中の残留農薬スクリーニング分析法については、SFE法と開発したLP-GC/MS/MS分析法を用いて、小麦全粒粉からの農薬の添加回収実験を行った。

④Dual CCC条件 装置：Pharma-tech reserch社製プロトタイプモデル (Fig. 1)。
i) 食用油、穀物粉、食パン中のカーバメート農薬分析法 移動相及び流速：ヘッド側；アセトニトリル飽和n-ヘキサン (2 ml/min) テイル側；n-ヘキサン飽和アセトニトリル (2 ml/min)、回転数：415 rpm、試料注入量：100 μ l、捕集：テイル側流出液1～4分。
ii) 食用油、穀物粉、食パン中の有機リン系農薬分析法 移動相及び流速：ヘッド側；n-ヘキサン飽和アセトニトリル (2 ml/min)、テイル側；アセトニトリル飽和n-ヘキサン (1.8 ml/min)、試料注入口；アセトニトリル飽和n-ヘキサン (0.2 ml/min)、回転数：700 rpm、試料注入量：100 μ l、捕集：テイル側流出液3～8分。
高速溶媒抽出装置条件 装置：DIONEX社製 ASE-200、試料セル容量：33 mL、抽出溶媒：アセトニトリル、洗浄溶媒：50%(v/v)アセトニトリル水、加熱温度：100°C、加圧圧力：1500 psi。
水系GPC条件 装置：島津製作所製 LC-10Avp高速液体クロマトグラフ分取システム、分取カラム：昭和電工(株)製Shodex

Asahipak GF-310 HQ (7.6mm i.d. x 300 mm)、ガードカラム:昭和電工(株)製Shodex Asahipak GF-1G 7B (7.5mm i.d. x 50 mm)、移動相:アセトニトリル、流速:0.7 mL/min、カラム温度:40°C、注入量:300 μL、分取時間:13~18分。

LC/MS/MS条件

i) 食用油、穀物粉、食パン中のカーバメート農薬分析法

MS装置: Micromass社製QUATTRO micro、カラム: Xterra MS C18 (2.1x10 mm)、移動相: A液; 2 mMギ酸水溶液、B液; 2 mMギ酸メタノール溶液、グラジエント条件: 0-0.5 分; A液100%、0.5-2分; A液85%、2-3分; A液50%、3-7分; リニアグラジエントA液25%、7-8分; A液0%、8-14分; A液100%、流速: 0.2 ml/min、カラム温度: 30°C、イオン化モード: ESI(+)、デソルベーション温度: 200°C、検出方法: 選択反応検出法 (MRM)。

ii) 食用油、穀物粉、食パン中の有機リン系農薬分析法

MS装置: Micromass社製QUATTRO micro、カラム: Atlantis dC18 (3 μm, 2.1 x 50 mm)、移動相: A液; 5 mMギ酸アンモニウム含有90%アセトニトリル、B液; 2.5 mMギ酸アンモニウム、グラジエント条件: 0-4.0 分; A液5-100% (リニアグラジエント)、4.0-6.0分; A液100%、流速: 0.2 ml/min、カラム温度: 40°C、イオン化モード: ESI(+)、デソルベーション温度: 200°C、検出方法: 選択反応検出法 (MRM)。

iii) 乾燥果実、香辛料中のカーバメート系農薬及び殺菌剤の一斉分析法

装置: Waters社製Quattro Premier XE UPLC/MS/MS システム、カラム: Waters ACQUITY UPLC BEH C18 (1.7 μm, 2.1 mm i.d. x 100 mm)、移動相: A液; アセトニトリル・水・0.2mol/Lギ酸アンモニウム緩衝液pH6.0 (5:90:5)、B液; アセトニトリル・水・0.2mol/Lギ酸アンモニウム

緩衝液pH6.0 (90:5:5)、グラジエント条件: B液濃度; 0% → 8 min → 100% → 9 min → 100% → 9.01 min → 0% → 11 min → Stop、流速: 0.3 ml/min、カラム温度: 40°C、注入量: 5 μL、イオン化モード: ESI(+)、デソルベーション温度: 350°C、検出方法: 選択反応検出法 (MRM)。

試験溶液調製法

i) 食用油、穀物粉、食パン中のカーバメート農薬分析法及び有機リン系農薬分析法

食用油は、試料1 gに内部標準液(2 mg/kg、n-ヘキサン溶液)を0.2 ml添加し、酢酸エチルで5 mlに定容した。その他の試料については、Fig. 2に示した。

ii) 乾燥果実、香辛料中のカーバメート系農薬及び殺菌剤の一斉分析法

Fig. 3に示した。高速溶媒抽出装置の適用が困難な微粉末試料は、超音波水浴中で抽出した。

⑤ i) JMPRにおけるARfD設定のガイダンス及び米国EPAのARfD設定のガイダンスを中心に検索した。ii) いくつかの農薬のARfD設定の国際間の比較を実施し、相違点について考察した。なお、用いた資料としては、論文の他に各機関のweb上で公開されている最新の情報等を利用した。

⑥ i) 国民健康・栄養調査データの加工・解析による暴露評価データベースの作成(平成16~18年度; 吉池)

食品の摂取量情報に関しては、最終的に国民健康・栄養調査における栄養摂取状況調査4年分(2001-2004年)を合わせたデータセット(2次DB)を整え(約236万フードアイテム)、加工食品等を農薬が使用される個々の農作物に分解し、分類整理する作業も合わせ実施した。食品分類については、暴露評価の目的、アプローチの方法に応じ、しかも暴露評価を主目的として行われた調査ではない(すなわち「栄養調査」として行われた)データを2次的に活用す

るという観点から、その都度最良の分類方法を考える必要がある。

a) 平成16年度には、ポジティブリスト制度が導入される前の基礎的データの検討を目的として、白石・今泉らの分担研究における推計に必要なデータセットを作成した。すなわち、1769食品について可能な限り原材料に分解・展開あるいは重量換算し、516の原材料に振り分けるためのプログラムを作成し、データベースを構築した（この時点では、2001～2002年国民栄養調査のデータを使用）。

b) 平成18年度には、急性暴露評価を目的とした検討（山田）を進めるために、摂取パターン（コモディティの大きさ、バルク、加工・調理の形態等）を勘案しながら、125の食品群に分類し、摂取量データベースを作成した。なお、国民健康・栄養調査データの使用に当たっては、厚生労働省健康局総務課生活習慣病対策室から、本研究への目的外使用の許可を得た。

ii) 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（平成17年度；吉池）

2001～2003年の国民健康・栄養調査から得たデータベースを基に、ポジティブリスト制度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

iii) 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（平成17年度；吉池）

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ため、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。本データベースから成人(20～69歳)の摂取量データを抜き出して、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パーセントイル）を算出した。

iv) 葉菜に残留する農薬の変動係数の検討（平成17年度；山田）

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。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。

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 (10 aあたり)	2001 慣行散布	100－2001 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

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。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。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。

v) JMPRにより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(平成17年度；山田)

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。

vi) リスクシミュレーションの試行による急性参照用量を規準とするMRLの適正さの確認(平成18年度；山田)

EndosulfanとFenamiphosについて、以下の条件を満たす食品に設定されている基準値が、安全性の観点から適正かどうかを決定するための手法を検討した。

a.) JMPRによる短期摂取推定量が急性参照用量を超過しており、b) わが国に統計的に信頼できる摂取データがある。すなわち、JMPRに提出された作物残留試験の結果の中から、当該国の使用基準(GAP)に適合するものを選び、各々の休薬期間

(PHI)における残留濃度を特定した。さらに、Highest residue(HR)を決定し、以下に示すJMPRが活用している一点推定法の応用による摂取推定量と、残留濃度と国民健康・栄養調査の摂取量データを用いた確率論的推定法(摂食者のみについて算定)による97.5パーセンタイル摂取推定量を比較・検討した。

ケース1：ユニット重量<25g

Estimate $\mu\text{g/kg bw/day} = (97.5\text{パーセンタイル摂取量g/bw/day}) * (\text{HR mg/kg})$

ケース2a：ユニット重量 $\geq 25\text{g}$ かつユニット重量<97.5パーセンタイル摂取量

Estimate $\mu\text{g/kg bw/day} = \text{ユニット重量}$

$/53.6 * \text{HR} * \text{変動係数} + (97.5\text{パーセンタイル摂取量} - \text{ユニット重量}/53.6) * \text{HR}$

(53.6は平均体重)

ケース2b：ユニット重量 $\cdot 25\text{g}$ かつユニット重量 $\cdot 97.5\text{パーセンタイル消費量}$

Estimate $\mu\text{g/kg bw/day} = 97.5\text{パーセンタイル摂取量} * \text{HR} * \text{変動係数}$

ここで、97.5パーセンタイル摂取量は、調査が行われた特定の1日において当該食品を摂取した者のデータから算出したものである。また、変動係数は3を使用することになっている。これらのシミュレーションには、@Risk version 4.5 (Parisade Co, USA)を使用した。

C. 研究結果

①ポジティブリスト制の対象となる約670の農薬等を中心にADIを収集し、評価団体ごとに整理した。農薬等のADIとして厚生労働省、JMPRおよびJECFAの公表値を収集対象とした。暴露評価として、食品分類ごとの摂取量と厚生労働省が公表している農薬等の残留基準値および一律基準の暫定値から対象物質のTMDIを求め、一律基準値の寄与度を評価した。算出したTMDIに関して、ADIに対する比を算出し、各農薬等の相対リスクを評価した。また、農産物中の残留農薬の実測値が得られた農薬に関しては、実測値からEDIを試算し、TMDIとの比較や対ADI比による相対リスク評価を行い、農薬等のリスクを評価した。

②一律基準に対する分析上の問題点を明らかにする目的で、農薬を対象に分析機器に対する感度と試料由来妨害物質等が定量下限に与える影響について調査研究を行った。農薬標準溶液のGC/MS測定における定量下限の実測、農薬添加試験溶液のGC/MSによる実測、試験検査機関の受託分析における定量下限、公定試験法について通知された定量下限、諸外国における残留農薬モニタリングの報告限界及び検

出下限等について調査し、一律基準が0.01 mg/kgに設定された場合を想定した解析を行った。その結果、達成可能な定量下限は農薬によって、また、分析装置/機関/試料によって異なることが明らかになった。

③食用植物油中の残留農薬GC/MS一斉分析法については、GPC法と珪藻土カラム法について脱脂効果を比較した結果、食用植物油に対しては珪藻土カラム法の方が脱脂効果が高いことがわかった。また、珪藻土カラムにC18カラムを接続することにより、混入油脂量を珪藻土カラム単独使用の約1/5に減らすことができた。さらに、脱脂カラムからの溶出液を2分割し、後半をシリカゲルカラムで精製したのちPSAカラムで精製することにより、測定時のマトリックス効果を軽減することができた。得られた分析法を用いて加工食品に基準値が設定された農薬を含む約180農薬の食用植物油からの添加回収実験を行ったところ、検討した農薬の大部分については70～120%の良好な回収率が得られた。また、GC大量注入法として、注入速度を制御して1回で多量の試験溶液を注入する方法について検討した。注入条件に影響を与える主なパラメーターとして、注入口初期温度、溶媒排気流速、注入速度及び注入終了後の溶媒排気時間について検討し、一般のスプリットレス法の注入量の数十倍となる40 μ Lを注入可能な大量注入-GC/MS法を確率した。確率した大量注入-GC/MS法を食用植物油の残留農薬分析法に適用し、従来のスプリットレス法と比較した。その結果、大量注入法ではGC測定時に分解し易い熱に不安定な一部の農薬に対しては、スプリットレス注入法よりも分解し易い場合があるが、スプリットレス注入法よりもマトリックス効果を受けにくいことが示唆された。分析精度については、スプリットレス注入法及び大量注入法で求めた回収率のRSD値の平均値は、それぞれ2.8% (0.5

～7.8%) 及び3.6% (0.8～9.6%) であり、いずれも精度の良い結果が得られた。

製粉化穀類、乾燥果実、果実果汁及びトマト加工品に対する残留農薬GC/MS一斉分析法については、先ず精製カラムについて検討し、ENVI-Carb II/PSAは通知法で使用されているENVI-Carb/LC-NH₂よりも残留物量が少なく精製効果が高いことが分かった。また、通知試験法ではアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液20 mLで溶出していたが、溶出液量を30 mLとすることにより、これまで低回収率であったヘキサクロロベンゼン及びピリミジフェンを回収できることが分かった。通知試験法では、塩析後のアセトニトリル抽出液に無水硫酸ナトリウムを添加して脱水しているが、濃縮後に塩化ナトリウムが残り操作性が悪い場合があった。そこで、脱水法について検討したところ、無水硫酸ナトリウムによる脱水時にトルエンを添加することにより、塩化ナトリウムの析出が抑制され、操作性を改善することができた。得られた分析法を用いて小麦全粒粉、乾燥果実、果実果汁及びトマト加工品からの約180農薬の添加回収実験を行ったところ、大部分の農薬で70～120%の良好な回収率が得られ、回収率のRSD値も概ね5%であり、精度の良い結果が得られた。

平成18年度は、加工食品中の残留農薬分析の一層の迅速化・効率化を図るために、次の3項目について検討した。i) SBSE法を用いる果実果汁中の残留農薬GC/MSスクリーニング分析法については、試料の前処理法として、果実果汁を水で希釈してそのまま用いる方法 (方法A) と、果実果汁をアセトニトリル抽出した抽出液を水で希釈してから用いる方法 (方法B) について検討した。その結果、方法Bの方が全体的に高回収率であり、回収率のRSDの平均値も方法Aが15% (0.1～113%) であったのに対して方法Bでは7% (0.7～50%) とな

り、精度も改善された。しかし、測定にTD-GC/MSを用いた場合には、加熱脱着操作がTDUとPTVの2回あるため、熱に不安定な農薬は、通常用いられるスプリットレス注入法よりも熱分解し易いと思われた。ii) LP-GC/MS/MS法の検討では、LP-GC及びMS/MSの測定感度や精度に影響を与える様々な因子について最適化を行った。LP-GC条件については、キャリアーガス流速、昇温速度及び試料注入量について検討し、最適な条件としてそれぞれ1.3 mL/min、30°C/min及び2~6 µLが得られた。また、MS/MS条件については、最適な条件として、検出器電圧はチューニング時の値に400 Vを加えた値、SCAN timeは0.4 sec/scan、フィラメント電流は50 µA、アルゴンガス圧は2 mTorrを用いると良いことが分かった。iii) SFE法を用いる製粉化穀類中の残留農薬スクリーニング分析法の検討では、SFE法と開発したLP-GC/MS/MS分析法を用いて、小麦全粒粉からの187農薬の添加回収実験を行った。その結果、一部の分解しやすい農薬等を除き、大部分の農薬については70~120%の良好な回収率が得られ、回収率のRSDの平均値は6% (0.5~28%) であり、精度の良い結果が得られた。

④ i) LC/MS/MS条件の検討

各農薬分析法の測定条件に関して種々検討した結果、研究方法に示した条件により、分析することとした。食用油、穀物粉、食パン中のカーバメート系農薬及び有機リン系農薬分析においては、安定同位元素標識体を内部標準に用いた。カーバメート系農薬ではメソミル-d3を内部標準物質としてアルディカーブスルフォン、アルディカーブスルフォキシド、オキサミル、メソミルを、カルバリル-d7を内部標準物質としてピリミカーブ、アルディカーブ、カルバリルを、フェノブカーブ-d3を内部標準物質としてメチオカーブとフェノブカーブを、それぞれ定量した。また、有機リン

系農薬ではアセフェート-d6を内標準物質として使用し、メタミドフォス、アセフェート、ジメトエートを定量した。これによりMS/MS検出感度を一定に補正するばかりでなく、試料採取直後に添加することによって、前処理操作による対象物質の損失についても補正が可能となった。乾燥果実、香辛料中のカーバメート系農薬及び殺菌剤の一斉分析法では、粒子径1.7 µmの充填剤を使用した高性能分析カラムを使用し、11分間に32農薬の高速分析を可能とした。

ii) 抽出・精製条件の検討

食用油、穀物粉、食パン中のカーバメート系農薬及び有機リン系農薬分析においては、Dual CCCを利用した精製法を開発した。この精製法により分析の妨害となる油脂成分を効率良く除去し、迅速な前処理を可能とした。Dual CCCでは、互いに混じり合わない二液相 (アセトニトリルとn-ヘキサン) を互いが逆方向になるように、それぞれ分離カラム内へ送液することにより、試験溶液中の農薬類がアセトニトリル相に、夾雑物質がn-ヘキサン相に移行し、別々の出口から溶出される。夾雑物質の溶出時間を全く考慮する必要がないため、多数の試料を連続して短時間のうちに精製することが可能である。溶出位置を確認したところ、油脂は農薬と分離してヘッド側に流出し、カーバメート系農薬は1~4分、有機リン系農薬は3~8分のテイル側流出液に各農薬の90%以上が溶出した。

乾燥果実、香辛料中のカーバメート系農薬及び殺菌剤の一斉分析法においては、水系GPCによる精製法を開発した。水系GPCでは、試料のアセトニトリル抽出液を直接注入することが可能であり、農薬と夾雑物質が分離する条件を検索することにより、精製効率の高い試験溶液を得ることができた。水系GPCに使用できるカラムを検討した結果、Shodex Asahipak GF-310 HQが、

目的に適った分離を示すことが判明した。移動相にアセトニトリルを用いた場合、分析対象とした大部分の農薬は13~18分(容量3.5mL)に溶出し、色素類等の夾雑物質は19~30分に溶出した。さらに農薬の抽出効率の向上、使用溶媒の削減及び抽出操作の自動化を目的として、高速溶媒抽出装置による抽出法を検討した。しかし、微粉末状のセージに適用したところ、装置の配管中に試料が漏れて故障を生じた。そこで、微粉末試料については、超音波水浴中でアセトニトリル抽出することとした。

iii) 添加回収実験

a) 食用油、穀物粉、食パン中のカーバメート系農薬分析法

実試料として、市販食用油、穀物粉及び食パンそれぞれ3種を用い、9種類のカーバメート系農薬について添加回収実験を行った(n=5)。ごま油、オリーブ油及びなたね油に0.5 mg/kg及び0.1 mg/kgとなるよう添加した時、回収率は78-118%、変動係数は1.3-12.8%であり、小麦粉、ライ麦粉及び全粒小麦粉に0.1 mg/kg及び0.01 mg/kgとなるよう添加した時、回収率は52-122%、変動係数は0.5-9.4%であった

(Table 1、2)。また、白食パン、ライ麦食パン、全粒食パンに0.5 mg/kg及び0.1 mg/kgとなるよう添加したとき、回収率は76-137%、変動係数は0.9-11.4%であった

(Table 3)。試料調製から分析結果を得るまでの所要時間は、食用油で約15分、穀物粉と食パンで約25分程度であった。

b) 食用油、穀物粉、食パン中の有機リン系農薬分析法

実試料として、市販食用油、穀物粉及び食パンそれぞれ3種を用い、3種類の有機リン系農薬について、添加回収実験を行った(n=5)。大豆油、オリーブ油及びなたね油に0.5 mg/kg及び0.1 mg/kgとなるよう添加した時、回収率は85-105%、変動係数は1.1-7.8%であり、小麦粉、ライ麦粉及び

全粒小麦粉に0.05 mg/kg及び0.01 mg/kgとなるよう添加した時、回収率は78-113%、変動係数は0.9-10.4%であった(Table 4、5)。また、白食パン、ライ麦食パン、全粒食パンに0.5 mg/kg及び0.05 mg/kgとなるよう添加した時、回収率は62-110%、変動係数は0.9-8.4%であった(Table 6)。試料調製から分析結果を得るまでの所要時間は、食用油で約20分、穀物粉と食パン、豆類及び穀類で約30分程度であった。

c) 乾燥果実、香辛料中のカーバメート系農薬及び殺菌剤の一斉分析法

市販の乾燥果実及び香辛料について、添加回収実験を行った(n=5)。添加量は0.1 mg/kg及び一律基準値の0.01 mg/kgとした。0.1 mg/kgとなるよう添加した時、回収率70-110%、変動係数15%未満の条件を満たすものは全体の61%、0.01 mg/kgとなるよう添加した時、回収率60-120%、変動係数25%未満の条件を満たすものは全体の70%であった(Table 7)。さらに、本法が味噌、しょう油など夾雑物質を多量に含有する加工食品にも適用できることを確認するため、各農薬を0.01 mg/kg添加して回収試験を行った(n=5)。分析対象とした32農薬のうち味噌では23農薬、しょう油では21農薬が回収率60-120%、変動係数25%未満で定量することができた(Table 8)。試料調製から分析結果を得るまでの所要時間は約90分で、その大部分を自動化することができた。

⑤ i) ARfDの定義について

ARfDは2002年のJMPRにおいて、「ARfDは評価時点での全ての知見に基づき、消費者が24時間またはそれ以下の時間に摂取しても、把握可能な健康上の悪影響を被ることの無い、体重当たりに表される食事ないし飲水中の一化学物質の推定値」と新たに定義された。

ii) ARfDの設定における一般的考え方について

ARfD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ARfD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、ARfDを設定する必要は無いと、2004年のガイダンスに追記された。

iii) ARfD設定の過程

JMPRでは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、ARfDを設定する必要は無いとしている。

iv) 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(C_{max}))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 (CSAF)(WHOのドラフトガイダンスドキュメント)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。

v) 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、ARfD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考慮すべき点として、科学的メリット、試験系の規模、適切なエンドポイントの選択、倫理基準への合致等をあげている。

vi) ARfD設定の特別のガイダンス

2004年のJMPRでは、ARfD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。

vii) 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。ドラフトはOECDに送られ、検討されることになっている。

viii) 農薬のARfD設定の国際間の比較を実施し、相違点が以下のとおり明らかになった(表1参照)。

a) クロルピリホス

クロルピリホスのARfDについてはJMPR、EU、EPA、及びオーストラリアで設定が行われている。ARfD値はEPAが0.005mg/kg bwで、それ以外はいずれも0.1mg/kg bwである。JMPRとオーストラリ

アはいずれもヒト単回試験のデータのRBC(赤血球) ChE(コリンエステラーゼ)活性阻害を用いている。一方、EUは最も新しい2005年の評価において、ヒトのデータを採用せず、ラット急性、遅延性神経毒性試験のデータを使用している。EPAにおいてはラット単回投与試験の結果を用いており、国・機関によりエンドポイントの採り方に違いが見られている。

b) フェナミホス

フェナミホスのARfDについてはJMPR、EPA、オーストラリアで設定が行われている。JMPRとオーストラリアではARfDは0.003mg/kg bwで、いずれもイヌの単回投与試験のRBC ChE活性をエンドポイントにしている。一方、EPAでは0.0012mg/kg bwで、ラット急性神経毒性試験を採用しており、エンドポイントの採り方に違いが見られている。

c) フェンチオン

フェンチオンのARfDについてはJMPR、EPA、及びオーストラリアで設定が行われている。JMPRは0.01mg/kg bw、EPAでは0.0007mg/kg bwと、大きく値が異なっている。オーストラリアはその間の、0.007mg/kg bwとなっており、それぞれ、エンドポイントの採り方に違いが見られている。

d) ホスメット

ホスメットのARfDについてはJMPR、EU、及びEPAで設定が行われている。JMPRは0.2mg/kg bwで、ヒトのRBC ChE活性阻害を用いている。一方、EUとEPAは0.045mg/kg bwで、ラット急性神経毒性試験の血漿、RBCあるいは脳のChE阻害の結果を用いている。

e) メタミドホス

メタミドホスのARfDについてはJMPR、EU、EPA、及びオーストラリアで設定が行われている。JMPRが0.01mg/kg bwでEPAが0.003mg/kg bw、EUとオーストラリ

アはいずれも0.001mg/kg bwである。JMPR、EPAとオーストラリアはいずれもラット急性神経毒性試験のデータを用いているが、エンドポイントならびに安全係数の設定に差が見られた。JMPRではRBCと脳のChE活性阻害を用いており、安全係数を25としている。一方、EPAは同じ試験でRBCと脳ChE活性に加えて血漿ChEも用いており、さらにFood Quality Protection Act(FQPA)による安全係数300を用いている。オーストラリアではEPAと同じエンドポイントを用いているが、安全係数は100であった。なお、EUについてはARfD値設定の詳細は不明であった。

以上、例数は少ないものの各国・機関のARfD設定法の相違点について解析した結果、ヒトのデータについてはJMPRとオーストラリアは使用しているが、EUとEPAは今回調べた範囲では使用していなかった。また、デフォルト値の100より小さい安全係数の使用についてはJMPRでは既に使用しているが、EU、EPA、オーストラリアでは使用していなかった。逆に、EPAでは子供のため、さらなる追加の安全係数を設定する例も見られた(FQPAの安全係数)。有機リン系の毒性のエンドポイントとしてEPAとオーストラリアは高感度な指標である血漿ChEを採用しているが、JMPRとEUは採用していなかった。これらの決定要因によりARfDはJMPRでは高め、EPAは低めに、EUとオーストラリアではその間の値を採る傾向が見られた。

⑥ i) 国民健康・栄養調査データの加工・解析による暴露評価データベースの作成

a) 国民健康・栄養調査(2001~2002年)の食物摂取量の基データを用いて、可能な限り原材料に分解・展開(1769食品について、1食品に対して最大30の食品に分解)を行い、516の原材料の摂取量として表し

た。また、分担研究者の白石・今泉らが提唱する食品分類（198食品群）に従い、地域ブロック別に摂取量の算出を行った（データ詳細については、平成16年度分担研究報告書を参照のこと）。

b) 急性暴露評価に特化した食品摂取量データベースとして、125の食品グループについて、N=43,839（人）の1日摂取量データにより構成される第3次データベースを作成した（データの詳細は省略）。

ii) 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

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（データ詳細については、平成17年度分担研究報告書を参照のこと）。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、対象としたスパイス及びハーブとの関係を見ると、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。従って、個々のスパイスやハーブについて、“平均的な”摂取量を推計するためには、輸入、流通のデータ等も活用していく必要があると考えられた。

iii) 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（平成19年度末までを予定）ものであり、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、年齢階級別に、摂取量の分布等を示した（データ詳細については、平成17年度分担研究報告書を参照のこと）。対象食品の一つとした白菜については、総務省の家計調査データや流通のデータをみても季節変動が大きく、国民健康・栄養調査が実施される11月は、摂取量が最も高くなる時期のひとつと考えられる。しかし、個人レベルで、白菜を含めて個々の食品について季節的な変動や、1日と複数日の平均等に関する詳細な報告はきわめて少ない。そこで、国立健康・栄養研究所においては現在、食品中の化学物質の暴露評価に対しても十分活用できる摂取量データベースを構築している。摂取者における中央値のみならず、95パーセンタイル等の“多食者”の1日あたりの摂取量をみても、季節差が確認された。

iv) 葉菜に残留する農薬の変動係数の検討

a) 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、許容範囲内であった（下表）。

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

b) 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ところ、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。

c) 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。

d) 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。

e) 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。

v) 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内容については、平成17年度分担研究報告書の附表2を参照のこと。

vi) リスクシミュレーションの試行による急性参照用量を規準とするMRLの適正さの確認

a) Endosulfan

2006年JMPRの評価では、一般人の短期摂取推定量がブロッコリとセロリにおいて急性参照用量 (20 μg/kg bw)の210及び120%で、6歳以下の子供の場合、ブロッコリ、セロリ、チェリー、トマトにおいて、390、270、120、110%であった。そこで、ブロッコリについて、短期摂取量を推定した。

食品の摂取量を対数正規分布に近似した場合の97.5パーセンタイル値は2.57 g/kg bw/dayであり、平均的な一人当たりの摂取量がわずかにユニット重量より少ない。一点推定法による短期摂取量推定値は、 $2.57 \times 2.40 \times 3 = 18.5 \mu\text{g/kg bw/day}$ であった。一方、残留濃度も対数正規分布に近似させた場合、予想通り一点推定法より小さな値が得られた。

この例のように残留濃度の数値が20しかない場合、きわめて高いパーセンタイル値を出すのは適切とはいえない。さらに、対数正規分布はテールが長い傾向を示すので、きわめて高いパーセンタイル値では、非現実的に高い数値が出る可能性もある。

この場合、変動係数3を使用すると、99パーセンタイル値が16.1となり、一点推計法に近い値となった。このことから、わが国では、ブロッコリ摂食によるEndosulfanの摂取量が急性毒性を上回る可能性は否定できないと考えられた。

b) Fenamiphos

2006年JMPRはこれらの食品についていくつかの新しい作物残留試験データを得て、再評価を行った。そのデータを活用してピーマンとトマトからの短期摂取量を推定した。

ピーマンについては、食品の摂取量を対数正規分布に近似した場合の97.5パーセンタイル値は1.43 g/kg bw/dayであり、平均的な一人当たりの摂取量はユニット重量より多かった。一点推定法による短期摂取量推定値は、 $40/53.6*0.35*3$

$+ (1.43 - 40/53.6) * 0.35 = 1.02 \mu\text{g/kg bw/day}$ であった。一方、残留濃度も対数正規分布に近似させた場合、予想に反して、一点推定法より大きな値が得られた。この場合、変動係数3を使用すると、99パーセンタイル値が5.85となり、一点推計法よりはるかに大きい値となった。

トマトについては、食品摂取量を対数正規分布に近似した場合の97.5パーセンタイル値は3.90 g/kg bw/dayであり、平均的な一人当たりの消費量がわずかにユニット重量より多かった。一点推定法による短期摂取量推定値は、 $150/53.6*0.27*3 + (3.90 - 150/53.6) * 0.27 = 2.57 \mu\text{g/kg bw/day}$ であった。一方、残留濃度を指数分布に近似させると、やはり、一点推定法より小さな値が得られた。この場合も、変動係数3を使用すると、99パーセンタイル値が2.97となり、一点推計法に近い値となった。

D. 考察

①信頼性のある毒性評価結果および農

作物中の残留濃度調査結果を基に、対象化学物質のリスク評価を行った。670品目にも上る多数の対象物質に関して、毒性データを収集し評価することにより、詳細な調査の必要性が高い化学物質を選定することが可能となった。また、収集情報を整理することにより、未収集データの調査および評価についての方向性を示した。本研究成果をもとに、必要な調査研究の対象物質・調査内容などを的確に把握することが可能となり、効率的な研究資源の投入が期待できると考えられた。

②ポジティブリスト制では、残留基準が設定されていない農薬/食品については、一般的な残留基準より低い一律基準が適用されることが予想される。本研究によって、通常の試験検査では農薬/食品の全てに一律0.01 mg/kgの定量下限を達成することは困難であるという結論が得られたことは、一律基準を設定する際の参考資料となる。

③食用植物油中の残留農薬GC/MS一斉分析法については、脱脂法としてGPC法よりも珪藻土カラムとC18カラムの連結カラムを用いる方法の方が優れていることが分かった。また、脱脂カラムからの溶出液を、シリカゲルカラム及びPSAカラムで精製することにより、夾雑成分を減らし、マトリックス効果を低減することができた。さらに、測定に大量注入-GC/MS法を用いることにより、PSAカラム精製後の溶出液を濃縮せずにそのままGC/MS測定することができ、分析の迅速化及び簡便化を図ることができた。また、大量注入-GC/MS法は、熱分解し易い一部の農薬に対しては、スプリットレス注入法よりも結果が劣ったが、それ以外の農薬では、スプリットレス注入法よりもマトリックス効果を受けにくく、加えて濃縮操作を省略できるため、揮発性の高い農薬の損失を軽減できた。開発した食用植物油の残留農薬分析法は、簡

便な操作で短時間で分析できることから、検査業務の効率化が期待できる。また、珪藻土カラムを用いた脱脂方法は、GPC法などのような自動化は困難であるものの特殊な装置は不要で、GPC法よりも溶媒使用量が少ないといった利点があり、他の高脂肪含有食品の脱脂操作への応用が期待される。

製粉化穀類、乾燥果実、果実果汁及びトマト加工品に対する残留農薬GC/MS一斉分析法については、通知試験法の精製カラムをENVI-Carb/LC-NH₂からENVI-Carb II/PSAに変更し、溶出液量を20 mLから30 mLに変更することにより精製効果が向上し、一部の農薬については回収率が改善された。また、塩析後のアセトニトリル抽出液に無水硫酸ナトリウムを添加して脱水する際に、抽出液の1/2量のトルエンを添加する方法は、濃縮時間は延長するものの、濃縮後の塩化ナトリウムの析出もほとんどないため操作性が良く、また通知法と同様な回収率が得られるほか、ジスルホトン、チオメトン及びエチオフェンカルブなどの操作中に分解しやすい農薬や揮発性の高い農薬に対しては回収率が改善され、有効な方法であると考えられた。本法は特殊な装置などを使用しないので、実際の行政検査の現場における残留農薬検査にそのまま活用が可能である。

平成18年度は、加工食品中の残留農薬分析の一層の迅速化・効率化を図るために、次の3項目について検討した。i) SBSE法を用いる果実果汁中の残留農薬GC/MSスクリーニング分析法では、方法Aで低回収率になった原因は、攪拌子への農薬の分配が食品マトリックスによって阻害されたためと考えられる。SBSE法では試料間のマトリックス（食品成分）の違いを補正するために、アセトニトリル抽出液を用いると良いことが分かった。アセトニトリル抽出液を用いた場合には、低極性農薬の回収率

は大きく改善されたが、Log Ko/wが1~4付近の農薬の回収率はむしろやや減少した。このことから、試験溶液中の有機溶媒濃度が攪拌子への農薬の分配に大きな影響を与え、影響の現れ方が農薬のLog Ko/wによって異なることが分かった。特に、Log Ko/wが1~4付近の農薬の回収率は理論値を下回っており、今後更にSBSE条件の改善が必要と思われた。

ii) LP-GC/MS/MS法の検討では、開発したLP-GC測定法が従来のキャピラリーカラムを用いた方法と比べて分離能はやや低下するものの、約半分の時間で測定が可能であり、スクリーニング分析に適した方法であると思われた。また、MS/MS条件の検討から、測定ノイズが発生しやすいプリカーサーイオンとプロダクトイオンの組合せ（MRM条件）があることがわかった。MRM条件として、測定ノイズが発生しにくい条件を選択すれば、より高感度化が可能と思われる。MRM条件については、今後更に高感度で夾雑成分の影響を受けにくい、食品中の残留農薬分析に適した条件を検討する必要があると思われる。iii) SFE法を用いる製粉化穀類中の残留農薬スクリーニング分析法の検討については、従来の溶媒抽出とキャピラリーカラム-GC/MSを用いた方法では、試験溶液の調製に1検体4~5時間、測定に40~50分かかるとして、SFE法とLP-GC/MS/MSを用いる方法では、それぞれ約2時間及び約20分であり、約半分に短縮でき、操作も簡略化された。また、SFEは自動で行われるので、その間に別の作業が可能であり、非常に効率的であった。

④LC/MS/MSによる残留農薬の一斉分析のための試料精製法として水系GPCを応用した場合には、試料調製から分析結果を得るまでの所要時間は約90分で、その大部分を自動化することが可能であった。

⑤実際のARFD設定法の国際間の比較か