

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

食品中に残留する農薬等におけるリスク管理手法の精密化に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

主任研究者

財団法人 残留農薬研究所 加藤保博

平成21年(2009年)4月

目次

I. 総括研究報告

食品中に残留する農薬等におけるリスク管理手法の 精密化に関する研究	1
--------------------------------------	---

II. 分担研究報告

1 畜水産食品中の残留農薬の実態把握及び公定試験法の検証	17
1.1 畜水産食品中の残留農薬の実態把握	17
1.2 公定試験法の検証	28
2 一律基準適用畜水産食品中残留農薬試験法の開発	
2.1 GC/MS	45
2.2 LC/MS	201
3 食品中の残留農薬基準の検証方法	225
4 残留基準設定データの精密化法	229

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	280
---------------------	-----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	281
-----------------	-----

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）

I. 平成 20 年度総括研究報告書

食品中に残留する農薬等におけるリスク管理手法の
精密化に関する研究

主任研究者 加藤保博

（財団法人 残留農薬研究所）

1. 平成 20 年度総括研究報告書

食品中に残留する農薬等のリスク管理手法の精密化に関する研究:

主任研究者 加藤保博 財団法人 残留農薬研究所 理事

研究要旨

食品中残留農薬のリスク管理手法の精密化に役立てることを最終目標として、次の調査研究を行った。A. 畜水産食品中残留農薬に関し、(1) 残留実態把握及び公定法の検証 (1-1) 残留実態把握: 残留基準既設定農薬について愛知県で購入した畜水産食品 62 検体 (牛, 豚, 鶏の筋肉、鶏内蔵、牛乳、卵, 魚類, 甲殻類, 貝類) で 302 農薬の残留実態を調査した。BHC 類, DDT 類, イソプロチオラン, オキサジアゾン, ダイアジノンなど 32 種類の農薬が検出されたが、違反事例はなかった。検出頻度の最も高いのは BHC 類であった。貝類類では 1 検体から複数の農薬が検出される事例が多く見られ、中には 1 検体あたり 16 種類の農薬が検出された例もあった。(1-2) 公定試験法の検証: 畜水産食品用の残留農薬一斉試験法の高極性農薬への適用拡大を図るため、厚生労働省で開発中のアセトニトリルを抽出溶媒とした一斉試験法の検証を牛の筋肉と肝臓で約 170 種の農薬について行い、抽出時のセライトの添加は不要であること、および抽出時の塩酸添加は、使用されている濃度では大部分の農薬で効果のないことが示された。また、農薬および食品の特性によっては、塩析による水相分離の際に pH 調整をすることが必要とされた。また、精製に PSA カラムを用いた場合、酸性農薬等が溶出される第 2 画分には多くの食品マトリックスも溶出されるため、第 1 画分と第 2 画分を合わせて一つの試験溶液として測定することは適切でなく、別々に測定する必要があると思われた。(2) 一律基準対応試験法の開発: 暫定基準が設定された農薬のうち、畜水産品に残留基準を設定せず、一律基準が適用される約 200 種の農薬については試験法が未整備であり、GC・MS 及び LC・MS による一斉試験法を開発してきた。

2.1 GC・MS: 前年度までの検討において GC・MS あるいは LC・MS による一斉分析法 (厚生労働省通知一斉試験法及び新規一斉試験法案) の適用が困難と判断した 40 成分について、QuEChERS 法の一部改良法の適用性を評価した。当該改良法には、高脂質試料からの分析対象成分の抽出効率に配慮した *n*-ヘキサン共存下での抽出条件を適用した他、マトリックス調製標準溶液と PTV 注入法を適用した GC・MS 測定、及び高感度・分解能である LC・MS/MS 測定を適用した。10 種畜水産物試料 (牛の筋肉, 牛の脂肪, 牛の肝臓, 牛の腎臓, うなぎ, さけ, えび, 牛乳, 鶏卵, はちみつ) を用いた妥当性評価において、QuEChERS 法の一部改良法の適用が可能と判断した分析対象数は 12 成分であった。その内、アリドクロール, シアナジン, スルフェントラゾ

ン、デメトン-Sメチル及びピロキロン)の5成分はGC-MS及びLC-MS/MSの両測定で適用が可能、イソキサチオン、ドジン、フルアジナム、プロパモカルブ、ベンゾピシクロン及びメタアルデヒドの6成分はLC-MS/MS測定のみで適用可能、ジクロベニルについてはGC-MS測定のみで適用可能と評価した。2.2 LC-MS: LC-MSによる新規一斉試験法(アセトニトリル・n-ヘキサン抽出法)の適用性を、前年度までの検討実施時点において標準品が未入手、もしくはGC-MS測定の適用を想定してLC-MS測定は未検証であった計11成分について検証した。7種畜水産物試料(牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、えび、うなぎ、牛乳、鶏卵)を用いた妥当性評価(0.01 mg/kgならびに0.1 mg/kgの2濃度添加)において、最終的に当該分析法の適用が可能と判断された分析対象は、キノクラミン、シクロキシジム、ベンゾフェナップ及びアイオキシニルの4成分であった。B. 農産物中の残留農薬に関し、(3) 残留基準設定の検証法: 最大残留量推定に参照する作物残留試験の妥当性を判断し、残留基準を設定するためのチェックポイント等を国際機関における方法等を参考に纏めた。(4) 農産物中残留基準設定の精密化: 1995年以降の調理加工による残留農薬等の消長に関する文献、ならびにFAO Plant Production and Protection Paper, Pesticide residues in food, Evaluations シリーズで1993~2007年に報告されたJMPPRで評価されている農産物加工データ、さらにOECD、米国、EUなど諸外国における加工影響評価試験とその結果利用法に関する指針等を収集した。農産物の調理加工による影響評価に関するデータの一部を整理するとともに、これらの情報を基に、農産物等の加工による影響調査の試験方法、その結果の暴露量評価への適用方法について検討し、指針案を提案した。

分担研究者 (番号は本報告書の分担課題番号に対応)

- (1)根本 了 国立医薬品食品衛生研究所食品部第1室長
- (2-2)小田中芳次 財団法人残留農薬研究所化学部残留担当部長
- (2-2)飯島和昭 財団法人残留農薬研究所化学部残留第2研究室長
- (3)加藤保博 財団法人残留農薬研究所理事
- (4)永山敏廣 東京都健康安全研究センター食品化学部残留物質研究科長

研究協力者 (番号は本報告書の分担課題番号に対応)

- (1-1)上野英二 愛知県衛生研究所衛生化学部
- (1-2)青柳光敏 北海道立衛生研究所食品薬品部
- (2-1)藤田眞弘、矢島智成、生稲直美 財団法人残留農薬研究所化学部
- (2-2)藤田眞弘、長田拓也、市川千種、浜野浩子 同上

(4) 山田貞二 愛知県衛生研究所化学部

A. 研究目的

食品に残留する農薬等に関するポジティブリスト制度の導入により、畜水産食品に対しても約300農薬の基準値が設定された。同制度導入前までは、限られた一部の農薬に基準値が設定されていたのみであったため、畜水産食品中の残留農薬については、調査実績も少なく、実態の概要を把握できるには至っていない。食の安全を確保するためには、畜水産食品についても残留農薬のより適切なリスク管理を行う必要がある。それには、①畜水産食品中の残留農薬の効率的な試験法を整備すること、②畜水産食品中の残留農薬の実態を把握することが必須である。

そこで、課題1-1として、畜水産食品中の残留農薬の実態を把握することを目的として、厚生労働省より通知されたGC-MSによる一斉試験法を基本の分析法として、市販の畜水産食品

中の残留農薬の実態調査を愛知（愛知県衛生研究所）で実施するほか、初年度は東京（国立医薬品食品衛生研究所）でも調査する。また、課題 1-2 として、畜水産食品に対する残留農薬一斉試験法の高極性農薬への適用拡大を図るため、厚生労働省で検討中の塩酸添加アセトニトリル抽出一斉試験法について、塩酸添加、セライト添加の影響の検討を行うほか、抽出操作等の改良を含め、既存の通知一斉試験法との比較検証を行う。昨年度は畜産品液体試料（乳、卵）を検討した。今年度は固形試料（牛肝臓、筋肉）を検討する。

なお、当初計画では課題 1-2 はなく、また、課題 1-1 は、東京と愛知の 2 箇所 で 3 年間調査する予定であったが、厚生労働省の要請により本年度よりこれを 1 箇所に縮小し、代わりに課題 1-2 を追加することになった。

一方、ポジティブリスト制度の下で畜水産食品に残留基準を定めず、すべての畜水産食品に一律基準が適用される約 200 種の暫定基準設定農薬については畜水産食品に適用できる試験法は整備されていない。このため検査対象とすることが困難な状況にあり、その試験法の開発が急務となっている。そこで、課題 2 は、一律基準が適用される畜水産食品中の残留農薬の GC-MS および LC-MS による一斉試験法を主体とする試験法を 3 年間で検討することを目的とした。課題 2-1 GC-MS について初年度は、GC-MS で測定可能と考えられる 130 種農薬成分（3 種異性体を含む）について、通知の GC-MS による一斉試験法（畜水産物）の適用性を 7 種試料、2 濃度（0.1 mg/kg 及び 0.01 mg/kg）での添加回収率等を基に検討した。約 70 農薬について概ね良好な結果を得たが、一律基準値相当の添加では高めの回収率となる農薬が多く、低濃度域における定量性の改善が必要であった。上記現象は GC-MS 測定におけるマトリックスの影響が主な要因と推察された、H19 年度で低濃度域における定量性を向上させることを目的

として、マトリックス添加標準溶液による検量線の作成及び GC-MS 測定への「PTV（温度プログラム気化）注入法」の適用を検討し、90 農薬成分について改良法の適用性を再調査し、76 成分が分析可能（他に 4 成分は乳、卵、蜂蜜にのみ適用可能）と評価した。これまでに 140 農薬成分が GC-MS（76 成分）と LC-MS（64 成分）一斉分析法で分析可能と判断され、今年度は両法の適用が困難と評価した 40 成分について、QuEChERS 法を検討する。

課題 2-2 LC-MS については、通知の LC-MS による一斉試験法（アセトン・*n*-ヘキサン抽出）は比較的極性の高い農薬の分析には適さないとの初年度結果に基づき、昨年度は、畜水産物に対するアゾキシストロビン等の通知試験法であり、厚生労働省が一斉試験法として検討中の試験法（『新試験法』（アセトニトリル・*n*-ヘキサン抽出法（課題 1-2 の抽出法と同じ）の妥当性をモデル試料（水、農薬を溶かし込んだ牛脂肪、農薬を投与したラットの肝臓）で検証し、7 種の畜水産食品で同試験法の適用性を検討した。85 成分を検討し、64 成分について、当該試験法が適用可能と評価された。今年度は標準品の入手がこれまでできなかった成分、または GC-MS 測定の適用を想定して LC-MS 測定が未検証であった 11 成分について、新試験法案の追加検証をした。

農産物中の農薬の残留基準は、使用基準(案)または cGAP(案)に基づいて使用した場合の最大残留量を推定するために実施される作物残留試験の結果に基づいて、食品からの長期的な総摂取量が ADI の 80%を超えないように設定されるが、農薬の使用法（とそれを反映した使用基準）は規制の状況などによって変わる。また、農薬開発の過程で当初予定した使用法の修正が不可避となる場合もあり、既存の作物残留試験の試験条件と最新の使用基準または申請される使用範囲の間にずれが生じてくることがある。また、基準値設定には海外の残留基準や作

物残留試験も参照される。わが国には試験法のガイドラインはあるが、試験条件の評価法など基準値設定の目的で作物残留試験の妥当性を判断する基準等が明文化されたものはない。そこで、課題3では、残留基準設定の検証法として、残留基準値設定の参考とする作物残留試験の妥当性評価の基準を指針等に纏めることを目的とする。

一方、農産物からの残留農薬の暴露量評価法については、平成10年8月に食品衛生調査会から出された『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』があり、その中で日本型推定一日摂取量方式として、①作物残留試験における残留量の平均値等の採用のほか、②非可食部の除去、③加工調理による残留への影響を考慮することが明示されている。ポジティブリスト制度導入に伴う基準値の再評価に際し、暴露量算定に加工の要因を含めることの重要性が増しているが、基準値設定に参照できる加工試験法や試験結果の暴露評価への適用の方法については明確ではない。また、調理加工による残留農薬への影響を示す係数の定義が、海外および国際機関(Codex, JMPR, OECD)におけるものと異なっているという問題も含んでいる(『加工調理係数』と『Processing Factor』)。そこで、課題4では残留基準設定データの精密化として、残留基準設定の際の暴露量評価に農産物の加工の影響を含めることを可能にするため、および残留基準が設定されていない加工食品の検査に役立てるため、試験方法とその結果の暴露評価への適用法を指針案に取り纏めるとともに、加工に関する既存のデータを収集し、整理する。

B. 研究方法

課題1-1 畜水産食品中残留農薬の実態調査：

愛知県内の小売店で購入した国産及び輸入品筋肉28検体(牛8検体、豚17検体、鶏2検体、羊肉1検体)、牛乳6検体、卵(鶏卵4検体、鵜卵2

検体)、魚類10検体(国産5検体)、貝類10検体(国産しじみ、国産あさり、輸入はまぐり)、甲殻類4検体(輸入品)の合計62検体を対象にして、畜水産食品に残留基準値が設定されている農薬を主体に302農薬を分析した。厚生労働省から通知されたGC-MSによる一斉試験法に準じて試験溶液を調製し、EIモードGC-MS及びESIモードLC-MS/MSで定量した。

また、必要に応じNCIモードGC-MS、デュアルカラムGC-NPD/FPD、デュアルカラムGC- μ ECD/ μ ECD及びポストカラム反応HPLC/FL等により確認/定量した。GC- μ ECD用試験溶液は既報(上野ら：食品衛生学雑誌45、212-217(2004))に従って、試験溶液をフロリジルミニカラムで精製して調製した。定量下限(LOQ)は概ね1 ng/g、検出限界(LOD)は0.3 ng/gであった。LOD未満を不検出(nd)とし、LOD以上、LOQ未満を痕跡量(tr)とした。

課題1-2 公定試験法の検証：

東京都内の小売店で購入した牛筋肉及び牛肝臓を試料とし、約170農薬(177成分)を検証対象にした。操作①～④の条件を変えた、下表のExp.1～4を設定し、添加回収試験を実施した。

操作	Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4
①	0.01 mol/L塩酸 10 mL	0.01 mol/L塩酸 10 mL	水 10 mL	水 10 mL
②	セライト 2 g	セライト 無添加	セライト 無添加	セライト 無添加
③	0.01 mol/L塩酸 5 mL	0.01 mol/L塩酸 5 mL	水 5 mL	水 5 mL
④	無添加	無添加	0.1 mol/L塩酸 0.3 mL	無添加

検体10.0 gを遠心管に採り、添加試料には1 mg/mLの添加回収試験用混合標準溶液(メタノール溶液)1.0 mL(添加濃度：0.1 ppm)を添加し、30分間放置した。0.01 mol/L塩酸10 mL(又は水10 mL)を加えて[操作①]ホモジナイズしたのち、アセトニトリル50 mL、*n*-ヘキサン25 mL及びセライト2 gを加え(又はセライト無添加で)[操作②]更にホモジナイズ

し、吸引ろ過した。アセトニトリル層を 100 mL 有栓メスシリンダーに分取した。セライト上の残留物及び *n*-ヘキサン層を遠心管に戻し 0.01 mol/L 塩酸 5 mL (又は水 5 mL) を加え [操作③]、アセトニトリル 25 mL を加えてホモジナイズしたのち、吸引ろ過し、アセトニトリル層を上記の 100 mL 有栓メスシリンダーに合わせた。これにアセトニトリルを加えて 100 mL に定容した。この抽出液 20 mL を分液ロートに採り (無添加又は 0.1 mol/L 塩酸 0.3 mL を添加し [操作④])、塩化ナトリウム 3 g を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜたのち、静置し、分離した水層を除いた。アセトニトリル層を C18 ミニカラムに注入し、次いでアセトニトリル 2 mL を注入し、負荷液、洗液を含むカラムからの全溶出液を採り、40°C 以下で溶媒を除去した。この残留物にアセトン・*n*-ヘキサン (1:1) 2 mL を加えて溶解した。

上記で得られた抽出溶液を PSA ミニカラムに注入したのち、容器をアセトン・*n*-ヘキサン (1:1) 1 mL で洗い、洗液を先のカラムに注入する操作を 3 回繰り返したのち、カラムにアセトン・*n*-ヘキサン (1:1) 17 mL を注入し、負荷液、洗液を含むカラムからの全溶出液を分取した (第 1 画分)。次いで容器をギ酸・メタノール (1:49) 1 mL で洗い、洗液を先のカラムに注入する操作を 3 回繰り返したのち、ギ酸・メタノール (1:49) 7 mL をカラムに注入し溶出液を分取した (第 2 画分)。これらの溶出液をそれぞれ 40°C 以下で濃縮し溶媒を除去し、残留物をメタノール 2 mL で溶解し、これを試験溶液とした。LC-MS/MS に試験溶液を注入し定性・定量を行った。メタノールで調製した検量線用標準溶液を用いて定量した。定量はピーク面積で行い、検量線から濃度を求め、各画分の回収率及び合計の回収率を求めた。

課題 2. 一律基準適用畜水産食品中残留農薬分析法:

2-1 GC-MS: 今年度は QuEChERS 法を畜水

産物分析に最適化するため、抽出時に脂肪分を可溶化させる *n*-ヘキサン混和法、ならびに抽出液中の脂肪分を除去する凍結沈殿法⁹⁾の有用性を、脂肪及び牛乳試料を用いて検討した。そして、予備検討結果に基づいて QuEChERS 法を畜水産物試料用に最適化し、その改良法について妥当性評価ガイドライン¹⁰⁾に準じて、各分析対象成分の 10 種畜水産物試料における適用性を評価した。検討対象としたのは 43 農薬成分であり、これら全てについて、GC-MS ならびに LC-MS/MS の両測定法について検討した。その際、GC-MS 測定については、前年度の研究成果である改良測定法 (マトリックス調製標準溶液による検量線、及び PTV (温度プログラム気化注入法)) を適用した。また、LC-MS 測定では、濃縮工程の省略に伴う検出感度の補完、及び精製工程の簡略化に伴う夾雑成分の影響回避を意図して、高感度で選択性の高い測定が可能な LC-MS/MS を使用した。

2-2 LC-MS: 以下の a-c の条件により選別された 14 成分を検対象成分とした。その内、アザフェニジン、アミノエトキシビニルグリシンおよびポリオキシシン D については、標準品が入手出来なかったため、最終的な分析対象は 11 成分。

- 畜水産物に暫定基準値が設定されていない農薬で一斉試験法¹¹⁾の適用性が未検証の 197 種の内、既存情報から LC 測定の適用事例があるものと、測定方法が確認出来なかった成分 (121 種農薬)。
- a の内、前年度までに未検討の成分。
- 前年度までの検討において、GC-MS 測定の適用を想定して LC-MS 測定では未検証で、その物理的・化学的性質から LC-MS 測定の適用が可能であると考えられる成分。

はじめに、分析対象成分について LC-MS スペクトルを採取し、測定に関する適性を評価し、次いで、コントロール試料 (畜水産物試料を含まない水試料) を用いた添加回収率を確認した後、昨年度と同様にして、各分析対象成分について、検量線、7 種畜水産物試料 (牛の筋肉、

牛の脂肪、牛の肝臓、うなぎ、えび、牛乳、鶏卵)での妥当性評価及びマトリックスの影響に関するデータを採取し、分析対象成分の新規一斉試験法案の適用性を検証した。

課題3 農産物における残留基準設定の検証法及び、課題4 農産物残留基準設定の精密化:

関係機関のホームページ等から得た公開資料を使用した。

C. 研究結果及び考察

課題 1-1 畜水産食品中における残留農薬の実態:

平成 19 年度の検討において、貝類より複数の農薬が検出されたことから、20 年度は貝類の検査数を増やして調査を行った。実態調査結果を農薬別にまとめた結果を表 3 に、食品別にまとめた結果を表 4 に示した。また、各農薬の定量限界 (LOQ) は概ね 1 ng/g であったので、検出限界 (LOD = 0.3 ng/g) 未満を不検出とし、LOD 以上 LOQ 未満を痕跡量 (tr) とした。

筋肉 28 検体 (牛 8 検体、豚 17 検体、鶏 2 検体、羊 1 検体)、牛乳 4 検体、卵 6 検体 (鶏卵 4 検体、鶉卵 2 検体) 及び魚介類 24 検体 (魚類 10 検体、甲殻類 4 検体、貝類 10 検体) の合計 62 検体について、302 農薬の分析を行った。

その結果、BHC 類 (γ -BHC 及び δ -BHC)、DDT 類 (p,p' DDD、 p,p' DDE 及び p,p' DDT)、イソプロチオラン、オキサジアゾン、ダイアジノンなど 32 種類の農薬が tr~9 ng/g 検出された。

農薬別に見ると、BHC 類が最も高頻度で検出され、8 検体から 1~3 ng/g 検出された。異性体別では、 γ -BHC が 8 検体すべてから検出され、牛肉 1 検体からは δ -BHC も検出された。BHC 類が検出された 8 検体のうち 6 検体は牛、豚及び羊の筋肉からであり、畜産食品からの検出割合が高かった。

DDT 類は 5 検体から 2~9 ng/g 検出された。異性体別では、 p,p' DDE が 5 検体すべてから 2~9 ng/g 検出され、DDT 類の主たる残留は

p,p' DDE であった。

イソプロチオラン及びオキサジアゾンについては、ともに貝類から検出され、両農薬とも調査した 10 検体の半数にあたる 5 検体から、それぞれ tr~6 ng/g 及び tr~4 ng/g 検出された。

ダイアジノンは、国産の貝類 (しじみ) 3 検体及び甲殻類 (えび) 1 検体から 1~4 ng/g 検出された。

食品別に見ると、畜産食品では、牛、鶏、豚及び羊の筋肉から BHC 類、DDT 類、ビフェントリン及びシラフルオフェンが 1~9 ng/g 検出された。牛肉は 8 検体中 4 検体、豚肉は 17 検体中 1 検体、鶏肉は 2 検体中 1 検体、羊肉は 1 検体中 1 検体からこれらのいずれかの農薬が検出された。今回調査した、牛乳 (4 検体)、鶏卵 (4 検体)、鶉卵 (2 検体) からはいずれも農薬は検出されなかった。

魚介類のうち、魚類では 10 検体中 6 検体 (あゆ 1 検体、かじき 1 検体、さけ 3 検体及びびら 1 検体) から、DDT 類、BHC 類、エンドスルファン類及びクロルデン類が tr~6 ng/g 検出された。また、甲殻類ではえび 4 検体中 1 検体からダイアジノンが 1 ng/g 検出された。

貝類では、調査した 10 検体のうちしじみ 4 検体及びはまぐり 2 検体から農薬が検出されたが、あさり (3 検体) からは農薬は検出されなかった。はまぐり 2 検体からは、オキサジアゾンなど 4 種類の農薬が tr~4 ng/g 検出された。しじみでは、2 検体から 5 農薬、1 検体から 6 農薬及び 16 農薬と、19 年度と同様多くの種類の農薬が検出 (tr~6 ng/g) された。検出された農薬も 19 年度とほぼ同様であり、殺虫剤及び殺菌剤用途の農薬が多かった。

今回の調査結果は、19 年度とほぼ同様の傾向を示し、畜産食品と魚類については、BHC 類及び DDT 類などのように共通した農薬が検出され、1 つの検体から多種類の農薬が検出される事例は見られなかったのに対し、貝類の中で、特にしじみからは 1 検体から多種類の農薬が検出された。しじみから検出された農薬は、環境

を經由して蓄積されたものと考えられることから、周辺地域での農薬使用実態が反映されているものと推測される。畜水産物の中には、しじみのように周辺環境の影響を受けやすい食品もあるため、畜水産食品中の農薬の残留実態把握のために、更にデータの蓄積と継続的な調査が必要と思われる。

課題 1-2 公定試験法の検証:

PSA カラムからの農薬の溶出画分について: 表 3 の試料マトリックスの影響の検討結果に各農薬の PSA カラムからの溶出画分を示した。用いた条件では検討した 179 の分析対象化合物のうち 113 化合物が第 1 画分に、51 化合物が第 2 画分に溶出された。クレトジム、クレトジムスルホン、シロマジン、セトキシジム、5-ヒドロキシチアベンダゾール、テプラロキシジム、ピメトロジン、CDHB、フェンヘキサミド、プトロキシジム、メトリブジン DK 及びメトリブジン DADK の 12 化合物については、第 1 画分及び第 2 画分の両画分に溶出された。両画分に溶出された化合物については、カラムのロット間のばらつきにより溶出する画分が変動する可能性があるため、測定値や定量限界を正確に求めることが困難になる場合がある。なお、チフェンスルフロン、ピリデート及びエテホンの 3 化合物については、標準品を用いた PSA カラムからの溶出試験においても、用いた条件では回収されないかほとんど回収されなかったため溶出画分を特定できなかった。

試料マトリックスの影響について: 測定に対する試料マトリックスの影響を検討するために、溶媒 STD に対するマトリックス STD の面積比を求め各実験条件間で比較した。

第 1 画分に溶出する農薬では、スピノシン A やスピノシン B など一部の農薬では、面積比が 1 より小さくなり、イオン化抑制が観察されたものの、大部分の農薬では測定に対する試料マトリックスの影響はほとんど見られなかった。

低回収率であった農薬についても面積比はほぼ 1 で、試料マトリックスの影響はほとんど見られなかったことから、これらの農薬の低回収率の原因はイオン化抑制などの測定上の問題ではないと思われる。

第 2 画分に溶出する農薬については、第 1 画分に溶出する農薬の場合よりも、イオン化抑制などの測定に対する試料マトリックスの影響が全体的に多く見られた。脂肪酸など PSA カラムに保持されていたマトリックスの多くが第 2 画分に溶出されるため、第 1 画分よりも試験溶液中の試料マトリックス量が多いためと思われる。特に低回収率となった農薬でイオン化抑制が多く観察されたことから、低回収率の原因として試料マトリックスによるイオン化抑制が考えられた。しかし、低回収率であったイマザピル、キンクロラク、ピクロラム、ピンドン、フルメツラム及び 2,4,6-トリクロロフェノールなどでは、低回収率の原因をイオン化抑制のみでは説明できなかった。また、フェノキサプロップでは、抽出時に塩酸無添加の場合 (Exp.3 及び Exp.4) にイオン化抑制が強く観察されたが、多くは実験条件の違いによる試料マトリックスの影響に差はあまりみられなかった。トリベヌロンメチルについては、面積比が 1 より大きくなり、試料マトリックスによるシグナルの増強が見られた。

更に、第 2 画分に溶出する農薬を第 1 画分のブランク試料の試験溶液で調製した場合に、ピクロラムが牛肝臓中でややイオン化抑制が見られた以外は、測定に対する試料マトリックスの影響は見られなかった。一方、第 1 画分に溶出する農薬を第 2 画分のブランク試料の試験溶液で調製した場合には、回収率が良好であった農薬も含め、多くの農薬でイオン化抑制が観察された。そのため、第 1 画分と第 2 画分を合わせて一つの試験溶液として測定することは適切でなく、別々に測定する必要がある。そのため、

抽出時のセライト添加の影響について: ホモジ

ナイズ抽出時のセライト添加の影響について検討するために、Exp.1とExp.2の結果を比較した。牛乳及び鶏卵の時と同様に、牛筋肉及び牛肝臓においても、Exp.1及びExp.2で回収率に特に差は認められなかった。ホモジナイズ抽出に平成19年度はブレンダーカップを用いたが、平成20年度は高速ホモジナイザー（ポリトロン）を使用した。ポリトロンを用いた場合には、ろ過前の抽出液が灰色になったが、これはセライトの粉砕物あるいはポリトロンの刃の研磨物と思われた。ホモジナイズ抽出時にセライトを添加する事で、ホモジナイズが容易になるなどの効果は特に認められず、むしろポリトロンの刃の損傷が生じることから、抽出時にセライトを添加する必要性は認められなかった。

従って、平成19年度の検討と同様に、抽出時にセライトを添加する必要性は認められなかったことから、Exp.3及びExp.4はホモジナイズ抽出にセライトを添加しないで実施した。

抽出時の塩酸添加の影響について

1) 抽出時のpHに対する影響：抽出時の塩酸添加の効果を検証するために、各実験条件における、アセトニトリル抽出液の塩析後に分離した水層のpHを測定した（表2）。

抽出時に塩酸を添加したExp.1及びExp.2と塩酸を添加しなかったExp.4におけるpHを比較した。牛筋肉では、Exp.1、Exp.2及びExp.4のpHはそれぞれ4.5、4.5及び4.8であり大きな差は見られなかった。同様に、牛肝臓では、Exp.1、Exp.2及びExp.4のpHはいずれも5.0であり、差が見られなかった。

この結果から、牛乳及び鶏卵の場合と同様に、抽出時に0.01 mol/L塩酸を加えても、抽出中に消費されてしまい、抽出時のpHはほとんど変化しないことがわかった。抽出時のpHを酸性に保つためにはより高濃度の塩酸の添加が必要と思われた。

2) 添加回収率に対する影響：抽出時の塩酸添加の添加回収率に対する影響を評価するために、

塩酸添加の有無以外は同じ操作を行ったExp.2とExp.4の結果を比較した。

イプロジオン、フェノキサプロップ及びフルメツラムが牛筋肉で、トリクロロンが牛肝臓で、抽出時に塩酸を添加したExp.2の方が高回収率であった。また、チオファネートメチル及びメビンホス（E）が牛筋肉で、2,4,6-トリクロロフェノール（プロクロラズ代謝物）が牛肝臓で、抽出時に塩酸を添加したExp.2の方が低回収率であった。これら以外の農薬の回収率には、塩酸添加の影響は特に見られなかった。

2,4-D、2,4-DB、MCPA、MCPB、イマゼタピル、トリクロピル、メコプロップ及び2,4,5-Tはカルボキシル基を有する酸性農薬であり、抽出時の液性を酸性にした場合に特に影響が大きいと思われる農薬であるが、これらの農薬は塩酸添加の有無にかかわらず牛筋肉及び牛肝臓において同様に良好な回収率が得られ、塩酸添加の効果は見られなかった。これは、牛筋肉及び牛肝臓ともに、塩酸無添加の場合でも抽出時の液性が約pH 5と弱酸性であり、そのため有機層に抽出可能であったものと思われる。同様に、4-クロロフェノキシ酢酸、イマザピック、イマザピル、イマザモックス、クロフェンセット及びフルルキシピルも、カルボキシル基を有する酸性農薬であるが、これらの農薬は牛筋肉及び牛肝臓ともにやや低回収率であった。しかし、塩酸添加による回収率の改善は認められず、この原因としては、塩酸濃度が不十分なため抽出時のpHがほとんど変化しなかったためと思われる。これらの農薬の回収率を改善するためには、より高濃度の酸の添加が必要と思われた。

第1画分に溶出された、キザロホップエチル、キザロホップ・P-テフリル、クロキントセットメキシル、クロジナホッププロパルギル、テプラロキシジウム代謝物1（DMP）、ナフトロホス、フェノキサプロップエチル、フラチオカルブ、フルアジホップブチル、フルミクロラックペンチル、メビンホス（E）及びメビンホス（Z）及び第2画分に溶出されたプロディファコウムは、

牛筋肉では良好な回収率が得られていたが、牛肝臓で低回収率であった。低回収率の原因としては、牛肝臓中の酵素による分解が考えられた。酵素による分解の場合、液性を酸性にする事により酵素が失活し、回収率が改善されることが期待される。しかし、今回の塩酸添加条件では、いずれも回収率の改善は認められなかった。これは、抽出時の pH がほとんど変化していなかったことから明らかのように、用いた塩酸濃度では不十分なためであり、より高濃度の塩酸を用いて検討する必要があると思われた。

以上の結果から、抽出時の塩酸添加の回収率に対する影響はみられなかったことから、抽出時に 0.01 mol/L 塩酸を添加する必要性は低いと考えられた。カルボキシル基を有するような酸性農薬の回収率の改善あるいは肝臓試料における酵素失活を期待するためには、より高濃度の酸の添加が必要と考えられる。しかし、その場合には、酸性条件における他の農薬の安定性等の検証が必要と思われる。そのため、通常は酸を添加しないで抽出を行い、酸性農薬を対象とする場合などには、別途酸を添加する方法を用いるのが適切であると思われる。

3) 水層分離の際の塩酸添加の影響：水層分離の際に、水層を酸性にすることにより、酸性農薬のアセトニトリル層への移行が促進されることが期待される。そのため、抽出時に添加した濃度と同じ 0.01 mol/L 塩酸を水層分離の際に水層に添加した場合 (Exp.3) と添加しなかった場合 (Exp. 4) の結果を比較した。抽出時に塩酸を添加せず、塩析時に塩酸を添加した Exp.3 では、牛筋肉及び牛肝臓の pH はそれぞれ 4.0 及び 3.6 であり、他の実験条件の場合よりもやや低い pH であったが大きな差は見られなかった。牛筋肉では、4-クロルフェノキシ酢酸及びピンドンで、牛肝臓では、4-クロルフェノキシ酢酸、イマザピック、イマザピル、イマザモックス及びキンクロラックで Exp. 3 の回収率の方が高くなり、一部の農薬で塩酸添加の

効果がみられた。しかし、イマザピル、イマザモックス及びキンクロラックは、牛筋肉では回収率の改善は見られず、効果は限定的であった。従って、塩析による水層分離の際に酸性農薬を回収するためには、より高濃度の酸の添加が必要と思われた。

鶏卵と牛乳を試料とし、約 170 農薬について、抽出時のセライト添加の影響および塩酸添加の影響を検証した。

抽出時のセライト添加の影響について Exp1 と 2 を比べて検討したところ、セライト添加による添加回収率に対する影響は認められなかった。操作性に関してもセライトを加える事による利点は認められず、抽出時にセライトを加える必要性はないと評価された。2) 抽出時の塩酸添加の影響について検討するため、塩析後の水層の pH を測定した結果、抽出時に 0.01 mol/L 塩酸を加えても、試料の pH はほとんど変化しなかった。添加回収率に関しても、大部分の農薬では塩酸添加の効果は認められず、カルボキシル基を有する農薬に対する改善効果も認められなかった。3) 塩析による水層分離の際に塩酸を添加した場合には、2,4-D や 4-クロルフェノキシ酢酸など溶液中で酸性を示す農薬の回収率が改善された。特に鶏卵では、塩酸を添加しない場合、水層はアルカリ性であったが、塩酸添加により酸性となったために、回収率が大きく改善された。これらのことより、カルボキシル基を有するような酸性を示す農薬の回収率を改善するためには、塩析による水層分離の際の pH を酸性にする必要があり、特にアルカリ性を示す食品では、液性を適切に調整する必要があると考えられた。

課題 2 畜水産食品中残留農薬分析法の開発：

2-1 QuEChERS 法の検討：

1) LC-MS/MS 測定：検量線の直線性及び最小検出濃度の検出状況を評価した結果、LC-MS/MS 測定において注意が必要と思われる分析対象成分については、その旨注釈を記し

た。妥当性評価の結果、LC-MS/MS 測定での当該分析法の適用が可能と判断した分析対象は 11 成分であった。その内、イソキサチオン、シアナジン、デメトン-Sメチル、ピロキロン及びメタアルデヒドの 5 成分は、本年度新たに LC-MS/MS を用いた分析法の適用性を評価した分析対象成分であった。そして、アリドクロール、スルフエントラゾン、ドジン、フルアジナム及びプロパモカルブの 5 成分は、従前の LC-MS での妥当性評価では回収損失 (B-2, C) が認められた分析対象成分であった。ベンゾピシクロンは、従前の LC-MS での検討では、測定困難と評価した分析対象成分であった。

従前の検討においては、検出感度が弱いまたはイオン化不良等により LC-MS 測定困難と判断した 10 種分析対象成分の内、アラニカルブ、シラフルオフエン、チフェンスルフロメチル、トリルフルアニド、フルスルファミド、ベンゾピシクロン、トリルフルアニド及びリムスルフロンの 6 成分は、LC-MS/MS の使用により 0.01 mg/kg 相当での回収率評価が可能となった。2,6-ジフルオロ安息香酸、ジベレリン及びヒメキサゾールの 3 成分は、今回の LC-MS/MS 操作条件においても測定困難であった。

2.) GC-MS 測定：検量線の直線性及び最小検出濃度の検出状況を評価した結果、GC-MS 測定において注意が必要と思われる分析対象成分については、その旨の注釈を記した。妥当性評価の結果、GC-MS 測定での当該分析法の適用が可能と判断した分析対象は、アリドクロール、シアナジン、スルフエントラゾン、デメトン-Sメチル、ピロキロン及びジクロベニルの 6 成分であった。それらは、従前の GC-MS での妥当性評価では回収損失 (B-2) が認められた成分であった (GC-MS 未検証であったスルフエントラゾンを除く)。従って、今回の GC-MS 測定の検証において分析法の適用が可能となった分析対象成分の多くは、QuEChERS 法の一部改良法の適用により回収損失が改善されたものと

推察された。

3) 回収率の総合評価：LC-MS/MS 及び GC-MS のいずれかで測定可能と判断した分析対象は 32 成分であった。その内、QuEChERS 法の一部改良法の適用が可能と判断した分析対象は 12 成分であった。これらの分析対象成分の多くは、従前の分析法の検討時では回収損失 (B-2, C) が認められた成分であったことから、精製工程の簡略化及び濃縮工程の省略による改善効果が認められたものと考えられた。また、LC-MS/MS の適用による測定感度及び選択性の向上が寄与した改善効果も認められた。

QuEChERS 法の一部改良法の適用が可能と判断した分析対象成分の内、比較的蒸気圧の高い (>1 mPa) アリドクロール、デメトン-Sメチル、ピロキロン、プロパモカルブ、メタアルデヒドについては、濃縮工程の省略が回収率の向上に寄与したものと推察された。また、厚生労働省の通知個別試験法⁸⁾においては、加水分解を抑制するため抽出時にリン酸添加が規定されているベンゾピシクロンについては、QuEChERS 法の迅速性が回収率の向上に寄与したものと推察された。また、QuEChERS 法の一部改良法の適用が困難と判断した分析対象成分の内、比較的極性のシラフルオフエン (log Pow=9.0) については、抽出時工程で廃棄した n-ヘキサン層への回収損失が疑われた。

当該分析法の妥当性はガイドラインに準じて、0.01 mg/kg 添加試料の平均回収率の中央値で評価したが、GC-MS 測定におけるトリネキサパックエチルについては、高濃度添加試料での平均回収率の中央値が 49%であったことから、分析法の適用は困難と判断した。一律基準値相当の低濃度域においては、分析対象成分の測定感度に余裕が無い場合が多く、試料夾雑成分に由来するバックグラウンドノイズの影響を受け易いことから、高濃度添加試料での回収率評価を併行実施することにより、より信頼性の高い妥当性評価が行なえるものと考えられた。

以上のように、従前の検討において厚生労働省の通知一斉法（一部改良含む）の適用が困難であった農薬成分の分析法の構築を検討し、分析対象 40 成分の内、QuEChERS 法の一部改良法の適用が可能と判断できたのは 12 成分であった。

2-2 LC-MSによる一斉分析：

1) LC-MS 測定：0.1mg/kg 添加の回収率を算出するために作成した検量線（0.75～0.125 ng）は、全 7 測定（7 種検対象試料の各測定時に作成した検量線）において良好（ $r^2 > 0.995$ ）な直線性を示した。0.01mg/kg 添加の回収率を算出する為に必要な最小検出量（0.025 ng）は、分析法の評価対象 7 成分について、全ての検対象試料の測定時において検出可能であった。但し、溶媒調製標準溶液から得られたクロマトグラムについての視認に基づく判断であり、実測した S/N 比からの算定値に基づくものではない。

コントロール試料の分析による確認においては、カスガマイシンの試薬ブランクのクロマトグラム上に測定障害となる夾雑物ピークが存在し、回収率を求めることが出来ず、以降の分析対象成分から除外した。

2) 回収率の評価：分析法の適用性を判断する基準として、中央値が 70～120%の範囲内にあり、且つ 7 種試料の内 4 例以上の平均回収率が 70～120%の範囲内にあることを適合条件とした場合、0.1 mg/kg 及び 0.01 mg/kg 添加のいずれにおいても良好と評価されたのはキノクラミン、シクロキシジム、ベンゾフェナップおよびアイオキシニルの 4 成分であった。

3.) マトリックス効果の評価：7 種試料のマトリックスと各分析対象成分の組み合わせにおけるマトリックス効果の評価したところ、ジフルフェンゾピル及びフルカルバゾンナトリウム塩において顕著な影響が認められた。同一分析

対象成分であっても、検対象試料の相違により相反する効果（ピーク面積の抑制、ion suppression あるいはピーク面積の増強、ion enhancement）が認められたことから、各試料固有の夾雑成分の影響が推察された。ジフルフェンゾピル及びフルカルバゾンナトリウム塩は、PSA 精製の第 2 画分に溶出する成分であるが、前年度の検討においても当該画分に溶出する分析対象成分について同様にマトリックス効果が顕著な傾向が認められていた。

以上のように、必要な感度及び分離能が得られ、LC-MS 測定が可能であった分析対象は 8 成分であった。そして、コントロール試料での回収率が良好であった分析対象は 7 成分であった。7 種の畜水産物試料（牛の筋肉、脂肪、肝臓、えび、うなぎ、牛乳、鶏卵）について、定量限界相当濃度（0.01 mg/kg）での当該試験法が適用可能であると判断された分析対象は 4 成分（キノクラミン、シクロキシジム、ベンゾフェナップ、及びアイオキシニル）であった。

課題 3 農産物における残留基準設定の検証法：

国際機関（FAO/JMPR, OECD）、米国、EU、豪州の作物残留試験の基準、残留基準設定に関する情報を収集、整理し、基準値設定に参照する作物残留試験を評価する際のマニュアルに纏めた。

食品中の残留基準は、農薬を使用基準（GAP）の範囲内で適切に使用した場合には残留量が残留基準値を超えることなく、また、その農薬で処理された農産物の接食による摂取量が ADI の 80%を超えることがないように設定されなければならない。一方でまた、不適切な使用をした場合には、その残留量が基準値を超える蓋然性が高くなるように、設定されることが公衆衛生上不可欠である。適切な使用方法による最大残留量とは、登録される使用方法内で、最大残留量を生じる条件で実施された何例かの作物残

留性試験が基になる。残留量(濃度)は、気象環境、品種の違い(形態や大きさ)、栽培条件の違い(露地栽培、温室栽培か、仕立て方)などによる影響を受けるため、限られた例数の試験からその最大の残留量を推定するには、これらによる変動と分析値の不確実性を考慮して、実際に観測された最大値にそれら要因によるアローアンスを含めて推定する。作物残留試験は、天候等により計画通りに散布や採取することが困難となることもあるため、GAPから逸脱した試験となることもありうる。このため、一定の許容幅を設けることが適当である。その幅は一定の留保条件つきで、米国、EU、豪州、OECDなどにおける作物残留試験条件のGAPからの逸脱許容範囲と同じ、GAP±25%が適当とされた。その他、残留基準設定に参照する国内および海外の作物残留試験と基準値のチェックポイントをリストアップした。

課題4 農産物中残留基準設定の精密化：

加工処理試験指針の検討

1) 諸外国の加工に関する試験法と結果の利用法に関する指針等：平成19年度に引き続き、諸外国(Codex, OECD, EU, 米国, オーストラリア, ドイツ)における加工影響評価試験に関する指針等を収集し、これまでに収集した指針等について翻訳した。解析の結果、以下の結論を得た。

a. 調理加工後の農産物にかかわる暴露評価について：

(1) 多くの生鮮品は調理加工されて喫食されるが、農薬の摂取を考える上で、可食部における残留、加熱時における農薬の残存などが重要な要因となる。

(2) 加工食品に残存する農薬量を判断するための試験手法について、FAOマニュアル、あるいは米国EPA、欧州EU、オーストラリア及びOECDによるガイドラインが作成されている。これらに示されている手法に大きな違いは見られず、基本的に、以下の内容となっている。

① 加工係数(PF)は次の計算式により算出す

る。

$$\text{加工係数(PF)} = \frac{\text{加工製品中の残存濃度 [mg/kg]}}{\text{原材料中の残留濃度 [mg/kg]}}$$

② 加工処理試験は、可能な限り実際に行われている加工工程に従って実施する。

③ PFは、一般的に、加工処理ごとに2試験を行い、その平均値を採る。

④ 同一製品タイプで、同一の加工工程を経る製品では、一つの製品の試験結果を他の製品に外挿できる。

⑤ 加工食品の基準設定については、各国の方針が多様であり、今のところ一つの方針にまとめることは困難である。

b. 作物あるいは農薬ごとのPF

作物として、トマト、いちご、オレンジ、大豆及び小麦について比較した。PFが1を超える製品は、トマトペースト、トマトピューレ、トマト乾燥品、オレンジオイル、オレンジ果皮、小麦ふすまなどで多く見られた。オレンジオイルではPFが100を超える例も認められた。

農薬としては、イミダクロプリド、カルバリル、キャプタン、クロルピリホス、シペルメトリンについて比較した。綿実油、とうもろこし油やかんきつオイル、トマトペーストやピューレ、レーズン、小麦ふすまなどの製品でPFが1を超える事例が多く見られた。

c. PowとPFの関係

トマト、小麦及び菜種について検討を加えた。搾汁工程のあるトマト加工品では、log.Powが3未満の農薬の方がPFが大きく、部位による違いが大きく現れる小麦加工品では、log.Powが3以上の農薬の方がPFが大きい傾向が観察された。油を利用する菜種では、log.Powが3以上の農薬の方がPFが大きい傾向が比較的明確に示された。

d. PFの活用

PFは、原材料に対する製品中の濃度比であり、製品中の濃度をPFで除することにより原材料の濃度を導くことができる。今後、我が国の食

生活を踏まえた調理加工に基づく PF を設定することにより、農薬暴露量の把握や加工食品の安全性評価、基準遵守の判断に活用できる。

e. 今後の課題

我が国における主な加工品の PF を規定することのほか、農薬の加熱に伴う分解生成物についての把握が望まれる。今後、試験手法の条件を規定し、農薬の加熱分解及びその分解物に関するデータを農薬の基本的性質の一つとして農薬登録時の要件に組み入れることも考慮する必要があると考える。

2) これまでの本研究による検討を踏まえ、以下の指針案 (概要) を構築した。

(1) 目的

加工処理試験の目的として、

- ・食事からの農薬摂取量の精密化
- ・加工係数 (PF) の規定
- ・分解・反応生成物の把握

がある。その他、必要に応じて加工品の残留許容量の設定のための資料に利用することもできる。

(2) 試験条件

①対象農産物

米、小麦、大豆、ばれいしょ、だいこん類(根)、たまねぎ、みかん、りんご、かきなど国民健康・栄養調査に基づく摂取量の多い農産物及び厚生労働省がまとめている農産物中の残留農薬検査結果等において農薬残留濃度が高い農産物。ただし、検査全例で農薬残留濃度が定量限界値未満 (LOQ) の農産物を除く。

②対象農薬

厚生労働省がまとめている農産物中の残留農薬検査結果に基づき、当該農産物から検出事例の多い農薬及び残留濃度の高い農薬並びに基準設定に伴う暴露評価の際に推定一日摂取量 (EDI) 推定が必要となると予想される農薬 (新規登録農薬を含む)。

(3) 供試作物の調製

農薬使用歴が明らかで、かつ、農薬が適正に

使用され、十分に残留量が確保された圃場で生産された作物を用いる。

残留農薬量は、2 試料以上分析して求める。原材料には、残留量が 0.1mg/kg または使用する試験法における定量限界値 (LOQ) の 10 倍以上である作物を用いることが望ましい。

なお、適正使用による残留量が LOQ の 2 倍以下の場合、薬量を過剰に使用するなどの措置を行い、十分な残留量を確保して差し支えない。

(4) 加工方法

実際に行われている調理加工手順にできる限り近似した方法。家庭における加工方法、及び産業的な製造方法に倣った加工手順を用いる。

必要に応じて、加工工程の適切な時点で中間試料を採取する。各時点における試料は、それぞれの総重量を測定する。

(5) 試験の実施

2 箇所以上の異なる圃場から採取した原材料を用いてそれぞれ加工試験を実施する。原則として、農作物と加工工程の組み合わせごとに 2 試行を行うことが必要とされる。

(6) 加工係数 (PF) の算出

以下の式により算出する。

加工係数 (PF)

$$= \frac{\text{加工製品中の残存濃度 [mg/kg]}}{\text{原材料中の残留濃度 [mg/kg]}}$$

2 試行から得られた結果の平均値を算出して、PF 値とする。2 試行の結果の差異が 50% 以上異なるときは、

$$\frac{\text{PF(大きい値)} - \text{PF(小さい値)}}{\text{PF(大きい値)}} \geq 0.5$$

第 3 の試行を実施することが望ましい。3 試行以上実施した場合の PF は、その中央値を採る。製品中の濃度が不検出あるいは LOQ 未満の場合は、「< 定量限界値」とする。このとき、LOQ は最高残存値に相当する。

同一の加工手順を経る製品では、ひとつの製品の試験結果を同手順を経る他の製品に外挿で

きる（例：オレンジからオレンジジュースを製造したときの結果を、その他のかんきつ類を用いてジュースを製造する時に外挿すること）。

(7) 分解・反応生成物の検索

モデル試験を実施する。

（試験条件などについては今後の検討課題である。）

3) 今後の課題

我が国における主な加工品の PF を規定することのほか、農薬の加熱に伴う分解生成物についての把握が必要とされる。

一般的な調理加工方法として、剥皮、粉にする、煮る、炒める、揚げる、漬ける、醗酵するなどの工程がある。これらのうち、剥皮など一部分を分け取る操作で、残存量が大きく減少することがある。一方、煮る、炒める、揚げるなどの加熱を伴う工程に伴う挙動は処理方法により異なり、濃度の増加を呈する場合もある。また、加熱による分解は、農薬残存に影響を及ぼす大きな要因であるとともに、分解生成物の安全性評価も検討を要すると考えられる。食品由来の農薬暴露量を精密に把握してその安全性を評価するためには、我が国で食される主な加工品の PF を確定するとともに、加熱時における農薬の分解産物についても検知する必要がある。

加熱による影響を評価する上で、必要とされるデータの内容、実施すべき試験手法に関する情報のひとつとして、OECD のテストガイドラインが示されている⁹⁾。加熱調理に起因する分解として加水分解が挙げられている。今後、その内容を詳細に検討、解析し、処理温度や時間、液性 (pH) など、試験実施の要件を規定し、既定条件下における農薬の減衰や分解生成物などに関する農薬の挙動を把握することが望まれる。これら農薬の加熱分解に関する情報は、当該農薬の基本的性質として捉えることができるため、農薬登録時の安全性評価の要件に組み入れることも可能であろう。分解生成物が明らかにされることで、農薬が残留した食品の加熱調理後の

製品の喫食による健康影響が、より精密に評価できるようになると考える。

D. 結論

各地のシジミから一律基準を超える農薬が検出されたことを契機として、環境を介して水系から非意図的に魚介類に残留した農薬に残留基準値を設定することについての考え方とその方法が H19 年度本研究で示され、これを受けて魚介類に残留基準値が設定されるようになった。課題 1-1 の 3 年間の市販畜水産食品中の残留農薬実態調査で、高頻度で検出される農薬があること、畜産品と魚類、及び貝類では生息域に応じて残留する農薬が異なることが分かってきた。また、シジミでは水田で使用される複数の農薬に加えて、水稻に適用の無い農薬も検出されており、継続的な実態調査が必要と思われる。

畜産食品に残留基準が設定されておらず一律基準が適用される農薬の約 2/3 は、通知の GC-MS による一斉分析法（畜産品）に昨年報告した改良測定法を組み合わせた方法、及び厚生労働省が検討中の LC-MS による一斉試験法で検査できるとの結果が得られた。これらが適用できないものうち、一部 4 農薬は、QuEChERS 法を適用した GC-MS、LC-MS が適用できることが示された。感度、マトリックス効果の現れ方は試料及び測定機種等によって異なるため、これらの方法を実際に適用する際には個々に検証することが不可欠である。特に、課題 2-2 のアセトニトリル-ヘキサン抽出法による LC-MS 試験法（新試験法案）は、一斉試験法としては厚生労働省で検討中のものであり、課題 1-2 の検証試験において一部のマトリックスで明らかにされたように、必ずしも必要ではない操作が含まれていること、および改善すべき点も含まれていることに留意する必要がある。農産物中の残留農薬に関する課題 4 及び 5 は情報が収集・整理されたほか、指針案等に取り纏められた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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）

Ⅱ. 平成 20 年度分担研究報告書

食品中に残留する農薬等におけるリスク管理手法の精密化に関する研究

1. 畜水産食品中の残留農薬の実態把握及び公定試験法の検証

分担研究者 根本 了
(国立医薬品食品衛生研究所)

食品中に残留する農薬等のリスク管理手法の精密化に関する研究
畜水産食品中の残留農薬の実態把握及び公定試験法の検証

1.1 畜水産食品中の残留農薬の実態把握

分担研究者 根本 了 国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長

研究要旨

平成 20 年度は、引き続き愛知県において、市販の畜水産食品中の残留農薬の実態調査を行った。筋肉 28 検体、牛乳 4 検体、卵 6 検体及び魚介類 24 検体の合計 62 検体について、302 農薬の調査を実施したところ、BHC 類、DDT 類、イソプロチオラン、オキサジアゾン、ダイアジノンなど 32 種類の農薬が痕跡量～9 ng/g 検出された。BHC 類が最も高頻度で検出され、62 検体中 8 検体から検出された。また、前年度と同様、貝類では 1 検体から複数の農薬が検出される事例が多く見られ、そのうち 1 検体からは 16 種類の農薬が痕跡量～6 ng/g 検出された。

研究協力者

上野英二 愛知県衛生研究所衛生化学部医薬食品研究室 主任研究員

本研究は愛知県衛生研究所衛生化学部医薬食品研究室 上野英二主任研究員の協力により実施した。

A. 研究目的

食品に残留する農薬等に関するポジティブリスト制度の導入により、農産物と同様に畜水産食品に対しても約 300 農薬の基準値が設定された。ポジティブリスト制度の導入以前は、限られた農薬に暫定的に基準値が設定されているのみであったため、畜水産食品中の残留農薬については、調査実績も少なく、実態の概要を把握するには至っていない。食の安全を確保するためには、畜水産食品についても残留農薬のより適切なリスク管理を行う必要があり、そのためには畜水産食品中の残留農薬の実態を把握することが必須である。そこで、畜水産食品中の残留農薬の実態を把握することを目的として、厚生労働省より通知された GC/MS による一斉分析法を基本の分析法として、牛、豚、鶏の筋肉、脂肪、肝臓、鶏卵、牛乳、蜂蜜及び魚介類等の市販の畜水産食品中の残留農薬の実態調査を 3 年次に分けて行うことにした。平成 20 年度は、愛知県において 302 農薬について、畜水産食品 62 検体中の残留農薬実態調査を行った。

B. 研究方法

1. 試料

試料は、愛知県内の小売店で購入したものを使用した。表 1 に実態調査に用いた検体の一覧を示した。

2. 標準品及び試薬

標準品は林純薬工業、和光純薬工業及び Riedel-de-Haën 社の残留農薬試験用を用いた。

試料調製用の水は脱イオン水を蒸留し、ヘキサンで洗浄したものを用いた。LC-MS/MS 移動相用のアセトニトリル、水及び酢酸アンモニウムは LC-MS 用を用いた。その他の試薬は残留農薬試験用を用いた。

グラファイトカーボン/PSA カラムは、リザーバー (Varian 社製 Bond Elut Reservoir, 8.5 mL) に、PSA (Varian 社製 Bondesil PSA) 1,000 mg、グラファイトカーボン (Supelco 社製 Carbotrap C) 一微結晶セルロース (Merck 社製 Avicel) (20:80) 0.2 g、次いで無水硫酸ナトリウム 1 g を乾式充てんし、予めアセトン 10 mL、次いでヘキサン 10 mL で洗浄したのち、GPC-SPE 装置に装着して用いた。