

図 4. 核果類の子実／果実の重量比

おうとう (□)、うめ (△)、すもも (●)、ネクタリン (×)、もも (○)

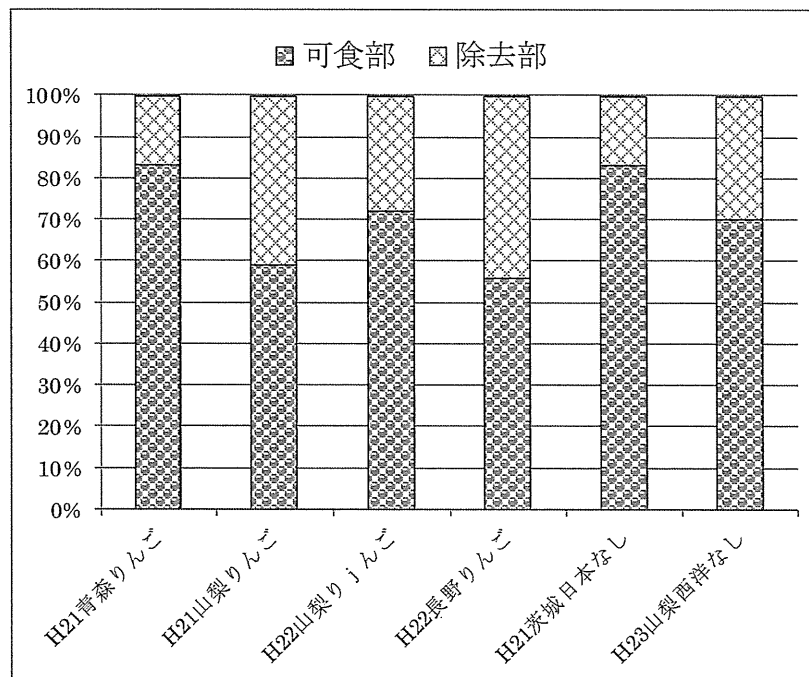
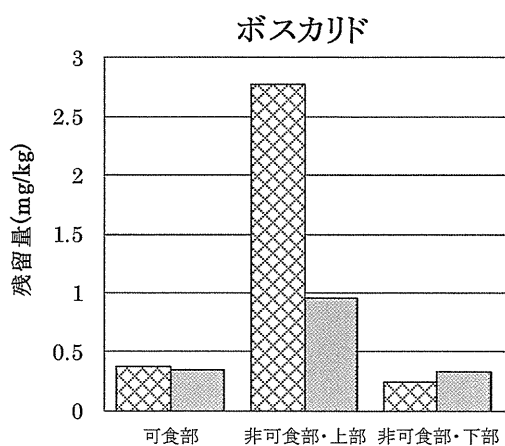
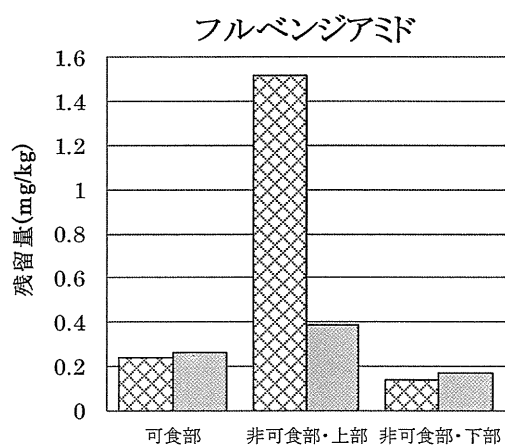
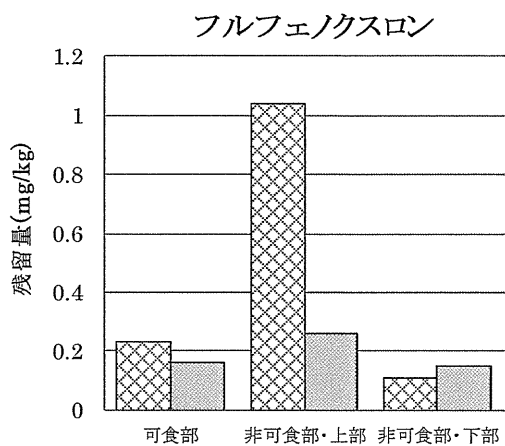
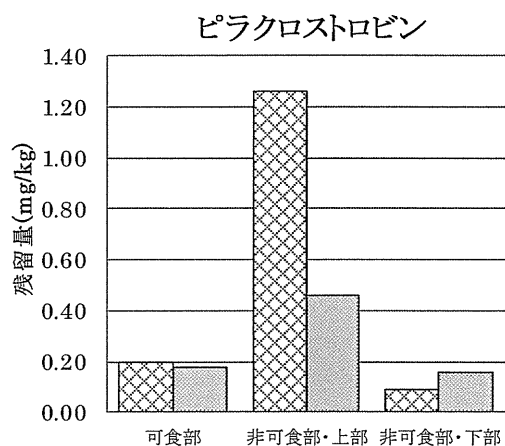
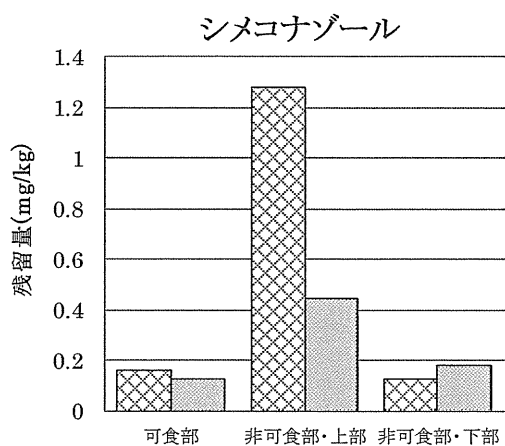
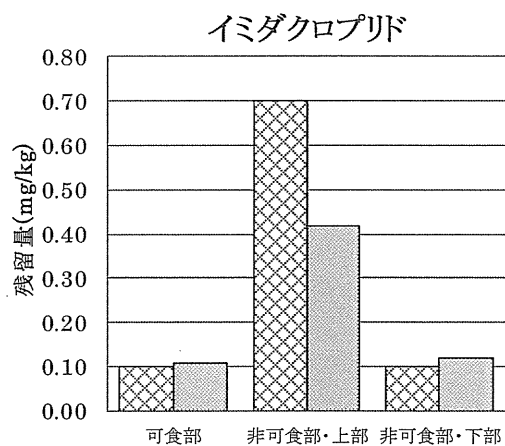


図 5. 仁果類における 6 農薬の平均残留値の部位別分布



非裂果試料

 裂果試料

図 6. 内部裂果の有無における部位別の残留値の比較

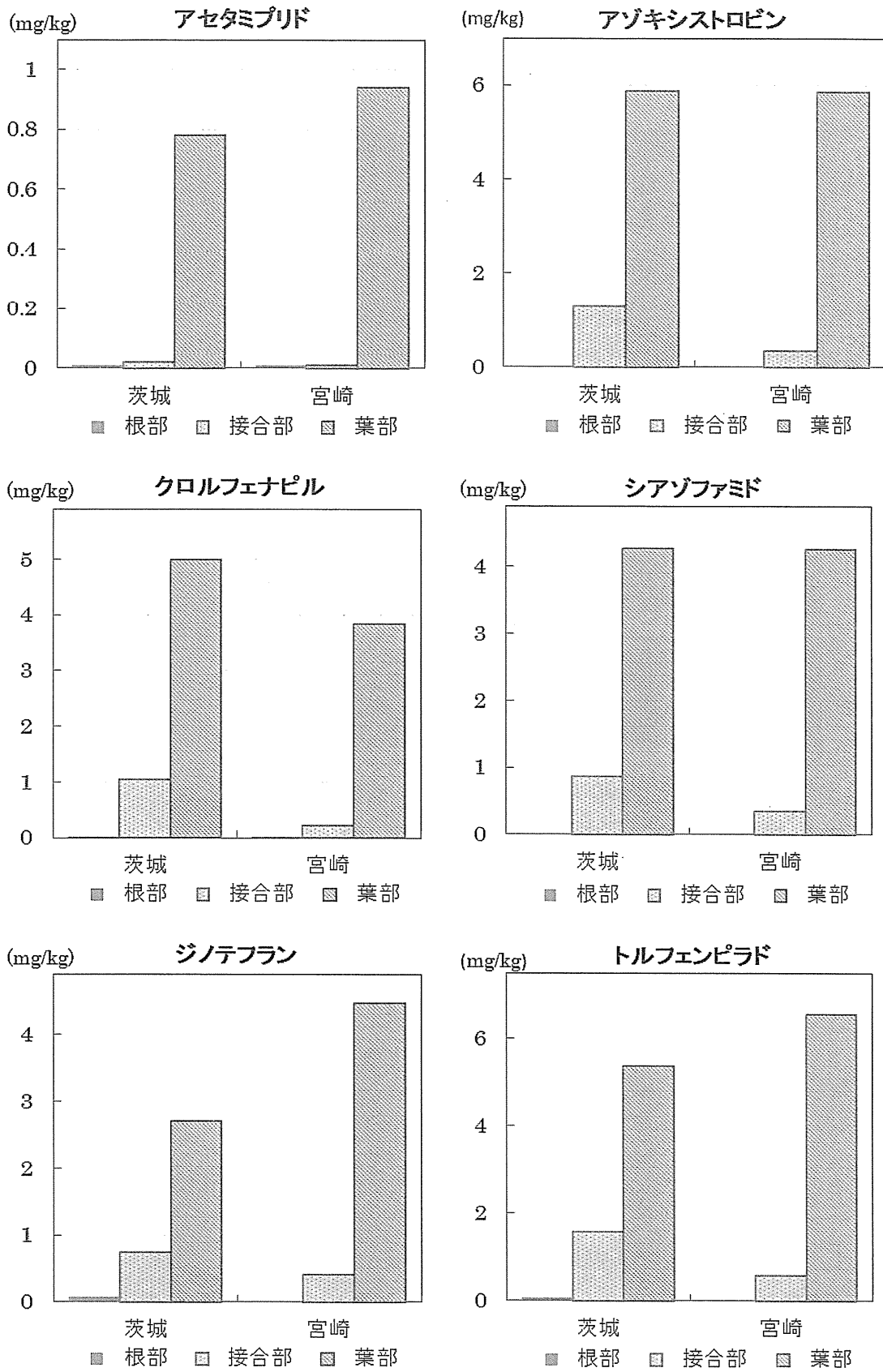


図 7. かぶにおける部位別の 2 圃場の平均残留値

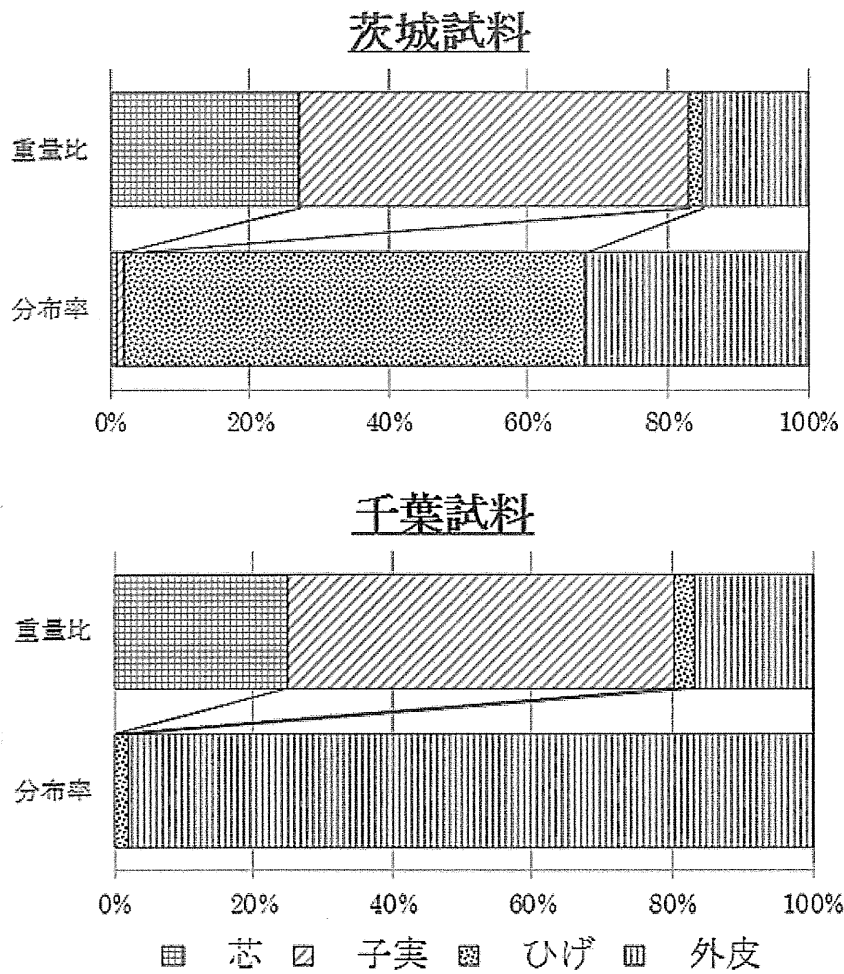


図 8. 未成熟とうもろこしにおける部位別の試料重量比率及び残留農薬分布率

資料 1. 説明用の仮想化合物に対する使用率の定量解析例
(QUA: Quantitative Usage Analysis)

(仮訳、THE ROLE OF USE-RELATED INFORMATION IN PESTICIDE RISK
ASSESSMENT AND RISK MANAGEMENT、 APPENDIX B – QUA)

サンプル化合物に対する使用率の定量解析

ケース番号: 0999 PC コード: 99999

1987～1995 年の間に入手された農薬調査使用情報によれば、サンプル化合物の米国内での年間推定平均使用量は、有効成分量として約 4,200,000 ポンドを 5,300,000 エーカーに処理していた。大部分の農耕地においては、通常、有効成分量として 1 ポンド未満の処理量を、1 年に 1 回だけ処理される。サンプル化合物は、トウモロコシ(50%)、ソルガム (21%)、アルファルファ (8.4%) そして米 (6.5%) に使用される殺菌剤として、有効活性成分量としては市場で最も販売量の多い殺菌剤である。米国内での栽培面積の多い作物であるアーティチョーク (40%)、ブロッコリー (21%)、米 (9%) 及びカリフラワー (8%) にも使用される。その使用方法は、液剤から水和剤に移行している。

説明用の仮想化合物に対する使用率の定量解析例

サンプル化合物 AI #:9999 EPA's 使用率の定量解析 分析者、連邦-B. 555-1111、 1999年1月6日

用法	栽培面積 (000)	処理面積 (000)		作物処理率%		有効成分投下量(000)		平均処理率			主要生産州 (各州での有効成分 投下量の比率)
		重量平均	最大 試算値	重量平均	最大 試算値	重量平均	最大 試算値	lb ai/ acre/yr	# appl /year	lb ai/A /appl	
農耕地											
クランベリー	29	0	2	1%	7%	0	2	1.1	1.0	1.1	WA 100%
いちご	51	2	4	4%	8%	1	2	0.6	1.0	0.6	OR WA 85%
りんご	452	16	42	3%	9%	45	125	2.8	1.6	1.8	WA OR 97%
ブロッコリー	71	15	23	21%	32%	13	24	0.9	1.0	0.9	MI DE OH NC WI 85%
キャベツ	84	3	4	3%	5%	4	7	1.4	1.4	1.1	VA NJ NC 89%
カリフラワー	34	3	5	8%	15%	4	9	1.6	1.0	1.6	NJ FL VA 94%
かぼちゃ	41	2	6	4%	15%	2	6	1.2	1.0	1.2	NJ TX 97%
すいか	258	15	27	6%	10%	9	12	0.6	1.0	0.6	VA IN TX 88%
ばれいしょ	1, 421	68	125	5%	9%	65	108	1.0	1.4	0.7	ND ID MN FL WA NC
66%											
未成熟トウモロシ	784	26	45	3%	6%	28	67	1.1	1.1	1.0	GA NY DE PA MD AL
70%											
アティョーク	9	4	6	40%	59%	4	6	1.0	1.0	1.0	
たまねぎ	149	4	9	2%	6%	4	11	1.2	1.4	0.8	NM NJ 82%
トウモロシ(乾燥)	72, 284	2, 220	4, 440	3%	6%	2, 085	4, 180	0.9	1.2	0.8	NE IL KS IA IN TX
53%											
大麦	7, 505	28	56	0%	1%	7	14	0.2	1.0	0.2	ND KY MT MN UT 82%
オート麦	4, 525	4	11	0%	0%	2	7	0.5	1.0	0.5	MS ND NH MI MT NC
84%											
ソルガム	11, 280	1, 271	2, 553	11%	23%	880	2, 048	0.7	1.0	0.7	KS TX NE FL MO 83%
米	2, 921	275	462	9%	16%	270	542	1.0	1.0	1.0	LA CA TX 87%
小麦	66, 652	121	263	0%	0%	37	85	0.3	1.0	0.3	VA AR 100%
アルファルファ	23, 949	686	1, 424	3%	6%	352	776	0.5	1.0	0.5	OK KS CA UT CO KY
49%											
落花生	1, 610	14	28	1%	2%	19	38	1.4	1.1	1.2	VA GA OK FL TX 84%
菜種	170								1.0		
大豆	62, 879	61	121	0%	0%	40	79	0.7	1.1	0.6	DE IL MD ND NC KY
65%											

ひまわり	2,745	75	211	3%	8%	36	121	0.5	1.0	0.5	ND KS SD 85%
綿花	12,689	342	865	3%	7%	120	310	0.4	1.1	0.3	TX MS LA AR OK 85%
麻	188	1	2	0%	1%	0	1	0.5	1.0	0.5	ND 100%
てんさい	852	40	65	3%	5%	42	100	1.0	1.0	1.0	ID NE TX WY MT 82%
サトウキビ											FL LA 88%
芝											
たばこ	695	14	34	2%	5%	32	65	2.3	1.0	2.3	KY NC TN VA IN 84%
バナナ	-										
コーヒー(輸入品)	-										
木材(木材)		0							1.0		
木材(日よけ、装飾品)		0							1.0		
森林管理		0	1			0	0	0.3	1.0	0.3	GA FL 100%
道路管理						50	100				
冷却塔管理	-										
観葉植物						3			1.0		
計			5,324		8,094		4,176		6,531		

項目タイトル

重量平均 (Weighted average) -- 最新情報や信頼性の高いデータに重みづけをして試算。

最大試算値 (Est Max) = 重量平均から算出した最大試算値

平均処理率 (lb ai/A/appl: 有効成分投下量/面積/年) は、重量平均ベースでの有効成分投下量を処理面積で除して算出

表中データに関する注意事項

1987～1995年のデータを使用

上記の計算では、次の数値理が適用されている点に留意：

栽培面積及び投下量は、それぞれ1,000エーカー及び1,000ポンド単位で取りまとめる（即ち、500以下の値は「0」）

作物処理率は、パーセント単位で取りまとめる（即ち、0.5%以下の値は「0%」）

0* = US-EPA は入手した情報では使用実績が確認されなかった値、即ち、極めて少量、もしくは殆ど使用実態が無いことを示す。

ダッシュ「-」は、US-EPA が十分な該当情報を得られなかったこと、もしくは入手情報が有効でなかったことを示す。

情報源：US-EPA (1988-1997)、USDA (1990-1996)、国立食物と農業政策センター (National Center for Food and Agricultural Policy、1992)

厚生労働省科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)

Ⅱ. 平成 21～23 年度分担研究報告

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:

2 統計手法を用いる最大残留量の算定手法 及び

2a Codex の食品及び飼料分類の改定と代表製品の選抜原則:文献調査

分担研究者 加藤保博 財団法人 残留農薬研究所

厚生労働省科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)

Ⅱ. 平成 21～23 年度分担研究報告

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:

2 統計手法を用いる最大残留量の算定手法 及び

2a Codex の食品及び飼料分類の改定と代表製品の選抜原則:文献調査

分担研究者 加藤保博 財団法人 残留農薬研究所

研究要旨

残留基準(MRL)を設定する際に参照する最大残留量を、統計手法によって推定する手法を、国内の作物残留試験データを用いて検討する。はくさい(露地栽培)とほうれんそう(施設栽培)における各5種及び4種農薬の作物残留試験を、適用範囲内の最大残留条件(一部はそれに準ずる条件)で実施し、各作物及び各農薬当り16例の残留データを得た。同データを用い、EUおよびNAFTAで使用されている統計手法による最大残留量推定手法及び、それらを踏まえて昨年開発されたOECDの手法、ならびに日本で現在使われている経験則による評価の結果を比較検討した。(1) MRL等級は、OECD、Codex、EU、NAFTA、日本で必ずしも統一されておらず、NAFTAおよびOECD法には独自のMRL等級が含まれている。(2) 16例のデータから算定されるMRLは、EU、NAFTA、OECDの3手法の中ではEU方式が最も小さく、OECD法とNAFTA法のMRLは概ね同等であった。日本の現行の標準的なMRL算定法はEUと概ね同等で、OECD法よりはやや低めのMRLを与えた。(3) 残留データの分布の型を適切に判定するには更に多くの試験例数が必要であった。例数の少ないデータセットに対しては、残留値の分布パターンに依存しないOECDの方式は望ましいと考えられた。(4) 16例のデータから抽出した3例のデータの組み合わせに対して、国内の現行の標準的MRL算定法は16例のHRよりも低い不適切なMRLを高い確率で導いた。一方、国内の最大法は、より大きなMRLを与え、不適切なMRLを与える確率は顕著に低下した。OECD法によるMRLは、国内の最大法の結果と同等か、少し低めとなった。(5) 不適切MRLを与える割合は、試験例数が増えれば低減した。低減効果は4例を5例にする場合よりも、3例を4例にする場合の方が高かった。

上記結果を踏まえ、OECDのMRL算定法は日本の現行法よりも大きなMRLを与えるが、3例など極少数例のデータでは不適切MRLを無視できない確率で与えるリスクは残る。導入に際しては、MRL設定は専門家による総合判断を優先させ、OECD法はその補助に使うのが望ましいと結論された。

その他、Codexの食品及び飼料分類改定と代表製品の選抜原則に関する文献資料を収集した。

研究協力者

飯島和昭、藤田眞弘、矢島智成：財団法人
残留農薬研究所化学部残留第1研究室

A. 研究目的

作物残留性試験（作残試験）は、登録する適用範囲内で農産物中の残留量が最大となる使用条件で農薬を処理した際の農産物中の残留量を調べる試験であり、残留基準値（MRL）は、当該農薬の作残試験から推定される農作物中の最大残留量に基づいて設定される。最大残留量の推定には、品種、気候、栽培（仕立て）法等による変動を考慮することが必要であり、かつ限られた例数の試験データを基にせざるを得ないことから、専門家の判断に委ねられてきた。一方、EU¹⁾では作残試験結果から最大残留量を統計学的に推定する方法がとられている。また、近年はEUの方法を拡張した方式がNAFTA²⁻⁴⁾で採用され、国際基準の設定の際に同手法が参照⁵⁻⁷⁾されるようになってきている。さらに、OECD⁸⁾でもMRLカルキュレーター⁹⁾の検討がされており、JMPR⁷⁾は、2009年の会合までにOECDカルキュレーターが完成していれば、同会合での基準値勧告に使い、完成していなければ従来どおり、NAFTAのMRLカルキュレーターを使うとし、国際基準の設定においては、統計手法を専門家による判定を行なう際のツールとして利用することが既定となっている。一方、国内では、農薬登録に要求されている作残試験例数が通常、2例であることから、MRLは経験則を基に設定されている。ただし、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ること、ならびに、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推定とMRLの算定手法が必要になると思われる。そこで、わが国農業慣行に基づく作残試験データを数種農薬について収集し、それらも含めた残留データベースを用いて、MRLを設定する手法を比較検討し、今後のMRL設定に役立てる（分担研究1）。

なお、各作物あたり収集する試験例数は、前述の統計手法で信頼性ある最大残留量を得るのに必要な試験例数とされる16例^{4,7,10)}とし、平成21年度と22年度の2年に分けて、2作物について収集する。また、OECDのMRLカルキュレーターは予定より遅れたが2011年3月に公表された¹¹⁾ことから、本事業の後半では、このOECDのMRLカルキュレーターの検討を主体にした。

上記の外、分担研究1aとして、国際機関における食品分類の改定について、公開資料の収集を行う。

B. 研究方法

分担研究1.

1. 調査農薬

表1に示す計7種の農薬（単剤）を使用した。これらは後記する当研究の被験農産物に適用があり、既存情報から定量限界以上の残留を見込めることから選択した。

2. 分析対象試料

当研究の開始時点における圃場での作物栽培計画上の制約のため、検討対象とする残留データセットの農作物には、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と、施設

栽培作物としてほうれんそうを選んだ。

前項の7農薬を有効成分とする市販農薬を処理した農作物試料及び無処理試料は、社団法人日本植物防疫協会に委託して調製した。表1に散布した農薬の製剤形と使用条件を纏めた。使用条件は、ラベルに表示された最小希釈倍率、最大散布量、最大散布回数、最終処理後収穫まで最短の期間とした。ただし、ほうれんそうに散布した一部の農薬（農薬6）については日程の都合で散布回数5回を3回に減らした。また、各農薬は、3~4剤を混合して使用した。

はくさい：5種の農薬を散布した処理区とそれらを処理していない無処理区の露地栽培はくさい試料を、青森県植物防疫協会（以下、青森）、岩手県植物防疫協会（岩手）、日本植物防疫協会茨城研究所（茨城）、群馬県植物防疫協会（群馬）、石川県植物防疫協会（石川）、日本植物防疫協会千葉試験場（千葉）、同協会山梨試験場（山梨）、日本植物防疫協会高知試験場（高知）及び同協会宮崎試験場で調製した。これらのうち、青森は平成21年度のみ、石川は平成22年度のみである。分析対象試料（各圃場5個以上）は、各々を縦に4~16分割し、対角の2つを取り合わせた。芯を除去し、細切後、その一部を無作為に取り、密封して冷凍保存（-20℃）した。分析直前にミキサーで磨砕均一化した。

ほうれんそう：4種の農薬を散布した処理区とそれらを処理していない無処理区の施設栽培ほうれんそう試料を、福島県植物防疫協会（以下、福島）、日本植物防疫協会茨城研究所（茨城）、同協会千葉試験場（千葉）、同協会山梨試験場（山梨）、長野県植物防疫協会（長野）、三重県植物防疫協会（三

重）、奈良県植物防疫協会（奈良）、徳島県植物防疫協会（徳島）、日本植物防疫協会高知試験場（高知）及び同協会宮崎試験場（宮崎）で調製した。このうち、三重と徳島は平成21年度のみ、奈良と長野は平成22年度のみである。各分析対象試料は、その一部を無作為に又は2分割し、1kg以上を細切後、密封して冷凍保存（-20℃）した。分析直前にミキサーで磨砕均一化した。

3. 農薬標準品

検討対象とした計7種の農薬有効成分の標準品は和光純薬工業株式会社または林純薬工業株式会社から購入した。純度はいずれも98.9~100%である。

4. 試薬

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。

C₁₈ ミニカラムはジーエルサイエンス製の InertSep C18-C (1 g/6 mL)を使用した。

グラファイトカーボンミニカラムは SUPELCO 製の Supelclean ENVI-Carb (0.5 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。

5. 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（松下電器産業製；H21年度）、ロボクープブrikサー（株式会社エフ・エム・アイ製；H22年度はくさい）、または

ラッセルホブス 3901JP (ソルトン・ヨーロッパ製; H22 年度ほうれんそう)。縦振り振とう機: SR-2W (タイテック製)。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)。

6. 分析操作

分析操作全体の概要を図 1 に示す。

6.1. 妥当性確認用試料の調製

均一化した試料 20.0 g を三角フラスコに量り取った。添加用 10 mg/L および 0.2 mg/L の 3 成分または 4 成分混合標準溶液 (アセトニトリルまたはアセトン溶液) 1 mL を添加して 30 分間放置し、添加濃度 0.5 および 0.01 mg/kg の添加回収用試料とした。その他、同様な方法で調製した添加用標準溶液または標準溶液を添加して 1、2、5、10、15、20 mg/kg の添加回収用試料とした。これらの分析により分析法の妥当性確認をした。

6.2. 分析

6.2.1. 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 定容とした。農薬 3 の抽出ではアセトニトリルの代わりにアセトンを抽出溶媒とした。

6.2.2. 精製

6.2.2.1. グラファイトカーボンミニカラム精製 (農薬 1)

グラファイトカーボンミニカラムにアセトニトリルおよび水を順次 5 mL ずつ流下し前処理した。抽出液 1 mL (試料 0.1 g 相当量) に水 10 mL を加え混合後、前処理したグラファイトカーボンミニカラムに流下した。さらに、アセトニトリル/水(10:90、v/v)混液 10 mL で容器内を洗浄し、これをグラファイトカーボンミニカラム移して流下し、その流出液を捨てた。次いで、アセトニトリル/水(40:60、v/v)混液 5 mL を流下し、溶出液を取った。

6.2.2.2. C₁₈ ミニカラム精製 (農薬 2-7)

C₁₈ ミニカラムにアセトニトリルおよび水を順次 5 mL ずつ流下し前処理した。抽出液 1 mL (試料 0.1 g 相当量) に水 10 mL を加え混合後、前処理した C₁₈ ミニカラムに流下した。さらに、アセトニトリル/水(40:60、v/v)混液 10 mL で容器内を洗浄し、これを C₁₈ ミニカラム移して流下し、その流出液を捨てた。次いで、アセトニトリル 10 mL を流下し、溶出液を取った。農薬 3 では、アセトニトリル/水(40:60、v/v)混液の代わりにアセトニトリル/水(60:40、v/v)混液を使用した。

6.2.2.3. グラファイトカーボンミニカラム精製 (農薬 4、6、7; ほうれんそう)

C₁₈ ミニカラムの溶出液を、7.2.2.1 に記載の方法で前処理したグラファイトミニカラムに流下した。さらに、アセトニトリル/トルエン(75:25、v/v)混液 20 mL で容器内を洗浄し、これをグラファイトカーボンミニカラム移して流下し、全溶出液を取り、40°C 以下の水浴中で減圧濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去した。

6.2.3 定量

溶出液を、平成 21 年度はアセトニトリ

ル（農薬 1、2、4）または水（農薬 3）で 10 mL に定容した。更に、必要に応じて農薬 3 ではアセトニトリル/水(20:80、v/v) 混液で、その他はアセトニトリルで希釈した。平成 22 年度は、溶出液を水（農薬 1）、アセトニトリル（農薬 2～5；はくさい）で 10 mL に定容または残留物をアセトニトリル 2 mL で溶解（農薬 4、6、7；ほうれんそう）した。更に、農薬 1 ではアセトニトリル/水（20:80、v/v）混液で、その他はアセトニトリルで希釈した。

シリンジフィルターを用いてろ過後、その 10 μ L を第 7.3 項で示す条件の高速液体クロマトグラフに注入してピーク面積を求め、検量線より各農薬成分の重量を求め、試料中の残留濃度を算出した。

6.3. LC-MS/MS の操作条件

6.3.1. 高速液体クロマトグラフ

カラム：ZORBAX Eclipse Plus C18 1.8 μ m (2.1 mm i.d.×100 mm、Agilent 製)。カラム温度：40°C。注入量：10 μ L（平成 21 年度）または 5 μ L（平成 22 年度）。移動相：アセトニトリル/5 mM 酢酸アンモニウム(v/v)、農薬 1 では 8：92、農薬 3 では 80:20－3min-90：10)、農薬 2 及びはくさいの農薬 4 では 50:50－6min- 95:5、農薬 5、6、7 及びほうれんそうの農薬 4 では、60:40(3.5min)-2.5m-95:5-95:5 (2min)。ただし、農薬 5（両作物）については平成 22 年度は 50:50-6min とした。流速：農薬 1 では 0.3mL/min、その他でははくさいでは 0.4mL/min、ほうれんそうでは 0.5 mL/min。

6.3.2. 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°C(農薬 1 で

は 300°C)、乾燥ガス流量：5 L/min、ネブライザー圧力：45 psi（農薬 1 では 35psi)、イオン導入電圧：3500 V（農薬 1 では 2500V、農薬 6、7 では 5000V)、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、フラグメンタ電圧およびコリジョン電圧等は表 2 にまとめた。

6.4. 検量線の作成

標準原液をアセトニトリル(農薬 1 ではアセトニトリル/水(20:80、v/v)混液)で希釈し、各分析成分濃度が 0.00005、0.0001、0.0004、0.001 および 0.002 mg/L（平成 21 年度）または 0.00025、0.0005、0.002、0.005 および 0.01 mg/L（平成 22 年度）の検量線用の混合または個別の標準溶液を調製した。その標準溶液を第 7.3 項の操作条件の LC-MS/MS に注入し、MRM クロマトグラムを解析してピーク面積値を求めた。各農薬成分の重量を横軸に、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。

6.5. 回収率および残留濃度の算出

試料溶液を、第 6.3 項の操作条件の LC-MS/MS に注入して、ピーク面積を測定し、各農薬成分の添加濃度に対する回収率および残留濃度を算出した。

6.6. 保存安定性試験

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 混合標準溶液または個別農薬の標準溶液各 1 mL をそれぞれ別々に添加して-20°Cに保存した。全試料の分析終了後、同様に分析して回収率を求めた。

7. 解析

1) 統計検定、最大残留量及び MRL 等算定

Shapiro-Francia 検定、EU 方式および NAFTA 方式による最大残留量の推定及び MRL の算定には、米国 EPA の HP から入手した NAFTA の MRL カルキュレーター スプレッドシート第 3 版(2009 年 8 月;The NAFTA MRL/Tolerance Harmonization Work group 作)を使用した。OECD の MRL カルキュレーターは、マニュアル及び白書とともに、OECD の HP から入手した (47241282、4724108 ; env-jm-mono 2011)2-ENG、Env-jm-mono(2011)3-ENG)。

OECD 法による最大残留量の推定及び MRL の算定は上記白書に従ったが、OECD の MRL カルキュレーターソフトは使わず、マイクロソフト社のエクセル 2010 ソフトウェアを用いて算出した。一部のデータについて、OECD カルキュレーターの結果とエクセル 2010 で実施した結果との同一性を確認した。

2) 厚生労働省の現行方式による MRL 算定

使用基準範囲内の 2 例(またはそれ以上)の作物残留試験で認められた最大の残留濃度の平均値を基にして算定された MRL 案が通常、MRL 案とされる。これを“MHLW-MRL(標準)”とした。残留値が著しくばらつくような場合、平均値ではなく、2 例(以上)の最高値を基に算定される場合もあり、これを“MHLW-MRL(最大)”として表示した。

3) 残留データの組み合わせ

各農薬、作物当たり 16 例の試験データからの 3 例、4 例、および 5 例のデータの組み合わせ、それぞれ、560 組、1820 組、4366 組は、マニュアルで作成した。

C. 結果および考察

分担研究 1

1. 定量限界および分析法の妥当性

定量限界 (LOQ) は全農薬とも 0.01 mg/kg とした。分析法の妥当性は、圃場別の各無処理区試料ごとに 3 反復で行った添加回収試験の平均回収率と RSD で初年度に評価し、2 年度目は 1 反復の回収率で再確認した。添加濃度は LOQ である 0.01 mg/kg と高濃度 0.5 mg/kg とし、処理区で検出された濃度に応じて、1、2、5、10、15 または 20 mg/kg 添加の回収試験を追加実施した。分析法妥当性確認の結果は表 3 に示すように、全分析農薬、両作物とも良好であった。なお、平成 22 年度群馬産はくさい試料の無処理区試料において農薬 4 が 0.08 mg/kg 検出されたため、回収率算出時は検出値を差し引いて回収率を求めた。他の無処理区試料ではいずれの農薬についても妨害となるピークは検出されなかった。

保存安定性試験：はくさい試料の保存期間は 39 日～171 日、ほうれんそう試料の保存期間は 40 日～158 日であった。両農産物の保存安定性試験試料の回収率は、70%～102%の範囲であり、いずれの農薬においても保存安定性の問題は認められなかった (表 3)。

2. 処理区試料における残留値

2 年間にわたり、はくさいとほうれんそう各 16 例 (21 年度 8 例+22 年度各 8 例) の試験における 5 種または 4 種農薬の残留値の分布データを、はくさい 9 県、ほうれんそう 10 県の試験場から得た。表 4 に残留データとその解析結果を示す。

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がすべての試料で LOQ を超えて残留していた。農薬別に 16 例の残留データでみた最大値と最小値の比は、はくさいが 4.5~11 倍 (平均 7.1 倍)、ほうれんそうで 3.6~5.7 倍(平均 4.8 倍)であり、はくさいの方が大きい傾向が伺われた。

同じ試験圃場で 2 年 (2 回) の残留試験データが得られたはくさい 7 試験地、ほうれんそう 6 試験地における 2 年の残留値を比較した。図 2 に示すように、年次差は、はくさいとほうれんそうでは、はくさいの方が顕著であり、はくさいで最大 4.1 倍(平均 2.1 ± 0.91 倍)、ほうれんそうでは最大でも 2.1 倍であった。年次差は試験地による違いが大きく、高知県や岩手県は年次差が小さく、千葉県は大きかった。この傾向は薬剤が変わっても同様であった。これは、本研究では、各薬剤を別々の圃場区画に散布して薬剤ごとに独立した試験としたのではなく、複数剤 (3~4 剤) の混合剤として散布したためと考えられる。

今回調査した大部分の農薬の現行 MRL は、はくさいにおける農薬 2 とほうれんそうにおける農薬 6 を除いて、今回の作残試験データから算定される標準的 MRL (後記) の範囲に入っており、作残試験の測定値も現行 MRL 未満であった。例外となった、はくさいにおける農薬 2 の現行 MRL は、本研究の残留値から算定される標準 MRL 案よりも小さく、測定された最高濃度 (HR) は現行 MRL を少し超えていた。また、農薬 6 のほうれんそうにおける現行 MRL は本研究の残留データから算定される標準的な MRL 範囲よりも小さな値に設定されており、作残試験の全測定値が現行

MRL を超えていた。概して、ほうれんそうでは、調査した 4 農薬ともその MRL は、適用範囲での使用によって生じる最大残留レベルに比べて余裕の少ない値に設定されていた。

3. 残留値の分布

残留値の分布をヒストグラム (図 3) に表したほか、Shapiro Flancia 検定と、Jarque Bera 検定を行い (表 5)、残留値分布の非正規性を検討した。

Shapiro-Francia の検定では、対数正規分布に従っているとの仮説は、両作物のいずれの農薬についても棄却されなかった ($P > 0.05$) が、Jarque-Bera の検定では、はくさいにおける農薬 5 及びほうれんそうにおける農薬 7 の分布を除いて、正規分布ではないとの仮説が棄却された ($P > 0.05$)。両検定で 9 データセット中の 7 セットで類似の判定結果となったが、2 データセットでは一致しなかったことから伺われるように、今回の試験例数 (16) 程度の集団で残留値の分布が正規分布か対数正規分布かを的確に判定するのは困難であると思われる。これは、ヒストグラムを参照しても同様であった。

4. 統計手法を用いた最大残留量推定手法の比較

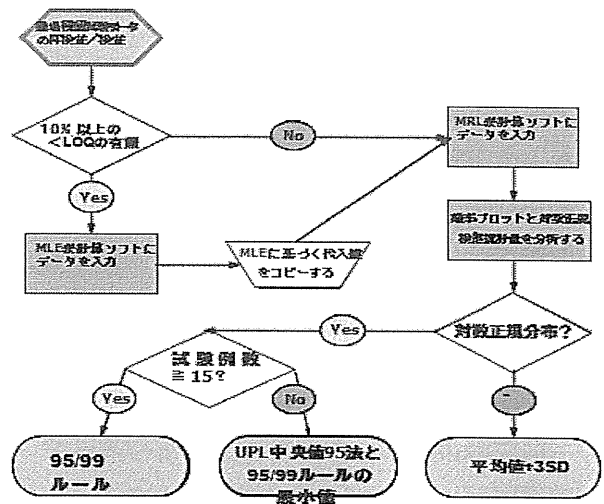
作物残留試験データから統計手法を利用して最大残留量を推定し、MRL を設定する既存の主な手法には、次の 3 法がある。

EU の方式には 2 方式があり^{1, 4)}、EU1 法は、残留値の分布は正規分布に従うと仮定し、95 パーセンタイル値の 95%信頼限界上限 (= 平均値 + $k \cdot$ 標準偏差) を最大残

留量と推定する方式である。kは95%信頼限界上限を考慮した係数で、母数>30の場合、kは2となる。また、RSD=1であれば、最大残留量は平均値の3倍と算定される。もう1つの方式は分布に依存しない場合、分布の75パーセンタイル値の2倍を最大残留量に採用する方式(EU2)である。EU1法とEU2法の両方で計算し、小さい方の出力値を最終的に採用する。数値を切り上げ法で丸め、MRL等級(表6)に当てはめ、MRLにされる。

NAFTAの手法は、残留値の分布の対数正規性をShapiro-Francia法で検定し、正規分布であれば、平均値+3・標準偏差を最大残留量にする(n=9では、EU1法と一致)。一方、対数正規分布に従う場合で、試験例数が15以上の場合は、95パーセンタイル値の95%信頼限界上限と99パーセンタイル値のうちの小さい方を最大残留量とし(「95/99ルール」)する。例数が15未満の場合は、中央値の95%信頼限界上限(UPLMed95)と95/99ルール値のうちの小さい方を最大残留量とする。NAFTAの方式は、下図のフローのように、上記に加えて、<LOQのデータが含まれる場合の措置

も加味されており、複雑な方式になっている。最大残留量は、切り上げてMRL等級(表6)に当てはめ、MRLとされる。



OECDの手法は、EUとNAFTA両者の方式を踏まえた最新の手法であり、MRL算出のスプレッドシートと白書、およびマニュアルが本年度末に公表された(11・12)。同方式は、最大残留量の推定を特定の分布パターンに依存しない方法をとっていることと、<LOQを含むデータセットにも対応している点が特徴であり、EUおよびNAFTAの既存データを使ってその妥当性の検証が行われ、白書に纏められた(下表参照)。

OECDのMRL算定法概要
<ul style="list-style-type: none"> ● 分布に依存しない方法を採用する。 ● 採用するデータ: GAPからの逸脱範囲が±25%以内のデータ。 ● 最大残留量は、次の①~③の中の最大値を採用する: <ul style="list-style-type: none"> ① 最高濃度(HR)、 ② 平均値+4・標準偏差、 ③ 3・平均値・CF CF=1~2/3・(<LOQデータの割合)で、<LOQの割合に応じて平均値の1倍から3倍の範囲をMRLにする。すなわち、<LOQが含まれていない場合、CF=1とし、平均値の3倍をMRLにする。全データが<LOQの場合、CFは1/3となり、LOQをMRLとする。 ● 最大残留量は次のように丸め、OECDのMRL等級に当てはめてMRL案にする: <ul style="list-style-type: none"> ① 1~10は1桁の数値、10~100は10の整数倍に丸める。 ② 1と2の間に1.5を設ける。その10倍(10と20)または1/10(0.1と0.2)、1/100(0.01と0.02)についても同様とする。 ③ 最後の数値より小さな位をMRLに付けない(1は良いが、1.0とはしない)。 ④ 最大残留量は、原則、切り上げて丸め、OECDのMRL等級に当てはめてMRL案とする。 ⑤ ただし、隣接MRL等級との差の1/10以下の場合は、切り下げる(0.021の例: 隣接MRL等級は0.02と0.03。その差の1/10は0.001であり、MRLは0.002。0.153の例: 隣接MRL等級は0.1と0.2。その差の1/10は0.005と0.01であり、MRLは0.15)。

16例の残留データセットに基づくEU、NAFTA、OECDの手法による推定最大残留値とMRL算定値を表5に纏めた。EU、NAFTA、OECDの手法によるMRL算定値は、当研究の残留データについては、EU方式によるものが全例で、最も小さな値となった。また、OECD法はNAFTA法と同等の結果を与えた。これらと日本の経験則に基づく、標準的な方法で算定した基準値案は、EUと同等、OECD法とは同等かやや低めの結果となった。

前述のように、本研究で扱った作残試験の残留データは、16例の試験であるが、その分布パターンを適切に特定するのは難しく、更なるデータが必要であった。現在農薬登録に当たって求められる作残試験の例数は、農薬、使用法、作物当たり2例(2県)以上であるが、農薬登録制度の改正に伴い、平成26年度以降に申請されるものについては、特に生産量の多い作物では6例以上に、その他は3例以上(生産量の少ない作物は2例以上)にそれぞれ増やされた¹³⁾。ただし、この例数は今回の調査の試験例数よりも更に少なく、分布パターンに依存した最大残留量推定方式では不適切な結果を導く可能性が危惧される。本研究で検討対象とした試験はごく限られたものではあるが、統計法による最大残留量推定手法としてはOECDの方式が望ましいと期待される。

5. 不適切MRLを導く割合

図4に16例のデータベースから抽出した3例の全ての組み合わせのデータに基づくOECD法によるMRLの分布をまとめた。

MRLの分布は様々であり、16例試験によるMRLは3例の試験の結果を基にしたMRLの分布の最高頻度と一致する場合もあれば大きくずれる場合もあった。表7に纏めたように、3例データに基づくMRLの1/5から1/2は、16例データに基づくMRLよりも低いMRLとなった。測定値のHR未満のMRLは、ラベルに表示された使用基準を守って農薬を使用してもMRLを超える残留量となるようなMRLであり、不適切なMRLとなる。16例のデータのHR未満の不適切なMRLを与える割合は、低いもの(<5%:はくさい農薬4及びほうれんそうの農薬1、4、6)がある一方、はくさいの農薬2及び3のように約20%の高比率で不適切MRLを与えるというものも認められた。

試験例数とこの不適切MRLの発生比率との関係を見るため、試験例数を3例から5例まで増やして検討した(図5及び表7)。試験例数を増やすことによって、不適切MRLが導かれる比率は低減したが、5例でも10%近くが不適切MRLとなる場合があった(はくさい、農薬2)。「特に生産量の多い農産物」への登録に求められることになる試験例数6例の組合せは、調べていないが、3例から5例までの減少傾向からは6例となっても5例の場合よりも顕著には減らないと推測される。

6. 現行方式によるMRLとOECD方式の比較

MRLの分布と不適切MRLの発生頻度を指標にして、現行の日本方式のMRL算定法とOECDの方式とを比較した。

両方式は、経験則を基にしているか統計手法に基づいているかの違いに加えて、基

準値等級にも違いがあり、OECD の基準値等級 (表 6) には、日本に無い基準値等級 (0.15、1.5、15 及び 4、6、8、 9×10^n) が設定されており、両者を単純には比較できない。例えば、OECD 方式の最大残留量 1.2 ppm は OECD の MRL 等級 (“OECD-MRL”) では 1.5ppm となるが、日本の MRL 等級 (“OECD-MTL(jpn)”) では 2 ppm となる。また、同様に 0.71 ppm は、OECD の MRL 等級では 0.8ppm であるが、日本の等級では 1 ppm となる。そこで、OECD の最大残留量を日本の現行 MRL 等級に当てはめて、MRL の分布と不適切 MRL (n 例データによる $MRL < 16$ 例データの HR) を与える頻度についても比較した。また、現行の基準値について、方法の項に記載したように、標準 MRL (“MHLW-MRL (標準)”) と最大 MRL (“MHLW-MRL(最大)”) の 2 通りを算定した。図 6 と表 8 は 3 例の試験例数で調べたその結果である。

OECD の MRL 等級を日本の等級に対応させた OECD-MRL(jpn) の分布は、約半数の例で、元の MRL 分布とは異なる分布となった。OECD-MRL の分布および OECD-MRL(jpn) の分布は、はくさいでは、多くの例で現行の標準 MRL の分布よりも高濃度側に高頻度の分布となった。一方、最大 MRL の分布とは、OECD-MRL(Jpn) は 5 例中 4 例 (農薬 1、2、3 及び 4) で、ほぼ一致したが、OECD-MRL の分布との比較では、最大 MRL の方が高濃度側に高頻度で分布する例も見られた。ほうれんそうでも、OECD-MRL(jpn) は、現行最大 MRL の分布よりも高濃度側に高頻度で分布した。

上記の結果を反映して、不適切 MRL を与える割合は、1 例 (ほうれんそう、農薬 1) を除いて、OECD 法と現行最大 MRL 法とで概ね同等であった。一方、現行標準 MRL 法は、不適切な MRL を与える割合が極めて高く、OECD 法に比べても高かった。なお、OECD 法による不適切 MRL の発生割合は、OECD の基準値等級を日本の基準値等級にした場合もほとんど変わらなかった。

7. まとめ

- ・ 2 年に渡って 9 県または 10 県で、はくさい及びほうれんそうにおける各 5 種及び 4 種の農薬の、各 16 例の作物残留試験を実施した。この残留データを利用して以下の結果を得た。
- ・ MRL 等級は、OECD、Codex、EU、NAFTA、日本で必ず霜統一されており、NAFTA および OECD 法には独自の MRL 等級が含まれている。
- ・ 16 例のデータから算出される MRL は、EU、NAFTA、OECD の 3 手法の中では EU 方式が最も小さく、OECD 法と NAFTA 法の MRL は概ね同等であった。日本の現行の標準的な MRL 算定法は EU と概ね同等で、OECD 法よりはやや低めの MRL を与えた。
- ・ 残留データの分布の型を適切に判定するには更に多くの試験例数が必要であった。例数の少ないデータセットに対しては、残留値の分布パターンに依存しない OECD の方式は望ましいと考えた。
- ・ 16 例のデータから抽出した 3 例の試験例に対して、国内の現行の標準的 MRL 算定法は 16 例の HR よりも低い不適切な

MRL を高い確率で導いた。一方、国内の最大法は、より大きな MRL を与え、不適切な MRL を与える確率は顕著に低下した。

- OECD 法による MRL は、国内の最大法の結果と同等か、少し低めとなった。
- 16 例のデータの HR 未満の不適切 MRL を与える割合は、試験例数が増えれば低減した。低減効果は 4 例を 5 例にする場合よりも、3 例を 4 例にする場合の方が高かった。

分担研究 2a.

Codex 食品及び飼料分類の改定及び代表製品の選抜：文献調査

残留基準 (MRL) の設定に係る产品分类の基礎にしている Codex の食品及び飼料の分類表の改定作業が Codex の残留農薬部会で進められているほか、産品グループとしての MRL を設定する場合の当該産品グループの代表産品の選定、及び他産品グループに残留値を外挿する原則とガイダンスの作成も同部会で進められており、Codex 委員会残留農薬部会 (CCPR) 会合に報告された関連資料を下記 URL から収集した。

<http://www.codexalimentarius.org/meetings-reports/en/>

1. Codex の食品分類改定

食品中残留農薬の MRL を定めるための Codex の食品分類表は、1989 年に Codex 残留農薬部会 (CCPR) で採択され、1993 年に第 1 回目の改定¹⁴⁾がなされている。その後、2004 年に更なる改定の作業が開始され、2006 年に改定版初案¹⁵⁾が公表さ

れた。以降、これまでに、ナッツ類、ハーブ、及びスパイス^{15・16)}、特定の野菜^{15・17)}、食用花と熱帯性及び亜熱帯性果実 (皮も食用とするもの及び食用としないもの) を除く果実類 19、21)、食用花と熱帯性及び亜熱帯性果実 (皮も食用とするもの及び食用としないもの)^{20・21)}、についての改定案が出され、Codex 規格作成の手続きのステップ 4 から 7 の段階になっている。

①ナッツ類、ハーブ、及びスパイス：

ステップ 6

②特定野菜：ステップ 4

③食用花と熱帯性及び亜熱帯性果実を除く果実：ステップ 7

④食用花、熱帯性及び亜熱帯性果実：ステップ 7

2. グループ MRL を設定するための代表産品の選抜原則とガイダンス：

2009 年の CCPR で、産品グループとしての MRL を設定するための代表産品を選抜するに当たっての原則とガイダンスが提案され⁹⁾、修正等が積み重ねられて、2012 年には果実類の例とともに Codex 規格作成手続きの最終段階であるステップ 8 に進めることが合意された²¹⁾。

代表産品は、当該産品グループの中で、次の 3 点、少なくとも①と②の 2 点は満たすこととされた⁸⁾。また、産品グループ MRL は個々の代表産品もしくは統合したより大きなデータセットの最高値として良いが、ALARA (As Low As Reasonably Achievable) の原則と、食事摂取リスクへのインパクトを考慮すべきとされた。代表農産物は、同一または類似の GAP の下では、当該産品グループまたはサブグループの中の高残留値の良き指標となるようなも

のであること。

これまでに、前述のようにステップ 8 に進められた果実類^{15、16)}の例の外、野菜類（鱗茎類、あぶらな科野菜、ウリ科以外の果菜類、葉菜類、茎葉野菜）15、17)の代表作物の例（ステップ 3）が提案されている。

代表作物選抜の 3 原則：

（類いの GAP に従って当該農薬が使用される）当該産品グループの中で、

- ①生産量及び消費量の点で主な産品
- ②残留レベルが最も高いと思われる産品
- ③形態、栽培法、病害虫、及び可食部がグループ内で類似している

D. 結論

OECD の手法は、現行の国内標準方法に比べてより適切な最大残留量の推定と MRL を導く。しかし、農薬登録制度改定後の農薬登録に要求される試験例数は「特に生産量の多い」農産物でも 6 例(以上)であって、最大残留量を高い精度で推定するには統計学的には十分な例数ではない。3 例など極く少数例のデータでは不適切 MRL を無視できない確率で与えるリスクは残る。OECD 法の導入に際しては、MRL 設定は専門家による総合判断を優先させ、OECD 法はその補助に使うことが望ましいと思われる。また、OECD 法は現状よりも大きな MRL を提示することになるため、暴露量の評価を精密化することが一層重要になろう。

Codex における食品及び飼料分類の改定作業は Codex 規格作成のステップ 4 から 7 の段階に、また、代表産品の選抜につい

ては、3 原則が定められ、ステップ 8 にまで進んだ産品群もあるが、初期の段階に留まっているものもある。

E. 参考文献

- 1) Commission of the European Communities, Directorate General for Agriculture: VI BII-1, Appendix 1, Calculation of maximum residue levels and safety intervals. 7039/VI/95 EN, 22/7/1997
- 2) US-EPA, EPA-HQ-OPP-2007-0632-0003, Canadian PMRA, PRO2005-4: Guidance for setting pesticide maximum residue limits based on filed trial data.
- 3) NAFTA MRL calculator (Aug, 2009) : www.epa.gov/oppfead1/international/niftatwg/mrl-calculator.xls
- 4) US-EPA, EPA-HQ-OPP-2007-0632-0002: Statistical Basis of the NAFTA Method for Calculating Pesticide Maximum Residue Limits from Field Trial Data
- 5) FAO: Pesticide residues in food 2006, FAO Plant Production and Protection Paper, 187, 21 (2006)
- 6) FAO: Pesticide residues in food 2007, FAO Plant Production and Protection Paper, 191, 18 (2007)
- 7) FAO: Pesticide residues in food 2009, FAO Plant Production and Protection Paper, 196, 3 (2009)
- 8) Discussion paper on the calculation method for the estimation of maximum residue limits for pesticide being developed through the OECD, CX/PR