

200939049A

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

食品中残留農薬のリスク管理手法の精密化と国際化対応に関する研究  
平成21年度総括研究報告書

研究代表者

財団法人 残留農薬研究所 加藤保博

平成22年(2010年)4月

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

食品中残留農薬のリスク管理手法の精密化と国際化対応に関する研究

平成21年度総括研究報告書

研究代表者

財団法人 残留農薬研究所 加藤保博

平成22年(2010年)4月

## 目次

### I. 総合研究報告

食品中残留農薬のリスク管理手法の精密化と国際化 対応に関する研究	-----	1
-------------------------------------	-------	---

### II. 分担研究報告

1	残留基準適用部位・分析部位の比較研究	-----	11
2	統計手法を用いる最大残留量の算定手法	-----	43
3	調理加工に伴う分解生成物のリスク管理手法に関する研究： 調理加工における農薬分解物	-----	57

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	77
---------------------	-------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	78
-----------------	-------	----

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 21 年度総括研究報告書

食品中残留農薬のリスク管理手法の精密化と国際化対応に関する研究

研究代表者 加藤保博

（財団法人残留農薬研究所）

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)  
平成 21 年度総括研究報告書

食品中残留農薬のリスク管理手法の精密化と国際化対応に関する研究  
代表研究者 加藤保博 財団法人残留農薬研究所 理事

研究要旨

残留農薬を含んだ食品を摂取する場合を考慮し、ヒトへの健康影響リスクをより適切に管理する観点から、以下の研究を行った。課題1では、残留基準の適用部位および検査部位、ならびに残留基準値設定に参照する作物残留性試験の分析部位を、国際的な標準に対応したものとするために必要な基礎的知見を得ることを目的とした。初年度は、国際標準と我が国の試験法（以降は国内慣行法と記載）を比較し、両法で分析部位が相異なる農産品と相違点を整理した。茎葉散布された非浸透性農薬の主要な残留部位である皮を、国内慣行法で除いて分析しているキウイ、すいか、メロン、さとうきび等については、残留基準値や作物残留性データを国内外で比較することは困難と考えられた。核果類については、国際標準（種子を含む果実全体）による残留値は国内慣行による分析値と同等（90-95%に相当）であることが既存データの解析によって確認された。仁果類は、国際的には全果実を分析するのに対して、国内慣行では、芯と花落ちを除去して分析する。5種農薬を用いたりんごとなしの作物残留性調査を行い、分析部位の相異が残留値に与える影響を調べた。残留濃度の[国内慣行]/[国際法]比は0.83-2.0であった。課題2は、農薬登録に際して求められる作物残留性試験の例数が増えること、ならびに試験例数の多いインポートトレランス申請が増えていることから、EU および NAFTA で採用されている統計処理により最大残留量を推定する手法を検討する。適用範囲内で最大残留量を生じる条件で、はくさい（露地栽培）とほうれんそう（施設栽培）に計7種農薬を処理し、2年で16例の試験データを得ることとし、その1/2のデータを得た。現行残留基準には、適用範囲内の使用でも基準値を超える残留を生じるケースが認められた。国内と NAFTA で採用されている手法等による残留基準値案との比較を試行した。課題3では、食品の加工に伴って生成される分解物データを集積するほか、分解物を把握するモデル実験系を構築し、分解物のリスク管理手法について検討する。公開資料から食品の調理加工等に基づく農薬の加熱時における分解物の知見を収集したほか、OECDの化学物質テストガイドライン507加工製品中における残留農薬の性質・高温加水分解を翻訳した。調理加工に伴う加熱による分解のモデル実験系構築への手がかりとして、10種農薬を単独または混合して90~150℃で加熱し、消失と分解生成物を検索した。加熱温度、加熱時間の増加に伴い、残存量は低下した。GC-FPD及びGC-MSデータから分解生成物を簡易検索し、マラソンの加熱分解物としてO,S,S-トリメチルホスホロジチオエートと推定される生成物を見出した。

## 研究分担者

飯島和昭 財団法人残留農薬研究所化学部  
残留第1研究室長

永山敏廣 東京都健康安全研究センター  
医薬品部長

加藤保博 財団法人残留農薬研究所理事

## A. 研究目的

食品中の残留農薬のリスク管理については、(1)国際的に流通する農産物で、残留基準の適用部位や検査部位、食品分類がわが国固有のものとなっている場合もあり、リスク管理上、整合性を欠くとの指摘もされている。(2)残留基準値は、作物残留性試験(作残試験)から推定される最大残留量に基づいて設定される。国内の農産物については、現在、試験例数が少ないことから、経験則を基に設定されているが、農薬登録制度の改正に伴い、必要な試験例数が今後増えると予想され、また、試験例数の多い海外作残試験の審査の機会も増えつつあることから、これに対応した最大残留量の算定手法が必要となる。(3)インポートトレランスの申請で海外作残試験の審査の機会が増えつつあることから、これに対応したより精密な暴露量の評価が必要となるケースが増えてきており、海外で採用されている暴露量評価手法で有効な情報を収集・整理し、対応できるようにしておくことが望まれる。(4)多くの農産物は何らかの加工を経て喫食される。加熱等を伴う加工によって食品中の残留農薬の一部は分解するが、その実態は明確でなく、分解物のリスク管理の方策は定まっていない。

以上の状況に対応して、残留農薬を含んだ食品を摂取する場合を考慮し、ヒトへの健康影響リスクをより適切に管理する観点か

ら、小課題-1では、国際的に流通する農作物について、残留基準値の適用部位と検査部位を国際的な標準に対応させるために、作残試験の実施を含め、必要なデータを収集する(H21-23)。また、インポートトレランス設定における暴露量評価を精密化する評価法についての情報を収集し、整理する(H22,23)。小課題-2では、最大残留量を作残試験から統計学的に推定し、残留基準値を設定する手法の比較と検証を、国内農業慣行に従って農薬施用した作残試験データも用いて行う(H21-23)ほか、基準値設定および農薬登録に係る食品分類を比較検討する(H22,23)。小課題-3では、食品の加工に伴って生成される分解物データを集積、解析して、分解生成物を把握するモデル実験系を構築する。代表的な事例について試行を実施して、分解生成物の把握を試みて、調理加工にかかわるリスク管理手法の指針案について検討し、加工食品の喫食に伴う健康影響リスクを判断するための基礎資料とする。

## B. 研究方法

### 分担研究1

#### (1)核果類の既存データ調査

作物残留性試験用の分析試料として提供されたもも、あんず、うめ、おうとう、すもも、ネクタリン、プルーン、マンゴーの8種核果作物について、種子とその他の果実部位別の重量を調査し、可食部での残留値(種子を含まない)を全果実での残留値(種子を含む)に換算するための係数(可食部重量/全果の総重量)を算出した。ももについては果実を果肉と果皮に分別した重量分布について調査した他、果肉及び果皮の残留分析結果から除

去した種子での分析値を無残留とした場合の全果実残留値の試算を行なった。

## (2) 仁果類における作物残留性調査

りんご及び日本なしでの作物残留性調査を行い、国内慣行（柄、花落ち及び芯を除いた果実）と国際標準（柄を除いた果実）の両者に従って得られた残留値を比較した。

・供試農薬：市販の5種薬剤（ナリア水和剤、アドマイヤー顆粒水和剤、サンリット水和剤、カスケード乳剤、フェニックス顆粒水和剤）を使用した。

・圃場試験：りんご及び日本なしの栽培と上記の農薬散布は、社団法人日本植物防疫協会に委託して行った。りんごは青森県及び山梨県の2圃場で、日本なしは茨城県の1圃場で調製した。供試農薬は適用範囲内で最大の残留となる条件で散布した（最小希釈倍率、最大散布量、最大散布回数、収穫前最短期間）。

・分析：試料はアセトニトリルで抽出し、C18ミニカラムで精製し、LC/MS/MSに注入し、ピーク面積に基づく絶対検量線法で定量した。有効成分6種を可食部、非可食部（花落ち及び芯）及び全果実の各試料に0.01～1.5mg/kg濃度添加して得た平均回収率は(n=3)は84～114%の範囲で、SRDも<14%と良好であり、無処理区の分析結果は定量下限(0.01mg/kg)未滿であり、クロマトグラム上に分析を妨害するピークは認められなかった。分析時までの試料の凍結保存期間中の有意な分解のないことは保存安定性試験で確認した。

## 分担研究2

農作物は調査開始時期の制約から、果実以外で、秋～冬に収穫期を迎える農作物のうち、露地栽培作物としてはくさいを、施設栽培作物としてほうれんそうを選んだ。これらに適用があり、定量限界以上の残留が見込め

る農薬をくさいでは5種類、ほうれんそうには4種類を選択した。社団法人日本植物防疫協会に委託して、各作物を全国8県の試験地で栽培し、農薬施用した。EU、NAFTAによる最大残留量算定、シャピロ・フランシア検定には米国EPAのHPから入手したNAFTAのMRLカルキュレーターズプレッドシート第3版(2009年8月；The NAFTA MRL/Tolerance Harmonization Workgroup)を使用した。

## 分担研究3

報告されている国産または輸入生鮮農産物における残留事例の多い農薬35種の中から、下記の10種類を選択し、加熱による農薬の揮散等による減衰及び加熱分解物の推定を試みた。これら農薬は、現在も使用されており、かつGCで測定できることから選択された。

殺虫剤：アセフェート、クロルピリホス、ホスメット、マラチオン(以上、有機リン系)、テブフェンピラド(ピラゾール系)。

殺菌剤：テトラコナゾール、トリアジメノール(以上、トリアゾール系)、キノキシフェン(キノリン系)、クレソキシムメチル(メトキシアクリレート系)、トリフルミゾール(イミダゾール系)。

上記10種類の農薬について、各1.0 mg/Lの混合アセトン溶液を作製し、これを共栓試験管に1.0 mLずつ採り、それぞれ溶媒を通風除去した。有栓及び無栓の状態でアルミブロックを用いて90～150℃で5～60分間加熱し、放冷した後、アセトンに溶解してGC-FPD、GC-FTD及びGC-MS(EIモード)で測定した。

表. 加熱温度及び時間

温度 (°C)	時間 (分)
90	20
100	10
	30
	60
120	10
	20
150	5
	10

## C. 結果及び考察

### 分担研究1

#### 1. 国内慣行と国際基準で、基準値適用部位および試験部位が異なる農産物

農産物の残留基準と検査部位 WHO や OECD のガイドラインで推奨される国際基準と、食品衛生法および農薬取締法に基づく国内慣行とを比較した。我が国における主要な農産物（輸入品を含む）のうち、分析部位が国際基準と異なるものを、相違内容の類似性を基に5つにグループ化して整理し、表に纏めた。

グループ1： キウイ、すいか、メロン及びさとうきびなどの農産物は、高濃度に農薬が残留すると推察される果皮、皮を国内慣行では除いて分析しているため、国内で取得された残留性データと海外データでは大きく相違する可能性が推察された。

グループ2： 国際基準では、核果類などに代表される硬質の種子（核： stone）を有する果物の分析部位は、柄（stems）及び種子を除いた果実全体であり、その残留値は、種子を無残留と仮定して、重量換算により果実全体で算出する。国内慣行では、分析部位は同様であるが、種子は廃棄し、残留値への重量換算は行なわない点が相違する。なお、個別農産物に関する特異的な相違点であるが、ももについては、国内慣行では果肉と果皮をそれぞれ

分析し、果肉部に基準値を設定するが、国際基準では分別分析はしない。本件に関しては、別途、既存データの収集及び解析を行い、核果類での分析部位の相異が残留値に与える影響を調査した。

グループ3： りんご、なしなどの仁果類は、国際基準では農産物全体を分析対象としているが、国内慣行では花落、芯及び果梗の基部を除いたものを分析部位としている点が相異している。また、とうもろこしは、国際基準では外皮を除く農産物全体を分析対象とするが、国内慣行では外皮に加えて、ひげ及び芯も除いたものを分析部位とする点が相異している。本件に関しては、別途、作物残留性調査を行い分析部位の相異が残留値に与える影響を評価した。

グループ4： 柑橘類（温州みかんを除く）とバナナについては、国際基準と国内慣行いずれにおいても果実全体を分析部位としている点は同様であるが、EU においては果肉と果皮を別々に分析して、全果での残留値を算出する点が相異している。なお、温州みかんに関しては、国内慣行法においても、果肉と果皮を別々に分析するが、全果での残留値は算出していない。

グループ5： 根部と葉部に分別して分析する根菜類については、国際基準と国内慣行の概要に相異は無いが、根と葉の境界部分の取扱いを確認する必要が認められた。

#### 2. 核の取扱いの残留値への影響

作物残留性試験用の分析試料として提供されたもも、あんず、うめ、おうとう、すもも、ネクタリン、プルーン、マンゴーの8種核果作物について、全果実、可食部（果皮+果肉）、種子の各重量を調査し、可食部での残留値（種子を含まない）を全果実での残留値（種子を



含む)に換算するための係数(可食部重量/全果の総重量)を算出した。ももについては果肉と果皮の重量分布についても調査した他、果肉及び果皮の残留分析結果から除去した種子での分析値を無残留とした場合の全果実残留値の試算も行なった。もも、うめ、おうとう、すもも、及びネクタリンについて、全果実の重量と、これに対する種子を除いた果実重量の比率との相関を調べたが、有意な相関性が確認できたのは、すもも試料のみ( $R^2 = 0.980$ )であった。

調査対象とした8種核果類における種子を除いた果実の残留分析値を、種子を含む全果実重量での残留値に換算するために乗じる係数は0.88(うめ)~0.96(すもも、ネクタリン)の範囲であった。その内、主要作物であるももの換算値は、0.92~0.97の範囲であり、その平均値は0.94であった。ももの果肉及び果皮の実残留分析値から試算した「除去した種子での分析値を無残留とした場合の全果実残留値」を試算した。

### 3. 仁果類の作物残留性調査結果

りんご及びなしにおける分析部位を、国際標準(全果実)及び国内慣行(可食部)とした場合の影響を評価するため、可食部中の残留濃度に対する全果実中の残留濃度の比率を算出した。3圃場間での同比率の変動幅は、83~200%の範囲であった。3試料間の比較では、いずれの散布農薬においても、山梨産のりんご試料において、非可食部の残留値がどの農薬についても可食部の値よりも明らかに高い傾向が認められた。一方、青森産のりんご及び茨城産のなしでは認められなかった。その他、可食部と非可食部の試料重量比などには、3圃場で得られた試料間に相異点は認められなかった。確認のため、再試験をする。

### 分担研究 2

2年間にわたってはくさいとほうれんそう各16例の残留値の分布データを得る計画で、21年度は半分の8例のデータを8県の試験地から得た。

最大残留条件またはそれに近い条件では、調査対象とした全農薬(7農薬)がすべての試料でLOQを超えて残留していた。農薬別に8例の残留データでみた最大値と最小値の比は、はくさいで5.7-14倍、ほうれんそうで2.3-3.1倍であり、RSDも、はくさいが60-78%(平均68%)、ほうれんそうが33-43%(平均38%)と、ほうれんそうでは小さなばらつきであった。これは、はくさいが露地栽培で天候の影響を受けやすいのに対して、ほうれんそうは施設栽培されたことを反映していると推定される。海外で実施された作物残留試験におけるRSDは、NAFTAのMRLカルキュレーターに収載されている各種作物及び農薬の残留データのうち、PHIが分かっているもので<LOQを含まない米国EPA、カナダPMRAの計63作残留試験データセットの平均RSDは60%(±44%)、中央値は55%であり、今回ははくさいのデータのばらつきは、米国、カナダの平均値に近かった。

残留値の分布の形を適切に推定するには例数が足りないが、正規分布からのずれを示す歪度は、はくさいでは農薬1(-0.07)を除いて、0.8~1.7、ほうれんそうでは0.7~1.3であり、正規分布からのずれが示唆される。シャピロ・フランシアの検定値は、はくさいで0.88~0.95、ほうれんそうで0.83~0.97であり、両農産物とも、調査した全農薬とも対数正規分布仮説は棄却されなかった( $P > 0.05$ )。

NAFTAの手法では、残留値の分布の形、

試験例数によって、基準値案に採用する統計値を変える。残留データの分布が対数正規性を有しない場合は、平均値+3SDを基準値案に採用し、対数正規性を有する場合は、試験例数が16以上であれば95/99ルール(95パーセンタイル値の95%信頼区間上限値と99パーセンタイル値の小さい方を採用する)、15例以下では、中央値の95%信頼区間上限値(UCLMed 95th)と、95/99ルールのうちの小さい方の値を基準値案に採用する。

今回の8例のデータについては、2農産物の全農薬でUCLMed95thが最も大きな値を与えたが、大部分の農薬でNAFTA法による基準値案となると見込まれるのは、それよりも小さな95/99ルールによる値であった。OECDでは平均値+4SDを基準値案とする案<sup>8)</sup>が検討されており、今回のデータでは、NAFTA法とOECD法は類似の値を与えた。NAFTA法およびOECD法による基準値案とも日本の経験則を基にした標準的な残留基準値案範囲内に入っていた。

今回調査した大部分の農薬の残留基準値は、上記の標準的基準値案の範囲に入っており、作残留試験における測定値も基準値以内であった。しかし、農薬2のはくさいにおける基準値は標準基準値案よりも小さく、測定された最大値は基準値を少し超えていた。また、農薬6のほうれんそうにおける残留基準値は標準的な基準値案範囲の1/2以下の小さな値に設定されており、作残試験の全測定値がこの残留基準値を超えていた。概して、ほうれんそうでは、調査した4農薬とも残留基準値は、適用範囲での使用によって生じる残留レベルに比べて余裕のない値に設定されていた。

### 分担研究 3

a. 農産物加工における加熱分解物に関する既存データ等の収集・リスト化：2009年のFAO/WHO合同残留農薬専門家会議(JMPR)の報告書<sup>1)</sup>から、調理加工あるいは高温下での保存に伴う加水分解物生成の事例が収集され、整理された。これらには、ハロキシホップPメチル、メタフルミゾン、スピロジクロフェンが含まれている。そのほか、フルオピコリドのワイン製造およびトマトピューレ製造における主要分解物の同定が報告されている。学術雑誌等に報告された調理加工にかかわる農薬加熱分解物の例：肉の調理における分解物として3, 5, 6-trichloro-2-pyridinolが生成される可能性が示唆されている。その他、ばれいしょをポテトフライまたはペイクドポテトに加工する条件で、クロルプロファミンから $\mu$ -クロロアニリンが生成されることが確認された。特に皮付きばれいしょを高温で加熱調理する時に残存する可能性が示唆されている。

### b. 農薬の加熱分解物の検索

#### 1) 加熱による減衰：

加熱試験を各温度及び時間の条件下で2回繰り返し、それぞれ有機リン系農薬はGC-FPD, その他の農薬はGC-FTDを用いて供試農薬の残留量が測定された。今回は、加熱時に、密封状態とせず、一般的な共栓試験管を用いて試験された。残存量に、栓の有無による大きな差は見られなかった。90°C20分間の加熱で、アセフェート、クロルピリホス、テトラコナゾール、トリフルミゾール、ホスメット及びマラチオンの残存量が減少した。クレソキシムメチルは、100°C10分以上、キノキシフェン及びトリアジメノールは100°C30分以上の加熱で急速に減衰が進み、テブフェンピラドは120°C以上で減衰した。また、

キノキシフェン及びクレスキシムメチルは、150℃ではほとんど残存していなかった。

加熱温度の違いによる残存量は、100, 120, 150℃で10分間加熱したときの残存量で比較すると、加熱温度が高くなるにしたがい減少割合が大きくなる傾向が見られた。

## 2) 加熱分解物の検索

クロマトグラムにおける新たなピークの出現及びそのMSスペクトルによる同定が試行された。試験溶液中にPEGが含まれているため、多くの試薬由来のピークが見られたものの、加熱処理した試験溶液では、保持時間11.3分に未知ピークが観察された。機器に装備されたNISTのMSライブラリーからは特に推測される化合物は得られなかった。しかし、 $m/z$  168と170, 237と239, 295と297など塩素を有する化合物であることが示唆され、今回検討した農薬のうち、クロルピリホス、テトラコナゾール、トリフルミゾールなど塩素を含む構造を有する農薬に由来している可能性が推測された。

一方、加熱時の減衰は、有機リン系農薬において比較的大きく観察された。そこで、マラチオンなどジメチルホスホロチオエート型の構造を有する有機リン系農薬で多く認められる $m/z$  125を有する化合物の有無を見たところ、有栓下で加熱処理した試験溶液のデータにおいて、保持時間7.3分付近に分解生成物の存在が疑われた。マラチオンに加熱処理を施し、加熱処理前後のGC-FPDで得られたクロマトグラムを比較したところ、加熱後におけるクロマトグラムから、保持時間7.75分付近に比較的大きな未知ピークが見出された。本ピークはGC-MS測定における保持時間7.3分付近のピークに相当したことから、このMSスペクトルを測定し、ライブラリーによる検

索を試みた。その結果、O,S,S-トリメチルホスホロジチオエート (O,S,S-trimethyl phosphorodithioate, 「OSS-TMP」と略記) であることが推察された。ジメチルホスホロチオエート型の有機リン系農薬の加熱に伴い生成される可能性が高いと推測する。

10種類の農薬混合標準液を加熱した後のOSS-TMPの検出状況で示されるように、OSS-TMPは、主に有栓下100℃以上で加熱した試験溶液で観察された。無栓状態ではほとんど検出されないこと、有栓状態であっても、加熱条件に伴う検出量の大きな増大が特に見られなかったことから、比較的揮散されやすいと推察された。

OSS-TMPは、LD<sub>50</sub>70~120mg/kg体重(経口、マウス) (Croner-i CHEM BANK : <http://www.croner.co.uk>) であり、マラチオン(LD<sub>50</sub>775~3320mg/kg体重:経口、マウス)に比べ急性毒性が強い。また、マラチオンとの共存によりマラチオンの毒性を相乗的に増加するともいわれている。マラチオンの不純物としてはほとんど存在しないとされるが、食品の加熱調理後に、加熱生成物として食品中にマラチオンとともに残存した場合、その安全性評価が必要となる可能性が示唆される。

## D. 結論

1) 基準値適用部位・部位の国内と海外との違いに整理され、分類された。国内慣行による種子を除いた核果作物の残留値を、国際標準に従った種子を含む果実全体の残留値に変更した場合の差は小さかった(5-10%)。仁果類については、へた落ちと芯の除去の影響は、試験場間の差が大きいが、国内慣行による残留の0.9から2倍程度までが全果実を分析した際の分析値になると推測される。2)

統計手法を利用した残留基準の設定手法を比較検討するため、計7種農薬のはくさいとほうれんそうにおける残留性試験を各8例実施した。国内とNAFTA、OECD等で採用されている統計手法で算定される残留基準値案との比較が試行された。3) 食品の加工に伴って生成される分解物データが集積されたほか、分解物を把握するモデル実験系を構築し、分解物のリスク管理手法について検討するための基礎情報を10種類の農薬の加熱分解実験系で得た。

#### **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**

(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

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 21 年度分担研究報告書

食品中残留農薬のリスク管理手法の精密化と国際化対応に関する研究

1．残留基準適用部位・分析部位の比較研究

研究分担者 飯島和昭  
（財団法人 残留農薬研究所）

厚生労働省科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)

Ⅱ. 平成 21 年度分担研究報告書

食品中残留農薬のリスク管理手法の精密化と国際化対応に関する研究

1. 残留基準適用部位・分析部位の比較研究

研究分担者 飯島和昭 財団法人 残留農薬研究所 化学部残留第 1 研究室長

### 研究要旨

各種農産品の残留基準値の分析部位を、国際標準に調和させるために必要な基礎的知見を得ることを目的として、(1) 国際的なガイドラインや背景情報の収集・整理、(2) 既存データの解析、または作物残留性調査による現行国内慣行を国際基準とした場合の影響を評価した。(1)：国際標準と国内慣行を比較して、両者において残留分析部位が相異なる農産品を選定し、その相異点を整理した。その結果、キウイ、すいか、メロン及びさとうきびなどの現行国内慣行法においては、農薬の主要な残留部位と推察される皮を除いて分析している農産品については、分析部位が相異なる影響が大きいため、現行国内残留性データと海外データの比較は難しいと推察した。(2)：核果類に代表される硬質の種子を有する果物については、現行国内慣行による残留分析値を、国際標準(種子を含む果実全体)に変更した場合には、5~10%程度低い値となることを既存データを解析して確認した。また、仁果類については、りんご及び日本なしでの作物残留性調査を行い分析部位の相異が残留値に与える影響評価を試みたが、圃場間での変動が大きかったため、次年度に追加実験を行なうこととした。

### 研究協力者

藤田眞弘, 矢島智成, 宮本彩

残留農薬研究所化学部残留第 1 研究室

#### A. 研究目的

農産品中の残留農薬基準については、FAO(国連食糧農業機関)、WHO(世界保健機関)及びOECD(経済協力開発機構)などの国際機関を中心に、各国間の調和を図ってきている<sup>1,2)</sup>。そのような状況下で、我が国における食品中の残留農薬のリスク評価では、残留基準の適用部位や検査部位(以降は分析部位の総称で記載)、食品分類<sup>3,4)</sup>が諸外国と異なる農産品もあることか

ら、国際的なリスク管理上の整合性に欠ける可能性がある。具体的には、各国の残留農薬データの相互活用の問題を生ずる可能性や、異なる分析部位の残留農薬検査により国際貿易上の問題を生ずる懸念が想定される。

そこで、本研究では、国際的に流通する農産品の残留基準値の分析部位を、国際的な標準に対応させるために必要な基礎的知見を得ることを目的とする。具体的には、① 国際的なガイドラインや背景情報(処理率、輸出入率他)の収集・整理、② 既存データの解析、または作物残留性調査による実験データを得ることにより、我が国の試

験法（以降は国内慣行と記載）<sup>3, 4</sup>を国際標準に調和させた場合の影響を推定する。

## B. 研究方法

### 1. 検討概要

初年度においては、WHO<sup>1)</sup>や OECD<sup>2)</sup>のガイドラインで推奨される国際標準での分析部位と国内慣行を比較して、主要な農産品の分析部位について両者の相異点を整理した。そして、核果類（もも他）での既存データの収集、及び解析を行い。さらに、仁果類については、りんご及び日本なしでの残留性調査を行い、国内慣行及び国際標準での分析部位を適用した場合の残留値への影響を比較した。

### 2. 国際標準に関する資料調査

コーデックス委員会が推奨する農産品の分析部位の適用表<sup>1)</sup>の翻訳を行ない、その国際標準と国内慣行<sup>3, 4)</sup>での分析部位を比較した。そして、我が国の主要な農産品（輸入品を含む）の分析部位について、国内慣行が国際標準と異なる事項を整理して分類した。

### 3. 核果類の既存データ調査

既存のもも、あんず、うめ、おうとう、すもも、ネクタリン、プルーン、マンゴーの8種核果類の作物残留性データを収集し、果肉と種子の部位別重量を解析して、果肉と果皮（可食部）の残留値を全果実での残留値（種子を含む）に換算するための係数（（果肉+果皮重量）／全果実の総重量）を算出した。なお、ももについては果肉と果皮に分別した重量分布についても調査した他、果肉及び果皮の残留値結果から除去した種子での分析値を無残留とした場合の全果実での残留値の試算も行なった。

### 4. 仁果類における作物残留性調査

りんご及び日本なしでの作物残留性調査を行い国内慣行（花落ち及び芯を除く）と国際標準（柄を除いた全果実）の両者に従って得られた残留値を比較した。

#### 4.1 供試農薬

市販の5種農薬（ナリア水和剤、アドマイヤー顆粒水和剤、サンリット水和剤、カスケード乳剤、フェニックス顆粒水和剤）を購入し、国内慣行に従い散布した（資料1参照）。

#### 4.2. 圃場試験

りんご及び日本なしの試料調製は、社団法人日本植物防疫協会に委託した。りんごは青森県及び山梨県の2圃場で調製し、日本なしは茨城県の1圃場で調製した（資料1参照）。

#### 4.3. 試薬

検討対象とした6種農薬（イミダクロプリド、シメコナゾール、ピラクロストロビン、フルフェノクスロン、フルベンジアミドおよびボスカリド）の標準品は市販の高純度品（98.7%以上）を購入して使用した。

一般試薬および有機溶媒は特級品、残留農薬試験用またはそれに準ずる等級のものを使用した。水は、日本ミリポア・リミテッド製の Milli-Q 純水製造装置で調製した高純度水を用いた。C<sub>18</sub> ミニカラムはジューエルサイエンス製の InertSep C18-C（1 g/6 mL）を使用した。フィルターユニットは Millipore 製の Millex-LG を使用した。

#### 4.4. 装置

電子天秤：AG245 型、PG4002-S 型他（メトラー・トレド製）。ミキサー：MX-V100（パナソニック製）。LC-MS/MS システム（Agilent 製、1200 シリーズ高速液体クロ

マトグラフ, 6460 タンデム四重極質量分析計, Masshunter ワークステーション)。

#### 4.5. 試料調製

試料は, 各々を縦に 4 分割以上したのから対角の 2 つを取り合わせ, 花落, 芯及び果梗の基部 (非可食部) と, 果肉及び果皮 (可食部) の 2 つに分別し, それぞれ細切した。一方, 対角に取り合わせた残り試料は, そのまま細切して全果実試料とした。それらの一部を無作為に取り, 密閉容器に入れて凍結保存 ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) した。分析直前にミキサーで磨砕均一化した。

#### 4.6. 標準溶液の調製

各標準品 25 mg 相当量を, それぞれ別々の 50 mL 容のメスフラスコにはかり取り, アセトニトリルに溶解して定容とし, 500 mg/L の各標準原液を調製した。これらの標準原液の一定量をアセトニトリルで希釈して各農薬 10 mg/L の混合標準溶液を調製した。

#### 4.7. 分析操作

分析操作の詳細を以降に記す。また, 分析操作全体の概要を図 4 に示す。

##### 4.7.1. 抽出

均一化試料 20.0 g にアセトニトリル 100 mL を加え, 30 分間振とうした。抽出物をろ紙を敷いた桐山漏斗で吸引ろ過し, 残渣をアセトニトリル 50 mL で洗い, 同様にろ過した。ろ液を合せアセトニトリルで 200 mL 定容とし, その 1 mL (試料 0.1 g 相当量) を分取した。

##### 4.7.2. $\text{C}_{18}$ ミニカラム精製

$\text{C}_{18}$  ミニカラムにアセトニトリル及び水を順次 5 mL ずつ流下して前処理した。抽出液に水 10 mL を加え混合し, 前処理した  $\text{C}_{18}$  ミニカラムに流下した。次いで, ア

セトニトリル/水(10:90, v/v)混液 10 mL で容器内を洗浄し, これを  $\text{C}_{18}$  ミニカラムに流下し, その流出液を捨てた。アセトニトリル/水(80:20, v/v)混液 10 mL を流下し, その溶出液を分取した。

##### 4.7.3. 定量

溶出液をアセトニトリル/水(80:20, v/v)混液で 10 mL 定容とし (必要に応じて同混液で希釈), シリンジフィルターを用いてろ過後, その 5  $\mu\text{L}$  を LC-MS/MS に注入してピーク面積を求め, 検量線より各農薬の重量を求め, 試料中の残留濃度を算出した。

##### 4.7.4. LC-MS/MS の操作条件

###### 4.7.4.1. 高速液体クロマトグラフ

カラム: ZORBAX Eclipse Plus  $\text{C}_{18}$ , 1.8  $\mu\text{m}$  (2.1 mm i.d.  $\times$  100 mm, Agilent 製)。移動相: アセトニトリル/5 mmol 酢酸アンモニウム(10:90 (0.5 min) - 1.5 min - 60:40 - 5 min - 95:5, v/v)。流速: 0.5 mL/min。カラム温度:  $40^{\circ}\text{C}$ 。注入量: 5  $\mu\text{L}$ 。

###### 4.7.4.2. 質量分析計

イオン化法: エレクトロスプレーイオン化法 (ESI), 乾燥ガス温度:  $320^{\circ}\text{C}$ , 乾燥ガス流量: 5 L/min, ネブライザー圧力: 45 psi, イオン導入電圧: 3500 V, コリジョンガス: 窒素, イオン検出法: MRM 法 (モニタリングイオン等の操作条件の詳細は表 4 を参照)。

##### 4.7.5. 検量線の作成

混合標準溶液を, アセトニトリルで希釈して各農薬の濃度が 0.00005, 0.0001, 0.0004, 0.001 及び 0.002 mg/L の検量線用の混合標準溶液を調製した。その混合標準溶液を LC-MS/MS に注入して各農薬のピーク面積値を求め, 各農薬の重量を横軸



に、同ピーク面積値を縦軸にとり、絶対検量線法により各検量線を作成した。

#### 4.7.6. 保存安定性の確認

均一化した無処理試料 20 g を 200 mL 容の三角フラスコにはかりとり、2 mg/L 混合標準溶液 1 mL を添加して $-20^{\circ}\text{C}$ に保存した。全試料の分析終了後、実試料と同様に分析して残存率を求めた。

### C. 研究結果

#### 1. 分析部位に関する資料調査

コーデックス委員会が推奨する農産品の分析部位の適用表<sup>1)</sup>の翻訳を資料 1 に示す。なお、翻訳に際しては、可能な限り既存用語を当てはめて作成し、相応する日本語が無い場合にはカタカナ標記とした。(注意：農産品の名称等は日本語との対応が不明瞭な場合も多いため、本表を参照する際には、必ず原文を確認すること。)

当該資料ならびに OECD の作物残留性テストガイドライン<sup>2)</sup>で推奨される国際標準での分析部位と、国内慣行を比較して、相異なる我が国の主要な農産品のリスト及び相異内容を表 1 にまとめた。

#### 2. 核果類の既存データ調査

もも及び各種核果類の産地(品種)、例数、果肉、果皮及び種子の部位別試料重量を、それぞれ表 1 及び表 2 にまとめた。また、調査した 8 種核果類(もも、あんず、うめ、おうとう、すもも、ネクタリン、プルーン、マンゴー)の作物写真を図 3 に示す。

調査対象としたももの総平均重量は 229 g であり、その最小平均重量は 143 g で最大平均重量は 391 g であった。全果実に占める各部位の重量比は、果肉が 77~89%、果皮が 7~15%、可食部(果肉+果

皮)が 92~97%、種子(核)が 3~8%の範囲であった。ももの果実全体としての重量比の変動に比較して、果皮及び種子の重量比の変動が大きかった。これは、果皮及び種子の重量比は、品種や成熟度による試料の大きさなどの他、試料調製作業者の熟練度も影響するためと推察された。特にももの果皮を薄く均等に剥く作業及び種子と果肉を分別する作業は、過熟試料と未成熟試料では、同一の熟練作業員においても相応の変動があることが経験的に知られている。

もも以外の核果類において、試料の総平均重量が最も小さな農産品はおうとう(6.85 g)であり、逆に最も大きな農産品はマンゴウ(487 g)であった。また、全果実に対する可食部(果肉及び果皮)の重量比が最も小さな農産品はうめ(80~91%)であり、逆に最も比率が大きかった農産品はすもも及びプルーンであった(94~98%)。

#### 3. 仁果類の作物残留性調査結果

##### 3.1. 分析法の妥当性確認

分析法の妥当性確認の結果を表 5 に、各農薬別のクロマトグラムの一例を図 5 に示す。6 種農薬を可食部(果肉及び果皮)、非可食部(花落ち及び芯)及び全果実の 3 種部位別試料に 0.01~1.5 mg/kg 濃度添加して算出した平均回収率(n=3)は 84~114%の範囲で、それらの標準偏差パーセントも 13.6%以下と良好であった。また、全ての無処理区試料の分析結果は定量限界未満(<0.01 mg/kg)であり、それらのクロマトグラム上に分析を妨害する夾雑ピークは認められなかった。

##### 3.2. 処理区試料における残留値

処理区試料の平均残留値 (n=2) を表 5 に示す。イミダクロプリドの残留値は、可食部 (果肉及び果皮) で 0.04~0.27 mg/kg, 非可食部 (国内慣行の除去部: 花落ち及び芯) で 0.08~0.30 mg/kg, 全果実で 0.05~0.28 mg/kg の範囲であった。シメコナゾールの残留値は、可食部で 0.05~0.19 mg/kg, 非可食部で 0.11~0.34 mg/kg, 全果実で 0.08~0.19 mg/kg の範囲であった。ピラクロストロピンの残留値は、可食部で 0.12~0.14 mg/kg, 非可食部で 0.20~0.47 mg/kg, 全果実で 0.12~0.18 mg/kg であった。フルフェノクスロンの残留値は、可食部で 0.10~0.21 mg/kg, 非可食部で 0.15~0.66 mg/kg, 全果実で 0.08~0.24 mg/kg の範囲であった。フルベンジアミドの残留値は、可食部で 0.12~0.22 mg/kg, 非可食部で 0.18~0.87 mg/kg, 全果実で 0.14~0.24 mg/kg の範囲であった。ボスカリドの残留値は、可食部で 0.26~0.28 mg/kg, 非可食部で 0.39~1.49 mg/kg, 全果実で 0.32~0.40 mg/kg の範囲であった。

### 3.3. 保存安定性の確認

各試料における保存安定性の確認結果を表 5 に示す。保存期間は青森産りんごで 92 日間、山梨産りんごで 90 日間、茨木産日本なしで 168 日間であった。保存安定性試料での平均残存率 (n=2) はイミダクロプリド 93~102%, シメコナゾール 80~90%, ピラクロストロピン 74~97%, フルフェノクスロン 70~88%, フルベンジアミド 81~90%, ボスカリド 78~98% の範囲であり、いずれの農薬においても保存期間中の安定性に問題は認められなかった。

## D. 考察

### 1. 国内慣行での分析部位が国際標準と異なる農産品

WHO<sup>1)</sup> や OECD<sup>2)</sup> のガイドラインで推奨される国際標準での農産品の分析部位と国内慣行<sup>3, 4)</sup> とを比較して、我が国における主要な農産品 (輸入品を含む) の分析部位が国際標準と異なるものを表 1 に整理した。その際の各農産品は、国際標準との相異内容が類似するものを 5 つにグループ化して掲載した。

グループ 1: キウイ、すいか、メロン及びさとうきびなどの農産品は、高濃度に農薬が残留することが推察される皮 (果皮) を国内慣行では除いて分析しているため、国内で取得された残留性データと海外データでは大きく相異なる可能性が推察された。  
グループ 2: 国際標準では、核果類などに代表される硬い種子 (核: stone) を有する農産品の分析部位は、柄 (stems) 及び種子を除いた果実全体であり、その残留値は、種子を無残留と仮定して、重量換算により全果実で算出する。国内慣行では、分析部位は同様であるが、種子は廃棄し、残留値への重量換算は行なわない点が相異なる。なお、個別農産品に関する特異的な相異点であるが、ももの果皮については、国際標準では分別分析は行なわない。本件に関しては、別途、既存データの収集及び解析を行い、核果類での分析部位の相異が残留値に与える影響を調査した。

グループ 3: りんご、日本なしなどの仁果類は、国際標準では農産品全体を分析対象としているが、国内慣行では花落ち、芯及び果梗の基部を除いたものを分析部位としている点が相異なる。また、とうもろこしは、国際標準では外皮を除く農産品全体を分析

対象とするが、国内慣行では外皮に加えて、ひげ及び芯も除いたものを分析部位とする点が相異なる。本件に関しては、別途、作物残留性調査を行い分析部位の相異が残留値に与える影響を評価した。

グループ 4: 柑橘類(温州みかんを除く)、パイナップル及びバナナについては、国際標準と国内慣行いずれにおいても果実全体を分析部位としている点は同様であるが、EU においては果肉と果皮を別々に分析して、全果実での残留値を算出する点が相異なる。なお、温州みかんに関しては、国内慣行法においても、果肉と果皮を別々に分析するが、全果実での残留値は算出していない。

グループ 5: 根部と葉部に分別して分析する根菜類については、国際標準と国内慣行の概要に相異は無いが、根と葉の境界部分の取扱いを確認する必要があると認められた。具体的には、にんじんに関するコーデックス委員会の分析部位の説明には、「乾燥した地上部の下端の葉柄部分を、包丁で慎重に切り離し、根の一部が冠状に切り離された場合には、その部分は根の分析試料に加えること」とされているが、国内慣行においては、前述の「根の一部が冠状に切り離された部分」の取扱いが不明瞭なため、国際標準と同様の場合の他、境界部分を葉部の一部とする場合や、境界部分を分析対象外として廃棄する場合が混在している状況が推定される。根菜の葉と根の境界部分は、比較的高濃度に農薬が残留する可能性が高いと推察されることや、根部については不検出となる事例が多いことが経験的に知られている。そのため、本件については平成 22 年度に、別途、かぶによる作物残留調査を

行い根と葉の境界部分の取扱いの影響評価を行う予定である。

## 2. 核の取扱いの残留値への影響

ももにおける全果実に対する分析部位(全果実-種子)の重量比と全果実重量との相関を図 1 に示す。また、もも以外の核果類の内、調査例数が 6 以上であったうめ、おうとう、すもも及びネクタリンにおける同様の相関を図 2 に示す。その結果、全体的に全果実重量が重い農産品の方が、種子を除いた分析部位の占める重量比が高い傾向が伺えたが、有意な相関性が確認できたのはすもも試料のみ ( $R^2 = 0.980$ ) であった。

調査対象とした 8 種核果類における種子を除いて求めた残留値(国内慣行)を、種子を含む全果実での残留値(国際標準)に換算するための係数は 0.88(うめ)~0.96(すもも、ネクタリン)の範囲であった。その内、主要農産品であるももの換算値は、0.92~0.97 の範囲であり、その平均値は 0.94 であった。

表 2 には、ももの果肉及び果皮の部位別残留値から試算した「除去した種子の分析値を無残留とした場合の全果実残留値」の試算値を示す。これらの解析結果から、国内慣行による種子を除いた核果類の残留値を、国際標準に従った種子を含む全果実での残留値に変更した場合には、従前よりも 5~10%程度低めの残留値となることが予測された。

## 3. 仁果類の作物残留性調査結果

りんご及び日本なしにおける分析部位を、国際標準(全果実)及び国内慣行(花落ち及び芯を除く可食部)とした場合の各残留値の比率(全果実/可食部)を表 6 に示す。

その結果、各農薬の3圃場間での変動幅は、イミダクロプリド83~173%、シメコナゾール100~200%、ピラクロストロビン93~129%、フルフェノクスロン80~114%、フルベンジアミド100~160%、ボスカリド114~154%であった。3試料間の比較では、いずれの散布農薬においても、山梨産のりんご試料において、非可食部の残留値が可食部の値よりも明らかに高い傾向が認められた。この傾向は、山梨産りんごにおいては6種農薬（フルフェノクスロン114%~シメコナゾール200%）いずれにおいても認められたが、青森産のりんご及び茨城産の日本なしでは認められなかった。なお、可食部と非可食部の試料重量比には、3圃場で得られた試料間に相異は認められなかった。

全果実での残留値を、全果実を分析部位として求めた場合（国際標準方式）と、可食部と非可食部に分別して求めた残留値から算出した場合の変動は、75~116%（茨城産日本なし・フルフェノクスロン~山梨産りんご・シメコナゾール）の範囲で、概ね一致することが確認された。

## E. 結論

国際標準として参照したコーデックスの残留基準値は、一部の例外を除き、国際貿易において流通する状態の農産品そのものに対応する分析部位を推奨している。一方、国内慣行における分析部位は、可食部を基本とした分析部位が適用されるものが多く、国際標準と相異なる主な農産品が33種存在した（表1参照）。

その内、キウイ、すいか、メロン及びさとうきびについては、国内慣行において

は、農薬の主要な残留部位と想定される皮を除いて分析しているため、国内残留データと海外データでは大きく相異なる可能性が推察された（グループ1）。

核果類に代表される硬い種子を有する農産品の分析については、国際標準では種子を無残留と仮定して重量換算により果実全体で算出する点が、国内慣行と相異している（グループ2）。これについては、8種核果類における既存残留データの解析により、国内慣行による残留値を、国際標準（種子を含む全果実）に変更した場合には、5~10%程度低くなることを確認した。

仁果類やとうもろこしについては、国際標準では農産品全体を分析部位としているが、国内慣行では花落ち及び芯などを除いた可食部を分析部位としている点が相異している（グループ3）。そこで、りんご及び日本なしでの作物残留性調査を行い分析部位の相異が残留値に与える影響評価を試みたが、圃場間での変動が大きかったため、追加実験により調査を継続することとした。

柑橘類、パイナップル及びバナナについては、国際標準及び国内慣行いずれにおいても果実全体を分析部位としている点は同様である。但し、EUにおいては果肉と果皮を別々に分析して、全果実での残留値を算出する点は、国内慣行と相異している（グループ4）。残留農薬の暴露量を精密に評価する観点からは、EU方式での残留量の把握が望ましいものと考えられる。

根と葉に分別して分析する根菜類については、国際標準と国内慣行の概要に相異は認められなかった。しかしながら、根と葉の境界部分は、農薬の主要な残留部位であることが想定されるため、その取扱いの残