令和元年度厚生労働行政推進調査事業費補助金
食品の安全確保推進研究事業

食品に残留する農薬管理における方法論の国際整合に関する研究

総括・分担研究報告書

研究代表者

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部　**渡邉敬浩**

研究分担者

農林水産省・顧問 (大臣官房参事官)　**山田友紀子**

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部　**登田美桜**

令和 2 年(2020 年)　5 月

目　次

I. 総括研究報告

食品に残留する農薬管理における方法論の
国際整合に関する研究

渡邉敬浩

令和元年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 食品の安全確保推進研究事業

食品に残留する農薬管理における方法論の国際整合に関する研究
総括研究報告書

研究代表者　渡邉敬浩　　国立医薬品食品衛生研究所安全情報部
研究分担者　山田友紀子　農林水産省・顧問 (大臣官房参事官)
研究分担者　登田美桜　　国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

研究概要

研究課題 1. 農薬の残留基準値設定に資する方法論の国際整合と実際の評価に関する研究

食品における農薬残留物のリスク管理措置として、適正農業規範(GAP)に規定された農薬使用基準の遵守の推進及び、使用基準遵守の指標である最大残留基準値(Maximum Residue Limit;MRL)の設定がある。わが国におけるこれまでの MRL 設定には、国際的な方法論や原則から乖離する事例があった。しかし、食品の安全性の確保だけではなく、輸出入に関する係争を回避するためにも、国際的に合意されている原則や方法論への整合が一層強く求められている。

JMPR 報告書の翻訳と解説：本研究では、これまでに FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議(JMPR)の FAO パネルが開発し活用している文書をもとに、MRL 設定方法の基本と考え方をまとめた文書(MRL 設定ガイド)を開発してきた。本ガイドは、JMPR による最新の評価等を踏まえ、更新を検討する必要がある。本年度研究においては、MRL 設定ガイドの更新検討も念頭に、本ガイドに沿った実践を行う評価者の能力向上に資する文書の開発を目的とし、選定した剤(2,4-D)に関する JMPR 評価書の翻訳と解説を行った。

データ要件ガイドラインに含めるべき事項の抽出：研究課題 2 により、MRL 設定のためのデータ要件ガイドライン(データ要件ガイドライン)の厚生労働省による策定が支援されている。関連する OECD ガイドラインにより示された必ず従うべき主要な原理･原則を、データ要件ガイドラインには含め、その上で、わが国の状況に適した MRL 設定に必要なデータの種類や取得に関する指針を示さなければならない。本研究では、農薬製

造事業者等がデータ要件ガイドラインに従いデータを取得する際の参考とされることを期待し、関連する OECD ガイドラインの翻訳を進めた。また、データ要件ガイドラインに含めなければならない、必ず従うべき主要な原理・原則を特定して示した。

研究課題 2. 農薬残留基準値の国際標準に整合した設定方法の国内導入に関する研究

2021 年開始の再評価に備えるため、厚生労働省における MRL 設定の改善点を指摘するとともに、厚生労働省による MRL 設定の基本原則の改定に貢献した。さらにそれらを実施するための研修を実施した。また、厚生労働省による作物残留試験の要件を示すガイドラインの作成を支援するためのキーとなる論点を示した。

研究課題 3. 農薬の残留基準値設定に関する新たな国際的課題に関する検討

JMPR が公開する評価書では、個々の農薬の評価結果と MRL 案の他に、評価に際して特定された新規課題に関する検討結果が General considerations として報告される。本研究では、過去 3 年間(2015～2018 年)の JMPR 評価書の General considerations に報告された下記 2 課題について、検討されるに至った背景及び議論の経緯について調査して要点をまとめた。これら課題の中には現在も議論中のものがあることから、今後も動向を注視していく。

1)果菜類(ウリ科以外)のグループ MRL の設定プロセス

2)生涯よりも短期の暴露推定

研究課題 1. 農薬の残留基準値設定に資する方法論の国際整合と実際の評価に関する研究

A. 研究目的

A-1. JMPR 報告書の翻訳と解説

農薬は、現在の食料生産に欠くことのできない資材であり、病害虫並びに雑草の防除、生長調整等を目的に、主として作物に投与される。この投与の結果として、農薬(有効成分)やその代謝・分解物が、取引さ

れる農産品に残留する場合がある。農薬は、目的を達成するために必要な最小の量と頻度を考慮して投与されることが原則である。収穫される農産品等における農薬の有効成分やその代謝・分解物の残留は、前述の農薬投与の原則を踏まえ、生産に必要な取組を規定した適正農業規範(GAP)に沿った農薬使用の結果である。もちろん、健康影響が懸念されるような残留につながるようなことがあってはならず、そのためには、GAP において農薬の使用基準が適正に設定され、それを遵守した使用によって、農業が確実に実行されなければならない。

農薬の最大残留基準値(以下、Maximum Residue Limit;MRL)は、GAP に沿って農薬が使用されたことを確認するための指標である。健康に影響のない残留にしかつながらない農薬の使用は、GAP の前提である。そのため、MRL を指標として、GAP に沿って生産された農産品であることを確認することが、農産品を原材料とする食品の消費に伴う健康リスクの適正管理につながる。

食品流通のグローバル化が進む現在、MRL の設定は一国だけの課題ではない。食品の輸出入国の双方に不利益が生じず、両者が納得する公正な貿易が行われるためにも、国際的な調和の下で各国が取り組むべき課題である。そのため、食品の安全性の確保に加えて、輸出入時の係争回避に大きく効果する公正さや透明性の確保の点からも、国際的に合意されている原理・原則や方法論への整合が一層強く求められている。

本研究では、これまでに FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議(JMPR)の FAO パネルが開発し、先進諸国も含めて活用されている文書の詳細を解析し、MRL 設定方法の基本と考え方をまとめた文書(MRL 設定ガイド)を開発してきた。本ガイドは、一度開発した後はそのまま無期限に使い続けることができる、そのような性質の文書ではない。JMPR による最新の評価等すなわち、MRL 設定に関する最新の科学的動向を踏まえて適宜見直し、更新を検討する必要がある。本研究では、MRL 設定ガイドの更新検討も念頭に、本ガイドに沿った評価を実践する行政担当者の能力向上に資する文書の開発を目的とした。

適正に行われた評価の過程を具体的にかつ正確にトレースすることは、評価に必要な解析や結果の解釈への理解を深め、応用を考えることもできるようになるため、MRL

設定ガイドに沿った評価の実践において有効である。そこで、全世界から選ばれた経験豊かな有識者により作成されるJMPR評価書から、示唆に富んだ農薬の評価書を選定し、その翻訳と解析並びに解説を通じて、評価者の能力向上に資する文書の開発を検討した。本年度の研究では、2017年のJMPRにおいて一部のデータ解析に関連してコンサーンフォーム(評価結果に対する要望書)が提出され、それへのJMPRの回答が一般課題(General considerations)として取り上げられたこと及び、国内における現在あるいは今後のMRL設定の参考とすべきとも考えられたことから2,4-Dの評価を取り上げ、定期的なレビュープログラムのもとで実施された1998年の評価、適用拡大等のために行われた2001年と2017年の評価を対象に検討した。

A-2. データ要件ガイドラインに含めるべき事項の抽出

国際整合したMRLを設定するためには、本研究班の支援のもとで厚生労働省が策定し令和元年7月に開催された薬事・食品衛生審議会(食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会)において公開した「食品中の農薬の残留基準値設定の基本原則について(案)」(以下、新基本原則とする。新基本原則検討の詳細は、山田友紀子博士による分担研究課題報告書を参照のこと)や、本研究班において開発したMRL設定ガイドに示した基本的な考え方や原理・原則の十分な理解が不可欠である。しかしそれだけでは、実際にMRLを設定することは困難である。実際のMRL設定に必要なデータの要件を明確に示し、それに従って取得・提出されたデータを、最大限に活用した科学的な評価が不可欠である。

MRL設定に必要なデータは、対象の農薬と食品との組み合わせに応じて異なる可能性がある。この可能性を踏まえてOECDは、動植物による代謝、試料の凍結保存、作物残留試験、そして分析法といった農薬残留物の濃度に影響する各種要因を取り上げ、重要な要件等を規定したガイドライン・ガイダンス文書(OECDガイドライン等)を策定している。厚生労働省が示した新基本原則も、すでにこれらのOECDガイドライン等に記載されている原理・原則に基づいている。また、本研究班の分担課題「農薬残留基準値の国際標準に整合した設定方法の国内導入に関する研究」において山田友紀子博士は、農薬製造事業者等に対しデータの要件を明確に示す指針

「MRL 設定のためのデータ要件ガイドライン」(データ要件ガイドライン)の厚生労働省による策定を支援している。

本研究では、データ要件ガイドラインに従い農薬製造事業者等によりデータが取得される際の参考となることを期待し、関連 OECD ガイドライン等の翻訳を進める。また、前述のデータ要件ガイドラインに含めなければならない、必ず従うべき主要な原理・原則を特定して示す。本年度は、OECD ガイドライン等のうち、OECD Guidelines for the testing of Chemicals, Section 5, Test No 506「Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities」を研究対象とした。

B. 研究方法

B-1. JMPR 報告書の翻訳と解説

本研究では、JMPRにおけるFAOパネルの専門家と同様に、作物残留試験データを含む各種データを解析・評価し、MRL案を導出する役割を担うわが国の政府担当者(評価者)が、その際に必要となる知見や知識の収集及び、考察や判断に係る能力の養成において使用することができる文書の開発を目的とした。そのために、2018年にJMPRにより発行された報告書(Report)並びに評価書(Evaluation)や2019年に開催されたCCPR(Codex残留農薬部会)第51回会合における議論等を精査した結果及び、国内における現在あるいは今後のMRL設定に役立てられることへの期待を踏まえて、2,4-Dの評価を検討対象とすることを決定した。

JMPRによる2,4-Dの評価は、1970年に初めて行われ、その後、1986年、1987年、1996年、1997年、1998年、2001年、2017年に行われた。このうち1998年の評価は、定期的再評価プログラムにより行われ、過去のデータも評価に含まれている。そのため、本研究では1998年、2001年及び、2017年に報告された3つの評価書を検討対象とした。これら3つの評価書を正確に翻訳するとともに、適宜JMPRのFAOパネルが作成し、MRL案の導出に使用しているマニュアル [FAO Plant production and protection paper 225; Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed(以下、FAOマニュアル)]に記述されている原理・原則に関する留意点等を踏まえて、一部解説を加えた。

B-2. データ要件ガイドラインに含めるべき事項の抽出

翻訳と検討の対象とするOECDガイドライン等をまず選定した。選定したガイドライン等を特に科学的観点から誤りのないように忠実に翻訳した。そのうえで、翻訳したガイドラインにより取り扱われているMRL設定に不可欠なデータ取得の要件に関する原理・原則や主要な点を特定した。

C.D. 結果及び考察

C.D-1. JMPR報告書の翻訳と解説

C.D-1-1. 2018年に開催されたCCPR第50回会合に提出されたコンサーンフォーム

2017年のJMPRにおいて、遺伝子組み換えワタ(AAD-12)への適用拡大を目的として提出された2,4-Dに関する各種データが評価された。提出されたデータ中に、毟られていない綿種(cotton undelinted seed)における2,4-Dの凍結保存安定性のデータが含まれていた。そのデータからは、上記マトリクス中で2,4-D残留物が安定な期間は約1ヶ月であることが示唆されていた。しかし、最大残留濃度の推定に使用するデータを取得するために行われる作物残留試験試料の分析は、上記の1ヶ月を超える保存期間後に行われていた。このことを原因として、2017年のJMPRは「綿実における2,4-Dと2,4-DCP両方の保存安定性に疑義が生じたため、データを評価することができない」と結論とした。

Codex委員会における手続きに従い、JMPRの評価結果に対して米国がコンサーンフォームを提出し、綿種における残留物の安定性の欠如に関連して2017年JMPRによる結論に対する説明を要求した。要求内容の詳細を含むJMPRの回答を、2018 JMPR 報告書から以下抜粋する。(2018 JMPR報告書 p21-22)

3.5 2,4-D(020)

背景

2017年のJMPRは、遺伝子組み換えワタ(AAD-12)に対する2,4-Dの使用に起因する残留物を評価した。AAD-12中では、aryloxyalkonoate dioxygenase-12が発現しており、これが2,4-Dへの耐性と2,4-Dの代謝における関連した増加を与える。JMPRは、綿種を対象とした最大残留濃度を勧告していない。

1998年のJMPRにより確立された残留の定義は、MRLsへの適合判定及び食事リスク評価のいずれを目的とする場合でも2,4-Dである。

CCPR第50回会合において、米国からコンサーンフォームが提出された。米国は、凍結条件下でダイズ種子における2,4-Dの安定性が示唆

されているにもかかわらず、凍結条件における綿種における残留物の安定性の欠如に関連して2017JMPRが下した結論に対する説明を要求した。

JMPRによるコメント

2017年のJMPRは、凍結保存安定性試験に関する1998年のJMPRによる評価と結論を認識していた。1998年のJMPRは、トウモロコシと米糠と同様にダイズ種子(高オイルマトリクス)の試験をレビューし、ダイズ種子マトリクス中で2,4-Dは最低でも365日間は安定であると結論した。

マイナス20℃で保存したAAD-12の綿種及び関連マトリクス中での2,4-Dの保存安定性の新しい試験が、2017年JMPRによりレビューされた。添加濃度を0.10 mgとして保存した期間中、毳とりされていない綿種中の2,4-Dは1ヶ月間安定であり、それ以降、残存パーセンテージは70%より低値となった。2017年のJMPRは、綿種における安定性試験の結果は、提出された作物残留試験データの解釈との関連性がより高いと考えた。作物残留試験における試料の凍結保存期間は、84～118日間の範囲にあり、安定性が示された期間よりも大幅に長い。

そのため、2017年のJMPRは、綿実における2,4-Dの保存安定性が疑わしいことから、最大残留量を推定するために、残留濃度データは不適切であると結論した。

上記のJMPRの回答からは、以下を読み取ることができると考える。

米国の主張の中には、ダイズ種子中における2,4-Dの安定性への言及がある。ダイズ種子中の2,4-Dの安定性は、1998年のJMPRによって結論されており、その正当性に疑問を呈す必要は無い。米国の主張に含まれているにもかかわらず、2018年のJMPRの回答において、このダイズマトリクス中での安定性には言及がなく、注目すべき点であると考える。遺伝子組み換えワタ(AAD-12)における残留物の特性(濃度レベル等)を作物残留試験データから明らかにすることが本評価の目的であり、同一マトリクス(AAD-12の毳取りされていない種)中での2,4-Dの安定性が示されていることがデータ解析の前提である。そのことを暗に強調、再確認させる回答である。

2019年に開催されたCCPR第51回会合では、上記の2018JMPRによる回答を踏まえ以下の対応が記録されている(REP19/PR, Para 56)。「*JMPR事務局は、2018年のCCPRに*

において米国から提出されたコンサーンフォームへの対応として、2018年のJMPRにより、綿種における2,4-D及び2,4-DCP残留物の保存安定性が信頼されなかったことを確認した。CCPRは、2019年のJMPRによる評価のために、新しい保存安定性データが提出されるだろうことに、言及した」

しかし、今回のケースでは、通常の凍結保存条件下では遺伝子組み換えに起因する2,4-Dの分解を十分に抑制することの困難が予想されるため、AAD-12中での2,4-Dのより長期間の安定性が示される可能性は低いと考える。そのため、安定性が確認されたより短期間(1ヶ月以内)のうちに、作物残留試験において採取された試料を分析し、データを取得しなおす以外に問題解決の手段はないものと考えられる。

C.D-1-2 JMPRにより作成された2,4-D評価書の翻訳・解析・解説

JMPRにより作成された、1)AAD-12への適用拡大に伴う2017年の評価書、2)柑橘類を対象としたポストハーベスト使用に伴う2001年の評価書、3)定期的再評価プログラムにより作成された1998年の評価書を翻訳した。本翻訳には、原文と合わせて使用されることが意図されている。そのように使用することで、原文による表現への理解への深まりも期待される。この意図に沿って、図表等はブランクとした。また、翻訳に当たり発見された誤記や間違いを赤字により示した(JMPRの評価書は入念に作り込まれているが、完全ではない場合もある)。 さらに、記載事項の一部には、理解の助けとなる情報や疑問点を同じく赤字で示した。

2,4-Dの残留に関する情報が最も豊富であるため、1998年の評価書(定期的再評価プログラムにより作成された評価書)を最初に読むのが適当である。環境動態に関する評価が厚い点が本評価書の特徴として感じられた。特に2,4-Dの特徴として環境動態の評価が重要視されたというわけではなく、評価のために提出されたデータセットの充実度合いに依ったものかと想像する。

農薬の物理的･化学的な特性から、各種試験の結果までをまとめ評価した「Evaluation」から、リスク管理上必要となるMRL案等を勧告した「aprisal」へと読み進め、どのようなデータが求められそして整理され、何を原理・原則としてそれらデータが解析・評価され、さらには判断がされているのかについて、理解が深められることを期待する。疑問

に感じた点については、是非FAOマニュアルの記載と併せて、納得されるまで考察して欲しい。理解の助けとなることを期待し翻訳中にも示した訳注を以下に抜粋する。

ー訳注ー

*1 訳注)ここでいうフルバリデートとはOECDガイドライン等で示されているILVのことを指す。単純にフルバリデートという用語を使用すると、他の分析法への要求とは異なり混同することがあるため、あくまで残留農薬分析法に求められるフルバリデートとして区別し認識することは重要である。

*2 訳注)本evaluationの冒頭、説明に書かれている内容と矛盾する。

*3 訳注)冒頭の説明に書かれている内容と矛盾する。この部分の文章には乱れがあるようにも感じられる。正確には冒頭部分の説明にあるとおり、GAPと作物残留試験のそれぞれに関する情報を受領したということが事実だろうと推測される。冒頭の説明部分と、本翻訳の該当部分の原文は以下の通り。

冒頭部分：The 2001 Meeting received information on GAP and supervised residue trials for the postharvest use of 2,4-D on lemons and oranges.

該当部分：The 2001 JMPR received information on trials conducted in Uruguay and the USA on citrus fruit by GAP and on supervised trials of post-harvest use of 2,4-D on lemons and oranges.

*4 訳注)ウルグアイにおける使用基準がアメリカにおける使用基準また柑橘類に含まれる複数の農産品(オレンジ、グレープフルーツ、マンダリン、レモン)を含み、オレンジとレモンを対象とした残留物濃度の中央値の差異が5倍以内であったことから、判断されたものと推測される。(FAOマニュアルp91 “basic principles in estimation of residue levels for commodity groups”)

*5 訳注) 時々見受けられる結果の解釈ではあるが、マトリクスとアナライト濃度の違いを無視した回収(率)の取扱は、分析科学上不適切である。

*6 訳注)原文のままだが、分析結果の解析の点から言えば、一般には異なる濃度に対して得られた回収(率)を一群と見なすことは不適であり、そもそも、想定される母集団のない回収(率)に対して平均や標準偏差を求めることも不適である。

*7 訳注)植物の形態上特定可能な茎の種類の 1 つ。わき芽

*8 訳注)投与濃度の違いから、4 グループであると分かる。この試験で用いられた頭数は、4 グループ x 3 頭+コントロール 1 頭の計 13 頭に下記追加 2 グループ(6 頭)を加えた計 19 頭。

*9 訳注)LOD は一般的には、検出限界の略記である。しかしここでは、Limits of Determination (定量限界)の略として使用されている。

*10 訳注)矛盾があるように感じられ、文意を理解することができない。原文は以下の通り。Although the US GAP for barley, oats and millet is the same as for wheat the Meeting agreed that extrapolation from wheat to barley, oats and millet could be recommended because the residue could be considerably higher from the use after blossom at the dough stage.

推測するならば、「Although the US GAP for barley, oats and millet is the same as for wheat the Meeting agreed that extrapolation from wheat to barley, oats and millet could not be recommended because the residue could be considerably higher from the use after blossom at the dough stage.」であり、「大麦、オーツ麦、きびを対象としたアメリカの GAP は、小麦を対象とした GAP と同一だが、開花後の使用により dough stage における残留濃度がかなり高くなる可能性があるため、JMPR は小麦から大麦、オーツ麦、キビへの外挿を勧告することができないことについて合意した。」であろう。

C.D-2. JMPR報告書の翻訳と解説

C.D-2-1. 翻訳すべきOECDガイドライン等の選定

本研究では、以下のOECDガイドライン等を選定し翻訳等を進めることとした。

・Series on Pesticides No. 39/Series on Testing and Assessment No. 72「Guidance Document on Pesticide Residue Analytical Methods」

・Series on Testing and Assessment No. 96「Guidance Document on Magnitude of Pesticide Residues in Processed Commodities」

・TG 508「Magnitude of Pesticide Residues in Processed Commodities」

・TG 506「Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities」

これらのうち、本年度研究では、TG 506「Stability of Pesticide

Residues in Stored Commodities」の翻訳を進めた。

C.D-2-2. 翻訳したOECDガイドラインに含まれる原理・原則及び主要な点

自然科学の世界では、ある現象が観察されている時点のデータ取得を試みる場合が一般的であろう。しかし、データの取得に試料の採取と分析が必要な場合には、現象観察と同時にデータを取得することができない。さらに、試料採取後直ちに分析できる場合ばかりでもない。農薬残留物のデータに関していえば、例えば、作物残留試験において採取された生の農産品試料は、ある期間保存された後に分析に供されるのがより一般的である。そのような場合には、試料採取時の残留物の特性(残留物の種類、濃度等)が、保存期間中に許容される一定の程度を超えて変化していないことの確認と保証が必要である。すなわち特定期間保存される試料における残留物の安定性が保証されていなければ、目的とするデータを取得することはできない。仮に、安定性が十分でないことが確認されたならば、適切でないデータの排除を判断しなければならない。

先述の通り、取得データの質に顕著な影響を与える可能性があるため、試料の凍結保存安定性の確認と保証は、データの適正の判断に非常に重要である。この凍結保存された試料における残留物の安定性(凍結保存安定性)を取り扱ったOECDテストガイドライン「Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities」に含まれる、原理・原則と主要な点を以下に箇条書きする。

凍結保存安定性試験の前提

・残留の定義(リスク評価と規制用の定義の両方)に含まれるすべての成分の残留物が、採取/収穫された時から分析までの間、正確に定量可能なまま残っていることを確実にする。

・試料は、採取後分析に供するまでの間、適切な条件で保管する。例えば圃場で試料を採取した後ドライアイスですぐに冷却し、試験所までの輸送期間は可能な限り短くするといった努力がされるべきである。

・試料が保存される場合、残留物の安定性に関する保存条件の影響が調査されなければならない。

・凍結保存安定性が確認された期間内に、該当する試験で採取・保管される試料の分析を確実にする。

凍結保存安定性試験の主要な要件

・試験の適用範囲

凍結保存安定性試験の対象となる試料は以下の試験において採取される。ただし、限定はされない。

・作物残留試験

・転作試験

・家畜飼養試験

・加工試験

・試験の免除要件

試料が凍結保存され30日以内に常に分析されるのであれば、凍結保存安定性試験を省略することができる。ただし、残留物の揮発性や不安定な特性を示さないことを物理化学的特徴に関するデータにより保証しなければならない。

・試料

✓インカード試料、添加試料のいずれを使用することも可能である。ただしインカード試料における濃度が本試験の目的に照らして十分でない場合には、添加試料の使用が優先される場合がある。

✓添加試料は、農薬投与されていないコントロール試料に、残留の定義に含まれる各成分の既知量を添加する。残留の定義に1つ以上の成分が含まれている場合には、各成分の安定性を検証できるような試験設計が必要である。

✓インカード試料を用いる場合、収穫後可能な限り短い期間中に1回目の分析を行わなければならない。これは、保存0時間の残留物のデータ取得の必要性を満たすためであり、添加試料についても同じである。

✓保存試料の形態(ホモジネート、粗切り、有姿、抽出物等)は、安定性を証明する必要のある試料の形態に依存する。例えば、作物残留試験で採取された試料が有姿で保存されるのであれば、保存試料もまた、有姿とするのが基本である。ただし、安定性がより低くなることが予想されワーストケースでの保証と理解することができるため、ホモジネート試料の使用を許容することができる。

・被験物質

✓残留物の安定性に、農薬の剤型は顕著な影響を及ぼさないと期待されるが、試験結果の妥当性に関する論理的根拠が提供されるべきである。

✓残留の定義に1つ以上の成分が含まれる場合、それらの混合溶液を用いた添加試料の調製は推奨されない

・添加濃度

✓分析法の定量下限値の10倍に相当する濃度になるよう、添加量を決める。

✓添加方法は、添加用溶液の調製に

関する留意点を含め、妥当性確認時に使用した添加試料の調製方法と同じとする。

・保存条件

✓作物残留試験といった各試験で採取される試料の実際の保存条件をシミュレートする。

・可能な限り同じ保存容器を使用する。

・保存時の温度は-18℃若しくはそれ以下の温度にすべきである。

・暗所に保存すべきである。

・安定性の低いことが明らかな農薬残留物については、より低温にすることを含む追加の保存条件を検討することができる。

✓保存条件を定期的にモニターする。保存期間中の条件に顕著な変化があった場合には、その詳細を報告する。

・サンプリングの頻度と期間

✓予期される保存期間をカバーし十分なタイムポイントでのサンプリングを可能にするため、凍結保存安定性試験の開始時には、その目的での小分け試料を十分多数に保管する。

✓サンプリングのタイムポイントには、0時点すなわち保存開始時を含める。

✓サンプリングのタイミングとタイムポイントは、対応する各試験の保存期間を考慮し変わりうる。

・例えば、0時点と12ヶ月あるいは24ヶ月後にタイムポイントが設定される場合があるが、このような設定は減衰率の推定を不可能にするため、データ提供者のリスクになる。

・残留物が安定であると考えられる場合には、典型例として0、1、3、6、12ヶ月をタイムポイントとすることが推奨される。ただし、保存期間がより長期に及ぶ場合には、それに応じてタイムポイントについても延長する。

・残留物の安定性が低いと考えられる場合には、0、2、4、8、16週をタイムポイントとすることが考えられる。

・農産品間の外挿

✓特定のカテゴリーに含まれる農産品間の外挿の原則が勧告される。農産品のカテゴリーは以下の5つであり、対応するカテゴリーに含まれる農産品の試験が以下に従い行われる。

・高水分含量：3種の多様な農産品で安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の農産品を用いた更なる検証は不要である。

・高油含量：2つの多様な農産品で安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の農産品

を用いた更なる検証は不要である。
・高タンパク質含量：乾燥した豆において安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の農産品を用いた更なる検証は不要である。
・高デンプン質含量：2つの多様な農産品で安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の農産品を用いた更なる検証は不要である。
・高酸性度：2つの多様な農産品で安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の農産品を用いた更なる検証は不要である。
✓試験された全ての農産品において残留物の安定性が示された場合には、5つの農産品のカテゴリーのそれぞれから1つの農産品を選んで行われた試験を許容することができる。
✓1つのカテゴリーにおいてのみ農薬が使用されると考えられる場合がある。その場合には、そのカテゴリーに含まれる1つ以上の代表的な農産品を用いた試験が必要とされる。多くの農薬は一部のカテゴリーの農産品にしか適用されない。2つ以上のカテゴリーで農薬の使用が考えられているが、5つのカテゴリーの全てで安定性試験が行われていない場合もある。そのような場合、代表農産品に必要とされる数は、カテゴリーと各カテゴリーに属する作物のいくつに農薬が使用されるかの組み合わせに依存するだろう。データの申請者は凍結保存安定性試験において使用する代表農産品をよく見極める必要がある。

・動物性農産品

例えば、家畜飼養試験あるいは皮膚投与試験のような動物性農産品が関与する試験の場合には、家畜に応じて以下を選択すべきである。
・筋肉組織-例えば牛並びに/あるいは家禽
・肝臓-例えば牛並びに/あるいは家禽
・乳
・卵

・分析法

✓妥当性確認された分析法を用いなければならない。
✓複数の化合物に共通の部分の分析対象とする分析法は、通常、使用すべきではない。

・分析

✓全てのタイムポイントで、サンプリングした保存試料の2点併行分析を行う。2点の分析結果に20%以上の差があった場合には、追加の保存試料の分析を検討しなければならない。
✓保存試料の分析時には、用時調製

した添加試料を分析し、操作回収率を確認する。

これらの原理・原則並びに主要な点は、データを取得する農薬等製造事業者らによりよく理解されるべきであり、厚生労働省が策定するデータ要件ガイドラインにおいても示されるべきである。また、より詳細なデータ報告様式等の作成において、OECDガイドラインのパラグラフ36以降の記載(データ報告の留意事項並びに、報告すべき事項)を活用することもできる。

本報告書並びに翻訳において使用されている用語の整合は、十分に確認されていない。そのため、データ要件ガイドラインの策定時の参考にする場合には、留意が必要である。

研究課題2. 農薬残留基準値の国際標準に整合した設定方法の国内導入に関する研究

A. 研究目的

国際的な原則に整合するMRLを設定するためには、(1)OECD Working Group on Pesticidesの傘下にある専門家会議が策定し、OECDで承認されたガイドラインやガイダンス文書に則って作成された科学データ及び、(2)本研究班で FAO Plant protection paper 225 "Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed"(FAOマニュアル)を基礎として開発したMRL設定ガイドにまとめた基本的な考え方と原則に則った評価の両者が必須である。今後もJMPRによる新規の科学的課題への対応や新評価法の導入等に応じてガイドの更新が必要である。これは、農薬取締法の改正に伴って2021年から実施するとされている農薬の再評価に対応するためにも不可欠である。さらに厚生労働省が、農薬製造事業者等によるMRL設定に必要なデータの作成・提出を促すためにデータの要件を明確に示すガイドライン(データ要件ガイドライン)を行政文書として作成しなければならない。加えて、提出されたデータの品質評価や有

効な評価に基づいたMRL設定のための具体的かつ実践的な評価指針(評価者ガイド)も必要である。

本研究では、わが国におけるMRL設定の国際整合を加速することを目的とし、上記の厚生労働省によるデータ要件ガイドライン策定の支援と、MRL設定のガイドの作成のために、3年計画でデータの要件を明確に示した指針の内容を提言する。さらに、国内の評価者がより評価で活用可能な評価者ガイドを開発する。

これまで、本研究では、(1)Codex委員会が策定した食品分類を基礎としつつわが国の食品消費量を考慮した食品群(マイナー作物へのMRL設定も可能とする)を提案、(2)現行のMRL設定方法の問題点と解決法の提案、(3)MRL設定を業務とする職員に対する、国際的に整合したMRL設定に資する実際的な研修の実施等を、厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課と連携し進めてきた。(1)に示した食品群は、厚生労働省薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会(以下審議会と略)において、新規食品群として策定された。

本年度は3年計画の2年目であり、(1)昨年度の提言を審議会において、基本原則として策定し定着させる、(2)MRL設定に最重要な科学データを取得するための作物残留試験について、昨年度よりさらに詳細に検討し提言する、(3)これまでに国際的に標準的なMRL設定方法への整合を図ってきたが、その実施に必要な実際的な研修を実施する。

B. 研究方法

本研究では、3年計画の2年目として、OECDガイドライン等の関連文書を活用し、農薬等製造事業者等に対しデータの要件を明確に示す指針「MRL設定のためのデータ要件ガイド」を厚生労働省が策定するにあたり、

(1)昨年、多くの試験についてわが国の現在の問題点を特定し、解決策を示したが、それら(作物残留試験を除く)への厚生労働省による対応を分析するとともに適宜支援

(2)多くの科学データのうち、MRL設定に最重要である作物残留試験について、さらに詳細な問題点の分析と解決策を提言

(3)上記や以前の研究班の提言を行政的に実行できるよう厚生労働省の担当者に対する研修を実施
する。

C.D. 結果及び考察

(1)昨年の主要な提言について、厚

労省による対応の分析と追加の提言

－代謝試験－

厚生労働省による評価にはあまり進展はない。厚生労働省は、農薬製造事業者等がデータを作成するために、残留評価の観点からデータ要求のガイドラインを作成するべきである。

代謝試験の評価に関連して、昨年から、OECD Working Group on Pesticidesの枠組みで、残留物の定義決定に関するドラフティンググループが活動中である。残留物の定義を決定するために、代謝試験をどのように評価・活用すべきか、上記の議論に引き続き参加するとともに、適宜決定に寄与する。また、OECDの決定を適宜、厚生労働省の作成するガイドラインに反映させる。

－サンプリング・分析法―

冷凍保存安定性試験について、現在農林水産省の定めるガイドラインでは標準物質を添加した時点での分析は必要とされていないだけではなく、経時変化も追跡する必要がない。このことに関してOECDのガイドラインに従って保存安定性試験を実施するべきと提言をしたが、その提言を裏付ける詳細な分析・検討が本年度実施されたため、研究課題1の報告書を参照のこと。

－残留物の定義(Residue definition)－

詳細は(2)を参照のこと。

－作物残留試験－

詳細は、(2)を参照のこと。

食品群の作成については、昨年度に実施済み。審議会においても了承済み。既存のMRLをどのように新規食品群に整合するように記述するかについては、(3)を参照のこと。

－加工試験－

昨年度、加工されて摂取される食品について、そのうちでも、海外先進国では加工試験を実施しないであろう米等について加工試験を要求すべきと提言した。別の厚生労働省研究班において、まず試行的に加工試験を実施することとなった。

茶の浸出については、昨年9月のJMPRにおいて、加工係数の科学的妥当性に疑問が示され、報告者がインターネット上で調査したところ、茶の浸出は厚生労働省によって、荒茶の分析法の1つとされており、加工試験として扱われていない。これについては、上記の加工試験の研究とともに、加工試験への変更を検討するべきである。

－動物負荷量の計算－

昨年度の提言の通り、農林水産省消費･安全局畜水産安全管理課が実施している。

－動物飼養試験－

昨年度の提言の通り実行されている。前述の「残留物の定義」のガイドライン作成が、動物飼養試験の評価に影響がある場合は、見直す。

－経口暴露評価－

「残留物の定義」のガイドラインの大きな焦点は、経口暴露評価のための残留物の定義の決定である。したがって、今のところ現行の方法で進めていくが、上記ガイドライン策定後に見直す必要があるかどうか検討する。

(2)作物残留試験についての更なる考察

－使用基準(GAP)の記述－

日本のGAPは、水で希釈して散布する農薬の場合、すべて希釈倍率(すなわち散布液濃度)で示されている。果樹など高さのある作物については、海外諸国でも散布液濃度で示されることが多いが、高さのない作物(野菜や穀類などRow crops)の場合は、単位面積当たりの使用量で示されるのが主流である。日本の農薬企業がJMPRへデータ提出する際に、日本のGAPの記述に加えて、希釈倍率と散布液量から単位面積(ha)当たりの使用量を計算し、それをCritical GAPとして示しているのをよく見る。しかしその計算法は、最大濃度と最大液量を乗じたり、最大濃度と平均液量を乗じたりなどバラバラであり、Critical GAPが何かについてはデータ作成者に任せられている状態である。しかし、これは、MRLの設定、特にProportionalityを活用する場合には、大きな影響を及ぼすことが多い。そこで、

・農林水産省によるラベルの記載法の見直しを迅速に行うよう促す

・MRL設定のためのデータの提出について、厚生労働省がガイドラインを示す

・JMPRにデータを提出する場合、GAPはどう記述すべきかについて、提出する農薬製造事業者を指導する。その際には本研究班も支援が可能である。

－残留物の定義(Residue definition)－

厚生労働省は米国に先駆けて、規制用(MRL設定用)と経口暴露評価用(リスク評価用)に異なる残留物の定義を設定することを可能にした。

しかし、昨年半ばまで厚生労働省が設定していた残留物の定義は、欧米で設定されているものと概念が異なることが多かった。例えば、規制用の残留物の定義の方が、暴露評価用のものより多くの化合物を含むなどである。この原因は、食品安全委員会が暴露評価用の残留物の定義を、多くの場合、親化合物だけとするのに対して、厚生労働省が毒性のある代謝物を規制用の残留物の定義に加えるという逆転現象のためである。日本のMRLとCodex委員会や欧米のMRLが異なる数値になるのは、実際の残留濃度が異なることが原因である場合も、残留物の定義が異なることが原因である場合もあるということである。さらには、暴露評価が過小評価になる可能性もあった。

令和元年7月に審議会委員に対して、MRLとは何かや残留物の定義の重要性等についての勉強会を、上記の不整合の修正を目的として本研究班と厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課とが協力して開催した。その結果、審議会での了承を経て、厚生労働省では昨年秋から世界に整合したやり方で残留物の定義を決定するようになった。暴露評価用の残留物の定義も食品安全委員会ではなく、厚生労働省が決定するようになった。

一方、昨年から、OECD Working Group on Pesticidesの枠組みで、残留物の定義決定に関するドラフティンググループが活発に活動中であり、残留物の定義を決定するためのガイドランを作成する予定である。議論に参加し、適宜日本の状態を紹介する(別の厚生労働省研究班による)とともに決定に寄与する。また、OECDの決定を適宜、厚生労働省の作成するガイドライン及び実際のMRL設定・暴露評価に反映させる(本研究班)。

－作物残留試験の例数－

厚生労働省で長年問題とされてきたように、農林水産省のガイドラインに示す作物残留試験の要求例数は海外先進国と比べると少ない(メジャー作物で6例、準メジャー作物では4例、その他は2例)。

圃場が少なくかつ狭いことや、薬効・薬害試験の要求が大きいことが例数を多くできない原因である。また、欧米へのインポートトレランス申請のために、農林水産省の支援により茶や果樹など永年作物での作物残留試験の例数を増やしていることにも留意する必要がある。

以前は、製剤の登録のために、農林水産省が剤型ごとに2例ごとの作

物残留試験を要求していた。しかし、MRLは有効成分に対して設定することから、昨年度、OECDの作物残留試験のガイドラインに則って、最大の残留をもたらす使用基準に従って、それに対応する製剤のみで作物残留試験をしてもよいことを提言した。さらに、MRL設定にOECD Calculatorを使用するなら最低作物残留試験数は3例であるべきこと、必要に応じて、日本のGAPと同等の条件またはProportionalityの原則が適用できる条件で、海外において実施された作物残留試験も国内のMRL設定に活用することも提言した。

厚生労働省は昨年7月に、これらの提言(最低作物残留試験例数を除く)を基本原則に取り入れた。実際にOECD Calculatorの使用も増えているとのことである。

厚生労働省は以下について具体的かつ明確なガイドラインを示すべきである。

・作物残留試験の最低例数
・剤型ごとに作物残留試験をしなくてもよいこと(具体的に)
・Critical GAPを決定するのは農薬製造事業者(または申請者)の責任であること
・海外で実施した作物残留試験をMRL設定に活用できるための条件等

－作物残留試験結果の記述―

過去の農林水産省のガイドラインでは、同じ作物残留試験において採取した試料を、農薬製造事業者及び独立した分析機関の2か所で分析することになっていたが、現在はGLP遵守により、一分析機関による分析でよいことになっている。

JMPRや欧米では、通常作物残留試験において、(a)複数の分析・測定の場合には分析値の平均値を記載してそれをMRL設定に活用する、(b)複数の試料を採取した場合にはそれぞれの分析値(分析の平均値)を記載して、その平均値をMRL設定に活用する、(c)米国におけるように複数のロットで作物残留試験を実施している場合には、それぞれにおける残留濃度分析値(分析の平均値)を記載し、その中で最も高い残留濃度をMRL設定に活用する、のが常識となっている。

最近でも、使用拡大の場合には、残留濃度として2つの数値を記載し、nとして2並びに2つの分析結果の差、が記載されているのを見る。この記載法では、JMPRや海外先進国に2つの試料を採取し、分析していると誤解させる。過去に厚生労働省が残留濃度の平均値を農林水産省が開発

したいわゆる「内規表」と称する表に当てはめてMRLを推定しており、2つの分析結果の差が小さいことを示す必要があると考えられているためと推察される。

わが国におけるMRL設定方法を世界標準に整合させるために、また海外諸国政府(特に先進国)におけるインポートトレランス申請を円滑に行うためにも、作物残留試験データのまとめ方をOECDのドシエと同じ方法にするべきである。なお、すでに新規剤についてはOECDドシエフォーマットで申請することになっている。

厚生労働省は、作物残留試験データの表へのまとめ方を明確かつ具体的にガイドラインとして示すべきである。

－MRLの設定法－

MRLの設定には、Critical GAPに従って実施した作物残留試験の特定と、その作物残留試験における残留濃度データの妥当性の検討が必須であり、MRLの妥当性・安全性は経口暴露評価によって確認する。

科学的に信頼できる残留濃度を得るには、分析法の妥当性確認と品質保証システムを導入した分析機関における分析が必須である。また、測定時の残留濃度が、収穫時の残留濃度と同等であることを保証するために、冷凍保存安定性の確認も必要であり、適切な冷凍保存安定試験の実施が不可欠であるが、農林水産省のガイドラインで示している試験では不十分である(これについては研究課題1の本年度研究報告書を参照のこと)。

これまで厚生労働省は、作物残留試験2例以上の場合、平均値を計算し、それを「内規表」に当てはめてMRLを設定してきた。また、農林水産省(独立行政法人農林水産消費安全技術センター; FAMIC)では、残留濃度のうち最も高い残留濃度を、「内規表」に当てはめてMRLを推定、厚生労働省に勧告していた。この内規表は、統計的な要素がないわけではないが、濃度分布を無視しており、作物残留試験が10例あるとそのうちの最大残留濃度を超える濃度は現実に出現しないことになっている。しかも、作物残留試験が何例あろうと、平均値(農林水産省の場合は最大値)のみしか使用せず、分布の幅が広い場合でも狭い場合でも、平均値(農林水産省の場合は最大値)が同じなら同じMRLとなる。そもそも、残留濃度の平均値を利用してMRLを推定するなど、MRLの定義を考えればありえないことであり、平均値に基づくMRLの設定はすべき

ではない。また、可能な限り、「内規表」の利用をやめるべきであり、厚生労働省は、そのための方策を示すべきである。

一方、OECD Calculatorは分布の型にはとらわれてはいないが、濃度には分布があることを考慮して約95パ―センタイル値をMRLとして推定する。Uncertaintyを低くするためには、残留濃度のデータが8点(8例より多い可能性があることに留意)は必要であり、uncertaintyが高くてもよいのであれば、OECD Calculatorを使うには3点が必須である。

通常、これらの条件では、濃度分布を考慮するOECD Calculatorの方が「内規表」よりMRLは高く推定される。例数が増えるほど、そして濃度分布の幅が広いほどOECD Calculatorによる推定値と「内規表」による推定値の差が大きくなる。

昨年度、MRL設定にOECD Calculatorを使用することを提言したが、すでに厚生労働省は、可能な場合にはOECD Calculatorを活用してMRLの設定を実施している。欧州連合、オーストラリア、カナダ、ニュージーランド、米国ではすでにOECD CalculatorをMRL設定に活用しており、同じデータを使用している限り、厚生労働省のMRLと同じMRLが設定される。これは輸出促進にとっても有利である。

本来MRLは、使用基準に従って農薬を使用しているかどうかの指標であり、国内の使用基準に従った使用を反映して設定すべきものである。直接毒性には関係しない。違法使用や誤用を見つけるために、国内に登録のある(すなわち使用基準のある)農薬については、それに則ってMRLを設定すべきであり、Codex委員会や他国のMRLより優先すべきである。しかし、わが国ではCodex MRLが優先されており、これはSPS協定には整合しているが、Codex MRL設定に利用したGAPが国内の使用基準より高濃度または大量の農薬使用を規定していれば、国内の使用基準に違反した使用を検出することができない。これについても、再評価の導入時に検討すべきである。

厚生労働省は可能な限り、OECD Calculatorを活用するための明確なガイドラインを作成するべきである。その際、作物残留試験が2例しかない場合の対応についても示す必要がある。また、厚生労働省は、国内GAPに従った使用を反映するMRLを最優先とすべきである。

－加工試験―

加工されて摂食される食品につ

いては、JMPRや欧米では加工試験が必要である。わが国では加工試験を要求していないが、加工試験の結果(例えばJMPRで評価されたもの)は、暴露評価の精密化に寄与できる。例えば消費者は米を主に精米の形態で加熱調理して摂食し、生米のままでは摂食しない。しかし、欧米では米は主食ではないため、加工試験の対象として重要ではない。MRLは玄米に設定されるが、搗精時に除去される糠部分の方が農薬の残留濃度は高いことが多い。加工試験がなければ、結果として米からの農薬の摂取は過大評価になりがちである。

厚生労働省は国内で消費量が多く、海外先進国で加工試験を実施しない食品について、加工試験を要求するべきであるが、これについては別の厚生労働省研究班が支援のための研究に取り組むことになっている。

茶のMRLはすでに加工された形態(荒茶)に設定されるが、現在の主要な摂取形態は飲用茶であるので、加工試験は必要である。しかし、わが国では茶の「加工試験」は要求されず、茶の浸出は「分析法」の1つと位置づけられており、作物残留試験のセクションに書かれている。

例えば、2019年JMPRにおいて、日本からの提出データで、荒茶から浸出液への加工係数として0.2程度を記載したものがあった。濃度はin tea leafとin tea infusionとして示されていたが、これでは浸出によって農薬の総量が著しく増加することになる、という問題点が発覚した。

農薬抄録では、茶の浸出率について「浸出液の分析値と荒茶の分析値の比率を計算し、浸出率とする」というような記載があるが、その浸出率の最高値は25%程度である。分析法の報文によれば1 gの荒茶に60 mlの熱水を入れて抽出することになっているのであるから、浸出率は1/60=0.017以下でなければならないはずである。

厚生労働省は、

・茶の浸出については、加工試験と位置付け、現実を反映した浸出法(例えば、緑茶としてわが国で一番生産量も消費量も多い煎茶の場合には、茶葉1 gに対して水を45 ml程度)とする

・分析値から濃度への計算式をStudy reportsに記述する

・現行で記載されている数値は荒茶換算であることを明記する

ことを要求するべきである。

さらに、加工係数(茶については「浸出率」と言ってきたもの)として、それぞれの加工試験の結果から計算した係数すべての平均値また

は中央値を示すことをガイドラインに加えるべきである。

(3)厚生労働省の担当者に対する研修

わが国の農薬MRLは、食品衛生法に基づいて厚生労働省が設定している。そこで、再評価の実施のために、厚生労働省がMRL設定に必要なデータに関するガイドラインを策定すべきである。また、そのためには、厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課の担当者が、国際的に整合性のあるMRL設定の方法論について理解し活用できることが不可欠である。そこで、令和元年7月、審議会の開催に先立って、審議会メンバーと食品基準審査課の担当者を対象として、MRL設定に関する勉強会を実施した。基本的な原則は以下のとおりである。

・MRLは、農薬の使用基準に基づいて設定し、農薬が使用基準に従って使用されているかどうかの指標となるもの。毒性に直接関係はないこと。

・残留物の定義には2種類あり(規制用＝MRL設定用及び経口暴露評価用＝リスク評価用)、同じとは限らないこと。

・MRL設定用の残留物の定義は、容易かつ迅速に分析でき、使用基準に従って農薬が使用されたことを確認できる物質だけを含むこと。その際毒性は直接的な要因とはならないこと。

・暴露評価用の残留物の定義は、毒性が懸念され、ある程度の濃度で存在する代謝物を含むこと。

・使用方法が同じであれば、剤型が異なるごとに作物残留試験を2例ずつ要求することをやめ、最も残留濃度が高くなる使用基準に基づいて、同じ使用方法の作物残留試験の全てを活用して、OECD CalculatorによりMRLを設定すること。その際、Proportionalityの原則及び25%ルールを活用すること。

・暴露評価においては推定暴露量をADIの80%ではなく、ADIと比較すべきこと。

これらを説明したところ、特に分析に関する多くの質問があり、国際的に合意されている方法論に基づいて回答した。毒性に関係する質問はなかった。

本研究班の協力のもとに、より科学的に健全なMRLの策定を目指して基準審査課が「食品中の農薬の残留基準値設定の基本原則について(案)」を作成し、令和元年7月30日に開催された審議会において示し、以降その原則に沿ってMRLを設定することとなった。この原則は、平成22年に同部会において示され、わが

国のMRL設定の基本とされてきた考え方を、現時点での国際的な合意や考え方を踏まえて全面改定するものであり、本研究班の活動なくしてはあり得なかった。さらに、本改正は、2021年に開始する農薬の再評価のために不可欠なものである。

厚生労働省の評価者を対象とする以下の実地研修を実施した。

・植物代謝・家畜代謝のデータと残留物の定義の決定(今後さらなる研修が必須)

・Aldrin/Dieldrinについて、モニタリングデータに基づく基準値設定の方法(注：登録農薬のMRLとは異なる)

・評価書に記載すべき事項

・Kruskal/Wallis検定において、食品群の残留濃度が同じ母集団に属さないと判定された場合に、残留データをどのように活用するのか

・審議会による新食品群のMRL設定への活用の決定を受けて、既存のMRLを新食品群に整合するように記述するために検討すべき事項

・MRLは、リスクに基づいて記述すること

・日本人が全くまたはごく少量しか摂取しない食品は明記する必要がないこと

・Codexの分類や厚労省告示にある食品を網羅しなければならないと考える必要はないこと。

・Codex委員会や海外のMRLを国内MRLにすることを検討する際の参照のために各群に含む食品のリストを作るのは良いが、必ずしもCodex委員会と同じリストにする必要はないこと(例、Codex委員会のリストと米国のリストとはずれがある)。

・公表するのはリスクに基づくもののみでよいこと(わが国で消費されない食品を含む必要はない)。

厚生労働省の評価者を対象とする実地研修の特記事項として、OECD Calculatorの使用により、OECD Calculator(Excel template)の問題点が厚生労働省により発見され、それに対応して米国EPAがOECD CalculatorのVersion 2を発表した。

(4)今後の課題

今後、OECDガイドラインに準拠したデータ要件と評価に関するガイドを作成すれば、それを部会で承認後、農薬業界への指導や厚生労働省の評価能力の向上を図る。そのための厚生労働省の評価者対象の研修も実施する予定である。

研究課題 3. 農薬の残留基準値設定に関する新たな国際的課題に関する研究

A. 研究目的

JMPR が公開する報告書では、個々の農薬の評価結果と MRL 案の他に、評価に際して特定された新規課題に関する検討結果が General considerations として報告される。この検討結果は、新たな MRL 設定の方法論あるいは考え方として、将来的に FAO マニュアル等の関連文書に収載されることになる。そのため、わが国における MRL 設定の方法論もまた、これに同調して更新されなければ、国際的に整合した MRL 設定を維持、継続できない。

本研究では、JMPR 報告書をもとに新規課題が提案された背景と議論の動向を調査し、わが国の MRL 設定ガイド更新のための基礎資料を作成することを目的とした。

B. 研究方法

2015 年～2018 年に発行された JMPR 報告書に General considerations として報告された検討課題について、議論の背景と動向を調査して要点をまとめた。今年度は調査対象として「果菜類(ウリ科以外)のグループ MRL の設定プロセス」と「生涯よりも短期の暴露推定」の 2 つの課題を選択した。

JMPR では、農薬残留物の管理を目的とした MRL 案の導出を FAO パネルが、毒性学的評価を WHO パネルが分担して検討する。本研究では、主として FAO パネルによる検討に関連した課題を選択した。さらに、JMPR による検討の最新動向を調査するにあたり、関連の深い CCPR の討議文書及び報告書、FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会(JECFA)の報告書等も参考にした。

＜JMPR＞

・JMPR Reports and evaluations

http://www.fao.org/agriculture/crops/thematic-sitemap/theme/pests/jmpr/jmpr-rep/en/

＜JECFA＞

・JECFA Reports : WHO Technical report series (TRS)

https://www.who.int/foodsafety/publications/jecfa-reports/en/

＜Codex 委員会＞

・Codex Alimentarius

http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/en/

C.D.　結果及び考察

1)果菜類(ウリ科以外)のグループMRLの設定プロセス

Codex委員会は、農薬のMRL設定に不可欠な食品と飼料の分類「Codex Alimentarius Vol.2 Pesticides Residues in Food 2nd Edition, Codex Classification of Foods and Animal Feeds(CAC/MISC 4-1993)」(以下、Codex食品分類とする)を作成している。Codex食品分類では、貿易される食品やその原料及び飼料(commodity ; 以下、農産品とする)をできる限り完全にリストすることそして、農薬の残留の類似性に基づき食品・飼料をグループ化することが意図されている。Codex食品分類のグループに関する原則と基準は次の通り。

1. 農産品での農薬の残留の可能性が似ている
(Commodities' similar potential for pesticide residues);
2. 形態が似ている
(Similar morphology);
3. 生産方式、生育習性などが似ている
(Similar production practices, growth habits, etc);
4. 可食部(Edible portion);
5. 農薬の使用に関するGAPが似ている
(Similar GAP for pesticide uses);
6. 残留の挙動が似ている
(Similar residue behaviour);
7. (サブ)グループMRLの設定には柔軟性を与える
(To provide flexibility for setting (sub) group tolerances)

Codex食品分類では、各農産品が学名等も含めて正確に説明されており、MRL設定に関連し、対象となる農産品やMRLが適用される部位を特定する上で非常に重要な意味を持つ。また、Codex委員会では、全ての農産品について個別の作物残留試験の実施が経済的観点から正当化できない場合があることも認識されており、そのためグループ又はサブグループの中から代表となる農産品(representative commodities)を選定し、代表農産品における残留濃度を同じグループ又はサブグループに属する他の農産品に外挿してグループMRLを設定するという方法が導入されている。

残留物濃度の外挿は、代表農産品を対象に実施された作物残留試験において得られた残留濃度データを、同グループ又はサブグループに含まれる作物残留試験が行われていない

その他の農産品における残留物濃度の推定に利用するための方法論である。代表農産品は、貿易上の重要性と形態的な類似性、残留特性などに基づきあくまで例として選定される。選定の原則には次の 3 つが挙げられ、代表農産品とするには少なくとも最初の 2 つを満たさなければならないとされている。ただし、これらの原則は、グループ MRL が設定される農産品全てが同様の農薬使用基準又は GAP に沿って生産されるという想定の下で適用される。

・残留物の濃度が最も高くなるだろう農産品を代表とする。

・生産と消費がともにあるいは、そのいずれかが主要な農産品を代表とする。

・形態、生育習性、害虫に関する問題、可食部がグループ又はサブグループに含まれる関連農産品と最も類似した農産品を代表とする。

現在、CCPR において、Codex 食品分類の全般的な改訂が進められており、そのための議論と合わせて代表農産品の選定に関する原則及びガイダンス(CXG 84-2012)についても改訂が検討された。CXG 84-2012 には、食品分類をもとにした代表農産品の選定例と外挿の対象農産品が別添の表としてまとめられている。この表に記された代表農産品はあくまで「選定例」であり、農薬が使用される国や地域での状況を踏まえてケースバイケースで選定を判断することができるという柔軟性が備えられている。

JMPR による評価においても代表農産品の選定はケースバイケースであり、選定例として示された農産品以外が代表に選ばれることもあるが、その場合には、CCPR に対して入手可能なデータに基づき正当性を示すことになっている。

JMPR(2017)は、CCPR において改訂された野菜の農産品グループ(commodity groups)について、代表農産品との残留の類似性がない又は、ありそうにない農産品が同じグループに含まれていることに言及した。具体的には、トマト(tomatoes)と peppers のサブグループについて言及した。トマトのサブグループについては、トマトとチェリートマト(Cherry tomato)の作物残留試験データが入手されたが、その他の農産品については評価がされていない。しかし果実の成長や果実の大きさ(例：ハックルベリー Huckleberries)の違いや、果実をくるむ外皮をもつ野菜(例：ブドウホオズキ Cape Gooseberry)があること等に言及し、農薬の残留について、トマト又はチェリートマトはその他の農産品の代

表とはならないであろうと指摘した。そして、これら作物の相対残留データがないため、トマトについてデータを入手できたら、下記の農産品について個別に MRL を勧告すると決定した。

- VO 2700 Cherry tomato *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme (Dunal) A. Gray
- VO 0448 Tomato *Lycopersicon esculentum* Mill.; Syn*: Solanum lycopersicum* L.

Peppers のサブグループについても同様である。JMPR(2017)は、入手可能な情報に基づき､オクラ(okra)での残留が peppers とは異なることが示唆されている点に言及した。Bell 型及び non-Bell 型 peppers における残留は､その他の農産品(例:オクラ、オオツノゴマ､ローゼル)における残留の代表にはならないであろうと考えられた。

しかし、JMPR(2017)の検討結果が報告された CCPR 第 50 回会合(2018)では、複数の国の代表団が当該農産品のグループ MRL が勧告されなかったことに懸念を表明した。その結果として、JMPR(2018)において、本課題について再検討されることになった

JMPR(2018)では、Codex 食品分類の農産品グループに関する原則と基準が再確認された上で、各農産品における残留の可能性を比較するための指標が決定され、問題となったサブグループの代表農産品について次のような結論が出された。

<u>比較の指標</u>

農薬の葉面散布による残留は初回散布の沈着に大きく左右されるため､異なる農産品についての残留の可能性を比較する場合には、葉面散布による投与当日の残留(つまり投与後 0 日の初期残留濃度)が良い指標となる。JMPR は、1 kg ai/ha の投与率に対して平準化された初期残留濃度のデータベースを構築するために、公開されている論文や EU のドラフト評価書のような公的に利用可能なその他の情報とともに 1993-2017 年の JMPR 評価書を利用した。

<u>サブグループ・トマト(VO 2045)</u>

トマトに関するデータは、果実の大きさによる分類が困難であり、チェリートマトやその他のトマトと区別することが出来なかった。平準化された初期残留濃度の中央値を比較したところ、サブグループのトマト(012A)が 0.52 mg/kg(n=213)、ブドウホオズキが 0.47 mg/kg(n=2)であった。限られたデータだが、この結果により､JMPR(2017)で示された懸念が払拭され、トマトに関する残留データをサブグループ全体に外挿すること

が指示された。

サブグループ・peppers(VO 0051)

平準化された初期残留濃度の中央値を比較した結果、オクラの 7.4 mg/kg(n=108)が、peppers chili の 1.8 mg/kg(n=9)、Bell 型 peppers の 0.74 mg/kg(n=40)、non-Bell 型 peppers の 1.1 mg/kg(n=4)よりもはるかに高かった。このデータは、同じ cGAP に従って農薬が投与されたとしても、オクラにおける残留は peppers における残留を反映しそうにないことを示唆している。食品分類の原則と基準を考慮し比較すると、つるつるしている peppers と畝がありわずかに毛が生えているオクラ果実との間には、大きさと形状の違いがあり、そのため残留の可能性が異なると説明できる。

JMPR(2018)は、入手可能な情報に基づき、オクラでの残留が peppers での残留と異なることを追認した。ただし JMPR は、peppers、ローゼル、オオツノゴマにおける残留、生育習性の違い、大きさ、形状を比較した作物残留試験が知られておらず、そのため Bell 型及び non-Bell 型 peppers における残留は、その他の農産品(例：オクラ、オオツノゴマ、ローゼル)における残留を代表しない可能性があるとして、Bell 型及び non-Bell 型 peppers の残留データが入手できた場合に、該当する農産品の MRL を勧告すると決定した。

VO 0051 Subgroup of Peppers (except okra, martynia and roselle).

サブグループ・ナス(eggplants)

現行では、GAP が等しくナスにおける残留データがない場合には、トマトにおける残留データをナスに外挿することが勧告されている。平準化された初期残留濃度の中央値を比較すると、ナスが 0.97 mg/kg(n=28)であるのに対して、トマトは 0.52 mg/kg(n=213)であり、外挿するには値が低すぎる。Bell 型 peppers の 0.74 mg/kg(n=40)、non-Bell 型 peppers の 1.1 mg/kg(n=4)の方がナスの値に近く、peppers が残留物濃度の外挿のための代表農産品により適していることを示している。そのため、JMPR(2018)は、サブグループ・ナスに外挿するにあたり GAP に問題がなければ、peppers の残留データを使用することができることに合意した。

以上、グループ MRL 設定に伴う代表農産品の選択に関する、JMPR による検討の経緯をまとめた。わが国における MRL の設定においても、Codex 食品分類や残留農薬のグループ MRL 設定の考え方を参考にした取組みが現在進行中である(平成 29 年 6 月 22 日、平成 30 年 7 月 12 日

及び平成 31 年 3 月 29 日薬事・食品衛生審議会農薬･動物用医薬品部会)。

本報告でまとめた JMPR による代表農産品の検討は、わが国の食品分類や代表農産品選定の方法論の検討においてさらに、わが国の薬事・食品衛生審議会(食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会)で示されている食品分類(中分類)案のトマト類、ピーマン・とうがらし(オクラを含む)、なす類についての検討においてより直接的に参考になる。

【厚生労働省】薬事・食品衛生審議会(食品衛生分科会農薬･動物用医薬品部会)

https://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/shingi-yakuji_127891.html

2)生涯よりも短期の暴露推定

JMPR は、MRL 案を導出するとともに、導出された MRL 案により消費者の健康危害への懸念が生じないことを確実にするために暴露評価を行う。これまでにも、生涯にわたる慢性(長期)暴露と､24 時間(1 日)又はそれより短い時間の急性暴露については評価されてきている。しかし、一生に亘る幅広い暴露期間を通して毒性影響の可能性が変わらないつまり、有害な影響の兆候が暴露される期間に関係しないという事象が動物試験の結果からまれではないことが示されており、食事暴露量が長期的に見れば(生涯の暴露としてみれば)ADI を下回るが短期的に見れば上回る場合に、有害影響が生じる可能性への懸念が示された。そのため JMPR(2014、2015)において、生涯よりも短期の暴露による健康影響を評価するためのモデル開発が必要であると判断され、専門作業部会の設置が勧告された。この課題(1 日よりも長く生涯よりも短期の暴露評価)については現在も検討中であるが、議論の背景や進捗状況を知っておくことも重要であることから、これまでの検討の経緯について以下にまとめる。

農薬の中には動物用医薬品としても使われる化合物があるため、この課題は JECFA とともに議論が進められている。

JMPR(2015) の勧告を受け、JMPR/JECFA 合同作業部会(2017)において検討が行われた。合同作業部会では、動物用医薬品と農薬の両方として使用される化合物について、1)推定暴露量が ADI を下回るのか、2)JMPR と JECFA がそれぞれ利用している現行の食事暴露評価法で比較可能な推定を行えるのかどうか、3)JMPR と JECFA の現行の食事暴露評価は、各国の推定食事暴露量と比

較して、十分に保守的な推定を行えるのかどうか、という視点から議論が行われた。

JECFA と JMPR の食事暴露評価では、残留物濃度についてはともに中央値が使用される。しかし、食品の摂取量データ(consumption data)は次のように異なる。

JMPR：IEDI(International Estimate of Daily Intake)

WHO の GEMS/Food クラスターダイエットに基づいている。GEMS/Food クラスターダイエットは、FAO food balance sheets をもとに、1 人当たりの平均的な一日摂取量を示している。クラスターとは 20 食品の摂取パターンの類似性をもとに世界の国を分類したもので、現在は 17 クラスターからなる。

JECFA ： GECDE(Global Estimated Chronic Dietary Exposure)

JECFA による残留動物用医薬品の暴露評価には、以前はモデルダイエット(動物由来の各食品の一日摂取量として規定値を使用: 畜肉 300 g、肝臓 100 g、腎臓 50 g、脂肪 50 g(ここまでの家畜の部位を合わせて 500 g)、魚肉 300 g、乳 1500 g、卵 100 g、蜂蜜 20 g)を使用していた。このモデルダイエットの食品摂取量と残留濃度の中央値から求められた暴露量が EDI(Estimated Daily Intake)と呼ばれる。しかし EDI は非常に保守的であるとの懸念から、2011 年に、より現実的な食品摂取量を反映させた GECDE によるアプローチが提案された。GECDE は、習慣的な多量摂取者を考慮に入れており、ある 1 つの食品の高用量暴露量(consumer-only の 97.5 パーセンタイル摂取量×残留濃度の中央値)と、それ以外の食品の平均暴露量(total population の平均摂取量×残留濃度の中央値)を合わせたものである。用いられる各国の食品摂取量データは、2 日以上の個人の食事記録をもとにして体重 kg 当たりで示される。97.5 パーセンタイル値を用いる理由は、提出される食品摂取量データとして一般的であるためであり、90 パーセンタイル値や 95 パーセンタイル値でも慢性的な多量摂取として考えることができるとしている。それらの摂取量データを入手するために、FAO/WHO の CIFOCOss(chronic individual food consumption – summary statistics)が利用できる。CIFOCOSss は、26 ヵ国の 37 調査で得られた個別食品摂取量をもとにした要約統計量であり、各食品について性別、年齢別、パーセンタイル別の摂取量データを得ることができる。CIFOCOSss は 2012 年

に構築され、2018 年に更新された。更新版では、Codex 食品分類と EFSA の FoodEx2 分類がマッピングされている。

作業部会は、IEDI と GECDE のそれぞれの特徴から、IEDI は子供への暴露には対応しておらず、慢性暴露の推定には適しているが生涯よりも短期の暴露を推定するには向いていないことを指摘し、GECDE の方が生涯よりも短期の暴露を推定するのに適しているとの結論を出すとともに、下記のような勧告をまとめた。

<u>農薬と動物用医薬品として両用される化合物について</u>

1. JECFA と JMPR は、常に、同一化合物の両用による暴露を考慮するように努めること。

2. 近い将来、同じ動物性食品での動物用医薬品の使用と農薬の使用による残留濃度を、食事暴露評価のために提供される残留データとして追加すべきである。

3. JECFA 及び JMPR は、両用される化合物の暴露評価をより良くするために残留の定義を統一するように努めること。

4.より正確に各国の推定食事暴露量を網羅するために GECDE モデルを改良すべきである。

<u>生涯より短期の暴露について</u>

1. 暴露評価とハザード評価をより的確にリンクさせるため、JECFA と JMPR は、感受性が高い集団とそれら集団に関連する暴露期間を、検討対象の各化合物の毒性ファイルから、明確に同定すべきである。

2. JECFA は、このガイダンスを食品化学物質の今後の評価に導入し、その経験をもとに適宜改良すべきである。

3. JMPR は、毒性学的エンドポイントに応じて、個別食品摂取量データ(individual food consumption data)の利用を検討すべきである。

<u>食事暴露評価の方法論について</u>

1. さらに改良した GECDE を、生涯よりも短期の暴露を評価するために使用すべきである

2. 検討対象の化合物への暴露は、CIFOCOss で入手可能な個別食品摂取量調査を利用して評価すべきである

3. 97.5 パーセンタイル値よりも、信頼できる最大パーセンタイル値を全てのケースについて使用すべきである。

<u>食品摂取量データの収集について</u>

1. FAO と WHO は、さらに広範な国と集団をより完全に網羅できるようにするため CIFOCOss データベースの更新を継続すべきである

2. 可能な限り、FAO と WHO は、EFSA の FoodEx2 分類に基づきデー

タを収集すべきである。FoodEx2 分類は Codex 分類よりも詳細である。
3. CIFOCOss で収集したデータを生の農産品(raw agricultural commodities)のデータに変換するための換算表を開発すべきである。

これらの合同作業部会による勧告を受け、第 85 回 JECFA(2017)では、毒性学的影響の特性と感受性が高い集団、その集団における暴露期間を考慮して、生涯よりも短期の暴露に関するリスクキャラクタリゼーションのための「決定木(案)」を作成した。この決定木(案)について、JMPR(2018)も毒性学的な視点と、暴露評価に用いる摂取量データの視点から検討を行い、主に次のような意見を出した上で、「決定木(案)」は役立つアプローチではあるが改善の必要性があるとの意見で合意し、今後も議論を継続すべきであると勧告した。

毒性学的な検討

・1 シーズン又は生涯のうちのある時期での食事暴露量が ADI を短期的に超過した場合に毒性学的懸念が生じるサブ集団というのは、胎児(発達毒性 developmental toxicity)、乳幼児(1～6 才、出生児毒性 offspring toxicity)、農薬を含む食品の多量摂取者の成人である。

・決定木(案)において、毒性学的な懸念がある集団を同定するための判断基準(decision points)に使用した係数 3 は、97.5 パーセンタイル暴露量と平均暴露量との比率に基づく。複数の試験で得られた基準点(points of departure：PODs)を比較するならば、毒性試験それぞれの強さ(power)を考慮することが必要である。もし暴露よりも毒性にもとづき 1 桁以内の差であるならば、PODs は類似していると考えるべきである。そのため、決定木の見直しとして、判断基準に係数 10(3 よりもむしろ)の利用を提案する。

・生涯より短期の暴露について特別な懸念があるのかどうかを評価するには、4～104 週間で実施されたラット(及びマウス)試験から十分な情報を得られる。

・毒性が親化合物よりも代謝物の方が高いものがあるが、多くの場合は、代謝物についての長期試験のデータが入手できないであろう。毒性に関する代謝物の親化合物に対する強さについて結論を出すのが可能であれば、強さ係数(potency factor)をリスクキャラクタリゼーションに用いることができる。よって、決定木(案)は、可能であれば、そして可能な限り、代謝物についても適用すべきである。

・急性参照用量(ARfD)の検討が必要

な化合物については、そのもとになった POD が ADI のもとになったものと同じで、子供と成人の急性暴露に懸念がないなら、生涯よりも短期の暴露についての懸念もないだろう。

食事暴露についての検討

・JMPR で従来使用してきた IEDI は、特定の年齢/性別の集団、生涯よりも短期の暴露を評価するために必要であろう多量摂取者の集団に関する情報を提供できない。

・JECFA の GECDE は、生涯よりも短期の暴露による影響が懸念される化合物の評価に適しているだろう。しかしながら、このアプローチを JMPR の一般的な手順に組み込むには、より広範な農薬に関して利用可能であるか確認する必要がある。

・CIFOCOss データベースに摂取量データを集約するには、各国から提出される摂取量調査において、食品の一貫したコード化の作業が必要である。WHO が、消費されるものとして報告された食品についてのみ、EFSA の FoodEx2 コードを利用するデータベースを現在更新中である。

以上の通り、生涯よりも短期の暴露をどのように考慮すべきなのかについて、JMPR と JECFA で数年にわたり議論されているが、ある程度の方向性は見えてきたものの最終結論には至っておらず、いくつかの化合物を用いての試行と改善点の検討が続いている。将来、最終結論が得られた後には JMPR の農薬評価の手順書(FAO マニュアル)に収載されるものと予測される。議論の背景や経緯を知っておくと、手順書に収載された最終的な方法論を理解する上で役立つため、本課題については周辺議論も含めて完了までフォローアップしていく。

E.健康危険情報(研究班の活動全体を通じて)

なし

F.研究発表(研究班の活動全体を通じて)

1.論文発表

1)渡邉敬浩, 松田りえ子, 検査について考えることができること-1つのサンプルの結果から検査が成立する場合に関する統計学的考察-, 食品衛生研究, 69(10), 17-24, 2019

2)大原万里英,高畑正浩, 渡邉敬浩:FAO/WHO合同食品規格計画第51回残留農薬部会(CCPR), 食品衛生研究, 70(2), 33-47(2020)

2.学会発表

1)MRL 導出に対するデータ数の影響 - OECD MRL calculator を用いたシミュレーション-, 第 42 回残留農薬分析研究会

2)どの様な結果が得られた時に 1 つのサンプルの結果から合理的にロットの適合を判断できるのか, AOAC INTERNATIONAL JAPAN SECTION 第 22 回年次大会

G.知的財産権の出願･登録状況(研究班の活動全体を通じて)

なし

令和元年度厚生労働行政推進調査事業費補助金　食品の安全確保推進研究事業

食品に残留する農薬管理における方法論の国際整合に関する研究

研究分担報告書

農薬の残留基準値設定に資する方法論の国際整合と実際の評価に関する研究

研究代表/分担者　渡邉敬浩　　　　　　　国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

研究要旨

食品における農薬残留物のリスク管理措置として、適正農業規範(GAP)に規定された農薬使用基準の遵守の推進及び、使用基準遵守の指標である最大残留基準値(Maximum Residue Limit;MRL)の設定がある。我が国におけるこれまでの MRL 設定には、国際的な方法論や原則から乖離する事例があった。しかし、食品の安全性の確保だけではなく、輸出入に関する係争を回避するためにも、国際的に合意されている原則や方法論への整合が一層強く求められている。

JMPR 報告書の翻訳と解説：本研究では、これまでに FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議(JMPR)の FAO パネルが開発し活用している文書をもとに、MRL 設定方法の基本と考え方をまとめた文書(MRL 設定ガイド)を開発してきた。本ガイドは、JMPR による最新の評価等を踏まえ、更新を検討する必要がある。本年度研究においては、MRL 設定ガイドの更新検討も念頭に、本ガイドに沿った実践を行う評価者の能力向上に資する文書の開発を目的とし、選定した剤(2,4-D)に関する JMPR 評価書の翻訳と解説を行った。

データ要件ガイドラインに含めるべき事項の抽出：本研究班の分担課題「農薬残留基準値の国際標準に整合した設定方法の国内導入に関する研究」(山田友紀子博士担当)により、農薬製造事業者等を対象に MRL 設定に必要なデータへの要件を明確に示した指針(MRL 設定のためのデータ要件ガイドライン：データ要件ガイドライン)の厚生労働省による策定が支援されている。関連する OECD ガイドラインにより示された必ず従うべき主要な原理・原則を、データ要件ガイドラインには含めなければならない。その上で、わが国の状況に適した MRL 設定に必要なデータの種類や取得に関する指針を示さなければならない。本研究では、農薬製造事業者等がデータ要件ガイドラインに従いデータを取得する際の参考とされることを期待し、関連する OECD ガイドラインの翻訳を進める。また、データ要件ガイドラインに含めなければならない、必ず従うべき主要な原理・原則を特定して示す。

A. 研究目的

A-1. JMPR 報告書の翻訳と解説

農薬は、現在の食料生産に欠くことのできない資材であり、病害虫並びに雑草の防除、生長調整等を目的に、主として作物に投与される。この投与の結果として、農薬(有効成分)やその代謝・分解物が、取引される農産品に残留する場合がある。農薬は、目的を達成するために必要な最小の量と頻度を考慮して投与されることが原則である。収穫される農産品等における農薬の有効成分やその代謝・分解物の残留は、前述の農薬投与の原則を踏まえ、生産に必要な取組を規定した適正農業規範(GAP)に沿った農薬使用の結果である。もちろん、健康影響が懸念されるような残留につながるようなことがあってはならず、そのためには、GAP において農薬の使用基準が適正に設定され、それを遵守した使用によって、農業が確実に実行されなければならない。

農薬の最大残留基準値(以下、Maximum Residue Limit;MRL)は、GAP に沿って農薬が使用されたことを確認するための指標である。健康に影響のない残留にしかつながらない農薬の使用は、GAP の前提である。そのため、MRL を指標として、GAP に沿って生産された農産品であることを確認することが、農産品を原材料とする食品の消費に伴う健康リスクの適正管理につながる。

食品流通のグローバル化が進む現在、MRL の設定は一国だけの課題ではない。食品の輸出入国の双方に不利益が生じず、両者が納得する公正な貿易が行われるためにも、国際的な調和の下で各国が取り組むべき課題である。そのため、食品の安全性の確保に加えて、輸出入時の係争回避に大きく効果する公正さや透明性の確保の点からも、国際的に合意されている原則や方法論への整合が一層強く求められている。

本研究では、これまでに FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議(JMPR)の FAO パネルが開発し、先進諸国も含め活用されている文書の詳細を解析し、MRL 設定方法の基本と考え方をまとめた文書(MRL 設定ガイド)を開発してきた。本ガイドは、一度開発した後はそのまま無期限に使い続けることができる、そのような性質の文書ではない。JMPR による最新の評価等すなわち、MRL 設定に関する最新の科学的動向を踏まえて適宜見直し、更新を検討する必要がある。本研究では、MRL 設定ガイドの更新検討も念頭に、本ガイドに沿った評価を実践する行政担当者の能力向上に資する文書の開発を目的とした。

適正に行われた評価の過程を具体的にかつ正確にトレースすることは、評価に必要な解析や結果の解釈への理解を深め、応用を考えることもできるよ

うになるため、MRL 設定ガイドに沿った評価の実践において有効である。そこで、全世界から選ばれた経験豊かな有識者により作成される JMPR 評価書から、示唆に富んだ農薬の評価書を選定し、その翻訳と解析並びに解説を通じて、評価者の能力向上に資する文書の開発を検討した。本年度の研究では、2017 年の JMPR において一部のデータ解析に関連してコンサーンフォーム(評価結果に対する要望書)が提出され、それへの JMPR の回答が一般課題として取り上げられたこと及び、国内における現在あるいは今後の MRL 設定の参考とすべきとも考えられたことから 2,4-D の評価を取り上げ、定期的なレビュープログラムのもとで実施された 1998 年の評価、適用拡大等のために行われた 2001 年と 2017 年の評価を対象に検討した。

A-2. データ要件ガイドラインに含めるべき事項の抽出

国際整合した MRL を設定するためには、本研究班の支援のもとで厚生労働省が策定し令和元年 7 月に開催された薬事・食品衛生審議会(食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会)において公開した「食品中の農薬の残留基準値設定の基本原則について(案)」(以下、新基本原則とする。新基本原則検討の詳細は、山田博士による分担研究課題報告書を参照のこと)や、本研究班において開発した MRL 設定ガイドに示した基本的な考え方や原理・原則の十分な理解が不可欠である。しかしそれだけでは、実際に MRL を設定することは困難である。実際の MRL 設定に必要なデータの要件を明確に示し、それに従って取得・提出されたデータを、最大限に活用した科学的な評価が不可欠である。

MRL 設定に必要なデータは、対象の農薬と食品との組み合わせに応じて異なる可能性がある。この可能性を踏まえて OECD は、動植物による代謝、試料の凍結保存、作物残留試験、そして分析法といった農薬残留物の濃度に影響する各種要因を取り上げ、重要な要件等を規定したガイドライン・ガイダンス文書(OECD ガイドライン等)を策定している。厚生労働省が示した新基本原則も、すでにこれらの OECD ガイドライン等に記載されている原理・原則に基づいている。また、本研究班の分担課題「農薬残留基準値の国際標準に整合した設定方法の国内導入に関する研究」は、農薬製造事業者等に対しデータの要件を明確に示す指針「MRL 設定のためのデータ要件ガイドライン」(データ要件ガイドライン)の厚生労働省による策定を支援している。

本研究では、データ要件ガイドラインに従い農薬製造事業者等によりデータが取得される際の参考となることを

期待し、関連 OECD ガイドライン等の翻訳を進める。また、前述のデータ要件ガイドラインに含めなければならない、必ず従うべき主要な原理・原則を特定して示す。本年度は、OECD ガイドライン等のうち、OECD Guidelines for the testing of Chemicals, Section 5, Test No 506「Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities」を研究対象とした。

B. 研究方法

B-1. JMPR 報告書の翻訳と解説

本研究では、JMPRにおけるFAOパネルの専門家と同様に、作物残留試験データを含む各種データを解析・評価し、MRL案を導出する役割を担う我が国の政府担当者(評価者)が、その際に必要となる知見や知識の収集及び、考察や判断に係る能力の養成において使用することができる文書の開発を目的とした。そのために、2018年にJMPRにより発行された報告書(Report)並びに評価書(Evaluation)や2019年に開催された第51回CCPR(Codex残留農薬部会)における議論等を精査した結果及び、国内における現在あるいは今後のMRL設定に役立てられることへの期待を踏まえて2,4-Dの評価を検討対象とすることを決定した。

JMPRによる2,4-Dの評価は、1970年に初めて行われ、その後、1986年、1987年、1996年、1997年、1998年、2001年、2017年に行われた。このうち1998年の評価は、定期的再評価プログラムにより行われ、過去のデータも評価に含まれている。そのため、本研究では1998年、2001年及び、2017年に報告された3つの評価書を検討対象とした。これら3つの評価書を正確に翻訳するとともに、適宜JMPRのFAOパネルが作成し、MRL案の導出に使用しているマニュアル[FAO Plant production and protection paper 225; Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed(以下、FAOマニュアル)]に記述されている原理・原則に関する留意点等を踏まえて、一部解説を加えた。

B-2. データ要件ガイドラインに含めるべき事項の抽出

本研究において翻訳と検討の対象とするOECDガイドライン等をまず選定した。選定したガイドライン等を特に科学的観点から誤りのないように忠実に翻訳した。そのうえで、翻訳したガイドラインにより取り扱われているMRL設定に不可欠なデータ取得の要件に関する原理・原則や主要な点を特定した。

C.D. 結果及び考察

C.D-1. JMPR報告書の翻訳と解説

<u>C.D-1-1. 2018年に開催された第50回CCPRに提出されたコンサーンフォー</u>

ム

2017年のJMPRにおいて、遺伝子組み換えワタ(AAD-12)への適用拡大を目的として提出された2,4-Dに関する各種データが評価された。提出されたデータ中に、毟られていない綿種(cotton undelinted seed)における2,4-Dの凍結保存安定性のデータが含まれていた。そのデータからは、上記マトリクス中で2,4-D残留物が安定な期間は約1ヶ月であることが示唆されていた。しかし、最大残留濃度の推定に使用するデータを取得するために行われる作物残留試験試料の分析は、上記の1ヶ月を超える保存期間後に行われていた。このことを原因として、2017年のJMPRは「綿実における2,4-Dと2,4-DCP両方の保存安定性に疑義が生じたため、データを評価することができない」と結論とした。

Codex委員会における手続きに従い、JMPRの評価結果に対してアメリカがコンサーンフォームを提出し、綿種における残留物の安定性の欠如に関連しする2017年JMPRによる結論に対する説明を要求した。要求内容の詳細を含むJMPRの回答を、2018 JMPR 報告書から以下抜粋する。(2018 JMPR報告書p21-22)

3.5 2,4-D(020)

背景

2017年のJMPRは、遺伝子組み換えワタ(AAD-12)に対する2,4-Dの使用に起因する残留物を評価した。AAD-12中では、aryloxyalkonoate dioxygenase-12が発現しており、これが2,4-Dへの耐性と2,4-Dの代謝における関連した増加を与える。JMPRは、綿種を対象とした最大残留濃度を勧告していない。

1998年のJMPRにより確立された残留の定義は、MRLsへの適合判定及び食事リスク評価のいずれを目的とする場合でも2,4-Dである。

第50回CCPR会合において、アメリカからコンサーンフォームが提出された。アメリカは、凍結条件下でダイズ種子における2,4-Dの安定性が示唆されているにもかかわらず、凍結条件における綿種における残留物の安定性の欠如に関連して2017JMPRが下した結論に対する説明を要求した。

JMPRによるコメント

2017年のJMPRは、凍結保存安定性試験に関する1998年のJMPRによる評価と結論を認識していた。1998年のJMPRは、トウモロコシと米糠と同様にダイズ種子(高オイルマトリクス)の試験をレビューし、ダイズ種子マトリクス中で2,4-Dは最低でも365日間は安定であると結論した。

マイナス20℃で保存したAAD-12の綿種及び関連マトリクス中での2,4-Dの保存安定性の新しい試験が、2017年JMPR

によりレビューされた。添加濃度を0.10 mgとして保存した期間中、毳とりされていない綿種中の2,4-Dは1ヶ月間安定であり、それ以降、残存パーセンテージは70%より低値となった。2017年のJMPRは、綿種における安定性試験の結果は、提出された作物残留試験データの解釈との関連性がより高いと考えた。作物残留試験における試料の凍結保存期間は、84～118日間の範囲にあり、安定性が示された期間よりも大幅に長い。

そのため、2017年のJMPRは、綿実における2,4-Dの保存安定性が疑わしいことから、最大残留量を推定するために、残留濃度データは不適切であると結論した。

上記のJMPRの回答からは、以下を読み取ることができると考える。

アメリカの主張の中には、ダイズ種子中における2,4-Dの安定性への言及がある。ダイズ種子中の2,4-Dの安定性は、1998年のJMPRによって結論されており、その正当性に疑問を呈す必要は無い。アメリカの主張に含まれているにもかかわらず、2018年のJMPRの回答において、このダイズマトリクス中での安定性には言及がなく、注目すべき点であると考える。遺伝子組み換えワタ(AAD-12)における残留物の特性(濃度レベル等)を作物残留試験データから明らかにすることが本評価の目的であり、同一マトリクス(AAD-12の毳取りされていない種)中での2,4-Dの安定性が示されていることがデータ解析の前提である。そのことを暗に強調、再確認させる回答である。

2019年に開催された第51回CCPRでは、上記の2018JMPRによる回答を踏まえ以下の対応が記録されている(REP19/PR, Para 56)。「*JMPR事務局は、2018年のCCPRにおいてアメリカから提出されたコンサーンフォームへの対応として、2018年のJMPRにより、綿種における2,4-D及び2,4-DCP残留物の保存安定性が信頼されなかったことを確認した。CCPRは、2019年のJMPRによる評価のために、新しい保存安定性データが提出されるだろうことに、言及した*」

しかし、今回のケースでは、通常の凍結保存条件下では遺伝子組み換えに起因する2,4-Dの分解を十分に抑制することの困難が予想されるため、AAD-12中での2,4-Dのより長期間の安定性が示される可能性は低いと考える。そのため、安定性が確認されたより短期間(1ヶ月以内)のうちに、作物残留試験において採取された試料を分析し、データを取得しなおす以外に問題解決の手段はないものと考えられる。

<u>C.D-1-2 JMPRにより作成された2,4-D評価書の翻訳・解析・解説</u>

JMPRにより作成された、1)AAD-12への適用拡大に伴う2017年の評価書、2)柑橘類を対象としたポストハーベスト使用に伴う2001年の評価書、3)定期的再評価プログラムにより作成された1998年の評価書を翻訳した文書を、本報告書の別添に示す(別添1～別添3)。本翻訳には、原文と合わせて使用されることが意図されている。そのように使用することで、原文による表現への理解への深まりも期待される。この意図に沿って、図表等はブランクとした。また、翻訳に当たり発見された誤記や間違いを赤字により示した(JMPRの評価書は入念に作り込まれているが、完全ではない場合もある)。 さらに、記載事項の一部には、理解の助けとなる情報や疑問点を同じく赤字で示した。

2,4-Dの残留に関する情報が最も豊富であるため、別添3とした1998年の評価書(定期的再評価プログラムにより作成された評価書)を最初に読むのが適当である。環境動態に関する評価が厚い点が本評価書の特徴として感じられた。特に2,4-Dの特徴として環境動態の評価が重要視されたというわけではなく、評価のために提出されたデータセットの充実度合いに依ったものかと想像する。

農薬の物理的・化学的な特性から、各種試験の結果までをまとめ評価した「Evaluation」から、リスク管理上必要となるMRL案等を勧告した「aprisal」へと読み進め、どのようなデータが求められそして整理され、何を原理・原則としてそれらデータが解析・評価され、さらには判断がされているのかについて、理解が深められることを期待する。疑問に感じた点については、是非FAOマニュアルの記載と併せて、納得されるまで考察して欲しい。理解の助けとなることを期待し翻訳中にも示した訳注を以下に抜粋する。

その他、現在のCodexの枠組みにおける2,4-Dを対象としたMRLs(CXLs)の設定状況を確認するために、Codexデータベースから抜粋した情報を表1として示す。

－訳注－

*1 訳注)ここでいうフルバリデートとはOECD ガイドライン等で示されているILV のことを指す。単純にフルバリデートという用語を使用すると、他の分析法への要求とは異なり混同することがあるため、あくまで残留農薬分析法に求められるフルバリデートとして区別し認識することは重要である。

*2 訳注)本 evaluation の冒頭、説明に書かれている内容と矛盾する。

*3 訳注)冒頭の説明に書かれている内容と矛盾する。この部分の文章には乱れがあるようにも感じられる。正確には冒頭部分の説明にあるとおり、GAP と作物残

留試験のそれぞれに関する情報を受領したということが事実だろうと推測される。冒頭の説明部分と、本翻訳の該当部分の原文は以下の通り。
冒頭部分：The 2001 Meeting received information on GAP and supervised residue trials for the postharvest use of 2,4-D on lemons and oranges.
該当部分：The 2001 JMPR received information on trials conducted in Uruguay and the USA on citrus fruit by GAP and on supervised trials of post-harvest use of 2,4-D on lemons and oranges.

*4 訳注)ウルグアイにおける使用基準がアメリカにおける使用基準また柑橘類に含まれる複数の農産品(オレンジ、グレープフルーツ、マンダリン、レモン)を含み、オレンジとレモンを対象とした残留物濃度の中央値の差異が5倍以内であったことから、判断されたものと推測される。(FAO マニュアル p91 “basic principles in estimation of residue levels for commodity groups”)

*5 訳注) 時々見受けられる結果の解釈ではあるが、マトリクスとアナライト濃度の違いを無視した回収(率)の取扱は、分析科学上不適切である。

*6 訳注)原文のままだが、分析結果の解析の点から言えば、一般には異なる濃度に対して得られた回収(率)を一群と見なすことは不適であり、そもそも、想定される母集団のない回収(率)に対して平均や標準偏差を求めることも不適である。
*7 訳注)植物の形態上特定可能な茎の種類の 1 つ。わき芽

*8 訳注)投与濃度の違いから、4 グループであると分かる。この試験で用いられた頭数は、4 グループ x 3 頭+コントロール 1 頭の計 13 頭に下記追加 2 グループ(6 頭)を加えた計 19 頭。

*9 訳注)LOD は一般的には、検出限界の略記である。しかしここでは、Limits of Determination (定量限界)の略として使用されている。

*10 訳注)矛盾があるように感じられ、文意を理解することができない。原文は以下の通り。Although the US GAP for barley, oats and millet is the same as for wheat the Meeting agreed that extrapolation from wheat to barley, oats and millet could be recommended because the residue could be considerably higher from the use after blossom at the dough stage.

推測するならば、「Although the US GAP for barley, oats and millet is the same as for wheat the Meeting agreed that extrapolation from wheat to barley, oats and millet could not be recommended because the residue could be considerably higher from the use after blossom at the dough stage.」であり、「大麦、オーツ麦、きびを対象としたアメリカの GAP は、小麦を対象とした GAP と同一だが、開花後の使用により dough stage における残留

濃度がかなり高くなる可能性があるため、JMPR は小麦から大麦、オーツ麦、キビへの外挿を勧告することができないことについて合意した。」であろう。

C.D-2. JMPR報告書の翻訳と解説

C.D-2-1. 翻訳すべきOECDガイドライン等の選定

本研究では、以下のOECDガイドライン等を選定し翻訳等を進めることとした。

・Series on Pesticides No. 39/Series on Testing and Assessment No. 72「Guidance Document on Pesticide Residue Analytical Methods」

・Series on Testing and Assessment No. 96「Guidance Document on Magnitude of Pesticide Residues in Processed Commodities」

・TG 508「Magnitude of Pesticide Residues in Processed Commodities」

・TG 506「Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities」

これらのうち、本年度の成果としてTG 506「Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities」の翻訳版を別添4に示す。

C.D-2-2. 翻訳したOECDガイドラインに含まれる原理・原則及び主要な点

自然科学の世界では、ある現象が観察されている時点のデータ取得を試みる場合が一般的であろう。しかし、データの取得に試料の採取と分析が必要な場合には、現象観察と同時にデータを取得することができない。さらに、試料採取後直ちに分析できる場合ばかりでもない。農薬残留物のデータに関していえば、例えば、作物残留試験において採取された生の農産品試料は、ある期間保存された後に分析に供されるのがより一般的である。そのような場合には、試料採取時の残留物の特性(残留物の種類、濃度等)が、保存期間中に許容される一定の程度を超えて変化していないことの確認と保証が必要である。すなわち特定期間保存される試料における残留物の安定性が保証されていなければ、目的とするデータを取得することはできない。仮に、安定性が十分でないことが確認されたならば、適切でないデータの排除を判断しなければならない。

先述の通り、取得データの質に顕著な影響を与える可能性があるため、試料の凍結保存安定性の確認と保証は、データの適正の判断に非常に重要である。この凍結保存された試料における残留物の安定性(凍結保存安定性)を取り扱ったOECDテストガイドライン「Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities」に含まれる、原理・原則と主要な点を以下に箇条書きする。

凍結保存安定性試験の前提

・残留の定義(リスク評価と規制用の定義の両方)に含まれるすべての成分の残留物が、採取/収穫された時から分析までの間、正確に定量可能なまま残っていることを確実にする。
・試料は、採取後分析に供するまでの間、適切な条件で保管する。例えば圃場で試料を採取した後ドライアイスですぐに冷却し、試験所までの輸送期間は可能な限り短くするといった努力がされるべきである。
・試料が保存される場合、残留物の安定性に関する保存条件の影響が調査されなければならない。
・凍結保存安定性が確認された期間内に、該当する試験で採取・保管される試料の分析を確実にする。

凍結保存安定性試験の主要な要件

・試験の適用範囲

凍結保存安定性試験の対象となる試料は以下の試験において採取される。ただし、限定はされない。

- ・作物残留試験
- ・転作試験
- ・家畜飼養試験
- ・加工試験

・試験の免除要件

試料が凍結保存され30日以内に常に分析されるのであれば、凍結保存安定性試験を省略することができる。ただし、残留物の揮発性や不安定な特性を示さないことを物理化学的特徴に関するデータにより保証しなければならない。

・試料

✓インカード試料、添加試料のいずれを使用することも可能である。ただしインカード試料における濃度が本試験の目的に照らして十分でない場合には、添加試料の使用が優先される場合がある。

✓添加試料は、農薬投与されていないコントロール試料に、残留の定義に含まれる各成分の既知量を添加する。残留の定義に1つ以上の成分が含まれている場合には、各成分の安定性を検証できるような試験設計が必要である。

✓インカード試料を用いる場合、収穫後可能な限り短い期間中に1回目の分析を行わなければならない。これは、保存0時間の残留物のデータ取得の必要性を満たすためであり、添加試料についても同じである。

✓保存試料の形態(ホモジネート、粗切り、有姿、抽出物等)は、安定性を証明する必要のある試料の形態に依存する。例えば、作物残留試験で採取された試料が有姿で保存されるのであれば、保存試料もまた、有姿とするのが基本である。ただし、安定性がより低くなることが予想されワーストケースでの保証と理解することができるため、ホモジネート試料の使用を許容することがで

きる。

・被験物質

✓残留物の安定性に、農薬の剤型は顕著な影響を及ぼさないと期待されるが、試験結果の妥当性に関する論理的根拠が提供されるべきである。

✓残留の定義に1つ以上の成分が含まれる場合、それらの混合溶液を用いた添加試料の調製は推奨されない

・添加濃度

✓分析法の定量下限値の10倍に相当する濃度になるよう、添加量を決める。

✓添加方法は、添加用溶液の調製に関する留意点を含め、妥当性確認時に使用した添加試料の調製方法と同じとする。

・保存条件

✓作物残留試験といった各試験で採取される試料の実際の保存条件をシミュレートする。

・可能な限り同じ保存容器を使用する。

・保存時の温度は-18℃若しくはそれ以下の温度にすべきである。

・暗所に保存すべきである。

・安定性の低いことが明らかな農薬残留物については、より低温にすることを含む追加の保存条件を検討することができる。

✓保存条件を定期的にモニターする。保存期間中の条件に顕著な変化があった場合には、その詳細を報告する。

・サンプリングの頻度と期間

✓予期される保存期間をカバーし十分なタイムポイントでのサンプリングを可能にするため、凍結保存安定性試験の開始時には、その目的での小分け試料を十分多数に保管する。

✓サンプリングのタイムポイントには、0時点すなわち保存開始時を含める。

✓サンプリングのタイミングとタイムポイントは、対応する各試験の保存期間を考慮し変わりうる。

・例えば、0時点と12ヶ月あるいは24ヶ月後にタイムポイントが設定される場合があるが、このような設定は減衰率の推定を不可能にするため、データ提供者のリスクになる。

・残留物が安定であると考えられる場合には、典型例として0、1、3、6、12ヶ月をタイムポイントとすることが推奨される。ただし、保存期間がより長期に及ぶ場合には、それに応じてタイムポイントについても延長する。

・残留物の安定性が低いと考えられる場合には、0、2、4、8、16週をタイムポイントとすることが考えられる。

・農産品間の外挿

✓特定のカテゴリーに含まれる農産品間の外挿の原則が勧告される。農産品のカテゴリーは以下の5つであり、対応するカテゴリーに含まれる農産品の試験が以下に従い行われる。

・高水分含量：3種の多様な農産品で

安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の農産品を用いた更なる検証は不要である。

・<u>高油含量</u>：2つの多様な農産品で安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の農産品を用いた更なる検証は不要である。

・<u>高タンパク質含量</u>：乾燥した豆において安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の農産品を用いた更なる検証は不要である。

・<u>高デンプン質含量</u>：2つの多様な農産品で安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の農産品を用いた更なる検証は不要である。

・<u>高酸性度</u>：2つの多様な農産品で安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の農産品を用いた更なる検証は不要である。

✓試験された全ての農産品において残留物の安定性が示された場合には、5つの農産品のカテゴリーのそれぞれから1つの農産品を選んで行われた試験を許容することができる。

✓1つのカテゴリーにおいてのみ農薬が使用されると考えられる場合がある。その場合には、そのカテゴリーに含まれる1つ以上の代表的な農産品を用いた試験が必要とされる。多くの農薬は一部のカテゴリーの農産品にしか適用されない。2つ以上のカテゴリーで農薬の使用が考えられているが、5つのカテゴリーの全てで安定性試験が行われていない場合もある。そのような場合、代表農産品に必要とされる数は、カテゴリーと各カテゴリーに属する作物のいくつに農薬が使用されるかの組み合わせに依存するだろう。データの申請者は凍結保存安定性試験において使用する代表農産品をよく見極める必要がある。

<u>・動物性農産品</u>

例えば、家畜飼養試験あるいは皮膚投与試験のような動物性農産品が関与する試験の場合には、家畜に応じて以下を選択すべきである。

・筋肉組織-例えば牛並びに/あるいは家禽

・肝臓-例えば牛並びに/あるいは家禽

・乳

・卵

<u>・分析法</u>

✓妥当性確認された分析法を用いなければならない。

✓複数の化合物に共通の部分の分析対象とする分析法は、通常、使用すべきではない。

<u>・分析</u>

✓全てのタイムポイントで、サンプリングした保存試料の2点併行分析を行う。2点の分析結果に20%以上の差があった

場合には、追加の保存試料の分析を検討しなければならない。
✓保存試料の分析時には、用時調製した添加試料を分析し、操作回収率を確認する。

これらの原理・原則並びに主要な点は、データを取得する農薬等製造事業者らによりよく理解されるべきであり、厚生労働省が策定するデータ要件ガイドラインにおいても示されるべきである。また、より詳細なデータ報告様式等の作成において、OECDガイドラインのパラグラフ36以降の記載(データ報告の留意事項並びに、報告すべき事項)を活用することもできる。

本報告書並びに別添の翻訳において使用されている用語の整合は、十分に確認されていない。そのため、データ要件ガイドラインの策定時の参考にする場合には、留意が必要である。

E. 研究発表

1. 論文発表

1)渡邉敬浩，松田りえ子，検査について考えることができること-1 つのサンプルの結果から検査が成立する場合に関する統計学的考察-，食品衛生研究，69(10), 17-24, 2019

2)大原万里英，高畑正浩，渡邉敬浩:FAO/WHO 合同食品規格計画第 51 回残留農薬部会(CCPR)，食品衛生研究，70(2), 33-47(2020)

2. 学会発表

1)MRL 導出に対するデータ数の影響 -OECD MRL calculator を用いたシミュレーション-，第 42 回残留農薬分析研究会

2)どの様な結果が得られた時に 1 つのサンプルの結果から合理的にロットの適合を判断できるのか，AOAC INTERNATIONAL JAPAN SECTION 第 22 回年次大会

謝辞

本研究の実施に当たり、ご指導と多くの貴重なご助言をいただいた山田友紀子博士にこの場をかりて心から厚くお礼申し上げます。

別添 1

2017JMPR evaluation page583-608

2, 4-D (020)

説明

除草剤である 2, 4-D (2, 4-dichlorophenoxyacetic acid)は、広葉雑草の管理を目的として多種類の食品と試料において使用される、多種類の塩、アミン、エステルの剤型が現在登録されている。合成オーキシン除草剤であるため、2,4-D は植物ホルモンに対する反応の攪乱を引き起こす。現在多くの国で登録されている。

2,4-D は、1970 年の JMPR において初めて評価された。その後、1986 年、1987 年、1996 年、1997 年、1998 年、2001 年に続いて評価された。1998 年の JMPR での評価は、定期的再評価プログラムに基づくものである。2,4-D の規格は、1994 年に開かれた FAO/WHO 合同規格会合により確立している。現在の ADI は、2,4-D とその塩並びにエステル類の和を 2,4-D として求め、その和に対して 0-0.01 mg/kg bw に設定されており、ARfD 設定の必要はない。1998 年の JMPR により確立された現在の残留の定義は、MRLs への適合を評価する規制用並びに植物性並びに動物性農産品からの食事摂取量推定用ともに 2,4-D である。2,4-D の投与に伴う残留物は脂肪溶解性ではない。

GM ワタ作物への投与に起因する残留物について検討するために、2017 年の JMPR で評価することが計画された。2,4-D に関していくつかの CXL が設定されているが、綿実については設定されていない。

代謝並びに環境動態

JMPR はこれまでに、植物並びに家畜代謝試験のいくつか、転作作物試験のいくつか、また環境動態について検討してきている。今次 JMPR 会合は、2,4-D の代謝を昂進し 2,4-D 耐性とさせる aryloxyalkonoate dioxygenase-12(ADD-12)タンパク質を発現する GM ワタ(以後、ADD-12 ワタとする)に関する情報を受領した。

下記の表には、試験により同定された各残留物の構造、化学名称、共通あるいはコード名を示している。

表 1 AAD-12 ワタにおける 2,4-D 代謝試験から得られた代謝物の同定

AAD-12 Cotton (Rotondaro, S.L. et al, 2015; Study No. 140024)

ワタ植物体は、aryloxyalkanoate dioxygenase (AAD-12)タンパク質を発現するように遺伝子組み換えされた。AAD-12 タンパク質は、α-ketoglutarate 依存性の酸化還元酵素により仲介され、急速に 2,4-D の効果を失わせる。その結果、組み替え植物体は、2,4-D の様なある種のフェノキシオーキシン類に対して抵抗性を獲得する。AAD-12 タンパク質は、2,4-D が対応する非活性フェノール(2,4-DCP)に分解することを促進する。

[^{14}C]-2,4-D コリン(ベンゼン環が放射性標識された 2,4-dichlorophenoxy acetic acid choline)が、米国における最大季節投与率(3.3 kg ai/ha; 出芽前、BBCH61 と BBCH65 の時期に 12 日間の間隔で、それぞれ 1.1 kg ai/ha で 3 回投与)で AAD-12 ワタの栽培区画に投与された。[^{14}C]-2,4-D コリンの剤型は液剤(GF-2654)である。ワタは、成熟するまで屋外で栽培された。栽培区画は典型的な農業の取組を模して管理された。ただし、商業栽培では最大収量を得るために全ての丸莢を成熟させるのに対し、試験では下部の丸莢が成熟した時点で収穫した点を除く。

成熟した綿種と付属する部分(トラッシュ；例えば、葉や開いた丸莢)のサンプルは、3 回目となり最終の投与をした 56 日後(DAT)に収集された(出芽時の投与後 138 日目)。

サンプル中の放射活性残留物を定量するために、粉砕処理したサンプルの等量(10 x 約 0.05 g)を酸化燃焼法により分析した。

これらサンプルの一部は、油分を除くためのヘキサン(綿種のみ)、中性メタノール/水、塩基性メタノール、アルカリ環流、酸環流(綿種のみ)により順次抽出された。抽出物は、液体シンチレーションカウンターと、SPE カートリッジ処理後の HPLC により分析された。LC-MS あるいは LC-MS/MS が同定/確認の目的で使用された。抽出後の残留固形分は、ペクチン、リグニン、酸性デタージェント繊維、そしてセルロースのような非抽出性残留物の定量に供された。

処理されたサンプルにおける TRR レベルは、以下に示すように、酸の状態の 2,4-D として mg/kg 表記された。

表 2 綿種並びにトラッシュにおける総放射活性残留物 (TRR)

綿種並びにトラッシュにおける TRR レベルは、酸の状態の 2,4-D に換算して(mg eq/kg)そ

れぞれ 1.18 mg/kg と 39.8 mg/kg であった。DAT が短く設定されているため、予測される残留物レベルの最大量に近い値であると考えることができる。

綿種並びにトラッシュについて、抽出画分間での残留物の分布を、総サンプル残留物に対するパーセンテージと酸の状態の 2,4-D に換算した濃度の両方で以下に示す。

表 3 $[^{14}C]$-2,4-D コリン投与後の AAD-12 ワタにおける親化合物並びに代謝物の分布

[a] －実施していない

[b] ヘキサンによる徹底抽出(綿種のみ)、メタノール/水 (90/10)、メタノール/1 N NaOH (90/10)、2 N NaOH、2N HCl(綿種)を含む

[c] 徹底した抽出の後に残った残留物

[d] accountability= (総抽出物＋総非抽出物)/(燃焼分析により得られた TRRs) x 100

中性溶媒により抽出後に残ったペレットは、続けてメタノール/1N NaOH (90/10, v/v)により抽出した。綿種並びにトラッシュから約 8%の TRR がこの操作によりさらに抽出された。

それぞれの塩基性メタノール抽出画分の等量を調整し HPLC により分析した。綿種及びトラッシュからの SPE 回収は良好(90-100%)であった。しかし、投与した放射活性の 75-90%しか、SPE 溶出液 EL1 には回収されなかった。綿種については、EL1 を濃縮し HPLC により分析した。濃縮溶液の回収率は、負荷/洗浄溶液並びに EL1 については良好であったが、EL2 については低値であった。3 つのフェーズ全ての HPLC により分析された総量は、以下に報告している。総じて、抽出液調製手順の回収を原因として TRR の 2%以下がカウントされなかった。綿種抽出残留物の 7.5%のうちの 5.8%が、トラッシュの残留物 8.2%のうちの 7.9%が分析された。

塩基性メタノール抽出後に残留したペレットの複製物は続けて 2N NaOH により抽出された。この抽出操作により、綿種からは 32%、トラッシュからは 12%の TRR がさらに抽出された。

各塩酸抽出物の等量が調製され、HPLC により分析された。綿種とそれに付随する部分からの SPE 回収は良好(90-100%)であった。しかし、放射活性の約 25%が負荷/洗浄液に回収され、60-65%が SPE 溶出液 EL1 に、6-11%が EL2 に回収された(トラッシュについては、メタノール/1M NaOH[90/10, v/v]、綿種についてはメタノール/10M NaOH[90/10, v/v]に続けてメタノール/2 M NaOH[50/50, v/v])。3 つの SPE フェーズの全ては良好な回収率で濃縮され、

HPLC により分析された。トラッシュの負荷/洗浄液(TRR の 3%)には、保持しない極性物質のみが含まれており(示していない)、それに対して EL1 と EL2(TRR の 1%未満、示していない)には、2-22 min に溶出する非再溶解性の化合物の一群が含まれていた。2,4-D と 2,4-DCP はそれぞれ TRR の 1.5%未満で観察された。これらトラッシュからの 3 つの SPE フェーズの総量を以下に示す。

綿種からの 3 つの SPE フェーズの濃縮はより困難であった。綿種の負荷/洗浄液は濃縮され、形成された沈殿物は、一部はメタノールに溶解し、一部は塩酸に溶解した。最終的には、負荷/洗浄液中の綿種 TRR の約 5%(元々負荷/洗浄液に含まれていた 8.1%のうちの)が HPLC により分析され、放射活性の大部分は溶媒先端に近いところに溶出した。綿種について得られた EL1 は TRR の約 20%を含んでおり、pH7-8 に調整後、回収率が約 80%のエバポレーター(40℃)を用いて濃縮された。そのため、TRR の約 4%が回収されず、HPLC により分析されなかった。綿種から得られた EL1 のもう一方の等量分は、凝集物を得るために、ロータリエバポレータを用いて濃縮された(データは以下に報告してある)。この場合、濃縮による回収率は 85%を超えていた。しかし、15%(TRR の 3%分)が凝集物に集めることのできない揮発性物質であった。rotovap を用いて濃縮された、綿実から得られた EL1 フェーズ凝集物の HPLC プロファイルは、Turbovap によって濃縮した場合に類似していた。また、コンデンサーサンプルの pH は 9 を超えるように調整され、約 70%の回収率で濃縮後、HPLC により分析された。その結果、主に 2,4-DCP であることが示された。綿種からの EL2 には, TRR の約 3%が含まれていた。濃縮する過程で沈殿物が生じた。TRR の 1%を含む上精を HPLC により分析した結果、もっぱら保持されない極性成分であることが示された。

抽出されずに残った残留物の量は、綿種については TRR の 30%、それにトラッシュについては TRR の 5%未満だった。

抽出されずに残った残留物はさらに評価され、その結果も上に示している。綿種においては、抽出されない残留物の大部分(TRR の約 15%)はリグニンに関連しており、加えてより少ない量がセルロースに関連していた。トラッシュにおいては、ペクチンに TRR の 2%が含まれており、その他の結合性フラクションのそれぞれが TRR の 1%未満にあたる量を含んでいた。

綿種並びにトラッシュ両方のメタノール/水抽出物には複数成分の残留物が含まれており、主要な残留物は 2,4-D と 2,4-DCP のコンジュゲートであると同定された。極性物質はほぼ含まれていなかった。TRR の 5%未満となる低濃度の代謝物も観察された。酸分解の結果、低レベルピークの多く(コンジュゲートとして放射性標識されていた)は、主として 2,4-DCP に変換された。加水分解後に 2,4-D のレベルは上昇せず、このことは 2,4-D のコンジュゲー

トではないことを示唆している。4-CP のレベルはわずかに上昇した。しかし、そのレベルは綿種について TRR の 1%未満、トラッシュについて TRR の 3%未満にとどまった。加水分解により、主要ではない非極性残留物の放出も観察された。トラッシュにおいては、27 分に成分が検出されたが、HPLC のグラジエント条件を変更した結果、低レベルの多成分に含まれるものであることが示された。あるいは、非極性物質の残留は再現されるものではなかった。いずれの場合でも、非極性物質は残留プロファイルに該当するものではない。

表 4 AAD-12 ワタの綿種並びトラッシュからメタノール/水により抽出された物質の特徴づけ

*LC-MS による同定
**多成分あるいは再現されない

以下に示す通り、綿種とトラッシュの両方について、塩基性メタノール抽出物に含まれる残留物は多成分であり、中性有機溶媒画分に観察されたことから、主要な残留物は 2,4-D と 2,4-DCP のグルコースコンジュゲートであると暫定的に同定された。負荷画分がほぼ保持されない極性物質だったとしても(TRR の 1%未満、示していない)、極性成分はほぼない。SPE のメタノール/水溶出物(EL1)の加水分解(トラッシュについては等量分の 1 つだけが加水分解された)により、TRR の 3%を下回るレベルは残ったものの、多くの低レベルピークは主に 2,4-DCP に変換された。2,4-D のレベルは顕著には増加せず、このことは、2,4-D のコンジュゲートではなさそうであることを示唆していた。4-CP のレベルは、わずかに増加下が、TRR の 1%未満のままであった。主要でない、非極性残留物もまた、加水分解により放出された。

表 5 AAD-12 ワタの綿種並びトラッシュからメタノール/NaOH により抽出された物質の特徴づけ

HPLC により分析した 2N NaOH 抽出物の総量(3 つの SPE フェーズの全て)を以下に報告する。総じて、抽出物を調製する操作における回収率のために、トラッシュからの場合には TRR の 2%未満が、綿種からの場合には約 9%がカウントされなかった。綿種を対象とした 2N NaOH 抽出物中の放射活性の全てを回収するために、多くの労力がさかれた。以下に示すとおり、綿種とトラッシュともに、2N NaOH 抽出物における残留物は多成分であり、中性並びに塩基性の有機溶媒抽出物中に観察され、極性の放射性活性であったことから、主要

な残留物は 2,4-D 及び 2,4-DCP のグルコースコンジュゲートであると特徴づけられた。

SPE のメタノール/水溶出液(EL1)は酸加水分解された。トラッシュについては、この操作の回収率がほぼ 100%であった。綿種については、いくつかの試みにより、操作の回収率がほぼ 80%となった。しかし、形成された沈殿物を除くために遠心分離を行わないと、RAM トレースにはシグナルが観察されなかった。遠心分離することで、予期される放射活性の回収に多くの努力を払ったにもかかわらず、最終的に TRR の 4%未満が HPLC により分析できただけであった。明らかに、加水分解の産物は、沈殿物あるいは溶媒中で溶けない他のものに強固に関連していた。加水分解後に分析された綿種の低レベルな結果の中には、2,4-D、2,4-DCP、2,6-D のみがそれぞれ TRR の 2%未満で含まれていた。トラッシュの分析は、加水分解前にはサンプルに対して同様のプロファイルを示した。非溶解性の放射活性の大きな "こぶ"は 2-22 分に溶出された。

表 6 AAD-12 ワタの綿種並びトラッシュから 2N NaOH により抽出された物質の特徴づけ

[a] 2.83-21.67 分に、非溶解性の放射活性の大きな "こぶ"が溶出した。

トラッシュに対しては、TRR の 90%を超過する部分が抽出され HPLC により分析された。以下に示すように、トラッシュでは、主要な残留物が 2,4-D と 2,4-DCP のコンジュゲートであり、両方とも TRR の約 35%を占めていた。コンジュゲートから 2,4-DCP を放出させることにおいて、酸加水分解は効果的であった。2,4-DCP コンジュゲートはグルコースコンジュゲートであることが知られているあるいは疑われている。

綿種に対しては、TRR のほぼ 70%が抽出され約 50%が HPLC により分析された。綿種における主要な残留物は、2,4-DCP のコンジュゲートであり、TRR の約 22%を占めていた。コンジュゲートから 2,4-DCP を放出させることにおいて、酸加水分解は効果的であった。2,4-DCP コンジュゲートはグルコースコンジュゲートであることが知られているあるいは疑われている。

表 7 AAD-12 ワタの綿種並びトラッシュ抽出物から得られた全体的な特徴

‡ 多成分あるいは再現されない

分析法も類似の抽出法(メタノール/1.0 N NaHO, 90/10, v/v)を使用しており、抽出に対する

効果が、この溶媒における 2,4-D 並びに 2,4-DCP の安定性と同様に示されている。この抽出用溶媒を用いたラジオバリデーションにより、コンベンショナルな作物、AAD-1 トウモロコシ、AAD-12 ダイズに関しては、この抽出溶媒が効果的であることが示されている。さらに、この試験に用いられたのと同様に、分析法には類似の酸加水分解が含まれている。条件は 1.7 N HCl による 90℃での 1 時間の加熱である。

中性有機溶媒並びに加水分解された抽出物の両方におけるいくつかの成分が同定されている。質量分析(HPLC の保持時間並びに参照標準に比較する場合の既知の分子質量)の選択性は、幾つかの低いレベルの成分の同定を可能にし、その中には定量の目的で使用された放射活性を検出する HPLC 法により観察されなかったものが含まれていた。

綿実とトラッシュの両方において、単一グルコース(主要代謝物)、アセチル化グルコース、グルコースサルフェートを要素とする 2,4-DCP コンジュゲートが質量分析により確認された。質量分析により、上記に加えて主要でない代謝物が確認されたが、それらには 4-OH-2,5-D (コリンの挿入とヒドロキシル化), 4-CPAA (コリンの喪失), 及び 4-CP (4-CPAA におけるフェニル基からの酢酸の喪失)が含まれていた。酸加水分解後のレベルの減少、例えば 16、17、17.7 分に溶出したピークの減少から、その他のコンジュゲートの存在が疑われた。これら未知のコンジュゲートの大部分は、加水分解後に 2,4-DCP が顕著に増加したため 2,4-DCP のコンジュゲートであるが、4-CP のわずかな増加は 4-CP のコンジュゲートもまた元の抽出物中に低いレベルで存在していたかも知れないことを示唆している。

コンジュゲートに比べて遊離の DCP が低いレベルであったことは、コンジュゲート形成が急速に起こり、代謝の主要ルートであることを示唆している。放射活性がさらに植物の天然構成成分に取り込まれていったことは、投与された 2,4-D が広範に代謝されることを示している。AAD-12 ダイズでは、ヒドロキシル化も続けて起こるコリンの挿入も観察されていない。しかし、代謝の概観は、コンベンショナルな植物(非遺伝子組み換えの)における 2,4-D の代謝経路に一致している。

代謝経路

代謝の主要ルートは、側鎖の酢酸が脱離しフェノールを形成することを通じて進行する。フェノールは速やかにグルコースとコンジュゲートし、さらなるコンジュゲーションが続く。代謝は、放射性標識された炭素がリグニンやセルロースといった植物の天然成分に自然に取り込まれることを通じて進行する。主要でない代謝経路には、コリンの脱離とヒドロキシル化を伴うコリンの挿入が含まれ、それぞれ 4-CPAA と 4-OH-2,5-D が形成される。その他に、2,4-DCP と 4-CPAA の主要でない分解が起こり、コリンの脱離によって 4-CP が形成されるかも知れない。

図 1 AAD-12 ワタにおける 2,4-D の提案代謝経路

残留分析

分析法

毳とりされていない種子と AAD-12 ワタの副産物であるジンにおける 2,4-D 並びにその代謝物(2,4-DCP)を対象とした分析法 (Vespestad, D. 2014a, study No. 120430; Vespestad, D. 2014b, study No. 120431)

分析法“ワタマトリクス中の 2,4-D と 2,4-DCP を対象とした LC-MS/MS による分析手順”は、上記の 2 つのトライアル試験のスコープに沿って、2,4-D とその代謝物である 2,4-DCP の残留に関して、添加試料を用いてバリデーションされた。毳とりされていない種子と副産物であるコットンジンにおける 2,4-D と 2,4-DCP を対象としたバリデートされた LOQ は 0.01 mg/kg である。

<u>手順</u> : 2,4-D と 2,4-DCP の残留物はメタノール:1.0M NaOH (90:10, v/v)溶液を用いて振とうすることにより、サンプルマトリクスから抽出された。Study No. 120430 のために、各サンプルの等量分が採取され、5 mL のヘキサンと混合された。両試験について、遠心分離後、混合液の水層から等量分が採取され、0.1 mg/L の混合アイソトープを含む溶液が内部標準として添加された。サンプルは、混合され、ほぼ乾燥するまで濃縮された。続いて、500 mL の 2M HCl が加えられ、酸性になったサンプルは 90±5℃で最低でも 60 分間加熱された。冷却後、酸加水分解されたサンプルに 500 mL のメタノールが加えられた。サンプルはボルテックスと転がすことにより混合され、バイアルにフィルター濾過された。サンプルは、オンラインで逆相ポリマー固層抽出(SPE)カートリッジにかけられ、LC-MS/MS によりエレクトロスプレー法によりイオン化しネガティブイオンを検出することにより質量分析された。表 8 から 11 にかけて、バリデーション試験により得られた回収データを要約する。

表 8 バリデーション試験により得られた 2,4-D 回収の要約 (Study No. 120430)

[a] RSD=相対標準偏差

[b]NA=該当しない

表 9 バリデーション試験により得られた 2,4-DCP 回収の要約 (Study No. 120430)

[a] RSD=相対標準偏差

[b]NA=該当しない

表 10 バリデーション試験により得られた 2,4-D 回収の要約 (Study No. 120431)

[a] RSD=相対標準偏差

[b]NA=該当しない

表 11 バリデーション試験により得られた 2,4-DCP 回収の要約 (Study No. 120431)

[a] RSD=相対標準偏差

[b]NA=該当しない

保存されたサンプルにおける農薬残留物の安定性

遺伝子組み換えワタとその加工画分における 2,4-D 並びに 2,4-DCP の凍結保存安定性が、添加濃度 0.10 mg/kg、-20℃(名目上)、3 から 8 ヶ月の保存期間の条件で試験された。保存の 1 ヶ月、2 ヶ月、3 ヶ月後に、遺伝子組み換えワタとその加工画分における残留レベルが分析された。さらに毳取りされていない種子については、6 ヶ月と 8 ヶ月、副産物のジンについては 6 ヶ月保存した場合の安定性も決定された(Gesell, J.T., Smith, K. A. 2014; Report No. 130518)。サンプルは 2 つの残留試験で採用されたものと同一の分析法を用いて分析された(Study No. 120430 and 120431, "ワタマトリクス中の 2,4-D と 2,4-DCP を対象とした LC-MS/MS による分析手順")。

試験結果は、-20℃で保存した場合、2,4-D 並びに 2,4-DCP の残留物は、副産物のコットンジンでは最低 6 ヶ月、ワタの殻、焙煎していない種、焙煎した種、粗油、そして精製油では最低 3 ヶ月安定であることを示している。加えて、試験結果は、毳取りされていない綿実では、保存期間中に 2,4-D 並びに 2,4-DCP の残留物が目に見える分解を経験したことを示している(表 12 並びに表 13)。

表 12 2,4-D に関する凍結保存安定性サンプルの結果の要約

表 13 2,4-DCP に関する凍結保存安定性サンプルの結果の要約

使用基準

2,4-D は天然に存在する植物ホルモンのオーキシン類をまねたフェノキシ酢酸類に属する除草剤の一つであり、細胞分裂や伸張といった生理過程に影響を与える植物のオーキシンバランスに負荷をかける。その結果として、成長や植物の感受性が異常になる。2,4-D は、いくつかの作物について広葉雑草の選択的な管理のために出芽後に使用され、また牧草地や放牧地でも使用される。現在では、2,4-D の使用は、多くの国でいくつかの作物を対象に登録されている。

使用される 2,4-D の剤型の多くには、酸に比べて水に溶けやすい 2,4-D のアミン塩あるいは、容易に有機溶媒に溶解するエステル誘導体が含まれている。AAD-12 ワタを対象とする使用に関連し、米国では 2,4-D を含む 2 つの剤型が存在する。2 つの剤型は 2,4-D を 2,4-D コリンとして含んでおり、これは第四級アンモニウム塩である。

表 14 は、アメリカにおける AAD-12 ワタを対象とした 2,4-D コリン塩の使用に関する GAP の要約を示している。GAP テーブル中の 2,4-D に対する投与率は、作物残留試験の要約での示し方と同様に、2,4-D 酸(酸等量あるいは酸等量換算)に基づき示されている。使用方法の全ては、圃場における地表面へのブロードキャストスプレーである。

表 14　ワタを対象に 2,4-D の登録された使用方法

作物残留試験の結果

AAD-12 ワタ

アメリカにおいて、2,4-D を用いて AAD-12 ワタを対象に実施された作物残留試験におけるクリティカル GAP を表 15 に要約する。この要約表に示されている通り、クリティカル GAP の基本は、各回 1060 g eq/ha の投与率で 2,4-D を 3 回投与することである。1 回目の投与は発芽前に行われる。発芽後に行われる 2 回の投与のうち、最初の投与は作物の生育状況が BBCH65(中期開花)に至るタイミングの 12 日前に行われる。発芽後 2 回目となり最終の投与は BBCH65 の時期に行われる。

表 15　AAD-12 を発現しているワタを対象としたアメリカにおける 2,4-D 投与のためのクリティカル GAP

総数 16 件の作物残留試験がアメリカにおいて行われた。これらの作物残留試験では 2012 年の間にワタが商業的に栽培され、AAD-12 ワタに対して 2,4-D が投与された (Study ID 120430, Vespestad, 2014a)。AAD-12 ワタには、AAD-12 タンパク質を発現する Aryloxyalkanoate Dioxygenase-12 (aad-12)遺伝子が導入されており、除草剤である 2,4-D への抵抗性の増加を目的とした遺伝子組み換えである。作物残留試験が実施された地域(サイト)において、作物は典型的な商業生産の取組に従って栽培された。これらの作物残留試験における 2,4-D の投与/使用基準は、表 15 に掲載したクリティカル GAP に適合している。

作物試験ごとに 2 つの区画(プロット)が使用された。一つは未処理区である。もう一つの区画では、2,4-D コリン塩の SL 剤 (剤型番号 GF-2654)が 3 回投与された。投与率の目的とする値は、各投与につき 1 ヘクタール当たり 1120 g の酸等量(ae)であり、クリティカル GAP における投与率である 1060 g ae/ha の± 25%の範囲に含まれている。SL 剤は、全てのサイトにおいて、発芽前、3 回目の投与の 12 日前、BBCH65 の生育段階(中期開花)に投与された。気圧の正常に保たれた地上でブロードキャストスプレー器を使い、トラクターに乗せての噴霧あるいはバックパックスプレイヤーによる手による噴霧により投与された。

実綿は商業的な収穫に適した作物成熟の最も早い時期に各プロットで収集され、収穫後約 24 時間以内に、毳取りされていない種子と副産物のコットンジンをリンから分離するために綿繰りされた。独立して集められた 2 つの実綿サンプルの複製が各サンプリングの間隔ごとに 2,4-D を投与したプロットから得られた。未処理区からは 1 つのサンプルが得られた。それぞれのサンプルは、それを集めたプロットの独立した少なくとも 12 箇所から集められた。毳取りしていない綿種の生鮮農産品(RAC)サンプルは全ての作物残留試験において集められ、副産物であるコットンジンは Oklahoma と Texas で行われた選択された 5 つの作物残留試験において集められた (120430 OK-2, TX-2, TX-3, TX-4, and TX-5)。副産物であるコットンジンの全ては、コットンストリッパー収穫機を用いて集められた(USA EPA のガイドラインは、ストリッパーコットンの副産物のコットンジンについて、3 件の作物残留試験のデータを要求している。しかし、ピッカーコットンのデータは要求していない)。減衰試験では、毳取りされていない綿種と副産物のコットンジンのサンプルとが、5 つのタイミングで集められた。商業的な収穫に適した成熟期に最初に達すると期待される時期の 7 日前、作物が商業的な収穫に適した成熟度になる最も早い時期、そしてその時期の 7 日後、14 日後、21 日後である。減衰試験 120430 AR-1 では毳取りされていない綿種のみが集められた。

毳取りされていない綿種と副産物のコットンジンのサンプルは、通常、集められた後 4 時間以内に凍結保存された。サンプルは作物残留試験を実施した圃場で凍結され、凍結状態を維持して試験室に送付され、試験室においてホモジナイズされ、2,4-D と 2,4-DCP を分析するまでの間凍結保存された(最大保存期間は、毳取りされていない綿種サンプルについて 145 日、副産物のコットンジンについて 161 日である)。2,4-D と 2,4-DCP を用いた凍結保存安定性試験の結果は、同時回収率により補正した場合、副産物のコットンジン中に、少なくとも 92%の両化合物が 6 ヶ月間/184 日間残っていることを示しており、残留試験における保存期間を十分にカバーしていた。

2,4-D と 2,4-DCP を対象とした LC-MS/MS 法が残留試験のスコープに沿って添加試料の分析により妥当性確認された。分析されたマトリクスのタイプでの LOQ と LOD は 2,4-D と 2,4-DCP ともにそれぞれ 0.01 mg/kg と 0.003 mg/kg であった。毳取りされていない綿種並びに副産物のコットンジンに対する個々の同時回収率は、検証された全ての濃度を通じて、2,4-D に対して 87-108%、2,4-DCP に対して 78-114%であった。

アメリカで実施された 16 件の作物残留試験ごとに、毳取りされていない綿種並びに副産物のコットンジンについて得られた 2,4-D と 2,4-DCP の残留データの要約を、それぞれ表 16 と 18 に示す。各処理区から得られた 2 つの複製サンプルのそれぞれから得られた残留濃度の値、並びにそれら 2 つの複製サンプルから得られた値の平均値を示した。試験サンプルから得られた残留濃度は、回収率補正されていない濃度として報告されている。分析された残留物は、農薬が投与された作物の綿種と副産物のコットンの両方から検出されたが、総じて副産物のコットンジンで最高値を示した。減衰試験のデータは、毳取りされていない種子並びに副産物のコットンジンにおける 2,4-DCP の残留濃度が、総じて最終投与からより日数がたつほど減少することを示していた。減衰試験では、商業的な収穫に適した最も早い作物の成熟段階で集められたサンプルが(2 番目のサンプリングの間隔)作物残留試験において GAP に沿った農薬投与の結果としての残留濃度を代表させるためのサンプルとして選ばれた。これは、このサンプルの採取間隔が他の作物残留試験において目標とされた間隔(すなわち商業的な収穫に適した最も早い作物の生育段階を目標としている)に整合するためであり、一般に最も高い濃度の残留につながるためである。

アメリカで実施されたクリティカル GAP に適合した 16 の作物残留試験の結果に加え、ブラジルにおいて 2014-2015 年にかけて 5 つの作物残留試験が実施されており、その結果も表 16 に示した要約に含まれている(Study ID numbers 141060/141060.01)。2018 年に至るまで、遺伝子組み換え綿に対する 2,4-D 使用のブラジルにおける登録は予期されていないが、本評価書には含められた。

ブラジルで実施された 5 件の作物残留試験 (Study ID numbers141060/141060.01) において目標とされた使用基準は以下の通りである。都合 4 回の投与。各投与での 2,4-D の名目上の投与率は 1368 g ae/ha。植え付け前 (植え付けの約 15 日前)に 1 回投与。出芽前に 1 回投与。出芽後に 2 回投与。そのため、ブラジルで行われた作物残留試験における栽培期の総投与率は、5472 g aeha (4 x 1368 g ae/ha)であり、うち 2736 g ae/ha (2 x 1368 g ae/ha)は作物が出芽してから投与された。比較すると、アメリカにおける栽培期の総投与率は、3180 g aeha (3 x 1060 g ae/ha)であり、うち 2052 g ae/ha (2 x 1060g ae/ha)は作物が出芽してから投与された。

ブラジルで行われた作物残留試験に使用された剤型は 455 SL であった。気圧の正常に保たれた地上でブロードキャストスプレー器を使い、バックパックスプレイヤーによる手による噴霧により投与された。作物残留試験が実施された各サイトには、単一の非処理区と処理区が設けられた。

サンプリングでは、非処理区と処理区のそれぞれから、1 つの綿実サンプルが集められ、綿種は機械的に分離され、少なくともサンプル当たり 1 kg の種子が調製された。副産物のコットンジンサンプルは集められなかった。減衰試験のためのサンプルは、ブラジルで実施された 5 件の作物残留試験のうち 3 件から集められた。サンプルは、サンプル採取から 84-118 日までの間に、アメリカでの試験に用いられたのと同じ LC-MS/MS 法を用いて分析された。

作物残留試験により得られた、毳取りしていない種及び副産物のコットンジンにおける 2,4-D と 2,4-DCP 残留物の和を表 17 と表 19 のそれぞれに示している。

表 16 と表 18 における 2,4-DCP の残留は、補正せず 2,4-DCP として示してある。

表 16　AAD-12 を発現しているワタから得られた毳取りしていない綿種における 2,4-D 残留試験結果の要約

*コンジュゲートを含む

[a] 下線で示された 2,4-D の値は、クリティカル GAP に適合していると考えられ、MRL の計算において使用するために選択された

[b] 減衰試験に関するデータのうち、斜体で示された 2,4-DCP の値は、成熟段階の最も早い段階で収穫されたサンプルに対する値である

[c] 減衰試験における、通常の商業的な収穫における作物の成熟度に対するサンプリングの間隔

表 17　2,4-D として表した、毳取りしていない綿種における 2,4-D と 2,4-DCP 残留物の和－アメリカにおける作物残留試験の結果

[a] 作物残留試験の ID と、No. 120430 の試験で得られた毳取りしていない綿種における 2,4-D と 2,4-DCP の残留データ

[b] 2,4-DCP の値を 2,4-D の値に変換するために、2,4-DCP の値(コンジュゲートを含む)には 2,4-D と 2,4-DCP 分子量の比、すなわち 221/163 あるいは 1.3558 が乗ぜられた

[c] 2,4-D 等量として示した 2,4-D と 2,4-DCP の和。 2,4-D が ND (検出されず。検出下限値 0.003 mg/kg 未満)あるいは 0.01 mg/kg 未満の場合には、0.01 mg/kg の値(LOQ に等しい)が 2,4-D 等量として 2,4-D と 2,4-DCP の和を求めるための保守的なアプローチとして用いられた

副産物のコットンジン

表 18　AAD-12 を発現しているワタから得られた副産物のコットンジンにおける 2,4-D 残留試験結果の要約

*コンジュゲートを含む

[a] 下線で示された 2,4-D の値は、クリティカル GAP に適合していると考えられ、MRL の計算において使用するために選択された

[b] 減衰試験に関するデータのうち、斜体で示された 2,4-DCP の値は、成熟段階の最も早い段階で収穫されたサンプルに対する値である

[c] 減衰試験における、通常の商業的な収穫における作物の成熟度に対するサンプリングの間隔

[d] トライアルサイトの平均値は、各トライアルサイトの処理区から独立採取された 2 つの複製サンプルの値の平均である。2,4-D と 2,4-DCP の和であり、2,4-D 等量として残留濃度データは示してある。全てのトライアルサイトの平均値中最大の値は、2,4-D 等量として表された 2,4-D と 2,4-DCP の和に対する HAFT であると考えられる。

表 19　2,4-D として表した、副産物のコットンジンにおける 2,4-D と 2,4-DCP 残留物の和－アメリカにおける作物残留試験の結果

[a] 作物残留試験の ID と、No. 120430 の試験で得られた副産物のコットンジンにおける 2,4-D と 2,4-DCP の残留データ

[b] 2,4-DCP の値を 2,4-D の値に変換するために、2,4-DCP の値(コンジュゲートを含む)には 2,4-D と 2,4-DCP 分子量の比、すなわち 221/163 あるいは 1.3558 が乗ぜられた

[c] 2,4-D 等量として示した 2,4-D と 2,4-DCP の和。 2,4-D が ND (検出されず。検出下限値 0.003 mg/kg 未満)あるいは 0.01 mg/kg 未満の場合には、0.01 mg/kg の値(LOQ に等しい)が 2,4-D 等量として 2,4-D と 2,4-DCP の和を求めるための保守的なアプローチとして用いられた

[d] トライアルサイトの平均値は、各トライアルサイトの処理区から独立採取された 2 つの複製サンプルの値の平均である。2,4-D と 2,4-DCP の和であり、2,4-D 等量として残留濃度データは示してある。全てのトライアルサイトの平均値中最大の値は、2,4-D 等量として表された 2,4-D と 2,4-DCP の和に対する HAFT であると考えられる。

保存及び加工における残留物の動態

コットン

アメリカの 2 つの圃場(Study ID no. 120431, Vespestad, 2014b)において実施された試験の中で、繊維を除いていない綿実から生産された加工農産品における 2,4-D とその代謝物である 2,4-DCP の濃度が評価された。この試験は、Georgia 州と Texas 州に位置する 2 つの圃場において、2012 の作物生育期に実施された。加工農産品の製造に使用される繊維を除いていない綿実(RAC)が、作物残留試験により得られた。

2 つの圃場の両方で AAD-12 ワタが作付けされ、農薬を投与しない処理区 1 つと、農薬を投与した処理区 2 つが準備された。処理区では、2,4-D コリン塩を含む SL 剤(剤型番号 GF-2654)が 3 回、過剰量で投与された。1 つめの圃場で目的とされた投与量は 3 回の投与ごとにそれぞれ 2240 g ae/ha (2x,区画 T2)であり、2 つめの圃場では 4480 g ae/ha (4x,区画 T3)であった。作物障害への懸念があったため、4 倍量以上での投与は行われなかった。両圃場の 2 つの処理区において 3 回の投与がされた際の作物の生育時期は、以下の通り。(1)出穂前、(2)出穂後、3 回目の投与の約 12 日前、(3)BBCH65 (五分咲き)。トラクターに備え付けられた地面に向けて噴出されるブロードキャストスプレーの基材を使って投与は行われた。

加工農産品を製造するために、2 つの圃場のそれぞれで、非処理と処理区から、繊維を除いていない綿実サンプルの 1 つのバルクが採取された。採取されたバルクサンプルはその場で凍結され、加工のための施設に輸送された。工業的な加工手順を模して、商業的な代表サンプルとなる以下の加工農産品を製造するために、バルクサンプルは加工された。わた殻、ミール(コールドプレス抽出によってできる非焼成プレスケーキミールの他、焼成ミールも同じように)、粗油、精製油。繊維を除いていない綿実のバルクサンプルのそれぞれからは、2 つの複製サンプルが採取された。これは、加工農産品における濃度と比較するために、これらサンプルにおける残留物の濃度を分析するためである。残留分析のために採取された繊維を除いていないサンプルまた、加工農産品のサンプルは同様に、加工のための施設で凍

結され、凍結したまま分析のために輸送された。

試験番号 120430 の作物残留試験で用いられたものと同一の LC-MS/MS 法を用いて、繊維を除いていないサンプル並びに加工農産品のサンプルにおける 2,4-D と 2,4-DCP の残留物が分析された。

加工開始直前に加工のための施設において採取された繊維を除いていない綿実並びに、加工農産品のサンプルは、採取から分析のために抽出するまでの間、最長で 91 日間、凍結保存された。繊維を除いていない綿実の、収穫から分析のために抽出するまでの総保存期間は 234 日(7.8 ヶ月)であった。しかし、加工用施設において採取された繊維を除いていない綿実 RAC における残留物の濃度と、加工農産品における残留物の濃度とが比較されるため、加工のための施設において採取され分析のために抽出するまでの期間を保存期間とすることがより適切だと考えられた。2,4-D と 2,4-DCP を対象とした保存安定性試験の結果は、2,4-D について平均 69%(補正値)、2,4-DCP について 76%(補正値)が、3 ヶ月/90 日間、繊維を除いていない綿実中に残っていたことを示していた(Gesell, 2014)。加工画分 (ワタ殻、ミール、綿油)中に残っていた 2,4-D と 2,4-DCP の補正後の量の平均は、最低でもそれぞれ 88%と 84%であった。そのため、繊維を除いていない綿実から加工画分への移行の程度あるいは残留濃度を知るための目的に対しては、2,4-D と 2,4-DCP ともに、保存安定性は十分であると考えられた。

2 つの圃場において 2 倍また 4 倍の過剰量で投与した、綿実並びにその綿実から製造した加工農産品における残留物分析結果の概要は表 20 に示されている。試験により得られた繊維を除いていない綿実並びに加工農産品における残留濃度の平均値、また関連する加工係数(PFs)の概要は表 21 に示されている。

この検討により、綿実から製造された加工産品において、2,4-D の残留物は顕著な濃度になるとは予測されないことが示された。この検討において、繊維を除いていない綿実のサンプルの多くからは、2,4-D が検出されていないが、Texas において実施された試験において 4 倍量を投与した場合には 0.01 mg/kg 未満の濃度で検出された。加工産品(ワタ殻、ミールあるいは綿油)において、2,4-D の残留物は検出されていないため、この試験は、ワタ殻、ミール、綿油には 2,4-D が顕著な濃度で存在しないことの証拠を提供していると考えられる。2,4-DCP については、綿油に残留物が濃縮されることはなかったが、ワタ殻における濃度は綿実に比べてわずかに高かった(加工係数の総平均は 1.16 であり、ワタに使用される化学物質として典型的)。非焼成ミールと焼成ミールのそれぞれに対する加工係数の総平均は、両方の圃場と投与量を通じて、それぞれ 2.10 と 1.86 であった。もし 2,4-DCP が家畜用飼料に含まれているならば、これらの加工係数は、ヒトの食事暴露量とリスクを評価する目的にお

いて、家畜負荷量を推定するために使用することができる。

表 20　AAD-12 を発現しているコットンにおける 2,4-D を対象とした加工試験により得られたデータの概要

2,4-DCP の残留物にはコンジュゲートを含む

[a]2,4-D のコリン塩を含む SL 剤である GF-2654 が 3 回投与された。目標とした濃度は、2242 g ae/ha (2 倍) あるいは 4483 g ae/ha (4 倍)である。最初の投与は出穂前に行われ、その後約 12 日の間隔で投与が行われ、最終投与は五分咲きの時期(BBCH 65)に行われた。

[b] 噴霧された各溶液は、約 0.25%(v/v)の非イオン性界面活性剤(NIS)を含む。

[c] ND は未検出を表し、LOD(< 0.003 mg/kg)未満の濃度となる。括弧書きで示された値は、LOQ(0.01 mg/kg)未満、 LOD (0.003 mg/kg)以上を意味する。

[d] 平均値計算の利便性の点から、“ND” (<LOD of 0.003 mg/kg)にはゼロを割りあて、LOD (0.003 mg/kg)以上 LOQ(0.01 mg/kg)未満の値には報告された数値(すなわち括弧書きで示された値)を使用した。

表 21　綿実の加工試験結果の概要(2,4-D 及び 2,4-DCP)

2,4-DCP の残留物にはコンジュゲートを含む

[a]ND は分析法の LOD である 0.003 mg/kg 未満であることを示している。“<LOQ”は、LOD と LOQ (0.01 mg/kg)の間であることを示している。加工係数(PF)を計算するために、“ND”の場合にはゼロであること、<LOQ の場合には報告された値であることを想定とした。

[b] RAC における濃度が LOD(ND と示されている)未満の場合には、PFs を計算せず、表中には“NC”と示した。

[c] 繊維を除いていない綿実における平均値は、加工試験において集められた RAC 試料の平均値である。

[d] これらの値は、ND の値となる LOD の 1/2 の値(0.0015 mg/kg)で調整してある。

表 22　綿実の加工係数の概要(2,4-D 及び 2,4-DCP)(表 21 の結果に基づく)

動物性農産品における残留物

家畜給餌試験

該当する試験結果は以前に JMPR によりレビューされている。

1998 年の JMPR 報告書で見ることができるとおり、3 頭の牛の一群に対して、乾燥重量ベースで 1446、2890、5779 そして 8585 ppm に相当する 4 つの濃度水準で 2,4-D ae を含む飼料が 28～30 日間連続して給餌された。さらに 2 つの群に対して最高濃度の飼料が 28 日間給餌され、最後の給餌後 3 日あるいは 7 日後にと殺された。最高濃度の残留物は腎臓で検出され、肝臓、脂肪、筋肉部位、そしてミルクの順で濃度は低くなった。この残留物濃度と部位との関係は、概ね 4 つの給餌群で一致した。脂肪を除き、概ね残留物の濃度は給餌濃度に依存した。脂肪では、最高の給餌濃度で見られた残留物の平均値に比べ、中程度に高い給餌濃度で見られた残留物の平均値がわずかに高く、このことはプラトーに達していたことを示している。

1998 年の JMPR 評価書で見ることができるとおり、産卵鶏(1 羽当たりの重量が 1.5 kg の産卵鶏 5 羽で構成された 3 群)の組織、卵、排泄物における残留物の濃度が測定された。産卵鶏には消費する餌の量(1 日、1 羽当たり 112-119 g)当たり約 18 ppm に相当する放射性ラベルされた 2,4-D を含むカプセルが経口投与された。卵と排泄物は 7 日間を通じて採取され、最終投与の 22-24 時間後に産卵鶏はと殺された。^{14}C ラベルされた 2,4-D を経口投与された産卵鶏では、投与された量の約 90%が排泄物から回収された。可食組織と卵のそれぞれには総投与量の 0.1 未満しか含まれていなかった。

APPRAISAL

除草剤である 2,4-D、2,4-dichlorophenoxyacetic acid は一群の塩、アミン、エステルの剤型で登録されており、食品や飼料となる作物に混じって生える広葉雑草の管理に使用される。合成オーキシン除草剤 2,4-D は、植物ホルモンへの応答障害を引き起こす。2,4-D は現在、たくさんの国で登録されている。

2,4-D は、1970 年に初めて JMPR により評価された。続けて、1986 年、1987 年、1996 年、1997 年、1998 年、そして 2001 年に評価された。1998 年の評価は定期的再評価プログラムによるものである。その仕様は 1994 年に行われた the Joint FAO/WHO Meeting on Specifications により確立されている。現在の ADI は、2,4-D とその塩並びにエステルを 2,4-D に換算した和として 0-0.01 mg/kg bw である。ARfD は不要である。現在の残留の定義は 1998 年の JMPR により確立されており、2,4-D を MRLs に対する規制のための指標として、また同じく 2,4-D を植物性並びに動物性農産品を対象とした食事摂取量の推定のために定義している。

GM ワタ作物における残留物を検討するために、2017 年の JMPR において 2,4-D の評価を行うことが計画された。いくつかの Codex MRLs が設定されているが、綿実を対象とする MRLs は設定されていない。

植物代謝

1998 年の JMPR では、リンゴ、レモン、ジャガイモ、そして小麦における代謝試験の結果が評価された。これらの植物における優勢な残留物は 2,4-D であった。ただし、リンゴを用いた試験では、同定するためには放射活性が低すぎた。

今回の JMPR は、GM ワタに関する情報を受領した。この GM ワタ中では、α-ketoglutarate-dependent aryloxyalkonoate dioxygenase-12 (AAD-12)タンパク質が発現しており、このことによって 2,4-D への耐性が獲得される。この耐性獲得は、2,4-D 代謝の昂進と関連している。以後、この GM ワタを AAD-12 ワタと呼ぶ。

AAD-12 ワタを作付けした区画に、[^{14}C]-2,4-D コリン(フェニル基がラベルされた,4-dichlorophenoxy acetic acid のコリン塩)がアメリカの栽培期最大投与率である 3.3 kg ai/ha で投与された(出穂前期、BBCH61 及び BBCH65 の生育期に、12 日間の間隔を置いて、それぞれ 1.1 kg ai/ha で 3 回投与)。2,4-D コリン塩の剤型は、水和剤(soluble concentrate)であった。AAD-12 ワタは、成熟するまで屋外で栽培された。商業栽培とは異なり、植物体の下部のボールが成熟した時点でコットンボールは収穫された。

最終投与の 56 日後の総放射活性残留物(TRR)の値は、綿実で 1.2 mg eq/kg、トラッシュで 40 mg eq/kg であった。

ヘキサン、メタノール/水(9:1)、そしてメタノール/2M NaOH による連続した抽出の結果、32%TRR が綿実から、83%TRR がトラッシュ(ヘキサン抽出はなし)から抽出された。2M NaOH への還流により、さらに 32%TRR が綿実から、12%TRR がトラッシュから抽出された。また、2M HCl への還流により 3%TRR が綿実から抽出された。これらの抽出操作後、種子では 31%TRR が、トラッシュには 3.4%TRR が抽出されない放射活性として残った。抽出されなかった放射活性は、ペクチン、リグニン、酸性デタージェント繊維、そしてセルロースに帰属した。総じて、投与された放射活性の 98%が綿実とトラッシュから回収された。

2,4-D は多数の成分に代謝され、放射活性を持つ成分のいくつかが同定された。主要な残留物は、親化合物である 2,4-D と 2,4-DCP のコンジュゲートであることが同定された。その他の代謝物も同定されたが、<5% TRR であった。

<u>綿実</u>：メタノール/水により抽出されたもののうち、4.8% TRR(0.057 mg eq/kg)が 2,4-D であった。8.3% TRR(0.099 mg eq/kg)が 2,4-DCP と 2,4-DCP コンジュゲートであり、sulphate-glucose コンジュゲートが主であった(4.7% TRR)。メタノール/NaOH により抽出されたもののうち 2,4-D は 0.1% TRR(0.001 mg eq/kg)未満であり、2,4-DCP と 2,4-DCP コンジュゲートは、約 2.7% TRR(0.032 mg eq/kg)であった。これらの抽出物を加水分解すると 2,4-DCP が効果的に放出され、一部の 2,4-D は 2,4-DCP に加水分解された。2M NaOH 抽出物中の 2,4-D と 2,4-DCP、2,4-DCP コンジュゲートは 2%TRR 未満だった。

<u>トラッシュ</u>：メタノール/水により抽出されたもののうち、31% TRR(12 mg eq/kg)が 2,4-D であった。33% TRR(13 mg eq/kg)が 2,4-DCP と 2,4-DCP コンジュゲートであり、sulphate-glucose コンジュゲートが主であった(23% TRR)。メタノール/NaOH により抽出されたもののうち 2,4-D は約 2.5% TRR(0.99 mg eq/kg)未満であり、 2,4-DCP と 2,4-DCP コンジュゲートは、約 2.5% TRR(0.98 mg eq/kg)であった。これらの抽出物を加水分解すると 2,4-DCP が効果的に放出され、一部の 2,4-D は 2,4-DCP に加水分解された。2M NaOH 抽出物中の 2,4-D と 2,4-DCP、2,4-DCP コンジュゲートは 2%TRR 未満だった。

2,4-D 耐性遺伝子組み換えワタ(AAD-12 ワタ)における 2,4-D の代謝は、従来作物(レモン、ジャガイモ、小麦)における代謝と定性的には類似していた。一方で量的には、2,4-D と主要でない成分の一つである 2,4-DCP が AAD-12 コットンにおいては主要な残留物であり、2,4-DCP とそのコンジュゲートは、TRR に対して同等かむしろより高い割合で検出された。しかし、植物表面または植物の内部にある 2,4-DCP は、2,4-D の使用以外にも、水や環境に由

来する可能性もあり、そのため、この化合物を残留の定義に含めることは適切ではないと考えられた。

AAD-12 ワタにおける 2,4-D の主要代謝経路は、急速に酢酸側鎖を失わせ 2,4-DCP を生成する。2,4-DCP もまた速やかにグルコースとコンジュゲートを形成し、さらに引き続きコンジュゲートを形成する。代謝は進行し、放射性ラベルされた炭素は、リグニンやセルロースのような植物の構成要素に自然に取り込まれていく。

その化学構造のため 2,4-D は、粗油あるいは精製油のいずれの綿実油にも濃縮されないと予想される。綿実における 2,4-D は<LOQ であり、粗油あるいは精製油からは検出されていないため、加工係数を計算することはできなかった。

分析法

繊維を除いていない綿実と、AAD-12 ワタの副産物であるジンにおける 2,4-D と 2,4-DCP を対象とした分析法が、今回の JMPR には提出された。提出された分析法は、作物残留試験において同時に妥当性確認されていた。

分析手順には、メタノール/1 M NaOH(90:10, v/v)による 2,4-D と 2,4-DCP の抽出が含まれている。内標となる安定同位体の添加後、ほぼ乾燥するまで濃縮され、サンプル溶液は、2M HCl 存在下、90℃±5℃の条件で最低 60 分間加温された。サンプルは、オンライン化された逆相ポリマー固層抽出(SPE)カートリッジで精製後、液体クロマトグラフにより分離され、陰イオンエレクトロスプレータンデムマススペクトロメトリー(LC-MS/MS)により測定された。

妥当性確認された分析法の LOQ は、繊維を除いていない綿実と副産物のコットンジンにおいて、2,4-D と 2,4-DCP ともに 0.01 mg/kg であった。

保存された分析用試料中での残留物の安定性

AAD-12 ワタ並びにその加工画分のサンプル中での 2,4-D と 2,4-DCP の冷凍保存安定性が、添加濃度を 0.10 mg/kg、保存条件を-20℃、保存期間を 3～8 ヶ月として試験された。

凍結保存安定性試験の結果は、試料が-20℃で保存された場合、2,4-D と 2,4-DCP は、副産物のコットンジンでは最低 6 ヶ月間、ワタ殻、非焼成ミール、焼成ミール、粗油そして精製油では最低 3 ヶ月間安定であることを示していた。また試験結果は、1 ヶ月並びに 3 ヶ月間それぞれ保存した場合に、繊維を除いていない綿実において、2,4-D と 2,4-DCP の残留物が観察可能な程度の分解を経験していることを示している。

作物残留試験の結果

JMPR は AAD-12 ワタを対象とした作物残留試験データを受領した。

綿実における 2,4-D と 2,4-DCP 両方の保存安定性に疑義が生じたため、JMPR はデータを評価することができなかった。

参照

別添 2

2001JMPR evaluation page 91-97

2, 4-D (020)

説明

2,4-D は、CCPR による定期的レビュープログラムにおいて、1998 年に JMPR により評価された。JMPR は、多くの MRLs を勧告した。その中には、植物生長調整剤としての収穫前の主要でない使用を取り扱った 4 件の作物残留試験に基づくグレープフルーツとオレンジを対象とした 0.1 mg/kg の MRL を含む。また、柑橘類を対象とした 2 mg/kg の既存 CXL の取り消しを勧告した。

2000 年に開かれた CCPR 第 32 回会合は、柑橘類を対象とする CXL を維持することを決めた。これは、南アフリカ、ウルグアイ並びにアメリカが、ポストハーベスト使用への対応を望み、スペインが個別の柑橘類に MRL を設定しない方が望ましいとしたためである。アメリカとスペイン政府は、CCPR に対して、追加の作物残留試験の結果を JMPR に報告予定であることを通告した。オランダと南アフリカは、オレンジとグレープフルーツを対象とした個別 MRLs の設定提案に基づくデータの評価に合意しなかった(ALINORM 01/24、para 89)。

2001 年の JMPR は、レモンとオレンジを対象としたポストハーベスト使用に関する GAP 情報と作物残留試験データを受領した。

使用基準

2,4-D イソプロピルエーテル(通常名、2,4-D イソプロピル)のポストハーベスト使用が、アメリカでレモンについて、ウルグアイで柑橘類について登録されている。収穫された果実の buttons が剥離することを防ぐ目的から、2,4-D イソプロピルは選果場において水-ワックス乳剤、あるいは希釈液をフラッシュするあるいはワックスを掛けた後のスプレーにより投与される。表 1 には登録されている使用基準が示されている。投与率は酸等量(kg ae/hl)として表記されている

表 1 2,4-D イソプロピルエーテルについて登録されているポストハーベスト使用

[1] 係数は 0.84 (2,4-D の分子量は 221、2,4-D イソプロピルの分子量は 263.12)

[2] 保留期間

作物残留試験の結果

Johanson and Strickland (1995). アメリカの California において実施された、レモンを対象とした 2,4-D のポストハーベスト使用に関する 2 つの作物残留試験が、1998 年の JMPR に報告されていた。しかし、最大残留濃度を推定するためには、試験の件数が少なすぎた。結果を表 2 に繰り返し示す。

表 2 1998 年の JMPR に報告された、アメリカでレモンを対象に行われた 2,4-D の使用に関する 2 つの試験の結果(Johanson and Strickland, 1995) 果実全体が分析された

[1] 収穫前処理された 7 日後に収穫された果実が、保存において処理された

Johanson and Strickland (2001). 2001 年に、ネーブルオレンジとレモンを対象とした投与実験が行われた。ネーブルオレンジについては 6 群、レモンについては 4 群に投与され、それぞれの作物につき 1 群がコントロールとされた。全ての試験 (群)において、50 個のネーブルオレンジあるいはレモンが 0.05 kg ai/hl の 2,4-D イソプロピル溶液 (0.042 kg ae/hl)により処理された。各試験では処理された 50 個の中からランダムに 20 個のネーブルオレンジあるいはレモンが選ばれ集められた。全ての試験における 2,4-D イソプロピルの投与はラベルの指示に従っており、標準的な農業における取組を模したものであった。二重に処理するためには二重の溶液が調製された。

ポストハーベストで使用するために、2,4-D イソプロピルは選別場において水-ワックス乳剤、あるいは希釈液をフラッシュするあるいはワックスを掛けた後のスプレーにより投与される。プロトコルが準備される前に行われた試験の結果は、ワックス処理した後に比べ(平均 0.16 mg/kg)、水溶液をスプレー処理した後(平均 0.26 mg/kg)のほうが 2,4-D 残留濃度がわずかに高くなることを示していた。そのため、ポストハーベストで行われるスプレー処理が可能性のある残留物の濃度を最大化する。

2,4-D イソプロピルを含まない溶液をスプレーした点を除き、コントロールサンプルは処理サンプルと同一の方法を用いて取り扱われた。各複製サンプルには、平均して 2.5 kg (ネーブルオレンジ)あるいは 1.3 kg(レモン)になる 20 個の果物を含めた。全てのサンプルは処理後速やかに凍結し、10 個の果物から成るサンプル 2 つに分割した。果物は均質化され、そこから 10 g のサブサンプルが 2 つとられ、2,4-D 残留物の抽出、GC による測定に供された。

ネーブルオレンジは、2001 年 1 月 17 日に収穫され、翌日に選果場にてサンプルが集められた。リスボンレモンは、2001 年 1 月 16 日に収穫され、翌日にサンプルが集められた。集

められた果物は、その日のうちにサンキストリサーチステーションに輸送され、コールドルーム(約 1.7℃)に保管された。集められた果物は、収穫前のいかなる 2,4-D 投与あるいは収穫後のどんな農薬の投与もされていない。

2001 年 1 月 23 日に行われた最初の 4 つの群の処理では、50 個のネーブルオレンジと 50 個のレモンが、ラベルの指示並びに通常の取扱に従って、同時に処理された。この 4 つの群に加えて、追加 2 群への処理が、オレンジについては行われた。その 2 群の処理では、全ての果物が、市販のフォーマーウォッシュの 10%溶液に通され、水でリンスしたあと乾かされた。コントロールの果物には、2,4-D イソプロピルを含まない溶液がスプレーされた。一方、処理した果物には、0.05 kg ai/hl の 2,4-D イソプロピルを含む溶液がスプレーされた。

各処理では、サンプルが一定の速度で流れていくことを確実にする目的から、果実はコンベヤベルトに乗せられ、ラインを通じてサンプルを押すためにラバーボールが用いられた。処理用並びにコントロール用の溶液は 4 つのノズルにより投与され、果実はその下を通過することで溶液をかぶることになる。スプレー溶液と果実は、スプレーされた後プラスチックのブラシがついた溝を果実が転がることによってもコートされる。接触する総時間をストップウォッチで計測してみると、約 22 秒であった。果実はその後、泡状のブラシを通過する。この通過時に、果実は部分的に乾燥する。次いで、果実は 12.5% の保存ワックスと 87.5%の軟水で構成された市販の保存ワックス溶液による処理のためにワックスブラシを通過した。その後、果実はワックスの乾燥のためにフォースエアドライヤー(52-57℃)に運ばれ、プラスチックの包みに入れられ、包装ラインを外れ、ラベルされ、2 枚目となるプラスチックの包みに入れられ、すぐに冷凍庫に保存された。翌日、サンプルはドライアイスとともに深夜急行便によって、残留物の分析のために輸送された。

投与溶液における有効成分の実際の濃度を明確に知るために、各処理をする直前に、コントロール並びに処理溶液のそれぞれ約 50 mL が集められ分析された。

<u>分析法</u>　皮をむかない生の柑橘類における 2,4-D の濃度が、フルバリデート[*1] された分析法により分析された。10 個の果実で構成されたサンプルのそれぞれについて、そこに含まれる全ての果物が均質化された。均質化されたサンプルは直ちに－20℃で凍結保存された。均質化サンプルから 10 g のサブサンプルを 2 つ取り、分析した。0.7 M NaHO により 100℃で 1 時間加熱抽出することで 2,4-D が単離された。抽出物の等量は、硫酸で酸性化した後、エーテル抽出に供された。抽出物中の 2,4-D は、三フッ化ホウ素メタノール溶液を使ってメチルエステルに変換された。水を加えたのち、サンプルはヘキサン転溶され、質量分析計を備えた GC(GLC-MS)により測定された。生の柑橘類における定量下限は 0.05 mg/kg であった。全てのサンプルは、2,4-D イソプロピルの投与後 20 日以内に分析された。

*1 訳注)ここでいうフルバリデートとは OECD ガイドライン等で示されている ILV のことを指す。単純にフルバリデートという用語を使用すると、他の分析法への要求とは異なり混同することがあるため、あくまで残留農薬分析法に求められるフルバリデートとして区別し認識することは重要である。

投与溶液の混合物 5mL は、2,4-D の全てのエステルあるいは塩がナトリウム塩に変換されるように、水溶性水酸化ナトリウム溶液中で加水分解された。その上で、硫酸を加え酸性化することで、全ての 2,4-D を遊離の酸に変換し、塩化ナトリウムにより飽和することで、エチルエーテルに分配した。エーテルを蒸留し、残留物を三フッ化ホウ素-メタノール溶液で処理することで、2,4-D をメチルエステルに変換した。反応後の溶液に水を加え、2,4-D メチルをヘキサンに分配し、GLC-MSD により測定した。投与用溶液中の濃度は 2,4-D イソプロピルとして計算した。投与用溶液に対する LOQ は 0.1 mg/kg であった。

結果　分析結果は、mg ae/kg を単位とする酸等量として計算された。オレンジ、レモンともに全てのコントロールサンプル中での 2,4-D の残留物の濃度は、<0.05 mg/kg であった。0.05 kg ai/hl の 2,4-D イソプロピルをスプレー処理したオレンジサンプル中での 2,4-D 残留物濃度の平均は 0.2 mg/kg であった。検出された残留物の最大濃度は 0.27 mg/kg であった(表 3)。0.05 kg ai/hl の 2,4-D イソプロピルをスプレー処理したオレンジサンプル中での 2,4-D 残留物濃度の平均は 0.395 mg/kg であった。検出された残留物の最大濃度は 0.65 mg/kg であった(表 4)。

表 3 ネーブルオレンジの果実全体に投与後 0 日目に残留していた 2,4-D(Johanson and Strickland, 2001)

表 4 レモンの果実全体に投与後 0 日目に残留していた 2,4-D(Johanson and Strickland, 2001)

オレンジとレモンのコントロールサンプルに対して使用されたブランク溶液には 0.145 mg/hl の濃度で 2,4-D イソプロピルが含まれていた。6 つの投与用溶液における 2,4-D イソプロピルの平均濃度は、名目上の濃度である 0.05 kg ai/hl の 106～136%に相当し(表 5)、6 つの溶液全ての平均は名目上濃度の 121%であった。

表 5 投与用溶液における 2,4-D イソプロピルの濃度(Johanson and Strickland, 2001)

APPRAISAL

2,4-D の残留物について、1998 年の JMPR により定期的レビュープログラムの元で評価され、多くの MRLs が勧告された。柑橘類に関しては、植物生長調整剤としての主要でない収穫前使用を扱った 4 つの作物残留試験に基づき、JMPR はグレープフルーツとオレンジの最大残留濃度を 0.1 mg/kg と推定し、また、柑橘類を対象とした 2 mg/kg の既存 CXL の取り消しを勧告した。

2000 年に開かれた CCPR 第 32 回会合は、柑橘類を対象とする CXL を維持することを決めた。これは、南アフリカ、ウルグアイ並びにアメリカの代表団が、ポストハーベスト使用に対応するために、そうすることを望んだためである。スペインの代表団は、個別の柑橘類の MRL に対応する CXL を望んだ*2。スペインとアメリカは、CCPR に対して、JMPR が追加の作物残留試験を利用することができるようになるだろうと通告した。オランダと南アフリカは、提案されたオレンジとグレープフルーツを対象とする個別 MRLs のためのデータの評価に合意しなかった。

*2 訳注)本 evaluation の冒頭、説明に書かれている内容と矛盾する。

2001 年の JMPR 会合は、柑橘類を対象として GAP に基づき、ウルグアイとアメリカにおいて実施された作物残留試験に関する情報と、レモンとオレンジを対象とした 2,4-D のポストハーベスト使用に関する作物残留試験に関する情報とを受領した*3。

*3 訳注)冒頭の説明に書かれている内容と矛盾する。この部分の文章には乱れがあるようにも感じられる。正確には冒頭部分の説明にあるとおり、GAP と作物残留試験のそれぞれに関する情報を受領したということが事実だろうと推測される。冒頭の説明部分と、本翻訳の該当部分の原文は以下の通り。

冒頭部分：The 2001 Meeting received information on GAP and supervised residue trials for the postharvest use of 2,4-D on lemons and oranges.

該当部分：The 2001 JMPR received information on trials conducted in Uruguay and the USA on citrus fruit by GAP and on supervised trials of post-harvest use of 2,4-D on lemons and oranges.

作物残留試験により観察された残留物

2,4-ジクロロフェノキシ酢酸イソプロピルエステル(2,4-D IPE)は、ウルグアイ(グレープフ

ルーツ、オレンジ、マンダリン、レモン)とアメリカ(レモン)において、収穫後の果物から buttons が剥離することを防ぐ目的から、商業栽培される柑橘類について現在登録されており、収穫後に投与されている。2,4-D IPE の溶液は、選果場における水-ワックス溶液を用いた処理によりあるいは希釈液の吹きつけあるいはスプレーにより投与される。

1998 年の JMPR は、ウルグアイとアメリカにおける現在の GAP に従って California で行われた、レモンを対象としたポストハーベスト試験 2 件のデータを評価した。果実全体における残留物の濃度は 0.54 と 0.61 mg/kg であった。

2001 年に、カリフォルニアの研究センターにおいて、実験的な包装ライン機器を使用し、ネーブルオレンジ(6 試験)とレモン(4 試験)について、ポストハーベスト処理がおこなれた。投与は、ウルグアイとアメリカの現在のラベルによる要求に沿って、最大の投与率で行われた。商業的な投与と果実の取扱手順は、下記の通りである。果実は、0.05 kg ai/hl の 2,4-D IPE 溶液(0.04 kg ai/hl の 2,4-D に相当)溶液でスプレーされた。オレンジの果実全体における残留物の濃度を昇順で示すと以下の通りである(中央値に下線)、0.19、0.2、<u>0.21</u>(2)、0.22、0.24 mg/kg。レモンの果実全体における残留物の濃度を昇順で示すと以下の通りである。 0.37、0.41、0.44、0.6 mg/kg。JMPR はオレンジに対するデータ(中央値、0.21 mg/kg)とレモンに対するデータ(中央値、0.49 mg/kg)が異なっていることを認めた。しかし、オレンジ、グレープフルーツ、マンダリン、レモンを対象としたウルグアイにおける使用基準に基づき、JMPR は全データセットに基づき、柑橘類を対象とした MRL を勧告することを決めた[*4]。ポスハーベスト処理されたオレンジとレモンの果実全体での濃度を昇順で示すと以下の通り。0.19、0.20、0.21(2)、0.22、<u>0.24</u>、<u>0.37</u>、0.41、0.44、0.54、0.60、0.61 mg/kg。JMPR は柑橘類を対象とする最大残留濃度を 1mg/kg であると推定した。可食部に関するデータは提出されなかったため、JMPR は、果実全体における残留物濃度に基づき、STMR を 0.3 mg/kg と推定した。
*4訳注)ウルグアイにおける使用基準がアメリカにおける使用基準また柑橘類に含まれる複数の農産品(オレンジ、グレープフルーツ、マンダリン、レモン)を含み、オレンジとレモンを対象とした残留物濃度の中央値の差異が5倍以内であったことから、判断されたものと推測される。(FAO マニュアルp91 “basic principles in estimation of residue levels for commodity groups”)

加工工程における残留物の動態

1998 年の JMPR は、柑橘類ジュースに対する加工係数を 0.1、柑橘類オイルに対する加工係数を<1 と推定した。今回 JMPR は、これらの加工係数を柑橘類果実を対象とした STMR の値 0.3 mg/kg に適用し、柑橘類ジュースに対する STMR-P を 0.03 mg/kg、柑橘類オイルに対する STMR-P を 0.3 mg/kg と推定した。

勧告

作物残留試験から得られたデータに基づき、JMPR は以下に列記する残留物濃度が最大残留基準値の設定並びに IEDI の推定に用いるのに適当であると結論した。

残留の定義(MLR への適合判定並びに食事摂取量の推定用): 2,4-D

Commdity		Recommendation, values in mg/kg		
CCN	Name	MRL		STMR, STMR-P[1] HR
		New	Previous	
FC 0001	Citrus fruits	[1] Po	-	0.3
	Citrus juice			0.03
	Citrus oil			0.3
FC 0203	Grapefruit	W	0.1	
FC 0004	Oranges, Sweet, Sour	W	0.1	

W: 以前の勧告は取り下げ

[1] 可食部を対象としたデータは利用できなかったため、STMR の値は果実全体に対する結果に基づく

食事リスク評価

長期摂取

柑橘類、それらの加工農産品であるジュースとオイルに対する 2,4-D の STMR あるいは STMR-P の値が、今回の JMPR により推定された。その他、22 の農産品に対する STMR あるいは STMR-P の値が、1998 年の JMPR により推定されている。食品消費量のデータが利用可能な場合には、これらの値が食事摂取量の推定に使用された。食事摂取量推定の結果は、Annex3 に示している。

推定された STMRs に基づく、5 つの GEMS/Food 地域食事に対する IEDIs は、ADI の 3-20%であった。JMPR は、検討されてきた使用方法に由来する 2,4-D の残留物の長期摂取は公衆衛生上の懸念につながる恐れが少ないと結論した。

短期摂取

2001 年の JMPR は、2,4-D に対する ARfD を設定する必要はないと結論した。そのため、今回の JMPR は、2,4-D の短期摂取が消費者の健康リスクにつながる恐れが少ないと結論した。

参照

別添 3

1998 JMPR evaluation page 179-312

2, 4-D (020)

説明

2,4-D は、1970 年に初めて、毒性と残留の両方について評価され、最近では 1986/87 年に残留が、1996 年に毒性が評価されている。1997 年の JMPR は環境への影響を評価した。

1976 年以前に ADI が設定されているため、1989 年の CCPR における優先度検討の作業グループにより、2,4-D の再評価が提案された(ALINORM 89/24A, para 299 and Appendix V)。1990 年の CCPR において、継続使用の実態があり、農薬事業者がデータを提出できる可能性があることが示された(ALINORM 91/24 para 360, Appendix V part I)。1994 年に向けてレビューが仮に予定された。後に、1996 年、そして 1998 年の JMPR で評価することが再計画された。

今回の評価は、CCPR による定期的レビュープログラムの一環として行われるものである。

情報の大部分を提出した農薬事業者タスクフォースのメンバーは、AGROGOR、Dow Elanco、Nufarm and Rhône Poulenc であった。彼らは代謝並びに環境動態、分析法、使用基準、作物残留試験、各国の MRLs に関するデータを提出した。残留物分析法、GAP 並びに、各国の MRLs に関する情報は、オランダ政府からも提出された。

同一性(遊離酸)

ISO 名	2,4-D
化学名	
IUPAC:	2,4-dichlorophenoxyacetic acid
CA:	(2,4-dichlorophenoxy)acetic acid
CAS No.	94-75-7
CIPAC No.	1
構造式	
分子式	$C_8H_6Cl_2O_3$
分子量	221.0 g/mol

物理的なまた化学的な特性

純粋な有効成分

技術的なマテリアル

剤型

商業的に入手可能な剤型 : TC、WP、SP、WG. アルカリ金属塩、有機アミンとエステル類としても化合物化されている。

同一性(遊離酸ジメチルアミン塩)

ISO 名　2,4-D-dimethylamine

化学名

IUPAC:　dimethylamine (2,4-dichlorophenoxy)acetate

CA:　(2,4-dichlorophenoxy) acetic acid, dimethylamine salt

CAS No.　2008-39-1

CIPAC No.　1

シノニム　2,4-D DMA

構造式

分子式　$C_{10}H_{13}Cl_2NO_3$

分子量　266.13 g/mol

物理的なまた化学的な特性

純粋な有効成分

技術的なマテリアル

剤型

商業的に入手可能な剤型 : TK、SL、SP。

同一性(2 エチルヘキシルエステル)

ISO 名　2,4-D-ethylhexyl

化学名

IUPAC: 2-ethylhexyl (2,4-dichlorophenoxy)acetate

CA: (2,4-dichlorophenoxy) acetic acid, 2-ethylhexyl ester

CAS No. 1928-43-4

CIPAC No. 1

シノニム 2,4-D EHE

構造式

分子式 $C_{16}H_{22}Cl_2O_3$

分子量 333.27 g/mol

物理的なまた化学的な特性

純粋な有効成分

技術的なマテリアル

剤型

商業的に入手可能な剤型：TK、EC、EW、OL。

同一性(ジエタノールアミン塩)

ISO 名 2,4-D-diethanolamine

化学名

IUPAC: diethanolamine (2,4-dichlorophenoxy)acetate

CA: (2,4-dichlorophenoxy) acetic acid, diethanolamine salt

CAS No. 5742-19-8

CIPAC No. 1

シノニム 2,4-D DEA

構造式

分子式 $C_{12}H_{17}Cl_2NO_5$

分子量 326.18 g/mol

物理的なまた化学的な特性

純粋な有効成分

技術的なマテリアル

剤型

商業的に入手可能な剤型：SL。

同一性(2-ブトキシエチルエーテル)

ISO 名　2,4-D-butoxyethyl

化学名

IUPAC:　2-butoxyethyl (2,4-dichlorophenoxy)acetate

CA:　(2,4-dichlorophenoxy) acetic acid, 2-butoxyethyl ester

CAS No.　1929-73-3

CIPAC No.　1

シノニム　2,4-D BEE

構造式

分子式　$C_{14}H_{18}Cl_2O_4$

分子量　321.20 g/mol

物理的なまた化学的な特性

純粋な有効成分

技術的なマテリアル

剤型

商業的に入手可能な剤型：EC、TK。

同一性(イソプロピルアミン塩)

ISO 名　2,4-D-isopropylamine

化学名

IUPAC:	isopropylamine (2,4-dichlorophenoxy)acetate
CA:	(2,4-dichlorophenoxy) acetic acid, isopropylamine salt

CAS No. 5742-17-6

CIPAC No. 1

シノニム 2,4-D IPA

構造式

分子式 $C_{11}H_{15}Cl_2NO_3$

分子量 280.04 g/mol

物理的なまた化学的な特性

純粋な有効成分

技術的なマテリアル

剤型

商業的に入手可能な剤型：SL。

同一性(イソプロピルアミン塩)

ISO 名 2,4-D-isopropylamine

化学名

IUPAC:	tri-isopropanolamine (2,4-dichlorophenoxy)acetate
CA:	(2,4-dichlorophenoxy) acetic acid, tri-isopropanolamine salt

CAS No. 32341-80-3

CIPAC No. 1

シノニム 2,4-D TIPA

構造式

分子式 $C_{17}H_{27}Cl_2NO_6$

分子量 412.31 g/mol

物理的なまた化学的な特性

純粋な有効成分

技術的なマテリアル

剤型

商業的に入手可能な剤型：SL。

同一性(イソプロピルエステル)

ISO 名　isopropyl

化学名

IUPAC:　(2,4-dichlorophenoxy)acetate, isopropyl ester

CA:　(2,4-dichlorophenoxy) acetic acid, isopropyl ester

CAS No.　94-11-1

CIPAC No.　1

シノニム　2,4-D IPE

構造式

分子式　$C_{11}H_{12}Cl_2O_3$

分子量　263.12 g/mol

物理的なまた化学的な特性

純粋な有効成分

技術的なマテリアル

剤型

商業的に入手可能な剤型：TK、EC。

代謝並びに環境動態

一律に環が ^{14}C ラベルされた 2,4-D を用いて代謝並びに環境動態の試験が行われた。^{14}C

ラベルされた 2,4-D ([^{14}C]2,4-D):マウス、ラット、山羊、家禽、魚。^{14}C ラベルされた 2,4-D ジメチルアミン塩([^{14}C]2,4-D DMA):リンゴ。^{14}C ラベルされた 2,4-D 2 エチルヘキシルエステル([^{14}C]2,4-D EHE):ジャガイモ、小麦。^{14}C ラベルされた 2,4-D イソプロピルエステル([^{14}C]2,4-D IPE):レモン。さらに、エステル部分がラベルされた化合物も使用された：2,4-D 2-エチルヘキシル-1-14C エステル (2,4-D EHE-1-14C):ラット。

記載に用いられる代謝物の化学名、構造、略称は Table 1 を参照のこと。

表 1 2,4-D 代謝物の構造

家畜(動物)代謝

マウス (Eiseman, 1984) [^{14}C]2,4-D (純度 98%)の薬物動態が、26 匹の雄の B6C3F1 マウスを使用し、5、45、あるいは 90 mg/kg bw の単回経口投与と 90 mg/kg bw の単回静脈投与の後調べられた。排出バランスを評価するために、5 匹のマウスに胃への直接投与あるいは静脈投与によって、5 あるいは 90 mg/kg bw の量で[^{14}C]2,4-D が単回投与された。血漿、肝臓、そして腎臓における処理後 0.083、0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、24、36、48 そして 72 時間後の放射性残留物が分析された。尿は処理前また処理後 0-6、6-12、12-24、24-36、36-48、48-72 に採取され、その後 168 時間目まで 24 時間ごとに採取された。糞は処理前また処理後 0-12、12-24 そしてその後 168 時間目まで 24 時間ごとに採取された。マウスはと殺され、血液、肝臓、腎臓、そして残りのと体が総放射活性残留物(TRR)測定のために採取された。

各投与量における動物の血漿からの放射性物質の消失は、経口並びに静脈のルートの両方による明らかな薬理動態パラメータを得るために、反復重み付け非線形回帰分析により検討された。高濃度処理におけるクリアランスの明らかなラグ並びに、投与後初期の 4 時間に血漿において 2,4-D に由来する ^{14}C が高いレベルになったことから、限定ミカエリスメンテンクリアランスによる 2 コンパートメントモデルが用いられた。半減期は 28-45 時間と計算された。少なくとも投与量の 50%が 12 時間以内に消失下が、推定値は実際の消失速度定数に比べて低いことを示唆していた。

経口投与後、時間に対する薬物濃度時間曲線下面積(AUC)は、投与量に比例する量を超えて増加した。

^{14}C の主要排出ルートは尿であり、経口投与 5 mg/kg bw, 静脈投与 5 mg/kg bw, 経口投与 45 mg/kg bw, 経口投与 90 mg/kg bw、静脈投与 90mg/kg bw のそれぞれについて 63、84、71、

53 そして 65%であった。経口投与 5 mg/kg bw の 7.6%、静脈投与 5 mg/kg bw の 5.2%が糞に排泄された。経口投与 45 mg/kg bw では 15%に、経口投与 90 mg/kg bw では 16%に、そして静脈投与 90 mg/kg bw では 12%に、割合が増加した。TRR の大部分は、静脈投与 5 mg/kg bw では 0-6 時間後、経口投与 5 mg/kg bw では 0-12 時間後、45 あるいは 90 mg/kg bw の投与では 6-24 時間後に尿へと排出された。投与後 168 時間に検出された ^{14}C はごくわずかであった。静脈投与したマウスの血液あるいは血漿には何も見つからなかった。経口投与したマウスのうち一個体でのみ低レベルの放射性ラベルされた残留物がプラズマで検出された。各投与量で、肝臓と腎臓には同様のレベルの TRR が含まれていた。投与量や投与ルートによらず、[^{14}C]2,4-D 投与後 7 日を経過したマウスには投与量の 1.1%未満の放射性残留物が残っていた。45 mg/kg bw を超える投与量の雄のマウスでは、2,4-D の尿への排出は飽和しているように見えた。

ラット Smith 等(1980)は、濃度との関数として化合物の動態を検討し、飽和の証拠を示す排出の初期動向が認められる概ねの濃度を同定するために、ラット雄 Fischer 344 のいくつかの群に経口並びに静脈投与した後の[^{14}C]2,4-D 消失の薬物動態(放射性化学純度 99%より高い)を調査した。3 匹のラットで構成される群の 3 つに、 jugular カニューラを用いて 10、50、あるいは 150 mg/kg bw の[^{14}C]2,4-D が与えられ、類似の 2 つの群に 5 あるいは 90 mg/kg bw の[^{14}C]2,4-D が静脈投与された。TRR は投与後 1、2、3、6、9、12、15、18、24、36、48、60 そして 72 時間後に測定された。尿中の ^{14}C レベルは 6 時間間隔で最初の 24 時間は測定され、どの後 72 時間目までは 12 時間間隔で測定された。糞の試料は 24 時間間隔で採取された。

投与量の影響を検討するために、6 匹のラットで構成される群 5 つに、10、25、50、100、150 mg/kg bw の量で単回投与が行われ、投与の 6 時間後にと殺された。経口投与後の 2,4-D の吸収は、初期の 12 時間以内に投与量の 85%を超え、経口投与された 10 mg/kg bw のうち総量として 97%、150 mg/kg bw のうち総量として 95%は尿に排出された。静脈投与された 5 並びに 90 mg/kg bw のうち、99%と 86%が初期の 12 時間以内に回収され、72 時間後には 100%と 91%が回収された。血漿からの飽和クリアランスが検出され、AUC における非比例性により確認され、血漿における比率の付随する増加が認められた点:腎臓において ^{14}C 濃度が投与量に応じて増加したことは、おそらく尿への排出が飽和していることを反映していた。

排出は二相性であった。静脈また経口ルートでの平均半減期は、∀ 相に対してそれぞれ 55 分と 1 時間であり、∃ 相に対して 14 時間と 18 時間であった。尿への ^{14}C の急速な排出と ∃ 相の寄与の小ささは、ラットにおいて 2,4-D が蓄積する可能性は低いことを示唆していた。

Timchalk (1990)は、Fischer 344 ラットに経口並びに静脈投与した後の[^{14}C]2,4-D の吸収、分布、代謝並びに排出について検討した。5 匹の雄並びに 5 匹の雌で構成された群の 4 つに、[^{14}C]2,4-D が 1 あるいは 100 mg/kg bw の量で胃に直接単回投与、あるいは 1 mg/kg bw の量で単回静脈投与、あるいは 14 日間非ラベルの 2,4-D を 1 mg/kg bw の量で毎日経口投与した後 15 日目に同じ量で[^{14}C]2,4-D を単回経口投与した。血漿における濃度と時間との関係を決めるために、4 匹の雌のラットで構成される群を 2 群追加し、単回経口投与とそれに引き続いていて jugular カニューラにより 1 あるいは 100 mg/kg bw の量で投与した影響が調べられた。血漿における濃度は、投与の 24 時間後に測定された。

全ての群において、処理後 48 時間以内に、94%を超える量が回収された。主に尿(85-94%)から回収され、糞からも 2-11%が回収された。性差は認められず、繰り返し経口投与することによって、排出経路は変わらなかった。血漿における濃度は、投与後約 4 時間維持された。^{14}C の非比例性 AUCs と尿への排出が遅れたことは、量に依存した非線形の動態を強く意味していた。放射性ラベルされた残留物の放出は、100 mg/kg bw を投与した後最初の数時間で飽和していたが、その排出は急速であり投与量の大部分は、全ての群において投与後 36 時間で排出された。[^{14}C]2,4-D の急速な排出は、経口投与後の尿への排出に係る半減期が約 5 時間であることからも示唆される。主要な組織と器官について行った残留性の ^{14}C 活性の分析は、投与 48 時間後には投与量のごく一部のみが存在することを示唆していた。低量を投与されたラットの組織と器官には、投与された ^{14}C の 0.7%未満が含まれていた。これらの結果は、ラットにおける[^{14}C]2,4-D の動態は、その量並びに性とは独立しており、化合物は急速にそしてほぼ完全に排出され、主たる排出経路は尿への経路であり、蓄積することはあり得ないことを示唆していた。

このエステル化合物の薬理動態上の特性を 2,4-D そのものとの関係性において検討するために、ラベルされていない 2,4-D EHE が 11 週齢の雌雄の Fischer 344 ラットに単回経口投与された(Frantz and Kropscott, 1984)。1 群当たり、雄か雌のいずれか 3 匹のラットで構成された群の 8 つに対し、130 mg/kg bw の量の 2-エチルヘキシルエーテル(86.3 mg/kg の 2,4-D に相当する量)がコーン油に溶かした状態で投与され、15 並びに 30 分後、及び 1、2、4、8、24、72 時間後に採血するためラットはと殺された。72 時間のグループから 12 時間間隔で、尿が採取された。コントロールの群(雌雄別に 3 匹)にはコーン油のみが投与され、3 時間後に末梢血が採取された。2,4-D そのものと 2,4-D EHE はともに、検出限界が 0.01 g/mL と 0.1 g/mL の GLC と GC-MS により分析された。

最も特徴的な発見は、投与後 72 時間までに測定された血液と尿の両方から、いかなる 2-エチルヘキシルエーテル(0.01 g/mL)も検出されなかったことである。遊離酸は血液と尿の両方で見つかっている。時間に対する血液における 2,4-D 濃度の対数線形プロットは、雌雄で

類似しており、血液における最大濃度は雌で 2 時間後に、雄で 4 時間後に観察された。72 時間後には、雌雄いずれの血液試料からも遊離酸は検出されなかった。雌雄の両方で、尿中の遊離 2,4-D の濃度は 12 時間で最大となり、36 時間までにはクリアランスはほぼ完了していた。少量の遊離酸のみ、72 時間後に検出された。遊離の 2,4-D の尿への累積回収率(投与量に対するパーセンテージ)は、雄で 94.8 ± 9.2%、雌で 84.3 ± 4.5%であった。これらのデータは、2,4-D の 2 エチルヘキシルエステルが極めて急速に 2,4-D に変換され、その後遊離の 2,4-D が尿に排出されることを示唆している。

15 mg/kg bw を投与した雄の Fischer 344 ラットを用いて、 [EHE-1-^{14}C]2,4-D の吸収、分布、排出並びに代謝が検討された(Dryzga et al., 1992)。各ラットから、投与後 0.5、1、1.5、2、4、6、8、12、18、24 時間後に血液が採取され、血漿における放射性ラベルされた残留物が分析された。また、投与後 6、12、24、48 時間後に尿が集められ、尿中とケージ洗浄液中の放射性ラベルされた残留物が採取の間隔ごとに合一され、尿中への放射ラベルされた残留物の排出量とされた。24 時間間隔で糞は集められ放射性ラベルされた残留物が分析された。放出された ^{14}C ラベルされた二酸化炭素は、6、12、24、48 時間目に集められ、モノエタノールアミン溶液中にトラップされ、1-メトキシ-2-プロパノールと TRR が定量された。組織は分析されなかった。プールされた尿(0-6 時間と、6-12 時間)と糞中の代謝物が GC-MS により特性解析された。尿中と糞抽出物中の未変化のエステルは HPLC により分析された。

図 1 ラットにおける 2,4-D dEHE の提案代謝経路(Dryzga *et al*., 1992)

[a] 実際に同定された化合物

2,4-D EHE は急速に吸収され、投与後 4 時間で血漿中濃度は 1.0 mg/g で最大となり、その後 9 時間の半減期により減少した。いったん吸収されると、エステルは急激に代謝され尿と糞に排出され、$^{14}CO_2$ として放出された。血液、尿、糞のいずれからもエステルが検出されなかったことから、2,4-D EHE は 2,4-D と 2-エチルヘキサノールに急速に加水分解される。

主たる排出経路は、尿(62-66%)、それより少なく糞(14-21%)そして二酸化炭素への放出(9-12%)であった。尿並びに糞における代謝物は、2-エチルヘキサノール、2-エチルヘキサン酸、2-ethylhexane-1,6-dioic acid そして 2,4-D であった。尿のみに見つかった代謝物は、2-ethyl-5-oxohexanoic acid、2-ethyl-5-hydroxyhexanoic acid、2-heptanone and 4-heptanone であった(図 2)。2,4-D のエチルヘキシルエステルは、このように急速に 2,4-D に変換され尿に排出される。

<u>山羊</u>　Guo と Stewart(1993)は、搾乳用山羊に対して[^{14}C]2,4-D を給餌量として 483 ppm に相当する濃度で、連続する 3 日間投与した。投与期間中、尿、糞、そして乳が集められ、と

殺後に組織が集められた。^{14}C は燃焼法並びに/あるいは液体シンチレーションカウンティングにより測定された。総投与量の約 82%と 8%が尿と糞のそれぞれから回収された。投与量の 0.1%未満がその他の試料から回収された。

排泄物と肝臓を除く試料における ^{14}C は有機溶媒並びに水溶性溶媒により抽出された。肝臓ははじめにパンクレアチンで処理され、その後に有機溶媒抽出された。放射能検出器を備えた HPLC によって尿は直接分析された。様々な抽出物における ^{14}C を 2,4-D 等量として定量する HPLC 法が用いられた。質量分析、HPLC 並びに薄相クロマトグラフィーにより ^{14}C の主要な成分は 2,4-D であることが同定された。これら分析の結果は、表 2 に示してある。

表 2 山羊における 2,4-D の代謝。尿、乳、組織からの抽出可能な画分に含まれていた ^{14}C 成分の同定と分布(Guo and Stewart *et al.*, 1992)

[1]DCP: 2,4-dichlorophenol

[2]2-o and 2-p-chlorophenoxyacetic acid

[3]NP2 に対する GC/MS のプロファイルは 2,4-dichloroanisole に合致するが、この化合物は後に確認されなかった(Guo and Stewart 1994)

[4] 抽出された総%-同定された総%。全般的に見ると、この放射活性はいくつかの異なる画分にまたがっており、HPLC 分析の後にはカウントされない放射活性である。そのため、ここに示した水準で同定されていない成分の信号はない。

[5] 不検出

尿、腎臓、脂肪、肝臓、そして筋肉組織において、遊離の 2,4-D が主要な成分として見つかった。遊離の 2,4-D 並びに酸性条件下で 2,4-D に加水分解した極性の高いコンジュゲートが乳における主要な ^{14}C の成分であった。HPLC により、低濃度の DCP が乳と脂肪において一次的に同定された。

午前並びに午後に集められた乳試料中の ^{14}C は、2,4-D として、それぞれ 0.22～0.34 mg/kg と 0.036～0.055 mg/kg であった。遊離の [^{14}C]2,4-D は、乳における最も主要な残留物(38%TRR、0.077 mg/kg)であると同定された。乳において、いくつかの極性の高いコンジュゲートが観察され、それらは酸加水分解によって容易に 2,4-D を放出した。1 時間加水分解した後の総 2,4-D は 47%TRR あるいは 0.095 mg/kg であった。乳中の残留物のうち約 0.009 mg/kg(4.5%TRR)並びに 0.01 mg/kg (5.0%TRR)が o- 並びに p-chlorophenoxyacetic acid(CPA)及び 2,4-dichlorophenol (DCP)としてそれぞれ一次的に同定された。CPA はもともと被験物質の不純物として含まれていた可能性がある。

腎臓において、最も高い濃度(1.4 mg/kg)の ^{14}C が観察された。より低い濃度の ^{14}C が肝臓(0.22 mg/kg)、脂肪(0.088 mg/kg)、そして筋肉組織(0.037 mg/kg)で観察された。各組織における残留物中主要な成分として同定されたのは 2,4-D であった。約 0.002 mg/kg の DCP(2.3%TRR)が脂肪中に見つかった。

家禽　給餌量(112-119 g/1 羽/1 日)として約 18 ppm に相当する放射性ラベルされた 2,4-D 入りのカプセルを 7 日間経口投与した産卵鶏(5 羽で 1 群、3 群。1 羽当たりの重量 1.5 kg)から採取された組織、卵並びに排泄物中の残留物が測定された。卵と排泄物は 7 日間を通じて採取され、最終投与後 22-24 時間のうちに鶏はと殺された(Puvanesarajah and Bliss, 1992)。

採取された試料には、排泄物、卵、脂肪、砂嚢、心臓、腎臓、肝臓、胸肉そしてもも肉が含まれていた。卵(各投与群で産卵の状態は良好)を除き、全ての試料が分析に先立ち、群ごとに合一された。3 群の間で比較した試料の重量は非常ににかよっていた。

試料の TRR レベルは、直接分析若しくは、燃焼した後の放射活性分析により測定された(後者の方法を採用した場合には、試料と酸化剤の回収率に対して補正がされた)。鶏からの回収率は 95.8-101.06%の範囲にあり、約 90%が排泄物から回収された。胸肉、もも肉、脂肪、肝臓における残留物は、それぞれ 0.002 mg/kg 未満、0.006 mg/kg、0.028 mg/kg、0.03 mg/kg であった。卵における平均残留濃度は、投与後 1 日目から 7 日目にかけ、定量限界未満から 0.018 mg/kg まで安定的に上昇した。組織並びに卵に含まれていたのは、総投与量の 0.1%未満であった(表 3)

表 3 鶏の肉や臓物、卵そして排泄物における 2,4-D 等量の濃度並びに総投与量に対する%回収(Puvanesarajah and Bliss, 1992).)

[1] 記載の数字は、合一試料を 3 回測定した結果の平均値

[2] 投与初日

[3] 投与最終日

[4] 定量限界(0.002 mg/kg)

[5] 1-7 日目の試料から得られた値の範囲

卵と肝臓に遊離の残留物として存在していた ^{14}C 成分は、2,4-D と 2,4-dichlorophenol であった(表 4) 。脂肪における放射活性の大部分は、アルカリ加水分解をした後にのみ放出され、このことは 2,4-D が抽出可能な ^{14}C の大部分を含んでいることを示唆していた。

表 4 鶏における抽出可能な ^{14}C 残留物の成分(Puvanesarajah and Bliss, 1992)

魚　ブルーギル (*lepomis macrochirus*)に約 11 mg/kg の[^{14}C]2,4-D が静的な条件の水により 4 日間連続で投与された(Premkumar and Stewart, 1994)。毎日、魚全体と水が採取され、4 日目には魚がフィレと内臓にさばかれた。魚全体、フィレ、内臓、そして水における[^{14}C]2,4-D 等量となる TRR レベルが、燃焼法そして/あるいは液体シンチレーションカウンティングによって測定された。

フィレと内臓における残留物は極性並びに非極性有機溶媒により抽出された。残留物の大部分はアセトニトリルにより抽出することが可能だった。5%TRR 未満がヘキサン可溶性であり、約 10%が溶媒により抽出できなかった。酸並びにアルカリ加水分解によって、フィレ中の非可溶性の残留物が放出された。

魚全体の放射活性分析によって、投与後 1 日目(0.41 mg/kg)から 3 日目(0.6 mg/kg)にかけての定常的な増加が示された。4 日目の内臓とフィレにおける TRR はそれぞれ 1.9 mg/kg と 0.41 mg/kg であった。投与されたフィレには、わずかな量のヘキサン可溶性残留物(0.005 mg/kg, 1.2%TRR)と非抽出性 ^{14}C(0.041 mg/kg, 10%TRR)が含まれていた。大部分の ^{14}C は、アセトニトリルに溶解した(0.34 mg/kg, 84%TRR)

抽出物中の ^{14}C 残留物の特性解析に HPLC 放射活性分析が用いられた(表 5)。アセトニトリル可溶性抽出物の中から、2,4-D(70.4%TRR、0.29 mg/kg)、2,4-DCP(4.7%TRR、0.019 mg/kg)、そしてコンジュゲート(4.4%TRR、0.018 mg/kg)が同定された。極性コンジュゲートの酸加水分解によって、2,4-D と 2,4-DCP が放出された。抽出することのできなかったフィレのペレットを酸並びにアルカリ加水分解したところ、2,4-D(6.4%TRR と 3.9%TRR、0.029 mg/kg と 0.016 mg/kg)と 2,4-DCP(0.5%TRR、0.002 mg/kg)が追加で放出された。フィレ中に 2,4-D と 2,4-DCP が含まれることは、GC-MS により確認された。

表 5 水に 11 mg/kg の[^{14}C]2,4-D を加えることで 4 日間投与した魚における抽出可能な ^{14}C 残留物の成分(Premkumar and Stewart, 1994)

[1] 遊離の化合物とコンジュゲートとの和

[2] 2,4-D として示している

[3] GC-MS により確認された同一性

植物代謝

リンゴ　Smith (1991)は、キャノピーのかかった矮性リンゴの木の根本の芝生に、ラベルの指示に従って[^{14}C]2,4-D をスプレーした。2,4-D ジメチルアミン塩の水溶液が被験物質であり、2.2 kg ae/ha(42 日間隔で 2 回)を投与した。土壌試料は 42 日後と 97 日後に採取され、果実試料は 97 日後(成熟した状態)に採取された。

土壌試料並びに果物試料における ^{14}C 残留物を定量するために、燃焼法と液体シンチレーションカウンティングが使用された。全ての残留物濃度は、酸化剤の回収とマトリクス効果により補正され、また土壌試料の場合には水分含量で補正された。残留物の大半は、0-7.5 cm と 7.5-15 cm の層に含まれており、極めて少量(2,4-D として 0.05 mg/kg 未満)が 15-22.5、22.5-30、30-45 cm の層に含まれていた。0-7.5 cm と 7.5-15 cm の層における TRR は、42 日後で 0.53 mg/kg と 0.042 mg/kg であり、97 日後で 0.93 mg/kg と 0.15 mg/kg であった。リンゴ果実を燃焼分析した結果、TRR レベルは 0.009 mg/kg であった。リンゴ果実は凍結粉末にされ、メタノール/酢酸(95:5)で極めて激しく抽出された。抽出物はその後濃縮され、水に再溶解され、そしてヘキサン/ジエチルエーテル/酢酸(47.5:74.5:5)で抽出された。有機溶媒抽出物中には定量できない残留物(0.0008 mg/kg)が水溶性の残留物として 56%、残りの 44%が抽出後の固まりに含まれており燃焼法により定量された。

レモン　Wu (1994)は、 [^{14}C]2,4-D イソプロピルエステルの水和液をレモンに投与した。その結果の果実における平均残留濃度は、2,4-D として 2.4 mg/kg であった。投与されたレモンは、平均温度が 5.5± 0.7°C、相対湿度が約 85%に保たれた保温器に入れられ保存された。保存されたレモンは、2 時間後、2、7、14 及び 28 日後、さらに 6、8、10、12、16、20、24 週間後に採取された。

試料採取の際、表面の残留物を除くために各レモン果実は 200mL のアセトンでリンスされた。その後、8 切片にスライスされ皮がむかれ、果汁絞り器にかけられた。皮は角切りにされ液体窒素とドライアイス中で均質化された。各試料の TRR レベルが測定された。

塩化メチレンにより全ての試料は 2 回抽出され、果肉と皮試料について残った固形物は、アセトニトリルと 0.1 N 塩酸の混合溶液で 2 回抽出された。各抽出画分における ^{14}C の分布がモニターされた。各試料採取時に得られた、アセトン洗浄、全ての有機溶媒可溶画分並びに水溶性画分は、TLC と逆相 HPLC により分析された。

全ての試料採取に関して、TRR の大部分は皮と洗浄液中で見つかった。ごくわずかな量が果肉とジュースから見つかった。投与後 2 時間では 57%TRR であった皮における放射活性は、2 週間後には 97%TRR に増加し、ほぼ同じレベルで 24 週間の保存期間中残存していた。投与後 2 時間では 0.17%であった果肉中の放射活性は、24 週間後には 3.8%に増加した。

ジュースにおける放射活性は 2 時間後には 0.09%であり、10 週間後には 2.5%となり、約 2%のレベルで残りの保存期間中存在していた。アセトンで除かれた表面残留物は、43.02%から 24 週間後には 0.85%に減少した。皮における 2 時間後の残留は 76%、23%、1.15%がそれぞれ塩化メチレン、水性アセトニトリル、そして抽出後の固形物に含まれていた。またそれぞれの画分に含まれる放射活性のレベルは、24 週間後には 19.9%、73.5%、6.6%であった。果肉における対応する割合は 31-38%、54-62%、6-8%であり、ジュースにおいては 32-44%、29-33%、26-35%であった。表 6 は、洗浄液、皮、果肉、そしてジュースにおける ^{14}C の分布を各試料の採取ごとに示している。

表 6 様々な試料採取時におけるレモンにおける放射活性の分布(Wu, 1994)

放射性物質検出器を伴う HPLC と TLC により代謝物が定量された。投与 20 週間後の洗浄液中の低レベルの残留物のほとんど(0.64%TRR、0.015 mg/kg)は HPLC の保持時間が約 36-50 分の間に検出された。GC-MS により 4 つの代謝物が一次的に同定された。2,4-D の heptanone エステル、2,4-D 無水物と想定される 2,4-D の二量体、2,4-D IPE の二量体、そして置換された 2,4-ジクロロフェノールである。2,4-D(0.12%TRR、0.003 mg/kg)と 2,4-D IPE(0.05%TRR、0.001 mg/kg)がともに洗浄液中で見つかった。投与 20 週間後のレモンの皮は、93.5%TRR(2.1 mg/kg)を含んでいた。これら残留物の大部分が、2,4-D の遊離体並びにコンジュゲートであった(64%TRR、1.45 mg/kg)。少量で見つかったその他の代謝物は、遊離体並びに結合型の 2,4-D IPE(0.73%TRR、0.017 mg/kg)、4-hydroxy-2,3-D もしくは 5-hydroxy-2,4-D(0.58%TRR、0.013 mg/kg)、4-hydroxy-2,5-D(0.44%TRR、0.01 mg/kg)及び 2,4-dichlorophenol (0.72%TRR、0.016 mg/kg)であった。洗浄液中で見つかったものと類似したエステル用の代謝物が少量検出された(0.92%TRR、0.02 mg/kg)。果肉とジュース中に見つかった主要代謝物は、2,4-D の遊離体並びにコンジュゲートであった(果肉において 2.9%TRR、0.07 mg/kg、ジュースにおいて 0.99%TRR、0.02 mg/kg)。

図 2 保存されたレモンにおける 2,4-D IPE に対して提案される代謝経路(Wu, 1994)

投与 20 週間後のレモンの皮から得られた、抽出後の固形物画分 PES-1 (5.3%TRR、0.12 mg/kg)はセルラーゼ、それに引き続き 1N HCl、最終的に 6 N HCl で加水分解された。各加水分解物は酢酸エチル(EtOAc)により分配抽出された。最終的な PES と同様に有機層並びに水層の ^{14}C がモニターされた。セルラーゼ処理により、PES の放射活性の 27%が放出され

た。17.6%が EtOAc(EtOAc-1)に可溶であり、9.4%が水層(Aq-1)に残った。残った PES-2 の 1N 塩酸処理により 13.2%の放射活性が放出された。そのうち、10.2%が EtOAc(EtOAc-2)に可溶であり、3%が水層(Aq-2)に残った。残った PES-3 の 6N 塩酸処理により、43%の放射活性が放出され、そのうち 39.5%が EtOAc(EtOAc-3)に可溶であり、3.7%が水層(Aq-3)に残った。一方で 57%が PES-4 に最終的に残った。残留物のレベルが低かったため、EtOAc-1 画分のみが HPLC 並びに 2 次元 TLC により分析された。この画分からは 4 つの代謝物が検出された。主たる代謝物(EtOAc-1 の約 89%、0.1%TRR 未満)の TLC Rf 値は 2,4-D の値と類似した。しかし HPLC の保持時間は一致しなかった。

ジャガイモ　グリーンハウスで栽培されたジャガイモの未成熟葉の全体にスプレーされるようにして、[^{14}C]2,4-D エチルヘキシルエステルが投与された(Puglis and Smith, 1992)。希釈された濃縮乳化剤が 0.067 kg ae/ha の率で 2 回投与された。最初の投与は 3-4 週間育てた植物体に行われ、2 回めの投与はその約 1 週間後に行われた。この投与方法は、ジャガイモに登録された除草剤としての使用基準に従っている。葉の光障害が観察され、それにより対象区の植物に比べて塊茎の収量は 56%まで減少した。剤型化された[^{14}C]2,4-D エチルヘキシルエステルの特異的な放射活性は 4.08 mCi/mmol(41,000 dpm/µg ae)であり、放射化学的純度は 99%であった。塊茎は、投与後 82 日後の成熟した状態で収穫された。塊茎における TRR は、$^{14}CO_2$ に等量の組織の燃焼とそれに引き続き行われた放射活性分析によって定量された。摩砕されたジャガイモ塊茎の等量分が、遊離の残留物を抽出するための方法と、遊離体と酸により加水分解される残留物との全てを抽出する方法の 2 つの方法によって抽出された。5N 塩酸処理された摩砕ジャガイモ塊茎をジエチルエーテル/石油エーテル(3:1)を用いて抽出することで、遊離の残留物が単離された。遊離体と酸により加水分解可能な残留物の全ては、ジャガイモ塊茎摩砕物の 5N 塩酸抽出物を 5N 硫酸で加熱処理した後、エーテル混合液により抽出することで単離された(表 7)。

表 7 ジャガイモ塊茎における ^{14}C 残留物の分布(Puglis and Smith, 1992)

ジャガイモ塊茎における総 ^{14}C 残留物の濃度は極めて低かった。有機溶媒に可溶な残留物の特性解析を試みるために、50 g の試料を酸加水分解し、その後ジエチルエーテル抽出した。部分的に精製した抽出物中での ^{14}C の活性は、2-エチルヘキシルエーテルあるいは遊離体のいずれの Rf とも一致しない場所に観察された。TLC で分離された未知の ^{14}C 標識化合物と標識していない 2,4-D とを混合して、TLC により再分析した。添加した 2,4-D は既知化合物と一致した Rf を示し、その同一性は HPLC-MS により確認された。従って、もし投与された塊茎に 2,4-D が存在するのであれば、未知の ^{14}C 標識化合物と同じ領域にクロマトグ

ラフされるはずである。未知の ^{14}C 標識化合物(類)の更なる特性解析は、非常に低濃度であり試料に由来する他成分による顕著な干渉がクロマトグラフにおこったため不可能であった。0.067 kg ae/ha の投与率を超えると、生育に影響のでかねない光障害が起こるため、さらに高濃度の残留をもたらす過剰投与はされなかった。

第二の試験は、[^{14}C]2,4-D エチルヘキシルエステルの乳化濃縮液を用いて行われた (Premkumar and Vengurlekar, 1994)。2 回の葉面散布が行われた。1 回目の散布は植え付けされて 58 日後の塊茎がおおよそ豆のような大きさの時期に行われ、2 回目の散布はその 14 日後に行われた。剤型化された溶液の平均放射化学的純度は 95.4%であり、1.55 x 105 dpm/mg の特異的活性が 2,4-D 等量となる。[^{14}C]2,4-D EHE 剤が 0.35 kg ae/ha の平均過剰量 (1 回目の投与；0.33kg ae/ha、2 回目の投与；0.37 kg ae/ha)で投与され、この量は、ラベルに表記された最大投与率 0.078 kg ae/ha の 4.4 倍であった。

葉、ツル、そして塊茎試料中の ^{14}C が分析された。ツルは 2 回目の投与後 1、7、20 日後に集められ、それらを分析した結果、残留物濃度は 2,4-D として 15、10 そして 6.3 mg/kg であった。塊茎は、同じタイミングで集められ ^{14}C 残留物の濃度は、0.32、0.65、0.58 mg/kg であった。[^{14}C]2,4-D EHE を投与した後の水やりは、葉から洗い流されることを避けるため地面に向けて行われており、そのため、これらの結果は、[^{14}C]2,4-D EHE 並びに/あるいはその代謝物が地上部から塊茎に転流していることを示唆している。

成熟した塊茎中の ^{14}C 残留物は酸性にしたアセトニトリルにより抽出された。その結果、105%TRR(0.61 mg/kg)が抽出され、5.4%TRR(0.031 mg/kg)が抽出されずに残った。抽出物の HPCL 分析の結果は、8.3%TRR(0.048 mg/kg)が 2,4-D EHE であることを示していた。同定可能な主要代謝物は 2,4-D(46% TRR、0.27 mg/kg)であり、残りの放射活性は 4 つ以上の極性成分に帰属した。抽出物を濃縮し HPLC により再分析した際、極性化合物の部分でプロファイルが大きく変化し、親化合物は濃縮過程で不安定になると考えられた。親化合物の TRR は 1.6%、濃度は 0.009 mg/kg に減少した。同様に 2,4-D も 36.4%TRR(0.21 mg/kg)まで減少した。

2,4-D EHE を 0.62 mg/kg になるよう添加したコントロール試料を用いて、抽出、濃縮そして分析の手順の妥当性は確認されていた。クロマトグラフによる分析上、親化合物の 95%は未変化のまま残り続けた。残りは、2,4-D(3.4%)と未知の成分(1.9%)に加水分解された。

処理された塊茎はアセトニトリル抽出された。これにより 96%TRR(0.55 mg/kg)が抽出され、9%(0.052 mg/kg)が抽出後の固形物(PES)に残った。アセトニトリル抽出物の HPLC 分析により、0.5%TRR(0.003 mg/kg)が親化合物の 2,4-D EHE、40%(0.23 mg/kg)が 2,4-D の遊離体であることが示された。残りの放射活性は、いくつかの極性成分に帰属した。濃縮と分析の

過程で、ある程度の親化合物が再び失われそして変化していることが極性成分において観察されたが、2,4-D は未変化のままであった(43%TRR、0.25 mg/kg)。このことは、濃縮過程において、親化合物のエステル体と、いくつかの極性成分(おそらくコンジュゲート)は不安定であることを示唆している。

抽出された ^{14}C 残留物が酸加水分解された。加水分解物の HPLC 分析は、3 つの主要成分の存在を示し、それらは一次的に 4-hydroxy-2,5-D(15%TRR、0.084 mg/kg)、4-chlorophenoxyacetic acid(4-CPAA; 24%TRR、0.14 mg/kg)、2,4-D(39.5%TRR、0.23 mg/kg)として同定された。抽出物中の 2,4-D の量は加水分解後も変化せず残り、このことは、抽出物中の極性成分は 4-hydroxy-2,5-D と 4-CPAA のコンジュゲートである可能性を示唆していた。主要な代謝産物の全てが単離されメチル化された。メチルエステル体の GC-MS 分析により、4-hydroxy-2,5-D、4-CPAA そして 2,4-D であることが確認された。

酸加水分解により、PES からある程度の結合型 ^{14}C 残留物(9.0%TRR、0.028 mg/kg)が放出された。そしてアセトニトリル抽出物の濃縮後に固形物が残った(4.9% TRR、0.028 mg/kg)。アセトニトリル層には 8.7%TRR(0.05 mg/kg)が含まれ、6.4%TRR(0.037 mg/kg)は抽出されずに残った。放出された ^{14}C 残留物の HPCL 放射活性分析の結果は、2,4-D(2.3%TRR、0.013 mg/kg)、4-CPAA(1.6%TRR、0.009 mg/kg)、そして 4-hydroxy-2,5-D(0.9% TRR、0.005 mg/kg)の存在を示していた。成分は、保持時間に基づき特性解析された。総量として 1.4%TRR(0.008 mg/kg)がボイドボリュームに溶出され未同定のまま残った。

図 3 ジャガイモ塊茎における 2,4-DEHE の代謝経路(Premkumar and Vengurlekar, 1994)

^{14}C 成分の分布を表 8 と表 9 に示す。

表 8 2,4-D EHE が投与された成熟したジャガイモ塊茎からの抽出物中に含まれる ^{14}C 残留物(0.58 mg/kg)の分布(Premkumar and Vengurlekar, 1994)

[1]2,4-D 遊離体等量

[2] ボイドボリュームへの溶出

表 9 抽出されなかった ^{14}C 残留物の酸加水分解物中に含まれた ^{14}C 残留物の分布(Premkumar and Vengurlekar, 1994)

小麦　小麦の代謝試験では、[^{14}C]2,4-D EHE の乳化濃縮液が分げつステージの春小麦の上部からスプレーで単回投与された。投与率は 1.68 kg ae/ha であり、ラベルの最大投与率を超えていた(Puvanesarajah, 1992)。剤の放射化学純度は 98%であり、特異的活性は 20,070 dpm/µg ae (2.0 mCi/mmol)であった。作物は、一部が閉鎖されたグリーンハウスで育てられた。

フォレージ、ワラ、穀粒試料における 2,4-D 等量としての TRR レベルが、燃焼法並びに液体シンチレーションカウンティング(LSC)により定量された。フォレージ、ワラ、穀粒中の ^{14}C 残留物が有機溶媒、水/有機溶媒並びに 0.5 M KOH を含む水メタノールによって抽出された。抽出されずに残った残留物は酵素処理された。ジエチルエーテル並びに水性エタノール抽出により、フォレージとワラにおける残留物の大部分は回収された。穀粒から回収された残留物の大部分は、水層並びに 0.5 M KOH を含む水/メタノールに含まれていた。^{14}C 残留物の分布を表 10 に示した。

表 10 小麦。抽出溶媒中での ^{14}C の分布(Puvanesarajah, 1992)

[1]2,4-D 酸等量として

抽出物中での放射活性残留物は HPLC により分離された。代謝物とコンジュゲートがたくさんあったため、抽出物を直接 HPLC 分析することでは成分を定量することができなかった。エーテル並びにエタノール抽出物のアルカリ並びに酸加水分解により、大部分の代謝物が exocons へと変換され、それらは HPLC により分離され、それらの同定は MS 並びに/あるいは TLC により行われた(表 11)

表 11 小麦における抽出可能な残留物の成分の分布(Puvanesarajah, 1992)

[1]2,4-D 酸等量として

[2]MS、TLC そして HPLC により同一性が確認された

[3]MS 並びに HPLC により同一性が確認された

[4] 遊離体とコンジュゲートの総量

[5]4-Hydroxy-2,5-dichlorophenoxyacetic acid 並びにその他二つの構造異性体 H2 と H3

[6] 一般に、この放射活性は、広範な保持時間にまたがる多くの異なる画分に付随しており、

また/あるいは HPLC 分析後の放射活性量は計測されなかった。そのため、ここに示されたレベルで未同定の成分に由来する信号はない。
[7] タンパク質、デンプン、セルロースの画分に取り込まれている。

フォレージとワラ中でのコンジュゲートでない 2,4-D は、それぞれ 9%と 6%であった。また、アルカリに不安定な 2,4-D コンジュゲートは総残留物の 64%あると考えられた。これら 2,4-D コンジュゲートのきつくない条件でのアルカリ加水分解の結果は、可能性としては糖が考えられる内在性の物質とのエステル化を示唆している。フォレージにおいて同定された環状のヒドロキシル化された 2,4-D 誘導体全てのうち約 33%はエーテル抽出が可能な遊離残留物であり、その他は、極性のコンジュゲートとしてエタノール抽出物の中に発見された。これらの極性コンジュゲートはアルカリに対して安定であるが、酸性条件にすることで容易に開裂した。このことは、それらコンジュゲートがフェノール性の配糖体であることを示唆している。ワラにおける環状のヒドロキシル化された代謝物の大部分(約 77%)は極性のコンジュゲートであった。2,4-dichlorophenol になる 2,4-D の側鎖の分解は、主要でない経路であった(表 11 参照)

穀粒からの抽出物中で同定された 2,4-D 残留物は、穀粒の総残留物の 6%以下であった。45%がタンパク質、スターチ、セルロースに取り込まれていた。未処理のコントロール試料には、0.17 mg/kg の残留物が含まれていた。この ^{14}C による汚染は、コントロールの小麦と処理された小麦とが、互いのプロットで近接しており、そこで土壌に投与された 2,4-D EHE が微生物により分解され $^{14}CO_2$ を生じたためであると考えられる。処理された試料とコントロール試料の両方が、小麦を[^{14}C]2,4-D EHE 処理した結果としての残留物と、$^{14}CO_2$ の吸収の結果とを区別するために、残留物の抽出と天然化合物の分離とについて同一のスキームに従って分析された。これらの併行分析は、コントロールの穀粒試料中に ^{14}C が存在したことは、若い小麦に[^{14}C]2,4-D EHE を投与した後に穀粒に含まれる残留物の特性について結論する上で影響しないことを示している。

上記試験から得られた試料について後に検討した結果では(Pither, 1992)、小麦のフォレージとワラにおいて、H2 と H3 として報告されていた 2 つの hydroxydichlorophenoxyacetic acids 構造異性体(総 ^{14}C 残留物の 1.4-2.5%)は、クロマトグラフィーによる移動度と質量スペクトルデータから、4-hydroxy-2,3-dichlorophenoxyacetic acid と 5-hydroxy-2,4-dichlorophenoxyacetic acid であると同定された。これらの化合物は 15.0-17.5 分と 18.5-21.5 分にそれぞれ HPLC により溶出される。コントロールの小麦穀粒からのアルカリ抽出物における、2,4-D EHE と 2,4-D に類似した溶出レンジをもつ ^{14}C 成分の存在について再検討された。その結果、コントロールの小麦と処理された小麦の抽出物に、 2,4-D が存在することが再分析によって明らかにされた。 HPLC 分析時のキャリーオーバーによるコンタミネーションに対する予防

措置が執られた条件では、コントロールの小麦穀粒のアルカリ抽出物から 2,4-D EHE は検出されていない。

図 4 春小麦における 2,4-D IPE の代謝経路(Puvanesarajah, 1992; Puvanesarajah and Ilkka, 1992)

土壌における環境動態

好気性分解

Concha と Shepler (1994a)は、非滅菌の Catlin silty clay soil に 5.1 mg/kg の投与率で、[14C]2,4-D を投与し 16 日間の好気性分解について試験した。試験を通じて、試料は約 25°C で保温された。炭素の放射性同位体の回収は、平均して 95.6 ± 6.3%であった。

2,4-D は急速に分解し、16 日後には投与量の 0.5%であった。pseudo-first order kinetics に基づき計算された半減期は 1.7 日であった。

主要な分解産物は CO_2 であり、その量は、試験期間の最終の時点で、投与した量の 51.2%に相当した。主要な分解産物の 2 つは 2,4-DCP(2,4-dichlorophenol)と 2,4-DCA(2,4-dichloroanisole)であり、16 日間をかけて増加し、減少した。2,4-DCP は、投与後 2 日目に投与量の 3.5%になったのが最大で、試験期間の最終時点では 0.4%まで減少した。一方、2,4-DCA は、投与後 9 日目に投与量の 2.5%であったが、その後 1.5%に減少した。抽出することのできなかった残留物は 36%TRR であった。5 日目に抽出された試料のフルボ酸とフミン酸画分への分離により、フルボ酸画分とフミン酸画分にはそれぞれ投与量の 16%と 11%が含まれていることが明らかになった。フルボ酸画分を HPLC によりさらに分析すると、投与量の 6.1%に相当する量が 2,4-D として回収された。

これらの結果は、2,4-D 並びにその分解物は、無機化並びに土壌の有機物への取り込みによって、土壌環境から急速に消失することを示唆している。

Reynolds (1994) は、25±1°C 暗所の試験室環境条件下、10 mg/kg の濃度で、14C ラベルされた 2-エチルヘキサノールを保温することにより、2,4-D EHE の 2-エチルヘキシル部分の動態について試験した。処理開始後、0、2、4、8、12、18、24、48、168 そして 336 時間後に試料が採取された。

分解は急速であった。当初、投与した放射活性の大部分が有機溶媒(メタノール/四塩化炭素)に抽出されたが、48 時間の間に、抽出された 14C のパーセンテージは 91%から 13%に急

速に減少した。7 日と 14 日目までに、有機溶媒で抽出される量は、投与量の 6.9%と 6.4%になった。抽出後に残る固形物(PES)における ^{14}C のパーセンテージは、当初 8 時間目まではほぼ一定であったが、その後急激に増加し始め、48 時間目には最大の値に達した(投与した ^{14}C の 48%)。14 日までには、PES 中の ^{14}C は投与された放射活性の総量に対する 22%になった。

最初の 24 時間の間に、$^{14}CO_2$ を含む放出された酸性の揮発物は徐々に増加した。しかし、24 時間と 48 時間の間には、KOH 溶液中に検出された量は 4 倍の 47%になった。揮発性の ^{14}C の量は、14 日目に、投与された ^{14}C の 70%となり最大になった。

図 5 土壌中での 2,4-D の分解について提案される経路(Concha and Shepler, 1994a)

0 日目から 14 日目の範囲で、^{14}C の回収は 93%から 108%であった。投与された放射活性の回収の総平均は 99%であった。

有機溶媒に可溶な画分を逆相の HPLC で分析した結果は、2-エチルヘキサノールに加え、主要な産物の一つが 18 時間で 84%の最大に達することを示していた。この産物は、GC-MS により 2-エチルヘキサン酸であると同定された。投与後より遅い時期には、低レベルだが他に 5 つの化合物が観察されている。しかし、これら化合物の中に投与された放射活性の総量に対して 2.6%を超える量のものはなかった。

14 日目の PES 画分が様々な方法により検討された。その方法の中には、結合性の残留物を放出させるために、アセトニトリル/水/酢酸で 4 時間振とうし 0.25 N HCl で 1 時間還流し、さらに 0.5 N NaHO で 24 時間浸透するという方法も含まれていた。アセトニトリル/水/酢酸で抽出された放射性物質の量は総量の 1.6%であった。0.25 N HCl で 1 時間乾留後に、固形物から 4%が抽出された。酸加水分解により抽出された放射活性の大部分は、酢酸エチルで分配した後、水層画分に残った。投与された放射活性の総量のうち 0.38%未満が酢酸エチルの画分から検出された。固形分における放射活性の大部分が、天然の土壌成分(フルボ酸、フミン酸、ヒューミン)に取り込まれているようだった。フルボ酸、フミン酸、ヒューミンにおける ^{14}C の量は、投与された放射活性の総量に対して、それぞれ 4.2%、4.6%、7.5%であった。

土壌における好気性 25℃の試験条件下での 2-エチルヘキサノールの半減期は、5.3 時間であると計算された。

Reynolds (1995e) は、上記と同一の条件下で、土壌とジエタノールアミン(10 mg/kg)を加温することにより、ジエタノールアミン塩のうちジエタノールアミン部分の動態について調査した。1 炭素がラベルされた[^{14}C]ジエタノールアミンは急速に分解し、sandy loam soil における半減期は 1.35 日であった。

HPLC と TLC また比較のために LSC で分析された。

Hanford sandy loam soil を用いた試験において、親化合物は定常的に減少した。投与の 2 日後、投与された放射活性の総量のうち 38%未満が親化合物に相当した。14 日目には投与した放射活性量の 0.9%に減少し、90 日目では 0.6%未満となった。

90 日の試験期間中、全部で 10 個(M1-M10)の化合物が観察された。M2 は 0 日目では投与された放射活性の総量の 9.91%を占めたが、1 日目には検出されなかった。2 日目にも M2 は低いレベルで観察されたが、最大で 1.4%に達した後、0.1%まで減少した。

逆相 HPLC により決定された主要な産物は M3 であり、2 日目に 7.9%に達し、試験の終わりには 1%未満になるまで定常的に減少した。同一画分の TLC 分析結果は、M3 には 3 つあるいは 4 つの化合物が含まれているが、それらのいずれもが投与された放射活性の 3%を超えないことを示していた。

グリシン(M4)とエタノールアミン(M5)も低レベルで検出された。3 日目にグリシンは最大の 5%に達し、90 日目には、0.4%未満となった。エタノールアミンは、投与された放射活性の全ての量の 2.6%を超えることは無かった。

M6、M7、M8、M9、あるいは M10 のうち、投与された放射活性 0.8%を超えるものはなかった。

sandy loam soil 中の放射活性の 60%までが CO_2 に変換された。7 日目に、結合性残留物のレベルは最大の 33%に達した。90 日目には、PES から検出された放射活性のレベルは、投与した放射活性の総量の 24%であった。

7 日目の PES が 4 時間の酸分解、それに引き続き 0.5 N NaOH による 24 時間の振とうにかけられた。酸加水分解によって、^{14}C の 20%が放出された。0.25N 塩酸で抽出された放射活性の 1%未満が酢酸エチルに分配された。水層画分の TLC による分析は、5 つあるいは 6 つの化合物が含まれていることを示した。土壌に残存する放射活性は、フルボ酸(4.4%)、フーミン酸(3.7%)、ヒューミン(5%)に取り込まれており、このことはジエタノールアミンが天然の土壌成分に取り込まれており、そして CO_2 に無機質化されることを示唆していた。

吸着と脱着

Cohen (1991b) は、バッチ法(batch equilibrium technique)により、非滅菌の Louisiana 稲田沈殿物における変化しなかった[^{14}C]2,4-D の吸着/脱着を調べた。

吸着と脱着が平衡する時間を決めるために 2 つの予備試験が行われた(それぞれ 24 時間と 8 時間)。2,4-D がガラス表面に結合しないことも示された。

22 ± 1°C の条件で、5 濃度(0.1、0.51、1、2.47、5.02 mg/kg)を使って、信頼できる試験が行われた。2,4-D の Kd 値は 1.322(Koc=58.1)であり、試験の吸着フェーズの間に、水から沈殿物に吸着することが示唆された。しかし、脱離フェーズにおける Kd 値が 1.64(Koc=78.1)であったことは、2,4-D が稲田沈殿物中で適度に高い移動性をもつことを示唆していた。試験された 5 濃度に対する ^{14}C の平均回収は 98.9%であった。

Fathulla (1996b)は、4 つの代表的な農業土壌に対する[^{14}C]2,4-D の吸着と脱着の特性を調べた。試料は土壌と溶液の比率が 1 g : 1 mL になるように調製された。溶液は、0.01 M 塩化カルシウム溶液として調製され[^{14}C]2,4-D の名目上の濃度は、10、5、2.5、1 mg/mL とされた。試料は、25 ± 1°C の条件で 24 時間、ウォーターバス中で振とうすることで平衡化され、続いてボルテキシングされ、遠心された。被験物質の土壌への吸着を調べるために、遠心分離された上精中の ^{14}C が LSC により測定された。各試料から分離された上精は、等量の未処理 0.1 M $CaCl_2$ で置換された。試料は 25 ± 1°C の条件で 24 時間平衡化され、続けてボルテキシングされ遠心された。上精中の ^{14}C が LSC により測定され、脱着後土壌に残った放射活性が、燃焼後に LSC により測定された。

全ての土壌に対して得られた吸着と脱着のデータを直線回帰解析した結果、[^{14}C]2,4-D の吸着と脱着は Freundlich 式に従っていた。吸着と脱着平衡定数(Kd-a と Kd-d のそれぞれ)、並びに Koc-a と Koc-d の係数を表 12 に示す。

表 12 土壌中での 2,4-D の吸着と脱着(Fathulla, 1996b)

被験物質は、全ての土壌中、試験系において非常に安定であった。吸着溶液と土壌抽出物中で変化しなかった[^{14}C]2,4-D の総量は、元々の量に対して、Arizona silty clay loam では 95%、California sandy loam では 109%、Mississippi loam では 97%、Plainfield sand では 98%であった。[^{14}C]2,4-D は 24 時間を通じて、また 0.01 M $CaCl_2$ 中において安定であり脱着溶液中の放射活性の 100%は 48 時間後でも[^{14}C]2,4-D であった。

Koc-a 値を使った相対移動性の推定にのみ基づくと、[14C]2,4-D が土壌を通じてしみ出る可能性は試験した全ての土壌に対して高い。

Fathulla (1996c) は、土壌分解物である 2,4-dichloroanisole(2,4-DCA)の吸着と脱着について同一の 4 つの土壌を用いて調査した。試料は土壌と溶液の比率が 1 g : 5 mL になるように調製された。溶液は、0.01 M 塩化カルシウム溶液として調製され[14C]2,4-DCA の名目上の濃度は、5、2.5、1、0.5 mg/mL とされた。その他の試験設計は上記の通りである(Fathulla, 1996b)。

取得されたデータの直線回帰解析の結果は、[14C]2,4-DCA の吸着と脱着が Freundlich 式に従っていることを示していた。吸着と脱着平衡の定数並びに係数を表 13 に示す。

表 13 土壌中での 2,4-DCA の吸着と脱着(Fathulla, 1996c)

全ての試験系において、被験物質は安定であった。24 時間後に変化しなかった[14C]2,4-DCA の吸着溶液と土壌抽出物中での総量は、元々の量に対して、Arizona silty clay loam では 94%、California sandy loam では 105%、Mississippi loam では 105%、Plainfield sand では 103%であった。48 時間後の脱着溶液中での放射活性の 100%が未変化の[14C]2,4-DCA であった。

Koc-a の値に基づけば、4 種の土壌から 2,4-DCA がしみ出る可能性は低かった。

Fathulla (1996d) は、4 種の農業土壌中での 2,4-ジクロロフェノールの吸着と脱着特性について調べた。試料は土壌と溶液の比率が 1 g : 2 mL になるように調製された。溶液は、0.01 M 塩化カルシウム溶液として調製され[14C]2,4-DCP の名目上の濃度は、10、5、2.5、1mg/mL とされた。その他の試験設計は上記の通りである(Fathulla, 1996b)。

[14C]2,4-DCP の吸着と脱着は Freundlich 式に従っていた。吸着と脱着の平衡定数と吸着と脱着の係数は表 14 に示してある。

表 14 土壌中での 2,4-DCP の吸着と脱着(Fathulla, 1996d)

4 つ全ての試験系において、被験物質は安定であった。24 時間後に変化しなかった[14C]2,4-

DCP の吸着溶液と土壌抽出物中での総量は、元々の量に対して、Arizona silty clay loam では 92.5%、 California sandy loam では 93%、Mississippi loam では 92%、Plainfield sand では 92% であった。[^{14}C]2,4-DCA は 0.01 M CaCl2 溶液中で 24 時間安定であること並びに脱着溶液中で 48 時間安定であることが示された。

Koc-a の値に基づけば、試験した土壌から[^{14}C]2,4-DCP がしみ出る可能性は低かった。

移動性

農業エコシステムを代表させるために Burgener (1993) はライシメータを使用した。
このライシメータの中では、120 cm の土壌における[^{14}C]2,4-D とその分解物の転流、降水と溶脱の植生の影響が調べられた。725 日後の ^{14}C バランスの情報と同様に、土壌投与された後の作物による農薬の吸い上げの情報が得られた。

2 つのライシメータに夏小麦が植えられた。1990 年の 6 月 15 日に、750 g ae/ha の推奨される投与率で DMA が投与された。通常の農業の取組に従って耕作と転作が行われた。1990 年 11 月に冬ライ麦の種がまかれ、1991 年の夏にライが収穫された後、冬ナタネが植えられた。水の試料が定期的に採取され、被験化合物の無機化から分解によって生じた $^{14}CO_2$ の寄与を推定するため、LSC によって ^{14}C が測定された。残りの放射活性は、クロマトグラフィーの技術により特性解析された。植物によって吸い上げられた放射活性は、実験の最終段階での土壌中の放射活性と同様に燃焼法によって測定された。一方で、大気に放出された $^{14}CO_2$ とその他の揮発性化合物は別々に計算された。

ライシメータ 1 では、2 年後に浸出液に回収された ^{14}C は投与された放射活性の総量の 0.196%であり親化合物の 0.14 mg に相当した。浸出液試料の全てを含む、放射活性の総平均回収は、リッター当たり親化合物等量物として 0.14 mg の濃度に相当した。投与された放射活性の総量の 0.099%に相当する $^{14}CO_2$ を減算した後、残りの濃度は、0.07 mg/L まで減少した。全試験期間の間、958 L の水(灌水を含む総降水量の約 48%)が採取された。

ライシメータ 2 では、2 年後の水における放射活性は、投与された放射活性の総量の 0.25% であり、0.17 mg の親化合物等量に相当した。浸出液試料の全てを含む、放射活性の総平均回収は、リッター当たり親化合物等量物として 0.175 mg の濃度に相当し、投与された放射活性の総量の 0.058%が $^{14}CO_2$ であった。これを減算した後、^{14}C の平均含量は 2,4-D として 0.13 mg/L であった。この間、灌水を含む総降水量の約 50%に相当する 994 L の水が採取された。

$^{14}CO_2$ を除き、TLC と HPLC によって浸出液中から検出された揮発性化合物はなかった。

[^{14}C]2,4-DDMA 塩、遊離酸、その分解産物として知られる 2-クロロフェノール、4-クロロフェノール、2,4-ジクロロフェノールは、いかなる浸出液試料からも検出されなかった。2 つのライシメータともに、最大 3 つの未知の放射性画分が検出された。主となる未知の画分は、分析された浸水液試料の全てに存在した。その未知画分は、総量として、ライシメータ 1 では投与された放射活性(AR)の 0.043%、ライシメータ 2 では 0.087%であった。この放射活性は明らかに極めて極性の高い残留物に由来しており、フミン酸とフルボ酸に結合した開裂した環の断片に帰属するのではないかと推測された。

試験の終わりの際には、土壌の中心は約 10 cm の厚さの水平断片 12 個に切り分けられた。ライシメータ 1 では、土壌プロファイルにおける TRR は AR の 21%であり、11%は上層に含まれていた。ライシメータ 2 では、相当する割合は 17%と 8.8%であった。2 つのライシメータともに、わずかに AR の 0.1%が 57 cm より深い部分の土壌に見つかった。

土壌における抽出可能な放射活性は、再度 3 つの未知画分に由来しており、2 つのライシメータから得られた土壌抽出物中のそれら未知のフラクションのパターンと量を十分に比較した結果、ほぼ同一であった。放射活性は 17 cm 程度の深さの層で見つかっており、その量は、ライシメータ 1 では総量として AR の 0.26%、ライシメータ 2 では 0.29%であった。分解産物である 2-クロロフェノール、4-クロロフェノール、2,4-ジクロロフェノールは分析された 6 つの土壌層のどこからも検出されず、この 6 つの層で 57 センチの深さに達した。

試験中に採取された水は、総降水量の 50%を占めた。1990 年の 6 月には、投与の 1 週間前に記録的な豪雨があった。この月の総雨量は同じ月の平均降水量のほぼ 2 倍であったが、この望ましくない条件が放射活性の濃度を高くすることはなかった。

浸出液と土壌試料中に見つかった化合物の数と量が 2 つのライシメータの間で十分に比較された。その結果は、[^{14}C]2,4-D とその分解産物は、実験に使用された sandy soil 中を移動せず、それによって 2,4-D が地下水に浸出する可能性がないことを示唆していた。浸出した放射活性は全体として極めて極性の高い未同定の残留物に由来していた。

<u>転作作物による吸い上げ</u>

Burnett and Ling (1994) は、2.2 kg ae/ha に相当する率で地面を覆うようにしたブロードキャストスプレーにより[^{14}C]2,4-D が投与された 3 つの区画のそれぞれについて、土壌から転作作物によって吸い上げられる[^{14}C]2,4-D 残留物の特徴と量を調べた。転作作物として、小麦、アイシクルホワイトラディッシュ、レタスが、投与後(DAT)30 日目、そして 139DAT に作付けされた。

最初の 30DAT の間に土壌残留物は顕著に減少した。そして土壌抽出物のクロマトグラフィーによる分析は、この期間に 2,4-D の相当部分が分解されることを示唆していた。30 DAT での土壌残留物のわずか 8.7%だけがエーテルに可溶だった。一方 0 DAT では平均として 97.5%がエーテル可溶であった。0 DAT に土壌の中心から回収された放射活性は 2,4-D であることが HPLC により同定された。しかし、30 DAT では投与された放射活性のわずか 1.1%だけが、2,4-D に一次的に帰属された。

小麦を除く 30 DAT の作物における 2,4-D 等量としての TRR は、0.01 mg/kg から 0.06 mg/kg の範囲に含まれた。

全ての植物試料から 0.01 mg/kg の濃度を超えて見つかったエーテル可溶性の残留物はなかった。その一方で、2,4-D を添加したコントロールの組織においては、65%以上の放射活性がエーテル可溶性であった。全ての試料はエーテル可溶性残留物を含んでいたが、ラディッシュの地上部と小麦のわらでのみ、その濃度が 0.01 mg/kg を超えていた(30 DAT のラディッシュ地上部で 0.011 mg/kg、30 DAT の小麦のわらで 0.017 mg/kg、139 DAT の小麦のわらで 0.014 mg/kg)。

植物中の放射活性の大部分は、エーテルあるいは酸性/水/エタノールによって抽出することができなかった。結合性の残留物を加水分解すると異なる量の ^{14}C が可溶化したが、これはわずかなエーテル可溶性残留物のみからであり、0.004 mg/kg を超えることはなかった。2,4-D と加水分解産物に該当する保持時間での放射活性成分が、酸加水分解したラディッシュ地上部からのエーテル抽出物の HPLC によって、0.001 mg/kg の濃度で観察された。

30 DAT での小麦わら中で、粗リグニンとセルロースがそれぞれ 0.01 mg/kg と 0.007 mg/kg を含んでいた。両方の作付け間隔から得られた小麦穀粒は、デンプンから単離されたグルコースに取り込まれた ^{14}C を含んでいることが示された。^{14}C グルコースの量は、典型的な小麦穀粒におけるデンプンの量(60-70%)に一致した。

30 日の作付け間隔期間後であると、0.01 mg/kg を超えるレベルでは、遊離あるいはコンジュゲートの 2,4-D、あるいは既知の小麦代謝物に由来するエーテル可溶性の残留物はないことが示された。デンプンに含まれるグルコース中に ^{14}C が検出されたとに支持され、抽出、加水分解、そしてクロマトグラフィーによる特性解析の結果は、30 及び 139 DAT の両方で転作作物中に含まれる放射性残留物は、自然の取り込みによるものであったということを示唆した。

地表からの消失

地表からの消失試験が 2,4-D EHE(Barney, 1995a-d, j;Hatfield, 1995c-j; Silvoy, 1995a,b)を使用して 15 回、2,4-D DMA(Barney, 1995e-i; Burgener, 1993;Hatfield, 1995k-r; Silvoy, 1994a-d)を使用して 18 回行われた。それら試験の結果は、Wilson *et al*.(1997)によって要約された。

使用前に、各被験物質の特性は解析された。各作物には、ラベルの最大投与率並びに投与シークエンスで投与された。いくつかの試験では、作物を植える場所に加え、露出した土壌にも試験区域が設けられた。

1993 年に、2,4-D DMA あるいは 2,4-D EHE の市販の液剤が希釈したスプレーとして、Colorado、North Carolina、Texas (USA)で処理された。 Colorado と North Carolina で行われたた試験には、小麦と隣接する露出した土壌への芝のすき込みが含まれていた。一方、Texas で行われた試験には、牧草のすき込みが含まれていた。

小麦と露出土壌の区画には、5 月と 7 月に投与された 1.4 kg ae/ha が含まれていた。Colorado の土壌は、1.3 から 1.8%の有機質(OM)を含み、pH は 7.8 から 8.1(灌水に加えて総降水 32 cm から 36 cm)の sandy clay loam であった。North Carolina の砂は、0.77 から 1.4%の OM を含み、pH は 5.4 から 6.9 (灌水に加えて総降水 32 cm から 36 cm)であった。North Carolina で行われた芝並びに隣接する露出度上処理並びに Texas で行われた牧草の処理には 5 月と 6 月に投与された 2.2 kg ae/ha が含まれていた。Texas の土壌は、1.5 から 1.6%の OM を含み、pH が 6.0 から 6.1 (灌水に加えて総降水 94 cm)の sandy loam から silt loam に変化した。

1994 年には、California、Nebraska、North Dakota、Ohio で試験が行われた。Nebraska と Ohio ではトウモロコシ、North Dakota では小麦、California では牧草、露出土壌、芝への計画された処理に続いて露出土壌にアミン塩とエステルの両方がスプレーされた。2,4-D DMA の市販されている粒剤が North Dakota では露出土壌と芝に、2,4-D EHE の粒剤が Ohio では露出土壌と芝に投与された。

トウモロコシへの投与には、5 月に 2.2 kg ae/ha、6 月に 1.1 kg ae/ha、7 月に 0.56 kg ae/ha、9 月/10 月に 1.7 kg ae/ha を露出土壌に投与することが含まれていた。Nebraska の土壌は、2.9 から 3.5%OM を含み pH が 5.7 から 6.7 の silg loam であった。Ohaio の土壌は、OM が 2.0 から 5.0%、pH が 6.5 から 7.1 の silty clay loam、clay loam、silt loam を含んでいた。灌水に加えた総降水は、47～97 cm であった。小麦への投与には、6 月と 8 月の 1.4 kg ae/ha が含まれていた。North Dakota の土壌は、OM が 2.9 から 6.4%、pH が 5.9 から 7.7 の sandy loam から loam にまたがっていた。灌水に加えた総降水は、33 から 34 cm の範囲だった。芝、牧草、隣接した露出土壌の処理は、3 月から 7 月までの間に 1 回目が、4 月から 8 月までを通じて

2 回目が、2.2 kg ae/ha で行われた。Calfornia の土壌は、OM が 0.7 から 3.9%、pH が 6.3 から 7.9 の loam から loamy sand までにまたがっていた。灌水に加えての総降水は 67 から 142 cm の範囲であった。

採用された分析法は、2,4-D に加え、2,4-D EHE、2,4-dichlorphenol、2,4-dichloroanisole を抽出し測定できるように設計されていた。後者の 2 化合物は、土壌分解試験において該当する化合物であることが示されていた。3 つの溶媒系とソニケーションの組み合わせにより、分析対象化合物は土壌試料から抽出された。抽出物は合一され、水で希釈され、C-18 固層カートリッジによって濃縮された。分析対象化合物は 2 つの溶媒系で続けて溶出され、2 つの溶出液が調製された。最初の溶出液には 2,4-D EHE、2,4-DCP、2,4-DCA が含まれており、誘導体化せずにクロマトグラフィーにかけられた。2 番目の溶出液に含まれていた 2,4-D は BF3/メタノールにより誘導体化された後ヘキサンに分配された。最初の溶出液とヘキサン溶液が合一され、GC-MS により分析された。分析法の検出限界は 0.01 mg/kg であり、0.01 mg/kg で添加した場合の回収率は 91%、10 mg/kg で添加した場合の回収率は 76%であった。

土壌中での 2,4-D の半減期($t_{1/2}$)は、試験ごとに残留データの回帰分析により計算された。検証技術は、投与が総じて標的としたレベルに近いことを示していた。土壌での半減期の値は、土壌の 0 から 15 cm の層で見つかった残留物のみを使用して計算された。残留物のレベルが一般に低く(0-15 cm の層における残留物の 0 あるいは 10%未満)また、土壌の深さに応じて分解の割合が減少することが示されていたため、より深い層が含まれることはなかった。

表 15 と 16 には、1993 年と 1994 年に行われた最大数の投与後に採取された様々な試料で見つかった 2,4-D 残留物がそれぞれ示されている。2,4-D EHE に関しては、残っていた 2,4-D EHE と 2,4-D の和を 2,4-D として示している。半減期もまた、各試験について示されている。これらの半減期は、全ての採取時期に得られた残留物データ並びに発見された最も高レベルの残留物を初期値として使用した回帰分析により決定された。半減期の値として 2 つが示されている場合は、1 つめが全ての採取時期に得られたデータから計算された値、2 つめが残留物の最大値を初期値として考慮した値である。

表 15 1993 年に実施された試験における 2,4-D の残留物と半減期。全て散布投与 (Wilson *et al.*, 1997)

[1] アミン体投与の結果生じた残留物は 2,4-D であった

[2] エステル体投与の結果生じた残留物は、2,4-D と 2,4-D EHE であり 2,4-D として示した

[3]2 日間

[4]15 日間

[5]4 日間

[6]8 日間

[7]5 日間

[8]35 日間

[9]25 日間

表 16 1994 年に実施された試験における 2,4-D の残留物と半減期。散布並びに粒での投与(Wilson *et al.*, 1997)

[1]アミン体投与の結果生じた残留物は 2,4-D であった

[2]エステル体投与の結果生じた残留物は、2,4-D と 2,4-D EHE であり 2,4-D として示した

[3]29 日間

[4]58 日間

[5]20 日間

[6]30 日間

[7]62 日間

水/沈殿物システムにおける環境動態

水性の分解

Cohen (1991a) は、篩(2 mm)にかけられた非滅菌の Louisiana 稲田の沈殿物(泥)と水(320 g 沈殿物、534 g 水、総量 854 g)と、環が均質にラベルされた[^{14}C]2,4-D を 4.6 mg/kg の濃度で混合し、好気性の水性の分解を調べた。微生物を活性化させるために、未処理の混合物は 暗所 25°C の好気的な水性条件で 218 日間前もって加温され、その後、アセトニトリルに溶解させた[^{14}C]2,4-D が加温フラスコ中で沈殿物/水の全体と混ぜられ、暗所 25°C の条件で 30 日間、好気的に加温された。形成されたいかなる揮発性の化合物も捕集溶液(エチレングリコール、1M 硫酸、5%水酸化ナトリウム)に流し込むために、土壌は連続して湿度を保った空気により 30 mL/分の量でパージされた。

試験系の試料は処理直後(0 日)並びに、処理の 2、5、12、20、27、30 日後に採取された。沈殿物/水の試料は遠心分離され、沈殿物の等量は燃焼され、LSC により ^{14}C が測定された。残った沈殿物の試料は、1.5 M リン酸とエチルエーテルの混合溶液により抽出され、水で洗浄後、1 N の水酸化ナトリウム溶液で再抽出された。全ての抽出物の等量、上精と捕集溶液の二重試料における ^{14}C が LSC により測定された。

UV(280 nm)と放射活性検出器を連結した HPLC により、沈殿物の抽出物と水の上精とが分析された。放射活性フロー検出には、2,4-D とその好気性分解物とを 0.01 mg/kg(検出限界は 0.005 mg/kg)で同定する性能がある。

沈殿物/水の試料の分析は、好気的な水性条件下で、2,4-D の半減期が 15 日であることを示した。

分解物である chlorohydroquinone は、当初の放射活性の 17%(0.78 mg/kg)に相当する最大濃度に 27 日目に達し、30 日目までに 11%(0.52 mg/kg)に減少した。30 日までには、主要でない産物 2,4-dichlorophenol は当初の ^{14}C の 4.9%(0.23 mg/kg)に達し、CO_2 は 16%(0.74 mg/kg)に達した。

試験期間中の ^{14}C の回収(土壌からの可溶並びに非可溶＋水溶性＋累積する揮発性物質)は、当初の放射活性の 69 から 100%の範囲であった。

Concha and Shepler(1993a)は、Illinois 州の Henry Country から得た池の沈殿物と水の試料における[^{14}C]2,4-D の好気的な水性の分解について、投与率を 5 mg/kg とし、25°C で加温することにより 46 日目まで調べた。試料採取ごとに、水層における pH(7 から 8)並びに溶存酸素量(2.7 から 6.75 mg/kg)がモニターされた。

最初の 25 日間に、[^{14}C]2,4-D はゆっくりと分解され、25 日目には投与された量の 75%未満となった。続く 10 日間には急速に減少し、46 日目には投与された量の 0.5%となった。[^{14}C]2,4-D の半減期は 4.5 日であった。

主要な分解産物は CO_2 であった(46 日目には、投与量の 64%)。水並びに沈殿物抽出物の両方から、2,4-DCP、4-CPA、4-chlorophenol が発見された。35 日目の 2,4-DCP は投与された ^{14}C の 1.1%に相当し、46 日目には 0.1%に減少した。4-CPA は 14 日目に 1.1%まで増加し、その後検出することができない量まで減少した。4-chlorophenol は 20 日後に投与量の 1.4%となり、その後 46 日目までにゼロまでゆっくりと減少した。35 日後の水層の試料中に、未知の産物が観察された(投与量の 1.1%)。この産物は凍結あるいは冷蔵条件下で不安定であり、水層を酸性とすると CO_2 並びに他の揮発性化合物に変換された。0.1%を超える揮発性有機化合物は検出されなかった。非抽出性の残留物は、投与からの時間がたつごとに増加し、46 日目では投与量の約 16%であった。

放射性炭素の回収は平均して 93±7%であった。ラグタイム(25 日間)の間、放射性炭素の大部分(64%より多い)は水に見つかり、約 10 から 14%がアルカリ性溶媒に、約 4%が酸性のアセトンに沈殿物から抽出された。ラグタイムの後は、2,4-D が分解されたため、放射性炭

素の分布は劇的に変化した。46 日目には、投与された量の 3%が水層から回収され、そのうち 1.0%と 0.6%がそれぞれアルカリ性溶媒と酸性溶媒に抽出された。全体の物質収支は、35 日目にはわずかに落ち込んだが、46 日目には増加した。この減少は、ラグピリオドの後に急速に大量の CO_2 が産生され、捕集溶液が変化しており効果的に捕集されなかったのかも知れない。独立した別の試料は 39 日間開封せずに加温されていたが、この試料での回収はより高く(92%)、このことによって、上部における CO_2 が捕集されずに揮散してしまったことが放射性炭素の損失原因であることが確認された。

図 6 好気的な池の沈殿物/水系における 2,4-D の分解経路(Concha and Shepler,1993a)

Concha and Shepler(1994b)は、Illinois 州 Henry County の池から採取したそのままの蓄積物と水中での[^{14}C]2,4-D の嫌気的な水性の分解について、1 年間調べた。試料は試験を通じて 25°C で保温され、水層は pH(7.6-9.6)のために各採取時にモニターされた。

放射性炭素の回収は、平均して 101±5.2%であった。^{14}C の分布は個別試料中で観察された分解の程度に依存して変化した。水層における放射性炭素は、投与した ^{14}C の 24-85.5%に相当し、そのうち沈殿物の有機溶媒抽出物における量は 11-42%であった。結合性の放射性炭素は分解が進むにつれて増加し、240 日後には投与された ^{14}C の 35%が抽出されずに残った。240 日目に採取された試料は、フミン酸中に 2.4%の、フルボ酸中に 14.9%の、^{14}C を含んでおり、残りの 23.5%は抽出することができずに残った。泡の栓における揮発性有機物から投与量の 2.3%が測定され、腐食溶液に捕集された $^{14}CO_2$ は、365 日後には平均して 22%に達した。

図 7 嫌気的な池の沈殿物/水系における 2,4-D の分解経路(Concha and Shepler,1993b)

水、沈殿物からの抽出物、泡の栓からの抽出物に含まれていた化合物は、HPLC あるいは二次元の TLC により同定された。365 日後には、水層における主成分は 2,4-D であり、投与量の 26%であった。沈殿物からの抽出物において、その時点で、親化合物は投与された放射性炭素の 13%を占めており、その量は、試験システムにおける 2,4-D の 39%であった。主要な 2 つの分解産物は 2,4-DCP と CO_2 であった。2,4-DCP は、30 日には 22%に増加し、引き続き 365 日後には 4.2%に減少した。いくつかの HPLC ラジオクロマトグラム上で、保持時間の異なる小さな未同定のピークが検出された。365 日後に検出された最も大きな未同定ピ

ークは、投与量の 1.5%に相当した。少量の揮発性化合物が泡の栓から抽出されており、365 日目には、4-chlorophenol(1.9%)、2,4-dichloroanisole(0.7%)、2,4-DCP(0.7%)が検出された。

2,4-D の概ねの半減期は 312 日であると計算された (r^2=0.69)

Fathulla(1996a)は、Wisconsin 州・Madison・Dane County (USA)の Lake Mendota から採取された代表的な沈殿物と水における、[^{14}C]2,4-D の好気的な水性の分解について調べた。

2 mm の篩にかけた約 3 g (乾燥重量等量)の沈殿物と 30 mL の湖水をガラス製容器に入れることで、18 個の試料が準備された。名目上濃度を 10 mg/kg として、試験する化合物は各試料に溶液として加えられた。添加後すぐに、0 日目の試料は分析された。その他の試料容器は穏やかに振とうされ、各容器の水位がマーキングされた。好気的な条件を保ち、揮発性化合物を収集するために、試料容器がガラス容器のマニフォールドに連結され、その容器には一連の捕集容器が接続された。捕集容器は、エチレングリコール、0.1 N 硫酸、2 N KOH 2 つ分である。空気は継続的に捕集容器から吸い取られ、試験機器は暗所に保たれ、室温は 25°C に管理された。pH、酸化還元電位(Eh)、溶存酸素量(DO)は全ての試料についてモニターされ、試験中の好気的条件の維持が確実にされた。

遠心分離により、水層と沈殿物が分けられた。水における放射活性は LSC により測定され、放射活性のある化合物は HPLC により分離された。沈殿物試料は、5% v/v 酢酸(HOAc)メタノール(MeOH)溶液によりまず抽出され、引き続き 50:50 MeOH/5% HOAc、最終的に 5%HOAc 水溶液により抽出された。 3 つの抽出物は合一され、放射活性は LSC により測定され抽出物は HPLC により分析された。

放射活性の回収は、97 から 103%であり、ほとんどすべて(94 から 101%)が水層にあった。沈殿物からの抽出物における放射活性は、投与量の 3.1%を超えることはなく、平均は 0.1%を超えなかった。放射活性のある二酸化炭素は、捕集された唯一の揮発性成分であり、1 日目には投与量の 0.015%であったが、30 日目には 0.28%まで増加した。

水層と沈殿物からの抽出物における放射活性は、0 日目から 30 日目までを通して、ほぼ全てが[^{14}C]2,4-D によるものであり、投与された ^{14}C に対する平均パーセンテージは、0 日目で 103%、8 日目で 97%であった。顕著な分解が観察されなかったため、半減期を計算することはできなかった。主要でない成分の 1 つだけが、唯一 30 日目の複製試料の 1 つにだけ検出されたが、その量は、放射活性の投与量の 0.1%に過ぎなかった。[^{14}C]2,4-D の同一性は、2 次元 TLC 並びに非標識参照標準の HPLC による共クロマトグラフィーにより確認された。

好気的な水性の条件下では、$[^{14}C]$2,4-D は 30 日間の加温期間中に顕著に分解しなかった。$[^{14}C]$2,4-D に加え、少量の $^{14}CO_2$(当初の ^{14}C の 0.28%に相当)とその他 1 つだけの成分(0.1%)が 30 日目までに検出された。

Levine (1990)は、篩(2 mm)にかけられた、未滅菌の Louisiana 稲田の沈殿物(泥)と水における$[^{14}C]$2,4-D の水性の分解を 4.9 mg/kg の濃度で調べた。土壌微生物を活性化させるために、未処理の混合物は 暗所 25±0.8°C の嫌気的な条件で 138 日間前もって加温された。活性化期間の後、アセトニトリルに溶かした$[^{14}C]$2,4-D が沈殿物/水の混合物全体に加温フラスコ中で混ぜられ、暗所 25±0.8°C の条件で 365 日間、嫌気的に加温された。生じたいかなる揮発性化合物も一連の捕集溶液(エチレングリコール、1 M 硫酸、エタノールアミン、5%水酸化ナトリウム)に押し出すため、混合物は湿らせた窒素を 45-50 mL/min の量流すことで継続的にパージされた。

試験混合物の試料は、処理後直ちにまた、処理後 1、6、13、22、35、70、85、120、160、224、281、338、365 日後に採取された。沈殿物と水は遠心により分けられ、複製した沈殿物試料は、燃焼され LSC により総放射活性を分析された。加えて、複製試料は 1.5 M リン酸/エチルエーテルにより抽出され、水で洗浄され、最終的に 1 N 塩化ナトリウム溶液により再抽出された。全ての抽出物、複製された上精の水試料と捕集溶液中の ^{14}C が LSC により測定された。

水試料と沈殿物からの抽出物は UV(280 nm)検出器と放射活性フロー検出器を連結した HPLC によって分析された。放射活性フロー検出により、2,4-D とその分解産物を 0.01 mg/kg で同定することができる。TLC は同定の確認方法として使用された。

試験結果は、嫌気的な水性条件下で 2,4-D が 41 日間の半減期をもって分解することを示していた。365 日間の加温期間中に生じる主たる産物は 4-chlorophenol であり、2-chlorophenol が主要でない産物であった。0.01 mg/kg のあるいはそれを超える濃度の ^{14}C 残留物の全てが同定された。

試験の終わりまでに、CO_2 の産生量は、初期の放射活性(2,4-D として 3.5 mg/kg)の 71%に達した。

沈殿物試料からの ^{14}C の抽出は、各試料の採取時点で、90 から 102%の範囲にあり、総回収(沈殿物から抽出可能であったもの、抽出できなかったもの+水の上精、累積した揮発性物質)は、0 日目の放射活性の 52 から 98%の範囲にあった。回収が不完全だったのは、揮発性の $^{14}CO_2$ が失われたためである。

結果は、嫌気的な水性条件下で、2,4-D が長い間は環境中に残っていそうにないことを示していた。

Reynolds(1995b)は、25±1°C の嫌気性条件下で灌水した土壌中において、約 10 mg/kg の濃度の ^{14}C ラベルされた 2-ethylhexanol が急速に分解されることを示した。

上精画分中の ^{14}C のパーセンテージは、0 日目の 75%から 3 日目の 59%まで減少し、試験の残り期間では安定化するように見えた。固形画分から CH_3OH/CH_2Cl_2 に抽出することができた放射活性の割合は最初の 30 日間は 22 から 26%のレベルにとどまっていた。60 日目までには、初期の放射活性の 14%が CH_3OH/CH_2Cl_2 画分に見つかっており、この割合は、残りの期間、ほぼ一定のレベルで保たれた。抽出後の固形画分における ^{14}C のパーセンテージは、6.7%(3 日目)から 1.9%(179 日目)までの範囲にあったが、14 日目から 270 日目まではほぼ一定に保たれていた。

$^{14}CO_2$ を含む、放出された酸性の揮発性物質は時間とともに増加し、30 日目と 270 日目にはそれぞれ 14%と 25%に相当した。各試料採取時における KOH 溶液からのバリウム沈殿は、$^{14}CO_2$ を除くそれ以外の揮発性物質の存在を示唆していた。$^{14}CO_2$ は平均して、初期の放射活性の 1.1%(3 日目)から最大 9.1%(179 日目)までの範囲にあった。224 日目の KOH 試料を合一して分析した結果は、主たる成分が 2-ethylhexanol であることを示していた。

水試料と有機溶媒可溶性画分が逆相 HPLC により分析された。主たる成分は 2-ethylhexanoic acid と 2-ethylhexanol であった。

親化合物の 2-ethylhaxanol は、総投与量に対して 30 日目では 22%、60 日目では 5.1%そして 270 日目には検出不可になり、急速に減少した。2-ethylhexanoic acid は 7 日目に初めて観察され(9.3%)、120 日目に 61%の最大に達し、その後一定となった。270 日目では投与した 59%が 2-ethylhexanoic acid のままであった。

CH_3OH/CH_2Cl_2 画分中の 2-ethylhexanol に由来する放射活性は、投与した放射活性に対して、0 日目の 24%～30 日目の 2%に減少し、残りの試料では 0-0.53%で検出された。主たる成分はこの場合も 2-ethylhexanoic acid であり、30 日目で 19%であった。その後わずかに減少したものの、最終の試料採取までは安定して残っていた。

その他に 4 つの主要でない産物が存在したが、投与された放射活性総量の 2.4%を超えるものはなかった。^{14}C の回収は、97%から 105%の範囲にあり、平均は 99%であった。

要約すると、嫌気的な条件下では、10 mg/kg の投与率で投与された[^{14}C]2-ethylhexanol は、2-ethylhexanoic acid に分解され、沈殿物/水の試験系に含まれる微生物によって $^{14}CO_2$ までさらに無機化された。2-ethylhexanol の顕著な量は、$^{14}CO_2$ とともに、KOH 捕集溶液からも検出された。2-ethylhexanol の半減期は 14 日であった。

Reynolds(1995a)は、25±1°C 暗所の試験室環境課で、約 10 mg/kg の dimethylamine(DMA)が好気的な水/沈殿物システムにおいて非常に急速に分解されることを立証した。推定された半減期は 2.8 日であった。

HPLC 並びに TLS と LSC の比較により分析された。

^{14}C の定量的な回収は、14 日間の試験を通じて全ての試料から得られ、その平均は 99.6%であった。

9 つの分解産物が観察された。主要な産物は monomethylamine(MMA)であり、0 日目には観察され投与された放射活性の総量の 5.9%に相当した。時間とともに徐々に減少し、試験期間の終わりには、初期の放射活性の総量の 1.2%であった。全ての試料において投与した ^{14}C の 0.29%を超える量に相当する他の産物はなかった。

KOH に捕集された、放出された酸性の揮発性化合物は 14 日の間に劇的に増加し、平均して投与された放射活性の 63%に相当した。エチレングリコールに捕集された中性の揮発性化合物は無視できる量であり、投与された ^{14}C の 0.08%に相当した。KOH 溶液からのバリウム塩沈殿によって、捕集された放射活性の大部分が $^{14}CO_2$ であることが確認された。

沈殿物に結合した残留物は徐々に増加し、5 日目に最大の 41%に達した。これらはいくつかの技術によって放出された。0.25 N HCl による還流によって、投与した放射活性の 29%に相当する量が放出されたが、これらは有機溶媒によって抽出されなかった。酸加水分解後の水層画分を benzoyl chloride の有機溶媒分配によって誘導体化すると、投与した ^{14}C の 26%が抽出された。誘導体化した水層画分をクロマトグラフィーにより分析した結果、 N,N-dimethylbenzamide として同定された成分の存在が明らかとなり、このことは、親化合物が土壌構成成分に結合していたことを示唆していた。

残りの結合性残留の土壌分画は、フミン酸、フルボ酸、そしてヒューミン画分のそれぞれに、投与された放射活性の 3.1%、3.96%、5.1%があることを示した。

同一の実験、しかし嫌気的な水/沈殿物システムで行われた実験(Reynolds, 1995c)において、

10 mg/kg の DMA が非常にゆっくりと分解することが示された。推定された半減期は約 1610 日であった。

既出と同じ分析により、全ての試料について、^{14}C の定量的な回収が試験期間の 180 日を通じて得られた。平均回収は 109%であった。

水と沈殿物における総 DMA は、投与された化合物に対し、平均して 0 日目で約 99%であり、180 日目で 88%であった。8 つの分解産物が検出された。主要な分解物の一つは monomethylamine であり、0 日目にはすでに存在し、その量は投与された放射活性総量の 5.3%に相当した。その後の濃度は 14 日目の 5.5%から 90 日目の 3.2%の範囲にあり、形成あるいは減少の明確なパターンは観察されなかった。その他の 7 つの分解物中に、初期の ^{14}C の 0.63%を超える量に相当するものはなかった。

投与した ^{14}C の 2%未満が $^{14}CO_2$ を含む酸性の揮発性化合物として放出され、KOH 溶液に捕集された。バリウム塩の沈殿により、捕集された放射活性の大部分が $^{14}CO_2$ であると確認された。

酸加水分解により投与された ^{14}C の 7%が放出され、その大部分(6.9%)が酢酸エチルによる分配の後、水層に残った。水層画分を誘導体化した後には、初期の ^{14}C の 5.9%がジクロロメタンに抽出され、抽出物の主要成分は N,N-dimethylbenzamide としての DMA であった。酸環流時に用いた KOH 捕集により、初期 ^{14}C の 0.03%が含まれることが明らかになった。このことは、還流時に揮発性化合物が生じないことを示唆している。フルボ酸(0.51%)、フミン酸(0.38%)、ヒューミン(0.87%)中に低レベルの放射活性が検出された。

Reynolds(1995d)は、灌水した沈殿物と 10 mg/kg の ^{14}C ラベルされたイソプロパノールとを 25±1°C 暗所、嫌気性の条件下で保温した。分解は急速であった。1N KOH に捕集された放出された酸性の揮発性化合物には $^{14}CO_2$ が含まれており、一定量で増加し、120 日後には、投与された ^{14}C の 65%に相当した。しかし、バリウム塩の沈殿並びに HPLC は、多くの ^{14}C 揮発性化合物がアセトンとイソプロパノールであることを示した。その他の主要でない成分も観察されたが同定されなかった。

[2-^{14}C]イソプロパノールの半減期は 15 日であった。嫌気的な水性の試験条件下で、イソプロパノールはアセトンに分解されさらに $^{14}CO_2$ に無機化した。

Reynolds(1995f)は、同一の試験室環境下で、10 mg/kg のジエチルアミンが好気的な水/沈殿物のシステムにおいて、非常に急速に分解することを示した。推定された半減期は、10.3 日であった。LSC とともに HPLC と TLC により分析された。

親化合物とエタノールアミンに加えて、9 つの分解産物が観察された。M3 と記載されている主要な分解産物は、投与された放射活性の総量に対して、0 日目には 4.1%、7 日後には 8.2%を占め、試験の最後には 2.1%まで減少した。いずれの試料においても、4.3%を超える化合物は、エタノールアミンも含めて無かった。

沈殿物に結合している残留物は徐々に増加し、21 日目には 27%に達した。14 日目に得られた残留物がさらに検討された。溶媒を用いた還流によって、投与された放射活性の 13%が放出されたが、それは有機溶媒可溶性ではなかった。極性残留物のクロマトグラフィー分析によって、いくつかの成分が同定されたが、AR の 3%を超える残留物はなかった。

残りの結合性残留物の土壌分画により、フミン酸、フルボ酸、ヒューミンのそれぞれに投与された放射活性の総量(ARR)の 3.4%、2.2%、5.5%が含まれていることが明らかになった。

対応する嫌気性システムにおいて、その他の条件を同一(Reynolds, 1996)にすると、試験期間である 365 日間での半減期を推定するためには、分解がゆっくりすぎた。

親化合物とエタノールアミンに加えて 4 つの分解産物が観察された。M1 と表記された主要な分解産物は、投与された放射活性の総量に対して 0 日目では 1.4%、14 日目では 6.4%であったが、365 日目には、0.84%まで減少した。全ての試料において、4.7%を超える化合物は、エタノールアミンを含めても観察されなかった。

沈殿物に結合した残留物は、投与された放射活性の総量に対して、59 日目では 20%、91 日目では 9.1%に相当した。59 日目に採取された PES の酸加水分解によって、投与された ^{14}C の 14%が放出されたが、そのうち酢酸エチルに分配されたのは 0.5%未満であった。水性画分の TLC は、親化合物と同一の Rf 値を持つ放射活性のあるスポットがあることを示した。酸環流の間に、KOH 捕集容器には投与された量の 0.25%未満しか含まれないことが明らかになり、このことは、揮発性化合物が生じないことを示唆していた。投与された放射活性に対して低いレベルの活性がフルボ酸(2.75%)、フミン酸(1.4%)、ヒューミン(1.4%)に含まれていた。

365 日の期間中、^{14}C の回収は 102 から 110%の範囲であり、総回収の平均は 105%であった。

水性圃場での消失 (Aquatic field dissipation)

1993 年の 6 月に、灌水した Mowata silt loam に植えられた稲に投与された場合の 2,4D DMA とその主要な代謝物 2,4-D、2,4-DCP、2,4-DCA、4-CPAA 及び 4-CP の消失と移動を検討するために、Louisiana において試験が開始された(Barney, 1994)。2 kg ae/ha の率で、1 回

スプレー投与された。0 日目に投与の前後で、処理区画とコントロール区画から土壌と水の試料が採取された。土壌試料は 1、3、7、15、30、45、60、90、120 及び 180 日に、水試料は 1、3、7、15、30 日に採取された。0 日目を除いて、土壌の試料は深さ 30 cm まで採取された。0 日目の土壌試料は、深さ 10 cm まで採取された。沈殿物が舞い上がりコンタミネーションを起こすことを避けるために、土壌試料採取の前に水試料は採取された。試料採取ごとに、それぞれ 200 mL の量で 3 つの副試料が試験区画の異なる場所から、水については採取された。

水試料中の 2,4-D、2,4-DCP、2,4-DCA、4-CPAA 及び 4-CP が分析された。2,4-D 残留物の最高濃度(平均 1.4 mg/kg)は 0 日目に観察され、それ以後減少し、1 日目には平均して 0.54 mg/kg、3 日目には平均して 0.19 mg/kg であった。7、15、30 日目の水試料からは、LOD(0.01 mg/kg)を超える濃度の 2,4-D が検出されなかった。2,4-DCP と 4-CPAA の残留は最初の 3 回の試料採取では検出されたが、LOD(0.01 mg/kg)未満の濃度であった。0 日目には明らかに残留のあった 2,4-DCP と 4-CPAA は、7 日目には検出不可能になった。痕跡程度の 2,4-DCP、2,4-DCA、4-CPAA 及び 4-CP が 15 日目に観察された。水中での 2,4-D 消失の半減期は 1.1 日であった。30 cm の深さまで 10 cm ずつの層を採取した土壌試料中の 2,4-D、2,4-DCP 及び 2,4-DCA が分析された。最も高濃度の 2,4-D の残留(0.04 mg/kg;3 つの深さの総平均)は投与の 1 日後に観察され、3 日後には 0.013 mg/kg の濃度まで減少した。1 日目のサンプリングでのみ、10 cm より深い部分からわずかに LOD(0.01 mg/kg)を超える濃度の 2,4-D 残留物が検出された。この結果は、より深い部分に残留物が移動しているというよりも、試料採取に使用した器具によるコンタミネーションであることを示唆している。分解産物(2,4-DCP と 2,4-DCA)は 1 ども LODr(0.01 mg/kg)を超える濃度で検出されなかった。2,4-D の土壌中での消失の半減期は 1.5 日と計算された。

水性の池での消失

Hatfield(1995a,b)は、North Carolina(NC)と North Dakota(ND)の水性環境(小さな池)において、土壌中での 2,4-D DMA、2,4-D、2,4-DCP、2,4-DCA、4-CPAA 及び 4-CP の消失と移動について調べた。NC の土壌は Bibb sandy loam であり、ND の土壌は Runaff sandy loam であった。池の副表面への注入によって、2 回の投与が行われた。NC では最初の投与が 45 kg ae/ha で、30 日後に行われた 2 回目の投与が 50 kg ae/ha で行われた。ND では、2 回とも 47 kg ae/ha で 31 日の間隔を置いて投与が行われた。投与の前後(0 日)及び、最初の投与後 1、3、7、14 及び 21 日後並びに、2 回目の投与後 1、3、7、14、21、30、60、90 及び 120 日後(ND では 180 日後)に土壌と水の試料が、処理区及びコントロール区から採取された。試料採取ごとに、20 cm の深さまで土壌試料が採取され、池の水の表面から 90 cm (NC)あるいは 120 cm(ND)の場所から水のコンポジット試料が採取された。

NC の水試料中の 2,4-D 残留物濃度は、0.54 mg/kg(最初の投与、0 日目)から 2.1 mg/kg (3 日目)まで増加し、その後 2 回目の投与をする直前には 0.86 mg/kg まで減少した。2 回目の投与後 0 日目の 2,4-D の濃度は、2.8 mg/kg であり、21 日目までには 0.01 mg/kg まで減少した。それ以後の試料から、LOD(0.001 mg/kg)を超える濃度で検出されることはなかった。

水における 2,4-DCP 残留物の平均濃度は、0.006 mg/kg(最初の投与後 7 日並びに 14 日後、また 2 回目の投与日)から 21 日目(2 回目の投与)の LOD まで、変動した。試験を通じて、2,4-DCA を検出することはできなかった。4-CPAA 残留物の平均濃度は、2,4-DCP と類似しており、最高濃度(0.012 mg/kg)は、2 回目の投与の 0 日並びに 1 日後に観察された。低濃度の 4-CP の検出が、2 回目の投与後 14 日目(0.002 mg/kg)と 30 日目(0.001 mg/kg)に報告された。

水中での 2,4-D の半減期は、1 回目と 2 回目の投与後のそれぞれについて、20 日と 7.6 日であった。

0-5 cm の土壌/沈殿物層における 2,4-D 残留物の平均濃度は、1 回目の投与後 0、1、3、7、14 日後には、1.1、1.2、1.3、1.5、0.79 mg/kg であった。21 日後には、0-20 cm の深さの層を通じて、総濃度として 0.33 mg/kg の 2,4-D が検出され、同じく 2,4-DCP の濃度は 0.22 mg/kg であった。

2 回目の投与後、0-5 cm の土壌画分における 2,4-D 残留物の平均濃度は、0.62 mg/kg(0 日目)から 14 日目までに 0.13 mg/kg まで減少し、それ以降には検出されなくなった。低濃度の 4-CP と 4-CPAA が 21 日目(1 回目の投与後)から 7 日目(2 回目の投与後)まで検出されたことが報告されたが、土壌の深さとしては、0-5 と 5-10 cm のみであった。

1 回目と 2 回目の投与について、土壌/沈殿物中での 2,4-D の半減期は、7.6 日と 2.0 日であるとそれぞれ計算された。

ND において、水中の 2,4-D の残留物濃度は、4.7 mg/kg(1 回目の投与後 0 日)から 2 回目の投与の前日の 1.2 mg/kg まで減少した。2 回目の投与後 0 日目における 2,4-D の濃度は、3.1 mg/kg であり、30 日目までに 1.5 mg/kg に減少した。60 日後に得られた試料からは、LOD(0.001 mg/kg)を超える濃度で残留物は検出されなかった。

水中の 2,4-DCP 残留物の平均濃度は、2 回目の投与後、1、3、21 日目において 0.01 mg/kg であり、60 日後には LOD 未満に減少した。試験を通じて 2,4-DCA が検出されることはなかった。2 回目の投与の 0 日目については、2,4-DCP に続いて 4-CPAA の平均残留濃度(0.008

mg/kg)が高かった。

水中での 2,4-D の半減期は、1 回目と 2 回目の投与に対してそれぞれ 14 日と 6.5 日であった。

0-5 cm の土壌/沈殿物層における 2,4-D 残留物の平均濃度は、1 回目の投与後 0、1、3、7、14 日でそれぞれ 0.25、0.61、0.35、0.37、1.2 mg/kg であった。21 日目には、0-20 cm の深さを通じて検出された 2,4-D の濃度は、総濃度として 1.05 mg/kg であった。

2 回目の投与後、0-5 cm の画分における 2,4-D 残留物の平均濃度は、1.6 mg/kg(3 日目)から 0.016 mg/k(180 日目)まで減少した。

低レベルの 4-CP 並びに 4-CPAA が 21 日目(1 回目の投与)の 5-10 cm の深さの層、60 日目(2 回目の投与) の 10-15 cm の深さの層からのみ検出されたことが報告された。

残留分析法

分析法

オランダの公的な分析法(Anon. 1996)は、以下の手順を基礎としている。まず塩基性の水溶液により試料から抽出する。その後 C-18 シリカカートリッジを使用した固相抽出(SPE)により溶液の濃縮と分析対象化合物の単離を行い、さらにシリカカートリッジあるいはアミノプロピルカートリッジによる精製を行う。SPE の抽出物は、内面逆相(ISRP)の基材を詰めたプレカラムと 18 結合型アルミナカラムを使ったカラムスイッチの逆相 LC に供された。分析対象化合物は、118 nm の UV で検出された。LOD は肉に対して 0.02 mg/kg、穀物と野菜に対して 0.05-0.1 mg/kg として報告されている。

作物、全般的な方法

James(1994)は、小麦、フォレージ、わら、穀粒中の残留物を分析するために使用される EN-CAS 法 No. ENC-2.93 の妥当性を確認した。

表 17 は、ABC 試験所により実施された代謝試験により得られたフォレージ、穀粒、そしてわら試料中で報告された 2,4-D の濃度(Puvanesarajah, 1992)と、同一試料を EN-CAS 法により分析して得られた 2,4-D 残留物濃度の平均を比較して示している。比較結果は、2,4-D を投与された小麦における残留物の分析に ENC-2/93 法が適していることを示している。

表 17. 小麦中の 2,4-D 分析法の比較(James, 1994; Puvanesarajah, 1992)

分析手順は以下の通りである。抽出は 0.5 M KOH を含むエタノール：水混液(1:1)を用いた振とうにより行う。振とう後にはフィルター濾過を行う。等量に対して 0.2 M HCl を加えた後、ホットプレート上で 1 時間の還流を行う。抽出物はオクタデシルシリル固層(ODS)による抽出と溶媒分配により精製する。抽出物を乾燥させた後、3 フッ化ホウ素によりメチル化し、メチルエステル誘導体を溶媒分配とそれに引き続いて行うアルミナカラムクロマトグラフィーにより精製する。^{14}C を液体シンチレーションカウンティング(Optiphase HiSafe® scintillation cocktail with LKB 1214 RackBeta counter)により測定する。

2,4-D の残留物はメチルエステル体として、ECD を接続した GLC により定量された。シリカを充填した膜厚 0.25 µm の 15 m x 0.32 mm DB-1701 カラムが小麦穀粒とわらの分析時には使用され、膜厚 0.25 µm の 30 m x 0.32 mm DB-17 がフォレージの分析時には使用された。

上記した分析法によって、多くのフォレージ試料については良好な回収が得られ、クロマトグラフのベースラインも良好であった。ダイズ(フォレージと種子)、稲わら、サトウキビを対象とする場合には、過マンガン酸塩による酸化が追加の精製操作として必要となる。

表 18 は、添加した加工画分からの EN-CAS 法 No. ENC-2/93 による 2,4-D の回収を示している。

表 18. EN-CAS 法 No. ENC-2/93 による添加した加工画分からの 2,4-D の回収(James, 1994)

[1] 括弧内の数字は、70-120%の範囲から外れた回収を示した試料の数

表 19 には、圃場栽培されたトウモロコシ、牧草、コメ、ソルガム、サトウキビ及び、トウモロコシ、コメ、ソルガム、サトウキビ、小麦の加工画分のコントロール試料に添加した試料からの、2,4-D の同時回収を示している。

表 19. 添加試料からの 2,4-D の回収(Carringer, 1995a-x, Rosemond, 1995a-c)

[1] 括弧内の数字は、70-120%の範囲から外れた回収を示した試料の数

Centre Analytical Laboratories, Inc.により実施された EN-CAS Method No. ENC-2/93 の独立試験所による妥当性確認において(Zheng 1995)、 小麦のフォレージ、わら、穀粒のコントロール試料に 0.01 mg/kg(LOD)、そして 5 あるいは 20 mg/kg の濃度で 2,4-D を添加した試料が用いられた。 それら全ての試料からの回収は、平均として 94%であり、小麦フォレージの 82%から小麦のワラの 103%までの範囲にあった*5。

*5 訳注) 時々見受けられる結果の解釈ではあるが、マトリクスとアナライト濃度の違いを無視した回収(率)の取扱は、分析科学上不適切である。

柑橘類

オレンジとグレープフルーツにおける 2,4-D 残留物が、10 g の試料を 0.2 M NaOH により 1 時間還流することで抽出された(Siirila, 1995)。抽出物の等量が硫酸により酸性化され、エチルエーテルにより抽出された。2,4-D はメタノール中で三フッ化ホウ素によりメチル化された。水を加えた後に残留物はヘキサンに抽出され GC-MS により測定された。

最初の抽出に 0.7 M NaOH が使用された点を除き、同一の分析法が、レモン、レモンジュース、湿ったレモン果肉の分析に使用された。レモンモラセス、乾燥したレモン果肉、そしてレモンオイルを対象とした場合は、それぞれ 5、2、1 g の試料から 0.2、0.7、0.2 M NaOH により抽出された。

LOD は、オレンジ、グレープフルーツ、レモン、レモンジュース、湿ったレモン果肉が対象の場合には 0.05 mg/kg、乾燥したレモン果肉とモラセスが対象の場合には 0.2 mg/kg、レモンオイルが対象の場合には 0.5 mg/kg であった。表 20 は、柑橘類並びに加工柑橘産品のコントロール試料に 2,4-D を添加した試料からの回収を示している。

表 20. 柑橘類とその加工画分からの 2,4-D の回収(Johnson and Strickland, 1995a-c)

[1] 括弧内の数字は、70-120%の範囲から外れた回収を示した試料の数

家畜産品

牛の筋肉に相当する部位、肝臓、腎臓、脂肪そして乳に含まれる 2,4-D 残留物を抽出し定量する手順が開発された(Howard, 1996a)。

酸性にしたアセトニトリルと組織をホモジナイズすることによって、牛の筋肉に相当する部位から 2,4-D が抽出された。ホモジネートは遠心され、フィルター濾過され、水で希釈された。分析対象化合物は、ジエチルエーテルに引き続き 0.1 %NaOH 溶液に分配された。

ロータリエバポレータにかけることで、残った有機溶媒は取り除かれた。抽出物は酸性になるよう調整後、C-8 と C-18 の固層抽出(SPE)カラムに連続して通された。分析対象化合物は tert-butyl methyl ether(MTBE)により溶出された。MTBE 溶出液は濃縮され、分析対象化合物はメタノール中で 3 フッ化ホウ素(BF_3/MeOH)によりメチル化された。

牛の脂肪はヘキサンを用いてホモジナイズされ、2,4-D はそこから 0.1%NaOH 溶液中に抽出された。塩基性の抽出物は酸性になるよう調整され、ジエチルエーテルにより分配された。その後の分析手順は、牛の筋肉に相当する部位について記述されたものと同じである。

牛の肝臓は、2N 塩酸を用いて 1 時間還流された。放冷した後、水層の抽出物はアセトニトリルにより希釈され、そこに塩化ナトリウムが加えられた。相が分離した後、干渉物を除くために、アセトニトリル相を手詰めしたフロリジルカラムに通過させ、溶出液を 1% NaOH 溶液を用いて希釈した後、アセトニトリルはロータリエバポレータを用いて留去された。この水層の抽出物は酸性に調整され、分析対象化合物が移行した 10%酢酸エチルを含むヘキサンには手詰めした中性アルミナカラムに通された。分析対象化合物は 10%メタノールを含む 1%NaOH の溶液により溶出され、酸性に調整された後、MTBE に分配された。MTBE 相は濃縮され、分析対象化合物は ethereal diazomethane 若しくは BF_3/MeOH によりメチル化された。

酸性にしたアセトニトリル中で牛の腎臓はホモジナイズされた。ホモジネートは遠心され、フィルター濾過され、その後の分析手順は、牛の肝臓について記述されたものと同じである。

2N 塩酸を加え牛の乳を酸性にした。1 時間還流した後、放冷した。放冷後の試料にアセトニトリルと塩化ナトリウムが加えられた。その後の分析手順は、牛の肝臓について記述されたものと同じである。

<u>GLC conditions:</u>

Instrument:	HP 5890
Column:	60 m, J&W DB-1, 0.32 mm, 5 µm film
Injector temperature:	250°C
Carrier:	Helium at 2 mL/min
Detector:	ECD at 325°C
Detector make-up:	Nitrogen at 58 mL/min
Column temperature programme	220°C, 5 min, 2°C/min
	230°C, 30 or 40 min, 40°C/min
	300°C, 10 or 15 min

Injector volume:	4 µL splitles
Retention time:	Approximately 28 to 30 minutes

LOD は、牛の筋肉に相当する部位、牛の肝臓、腎臓、脂肪に対して 0.05 mg/kg、牛の乳に対して 0.01 mg/kg であった。

家禽の筋肉に相当する部位、肝臓、脂肪そして卵中の 2,4-D を抽出し定量するための手順が開発され妥当性確認された(Howard, 1996b)。
牛の筋肉に相当する部位と脂肪について記述された手順によって家禽の筋肉に相当する部位と脂肪から 2,4-D 残留物が抽出された。

酸性にしたアセトニトリルを用いてホモジナイズすることで、卵から 2,4-D の残留物が抽出された。ホモジネートは遠心され、フィルター濾過され、干渉物を除くために手詰めのフロリジルカラムを通過された。溶出液は 1% NaOH 溶液により希釈され、ロータリエバポレータによってアセトニトリルが留去された。水層の抽出物は酸性にされ、分析対象化合物は 10% 酢酸エチルを含むヘキサンに分配された。有機層は分離され、手詰めの中性アルミナカラムに通された。分析対象化合物は、10%メタノールを含む 1%NaOH 溶液により溶出され、溶出液は酸性に調整された後、MTBE に分配された。MTBE 相は濃縮され、分析対象化合物は BF_3/MeHO 溶液によりメチル化された。反応後の溶液に水が加えられ、2,4-D のメチルエステルは GLC による測定のためにヘキサンに分配された。

家禽の肝臓は、1 時間、2N HCl により還流された。放冷後、アセトニトリルと NaCl が加水分解物に加えられ、アセトニトリル相が除かれ、手詰めのフロリジルカラムに通された。その後の分析手順は、卵について記載された内容と同じである。

GLC の条件は、牛とその乳の場合と同一である。

LOD は、家禽類の筋肉に相当する部位、脂肪、肝臓については 0.05 mg/kg、卵については 0.01 mg/kg であった。
<u>土壌、水、沈殿物</u>
2,4-D EHE(適用可能な場合)、 2,4-D、 2,4-DCP 並びに 2,4-DCA を対象として土壌試料が分析された(Hatfield, 1995r)。5%酢酸を含むメタノール、5%酢酸を含む 50%メタノール/水混液、最終的には 5%酢酸を含む水を用いて、連続的にソニケーションすることで、上記分析対象の残留物が抽出された。抽出物は合一後、水により希釈、酸性に調整され、C-18 SPE カートリッジを用いて濃縮された。カートリッジからは、2%アセトンを含むヘキサン、それに引き続き 20%メタノールを含むヘキサンによって溶出された。最初の溶出液には、もし

そこに残留物がある場合には、2,4-DCP、2,4-DCA、2,4-D EHE が含まれた。2 番目の溶出液には、2,4-D が含まれており、濃縮され、BF_3/メタノールによりメチル化され、石油エーテルに分配され、その後、最初の(誘導体化されていない)溶出液と合一された。合一された溶液はヘキサン中において濃縮された後、質量分析計を接続した GC により分析された。LOD は 0.01 mg/kg であった。

<u>GC-MSD conditions</u>

Instrumentation:	Hewlett-Packard model 5890 Series II gas chromatograph/model 5971A mass selective detector
Column:	Durabond-1 (DB-1), 15 m x 0.25 mm i.d., 0.25 µm with DF film
Pre-column:	Stabilwax, 1 m x 0.25 mm i.d., with 0.25 µm DF film
Oven temperature:	Hold at 60° for 2 minutes, then 60-150°C at 10°C/minute, then 150-200°C at 45°C/minute, then 200-240°C at 10°C/minute, then hold at 240°C for 2 minutes
Injector temperature:	250°C
Transfer line temperature:	280°C
Carrier gas:	Helium
Carrier gas flow rate:	~40-60 cm/second (internal flow sensor)
Head pressure:	5 psi
Injection mode:	Splitless
Injection liner:	Silanized dual taper
Injector purge delay:	1.5 minutes
Septum purge:	~7.5 ml/minute
Injection volume:	2 µl
Ionization potential:	70 eV
Electron multiplier voltage:	1400-1900 V (typical)
Dwell time:	50-200 msec

水が試料となる場合、抽出、C-18 カラムを用いた濃縮、またそこからの溶出は、土壌を対象とした手順と同一であった(Hatfield 1995b)。2,4-D、2,4-DCP、2,4-DCA、4-CPA、4-CP を対象として水試料が分析された。水の場合、最初の溶出液には 2,4-D、2,4-DCA 及び 4-CP が含まれ、2 番目の溶出液には 2,4-D と 4-CPA が含まれていた。土壌を対象とする場合と同様に分析は行われ、GC-MS の条件も同一であった。LOD は 0.001 mg/kg であった。

2,4-D、2,4-DCP、2,4-DCA、4-CP、4-CPA を対象として沈殿物試料が分析された(Hatfield, 1995b)。土壌試料と同様の溶媒を用いて、10 g の試料がボルテックスされソニケートされた。

各抽出後、抽出物はデカントされフィルター濾過された。その後合一され、既知の量に定容された。2,4-D とそれに由来する化合物は、分取された等量の液-液分配により画分とされた。残留物は、質量分析計を接続した GC により測定された。分析対象化合物の全てについて、LOD は 0.01 mg/kg であった。

GC-MS conditions:

Instrumentation:	Hewlett-Packard model 5890 Series II gas chromatograph/model 5972 mass selective detector
Column:	HP-5MS, 0.25 mm i.d. x 30 m, 0.25 µm film thickness
Oven temperature:	Hold at 50°C for 1 minutes, then 50-100°C at 5°C/minute, then 100-260°C at 10°C/minute then hold 5 minutes
Injector temperature:	240°C
Transfer line temperature:	280°C
Carrier gas:	Helium
Carrier gas flow rate:	1 ml/minute
Head pressure:	12 psi
Injection mode:	Splitless
Injection liner:	Silanized single taper
Injector purge delay:	1.5 minutes
Septum purge:	50 ml/minute
Injection volume:	2 µl
Ionization potential:	70 eV
Electron multiplier voltage:	1400-1900 V (typical)
Dwell time:	100 msec

保存した分析用試料における農薬残留物の安定性

冷凍保管した 1 年間(作物残留試験において採取された試料の最長保管期間)における、生の農産品(トウモロコシの穀粒、フォレージ、フォダー、ソルガムの穀粒、小麦の穀粒、フォレージ、わら、サトウキビ、コメの穀粒、牧草とそのヘイ、ダイズの種子)並びに加工画分(トウモロコシデンプン、トウモロコシ粉、未精製油、小麦粉、砂糖、モラセス、バガス、米ぬか、籾殻)中での 2,4-D 残留物の安定性が試験された(Barker, 1995)。結果は表 21 並びに表 22 に示してある。凍結保存中の温度は毎日モニターされ、-12℃から-27℃であった。添加濃度は 0.1 から 5 mg/kg の範囲であった。0 日目の試料を除き、保存された試料の分析結果は、回収が 100%を下回った場合には、操作回収の結果によって補正された。保存された試料と同時に分析された、0.1～5 mg/kg の濃度で添加をした試料の操作回収は、総平均と標準偏差として表すと 89±10%(n=232)[*6] であった。

*6 訳注)原文のままだが、分析結果の解析の点から言えば、一般には異なる濃度に対して得られた回収(率)を一群と見なすことは不適であり、そもそも、想定される母集団のない回収(率)に対して平均や標準偏差を求めることも不適である。

表 21. 生の農産品における 2,4-D 残留物の保存安定性(Barker, 1995)

表 22. 加工農産品における、投与に起因する 2,4-D 残留物の保存安定性(Barker, 1995)

添加したグレープフルーツ、レモン、レモン加工品を使用し、-20℃未満の条件で保存した場合の 2,4-D の保存安定性が試験された(Johnson and Strickland, 1995c)。

表 23. 柑橘系農産品における 2,4-D 残留物の保存安定性(Johnson and Strickland, 1995c)

[1] 同時に実施した操作回収の平均に対して補正されている

その他の作物中での 2,4-D の安定性は、表 24 に示されている。

表 24. その他の添加作物における 2,4-D の凍結保存安定性

[1] 同時に実施した操作回収に対して補正されている。アスパラガスについては 89-117%、チェリーについては 75%、モモについては 77%、ピスタチオについては 93%、プラムについては 83%、プルーンについては 79%、グレープについては 77%、グレープジュースについては 87%、レーズンについては 69%。
[2] 作物残留試験(1992)におけるコントロール試料に添加した試料を用いた保存安定性試験
[3] 作物残留試験(1994)におけるコントロール試料に添加した試料を用いた保存安定性試験
[4] 除去された殻とともに

保存されたアスパラガスの添加試料では、約 20 ヶ月の間に、2,4-D の量に平均して 46%の減少が見られた。これらのアスパラガス試料の分析は、保存期間中 1 回行われたのみであり、-20℃の条件ではその他の農産品中での 2,4-D 残留物が安定であったことから、この減

少が実際に起こった 2,4-D の分解を反映したものか、あるいは操作上の誤りをあらわしたものかはっきりとしない。

牛の肝臓、腎臓、筋肉に相当する部位、脂肪、乳中での 2,4-D の保存安定性が試験された (Krautter and Downs, 1996)。ホモジナイズされた組織並びに乳に 2,4-D が添加され、添加した日、凍結条件下で約 2 並びに 4 ヶ月間保存した後に分析された。

調製したての肝臓、腎臓、筋肉に相当する部位、脂肪そして乳試料からの 2,4-D の平均回収は、それぞれ 99、71、111、85 及び 71%であった。保存試料の結果は、同時に得られた操作回収によって補正された。肝臓、腎臓、筋肉に相当する部位、脂肪、乳からの平均補正回収は、2 ヶ月後に 115、112、106、112、81%であり、4 ヶ月後に 107、124、110、117、109%であった。これらの結果は、凍結保存された少なくとも 4 ヶ月間は、分析された牛の産品中で 2,4-D が安定であることを示していた。

使用基準

酸、塩あるいはエステルとしての 2,4-D は、選択性のあるホルモンタイプのフェノキシ除草剤である。2,4-D は容易に葉や根から吸収され、成長の異常と植物体のネクローシスを引き起こす。2,4-D を含む植物保護製品は、幅広の葉を持つ雑草の出芽後管理のために、葉面投与される除草剤として使用される。登録されている使用基準を表 25 に示す。

表 25. 2,4-D の登録された使用。投与率は酸等量(kg ae/ha あるいは ae/hL)として表してある

[1] リンゴを対象に 2,4-D と混合して使用されるその他の除草剤:benazolin、dicamba、MCPA、mecoprop

[2] 投与後 7 日目以内に、農薬を投与した場所に、搾乳用家畜を放牧することは認められていない。投与後 30 日以内に、カットしたヘイをフォレージにまとめることは認められていない。投与した場所で育てた肉用家畜は、と殺前に最低 3 日間、休ませる。

[3] 提案されている使用

[4] 投与の 1 週間以内には、牛を再侵入させない

[5] グラスを対象に 2,4-D と混合して使用されるその他の除草剤:benazolin、dicamba、MCPA、mecoprop

[6] 洋なしとプラム(樹齢 2 年以上)を対象に 2,4-D と混合して使用されるその他の除草剤:dicamba、mecoprop

[7] 保留

[8] 小麦を対象に 2,4-D と混合して使用されるその他の除草剤:benazolin、dicamba、MCPA

作物残留試験の結果

作物残留試験の結果を表 26 から 53 に示す。全ての試験はアメリカにおいて実施された。

表 26. グレープフルーツ
表 27. オレンジ
表 28. レモン
表 29. 仁果類果実
表 30. 核果類果実
表 31. ベリー類
表 31. スイートコーン
表 33. ジャガイモ
表 34. アスパラガス
表 35. トウモロコシフォレージ
表 36. トウモロコシフォダー
表 37. トウモロコシ穀粒
表 38. コメ穀粒
表 39. 稲わら
表 40. ワイルドライス
表 41. ソルガム穀粒
表 42. ソルガムフォレージ
表 43. ソルガムフォダー
表 44. 小麦フォレージ
表 45. 小麦穀粒
表 46. 小麦わら
表 47. サトウキビフォレージ
表 48. サトウキビ
表 49. 種実類
表 50. ダイズフォレージ
表 51. ダイズヘイ
表 52. ダイズ種子
表 53. 牧草、フォレージ、ヘイ

残留物の濃度、投与率、スプレーの濃度は通常有効数字 2 桁に丸めている。0.1 mg/kg を下回った残留物濃度は 1 桁に丸めている。コントロール試料中で残留物濃度が定量可能であった場合にのみ、表には記録している。同一の試験について複数の数値が示されている場合、それらは複製試料から得られたものである。下線の引かれた残留物濃度が、最大残留濃度の推定並びに/あるいは STMRs の推定に使用された。

柑橘類への投与

アメリカにおいて 2,4-D は、(1)成熟果実の落下を減らすため、(2)果実を大きくするため、(3)農薬散布後の葉並びに果実の落下を減らすため、(4)収穫済み果実(レモン)からのボタン離脱を防ぐための成長調整剤として登録されている。

(1)～(3)が目的の場合には、収穫前に、希釈液のスプレーが果樹に投与される。これに対して(4)が目的の場合には、集荷・選果場において水-ワックス混和液中に浸すあるいは希釈液をフラッシュまたはスプレーするポストハーベスト投与が行われる。使用目的が(1)～(3)の場合については、グレープフルーツとオレンジを用いて(表 26 並びに表 27)、(4)の場合にはレモンを用いて(表 28)、作物残留試験が行われた。

グレープフルーツ　cGAP はアメリカのものであった：1 x 2.4 g ae/hl, PHI 7 日。California 州 Riverside County の 2 つの圃場(site)において、グレープフルーツを対象とした 2,4-D IPE のブロードキャストスプレーによる投与が 3 回行われた。最初の投与は、7 月初旬に、未成熟の(1994)そして成熟した(1995)果実を実らせた果樹に対して、約 2.4 g ae/hL の濃度で行われた。2 回目の投与は、約 3 ヶ月後に 0.4 g ae/hL の率のスプレーオイル(1.25% v/v)として未成熟の果実を実らせた果樹に対して行われた。最後の投与は、さらに 9 ヶ月後に、2.3 g ae/hL の濃度で地表に向けて行われた(Johnson and Strickland, 1995a)。

最初の投与後、PHIS が 0 と 7 日目のタイミングで、成熟した果実の投与された試料とコントロール試料が 3 つずつそれぞれの圃場で採取された(1994)。2 回目の投与後、未成熟の投与された試料 3 つがそれぞれの圃場においてスプレー後 PHI が 0 日のタイミングで採取され乾かされた。最終投与後、PHI が 0 日と 7 日のタイミングで、成熟した果実の投与された試料 3 つが各圃場において採取された。各試料のセットのうち 2 つの試料における残留物が分析された。グレープフルーツにおける 2,4-D の LOD は、0.05 mg/kg であった。

表 26. California 州 Riverside County で行われた作物残留試験における、グレープフルーツ中での 2,4-D 残留物(Johnson and Strickland, 1995a)

オレンジ　cGAP はアメリカのものであった：1 x 2.4 g ae/hL、PHI 7 日。ネーブルオレンジを対象とした 4 回の作物残留試験が、California 州で行われた。オレンジには、2,4-D IPE 単独あるいは水和石灰溶液に溶かした 2,4-D IPE が地表噴霧器を使って投与された。圃場ごとに 2 回の試験が実施された。

表 27. California 州で行われた作物残留試験における、ネーブルオレンジ中での 2,4-D 残留物(Johnson and Strickland, 1995a)

レモン　cGAP はアメリカのものであった：ポストハーベスト時の使用として 1 x 0.05 kg ae/hL。レモンの果樹には、2,4-D IPE が 1.2-1.3 g ae/hL(約 56 g ae/h)の率で収穫前に 1 回投与されていた。レモンは投与前、投与後 0 日(投与後の果実は乾かされた)並びに 7 日目に採取された。

7 日目には、収穫前に処理された"明るい緑色"のレモンが、GAP に従い、50 g ae/hL を含む市販の保存上ワックスを用いて、水-ワックス乳剤により処理された。試料は乾かした後、投与したその日に採取され、そのうちのいくつかが 5.6-16℃で保管され、ポストハーベスト処理後の 28、56、112 日目に、分析のために取り出された。

表 28. California 州で行われた作物残留試験における、レモン中での 2,4-D 残留物(Johnson and Strickland, 1995a)

WHP: 保留期間(ポストハーベスト処理と試料採取の間の期間)

果実を対象とした除草剤としての使用

果樹園の地面に向けて 2,4-D は投与された。作物残留試験は、リンゴ並びに洋梨(表 29)、チェリー、モモ並びにプラム(表 30)、ベリー類(表 31)を対象に行われた。投与方法は全てブロードキャストスプレーであった。

仁果類の果実　cGAP はアメリカのものであった: 2 x 2.2 kg ae/ha、PHI 14 日。2 回投与するうちの 2 回目の投与後 14 日目に収穫されたリンゴにおける 2,4-D の残留物濃度を決めるために、アメリカの 4 つの州で 5 回の試験が行われた。5 回の試験のうち、4 回の試験においては、2,4-D DMA が 2.2 kg ae/ha の率で、69 から 110 日の間隔をおいて 2 度、ブロードキャストスプレーとして投与された。New York で行われた残り 1 つの試験では、11 kg ae/ha の率で過剰投与されたことを除き、上記と同様のやり方で 2,4-D が投与された。この試験で採取された試料は、対応する加工試験において使用された(barney and Kunkel, 1995b)。

2 回投与するうちの 2 回目の投与後約 14 日目に収穫された洋なしにおける 2,4-D の残留物濃度を決めるために、アメリカの 4 つの州で 6 回の試験が行われた。この試験では、28 から 75 日の間隔を置いて 2,4-D DMA が 2.2-2.7 kg ae/ha の率で投与されており、季節当たり

の投与率は 4.5 kg ae/ha である(Kunkel, 1995b)。

2,4-D に対する LOD は 0.01 mg/kg であった。

表 29.リンゴ並びに洋梨中での 2,4-D 残留物

<u>核果類の果実</u>　cGAP はアメリカのものであった: 2 x 1.6 kg ae/ha、PHI 14 日。アメリカの 3 つの州において、チェリー、モモ、プラムのそれぞれを対象に 3 回の試験が行われた。2,4-D DMA が 1.6 kg ae/ha の率で 2 回投与され、投与の間隔は 7 から 28 日(チェリー)、35 から 78 日(モモ)、77 から 93 日(プラム)であった(Barney and Kunkel, 1995c,d,f)。

2 回目の投与後 12 から 14 日目に試料は採取された。コントロール試料また投与された試料中の残留物濃度は LOD を下回った(<0.05 mg/kg チェリー、<0.01 mg/kg モモ、プラム)。

新鮮なプラムを対象とした追加試験が Idaho において行われた。この試験では、2,4-D が 6.4 kg ae/ha の率で 2 回直接投与された。4 倍量を投与された新鮮なプラムは、乾燥プルーンに加工された。

表 30.チェリー、モモ、プラム並びにプルーン中での 2,4-D 残留物

<u>ベリー類</u>　cGAP はアメリカのものであった: 2 x 1.6 kg ae/ha、PHI 30 日。低木性のブルーベリーを対象に行われた 1 回の試験では、2,4-D DMA が 4.5 g ae /L の水を含む溶液として、作物の上部まで生育する木本性の雑草を拭い落としている布に覆われたスティックに対して、夏の間に 1 回投与された。2 回目の試験では、12 g ae/L のオイルを含む混合液が、木本性雑草の茎の切り口に秋の間に投与された。ブルーベリーは投与後その年のうちに通常の成熟度になった時点で収穫された(ワイプ投与の 55 週間後、切り口投与の 41 週間後)。投与した雑草に隣接した果樹からブルーベリーは採取された。全ての残留物濃度は LOD(0.05 mg/kg) 未満であった(Kunkel, 1995b)。

2,4-D は 1.6 と 3.1 kg ae/ha の投与率で 2 回、高木性ブルーベリーの畝の中点に対して投与されもした。最初の投与は、前年の作物の収穫後に行われ、2 回目の投与は収穫の約 30 日前に当たる春になるのを待って行われた。スプレーが樹冠や果実にかからないように注意が払われた。2,4-D 残留物濃度が LOD(0.01 mg/kg)を下回る場合も超える場合もあった(Kunkel, 1997b)。

クランベリー　cGAP はアメリカのものであった:2 x 4.5 kg ae/ha、PHI は決められていなかった。クランベリーを対象とする 2 つの作物残留試験が実施された。それぞれの作物残留試験において、春には休眠状態の植物に対して 4.5 kg ae/ha の率でブロードキャストによる投与が、さらに夏には、クランベリーを覆うようにして成長した雑草を対象に直接拭き取りする投与が 2 回行われた。最終投与の 30 日後にクランベリーは収穫された。残留物の濃度は 0.02 未満から 0.11 mg/kg の範囲にあった(Barney and Kunkel, 1995a)。

グレープ　cGAP: 1 x 1.6 kg ae/ha、PHI は 100 日。California において、グレープとその加工産品を対象とした 2 つの作物残留試験が行われた。収穫の約 100 日前に、ブドウ園の地面に向けて、1.6 kg ae/ha の率で 2,4-D が 1 回投与された。採取されたグレープの一部はレーズンとジュースに加工された。すべての残留物は LOD(0.05 mg/kg)を下回っていた(Kunkel、1996b)。

ラズベリー　Critical GAP: 2 x 3.1 kg ae/ha、PHI は 24 日。2,4-D は、1.6 と 3.1 kg ae/ha の率で、ラズベリーの樹木から離れた畝の中心に向けて直接スプレーにより 2 回投与された。2 回目の投与は、収穫の 24 日前に行われた。2,4-D 残留物のすべては LOD(0.05 mg/kg)未満の濃度であった(Baron、1988)

ストロベリー　Critical GAP: 1 x 1.7 kg ae/ha、PHI は決められていなかった(休眠中の植物に投与することが決められていた)。収穫の 59 日から 129 日までの間に、1.7 kg ae/ha の率で 1 回、ブロードキャストスプレーにより 1 回投与された。この投与期間は、その地域における生産活動における通常の変動を代表している。この使用方法は、多年生のストロベリーの生育に必要なものである。2,4-D 残留物のすべては LOD(0.05 mg/kg)未満の濃度であった(Kunkel、1995e)。

表 31.ブルーベリー、クランベリー、グレープ、ラズベリー並びにストロベリー中での 2,4-D 残留物

[1] 植物体を避けるための方向を定めた投与

[2] 拭き取り投与(溶液中濃度は 4.5 g ae/L)

[3] 硬木断面にむけ方向を定めたスプレー(12 g ae/L の濃度のオイルとの混合液)

[4] 最初の投与は顆粒、それに引き続き植物体を超えた雑草への 2 回の拭き取り投与

[5] 収穫前後で投与が行われた

野菜を対象とした除草剤としての使用

野菜については、雑草管理のために 2,4-D が地面に向けて投与された。スイートコーン(Table 32)、ジャガイモ(Table 33)、アスパラガス(Table 34)を対象とした作物残留試験が実施された。

スイートコーン　cGAP はアメリカのものであった: 1 x 1.1 + 1 x 0.56 kg ae/ha。作物残留試験は、アメリカの 9 つの州で行われた。作物残留試験の目的は、2 回の 2,4-D 投与のうち、2 回目の投与の 22-48 日後に収穫されたスイートコーンにおける残留を明らかにすること及び、アミンとエステルの剤型による比較を行うことであった。2 つの剤型ともに、1 回目の投与は出芽前に 1.1 kg ae/ha の率でブロードキャストによりおこなわれた。その 33-50 日後の出穂するまえに 0.56 kg ae/ha の率で 2 回目の直接投与が行われた。この時、植物体は 40-50 cm の大きさだった。軸(鞘を除いた粒と軸)における 2,4-D 残留物の LOD は 0.05 mg/kg であった(Kunkel, 1995c)。

表 32.スイートコーン中での 2,4-D 残留物。鞘を除いた粒と軸が分析された。剤型は DMA と EHE。出芽前と出穂直後の 2 回投与。

ジャガイモ　cGAP はアメリカのものであった: 2 x 0.078 kg ae/ha。アメリカの 7 つの州で、0.078 kg ae/ha の率で 9-13 日の間隔を置いて 2 回葉面投与した後の、赤ジャガイモへの 2,4-D の残留物濃度を測定するために、8 回の作物残留試験が行われた。異なる州で行われた 7 つの作物残留試験で使用された 2,4-D の剤型はアミン塩であり、残り 8 番目の作物残留試験で使用された剤型はエステルであった。追加された 2 つの作物残留試験では、アミンとエステル剤が上記の通り投与された。ただし、投与率には過剰となる 0.36 g ae/ha が採用された。ジャガイモは、2 回目の投与後に採取された。投与の 24-67 日後の、市販可能な大きさになってすぐのタイミングである。異なる作物残留試験において集められた試料は、異なる方法によって分析されたが、個々の作物残留試験から得られた繰り返し分析の結果は、3 つの GLC-ECD 法で類似の分析結果が得られることを示唆していた(Barney and Kunkel、1995g)。

0.078 kg ae/ha の投与率で二回目の投与が行われた 24-67 日後に集められた、30 個のジャガイモ試料における残留物の濃度は、0.05-0.13 mg/kg 未満であった。また、0.36 kg ae/ha の率で二回目の投与が行われた 50 日後に集められた 8 つの試料における残留物の濃度は、0.05-0.08 mg/kg 未満であった。PHI が最短(24 日)の時に残留濃度は最大(0.07-0.13 mg/kg)となったが、PHI が最長(67 日)の場合でも残留物の定量が可能であった(0.05-0.08 mg/kg)。アミンとエステルという剤型の違いによって、残留物の濃度が明らかに異なることはなかっ

た。

表 33. 芽が出る前に投与されたジャガイモ中の 2,4-D 残留物。剤型は DMA と EHE。出芽前と出穂直後の 2 回投与。

アスパラガス　cGAP はアメリカのものであった: 2 x 2.2 kg ae/ha、PHI は 3 日。1992 年中にそして再び 1994 年に、アメリカの Washington と Michigan で 2 回の作物残留試験が行われた。29 から 31 日の間隔を置いて、2.2 kg ae/ha の率で 2,4-D の DMA 塩が出芽後 2 回、ブロードキャストスプレーにより投与された。1992 年の作物残留試験においては、2 回目を投与した 24 時間後に試料が集められた。1994 年に Washington で行われた作物残留試験では、24、48、72 時間後に試料が集められた。これに対し、Michigan で行われた試験では、気温が低かったために 72 時間後のみに試料が集められた。LOD は 0.05 mg/kg であった。

1992 年に行われた作物残留試験では、明確な 2,4-D 残留物が認められており、Michigan の試料からは 10-15 mg/kg、Washington の試料からは 4.8-5.3 mg/kg の濃度で検出された。圃場から集められた農薬が投与された試料と一緒に保存されていた添加コントロール試料を分析した結果から、約 20 ヶ月保存しておいた間に平均して 46%まで残留物が減少しているかも知れないことが示唆されているために、実際の残留濃度はもっと高かったかもしれない。

1994 年の作物残留試験では、24 時間後に集められた 2 つの試料における濃度は 2.3 mg/kg と 2.8 mg/kg、48 時間後の試料における濃度は、1.1 mg/kg と 0.97 mg/kg であった。72 時間後までに、Washington の試料における濃度は 0.09 mg/kg と 0.1 mg/kg、 Michigan における試料の濃度は 3 mg/kg になった。1994 年の試料はサンプリングの後 34 日以内に分析されたため、分析結果を支持するための凍結保存安定性のデータは要求されない(Kunkel、1995a)

表 34. アスパラガス中の 2,4-D 残留物。茎が分析された。

穀類を対象とした除草剤としての使用

2,4-D は、冬並びに夏穀物を対象とした出芽前、出芽後、そして収穫前投与によって全世界で使用されている。Table 35-46 に残留データを要約した。

トウモロコシ cGAP はアメリカのものであった: 1.1 + 0.56 + 1.7 kg ae/ha、PHI は 7 日。2,4-

D DMA 塩と 2-EHE を用いて、アメリカにおいて、7 つの隣り合った区域を使用して作物残留試験が実施された。総量として約 3.4 kg ae/ha/season となるように、それぞれの試験では 2 回あるいは 3 回投与がされた。これらの投与には、約 1.1 kg/ae/ha の率での出芽前投与、0.56 kg ae/ha (1 度だけ 1.1 kg ae/ha であったことを除く)の率での出芽後投与(その時にトウモロコシは 25-41 cm の高さ)、そして通常の作物の成熟度になる 14 日前に 1.7 kg ae/ha で行った収穫前投与が含まれる。同一の使用方法に従い、2,4-D を使用した同時追加試験が 2 件行われた。地上設備を使用して投与行われた。1 回目と 2 回目の投与の間隔は 30-48 日間、2 回目と 3 回目の投与の間隔は 83-113 日間であった(Carringer、1995d、e、f)。

フォレージ試料は、2 回目を投与した 7 日後に集められ、サイレージ試料は、2 回目を投与した(1.7-2.3 kg ae/ha で総量投与)約 54-89 日後の dough-dent 期に集められた。穀粒とフォダー試料は、3 回目を投与した 7 日後(1 試験では 9 日後)と 14 日後に集められた。

表 35. トウモロコシフォレージとサイレージ中の 2,4-D 残留物。

表 36. トウモロコシフォダー中の 2,4-D 残留物。

表 37. トウモロコシ穀粒中の 2,4-D 残留物。

コメ cGAP はアメリカのものであった: 1 x 1.7 kg ae/ha、PHI は 60 日。10 件の作物残留試験が行われた。そのうち、4 つの州のそれぞれで 2 回行われた試験では DMA 塩が用いられる、2 つの州でそれぞれ 1 回行われた試験では遊離酸が用いられた。それぞれの試験において、第一節の前の分げつ期に、1.6-1.8 kg ae/ha の率で出芽後ブロードキャスト投与が行われた(Carringer、1995p、q)。

穀粒(籾なし)とワラの試料は、通常の作物の成熟時期、投与の 61-104 日後に集められた。LODs は 0.01 mg/kg であった。CA で行われた試験で得られた穀粒とワラのコントロール試料からは、穀粒について 0.11-0.13 mg/kg の濃度、ワラについて 0.03-0.04 mg/kg の濃度で検出されており、明らかに隣接した区画に 2,4-D をスプレーしたことを原因とするコンタミネーションがあった。農薬を投与した試料における残留物の濃度は、コントロール試料におけ

る明らかな残留によって補正されなかった。残留物濃度は、穀粒において<0.01-0.49 mg/kg、ワラにおいて 0.06-8.8 mg/kg であった。LA2 の試験で見られた高残留濃度は、試験地を取り巻く道端にスプレーした 2,4-D からのドリフトが原因かも知れない。

表 38. コメ穀粒中の 2,4-D 残留物。

[1] 試験地を取り巻く道端に 2,4-D をスプレーしたことにより起こったドリフトの結果。外れ値

表 39. 稲わら中の 2,4-D 残留物。

ワイルドライス　cGAP はアメリカのものであった: 1 x 0.28 kg ae/ha、PHI は 60 日。DMA 塩を 0.56 kg ae/ha の率で投与する単回試験が実施された。各試験区から 53 日後に 3 つの試料、64 日後に 1 つの試料が集められた。穂先を切って試料は収穫し、脱穀して穀粒と籾殻を分けた。穀粒と籾殻のいずれからも 2,4-D は検出されなかった。LOD は 0.05 mg/kg (Kunkel、1995f)。

表 40. DMA 塩を投与したワイルドライス中の 2,4-D 残留物。

ソルガム　cGAP はアメリカのものであった: 1 x 0.56 kg ae/ha (エステル)、1 x 1.1 kg ae/ha (その他の剤型)、フォレージ用の PHI は 30 日。アメリカの 4 つの州のそれぞれで行われた独立した作物残留試験において、EHE の場合には 0.56 kg ae/ha の率で、DMA 塩の場合には 1.1 kg ae/ha の率で、出穂後に単回の直接投与が行われた。全ての投与は、植物体が 20-25 cm の高さになったときに、地上設備を使用して行われた。投与の 26-31 日後にフォレージ試料は集められ、穀粒とフォダー試料は、投与後 82-112 日後の成熟期に集められた(Carringer、1995g、h、i)。

　全ての試料について LOD は 0.01 mg/kg であった。2,4-D 濃度は、フォレージ試料において<0.01-0.14 mg/kg、穀粒試料において<0.01-0.01 mg/kg、フォダー試料において<0.01- 0.04 mg/kg であった。ほぼ全ての試験において、コントロールとなる穀粒とフォダー試料における残留物の濃度が、農薬を投与した区画から得られた試料における濃度と同程度の高さあ

るいはより高かったことから、これら試験結果が妥当ではないことが示唆される。

表 41. ソルガム穀粒中の 2,4-D 残留物。

表 42. ソルガムフォレージ中の 2,4-D 残留物。

表 43. ソルガムフォダー中の 2,4-D 残留物。

小麦　cGAP はアメリカのものであった: 1 x 1.4 + 1 x 0.56 kg ae/ha、PHI は 14 日。1993 年に、小麦のフォレージ、穀粒、ワラにおける 2,4-D 残留物を測定するために、アメリカの 7 つの州で 19 の作物残留試験が行われた。1.4 kg ae/ha の率で EHE あるいは DMA 塩のいずれからが 1 回又は 2 回投与された。ただし、2,4-D が 2 回投与された 2 つの州で行われた試験を除く。地上設備によって投与され、投与間隔は 61-90 日であった。全ての作物残留試験において、フォレージとヘイの試料は、最初に投与した 7 日後と 14 日後に集められ、穀粒とワラの試料は 2 回目に投与した 7 日後と 14 日後に集められた(Carringer、1995a、b、t)

1994 年には、アメリカの 7 つの州で 16 の作物残留試験が行われた。半分の試験では EHE が、もう半分の試験では DMA 塩が使用された。(i)名目上 1.4 kg ae/ha の率で分げつ時に単回、あるいは(ii)1.4 kg ae/ha の率で分げつ時に単回投与し、hard dough 期に名目上 0.56 あるいは 0.84 kg ae/ha の率で収穫の約 7 日あるいは 14 日前に投与された。最初と 2 回目の投与の間隔は 37-98 日であった(Carringer、1995y、z)。コントロール試料における残留物の濃度は、フォレージに関して<0.01 to 0.09 mg/kg、穀粒に関して<0.01 to 0.05 mg/kg であった。GA 試験地では、分げつ期の後に EHE と DMA 塩が投与されており、穀粒、フォレージ、そしてワラから異常に高い残留物が検出されており、使用基準を代表していない。

1996 年には、1994 年の使用基準を繰り返し、最初と 2 回目の投与間隔を 54-101 日として 12 の作物残留試験が行われた(Carringer、1996a、b)。

表 44. 小麦フォレージ中の 2,4-D 残留物。全て分節期における単回投与

表 45. 小麦穀粒中の 2,4-D 残留物

表 46. 小麦わら中の 2,4-D 残留物

砂糖あるいはシロップ製造用草本を対象とした除草剤としての使用

サトウキビにおける 2,4-D の残留物を、表 47 (フォレージ)と表 48 (茎)に示す。

サトウキビ　cGAP はアメリカのものであった: 2 x 2.2 kg ae/ha、PHI は特定されていない。DMA 塩を使用して、Florida、Hawaii、Louisiana のそれぞれにつき 2 試験が行われ、Florida と Louisiana で遊離酸を使用して 2 つの追加試験が行われた。全ての試験において、投与は地上設備によるブロードキャストであった。投与率は 2.2-2.6 kg ae/ha であり、投与のタイミングは出穂前と出穂の 106-175 日後の 2 回、栽培期の総投与率は 4.4-4.8 kg ae/ha であった (Carringer、1995r、s)。

フォレージ試料は 2 回目投与の 88-92 日後に集められ、茎試料は 137-214 日後の成熟した段階で集められた。茎とフォレージに対する LOD は 0.01 mg/kg であった。2,4-D の残留物は、7 つのフォレージコントロール試料並びに、8 つの茎コントロール試料において、検出されなかった(<0.01 mg/kg)。フォレージコントロール試料の 1 つからは、0.12 mg/kg の濃度で残留物が検出された。農薬を投与したフォレージと茎試料にいおける残留物濃度は、コントロール試料による濃度によって補正しなかった。

表 47. サトウキビフォレージ中の 2,4-D 残留物

表 48. 成熟したサトウキビ中の 2,4-D 残留物

種実類を対象とした除草剤としての使用

2,4-D は樹木の周辺の地面に向けて投与された。アーモンド、ヘーゼルナッツ、ペカンナッツ、ピスタチオを対象に作物残留試験が行われた(表 49)。

cGAP はアメリカのものであった:2 x 1.6 kg ae/ha、PHI は 60 日(ピスタチオは 50 日)。ヘーゼルナッツでは、濡れた葉と 15-20 cm の高さにある stems of sucker[*7] に対して、4 x 0.12 kg ae/hl の率でスプレーされた。

*7 訳注)植物の形態上特定可能な茎の種類の 1 つ。わき芽

アーモンド　アーモンドにおける 2,4-D 残留物の LOD は 0.05 mg/kg であった。5 件の作物残留試験のうち 1 件だけを除き、アーモンドの種から 2,4-D 残留物が検出されることはなかった。検出された 1 件では、農園の地面に落ちたアーモンドの実を集めるのに、機械的な熊手が使われていた。それらの試料における 2,4-D 残留物の濃度は、<0.05 から 0.16 mg/kg であった(Kunkel、1997a)

ヘーゼルナッツ　2,4-D を 4 回直接投与された 49 日後に収穫されたヘーゼルナッツにおける 2,4-D 残留物の濃度を測定するために、Oregon において 3 回の作物残留試験が行われた。それぞれの試験にはコントロールが含まれていた。また、2,4-D は DMA 塩並びに EHE として 0.11 kg ae/hl の率でわき芽に投与され、投与間隔は 28-31 日であった。投与した溶液には展着剤が含まれており、したたるまで投与された (Kunkel、1996a)。

ナッツ試料は、4℃で 4-9 日間保存された後に、商業的な取組に沿って 40-65℃のオーブンで 18 時間乾燥され、そして殻むきされた。4 つのコントロール試料における 2,4-D 残留物の濃度は LOD(<0.05 mg/kg)未満であり、2 つのコントロール試料における濃度は 0.06 mg/kg と 0.07 mg/kg であった。農薬を投与した 12 個の試料における残留物の濃度は<0.05 から 0.1 mg/kg であった。

ペカンナッツ　4 つの州で行われた 5 件の作物残留試験において、DMA 塩と EHE が隣り合わせで 2 回投与された。投与間隔は 27-34 日であった(Kunkel、1996c)。

約 60 日後に試料は集められ、すぐに殻むきされた。全ての試料における残留物の濃度は、LOD(<0.05 mg/kg)を下回っていた。

ピスタチオナッツ　California で実施された 2 件の作物残留試験において、DMA 塩が 1.6 kg ae/ha の率で、地上設備を使用して 2 回直接投与された。投与の間隔は 22 日であった(Barney、1995e)。

農薬が投与されたまた、投与されていないコントロールのナッツが、2 回目の農薬を投与した 50 日後に集められ、殻むきされた。全ての試料において、2,4-D 残留物の濃度は LOD(<0.05 mg/kg)未満であった。

表 49. アーモンド、ヘーゼルナッツ、ペカンナッツ、ピスタチオナッツ中の 2,4-D 残留物

[1] 他に表記が無ければ kg ae/ha

<u>ダイズを対象とした除草剤としての使用</u>

少なくとも、作付けの 7 日(エステル)あるいは 15 日(その他の剤型)より前に、2,4-D が畑に投与された。その結果が表 50 から 52 にまとめられている。cGAP はアメリカのものであった:1 x 0.56 kg ae/ha(エステル)あるいは 1 x1.1kg ae/ha (その他剤型)。

アメリカの 5 つの州で実施された作物残留試験において、EHE の単回投与が作付けの 7〜9 日前に、0.56〜0.57、1.4〜1.5、そして 3〜3.2 kg ae/ha の率で行われた。5 つの州のうち 2 つの州で実施された作物残留試験においては、DMA と遊離酸が同一の率で投与された(Carringer、1994a-d)。

新鮮なフォレージとヘイの試料が、農薬投与の 64〜85 日後に集められた。ヘイ試料は、切断された後、1.5〜7 日間、風乾された。種子試料は、農薬投与の 124〜157 日後に、成熟した時期に集められた。全ての分析に関して LOD は 0.01 mg/kg であった。

表 50. 作付け前に投与された場合のダイズフォレージ中の 2,4-D 残留物

表 51. 作付け前に投与された場合のダイズヘイ中の 2,4-D 残留物

[1] 汚染した試料。2 回分析された。その他の試料を分析した結果、残留物濃度は 0.01 mg/kg 未満

表 52. 作付け前に投与された場合のダイズ種子中の 2,4-D 残留物

家畜飼料用作物を対象とした除草剤としての使用

2,4-D は、飼料用の草と牧草地に生える幅の広い葉を持った雑草の管理に、世界中で使用されている。

牧草とヘイ cGAP はアメリカのものであった:2 x 2.2 kg ae/ha、PHI は決められていない。アメリカの 16 の州において、32 件の作物残留試験が行われた。地上設備を使用して、遊離酸、DMA 塩、あるいは EHE のブロードキャスト投与が出穂後に 2 回行われた。投与間隔は 29〜33 日であり、投与率は約 2.2 kg ae/ha であったため総量として 4.3〜4.7 kg ae/ha となった。サンプリング前の 10 時間から 7 日間の間、切断されたヘイは乾燥された。(Carringer、1995j、k、o、u、v、w、x; Rosemond、1995a、b、c)

全ての分析に関して LOD は 1 mg/kg であった。2,4-D の残留物は、69 のフォレージコントロール試料、70 のヘイコントロール試料から検出されなかった(< 1 mg/kg)。フォレージ試料の 1 つからは、1.1 mg/kg の濃度で残留物が検出された。

表 53. 牧草(rangeland and pasture grass)(フォレージとヘイ)中の 2,4-D 残留物。最初の投与時の生育段階は、全ての試験で 20-25 cm の時期

哺乳類の農産品

(Krautter and Downs、1996)。 搾乳用ホルスタイン 3 頭からなるグループ[*8]に、2,4-D を含むゼラチンカプセルが 1 日に 2 回、連続する 28 から 30 日間投与された。投与された濃度は、餌(乾燥重量)として 1446、2890、5779、そして 8585 ppm に相当する。一頭がコントロールとされた。上記投与量は、1 日当たりの単位重量当たりの 2,4-D 投与量(2,4-D/kg body weight/day)として、それぞれ約 50.6、100、190、280 mg に相当する。牛は、最終投与後 12-18 時間以内に 3 日間をかけてと殺された。

*8 訳注)投与濃度の違いから、4 グループであると分かる。この試験で用いられた頭数は、4 グループ x 3 頭+コントロール 1 頭の計 13 頭に下記追加 2 グループ(6 頭)を加えた計 19 頭。

3 頭からなるグループ 2 つを追加し、28 日間連続して高濃度投与をし、最終投与の 3 あるいは 7 日後にと殺した。午前中と午後の 1 日 2 回、搾乳した。4 つの濃度投与群のそれぞれについて、1 頭 1 頭の牛から集められた乳を比例するようにしたコンポジットが調製された。このコンポジットは、搾乳日として 0 日目(投与前)、1、3、7、11、14、18、21、24、そして 28 日目に調製された。回収を検討するためのグループに属する牛からの試料は、0、

24、28 日目また、最終投与の 3 あるいは 7 日後に採取された乳から調製された。

とたいを解剖する間、肉眼的に組織異常がないか検討された。肝臓、腎臓、コンポジットされた筋肉部位(もも肉とテンダーロイン)またコンポジットされた脂肪(腎脂肪と大網脂肪)はドライアイスを加えて凍結状態を維持したままホモジナイズされ、分析までの間凍結保存された。

全てのグループについて、順応期間中の 1 日当たりの餌の消費量並びに乳の生産量の平均は、農薬投与期間の量と同様であった。投与期間中の平均体重の変化も、グループ間で同等であった。通常でない、あるいは牛の健康を損なうような投与に関連した効果は無かったため、採取された組織と乳試料は分析するのに適切であると結論づけられた。

集められた試料は、Howard, 1996a によって記述された方法によって分析された。肝臓、腎臓、筋肉部位、そして脂肪に対する LOD は 0.05 mg/kg であり、乳に対する LOD は 0.01 mg/kg であった。分析結果は表 54 に示した。

表 54. 投与された牛に由来する乳と組織中での 2,4-D 残留物濃度の範囲と平均 (Krautter, 1996)

[1]7 日目から 28 日目にかけて試料が採取された
[2]1 日目から 28 日目にかけて試料が採取された
[3]最終投与の 3 日後に試料が採取された
[4]最終投与の 7 日後に試料が採取された

<u>魚と貝類</u>

(Biever、1996)。ナマズ(Channel catfish)、ブルーギル(bluegill sunfish)、ザリガニ(northern crayfish)及び、淡水アサリ(freshwater clams)が、土壌基質を含む静的な水性システムの中で、DMA 塩として 6 mg の 2,4-D ae/L に、3 時間から 15 日間暴露された。ブルーギル、ザリガニ、アサリの可食組織は、3、6、12 時間後、1、2、8、15 日後に集められた。ナマズに関しては、暴露したグループ、コントロールとなるグループの両方が死んでしまったため(原因不明)、同じ間隔だが、8 日目までしか試料を集めることができなかった。

表 55 に結果が示されている。ナマズの可食組織における 2,4-D 平均濃度の最大は 0.07 mg/kg であり、暴露 6 時間後に観察され、それ以降 8 日目にかけて減少した。ブルーギルの可食組織における残留物の平均濃度の最大は 0.06 mg/kg であり、暴露 6 時間後に観察され、

8 日目と 15 日目ではほぼ LOD(0.01 mg/kg)であった。ザリガニの可食組織における最大残留濃度は 1.1 mg/kg であり、暴露 8 日後に観察され、8 日目と 15 日目の間で明らかに減少することはなかった。淡水アサリの可食組織における 2,4-D の濃度は報告されなかった。これは、当初試料の分析と同時に分析された品質管理用試料からの回収率が、回収率の基準である 70-120%の範囲から外れてしまったこと、いくつかの試料について、0.01 mg/kg の LOD を達成するために十分な量の組織が残っておらず、再分析ができなかったことが理由である。

表 55. アメリカナマズ、ブルーギル、ザリガニの可食部位中の 2,4-D 残留物 (Biever, 1996)

[1] 最初の分析前に、試料が合一されることはなかった。残りの試料は合一され 2 回目の分析に使用された。

[2] ザリガニが死んでしまったため、分析可能な試料はなかった

[3] 分析の回収が許容限界である 70%-120%から外れてしまったため、分析結果は報告されていない。

[4] コントロールとなる試料の二重分析はされていない

保存及び加工における残留物の動態

保存における動態

(Johnson and Strickland、1995a)。California において、レモンに対して収穫前と後とに 2,4-D IPE を投与する 2 件の試験が実施され、この試験においてレモン試料は、6-16℃で 28-112 日間、商業的な保存施設で保存された。表 28 に結果が示されている。

加工における動態

レモン (Johnson and Strickland、1995b)。上記の試験で得られた丸のままのレモンが、商業的な手法をまねて、ジュース、ウェットポメスとドライパルプ、モラセス、そしてオイルに加工された。各加工画分からの単一試料が、まるごとの果実それぞれの試料から集められた。

LOD は、ジュースとウェットパルプに対して 0.05 mg/kg、ドライパルプとモラセスに対して 0.2 mg/kg、そしてオイルに対して 0.5 mg/kg であった。各加工画分に対する 2 つのコントロール試料中の 2,4-D 残留物濃度は LODs 未満であった。

加工試験は適切であり、2,4-D の残留物はモラセスとドライパルプで濃縮されるものの、ジュース、ウェットパルプ、オイルには濃縮されないことを示唆している。平均濃縮係数は、モラセスについて 4.3、ドライパルプについて 4.6 であった。

表 56. レモン及びレモン加工産品における 2,4-D の残留物 (Johnson and Strickland, 1995b)

[1] 平均値の計算には含められていない

トウモロコシ (Carringer、1995c)。Iowa と Nebraska で実施された 2 つの試験において、2,4-D EHE がトウモロコシに 3 回投与された。1 回目は 1.7 kg ae/ha の率で出芽前に、2 回目は出穂後に 0.83 kg ae/ha の率で直接投与として、3 回目は 2.5 kg ae/ha の率でブロードキャストによって収穫前に投与された。地上設備が使用され、投与の間隔は 1 回目と 2 回目の間で 32～49 日間、2 回目と 3 回目の間で 88～111 日であった。穀粒試料が最終投与(収穫前)の 7 日後と 14 日後に集められた(表 57)。

各試験について PHI ごとに農薬を投与したそして投与しないコントロールの穀粒試料が 2 つ集められたが、Nebraska で実施された試験において PHI を 7 日として集められた単一の試料のみが、商業的に用いられる手順をまねて、デンプン、グリット、ミール、フラワー、粗精製油(ウェット並びにドライミリング)、そして精製油(ウェット並びにドライミリング)に加工された。

全ての試料に対する LOD は 0.01 mg/kg でった。全てのコントロール試料から 2,4-D の残留物が検出されることはなかった。

表 57. トウモロコシ穀粒から加工された食品目における 2,4-D 残留物 (Carringer, 1995c).)

コメ (Carringer、1995n)。Arkansas と Louisiana で行われた 2 つの試験において、約 2.5 kg ae/ha (GAP 投与率の 1.5 倍)の率で、分げつの後期に、地上設備を使って 2,4-D DMA がコメに投与された(表 58)。

各圃場の農薬投与区並びにコントロール区から、投与の 61～66 日後に穀粒試料 2 つが集められた。そして、商業的な手順をまねて、籾殻、糠、とう精した白米に加工された。Arkansas の試験で得られた加工品の試料のみが分析された。コントロール試料の全てにおいて、2,4-D の残留物は LOD(<0.01 mg/kg)未満であった。

表 58. コメ及びコメ加工画分における 2,4-D 残留物 (Carringer, 1995n)

ソルガム (Carringer, 1995m)。Kansas と Texas で行われた試験において、2,4-D DMA を 1.7 kg ae/ha の率で、地上設備を使って投与した 81〜112 日後に、2 つのソルガム穀粒試料が集められた(表 59)。

Texas で行われた試験において集められた試料が、商業的な手順をまねて、スターチとフラワーに加工された。両方の試験圃場から集められた穀粒及び Texas の試験から得られた加工農産品から 2,4-D が検出されることはなかった(<0.01 mg/kg)。

表 59. ソルガム並びにソルガム加工画分における 2,4-D 残留物 (Carringer, 1995 m)

小麦 (Carringer, 1995a)。North Dakota と Kansas のそれぞれで行われた 2 つの試験において、栽培期間における GAP 率の 1.4 あるいは 2.1 倍に相当する、1.4 あるいは 2.1 kg/ae/ha いずれかの投与率で、地上設備を使い、82 日間の処理間隔を置いて、2,4-D EHE が 2 回ブロードキャスト投与された。North Dakota では、試料は 7 日後と 14 日後に集められた。しかし Kansas では、14 日後に採取するはずだった区画が意図せず破壊されたため、7 日後の試料だけが集められた。Kansas の試験区から集められた穀粒試料は加工されなかった。

North Dakota の試験区では、各 PHI で、農薬投与された穀粒試料とコントロールの穀粒試料が 2 つ集められた。PHI 7 日で集められた穀粒試料は、商業的な手順をまねて、ブラン、低品位小麦粉(low grade wheat flour)、粗挽き小麦粉(patent flour)、小麦ミドリング粉(middlings)、小麦ショーツ(shorts)、吸い出された穀粒ダスト(aspirated grain fractions)に加工された。PHI 14 日で集められた穀粒試料は、吸い出された穀粒ダストに加工された。吸い出された穀粒ダストについて 0.1 mg/kg であったことを除き、その他全ての試料に対する LOD は 0.01 mg/kg であった。穀粒コントロール試料の 1 つから、0.01 mg/kg の濃度で 2.4-D が明らかに検出された。結果を表 60 に示す。

表 60. 小麦及び小麦加工画分における 2,4-D 残留物 (Carringer, 1995aa)

[1] 加工係数

サトウキビ (Carringer、1995l)。Florida と Louisiana で行われた 2 つの試験において、地上

設備を用いて、総量として 9 kg ae/ha/season(GAP 投与率の 4 倍)となるように、出穂前と 110 〜176 日後に再度、4.5 kg ae/ha の率で 2,4-D DMA がサトウキビに投与された。

2 回目を投与した 166 あるいは 188 日後に、茎の単一試料が集められ、商業的な手順をまねて、バガス、モラセス(first and final strike)並びに砂糖に加工された。このうち、Florida の試験で得られた試料だけが分析された。2 つのコンロトール茎試料及び 1 つの各加工農産品における 2,4-D の残留物濃度は LOD(<0.01 mg/kg)を下回っていた。Florida と Louisiana の試験で得られた茎試料及び、バガス、モラセス(first strike)そして砂糖における残留物濃度も 0.01 mg/kg を下回っていた。モラセス(final strike)試料の 1 つにおける残留物濃度は 0.01 mg/kg であったが、二重分析した結果は 0.01 mg/kg 未満であった。表 61 に結果を示す。

表 61. サトウキビ並びにその加工画分における 2,4-D 残留物 (Carringer, 1995l).)

販売段階あるいは消費段階にある食品における残留物

1992 年、1993 年、1994 年、1995 年を対象に、US FDA の残留農薬モニタリングデータベースをレビューした結果、4 つのレモン試料における残留が、1992 年に California から報告されているのみであった。残留濃度は 0.05、0.06、0.06、そして 0.11 mg/kg であった。表 62 には、1992 年、1993 年、1994 年を対象とした USDA の農薬データプログラムから得られた結果を示している。

表 62. 1992-1995 年にかけての、2,4-D 残留物を対象としたアメリカのモニタリングデータの要約

各国における最大残留基準値

以下は、カナダのインターネットサイトから得られた各国の MRLs のリストである。(http://www.hc-sc.gc.ca/pmra/indimrle.html).

APPRAISAL

2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid)は、1970 年から 1987 年にかけての数回の JMPR において評価され、その評価において多くの農産品に MRLs が勧告された。また、1997 年には環境への影響が勧告された。今回の JMPR では、CCPR における定期的レビュープログラムの一環として、2,4-D が評価された。

JMPR は、家畜並びに作物代謝、環境動態、分析法、更新された GAP、作物残留試験、家畜給餌試験、そして加工後の残留に関する情報を受領した。

2,4-D の剤型は塩(diethanolamine, DEA; dimethylamine, DMA; triisopropanolamine, TIPA; isopropylamine, IPA)あるいはエステル(2-butoxyethyl, BEE; isopropyl, IPE; 2-ethylhexyl, EHE)である。2,4-D は選択性があり、全身に葉面散布されるホルモン除草剤であり、葉と根により容易に吸収され、幅広の葉の雑草を管理するための成長調整剤として機能する。

マウス、ラット、山羊、産卵鶏、そして魚を使って、[^{14}C]2,4-D の吸収、分配、代謝そして排出が調べられている。

ラットとマウスを使った試験の結果は、経口投与後の 2,4-D の吸収は速やかであり、ほぼ完全であることを示している。投与後 4 時間で血漿中のピークレベルに達した。

ラットに 2-ethylhexyl エステルを経口投与した後、被験物質は血液中に検出されず、そのことは速やかに 2,4-D へと加水分解されることを示唆している。血漿中での 2,4-D の濃度は、経口投与後 2 から 4 時間後にピークとなり､約 9 時間の明らかな半減期を伴って減少した。

1 あるいは 100 mg/kg bw の[^{14}C]2,4-D を経口投与されたラットにおける放射活性の排出は急速であった。経口投与された量の 94%以上が、投与後 48 時間までに回収されており、尿としての排出に関する半減期は約 5 時間であった。尿は排出の主要な経路(85～94%)であり、一方の糞は主要でない経路であった(2～11%)。100 mg/kg bw の高投与量では、2,4-D の排出は投与後最初の数時間で飽和に達した。これらの血漿からの急速な消失及び尿への急速な排出は蓄積の可能性が低いことを示している。

ラットにおいて、[^{14}C]2,4-D は第一には変化せず尿に排出された(>97%)。おそらく 2,4-D のコンジュゲートと考えられる 2 つの主要でない代謝物が検出された。

2-ethylhexyl エステルは急速に吸収され 2,4-D と 2-ethylhexanol に加水分解された。経口投

与の 72 時間後に、血液、尿あるいは糞中に 2,4-D 2-ethylhexyl は発見されなかった。生じた 2,4-D の遊離酸はそのまま急速に尿に排出され、2-ethylhexanol はさらに 2-ethyl-hexanoic acid、2-ethyl-1,6-hexanedioic acid、2-ethyl-5-oxohexanoic acid、2-ethyl-5-hydroxyhexanoic acid、2-heptanone and 4-heptanone に代謝され、急速に尿、糞に排出されそして空気に拡散した。

[^{14}C]2,4-D を経口投与された搾乳用山羊の器官、組織、乳、尿における ^{14}C の分配のパターンは、腎臓が主要な標的器官(投与量の 0.45%を含む)であることを示していた。より低い割合で肝臓(0.07%)、乳(0.06%)、脂肪(0.03%)そして筋肉(0.01%)に見つかる一方、尿における総 ^{14}C は 99.4%(97.9%が 2,4-D であると同定された)であった。より低レベルで発見された代謝物は 2- or 4-chlorophenoxyacetic acid(2- or 4-CPAA)と 2,4-dichlorophenol (2,4-DCP)であった。

[^{14}C]2,4-D を経口投与された産卵鶏では、投与した量の約 90%が尿から回収された。可食組織と卵はそれぞれ総投与量の 0.1%未満の量を含んでいた。

ブルーギルが、静的な条件の水の中で 11 mg/l の[^{14}C]2,4-D に 4 日間連続して暴露された。4 日目の内臓(食べられない)とフィレット(可食)における総 ^{14}C(2,4-D として)は、それぞれ 1.9 と 0.41 mg/kg であった。2,4-D(^{14}C の 80%、0.33 mg/kg)と 2,4-DCP(^{14}C の 7.9%、0.03 mg/kg)が可食部には含まれていた。

植物における 2,4-D の代謝に関する情報は、リンゴ、レモン、ジャガイモ、そして小麦について提供された。

2-ethylhexyl エステルを 0.35 kg ae/ha の投与率でジャガイモに投与した後、塊茎における残留物の濃度は、2,4-D が 0.24 mg/kg(総 ^{14}C の 42%)、4-CPAA が 0.15 mg/kg(総 ^{14}C の 26%) そして 4-hydroxy-2,5-D が 0.09 mg/kg(総 ^{14}C の 15.5%)であった。

ラベルの手順に従って、矮性リンゴの木のキャノピーの下の芝生に[^{14}C]2,4-D をスプレー投与した後のリンゴにおける残留物は同定するには少なすぎた(総 ^{14}C は 2,4-D として 0.009 mg/kg)。

2,4-D-EME を投与した小麦のフォレージとワラにおいて、総 ^{14}C の 74%と 70%が 2,4-D の遊離体あるいはコンジュゲートとして回収された。残りはたくさんの異なる代謝物で構成されており、そのうち 4-hydroxy-2,5-D が主要な化合物であった(総 ^{14}C の 8%)。小麦の穀粒では、総 ^{14}C の約半分が天然の成分(タンパク質、デンプン、そしてセルロース)に取り込まれていた。残りは、主に特定されていない極性のそして非極性の化合物で構成されていた。2,4-D は総 ^{14}C の 6%に相当し、唯一同定された成分であった。

[^{14}C]2,4-D IPE がポストハーベストとしてレモンに投与され、2,4-D として 2.4 mg/kg の残留につながった。レモンの果実は 5-6℃で最長 16 週間保存された。総 ^{14}C の大部分は皮に発見され、非常に少量が果肉とジュースに見つかった。20 週間たったレモンの皮は総 ^{14}C の 93.5%(2.1 mg/kg)を含んでいた。これらの残留物は主として 2,4-D の遊離体とコンジュゲートであった(総 ^{14}C の 64%、1.5 mg/kg)。少量で見つかったその他の化合物は、遊離のそして結合した 2,4-D IPE(総 ^{14}C の 0.73 %、0.017 mg/kg)、4-hydroxy-2,3-D あるいは 5-hydroxy-2,4-D (0.58%、0.013 mg/kg)、4-hydroxy-2,5-D (0.44%、0.01 mg/kg)そして 2,4-DCP (0.72%、0.016 mg/kg)であった。果肉とジュースで見つかった主要な代謝物もまた、2,4-D の遊離体あるいはコンジュゲートであった(果肉では、総 ^{14}C の 2.9 %、0.07 mg/kg。ジュースでは、総 ^{14}C の 0.99 %、0.023 mg/kg)。

2,4-D の分解は、土壌あるいは水における分解物の濃度として環境上顕著なレベルにつながることはなかった。

好気的なインキュベーションの条件下では、2,4-D は土壌中で急速に分解する(silty clay Soil における半減期は 25℃で 1.7 日)。最終分解産物は二酸化炭素と土壌に結合した分解物であり、その多くは土壌のフルボ酸とヒューミン酸画分に分配された。

2,4-D エステルの 2-ethylhexyl と isopropyl 部分及び塩の dimethylamine と diethanolamine の動態に追加情報が受領された。

[^{14}C]2,4-D の KOC 値は 59 から 117 の範囲にあり、試験された土壌を通じて浸出する可能性が高いことを示唆していた(Arizona clay loam、Mississippi loam、California sandy loam、Plainfield sand)。その一方で、分解産物である 2,4-dichloroanisole (KOC: 436-1442)と 2,4-dichlorophenol (KOC: 368-1204) の浸出する可能性は中程度から低かった。これとは対照的に、2 つの圃場ライシメータの結果は、sandy soils (表層から 30 cm は pH 5.7、そこから先の土壌層は pH 4.8-5.0)中を 2,4-D とその分解産物が移動しないことを示していた。2.4-D は、浸出の可能性が高いにもかかわらず、その剤が GAP に従って使用されている場合には、地下水で発見されることは予想されないということを示唆している。

dimethylamine 塩と 2-ethylhexyl エステルを使用した 2 年に亘る地上散逸試験は、2 つの剤型が急速に同一のアニオン型に変換されるため、2,4-D の塩あるいはエステルが投与された場合には 2,4-D と類似の散逸率になることを示した。

転作作物における残留は、土壌に 2.2 kg ae/ha の率で[^{14}C]2,4-D を投与した 30 日並びに 139 日後に作付けしたラディッシュ、レタス、そして小麦を用いて測定された。30 日後に作

付けした作物における総放射活性残留物は、小麦のフォレージでは<0.001 mg/kg、ラディッシュの根では 0.01 mg/kg、小麦のわらでは 0.06 mg/kg であった。作付け間隔として 30 日後に、遊離のあるいはコンジュゲートになった 2,4-D あるいはその代謝物からのエーテル溶解性の残留物が 0.01 mg/kg を超えるレベルで存在することはなかった。30 日並びに 139 日後の両方で作付けされた転作作物において観察された ^{14}C の残留物は、天然物への取り込みによるものであった。

[^{14}C]2,4-D の好気性水性分解試験が、5 mg/L の濃度で 46 日目を上限として実施された。2,4-D は当初ゆっくりと分解し、25 日後には投与量の<75%であった。分解率はその後急速に増加し、46 日目では、投与された放射活性の 0.5%のみが 2,4-D であった。主要な分解産物は CO_2 であり、試験が終了する頃には、投与された ^{14}C の 64%に相当した。その他の同定された残留物で最も濃度が高かったものは(投与された ^{14}C の%で表すと)、35 日目の 2,4-dichlorophenol が 1.1%、14 日目の 4-chlorophenoxyacetic acid が 1.1%、20 日目の 4-chlorophenol が 1.4%であった。

2,4-D は、好気性水性条件下では環境に長期間残ってはいないようであり、41 日の半減期をもって分解した。

追加の情報が、dimethylamine 塩とその主要分解物である、2,4-D、2,4-dichlorophenol、2,4-dichloroanisole、4-chlorophenoxyacetic acid そして 4-chlorophenol の水性環境と池における消失に関して得られている。

最近の残留物分析法は、塩基性水溶性溶液により抽出し、C18 結合シリカカートリッジを用いて固層抽出し、溶媒分配することを基本としている。メチル化とエステルの追加精製の後で、2,4-D 残留物が ECD が付属した GLC によって 2,4-D メチルエステルとして測定される。回収率が 70%を超えていたことから、この分析法は植物性と動物性農産品の両方に対して妥当性確認がされている。植物性のマトリクス、乳そして動物性組織における典型的な定量限界は、0.01～0.05 mg/kg である。多くの作物残留試験において報告されている LOD[*9] は 0.01 mg/kg である。水、土壌、沈殿物中の残留物は、質量分析計を付属した GLC により測定されており、LOD は水について 0.001 mg/kg、土壌と沈殿物について 0.01 mg/kg である。
*9 訳注)LOD は一般的には、検出限界の略記である。しかしここでは、Limits of Determination (定量限界)の略として使用されている。

オランダにより提供された分析法は類似の抽出並びに精製手順に基づいている。しかし、SPE 抽出物はさらに内部表面逆相(ISRP)基材を充填したプレカラムと結合 C-18 分析カラムとをカラムスイッチさせた HPLC によりさらに精製され 118 nm の UV で検出された。LOD

は肉に対して 0.02 mg/kg、穀類と野菜類に対して 0.05～0.1 mg/kg であると報告されている。
様々な保存分析用試料における 2,4-D 残留物の安定性に関する情報が提供された。JMPR は、試験期間中(ジャガイモ、チェリーとクランベリーでは最低 2 年、穀粒の生の農産品並びに加工品、フォダーとフォレージ、油糧種子、サトウキビ、グレープと洋ナシでは 1 年、かんきつ類、プラムとピーチでは 7 か月)化合物は安定であったと結論した。

植物における 2,4-D 残留物の特性は、リンゴ、レモン、ジャガイモ、そして小麦の代謝試験から適切に理解され、動物における残留物は、マウス、ラット、ヤギ、家禽類そして魚の代謝試験から理解された。

JMPR は、植物並びに動物における残留物の定義を、MRLs への適合判定用並びに経口摂取量の推定用ともに、2,4-D として定義すべきと結論した。

中性 pH での 2,4-D の分配係数の値(pH5 と pH7 での log POW は、それぞれ 0.18 と-0.83)は、この化合物が脂溶性でないことを示唆している。

2-ethylhexyl エステルを投与した小麦とジャガイモを対象とした植物代謝試験並びに、isopropyl エステルを投与したレモンを対象とした植物代謝試験は、エステル類は、投与後約 10 日までに 2,4-D を重要な最終残留物として、ほぼ完全に分解されることを示唆していた。ラットとマウスを用いた動物の薬理試験また代謝試験は、2-ethylhexyl ester が 2,4-D に急速に変換され、その代謝は 2,4-D と同等であると考えることができることを示唆していた。これらの理由から、ethylhexyl ester あるいはその他のエステル類を投与した結果生じる残留物の定義は、遊離酸から生じる残留物に対する定義と同一にすべきである。

様々な作物を対象とした作物残留試験がすべてアメリカで実施され、アメリカの GAP に対して評価された。遊離酸、エステル類、塩類によって得られた残留物の間に顕著な違いは認められなかったため、2,4-D 酸、the ethylhexyl ester そして 2,4-D dimethylamine salt が投与された作物残留試験の結果は、統合され評価された。

かんきつ類。2,4-D は収穫前の成長調整剤として、グレープフルーツとオレンジ(US GAP 1 x 0.0024 kg ae/hl, PHI 7 日)に使用され、ポストハーベスト剤としてレモン(US GAP 1 x 0.05 kg ae/hl)に使用された。JMPR は、グレープフルーツとオレンジを対象とした 2,4-D の噴霧投与は主要でない使用方法であることを知らされていた。

アメリカの GAP に従った 2 件の作物残留試験がグレープフルーツを対象に実施された。最初と最後の農薬投与の間に 1 年が経過したことから、1994 年と 1995 年に収穫された成熟

した試料が評価に使用された。果実全体における残留物は、<0.05 (2)、0.07 及び 0.08 mg/kg であった。GAP に従いオレンジを対象に行われた追加の 2 つの作物残留試験の両方において、果実全体における残留物濃度は LOD:<0.05 mg/kg という結果になった。すべての残留濃度を順番に示すと、<0.05 (4)、0.07 及び 0.08 mg/kg である。JMPR はグレープフルーツとオレンジを対象とした最大残留濃度を 0.1 mg/kg と推定し、現在のかんきつ類を対象とした CXL 2 mg/kg の取り消しを勧告した。可食果肉に対する残留データは提出されなかったため、JMPR は果実全体における残留濃度をもとに、STMR を 0.05 mg/kg と推定した。

California で、レモンを対象としたポストハーベスト使用の作物残留試験が 2 件行われた。保存期間(0～112 日、6～16℃)における残留物濃度の減少は観察されなかった(0.29 から 0.61 mg/kg の範囲)。作物残留試験数が少なかったため、JMPR は最大残留濃度を推定することができなかった。

果樹園とブドウ園における除草剤としての使用

果物に関する 2,4-D のほかの使用方法として、果樹園やブドウ園の地面に直接投与し雑草を管理するというものがある。リンゴの代謝試験は、果樹園の地面に直接投与された後の果実において、残留物が存在することは予期されないことを示唆しており、作物残留試験データの解釈を支持している。

仁果類。アメリカにおいてリンゴと洋ナシを対象に行われたいくつかの作物残留試験が、現在の GAP(2 x 2.2 kg ae/ha、直接投与、 PHI 14 日)に適合していた。利用可能だった 10 試験分すべてから得られた果実における残留濃度は、PHI 13～15 日で LOD 0.01 mg/kg を下回っていた。JMPR は、仁果類における最大残留濃度を、現実的な定量限界として、0.01 *mg/kg と推定した。5 倍の率で投与された果物を含むすべての試料において、残留濃度は LOD 以下であったため、STMR の値は 0 と推定された。

核果類。チェリー、ピーチ、プラム(一つは生のプルーン)のそれぞれについて 3 件の作物残留試験が行われた。投与率は最大でアメリカの GAP(2 x 1.6 kg ae/ha、直接投与、PHI 14 日)であり、その結果、14 日の PHI での残留濃度は LOD 0.05 mg/kg(チェリー)、あるいは 0.01mg/kg(ピーチとプラム)を下回っていた。JMPR は、核果類に対する最大残留濃度を現実的な定量限界として、0.05* mg/kg と推定した。4 倍の率で投与された果物を含むすべての試料において、残留濃度は LOD 以下であったため、STMR の値は 0 と推定された。

ベリー類とその他の小さな果実。アメリカの GAP に従った、2 x 1.6 kg ae/ha の率での直接投与がされた、ブルーベリーを対象とした 4 つの作物残留試験において、最終投与の約 30

日後に 0.01 mg/kg までの濃度で残留物が検出された。残留物の濃度は、<0.01 (2) 及び 0.01 (2) mg/kg であった。

アメリカの GAP(1 x 1.7 kg ae/ha, 開花前)に従ったストロベリーを対象とした 6 件の作物残留試験において、投与の 59〜129 日後では残留物は検出されなかった(<0.05 mg/kg)。

3 x 4.5 kg ae/ha の投与率でクランベリーを対象にアメリカで実施された 2 件の作物残留試験の結果が報告された。アメリカの GAP は 2 x 4.5 kg ae/ha の率での直接投与であった。30 日の PHI では、1 件目の試験で得られた試料からは、LOD 0.02 mg/kg を超える濃度で残留物は見つからなかったが、2 件目の試験から得られた試料からは、0.11 mg/kg までの濃度で残留物が見つかった。

ラズベリーを対象とした試験は 1 件だけ実施された(1 x 1.6 + 1 x 3.1 kg ae/ha)。LOD 0.05 mg/kg を超える濃度の残留物は見つからなかった。ブラックベリーについては残留データが報告されなかった。

最近のアメリカの GAP(1 x 1.6 kg ae/ha、直接投与)に従って、ブドウを対象とした 2 件の作物残留試験が実施された。推奨される 100 日の PHI 後には、LOD 0.05 mg/kg を超える濃度での残留は見つからなかった。

アメリカの GAP に従った作物残留試験から得られたすべての残留物の濃度は、その濃度順に、<0.01 (2)、0.01 (2)、<0.05 (9) そして 0.11 mg/kg であった。
JMPR は、ベリー類とその他の小さな果実類(ブドウを含む)に対して、0.1 mg/kg の最大残留濃度を推定し、ブラックベリー、ラズベリー、バクシニウムベリー(ベアベリーを含む)を対象とした CXLs の取り消しを勧告した。

JMPR は、ブドウを除くベリー類に対して STMR 0.05 mg/kg を推定した。ブドウについていは、その特殊な使用パターン(PHI 100 日及び高い植物毒性)を理由に、STMR を 0 mg/kg とした。

野菜を対象とした除草剤としての使用

野菜の場合、2,4-D は雑草管理のために地面に向けて投与される。スイートコーン、ジャガイモ、アスパラガスを対象とした作物残留試験の結果が報告された。

スイートコーン(穂についたコーン)。アメリカの投与率で実施された 9 件の作物残留試験の

結果が報告された。それらの作物残留試験のうち、2 件のみが推奨される 21 日の PHI を含んでいた。しかし、すべての試験における投与は、登録された作物の成長段階で行われていた。鞘を除いたカーネルと穂のすべての試料において、残留物の濃度は、LOD 0.05 mg/kg と同じもしくは下回っていた。JMPR は、実際的な定量限界として、スイートコーンを対象とした最大残留濃度を 0.05* mg/kg、STMR を 0.05 mg/kg と推定した。

ジャガイモ。アメリカで行われた 10 件のうち 8 件の作物残留試験が、アメリカの GAP(2 x 0.078 kg ae/ha)に従っていた。投与は、登録された作物の成長段階で行われていた。収穫時、残留物の濃度は、<0.05 (5)、 0.08 (2)、そして 0.13 mg/kg であった。JMPR は現在の CXL 0.2 mg/kg を改めて確認し、STMR を 0.05 mg/kg と推定した。

アスパラガス。アメリカの投与率を含む 4 件の作物残留試験が報告されたが、そのうち 2 件だけが特定の PHI 3 日を含んでいた(残留物の濃度は 0.1 と 3 mg/kg)。2 件の作物残留試験データでは、最大残留濃度の推定に不十分である。

穀類を対象とした除草剤としての使用

2,4-D は、冬並びに夏穀類の出穂前後あるいは収穫前処理のために世界的に使用されている。

トウモロコシ。dimethylamine salt(7 試験)、2-ethylhexyl ester (6 試験)、あるいは遊離酸(1 試験)を 3 回、都合 3.4 kg ae/ha を投与した、7 日(アメリカの GAP)あるいは 14 日後の穀粒における 2,4-D 残留物は、<0.01, 0.01 (8), 0.015, 0.02 (2), 0.03 and 0.04 mg/kg(14 日後の残留濃度のうち 4 つは、対応する 7 日後の残留濃度に比べ高かった)。JMPR は、0.05 mg/kg の最大残留濃度を推定し、それにより現在の CXL (0.05* mg/kg)を置き換え、また STMR を 0.01 mg/kg として推定した。

コメ。アメリカで実施された 10 件の作物残留試験のうち、7 件が GAP(1 x 1.7 kg ae/ha、PHI 60 日)に適合していた。籾を除いたコメ穀粒における残留濃度を順番に並べると、<0.01(2)、0.01 (3)、0.03 及び 0.05 mg/kg となる。JMPR は、玄米を対象に最大残留濃度を 0.1 mg/kg と推定し、これによりコメを対象とした現在の CXL 0.05* mg/kg を取り消し、また、STMR を 0.01 mg/kg と推定した。

ワイルドライス。過剰投与された作物残留試験 1 件(4 つの複製)のみが報告された。0.56 kg ae/ha の率で投与した 53 日あるいは 64 日後に、残留物は発見されなかった。最大残留濃度を推定するために、作物残留試験 1 件では不足である。

ソルガム。アメリカにおいて、エステル類の場合 0.56 kg ae/ha、酸と塩類の場合 1.1 kg ae/ha として、2,4-D は登録されている。アメリカの 4 つの州で行われた都合 10 件の作物残留試験において、推奨される率で登録された作物の生育時期に投与された。

収穫された穀粒において、LOD 0.01 mg/kg を超える濃度で残留物が見つかることはなかった。JMPR は、実際的な定量限界として 0.01* mg/kg をソルガムの最大残留濃度として推定し、それにより現在の CXL 0.05* mg/kg を置き換え、また STMR を 0.01 mg/kg と推定した。

小麦とライ麦。アメリカにおいて小麦を対象とした作物残留試験がたくさん行われ、そのうちの 24 件がアメリカの GAP(1.4 + 0.56 kg ae/ha、PHI 14 日)に沿っていた。小麦穀粒における残留濃度を高い順に並べると、0.11 (2)、0.12、0.13、0.16 (2)、0.17 (4)、0.21、0.22 (2)、0.23、0.24 (2)、0.31、0.34、0.46、0.63、0.87、0.94、0.95 及び 1.4 mg/kg であった。GAP が同一であることから、JMPR は、小麦の残留データをライ麦に外挿することに合意し、STMR 0.22 mg/kg とともに、現在の CXLs 0.5 mg/kg に代わる 2 mg/kg の最大残留濃度を推定した。

その他の穀類。大麦、きび、オーツ麦、ライ小麦を対象とする使用について、2,4-D は世界中で登録されている。大麦、オーツ麦、きびを対象としたアメリカの GAP は、小麦を対象とした GAP と同一だが、開花後の使用により dough stage における残留濃度がかなり高くなる可能性があるため、JMPR は小麦から大麦、オーツ麦、キビへの外挿を勧告できる可能性について合意した[*10]。

*10 訳注)矛盾があるように感じられ、文意を理解することができない。原文は以下の通り。
Although the US GAP for barley, oats and millet is the same as for wheat the Meeting agreed that extrapolation from wheat to barley, oats and millet could be recommended because the residue could be considerably higher from the use after blossom at the dough stage.

推測するならば、「Although the US GAP for barley, oats and millet is the same as for wheat the Meeting agreed that extrapolation from wheat to barley, oats and millet could not be recommended because the residue could be considerably higher from the use after blossom at the dough stage.」であり、「大麦、オーツ麦、きびを対象としたアメリカの GAP は、小麦を対象とした GAP と同一だが、開花後の使用により dough stage における残留濃度がかなり高くなる可能性があるため、JMPR は小麦から大麦、オーツ麦、キビへの外挿を勧告することができないことについて合意した。」であろう。

オーストラリアでは、ライ小麦を対象に 2,4-D が登録されている(1 x 1.6 kg ae/ha、PHI 7 日)。アメリカで実施された小麦を対象とした作物残留試験の多くが、オーストラリアの GAP に準拠していたが、気候条件が異なるため、JMPR はアメリカのデータの外挿を支持しなか

った。

JMPR は、大麦とオーツ麦を対象とした現在の CXLs 0.5 mg/kg の取り消しを勧告することに合意した。また、きびとライ小麦に対する最大残留濃度を推定することができなかった。

サトウキビ。出芽前に 1 度、出芽後に 1 度、2.2 kg ae/ha の率で投与する GAP に従いアメリカで実施された 8 件の作物残留試験の結果が報告された。PHIs が 137～214 日の成熟したサトウキビにおける残留物の濃度は、<0.01 (7) と 0.02 mg/kg であった。JMPR は最大残留濃度を 0.05 mg/kg、STMR を 0.01 mg/kg と推定した。

種実類。アメリカにおいて、アーモンドとピーカンナッツをそれぞれ対象として、10 件の作物残留試験が行われた。10 件のうち、5 件では dimethylamine salt が、5 件では 2-ethylhexyl ester が、アメリカの GAP(2 x 1.6 kg ae/ha、PHI 60 日)に従い直接投与された。

ピスタチオナッツを対象に直接投与した 2 件の作物残留試験もまた、アメリカの GAP(2 x 1.6 kg ae/ha、PHI 50 日)に従っていた。

Dimethylamine salt と 2-ethylhexyl ester をそれぞれ用いた 3 件の作物残留試験は、ヘーゼルナッツに対するアメリカの cGAP(4 x 0.12 kg ae/hl の率で sutems of sucker にスプレーし、PHI は 45 日)に従っていた。

残留物濃度は、アーモンドカーネルでは<0.05 (8)、0.08、0.16 mg/kg であり、ピーカンナッツとピスタチオナッツでは全ての試料の濃度が LOD 0.05 mg/kg を下回っており、ヘーゼルナッツでは<0.05 (2)、0.05、0.1 mg/kg であった。全ての残留濃度を順番に並べると、<0.05 (22)、0.05、0.08、0.1、0.16 mg/kg となった。

JMPR は、種実類を対象とした最大残留濃度を 0.2 mg/kg、STMR を 0.05 mg/kg と推定した。

ダイズの種子、フォダー並びにフォレージ。アメリカにおいて、1 x 0.56 kg ae/ha の率でエステル類をあるいは、1 x 1.1 kg ae/ha の率で遊離酸あるいは塩類を作付け前に投与することが 2,4-D の使用として登録されている。0.56、1.4 あるいは 3.2 kg ae/ha の率で投与された 27 件の作物残留試験が報告された。全ての種子試料における残留物の濃度は LOD 0.01 mg/kg を下回っていた。JMPR は、ダイズの種子では検出可能な残留は起こりそうにないと結論し、最大残留濃度を 0.01* mg/kg、STMR を 0 mg/kg と推定した。

新鮮なフォレージの 27 試料のいずれからも残留物は検出されなかった。

フォレージを切断後、1.5〜7 日間風乾した後に、フォダー試料が分析された。GAP に従った 9 件の作物残留試験により得られた試料中から、LOD 0.01 mg/kg の濃度を超えて残留物が発見されることはなかった。より高い率で投与された後の試料からは、0.04 mg/kg を最大濃度として残留物が発見された。

JMPR は、ダイズのフォレージ(青葉)あるいはフォダーには検出可能な濃度の残留は予測されないと結論し、現実的な定量限界の値として 0.01* mg/kg の最大残留濃度を推定した。STMRs はダイズのフォレージ(青葉)に対して 0 mg/kg、フォダーに対して 0.01 mg/kg と推定された。

飼料作物

草本のフォレージ、ヘイあるいはフォダー。飼料として使用される牧草地と牧草を対象としたアメリカの GAP(2 x 2.2 kg ae/ha)に従った作物残留試験の結果が報告された。JMPR には、牧草地を対象とする最大残留濃度を推定する際に、PHI が 0 日であることを考慮すべきであることが知らされた。

投与当日のフォレージにおける残留物の濃度を順番に並べると、90、92、135、153、154、162、169、172、173、177、182、183、192、194、198、223、233、236、241、258、271、280、285、311、314 そして 358 mg/kg であった。 JMPR は草本のフォレージに対する STMR を 193 mg/kg と推定した。

ヘイ(新鮮なフォレージに対する PHI は 7〜30 日)に対する各試験から得られた最大の残留濃度は、19、39、40、50、61、65、68 (2)、74、82、86、94、96、101、103、109、126、142、145、147、149、150、155、180、182、206、216、218、231、236、279 そして 330 mg/kg であった。JMPR は、草本のヘイあるいはフォダー(乾燥)に対する最大残留濃度を 400 mg/kg また、STMR を 117.5 mg/kg と推定した。

トウモロコシのフォレージとフォダー。アメリカの GAP では、1.1 kg ae/ha の率での出芽前投与、トウモロコシが 25-41 cm の高さに成長した段階における 0.56 kg ae/ha の率での出芽後の直接投与、そして 1.7 kg ae/ha (穀粒に対する PHI 7 日)の率での収穫前投与が認められている。

併せて 1.7〜2.2 kg ae/ha になる、2,4-D の 2 回投与後の残留物濃度を順位ごとに並べると、PHI を 7 日として集められた 16 のフォレージ試料においては、0.01、0.03、0.09、0.25 (2)、

0.33、0.46、0.61、0.69、0.88、1.0 (2)、1.1、2.7、3.0、5.2 mg/kg、54～89 日後に集められた16 のサイレージ試料においては、<0.01 (14)、0.01、0.03 mg/kg であった。

併せて約 3.4 kg ae/ha になる、2,4-D の 3 回投与後のフォダーにおける残留濃度は、投与後 7 あるいは 14 日後において、3.6、4.2、4.4 (2)、5.7、6.4 (2)、9.1、9.9、15、20、25、30 mg/kg であった。

JMPR はトウモロコシのフォレージとフォダーを対象とした最大残留濃度をそれぞれ 10 mg/kg と 40 mg/kg と推定した。またフォレージとフォダーの STMRs はそれぞれ、0.65 mg/kg、6.4 mg/kg と推定された。

<u>稲わらと稲のフォダー</u>。GAP に従った 61～66 日後における 2,4-D の残留物濃度は、1.1、1.5、2.1、3.1、5.4、6.4、8.8 mg/kg であった。JMPR は、乾燥した稲わらと稲のフォダーに対し、最大残留濃度を 10 mg/kg、STMR を 3.1 mg/kg と推定した。

<u>ソルガムのわらとフォダー</u>。上記したアメリカで実施された 10 件の作物残留試験から得られた、投与 30 日後の緑色のフォレージにおける残留物の濃度を順番に並べると、<0.01、0.02 (2)、0.03 (2)、0.04、0.06、0.08、0.13、0.14 mg/kg であった。JMPR は、ソルガムのフォレージ(緑色)に対して、最大残留濃度を 0.2 mg/kg、STMR を 0.035 mg/kg と推定した。

投与の約 82～112 日後、成熟した段階において、フォダー試料は採取された。未処理のコントロール試料における残留物濃度は、作物残留試験における試料と同程度であった。そのため、JMPR は、提出されたデータはソルガムの藁とフォダーにおける最大残留濃度を推定するために使用することができないと結論した。

<u>小麦のフォレージ、藁そしてフォダー</u>。アメリカにおいて、2,4-D の最初の投与は、植物が十分に分げつしているが茎に節が形成される前に行うことが、また 2 回目の投与は穀粒が dough stage にあるときに行うことが推奨されている。

小麦は収穫前投与の前に切り取りフォレージとして使用することができ、そのため、フォレージ試料は、最初の投与の 7 日後に集められる。残留物の濃度順に並べると、5、6 (3)、6.3、7、8(2)、8.5、9 (2)、11、14 (3)、15 (2)、16、17、18 (2)、19、20 (2)、22 (2)、23 (2)、24、25、26、29、30 (2)、33(3)、34、35、41、42、50、54、55、58、112 mg/kg であった。

GAP に従った投与の結果得られた残留物濃度は、収穫前投与の 13～15 日後において、2、3、4 (5)、5 (3)、6 (2)、7 (3)、8 (2)、11、15 (4)、17、18、22、41、85 mg/kg であった。

JMPR は、乾燥した小麦の藁並びにフォダーに対して、最大残留濃度 100 mg/kg と STMR 7 mg/kg を推定し、小麦のフォレージに対して STMR 20 mg/kg を推定した。

サトウキビフォレージ。道路脇(by layby)から 2.2 kg ae/ha の率でサトウキビに対し 2,4-D を出芽前及び出芽後に投与した後、2 回目投与の 88～92 日後に集められたフォレージ試料における残留物の濃度は、<0.01(2)、0.01、0.03、0.04、0.08、0.14 mg/kg であった。 JMPR は、最大残留濃度を 0.2 mg/kg、STMR を 0.03 mg/kg と推定した。

家畜移行試験

3 頭の牛で構成された複数の群に対し、乾燥重量ベースの飼料として、2,4-D ae が 1446、2890、5779、8585 ppm 等量となる 4 つの投与量での投与が 28 から 30 日間連続して行われた。追加の 2 群を対象に、28 日間高濃度投与が行われ、最終投与の 3 あるいは 7 日目後にと殺された。

2,4-D の残留物は、分析された乳試料の大部分から検出された。高投与群から得られた試料における平均残留濃度は、投与の 7 日後にはプラトーに達し、残りの投与期間を通じて、0.47 mg/L の残留濃度を示した。3 日並びに 7 日間回復させた群における平均残留物濃度は、28 日目での 0.46 mg/kg と 0.47 mg/kg の濃度から、0.01 mg/kg まで減少した。

中程度の高濃度で投与した群から得られた乳における残留物濃度もまた、7 日後にはそれぞれ 0.29 mg/kg と 0.04 mg/kg の平均濃度でプラトーに達した。中程度の低濃度で投与した群から得られた乳における残留物は、投与した初日の後定常となり、その後の残りの期間を通じて 0.12 mg/kg の平均濃度となった。

分析された大部分の組織試料からも、2,4-D 残留物が検出された。高濃度群、中程度高濃度群、中程度低濃度群、低濃度群における、肝臓における平均残留濃度は、それぞれ 3.1、3.0、1.9、1.2 mg/kg であり、3 日及び 7 日間の回復後には、それぞれ 0.45 mg/kg と 0.39 mg/kg に減少した。

4 つの群から得られた腎臓における平均残留濃度は、それぞれ 24、17、14 及び 3.8 mg/kg であり、3 日及び 7 日間の回復後には 0.06 及び<0.05 mg/kg に減少した。4 つの群から得られた筋肉組織における平均残留濃度は、1.0、0.76、0.41、そして 0.21 mg/kg であり、3 日及び 7 日間の回復後には 0.06 及び<0.05 mg/kg に減少した。また脂肪における平均残留濃度は 2.2、2.5、0.59、0.42 mg/kg(中程度高濃度投与群で最高値)であり、3 日及び 7 日間の回復後には 0.07 び<0.05 mg/kg に減少した。

このように、動物組織における残留濃度は腎臓で最も高く、続いて肝臓、脂肪、筋肉組織そして乳の順で高くなった。この関係性は、全般的に見て、4 つの投与群全てで一致していた。高濃度投与群での平均残留濃度が、中程度高濃度投与群での平均残留濃度に比べてわずかに低値となった脂肪を除き、残留濃度は総じて投与濃度に依存していた。脂肪で得られた結果は、脂肪においてはプラトーに達していることを示唆していた。

2,4-D 残留物への最大量での暴露は、草本フォレージにおける最高の残留濃度が 358 mg/kg となった、除草剤として牧草に使用することによって起こる可能性がある。乳牛(550 kg 体重)による 1 日の飼料消費量の最大が、乾燥重量ベースで 20 kg であり、そのうち 60%が 25%の乾燥物を含む草本フォレージであると想定すると、摂取量を以下の通り計算することができる。

湿重量ベースの 358 mg/kg は、乾燥物ベースで 1432 mg/kg に相当する(358 x 1/0.25)。

草本のフォレージは飼料の 60%に相当するため、乾燥物ベースでの総試料として 859.2 ppm に寄与することになる(1432 x 0.6)。

従って、経口摂取量は、859.2 x 20/550=31 mg/kg bw/day となる。

給餌試験における最低の投与濃度は 50.6 mg/kg/day であった。しかし、投与量と残留濃度との間に、原点を通過するグラフとともに、ほぼ直線の関係が確立されたため、JMPR は、この場合、実際の経口摂取量推定値のために下方に外挿することが正当化されると結論した。以下の表は、測定並びに外挿された最高濃度また平均濃度を示している。最大残留濃度は、外挿により得られた最高の残留濃度から推定された。STMRs は、最大残留濃度を推定するための外挿により得られた平均残留濃度と STMR のそれぞれから推定された。

[1] 給餌試験において観察された残留物濃度は括弧書きで示した。

JMPR は、腎臓から検出された残留物の濃度を使って、肝臓と腎臓を“可食臓物”として統合すべきかを検討し、最大残留濃度を乳について 0.1 mg/kg、可食臓物について 5 mg/kg、肉について 0.2 mg/kg、STMR を乳について 0.043 mg/kg、可食臓物について 2.745 mg/kg、肉について 0.125 mg/kg と推定し、乳と乳製品に対する CXLs(0.05* mg/kg)を取り消すことを勧告した。得られた結果が不規則であると思われたため、脂肪を対象とした最大残留濃度あるいは STMR は推定されなかった。

産卵鶏を用いた代謝試験の結果は、投与量の約 90%が排泄物に回収されることを示していた。 可食組織及び卵には、総投与量の<0.1%しか含まれていなかった。2,4-D 残留物への

最大の暴露は、小麦とライ麦の穀粒に起因すると考えられた。小麦とライ麦の穀粒については、作物残留試験における最高の残留濃度が 1.4 mg/kg であり、最大残留濃度が 2 mg/kg、STMR が 0.22 mg/kg で推定されている。鶏(1.9 kg 体重)の 1 日の飼料消費量の最大が乾燥物ベースで 0.12 kg であり、これが 80%の小麦穀粒(89%乾燥物)と 20%のライ麦穀粒(88%乾燥物)で構成されていると想定すれば、最大残留濃度から、2.25 ppm が経口摂取量として計算される。そのため、0.002 mg/kg (0.1%)を超える濃度での可食組織及び卵における残留は理論的に予想されなかった。JMPR は家禽類の肉、可食臓物、そして卵を対象とした STMR を 0、家禽類の肉及び可食臓物に対する最大残留濃度を実際的な定量限界の値として 0.05* mg/kg と推定した。JMPR は、既存の CXL 0.05* mg/kg を置き換える事になる卵を対象とした最大残留濃度を、LOD 濃度の 0.01* mg/kg として推定した。

加工

レモン、トウモロコシ、コメ、ソルガム、小麦そしてサトウキビにおける 2,4-D 残留物に対する加工の影響を検証するための試験が行われた。

中央値として 2,4-D 濃度が 0.51 mg/kg のレモンが、ジュース、ウェットパルプ、ドライパルプ、モラセス、オイルに加工され、それぞれの加工品における残留濃度の中央値は、0.05、0.45、1.9、2.0、<0.5 mg/kg であった。対応する平均加工係数は 0.1、0.88、4.7、4.3、<1 であった。JMPR は、これらの加工係数をオレンジとグレープフルーツの STMR 0.05 mg/kg に適用し、ジュースについて 0.005 mg/kg、ウェットパルプについて 0.044 mg/kg、ドライパルプについて 0.235 mg/kg、モラセスについて 0.215mg/kg、オイルについて 0.05 mg/kg の STMR-Ps を推定した。

トウモロコシに関する加工データは、食品あるいは飼料として使用されるいかなるトウモロコシ加工品においても、2,4-D 残留物の濃縮が起こらないことを示唆していた。グリッツ、ミール、フラワーにおける 2,4-D 残留物の濃度(それぞれ 0.04、0.05、0.05 mg/kg)は、穀粒における濃度(0.06 mg/kg)と同程度であった。aspirated maize grain 画分における 2,4-D 残留物の濃度は、穀粒における残留物濃度の約 37 倍であった。化合物の科学的な特性の観点からは、トウモロコシ油における残留物濃度は、LOD 0.01 mg/kg よりも低くなるはずである。

ともろこし穀粒を対象に STMR が 0.01 mg/kg と推定され、加工農産品における残留濃度が、生の農産品における残留濃度に類似していたことから、JMPR は、ともろこしのグリッツ、ミール、フラワーを対象とした STMR-Ps を 0.01 mg/kg と推定した。

コメを用いた加工試験 1 件の報告があった。2,4-D の残留物は、米ぬかあるいは米粉において濃縮されていなかったが、籾殻においては係数が 3 になるように濃縮されていた。未加

工の農産品(玄米)に対するデータが報告されていなかったため、米粉に対する STMR-P は推定することができなかった。

ソルガムの穀粒あるいはその加工農産品において、2,4-D 残留物が検出されなかったため、ソルガムを対象とした加工試験は評価することができなかった。

残留物の濃度を高くするために、小麦が過剰量の 2,4-D(1.5 及び 2.4 mg/kg)により処理され、ブラン、フラワー、ミドリングス、そしてショートを作るために加工された。残留物はブランに濃縮されフラワーでは減少した。それぞれの平均加工係数は3.65と0.11であった。小麦穀粒に対する SRMR が 0.22 mg であったことから、JMPR は小麦ブランと小麦フラワーを対象とした STMR-Ps をそれぞれ 0.803 mg/kg と 0.024 mg/kg と推定した。

GAP に規定された率の 4 倍で投与されたサトウキビを対象とする 2 件の作物残留試験により得られた残留物濃度は、定量限界(0.01 mg/kg)を下回った。1 件の作残試験で得られたサトウキビはモラセスと砂糖に加工され、その両方における残留濃度は <0.01 mg/kg であった。STMR-PS は推定されなかった。

勧告

作物残留試験のデータに基づき、JMPR は下記の通り最大残留濃度と STMRs を推定した。最大残留濃度は、MRLs としての使用目的に対して勧告されるものである。

MRLs への適合判定用並びに暴露量評価用の残留の定義：2,4-D

[1] ベリー類とその他の小さな果実に対する勧告により置き換えられた。

[2] 柑橘類を対象とした MRL に含まれている

3 玄米に対する勧告により置き換えられた。

経口リスク評価

26 の農産品に対して推定された STMRs と 5 つの GEMS/Food 地域食に基づく、国際的に推定された 2,4-D の経口摂取量は、ADI の 3 から 10%の範囲にあった。JMPR は、JMPR によって検討された使用方法に起因する 2,4-D 残留物の経口摂取は現在の公衆衛生上の懸念につながらないと結論した。

参照

別添 **4**

OECD/OCDE

506

Adapted:

16 October 2007

OECD GGUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS

Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities

導入

1. 作物、作物産品、動物由来産品から、残留物の程度を知るための(MOR；magnitude of residue)データを収集する際には、その対象となる試料に、残留の定義(リスク評価と規制用の定義の両方)に含まれるすべての成分の残留物が、サンプリング/収穫された時から分析までの間、正確に定量可能なまま残っていることを確実にすることが基本である。MOR 試料が、収集後可能な限り速やかに分析されない場合には、残留物の成分に化学的な変化が起こるかもしれず、その変化は不正確な結果につながるかもしれない。MOR 試料を採取後直ちに分析することができない場合には、MOR 試料は分析するまでの間、適切なゼロ℃付近の条件下で保存すべきである。このような場合、残留物の安定性に関する保存条件の影響が調査されなければならない。このガイドラインにおけるカギとなる論及は、38 段落の(i)～(v)に挙げられている。

目的

2. これらの試験の目的は、作物に由来する加工画分への外挿により作物を代表する農産品において、また動物由来製品において、農薬の残留物が安定に存在する期間を示すことである。申請者に対しては、代表的な農産品において安定性が示されている最短の期間中の分析を確実にすることが求められる。MOR 試験には、それに限られないが以下が含まれる。

・作物圃場試験
・隔離圃場における転作作物中の残留物に関する試験
・家畜飼養試験
・加工試験

全般的事項

3. 多くの MOR 試験では、試料は分析するまでのある期間、保存される。この保存期間の間に、残留の定義に含まれる、農薬並びに/またはその代謝物の残留物は、気化もしくは酵素による分解のような過程によって、減少するかもしれない。そのため、MOR 試料が採取された時点での残留物の濃度と分析時の濃度とが変わらないようにするためには、MOR 試料における残留濃度への保存の影響を評価するための管理された試験が必要である。言い換えれば、申請者が、MOR 試料が凍結保存される期間中、農薬残留物が安定であることを示すことあるいはその期間中に残留物が減少する程度を示すことが必要である。

4. MOR 試料が凍結条件で保存されて 30 日以内に常に分析されるのであれば、申請者は、例えば基本的な物理的化学的特徴に関するデータが、残留物が揮発性であったり不安定であったりすることを示していないことを正当化のための理由として提供することで、凍結保存安定性試験の実施を省略することができる。通常、MOR 試料は、サンプリングあるいは収穫後 24 時間以内に凍結されるべきである。しかし、そのようにすることができない場合には、通常の条件あるいは冷却された条件に置かれた期間についても、凍結保存安定性試験の計画において考慮すべきである。

5. 通常は、1 つの農産品から得られたデータがそのほかの関連する農産品(別添 1 の農産品のカテゴリーを参照)の代表となる可能性があるため、すべての農産品に対して、同時の残留物冷凍保存安定性試験が必要とされないことは許容される。対象となる農産品中で残留物が安定であることが示されている限り、保存条件(特に温度とマトリクスの形状、すなわち有姿かホモジナイズ済みか)が対応する MOR 試験と同一であれば、別の冷凍庫を用いて異なる日に開始された冷凍保存安定性試験は許容可能だろう。

6. 不安定である、あるいは揮発性であると知られている、あるいは疑われている残留物のもととなる農薬については、MOR 試験に先立ち、MOR 試料を保存する前提として、適切な保存条件と最大保存期間とを決めるために、残留の定義に含まれる全ての成分を使用した凍結保存安定性試験を検討すべきである。

試験手順

導入

7. 凍結保存安定性試験では、保存期間中に起こるいかなる減少も観察また定量可能とするために、残留物濃度が十分に高い十分な量の初期試料を用いなければならない。試料は、圃場で農薬に処理され、そのことによる残留(インカード残留)のある作物(あるいは家畜)から調製することも、(農薬が投与されていない)コントロールの農産品に残留の定義に含まれる各成分を既知量で添加することにより調製することもできる。保存条件あるいは保存期間による減少分と、分析操作によって失われた分とを区別するために、保存した試料(インカード試料あるいは添加試料)を分析する各時点において、別途保存しておいたコントロール試料に添加し調製した新鮮な添加試料を分析しなければならない。操作回収(率)を求めるために使用されるコントロール試料は同一の農産品とすべきである一方、添加し保存した、凍結保存安定性試験のための試験試料と同一のバッチである必要はない。インカード残留の場合には、保存 0 時間での残留濃度を定量するために、収穫後可能な限り短い期間中に試料を分析しなければならない。

試験物質

8. 一般に、凍結保存条件下に置かれた収穫された作物における残留成分の安定性には、農薬の剤型は顕著な役割を果たさないと期待される。しかし、万が一に備えて、申請者は冷凍保存安定性の結果の妥当性に関する理論的根拠を提供すべきである。凍結保存安定性試験においてインカード残留が使用されるのであれば、MOR 試料中に残留の定義に含まれるすべての成分がいかなる減少でも観察することを可能にする十分な濃度で含まれていることを確実にしなければならない。

9. 試験所において、農薬を投与していない農産品に試験物質が添加される場合には、通常は、有効成分並びに/あるいはその有効成分に由来する特定の代謝物が添加される。残留の定義に 1 つ以上の成分が含まれている場合には、各成分の安定性を検証できるように、試験を設計する必要がある。結果的に、ある成分がほかの成分に代わっても分からなくなる可能性があるため、混合溶液を添加に使用することは推奨されない。そのため、冷凍保存安定性試験は、各農産品に残留の定義に含まれる個別の成分を添加して実施しなければならない。

分析法

10. 冷凍保存された農産品は、対応する MOR 試験に採用された妥当性確認された分析法と同一の分析法を用いて分析されなければならない。異なる分析法が使用された場合には、MOR 試験で用いられた分析法と同様に、完全なバリデーションを実施すべきである。

11. 共通部分を標的とする分析法は、残留の定義に含まれる個別成分のそれぞれの安定性を検証する目的で使用することができない。加えて、ある場合においては、共通部分を標的とする分析法は、共通部分を含みはするが残留の定義には含まれていない化合物も検出してしまう可能性がある。このことは、残留物の減少が起こっていようといまいと、その事実を隠してしまう。そのため、通常は共通部分を標的とする分析法を凍結保存安定性試験において使用すべきではない。しかし、例外的な状況並びに正当化の根拠がある場合には、共通部分を標的とする分析法を使用することになるかもしれない。例えば、MOR 試験において、残留物を定量するために共通部分を標的とする分析法が使用されており、そのためにその分析法が保存期間中の残留物の安定性の検証に使用されるということはあり得る。

添加濃度

12. 凍結保存条件下での残留物の安定性を適切に検証するために、各アナライトについて分析法の定量限界(LOQ)の 10 倍に相当する濃度で添加を行う。このことで、回収が大きくばらつき残留物の安定性の検証の妨げになるような事態がより少なくなるだろう。これはモデル試験であり、示されている分析法の範囲に併せて最適化されるべきである。添加の方法は、分析法の妥当性確認(例えば、回収データを得るための試験)で用いられた添加試料の調製法と同一にすべきである。このようにできない場合には、データを利用するための完全な理由付け/正当化が提供されるべきである。

13. 圃場で農薬を投与した農産品から検出可能な残留物が発見されない場合、あるいは、残留物の濃度が分析法の LOQ に近接している場合には、インカード残留よりも、むしろコントロールとなる農産品に添加した試料を冷凍保存安定性試験において採用すべきである。

試料の形態

14. 例えば、ホモジネート、粗切り、有姿の農産品、抽出物といった、凍結保存安定性試験における農産品の形態については、可能な限り、対応する MOR 試験における形態と同一にすべきである。ある場合においては、凍結保存試験において、上記の試料形態のうち 1 つ以上を用いる必要があるかもしれない。例えば、MOR 試験において、数か月間保存されたホモジネートから抽出され、そしてその抽出物が分析前の数週間保存されたとするならば、凍結保存安定性試験における試料の取り扱いも同一にしなければならない。

15. MOR 試料は有姿の状態で保存されている一方で、均質に添加することを確実にするために、凍結保存安定性検証用の試料はホモジネートとして保存されている場合がある。残留物が安定であることが分かっている限り、有姿の農産品を用いることに比べて、ホモジネートを使う事はワーストケースを代表するだろうと考えられるため、通常そのような試験は許容することができる。

16. 凍結保存安定性試験において保存される農産品の形態が抽出物ではなく、そのことで最終測定にかけられる前の MOR 試料の分析用抽出物の保存を反映していないのであれば、試験全体を繰り返す必要は無い。農薬を投与されていない試料からの抽出物に添加したものを、対応する MOR 試料の抽出物と同一の保存条件で同一の期間保存することを許容することは可能であろう。その後、保存された抽出物を分析し、抽出物中での残留物の安定性が検証される。この付加的な試験を避けるために、その試験所が、抽出物が得られた当日に分析することを基本としていない限り、申請者には、抽出物中での安定性の検証をルーチンとして凍結保存安定性試験に取り入れることが助言される。抽出物中での残留物の安定性に関する情報は、例えば分析法の妥当性確認試験あるいは代謝試験といった他の試験からも入手することが可能であろう。

保存条件

17. ほぼ全ての場合において、MOR 試料を圃場から試験所に輸送することが必要であり、分析可能になるまでの期間は試験所において保存されることになる。例えば、輸送する間も、ドライアイスを同封するなどして試料を可能な限り冷却するように努力されるべきであり、輸送期間も可能な限り短くするよう努力されるべきである。そして冷凍保存安定性試験においては、例えば分析するまでの期間 MOR 試料を試験所において保存する際に使用される温度といった、実際の条件をシミュレートすべきである。保存時の温度は-18℃もしくはそれ以下の温度にすべきであり、可能性のある光化学反応を避けるために、農産品は暗所に保つべきである。不安定であることが分かっている農薬については、MOR 試料中での不安定性を低下させるためのオプションとして、より低い温度で保存することあるいは溶媒中で抽出物を凍結保存することが含まれる。さらに、MOR 試験で得られた試料は、ホモジナイズする間あるいは凍結粉砕する間、酸あるいはアルカリを添加することで安定化することもできる。これらの追加的な工程は、冷凍保存安定性試験においても採用されるべきである。

18. 許容可能な保存温度が保たれていることを証明するために、保存条件は定期的にモニターされるべきである。例えば停電等によって、保存条件が顕著に変化

するようであれば、その完全な詳細が提供されるべきであり、試験の頑健性が維持されていたか判断するため、試験の様々な時点において得られたデータを検討すべきである。

19. 試料の保存容器は、可能な限り、MOR 試験に使用したものとデザイン並びに不活性な素材の点において同一としなければならない。しかし、そのようにすることが不可能な場合には、農薬が揮発性でない限り、異なった保存容器を使用したことのみによって、試験が棄却されるものではない。

サンプリングの頻度と期間

20. MOR 試料の保存期間を網羅し十分な時点で分析することを可能にするために、試験の開始時には、各農産品を十分な数小分けにして、冷凍庫で保存すべきであると助言される。問題が発生した場合や繰り返し分析が必要とされた場合に備えて、あるいは予想された期間に比べて長期に亘り保存しなければならなくなった場合に備えて、予備的な試料を保存しておくことも推奨される。全ての場合において、試料の保存が開始された時点における残留物の濃度を明らかにしそして確認するために、サンプリングのタイミングにはゼロ時点を含めるべきである。残留物の安定性並びに MOR 試料の最大保存期間に応じて、サンプリングするタイミングの最小数は変わりうる。

21. 申請者はサンプリングのタイミングとして 2 点のみを選択するかも知れない。それはゼロ時点と、例えば、12 ヶ月あるいは 24 ヶ月後である。しかし、この場合には減衰率を明らかにすることができないため、また観察した期間を超えた外挿が不可能になるかも知れないため、結果として MOR 試験の信用を落とすこととなり、申請者のリスクとなる。残留物が安定であると考えられる場合には、典型的なサンプリングの間隔を 0、1、3、6、12 ヶ月とすることが推奨されるが、MOR 試料が例えば 2 年以上のより長期に亘って保存される場合には、延長されるべきかも知れない。対照的に、残留物が相対的に急速に減少することが疑われる場合には、サンプリングの間隔を 0、2、4、8、16 週とすることが考えられる。事前情報が無い場合には、上記のサンプリングの間隔を組み合わせることになる。

22. 全ての時点で、残留の定義に含まれる全ての成分について、全ての農産品の二重試料を分析することが必要である。しかし、ある 1 点の時点で分析した二重試料に対する分析結果が顕著に(20%よりも大きく)違っていたならば、その時点で保存しておいた追加試料の分析を検討し判断しなければならない。同一の

試料を複数回分析するか否かは、申請者により思慮深く判断されるべきである。残留物以外の物質あるいは試験物質のコンタミネーションによる影響を明らかにし、その結果として、ある場合には試験を繰り返す必要があるかを明らかにするために、添加前の農産品の事前分析が助言される。

23. 申請者は残留の定義に含まれる全ての成分について凍結保存安定性が証明されている期間中に、全ての MOR 試料が分析されることを確実にしなければならない。しかし、これに相当しない場合においては、MOR データの使用について必ずしも妥協しない。例外として、観察可能な残留物の減少がない場合には、保存間隔によってカバーされていない時点への外挿が可能かもしれない。ただし、外挿の程度については、ケースバイケースで規制当局者と議論しなければならない。

24. 作物農産品が含まれる試験の場合には、特定の農産品のカテゴリーに含まれる農産品間の外挿の原則が勧告され、その農産品のカテゴリーは、以下の通りである。水分含量の高い農産品、酸性度の高い農産品、油分含量の高い農産品、タンパク質含量の高い農産品、デンプン質含量の高い農産品。農産品の中には、1つ以上のカテゴリーに当てはまる農産品があることが認識されているが、これらをモデルとして、そのような農産品は最も代表的なカテゴリーに分類されている。

25. 試験された全ての農産品において残留物が安定であることが示されている場合には、5 つの農産品のカテゴリーのそれぞれから 1 つの農産品を選んで行われた試験を許容することができる。そのような場合、その他全ての農産品(別添1)における残留物は、同じ保存条件下で同じ期間だけ安定であると想定される。

26. 5 つの農産品のカテゴリーのうち、ただ 1 つのカテゴリーにおいてのみ農薬が使用されると考えられている場合には、そのカテゴリーに含まれる 1 つ以上の代表的な農産品を用いて得られた残留物の凍結保存安定性のデータが必要とされるだろう(このガイドラインを尊重し、唯一 1 つの農産品のタイプをもつ高タンパク質のカテゴリーに関しては例外)。対応するカテゴリーに含まれる農産品を対象とした試験が、以下に従って行われる。

<u>高水分含量のカテゴリー</u>：

　このカテゴリーに含まれる 3 つの多様な農産品における試験物質の安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の作物を用いた更なる検証は不要である。

高油含量のカテゴリー：

このカテゴリーに含まれる 2 つの多様な農産品における試験物質の安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の作物を用いた更なる検証は不要である。

高タンパク質含量のカテゴリー：

乾燥した豆 (legume/pulses)において試験物質の安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の農産品を用いた更なる検証は不要である。

高デンプン質含量のカテゴリー：

このカテゴリーに含まれる 2 つの多様な農産品における試験物質の安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の作物を用いた更なる検証は不要である。

酸性度の高いカテゴリー：

このカテゴリーに含まれる 2 つの多様な農産品における試験物質の安定性が確認されているならば、このカテゴリーに属する他の作物を用いた更なる検証は不要である。

27. 異なる 5 つの農産品のカテゴリーの範囲をまたいで、残留物の減少が観察されない場合には、加工食品を対象とした特異的な冷凍保存安定性のデータは必要とされないだろう。しかし、一定の保存期間後に不安定になることが示されている場合には、申請者はいかなる農産品(RAC あるいは加工農産品)であっても、安定に保存できることが示されている期間内に分析されることを確実にしなければならない。

28. 代表農産品に関するガイダンスは、全ての農産品のカテゴリーに適用されるであろう農薬に対して指示されている。多くの農薬は、これらのカテゴリーのうち一部分にしか適用されない。2 つ以上のカテゴリーでの使用が考えられているが、残留物の凍結保存安定性に関するデータが 5 つのカテゴリーの全てについて得られていない場合には、代表農産品に必要とされる数は、カテゴリーと各カテゴリーに属する作物のいくつに農薬が使用されるかとの組み合わせに依存して決まるだろう。農薬処理されるかも知れない農産品の可能な組み合わせの全てについてガイダンスを提供することは不可能である。申請者は凍結保存安定性試験において使用する代表農産品について、よく見極める必要がある。一例をここに示す。農薬が種実類(高油含量のカテゴリーに属す)並びに核果(高水分含量のカテゴリーに属す)にのみ使用される場合には、冷凍保存安定性のデータは、例えばくるみ、アーモンドといった少なくとも 1 つの種実農産品並びに例えば桃やチェリーといった少なくとも 1 つの核果農産品に対して提供されるべきで

ある。この農薬の使用が後に、葉菜やウリ科野菜のような高水分含量のカテゴリーに属するその他の作物に拡大される場合には、このカテゴリーにおける 3 つの多様な農産品に対する必要性と矛盾のない、これら 2 つのタイプの農産品に対するデータが必要とされるだろう。そのことで、高水分含量のカテゴリーに属する全ての農産品に対しての凍結保存安定性が証明されたことになる。

29. 5 つのカテゴリーのそれぞれにおいて代表的な農産品を対象に、凍結保存安定性の試験が利用可能な場合には、そのことで 1 つ以上の農産品を含む作物(例えば、穀粒、藁、フォレージを含む穀物類)を網羅することになる。しかし、穀物類を対象とした農薬の使用だけが支持されている場合には、穀粒とフォレージの両方(作物の側面として、高デンプン質並びに高水分含量を代表する)を使ったデータが網羅されていなければならない。

30. 凍結保存安定性を試験するために使用する農産品は、放射性ラベルされた物質を使用した作物代謝試験からも得ることができる。その場合、残留の定義による残留物を、MOR 試験で採用された残留物分析法若しくはその他の妥当性確認された分析法に記載されている抽出手順を用いて抽出した後、検討するアナライトを対象とする適切な放射性化学の検出技術を組み合わせて定量すべきである。言い換えれば、凍結保存安定性のデータは単純に総放射活性量の計測に基づくべきではない(注記：この段落での議論は、別の場所で網羅されている代謝試験を支持するために必要な残留物の凍結保存安定性データを引用するものではない)

分析すべき動物性農産品

31. 例えば、家畜飼養試験あるいは皮膚投与試験のような動物性農産品が関与する試験の場合には、家畜に応じて下記を選択すべきである。

- 筋肉組織－例えば牛並びに/あるいは家禽
- 肝臓－例えば牛並びに/あるいは家禽
- 乳
- 卵

32. 試験された全ての動物性農産品において残留物が安定であることが示されている場合には、上記動物性農産品のそれぞれを用いた試験を許容することができる。そのような場合において、その他の動物性農産品の全てにおいて残留物は同じ保存条件下で同じ期間だけ安定であると想定される。申請者は、上記の動物性農産品において安定性が示された期間よりも短い期間のうちに、動物性農

産品の全ての MOR 試料が分析されることを確実にすべきである。

更なるデータの考慮

33. 冷凍保存安定性試験の間、分析時の操作回収が良好であったことを示すために、熟成/保存された凍結保存安定性試験用の試料が分析のために保存場所から取り出されるその度毎に、新しく添加を行ったコントロール試料を分析すべきである。このようにすることで、分析時の回収が異なる分析の時点に亘って変動する場合に、残留物に起こりうる可能性のある現象について適切な解釈が可能になる。そのようにして、操作による回収が 100%に近い値を示し、一方で保存された農産品からの回収が低かった場合には、そのことが、保存による残留物の減少を示唆している。保存された農産品からの回収と操作の回収の両方が同程度に低かった場合には、保存による残留物の減少が無かったかも知れないと示唆される。

34. 凍結保存安定性試験において得られたデータが残留物の限定された減少を示している場合、必ずしも、それにより MOR データの使用について妥協しない。残留物の減少が限定的であることを取り上げること並びにその現象が許容可能であるか否かを宣言することは適切でない。示唆されるいかなる減少もその重要性も、そこに含まれる可能性のあるいくつかの要素に依存するだろう。それらの要素は以下の通り。減少の比率と一定の状態に達するか否か(平衡) ; リスク評価; 操作回収の変動、それと同じく、凍結保存安定性試験に使用された農産品と MOR 試験で使用された作物との類似の程度。総じて、試験の許容可能性は、上記の要素を考慮してケースバイケースで検討されることになるだろう。

35. 残留物の減少を測定することができ、適切なグラフを描画するために十分なデータポイントを利用することができる場合、ある時点における減少を決定するために内挿の原則が適用される。いかなる減少についても、保存された農産品における未補正の残留物と操作回収とを考慮すべきである。残留物の減少が示されている場合には、申請者は、農産品における対象となる残留物の安定性が示されている期間中に、全ての MOR 試料が分析されていることを確実にしなければならない。

データ報告に関する考慮

36. 凍結保存安定性試験の報告では、以下について詳細に記述しなければならない。

・保存した農産品(RAC あるいは加工農産品)

・試験した化合物
・実験計画
・凍結温度、保存期間、保存容器の種類といった保存条件
・残留物分析法と使用機器
・凍結保存安定性の結果
また、以下を含めなければならない。
・データ、統計解析

さらに、試験の実施の妥当性を確実なものとするために、行われた品質管理の手順/注意。これには、上記各工程がいつ行われたかの情報を含む。

例えば、粗切されたのか、ホモジナイズされたのか、保存する前に水若しくはバッファーが加えられたのかといった内容の、MOR 試料の調製について記述することが、申請者にとって重要である。

37. 多種類の農産品がある特定のタイミングで分析されている場合には、全ての農産品と操作回収について、ただ平均を報告するのではなく、個々の農産品ごとの回収の値を報告すべきである。分析の結果は、mg/kg を単位とする絶対値として報告すべきであり、回収による補正、名目上の添加量の%による補正はすべきでない。ゼロ時点での最初の試料を含む全ての試料について、操作回収の個々の値と平均値が報告されるべきである。ゼロ時点での試料からの回収は、初期の操作回収と同じである。凍結保存安定性試験の結果を報告するために提案される様式、並びに観察された事項の注記を加えた例を別添 2 に示す。

材料

(i)試験物質

(A)農産品への添加が行われるのであれば、試験物質に関して記載する。名称；化学物質名、共通名、実験場の名称、CAS 名。純度 ; 残留の定義に含まれる全ての成分について。標準溶液の調製。

分析証明書を提供する。

(B)インカード試料(農薬投与に由来する残留のある試料)が使用される場合には、ゼロ時点での試料における残留の定義に含まれる全ての成分の存在とその量を確認する(凍結保存安定性試験の開始時とする)。

(C)凍結保存安定性試験において使用した試験物質の完全かつ徹底した記述並びに特定のために、申請者が適切かつ該当すると考えた、内容を限らない全ての追加情報。

(ii)試験農産品

(A)個別農産品の同定。可能な場合には、作物名、分類名、品種名、植物学上の名前を含む。
(B)作物の生育段階、例えば、農産品の状態として、未熟(immature, green)/成熟(mature, ripe)、生鮮/乾燥、その大きさ。
(C)凍結保存安定性試験に先立ち、全ての農産品を対象に行われたサンプリングの手順の記載。試料のトリミング、クリーニング、不要な部位を除くその他の手段、コンポジットの調製、サブサンプリング、細切、そして抽出といったステップごとの記載。
(D)インカード試料については、MOR 試料の由来、作物残留試験を特定するための番号、コントロール試料あるいはインカード試料、コード付け並びにラベル情報等。これらは、収穫時に決められたコードやラベルのついた試料と同一、若しくは相互参照されるべきである。
(E)農産品の完全かつ徹底した記述にとって適切かつ該当すると申請者が考えた、内容を限らない全ての追加情報。

方法
(iii)実験計画を記述する。例えば以下の様な内容を含む。試験する農産品の数。試験する物質の数。試験する濃度の値とその数。1 つの濃度と試験物質とに対して複製する試料の数。冷凍庫から抜き取る間隔(サンプリングの間隔)の数。

(iv)試験手順
(A)もし行う場合には、添加の方法。試験化合物を試験物質に加えるための方法の詳細。
(B)保存条件。温度、光、容器のタイプ/大きさ、農産品の形態(抽出物/浸潤させた状態のもの/等)、試料の数(サンプルサイズ)/重量、期間、等を記述しなければならない。
(C)サンプリング。ゼロ時点とそれ以後定期的に行われるサンプリングの手順を記述する。
(D)試料調製(浸潤させる/抽出する等)の日時、“添加”あるいは(ゼロ時点におけるインカード残留のタイプ/量の規定、定期的なサンプリングの間隔、凍結保存の完了時期、そして残留分析について記述する。
(E)残留分析の方法。下記の日時/情報を凍結保存安定性試験の報告書に含めるべきである。あるいは、分析法の完全で詳細な報告を凍結保存安定性試験報告書の別添として付属させる。

(1)分析法の名称/指定/来歴を提出すべきである。凍結保存安定性試験において使用された分析法が、MOR 試験において使用された方法と同一であ

る場合には、相互参照すれば十分である。

(2)作物残留試験あるいは加工農産品の試験において使用された分析法からの、試薬、手順、機器、測定条件等に関するいかなる変更についても議論する。

(3)分析法の原理、並びに抽出、精製、誘導体化、定量等の手順について、変更の全て、定量された化学種、使用された確認技術等と同様に、詳細を記載する。

(4)メーカー/モデル、タイプ/検出器の特異性、カラム(充填剤、サイズ)、キャリアーガス、流速、温度、電圧、定量限界と感度、検量の方法等といった、機器や使用条件について記述すべきである。

(5)安全性あるいは健康に関するハザードを避けるために、試薬や手順に必要とされる特別な注意について説明すべきである。

(6)残留物濃度や、回収率を計算するための手順を報告すべきである。

(7)分析の方法論や残留濃度の計算方法に関して、申請者が提供するのに適切かつ該当すると考えたその他の追加情報もまた漏らさず提供すべきである。

結果/議論

(v)残留の結果：生データ、必要な希釈の詳細、ピーク高さ/面積、操作回収(%)、使用した計算式/検量線、試料における残留物の濃度(mg/kg)、回収、(観察されている場合には)ゼロ時点に対する保存期間の長さで比較した減少率、凍結保存安定性試験の長さに関する適切さ等について報告すべきである。

(vi)統計学的な取扱：生データに適用した検定の詳細を記述する。

(vii)その他：結果の完全かつ十分な記述に当たり、申請者が適切かつ該当すると考えた、いかなる追加情報も報告する。

結論

(viii)保存期間との関数としての試験農産品における試験化合物の安定性に関して、また内挿と外挿に関するデータの使用に関して記載されるだろう結論について議論する。

認証

(ix)試験責任者による真正であることの認証(署名、記名、職名、提携、住所、電話番号、日付を含む)を提供しなければならない。

(x)指名された事務官による GLP に適合していることの宣言(署名、記名、職名、提携、住所、電話番号、日付を含む)を提供しなければならない。

図表

(xi)凍結保存安定性試験により得られた各種データの表、並びに農産品と保存期間の関数として、保存試料における残留濃度を要約した表を提出すべきである。
(xii)該当するグラフ、図、フローチャート、等を含めるべきである。

別添

(xiii)代表的なクロマトグラムを提供すべきである。

(xiv)全てのデータ提出のどこかで別に報告されるのであれば相互参照で十分であるが、もしそうでなければ参照する分析法とその他の試験の複製を提供しなければならない。

(xv)その他：この報告書の他の項のどこにも適してはいないが、該当する資料があれば含めるべきである。

文献

(1) U.S. Environmental Protection Agency. (1996). OPPTS 860.1380, 1996, Residue Chemistry.
(2) EU (1997).Guidance document Appendix H Storage Stability of Residues Samples 7032/VI/95 rev.5 22/7/97.
(3) United Nations Food and Agricultural Organization (FAO). (1994). Stability of Pesticide Residues in Stored Analytical Samples. 1994 draft prepared by Codex Committee on Pesticide Residues Working Group on Methods of Analysis and Sampling.
(4) United Nations Food and Agricultural Organization (FAO) (1986). Guidelines on Pesticide Residue Trials to Provide Data for the Registration of Pesticides and the Establishment of Maximum Residue Limits - Part 1 – Crops and Crop Products.
(5) Canadian Pest Management Regulatory Agency. (1998). Regulatory Directive 98-02. Residue Chemistry Guidelines.

保存された作物農産品における農薬残留物の安定性検証を目的とした農産品のカテゴリー

同一のカテゴリーに含まれる別の農産品に外挿するための試験のために、代表的な農産品を選択する際には、例えば、油を含む農産品のある範囲の代表になるかを試験するために、スパイスやホップのみを選択することが不適切になりえるといった、判定を実施する必要があるだろう。

農産品のカテゴリー	このカテゴリーに含まれる農産品	典型的な代表農産品
高水分含量	仁果類 核果類 鱗茎菜 果菜類/ウリ科野菜 アブラナ科野菜 葉菜と新鮮なハーブ類 茎野菜 フォレージ/フォダー作物 新鮮なマメ科野菜 根菜類の葉 サトウキビ 新鮮な緑茶葉 キノコ類	リンゴ、洋なし アプリコット、チェリー、桃 タマネギ トマト、ペッパー、キウリ、メロン カリフラワー、芽キャベツ、キャベツ レタス、ほうれん草 リーキ、セロリ、アスパラガス 小麦と大麦のフォレージ、アルファルファ 新鮮なエンドウ豆(鞘付き)、スナップエンドウ、ソラマメ、ベニバナインゲン、サヤインゲン てんさい、フォダーとするビーツの地上部
高油含量	種実類 油糧種子 オリーブ アボガド ホップ カカオ豆 コーヒー豆 スパイス類	クルミ、ヘーゼルナッツ、くり 菜種の搾油用種子、ひまわりの種子、綿花の種子、大豆、ピーナッツ
高タンパク	乾燥したマメ科野	ソラマメ、乾燥ソラマメ、インゲン豆(黄色、白/ネ

質含量	菜/マメ	イビー、茶、まだら)
高デンプン質含量	穀類 根菜類の根 デンプン質な根野菜	小麦、ライ麦、大麦、オーツ麦の穀粒 てんさい、フォダー用ビーツの根、にんじん ジャガイモ、サツマイモ
高酸性	柑橘類 ベリー類 カランツ グレープ キウイフルーツ パイナップル ルバーブ	レモン、マンダリン、タンジェリン、オレンジ ストロベリー、ブルーベリー、ラスベリー クロカランツ、アカカランツ、シロカランツ

重要事項：
上記の農産品のリストは、農産品/マトリクスの包括的なリストではなく、その他の農産品を使用できる場合がある。申請者はその他の農産品の使用に関する助言を得るために、規制当局者に相談すべきである。

添加濃度を 0.1 mg/kg とした報告の例

農産品	分析対象	保存期間(カ月間)	試料中での残留物の濃度(mg/kg)	試料中での残留物(添加量に対する割合%)(範囲並びに平均)	操作回収 (%)
小麦穀粒	代謝物 a	0	0.101, 0.121	101, 121 (111)	101, 121
小麦穀粒	代謝物 a	3	0.122, 0.115	122, 115 (119)	114, 90, 95
小麦穀粒	代謝物 a	6	0.104, 0.116	104, 116 (110)	99, 102, 95
小麦穀粒	代謝物 a	12	0.089, 0.091	89, 91 (90)	98, 100, 103
小麦穀粒	代謝物 a	18	0.080, 0.083	80, 83 (82)	77, 72, 78
小麦穀粒	代謝物 a	24	0.072, 0.069	72, 69 (71)*	75, 80, 79
りんご	代謝物 b	0	0.103, 0.096	103, 96 (100)	103, 96
りんご	代謝物 b	3	0.110, 0.102	110, 102 (107)	112, 98, 95
りんご	代謝物 b	6	0.096, 0.098	96, 98 (97)	100, 103, 95
りんご	代謝物 b	12	0.095, 0.107	95, 107 (101)	97, 62, 103
りんご	代謝物 b	18	0.083, 0.081	83, 81 (82)	104, 95, 99
りんご	代謝物 b	24	0.062, 0.064	62, 64 (63)**	98, 103, 92

*残留濃度は 30%近く減少しているように見えるが、試験後期に得られている全ての操作回収が、試験初期に得られた操作回収に比べ低値となっているため、小麦の穀粒における残留物は、(ある程度の減少が観察されてはいるが)24 ヶ月を超えて凍結保存された場合でも十分に安定であると考えられる。

**逆に、リンゴにおける代謝物 b の残留は、18 ヶ月の凍結期間までしか安定であると言うことはできない。

表 1 2.4-D を対象とした現在の CXLs の設定状況

Commodity	CXL (mg/kg)	Year of Adoption	Symbol
Berries and other small fruits	0.1	2003	
Citrus fruits	1	2004	Po
Edible offal (mammalian)	5	2003	
Eggs	0.01	2001	(*)
Hay or fodder (dry) of grasses	400	2003	
Maize	0.05	2001	
Maize fodder (dry)	40	2001	
Meat (from mammals other than marine mammals)	0.2	2003	
Milks	0.01	2003	
Pome fruits	0.01	2003	(*)
Potato	0.2		
Poultry meat	0.05	2003	(*)
Poultry, edible offal of	0.05	2003	(*)
Rice straw and fodder, dry	10	2001	
Rice, husked	0.1	2001	
Rye	2	2001	
Sorghum	0.01	2003	(*)
Soya bean (dry)	0.01	2003	(*)
Soya bean fodder	0.01	2003	(*)
Stone fruits	0.05	2001	(*)
Sugar cane	0.05	2001	
Sweet corn (corn-on-the-cob)	0.05	2001	(*)
Tree nuts	0.2	2001	
Wheat	2	2001	
Wheat straw and fodder, dry	100	2001	

(*):現実的に達成可能な濃度として分析法の定量限界に基づき設定された値
Po:農産品へのポストハーベストによる使用を踏まえて設定された値

令和元年度厚生労働行政推進調査事業費補助金　食品の安全確保推進研究事業

食品に残留する農薬管理における方法論の国際整合に関する研究

研究分担報告書

農薬残留基準値の国際標準に整合した設定方法の国内導入に関する研究

研究代表/分担者　山田友紀子　　　　　　　　　　　　農林水産省顧問(官房参事官)

研究要旨

2021 年開始の再評価に備えるため、厚労省における MRL 設定の改善点を指摘するとともに、厚労省による MRL 設定の基本原則の改定に貢献した。さらにそれらを実施するための研修を実施した。また、厚労省による作物残留試験の要件を示すガイドラインの作成を支援するためのキーとなる論点を示した。

A. 研究目的

国際的な原則に整合する MRL を設定するためには、(１) OECD Working Group on Pesticides の傘下にある専門家会議が策定し、OECD で承認されたガイドラインやガイダンス文書に則って作成された科学データ、及び (２) 本研究班で FAO Plant protection paper 225 “Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed”(FAO マニュアル)を基礎として開発した MRL 設定ガイドにまとめた基本的な考え方と原則に則った評価の両者が必須である。今後も JMPR による新規の科学的課題への対応や新評価法の導入等に応じてガイドの更新が必要である。これは、農薬取締法の改正に伴って 2012 年から実施するとされている農薬の再評価に対応するためにも不可欠である。

上記のためには厚労省が、農薬製造事業者等による MRL 設定に必要なデータの作成・提出を促すためにデータの要件を明確に示すガイドライン(MRL 設定のためのデータ要件ガイドライン)を行政文書として作成しなければならない。

また、提出されたデータの品質評価や有効な評価に基づいた MRL 設定のための具体的かつ実践的な評価指針（評価者ガイド）も必要である。

本研究では、わが国における MRL 設定の国際整合を加速することを目的とし、上記の厚労省によるデータ要件ガイドライン策定の支援と、MRL 設定のガイドの作成のために、3 年計画でデータの要件を明確に示した指針の内容を提言する。さらに、国内の評価者がより評価で活用可能な評価者ガイドを開発する。

これまで、本研究では、(１) コーデックス委員会が策定した食品分類を基礎としつつわが国の食品消費量を考慮した食品群(マイナー作物へのMRL設定も可能とする)を提案、(２) 現行の MRL 設定方法の問題点と解決法の提案、(３) MRL 設定に業務とする職員に対する、国際的に整合した MRL 設定に資する実際的な研修の実施等を、厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課と連携し進めてきた。(１) に示した食品群は、厚生労働省薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会(以下審議会と略)において、新規食品群として策定された。

本年度は 3 年計画の 2 年目であり、(１) 昨年度の提言を審議会において、基本原則として策定し、定着させる、(２) MRL 設定に最重要な科学データを策定するための作物残留試験について、昨年度よりさらに詳細に検討し、提言する、(３) これまでに国際的に標準的な MRL 設定方法への整合を図ってきたが、その実施に必要な実際的な研修を実施する。

B. 研究方法

本研究では､3 年計画の 2 年目として、OECD ガイドライン等の関連文書を活用し、農薬等製造事業者等に対しデータの要件を明確に示す指針「MRL 設定のためのデータ要件ガイド」を厚労省が策定するにあたって、

(1) 昨年、多くの試験についてわが国の現在の問題点を特定し、解決策を示したが、それら(作物残留試験を除く)について厚労省による対応を分析するとともに適宜支援
(2) 多くの科学データのうち、MRL設定に最重要である作物残留試験について、さらに詳細な問題点の分析と解決策を提言
(3) 上記や以前の研究班の提言を行政的に実行できるよう、厚労省の担当者に対する研修を実施

する。

C.D. 結果及び考察

(1)　昨年の主要な提言について､厚労省による対応の分析と追加の提言

－代謝試験－

- 厚労省による評価にはあまり進展はない
- 厚労省は、農薬メーカーがデータを作成するために、<u>残留評価の観点から</u>データ要求のガイドラインを作成するべきである。
- 代謝試験の評価に関連して、昨年から、OECD Working Group on Pesticidesの枠組みで、残留物の定義決定に関するドラフティンググループが活動中である。残留物の定義を決定するために、代謝試験をどのように評価・活用すべきか、上記の議論に参加するとともに、適宜決定に寄与する。また、OECDの決定を適宜、厚労省の作成するガイドラインに反映させる。

－サンプリング・分析法―

- 本研究班報告書の渡邉博士の分担部分で詳細な検討が実施されている。
- 特に冷凍保存安定性試験について、現在農水省の定めるガイドラインでは標準物質を添加した時点での分析は必要とされていないのみならず、経時変化も追跡する必要がない。昨年度、農水省のではなく、OECDのガイドラインに従って保存安定性試験を実施するべきと提言をしたが、それについて本年度詳細な分析・検討が渡邉博士によって実施されている。

－残留物の定義（Residue definition）－

- 詳細は(2)を参照のこと。

－作物残留試験－

- 詳細は、(2)を参照のこと。
- 食品群の作成については、昨年度に実施済み。審議会においても了承済み。既存のMRLをどのように新規食品群に整合するように記述するかについては、(3)を参照のこと。

－加工試験－

- 昨年度、加工されて摂取される食品について、そのうちでも、海外先進国では加工試験を実施しないであろう米等について加工試験を要求すべきと提言した。別の厚労省研究班において、まず試行的に加工試験を実施することとなった。
- 茶の浸出については、昨年9月のJMPRにおいて、加工係数の科学的妥当性に疑問が示され、報告者がインターネット上で調査したところ、茶の浸出は厚労省によって、荒茶の分析法の一つとされており、加工試験として扱われていない。これについては、上記の加工試験の研究とともに、加工試験への変更を検討するべきである。

－動物負荷量の計算－

- 昨年度の提言の通り、農水省消費・安全局畜水産安全管理課が実施している。

－動物飼養試験－

- 昨年度の提言の通り実行されている。
- 前述の「残留物の定義」のガイドライン作成が、動物飼養試験の評価に影響がある場合は、見直す。

－経口暴露評価－

- 「残留物の定義」のガイドラインの大きな焦点は、経口暴露評価のための残留物の定義の決定である。したがって、今のところ現行の方法で進めていくが、上記ガイドライン策定後に見直す必要があるかどうか検討する。

(2)　作物残留試験についての更なる考察

(実施、結果の提出、評価等、経時的に記述)(別添資料１ OECD Guideline 参照)

－使用基準（GAP）の記述－

日本の GAP は、水で希釈して散布する農薬の場合、すべて希釈倍率(すなわち散布液濃度)で示されている。果樹など高さのある作物については、海外諸国でも散布液濃度で示されることが多いが、高さのない作物(野菜や穀類など Row crops)の場合は、単位面積当たりの使用量で示されるのが主流である。日本の農薬企業が JMPR へデータ提出する際に、日本の GAP の記述に加えて、希釈倍率と散布液量から単位面積（ha）当たりの使用量を計算し、それを Critical GAP として示しているのをよく見る。しかしその計算法は、最大濃度と最大液量を乗じたり、最大濃度と平均液量を乗じたりなどバラバラであり、Critical GAP が何かについてはデータ作成者に任せられている状態である。しかし、これは、MRL の設定、特に Proportionality を活用する場合には、大きな影響を及ぼすことが多い。

そこで、

- 農水省によるラベルの記載法の見直しを迅速に行うよう促す
- MRL設定のためのデータの提出について、厚労省がガイドラインを示す
- JMPRにデータを提出する場合、GAPはどう記述すべきかについて、提出するメーカーを指導する。その際には本研究班も支援が可能である

－残留物の定義（Residue definition）－

厚労省は米国に先駆けて、規制用（MRL 設定用）と経口暴露評価用（リスク評価用）に異なる残留物の定義を設定することを可能にした。しかし、昨年半ばまで厚労省が設定していた残留物の定義は、欧米で設定されているものと概念が異なることが多かった。例えば、規制用の残留物の定義の方が、暴露評価用のものより多くの化合物を含むなどである。この原因は、食品安全委員会が暴露評価用の残留物の定義を、多くの場合、親化合物だけとするのに対して、厚労省が毒性のある代謝物を規制用の残留物の定義に加えるという逆転現象のためである。日本の MRL と Codex や欧米の MRL が異なる数値になるのは、実際の残留濃度が異なることが原因である場合も、残留物の定義が異なることが原因である場合もあるということである。さらには、暴露評価が過小評価になる可能性もあった。

令和元年 7 月に審議会委員に対して、MRL とは何かや残留物の定義の重要性等についての勉強会を、上記の不整合の修正を目的として本研究班と厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課とが協力して開催した。その結果、審議会での了承を経て、厚労省では昨年秋から世界に整合したやり方で残留物の定義を決定するようになった。暴露評価のため

の Residue definition も食品安全委員会ではなく、厚労省が決定するようになった。

一方、昨年から、OECD Working Group on Pesticides の枠組みで、残留物の定義決定に関するドラフティンググループが活発に活動中であり、残留物の定義を決定するためのガイドランを作成する予定である。議論に参加し、適宜日本の状態を紹介する(他の厚労省研究班による)とともに、決定に寄与する。また、OECD の決定を適宜、厚労省の作成するガイドライン及び実際の MRL 設定・暴露評価に反映させる(本研究班)。

－作物残留試験の例数－

厚労省で長年問題とされてきたように、農水省のガイドラインに示す作物残留試験の要求例数は海外先進国と比べると少ない（メジャー作物で 6 例、準メジャー作物では 4 例、その他は 2 例)。

物理的に圃場が少なくかつ狭いことや、薬効・薬害試験の要求が大きいことが例数を多くできない原因である。また、欧米へのインポートトレランス申請のために、農水省の支援により茶や果樹など永年作物での作物残留試験の例数を増やしていることにも留意する必要がある。

以前は、製剤の登録のために、農水省が剤型ごとに2例ごとの作物残留試験を要求していた。しかし、MRL は有効成分に対して設定することから、昨年度、OECD の作物残留試験のガイドラインに則って、最大の残留をもたらす使用基準に従って、それに対応する製剤のみで作物残留試験をしてもよいことを提言した。さらに、MRL 設定に OECD Calculator を使用するなら最小作物残留試験数は 3 例であるべきこと、必要に応じて、日本の GAP と同等の条件または Proportionality の原則が適用できる条件で、海外において実施された作物残留試験も国内の MRL 設定に活用することも提言した。

厚労省は昨年 7 月に、これらの提言(最低作物残留試験例数を除く)を基本原則に取り入れた。実際に OECD Calculator の使用も増えているとのことである。

厚労省は以下について具体的かつ明確なガイドラインを示すべきである。

- 作物残留試験の最低例数
- 剤型ごとに作物残留試験をしなくてもよいこと（具体的に）
- Critical GAPを決定するのはメーカー(または申請者)の責任であること
- 海外で実施した作物残留試験をMRL設定に活用できるための条件等

－作物残留試験結果の記述―

過去の農水省のガイドラインでは、同じ作物残留試験において採取した試料を、メーカー及び独立した分析機関の 2 か所で分析することになっていたが、現在は GLP 遵守により、一分析所による分析でよいことになっている。

JMPR や欧米では、通常作物残留試験において、(a) <u>複数の分析・測定</u>の場合には<u>分析値の平均値を記載</u>してそれを MRL 設定に活用する、(b) <u>複数の試料</u>を

採取した場合にはそれぞれの分析値(分析の平均値)を記載して、その平均値をMRL 設定に活用する、(c) 米国におけるように複数のロットで作物残留試験を実施している場合には、それぞれにおける残留濃度分析値(分析の平均値)を記載し、その中で最も高い残留濃度を MRL 設定に活用する、のが常識となっている。

しかるに、最近でも、使用拡大の場合には、残留濃度として 2 つの数値を記載し、n として 2 並びに 2 つの分析結果の差、が記載されているのを見る。この記載法では、JMPR や海外先進国に 2 つの試料を採取し、分析していると誤解させる。過去に厚労省が残留濃度の平均値を農水省が開発したいわゆる「内規表」と称する表に当てはめて MRL を推定しており、2 つの分析結果の差が小さいことを示す必要があると考えられているためと推察される。

わが国における MRL 設定方法を世界標準に整合させるために、また海外諸国政府(特に先進国)におけるインポートトレランス申請を円滑に行うためにも、作物残留試験データのまとめ方を OECD のドシエと同じ方法にするべきである。なお、すでに新規剤については OECD ドシエフォーマットで申請することになっている。

厚労省は、作物残留試験データの表へのまとめ方を明確かつ具体的にガイドラインとして示すべきである。

－MRL の設定法－

MRL の設定には、Critical GAP に従って実施した作物残留試験の特定と、その作物残留試験における残留濃度データの妥当性の検討が必須であり、MRL の妥当性・安全性は経口暴露評価によって確認する。

科学的に信頼できる残留濃度を得るには、分析法の妥当性確認と品質保証システムを導入した分析機関における分析が必須である。また、測定時の残留濃度が、収穫時の残留濃度と同等であることを保証するために、冷凍保存安定性の確認も必要であり、適切な冷凍保存安定試験の実施が不可欠であるが、農水省のガイドラインで示している試験では不十分である（これについては渡邉博士の本年度研究報告書を参照のこと）。

これまで厚労省は、作物残留試験 2 例以上の場合、平均値を計算し、それを「内規表」に当てはめて MRL を設定してきた。また、農水省 FAMIC では、残留濃度のうち最も高い残留濃度を、「内規表」に当てはめて MRL を推定、厚労省に勧告していた。この内規表は、統計的な要素がないわけではないが、濃度分布を無視しており、作物残留試験が 10 例あるとそのうちの最大残留濃度を超える濃度は現実に出現しないことになっている。しかも、作物残留試験が何例あろうと、平均値（農水省の場合は最大値）のみしか使用せず、分布の幅が広い場合でも狭い場合でも、平均値（農水省の場合は最大値）が同じなら同じ MRL となる。

そもそも、残留濃度の平均値を利用して MRL を推定するなど、MRL の定義を

考えればありえないことであり、平均値に基づく MRL の設定はすべきではない。また、可能な限り、「内規表」の利用をやめるべきであり、厚労省は、そのための方策を示すべきである。

一方、OECD Calculator は分布の形態にはとらわれてはいないが、濃度には分布があることを考慮して約 95 パーセンタイル値を MRL として推定する。Uncertainty を低くするためには、残留濃度のデータが 8 点(8 例より多い可能性があることに留意)は必要であり、uncertainty が高くてもよいのであれば、OECD Calculator を使うには 3 点が必須である。

通常、これらの条件では、濃度分布を考慮する OECD Calculator の方が「内規表」より MRL は高く推定される。例数が増えるほど、そして濃度分布の幅が広いほど OECD Calculator による推定値と「内規表」による推定値の差が大きくなる。

昨年度、MRL 設定に OECD Calculator を使用することを提言したが、すでに厚労省は、可能な場合には OECD Calculator を活用して MRL の設定を実施している。欧州連合、オーストラリア、カナダ、ニュージーランド、米国ではすでに OECD Calculator を MRL 設定に活用しており、同じデータを使用している限り、厚労省の MRL と同じ MRL が設定される。これは輸出促進にとっても有利である。

本来 MRL は、使用基準に従って農薬を使用しているかどうかの指標であり、国内の使用基準に従った使用を反映して設定すべきものである。直接毒性には関係しない。違法使用や誤用を見つけるために、国内に登録のある（すなわち使用基準のある）農薬については、それに則って MRL を設定すべきであり、Codex や他国の MRL より優先すべきである。しかし、わが国では Codex MRL が優先されており、これは SPS 協定には整合しているが、Codex MRL 設定に利用した GAP が国内の使用基準より高濃度または大量の農薬使用を規定していれば、国内の使用基準に違反した使用を検出することができない。これについても、再評価の導入時に検討すべきである。

厚労省は可能な限り、OECD Calculator を活用するための明確なガイドラインを作成するべきである。その際、作物残留試験が 2 例しかない場合の対応についても示す必要がある。

また、厚労省は、国内 GAP に従った仕様を反映する MRL を最優先とすべきである。

－加工試験—

加工されて摂食される食品については、JMPR や欧米では加工試験が必要である。わが国では加工試験を要求していないが、加工試験の結果（例えば JMPR で評価されたもの）は、暴露評価の精密化に寄与できる。例えば消費者は米を主に精米の形態で加熱調理して摂食し、生米のままでは摂食しない。しかし、欧米では米は主食ではないため、加工試験の対象として重要ではない。MRL は玄米に設定されるが、搗精時に除去される糠

部分の方が農薬の残留濃度は高いことが多い。加工試験がなければ、結果として米からの農薬の摂取は過大評価になりがちである。

厚労省は国内で消費量が多く、海外先進国で加工試験を実施しない食品について、加工試験を要求するべきであるが、他の研究班が支援のための研究に取り組むことになっている。

茶のMRLはすでに加工された形態(荒茶)に設定されるが、現在の主要な摂取形態は飲用茶であるので、加工試験は必要である。しかし、わが国では茶の「加工試験」は要求されず、茶の浸出は「分析法」の一つと位置づけられており、作物残留試験のセクションに書かれている。

例えば、2019年JMPRにおいて、日本からの提出データで、荒茶から浸出液への加工係数として0.2程度を記載したものがあった。濃度はin tea leafとin tea infusionとして示されていたが、これでは浸出によって農薬の総量が著しく増加することになる、という問題点が発覚した。

農薬抄録では、茶の浸出率について「浸出液の分析値と荒茶の分析値の比率を計算し、浸出率とする」というような記載があるが、その浸出率の最高値は25%程度である。分析法の報文によれば1 gの荒茶に60 mlの熱水を入れて抽出することになっているのであるから、浸出率は 1/60=0.017 以下でなければならないはずである。

厚労省は、茶の浸出については、加工試験と位置付け、

- 現実を反映した浸出法(例えば、緑茶としてわが国で一番生産量も消費量も多い煎茶の場合には、茶葉1 gに対して水を45 ml程度)とする
- 分析値から濃度への計算式をStudy reportsに記述する
- 現行で記載されている数値は荒茶換算であることを明記する

ことを要求するべきである。

さらに、加工係数（茶については「浸出率」と言ってきたもの）として、それぞれの加工試験の結果から計算した係数すべての<u>平均値または中央値</u>を示すことをガイドラインに加えるべきである。

(3) 厚労省の担当者に対する研修

わが国の農薬MRLは、食品衛生法に基づいて厚生労働省が設定している。そこで、再評価の実施のために、厚生労働省がMRL設定に必要なデータに関するガイドラインを策定すべきである。また、そのためには、厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課の担当者が、国際的に整合性のあるMRL設定の方法論について理解し活用できることが不可欠である。

そこで、令和元年7月、審議会の開催に先立って、<u>審議会メンバーと食品基準審査課の担当者を対象として、MRL設定に関する勉強会</u>を実施した(添付資料2参照)。基本的な原則は以下のとおりである。

1. MRLは、農薬の使用基準に基づいて設定し、農薬が使用基準に従って使用されているかどうかの指標となるもの。毒性に直接関係はないこと。
2. 残留物の定義には2種類あり（規制用＝MRL設定用及び経口暴露評価用＝リスク評価用）、同じとは限らないこと。
3. MRL設定用の残留物の定義は、容易かつ迅速に分析でき、使用基準に従って農薬が使用されたことを確認できる物質だけを含むこと。その際毒性は直接的な要因とはならないこと。
4. 暴露評価用の残留物の定義は、毒性が懸念され、ある程度の濃度で存在する代謝物を含むこと。
5. 使用方法が同じであれば、剤型が異なるごとに作物残留試験を2例ずつ要求することをやめ、最も残留濃度が高くなる使用基準に基づいて、同じ使用方法の作物残留試験の全てを活用して、OECD CalculatorによりMRLを設定すること。その際、Proportionalityの原則及び25％ルールを活用すること。
6. 暴露評価においては推定暴露量をADIの80％ではなく、ADIと比較すべきこと。

これらを説明したところ、特に分析に関する多くの質問があり、国際的に合意されている方法論に基づいて回答した。毒性に関係する質問はなかった。

本研究班の協力のもとに、より科学的に健全な MRL の策定を目指して基準審査課が「食品中の農薬の残留基準値設定の基本原則について(案)」を作成し、審議会に提示した。（添付資料３参照）

令和元年 7 月 30 日に開催された審議会において、上記文書を厚労省が示し、以降その原則で MRL を設定することとなった。この原則は、平成 22 年に同部会において示され、我が国の MRL 設定の基本とされてきた考え方を、現時点での国際的な合意や考え方を踏まえて全面改定するものであり、本研究班の活動なくしてはあり得なかった。さらに、本改正は、2021 年に開始する農薬の再評価のために不可欠なものである。

すでに、それ以降の部会では、厚労省は国際基準に整合した方法で、規制対象物質を決定するとともに可能な限り OECD Calculator を使用するようにしている。

厚労省の評価者を対象とする以下の実地の研修を実施した。

1. 植物代謝・家畜代謝のデータと残留物の定義の決定（今後さらなる研修が必須）
2. Aldrin/Dieldrinについて、モニタリングデータに基づく基準値設定の方法（注：登録農薬のMRLとは異なる）
3. 評価書に記載すべき事項
4. Kruskal/WallisのU検定において、食品群の残留濃度が同じ母集団に属さないと判定された場合に、残留データをどのように活用するのか
5. 審議会による新食品群のMRL設定への活用の決定を受けて、既存のMRL

を新食品群に整合するように記述するために検討すべき事項

(ア) MRLは、リスクに基づいて記述すること。
日本人が全くまたはごく少量しか摂取しない食品は明記する必要がないこと。

(イ) Codexの分類や厚労省告示にある食品を網羅しなければならないと考える必要はないこと。

(ウ) Codexや海外のMRLを国内MRLにする際に検討する際に参照するために、各群に含む食品のリストを作るのは良いが、必ずしもCodexと同じリストにする必要はないこと（例、Codexのリストと USのリストとはずれがある）。
公表するのはリスクに基づくもののみでよいこと(わが国で消費されない食品を含む必要はない)。

特記事項として、OECD Calculator の使用により、OECD Calculator（Excel template）の問題点を厚労省が発見し、それに対応して、USEPA が OECD Calculator の Version 2 を発表した。

（4）今後の課題

今後、OECD ガイドラインに準拠したデータ要件と評価に関するガイドを作成すれば、それを部会で承認後、農薬業界への指導や厚労省の評価能力の向上を図る。そのための厚労省の評価者対象の研修も実施する予定である。

E. 研究発表

特になし

その他特記事項

1. 2019年7月18日、薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会委員対象の勉強会
2. 2019年7月30日、薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会、「食品中の農薬の残留基準値設定の基本原則について(案)」作成
3. 2019年10月29日、厚労省の残留農薬データ評価者に対する実際的な研修(アルドリン・ディルドリンその他)
4. 2020年3月25日、厚労省の残留農薬データ評価者に対する実際的な研修（食品衛生法上の現行MRLを、新食品分類に整合するように整理するための原理・原則）
5. 2019年4月8-13日（中国、マカオ市）第51回コーデックス残留農薬部会日本代表団団長
6. 2019年5月7-17日(カナダ、オタワ地区) Extra Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues, FAO Panel参加
7. 2019年9月12-26日（スイス、ジュネーブ市）Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues, FAO Panel参加

添付資料 1

作物残留試験に関わる OECD Guideline

OECD Guideline for the Testing of Chemicals 509 (September 2007)
Crop Field Trial

以下は、翻訳ではなく、Guideline に記載されている事項のうち、日本における MRL 設定に関連する事項を、ポイントごとに記述したものである。

斜字体は、ガイドラインにおける項目のヘッドラインを示し、斜字体ではない太字は理解を促進するために山田が付加したヘッドラインを示す。最もハイレベルのヘッドラインは英語の記述を維持した。専門用語に日本語の定訳がない場合は、誤解を防ぐために英語のまま記載するか、訳語に注釈を付加した。

また[ ]内に山田の注釈（特記または追加事項や日本での状況）を追加した。

PURPOSE AND SCOPE

作物残留試験（Crop field trials または Supervised field trials）とは (para. 1)

- 生鮮農産物(raw agricultural commodities, RAC)に残留または付着して残留する農薬の濃度を知るために実施
- 農薬の使用基準を反映するように計画
- 残留しうる最も高い濃度を知るために実施
- 親化合物や代謝物の相対的かつ絶対的な量の情報をもたらすことにより、残留物の定義を選択するためにも有効

作物残留試験の目的 (para. 1)

- 提案されたまたは承認されたGAPに従って使用した結果として作物中に残留する濃度範囲の定量
- 適切であれば、農薬が作物中で減衰する速度の決定
- 暴露評価に必要なSTMR[1]やHR[2]値の決定
- MRLを推定

ガイドラインがカバーする作物残留試験 (paras 2, 3)

- 野外における試験だけでなく、温室(ガラスまたはプラスチックでカバーされたもの)内での試験や、ポストハーベスト処理（例、貯蔵穀類、果実のワックスまたはディップ処理など）等による残留試験をカバー
- OECD加盟国で作物残留試験を実施・報告するための調和した方法を提供。本ガイドライン及びGuidance Document on Overview of Residue Chemistry Studiesは、OECD加盟国に、作物への農薬使用について包括的データ提出をするための完全な作物残留試験データの作成に関する情報を提供

---

[1] [YY 脚注]Supervised trial median residue: Critical GAP に従って農薬を使用した場合に最もありそうな残留濃度。Critical GAP に従って農薬を使用して実施した作物残留試験の残留濃度の中央値。

[2] [YY 脚注]Highest residue: Critical GAP に従って農薬を使用して実施した作物残留試験における残留濃度の最大値

MRL 設定のためのデータセット (para. 4)

このガイドラインは、MRL を設定するために、どのような場合に完全なデータセットが必要か、または軽減データセットを使えるのはどういう場合なのかについてガイダンスを提供

「完全なデータセット」とは

- 適切なMRLと、作物への新規使用承認とを得るために必要な、Critical GAP (cGAP)に則った作物残留試験の数

「軽減データセット」とは

- 新規または修正された登録やMRLを得るのに適切であろうと考えられる、cGAPに則った、より少ない数の作物残留試験
- 残留がないか、定量下限を超える残留が想定されない場合には十分。例えば、植物防疫製品を、極めて長い休薬期間（PHI）または種子処理、発芽前、定植前などに使用した場合など

ブリッジング試験 (para. 5)

- 製剤の変更、新規製剤及び異なる使用方法について、統一的なアプローチ（Harmonized approach）を実施するために必須な道具の一つ
- データ外挿の目的で、通常異なる製剤や使用方法について実施。しかし、隣同士のプロットでの試験結果の比較(side-by-side comparison)を伴うとは限らない。
- 農薬の使用対象の作物が幅広い範囲に及ぶためブリッジング作物残留試験が必要である場合、データは少なくとも3つの主要な作物群(一つの群について1つの作物、例えば一つの葉菜、一つの根菜、一つの果樹果実、一つの穀類、一つの油糧種子)について作成。試験は高い残留レベルを示す作物（収穫時または収穫間近に使用する作物）について実施。
- もし、新規剤型や異なる使用法で残留が有意に高い場合、完全なデータセットの作成が必要

作物残留試験数の 40%削減 (para.6)

[YY 注：日本における MRL 設定には余り関わりがない]

- OECDのすべての国への作物・農薬の組み合わせについての包括的データ提出において、例えば全ての作物残留試験が同一のcGAPに基づいて行われているという特殊なケースでは、全ての作物残留試験が評価のために提出されており、全てのデータセットにおいて残留レベルが同じような範囲にある場合、作物残留試験の合計（各国または地理的地域内で要求される全ての試験の合計）を40%削減可能
- 全てのOECD加盟国における登録とMRL設定に必要な暴露評価の統一的な基礎。作物残留試験の軽減により、国際的に唯一存在するデータセット作成のために、OECDのすべての加盟国の農薬規制当局が、より幅広い規準を決定することが可能

一シーズンのみの作物残留試験 (para. 7)

作物残留試験が、広い範囲の作物生産地帯で実施され、多様な気候条件が考慮に入れられている場合には、1 シーズンのみの作物残留試験でも十分

±25%ルール (para.8)

[YY 注：すでに厚労省でも使用]

- 有効成分の使用量、使用回数、またはPHIのみが、25%以内の増加または減少である場合(他の条件は同一)、残留濃度は同様と考慮
- 作物への使用に関する作物残留試験をまとめて完全なデータセットとする場合、±25%ルールはcGAPのどの要素にも適用可能
- ±25%ルールは、cGAPの２つ以上の要素に一度に適用するのは不可

試料 (para.9)

- ８例以上の作物残留試験がある場合、農薬処理区から各試料採取時に１試料ずつ採取することを要求
- ７例以下の作物残留試験しかない場合は、OECDのいくつかの加盟国では、独立して採取された２試料の分析を要求

[YY 注：米国では、２連の試料採取を要求]

PLOT AND CROP CHARACTERISTICS

プロットの大きさ

圃場試験の場合 (para. 10)

- 作物によって異なるが、通常の使用法を反映した方法で試験物質を使用でき、代表性のある試料をバイアスなしに採取できるほど、十分大きいこと
- 通常、畝で栽培する作物（row crops[3]）では10 m^2以上、果樹園やブドウ畑では典型的には４本の果樹または８本のブドウの木(またはつる性の木本)に相当

[YY 注：日本では少し過大な要求である可能性]

- プロットは、機械による試料採取や収穫における汚染が避けることができるほど大きいこと
- 無処理区(control plot)を、処理区のすぐ横に設定。栽培を処理区と同様または同一の条件下で実施
- 処理区と無処理区がすぐそばにある場合には、汚染が起きないようにするための措置を実施(例えば、必要に応じてカバー)
- 圃場 (plot)の間には緩衝区間を設けるか、圃場を適切に分離。適切な緩衝効果を保証するための圃場間の最小距離は決められないが、作物残留試験の計画の前に風向き、傾斜やプロット間の距離の全てを検討

ポストハーベストの場合 (para. 11)

- 貯蔵された作物(じゃがいも、穀類、種子等)のポストハーベスト処理は、異なる条件(温度、湿度、通気等)の複数の貯蔵場所で実施。作物の貯蔵（袋詰め・箱詰め・積上げから、大規模サイロや果実の処理のための自動化されたシステム等）と処理の条件に関する情報を提供すること。

作物の品種 (para. 12)

- 品種は有効成分の吸収や代謝に影響
- 作物残留試験に使った品種を特定すること
- 作物残留試験においては、商業的な重要性、季節による変化(例、冬小麦と春小麦)、品種による生育期間や成熟期間（例、早生と晩生の果実）及び形態学的な差異（例、チェリートマト）等を考慮して品種を選択
- 上記により、代表的または現実を反映する広い範囲の使用条件をカバー

作物維持と栽培方法 (para. 13)

- 主要な商業栽培地で、中心的な作物の維持と栽培方法を反映する作物残留試験を実施。特に残留濃度に影響を与える栽培方法(例：袋掛けと無袋、畝間潅水と上からの潅水、ブドウの葉の剪定)を反映。

---

[3] [YY 脚注]残留農薬の分野では、畝や条で栽培する作物のうち、あまり高さがなく、面積当たりで農薬の使用量が決まるとされているものを指す。葉菜などの野菜類のほとんどや穀類等が含まれる

作物と圃場維持のための資材 (para. 14)

- 作物残留試験の対象ではない他の植物防疫資材(肥料、植物成長調整剤等を含む)を作物の維持のため（例：雑草、病気、その他の病虫害の管理）に試験の最中に使用
- これらの資材は、残留物の定義に含まれている化合物の分析に影響しないものから選択
- 選ばれた資材は、処理区、無処理区の両方に同様に（使用量と時期）施用すること

土壌の分類 (para. 15)

- 全ての試験圃場において土壌の分類を特定し、記録
- もし農薬が土壌に直接施用される場合、異なる分類の土壌を含む圃場で試験を実施

[YY 注：米国の土壌分類で書かれており、日本の分類にする必要]

温室における使用 (para. 16)

- 室内での作物栽培にはいくつかのシナリオがあり、例えば温室(ガラスまたはプラスチックにおおわれている)、プラスチックのトンネル、日陰にした室内等、環境からの異なるレベルの保護を提供
- 作物残留試験においては、温室栽培は、作物が定植から収穫までずっと完全に囲まれた構造の中で生育すると定義

[日本の GAP と同条件で実施していれば､海外で実施した作物残留試験も MRL 設定に利用可能と、農水省・厚労省ですでに決定。実施のガイドラインが必要]

TEST SUBSTAMCE

試験物質の扱い (para. 17)

- 試験物質とは、特定の農産物について残留データを作成するために作物残留試験で使われる製品または製剤

保存 (para. 18)

- 試験物質は試験の期間中適切な条件で保存し、調製または混合したら直ちに施用

環境条件 (para. 19)

- 強風・降雨の最中、または降雨が施用のすぐ後に予測されているときには、試験物質の施用は不可

タンクミックス、プリミックス、連続施用中の有効成分 (paras 20, 21)

- 一つだけの有効成分の残留データを作成する場合、以下の条件に整合していれば、タンクミックス、プリミックスまたは他の有効成分との異なる混合物について追加のデータは不要
  - 混合による相乗効果の証拠がない場合
  - 混合により、問題の有効成分の使用がcGAPを超えることがない場合
- 多くの場合、作物残留試験で有効成分と関連する代謝物が分離して分析できる限り(すなわち干渉なく分析)、有効成分は他の成分と混合されて（タンクミックス、プリミックス、連続使用）一つの処理区に施用される可能性。処理区から単一の試料を採取して、複数の有効成分を分析可能。相乗効果のあることが知られている有効成分の混合は上記の例外だが、登録された製剤にはそういう混合はされていない。

製剤 (剤型)

作物残留試験に使用する剤型 (para. 22)

- 試験される農産物に使用される製品に可能な限り近いこと
- 「完全なデータセット」は、一般的に特定された作物への使用が予定されるただ一つの有効成分について作成
- 追加の製剤の登録に必要なデータはケースバイケースで決定
- 場合によっては、新しい剤型について「完全なデータセット」が必要なこともあり、ブリッジング試験(通常最初に登録された製剤に比べると「軽減データセット」に相

当)または追加のデータなしに追加の製剤を登録できることもある。
- 判断の基準は、組成と物理的形態、使用方法、使用時期について製剤がどの程度類似しているかによる

有効成分の放出がコントロールされた剤型 (para. 23)
- 例えば、ある種のマイクロカプセル製品には通常、その特定の使用方法に合わせた「完全なデータセット」が必要。他の製剤より高い残留がありえるため。

それ以外の剤型 (para. 24)
- 2つのグループに分類
  1. 使用前に水で希釈
  2. そのまま使用(粒剤/GR、粉剤/DP)
- そのまま施用する粒剤は、すでに他の製剤についてデータがあるかどうかにかかわらず「完全なデータセット」が必要。粒剤と他の剤型では同じ有効成分であっても作物による吸収が異なるため。
- もし、同じ有効成分の乳剤/ECや水和剤/WPのように懸濁液として施用される製剤のcGAPにおけるデータがあれば、粉剤のデータは不要。

使用前に水で希釈する剤型 (para. 25)
- 最も普遍的なのは、乳剤/EC、水和剤/WP、顆粒水和剤/WG、SC剤/SC、水溶液/SL
- これらの剤型を、種子、作付け前・作付け時・出現前の作物、または作物の出現時に施用する場合、残留データは剤型間で読替えが可能
- これらの剤型を、葉面散布ではなく土壌施用する場合も読替え可能

種子処理用にデザインされた剤型 (para. 26)
- 例えば種子の乾燥処理用のDS粉剤や、種子処理用のES懸濁液の場合、これらの剤型の残留データは読替え可能

水で希釈して、シーズンの後期に葉面散布する剤型 (para. 27)

[YY 注：読替えについては、すでに導入を決定。詳細についてガイドラインが必要]
- 読替可能かどうかの判断は2つの要素による
  1. 製剤中の有機溶剤または油の存在
  2. 休薬期間（pre-harvest inerval, PHI）
- 有機溶媒や油を含まない剤型の場合、一般的に広い範囲での読替えが可能。
  - PHIが7日より長い場合、残留の目的から、それらの剤型は同等
  - PHIが7日以内の場合、残留がそれらの剤型で同等であることを示すためにブリッジング試験が必要
  - 例外として、WGは、WPと十分類似しているので、PHIに関わらず、これらの間で残留データの読替えが可能

有機溶媒や油を含む剤型 (para. 28)
- ECや油性エマルジョン/EOの場合、データの必要性は規制当局によって相違
  - 有機溶媒や油を含まない剤型(para. 27)と同じグループとして検討する国では、PHIが7日より長ければ、残留データはWG, WP及びEC等の剤型間で読替え可能

[YY 注：日本では圃場が少ないため、厚労省はこの方式を取り入れるべき]
  - 種子処理や栽培早期の施用、土壌処理を除いて、ECやEOのような剤型を用いた残留試験データを、他の剤型の評価には活用しない国では、ECやEOのシーズン中期から後期の施用について、他の剤型からのデータがこれらの剤型の登録に活用できるかどうか判断するためのデータ(para. 29参照)を必要とする。

2 つの剤型の残留データが同等でない場合 (para. 29)
- ブリッジング試験について2つのオプションがある
  - 最初の剤型に必要とされた例数の50%を削減した「軽減データセット」（しかし最低限4例必須）が、新たな剤型には十分。それらの試験では、新剤型を使用する。最初の剤型と新剤型のデータを統合しても、最初の剤型の試験で設定された

MRLの数値を高くする必要がない場合、新剤型の作物残留試験を追加する必要はない。
  - 最初の剤型と新剤型のデータを統合すると、最初の剤型の試験で設定されたMRLの数値を上げる必要がある場合、新剤型の「完全なデータセット」が通常必要となる。
- 新剤型のみを使用する試験の代替として、最低3例の隣り合ったプロットの比較(side-by-side comparison) を2つの剤型で実施した結果を提供可能。新剤型を用いた試験の結果が登録された剤型のものと同等またはより低い場合、残留の観点から、新剤型は同等とされ、追加のデータは不要。しかし、もし新剤型を用いた試験における残留が高ければ、新剤型の「完全なデータセット」が必要。

多くの作物への使用について、剤型を比較する場合 (para.30)
- ブリッジング試験(前段落を参照)は、もし3つの主要な作物(例、葉菜、根菜、果樹果実、穀類、油糧種子等)について残留の類似が示された場合には、すべての作物についての実施は不要。試験は、高い残留を示すと期待される作物で実施。

２つ以上の剤型を登録したい場合 (para. 31)
- 同等と判断できない2つ以上の剤型を登録したい場合には、1つについて「完全なデータセット」、他については「軽減データセット」が必要

水溶性の袋の使用 (para. 32)
- 典型的な例としてWPを水溶性の袋に入れて使用する際は、もし袋に入れていない場合の適切なデータがあれば、追加の残留データは不要

有効成分が一つ以上の塩として使用される場合 (フェノキシ除草剤等) (para. 33)
- 有効成分の異なる塩は、残留の観点から、ほとんどの場合、使用時期に関わらず同等と判断
- 新たな塩に対して追加のデータが必要な場合は、カウンターイオンが存在し、表面活性を示したり、解離の程度が大きく変化したり、有効成分イオンとキレートを作ったりする場合等

有効成分が複数のエステルである場合 (para. 34)
- Para. 28の有機溶媒または油を含む製剤の場合と類似
- ある当局は、異なるエステル製剤は、PHIが7日を超える場合には同様の残留をもたらすと判断。PHIが7日以下なら、異なるエステル製剤を新たな剤型とし、データ要件を検討
  - 有効成分の新たなエステルについて、以下を実施：
    - 「軽減データセット」（最初の製剤の例数の50％軽減、<u>最低限4例</u>）または
    - 隣り合った圃場で最初のエステルとの最低3例の比較試験
- 別の当局は、para. 25に記述した例(シーズン早期または土壌への施用)以外の全ての使用について、新たなエステルの「軽減データセット」または隣り合った圃場での比較試験を要求

有効成分を異なる濃度で含む製剤 (para. 35)
- 同種の剤型で有効成分濃度だけが異なる場合、その結果としてcGAPが有意に異なることがなければ、新たなデータは不要

有効成分以外の製剤に含まれる物質 (formulants)を変更する場合 (para. 36)
- ケースバイケースで評価
- 溶媒やその他の不活性な成分は、有効成分の植物への吸収や移動に影響を与える可能性
- 湿潤剤 (wetting agent)等、製剤に含まれる化合物（有効成分は除く）は、有効成分の植物への浸透を向上させる効果があることがあるので、特にPHIが7日以下の場合には、特別な考慮が必要。この場合、有効成分と関連代謝物の残留が新たな化合物の追

加によって有意に増加しないことを示すために、少なくともブリッジング試験が必要な可能性

溶剤類 (para. 37)

- 水以外の希釈剤やキャリア（例、植物油や鉱物油）を使用する場合には、追加の残留データが必要かどうかケースバイケースで判断

アジュバント (para. 38)

- 試験物質や有効成分の効果を高めるために散布液タンクに加える製品
- 湿潤剤やspearder-stickers, 非イオン性界面活性剤、作物油濃縮物等のアジュバントは植物中または植物上での農薬の付着、浸透、残留を高める[YY注：わが国では「展着剤」として農薬登録されている]
- アジュバントを特定せずに使用できるとラベルに書かれている試験物質の場合、作物残留試験においてもアジュバント（現地で入手可能なもの）を、ラベルに勧告されている方法の通りに使用
- 特定のアジュバントの使用をラベルで勧奨している試験物質の場合、作物残留試験においても、そのアジュバント、または同様の性質を持つ他のアジュバントを、ラベルに勧告されている通りに使用

APPLICATION PARAMETERS

散布液量 (para. 39)

- 散布液量 (spray volume)は、対象の作物（例えば、樹木かRow cropか）や病虫害によって異なる
- 作物残留試験は、典型的な商業的農法に従って実施し、実際に散布される量をカバー
- 施用の全てについて、表面積当たりの散布量を記録
- 航空散布と地上散布の比較についてはpara. 54を参照

使用量（Application rate）の記述法

使用量 (para. 40)

- 施用の全てについて、使用量を、単位面積当たりの製品量かつ・または有効成分量(例、kg a.i./haまたはlb a/i./acre)で記述。適切なら、使用時の濃度(例、kg a.i./hLまたはlb a.i./100 gal)も記述。

作物の高さと容量 (volume) (para. 41)

- Row crops （じゃがいも、小麦、大豆等）に対しては、圃場の面積（長さ x 幅）がキーとなる全面散布（Broadcast spray）による施用が普通
- Tree nutsや果樹及び樹木のように仕立てた野菜やつる性の作物の場合、樹幹や樹木の高さ（つまり施用された葉面の高さ）を記録し、必要に応じて作物や樹木の列による使用量の推定や単位面積当たりの使用量の計算を可能に

散布液の濃度 (para. 42)

- 「背の高い」作物（果樹やつる性の作物、ホップ、温室で栽培されるトマト等）には特別な考慮が必要。これらについては水平のブームによる散布は一般的ではなく、霧状の散布のための機器がよく使用。
- このような作物の作物残留試験を計画・実施する際には、それぞれの生育段階における散布液濃度(例、kg a.i./hL)及び散布液量(例、散布液L/ha)を検討し、記録することが重要

種子処理への使用 (para. 43)

- 種子処理の場合、通常一定の種子重量当たり(例、g a.i./1000 kg seed)及び播種の割合(例、kg seed/ha)を記述

ポストハーベスト処理 (para. 44)

- 果実のディップやdrenchの場合、溶液中の有効成分濃度(例、kg a.i./hL)及び容量あたりで処理された果実の量、何秒接触したかを記録。処理中の有効成分濃度を維持するために、ディップ液を補充する場合には、追加の「補充」処理も記録
- 貯蔵されている作物（例、じゃがいもや穀類）のpowderingやfogging, sprayingの場合、使用量(例、kg a.i./ton)を記録

燻蒸 (para. 45)

- ガスまたはエアロゾルで処理されたバルク商品の容量に対する使用量を記述（例、g a.i./m^3）

使用量（Application rate）、使用時期及び頻度

ラベルの最大使用量 (para. 46)

- 作物残留試験で試験物質を施用する場合、ラベルに書かれている最大使用量で（つまりcGAPに従って）使用

使用回数と使用の間隔 (para. 47)

- 作物残留試験においては、cGAPを反映すること

PHI(日数)対指定された生育段階における最終施用 (para. 48)

- 施用の時期は、作物の生育段階（例、開花前、50％の出現等）かつ/または収穫前の日数で管理
- PHIが指定されている場合、作物残留試験ではPHIをcGAPの要素として使用、生育段階の重要性は低い
- 生育段階（例、出芽前、植付け時、開花前、止葉や穂の出現時等）がGAPの決定的な要素であって、PHIは二次的な重要性の場合もある。この場合、適切なPHIの幅（例、一年生の作物の出芽前の施用における植付けから収穫までの期間の幅）を評価するために、できるだけ多くの品種を含めることが重要。
- 全ての試験で施用時の生育段階（BBCHコードの使用が望ましい）及びPHIを記録

***残留減衰試験** (paras 49-52)*

- 作物の可食部(人の食品または家畜飼料)が形成されたか、農産物の最も早い収穫時期またはその直前に残留が予想される使用の場合に重要
- 残留減衰試験は残留評価において以下の目的で使用：
  - PHIより後の収穫において残留がより高くなるかを決定
  - 残留の半減期を推定
  - GAPで示されたPHIの前後の収穫時期を減衰試験に使うが、PHIを変更した場合に残留濃度に影響があるかどうかを決定
  - 試験で使用されているPHIと直接同じではなくても、PHIを含む使用方法を支持できるかどうかについて、ある程度の内挿が可能
  - GAP条件における農薬の代謝についての理解の増強や残留物の定義に含む適切な代謝物の選択に使える、ある程度の期間における農薬のプロファイルを決定
  - じゃがいもや落花生等の作物に使用する浸透移行性の物質が最終施用後何日で最大残留濃度に達するかを決定
- ある当局は、収穫期近くにおける有効成分と関連代謝物の動態を見るために作物残留試験の50％を減衰試験にすることを要求
- 作物の異なる生育段階にある異なる部位が食品または飼料として使用される場合（例、穀類の新鮮飼料(forage[4])、乾燥飼料（fodder[5])、種実、わら(straw[6])）には必ず、

---

[4] [YY 脚注]Forage とは、未熟作物の全体を収穫し、乾燥させていないもの。本稿では「新鮮飼料」と記述

[5] [YY 脚注]Fodder とは、通常成熟した作物をそのまま収穫したものまたは人の可食部を収穫した残渣であって、自然にまたは人工的に乾燥したもの。

[6] [YY 脚注]Straw とは、人の可食部を収穫した残渣。通常、自然に乾燥した状態。

作物当たり一つを超える部位の試料採取が必要。この結果、一つの減衰試験で2つ以上の試料採取日のセットが必要。

- ターゲットとされるPHIに加えて、3—5種の試料採取日を含むべき(実際的であれば、0日にも試料採取)。これらの試料採取日はほぼ等間隔とし、もし、商業的な成熟期間の幅において可能なら、ターゲットのPHIの前と後で試料採取。
- cGAPが複数の施用を含んでいる場合、最終施用前の施用の寄与と残留の半減期の影響を知るために、最終施用直前の試料採取が望ましい

逆減衰試験（Reverse decline trials）*(para. 53)*

- 異なる圃場に、ターゲットとされる収穫日までの日数を変えて施用
- 全ての圃場で、同じ日(商業的に適切な収穫日)に収穫することにより、最終施用日から収穫日までの期間が異なることになる。作物の収穫日が狭い範囲の場合には適切な方法。例えば、施用から短期間で収穫するような、成熟期の近くに収穫前乾燥のための施用の評価に使用可能。

使用機器及び方法

地上施用対航空施用 (para. 54)

- 提案されている使用法が、超低容量の散布や水以外の希釈剤(例、植物油)を用いた希釈を含まない場合、製品のラベルがRow cropについて1エーカーあたり2ガロン以上または樹木作物については10ガロン以上の航空散布を記述していれば、cGAPを反映する地上散布の適切なデータがあれば、航空散布の装置を使用する作物残留試験は不要

手持ちの装置対商業的な装置 (para. 55)

- 試験物質の施用には、カリブレーションを実施できる限り、手持ちの装置でも商業的な装置でも使用可能
- 手持ち装置を作物残留試験に使用する場合、商業的な実際の使用法に似せた方法で使用
- 一個(例、一個のトマト)の残留データを作成する場合でも、商業的な散布による施用とは似ていない小規模圃場用のPresicion sprayerの使用は避けること
- そのような試験では適切なノズルの選択を検討すること

同じ作物に対する異なる施用方法

土壌施用 (para. 56)

- 例えば、作物の出芽前、植付け前の土壌への混合、植付け時の溝への施用、ドリップ/drench及び種子処理の多種の方法
- 多くの製品のラベルは、出芽前の施用について、植付け前、植付け時または作物の出芽前等のオプションを記載
- 試験物質の施用による残留を決める目的で、これらの土壌施用を分類。植付け後一週間以内に作物が地上に出現する場合は、植付け時の使用と同等と判断
- ラベルが、土壌への混合か、それに続く土壌表面への施用、のどちらかを選べることを示していれば、この両方の方法を反映する残留データが必要

葉面散布 (para. 57)

- 全面散布（Broadcast）や吹付け（Airblast）等、多くの方法
- 農薬製品のラベルで許容されているならば、これらの複数の方法を作物残留試験で反映

葉面散布と土壌施用 (para. 58)

- 代謝試験の結果が異なる結論を示すのではない限り、葉面散布は、土壌施用や種子処理と比べて最悪のケースであり、cGAPである。食品や飼料となる部分がすでに形成され、直接農薬に暴露するような葉面散布の場合は、特にそうである。

同じ作物に複数の施用方法の適用 (para. 59)

- 1シーズンに同じ作物に同じ農薬が違う使用方法で施用されることはあり得る(例、種子処理または植付け前の土壌への混合、それに続く全面葉面散布)

- 代謝または放射性物質追跡試験は、最大の残留濃度をもたらす作物残留試験のシナリオをデザインするのに最良のアプローチを決定するのに有用。
- 最終の残留への相対的寄与を示すデータがなければ、施用の全体計画を反映する試験が必要（例、植付け時散布及び葉面散布）

FIELD SAMPLING

RAC (raw agricultural commodity；生鮮農産物)の特性 *(para. 60)*

- 作物残留試験の試料は、商業的に取引されている生鮮農産物（RAC）
- ある種の作物においては、RACは一つだけではない。例えば、トウモロコシ[YY注：スイートコーンは除く]のRACは、種子、乾燥飼料（種子を収穫した残渣）及び新鮮飼料(未熟の植物体)。
- 表１[7][YY注：省略]は各々の作物からのRACのリストを含む。
- ある種の作物は、剥いたり、不要な部分を除いたり、洗浄したりせずに輸送。従って、このような処置は、商業的な輸送の前に実施されるのでない限り、試料に対して不可。しかし、リスク評価[8]に使用するために、不要な部分を除いたり、洗浄したりした試料を申請者が作成することもある。

試験場所ごとの試料数（処理区、無処理区）(paras 61, 62)

- 作物残留試験の各場所において、1つのマトリックスについて一つの処理区ごとに最低1試料の採取と分析が要件
- 処理区の試料に加え、作物残留試験の各場所において、無処理区から1つの試料を採取し分析
- 減衰を見る目的で複数の試料を採取するのではない試験においては特に、各場所の各マトリックスについて、輸送や分析中に問題が起きた場合に備えて、第2の試料を独立して採取
- ある当局は処理区において2試料を採取することを要求 (para. 62)
- 特定の場所での結果が疑わしい場合や他の場所の結果と不整合の場合には、2つ目の試料の分析は有用
- 2つ目の試料の分析をするべき他の理由は、シーズン後期の葉面散布に起因する高残留濃度の存在（シーズン早期の使用で残留が＜LOQの場合には、2つ目の試料の分析はデータとしてほとんど無意味）
- OECDの全ての加盟国のためにデータを作成する場合、「完全なデータ提出」(paras 105-112)に記載するように、最低８例の作物残留試験が必要
- ある当局は、特定の作物について8例未満の試験しかない場合（剤型や使用方法の比較のためのブリッジング試験を含む）、各場所当たり処理試料2つ以上の分析を要求
- NAFTAの規制当局の要件を、NAFTAのみに提出する場合と複数のOECD地域に提出する場合を表に示す[YY注：要求がわが国では達成困難であるので、省略]

コンポジット対単一ユニット試料 (para. 63)

- 作物残留試験ではコンポジット試料が適切
- 申請者は、短期経口暴露評価に必要な、ユニット間の変動を知るために、圃場から複数の単一ユニット試料を採取することもあり

最低試料サイズ（数および重量）(paras 64, 65)

- 圃場からの最低試料サイズに関するCodexガイドライン（表1）に従う
- 作物残留試験の各場所から各作物（例、穀類新鮮飼料、穀類乾燥飼料、穀類種実及び穀類わら）について無処理区の試料も採取し分析

[7] [YY 脚注]表 1 は、Codex のガイドラインを FAO Manual に転載したものを、さらに転載したものであるため、本稿では省略

[8] [YY 脚注]残留農薬の場合、経口暴露評価を指していることが多い

- 各マトリックスの無処理区の試料は、処理区の試料より通常多量。それは有効成分(および残留物の定義に含まれる他の化合物)の既知量をスパイクするのに十分な量が必要であるためと、試験における分析段階で同時に妥当性を確認するためにカリブレーションカーブを作成するため。
- 表1に含まれていない農産物については[YY注：つまりCodexガイドラインに含まれないもの]、同様の形態を持つ他の作物の部位に関する最低試料サイズに関するガイドラインを使用

一般的試料採取方法 (paras 66-67)

- 試料は、圃場からの作物の部位を代表するようにバイアスなしに採取
- 標準化された手順、例えば新鮮飼料用のラテン方格の使用、果樹の相対する四分円の上部・中部・下部からの果実の選択、穀物ソートを用いる大量の製品のコア試料の採取、圃場からの試料を4分の1ずつにしての縮分、の使用が望ましい（作物に特異的な手順についてはpara. 76と表 1 を参照）
- 試料はバイアスのない状態で採取するが、可能であれば、ブームの回転やその他の散布機器のオン/オフ(端の場合)またはスプレーノズルが散布のオーバーラップがあるようにデザインされている場合（edge効果）に影響を受ける圃場の縁や端を避ける
- パスが1回を超える場合、不適切な散布のオーバーラップによる高濃度を避けるために圃場の中心からの試料採取は避ける

サブサンプルの採取 (para. 68)

- 大きな食品(例、キャベツ、メロン等)から、圃場で四分割して相対する4分円を採集
- 果肉と果皮のようなマトリックスについて分析が計画されている場合（例、経口リスク評価の精密化）、果実全体を分析所に輸送し、果皮と果肉の相互汚染発生を防ぐ。
- 到着後すぐに、皮を剥いたり、種を除いたり等、分析のために調整し、冷凍するのである限り、試料をBlue iceのような冷却材とともに試料調製場所に夜間に送るのは許容可能。

殻や種子の除去 (para. 69)

- 圃場における殻の除去や、種子や豆の莢からの除去等は、汚染する可能性を排除する手順で実施（例えば、清潔な装備の使用や、圃場の試料ごとに手袋を替えること等）されている限り許容可能
- 分析のために、果皮と果肉、種子（核）と果肉を分離するような食品では、それぞれの重量を測定

手または機械による収穫 (para. 70)

- 特に記載(例、cotton gin byproducts)されていなければ、残留分析のための試料は手で採取可
- 作物残留試験における機械による収穫についての一般的な要件はないが、収穫時の現実的な残留の決定のためには、機械で収穫された試料も有用

洗浄、*ブラッシング (para. 71)*

- 表面清掃(例、異物の除去)以外、残留に影響するような清掃・洗浄は不可
- 土のついた根菜で、軽いブラッシングが土を除くには不十分である場合、最小限の冷たい流水でやさしくすすぐのは可（試料採取方法を参照）

汚染 (para. 72)

- 汚染を避けるため、無処理区の試料を処理区の試料より先に採取
- 試料がそれぞれの処理を代表すること
- 汚染や腐敗を避けること

貯蔵・輸送の条件と時間 (paras 73, 74)

- 試料の劣化や残留物の分解を避けるために、試料は採取後ただちに冷凍
- 一度冷凍した試料の解凍や融解が起きないようにするべき。従って冷凍試料の輸送には冷凍車を使うか、ドライアイスと同梱

- 試料が分析機関または加工施設に到着時、各マトリックスに適切な方法で冷凍するのであれば、採取直後に飼料をBlue iceのような冷却材とともに夜の間に輸送するのは許容可能
- 通常の冷凍保存は、ある種の農薬（例、燻蒸剤）には不適切であり、残留分析を直ちに行う手配をすべき

保存の形態 (ホモジネートか農産物か) (para. 75)

- 冷凍保存試験がどのように行われたかや、有効成分と関連代謝物の分析法に従って、分析まで保存。ある種の分析法では、ホモジネーションと抽出とをは同じ日に実施。
- 試料全体の保存に比べて、ホモジネートの保存はワーストケース（分解がより多い）（OECD Guideline “Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities”参照）[YY注：日本語版については本報告書の渡邉博士の報告書参照]

***試料採取方法の詳細** (para. 76)*

- 平常の収穫時期における成熟作物の試料を採取。各々の農産物の試料サイズや分析部位については表1を参照。

[YY 注：表 1 は略]

果実と木の実 (para. 77)

- 各樹木を一周するか、樹木または植物の全ての部分(高部・低部、葉によって農薬から保護されているか・農薬に暴露しているか)から果実を選択
- 畝で栽培されている小果実では、両端を除いて、果実を畝の両側から採取
- 樹木・植物の果実の密度に従って、果実の量を選択（果実の密度が高いところからはより多く採取）
- 商業的に販売可能なものならば、大きい果実と小さい果実の両方を採取（減衰試験のために未熟試料をとる場合を除く）

バルブ野菜[9]、根菜類 (paras 78-88)

- 圃場の全ての部分から採取。ただしEdge効果を避けるために、圃場の縁や畝の端からの採取は不可
- 試料採取のポイント数は、その作物の試料サイズによる
- 生鮮野菜の代表的試料を得るために、付着している土をブラッシングまたは必要であれば冷たい流水により除去
- 現地の農業または商業的な慣行に応じて、上部の葉部分を除去。除去した場合は詳細な方法を記載
- 上部の葉部分は、動物飼料（にんじん、じゃがいも）や人の消費に使われない場合、廃棄。動物用飼料として使われる場合は他の部位とは別に袋に入れる

アブラナ科野菜、葉菜、茎葉野菜、マメ科野菜、果菜とキノコ類 (paras 81-84)

- 縁や畝の端を除いて、圃場の全ての部分から試料を採取
- 試料採取のポイント数は、その作物の試料サイズによる
- 豆のように、葉によって散布から保護されているような作物では、豆だけではなく、散布される農薬に暴露している部位も採取
- 生鮮野菜の代表的試料を得るために、付着する土をブラッシングまたは必要であれば冷たい流水により除去
- アブラナ科野菜や葉菜の場合、明らかに腐ったり枯れたりした葉を除く以外は、葉を切り取るのは不可。切り取った場合にはその詳細を記録。外側の葉を、圃場で廃棄したのか、試料に含まれているのかを明確に記述。

穀類 (paras 85-87)

- 圃場が小さい場合、必要に応じて圃場全体から採取

[9] [YY 脚注]Codex 分類においては、玉ねぎ、にんにく、ねぎなどの Allium 属野菜

- 圃場が大きいが、機械的収穫が実施されていない場合、圃場のうちから選択した短い１２の畝から採取。茎の地上から15 cmの高さで刈り取り、種実とわらを分離
- 作物の部位の分離に機械を用いる場合、汚染を防止する措置をとる。この分離は分析機関でやるのがベスト
- 圃場で機械によって収穫する場合、種実とわらバルク試料を得るために、収穫機で等間隔に各々最低12の便宜的試料（Grab samples）を採取

穀類/豆類/イネ科作物/油糧種子－家畜飼料 (para. 88)

- 商業的な慣行に従って刈取りまたは採取
- 圃場で機械によって収穫する場合、種実とわらバルク試料を得るために、収穫機で等間隔に各々最低12の便宜的試料（Grab samples）を採取。汚染がないように措置(例、無処理区から処理区より先に試料採取)
- 乾燥するために集められた作物の場合、動物飼料に使われる時期に相当する時期に、集められた乾燥作物から試料採取
- 新鮮な[YY注：緑の]葉を切って干し草(hay)を生産する場合、上記のタイミングは通常、水分含量が商業的な慣行で典型的な干し草のレベルになる時期
- 切取る前にすでに植物が乾燥している場合（例、トウモロコシのStover、他の穀類のわらなど）、切り取ったものから試料を採取。圃場で集めてから採取するのは不可。

サトウキビとその葉 (para. 89)

- 圃場の12箇所から茎全体を選択、茎の全長から20 cmの部分を採取。各圃場から約2 kgのサトウキビの緑の葉を採取。

完熟豆類、*油糧種子*、*コーヒー*、*ココア (para. 90)*

- 圃場の最低12箇所から成熟種子を採取
- 手で収穫する場合は、通常、種子が莢に入った状態で分析機関に送付(コーヒー・カカオ豆を除く)
- 機械で収穫する場合は、通常種子のみを分析機関に送付
- 縁と端を除いて圃場全体から試料採取
- [YY注：コーヒーとカカオは、わが国で商業栽培ができないので省略]
- 樹木・植物の果実の密度に従って、莢や果実の量を選択（密度が高いところからはより多く採取）
  - 綿実、落花生、ごま種子、西洋あぶらな種子：通常の収穫時期に採取
  - ひまわり種子、紅花種子：手で試料採取する場合、花であった部分全体を採取。機械で試料採取する場合、分析機関には種子のみを送付
  - [YY注：コーヒー、カカオについて省略]

ハーブ類とスパイス類、茶葉、ホップ (paras 91-93)

- 商業的な慣行に従って試料採取
- 消費される植物部位のみを採取
- ホップについては植物全体から、両側、上下、農薬に暴露されているかいないかに関わらず、ホップのコーンを採取
- 縁と端を除いて圃場全体から試料採取
- パセリやチャイブのようなハーブやホップは新鮮な試料を採取
- 新鮮ホップのコーンは市場流通しないので、収穫後ただちに乾燥コーンを調製

貯蔵された農産物 (para. 94)

- 貯蔵された農産物のポストハーベスト処理は広い範囲の貯蔵施設をカバーするように実施し、妥当な資料を得るために適切な試料採取法を選択。そのために商業慣行を反映するか類似の方法で実施。この手順は農薬残留分析には許容可能
- 試料採取方法は、通常、下記の3種の貯蔵条件についてデザイン

バルクからの試料採取 (para. 95)

- 大容量のバルク容器（例、穀類またはじゃがいも）から代表的試料を採取するのは困難。可能であれば、他の容器への移送中に一定間隔で試料を採取
- プローブによる試料採取は代表的ではないが、貯蔵容器の全ての部位にプローブを届かせることができれば許容可能
- 多数の個別試料を採取し、混合・縮分して最終試料とする
- 試料採取において、貯蔵中で最大濃度である部位からのみ試料を採取することも重要。例えば、農薬の残留は、積んだじゃがいもの場合、通常、表層における方が高く、これを試料採取においても認識すべき。
- このような状態の残留濃度の変動をカバーするために、少なくとも3つの試料を採取し、残留を分析

袋に入れた農産物の試料採取 (para. 96)

- ランダムに試料採取
- 袋を大量に積んである場合、各袋から採取するのでないかぎり、代表的サンプルは採取できないが、実際にはいつも可能なわけではない。代替として、ランダムに選んだ多くの袋からプローブによって試料を採取
- 多くの場合、袋の表面に向けて農薬による処理が行われ、農薬の袋内部への浸透が必要
- バルク容器と同様に、少なくとも3つの試料を採取し分析

包装施設からの果実や野菜の試料採取 (paras 97, 98)

- 包装施設において果実や野菜にポストハーベスト処理をする場合、処理方法の変動による残留濃度の範囲を知るために、適切な数の試料を採取
- ディップまたは散布液の濃度、温度、処理時間、乾燥(処理後の)及びその後の扱いによる影響を検討する必要がある可能性
- ポストハーベスト処理した果実や野菜は、流通のための容器や小さなかごに包装して、室温または低温で一般的商業慣行に則って保存
- 処理した農産物が乾燥したら、０日のサンプルを採取
- 流通のための容器から、処理とその後の流通に予想される時間に合わせて試料を採取し、分析
- 残留物の消失または分解の速度には、処理された農産物が密閉または一部密閉した容器に入っているのか、閉じられていない状態にあるのかが影響
- [YY注：表1は前述の理由で省略]

***RESIDUE ANALYSIS** (para. 99)*

- 植物代謝で同定され、OECD Guidance Document on the Definition of Residue[10]を活用して策定したリスク評価用及び規制用の残留物の定義に含まれている分析対象物質を適切な分析法で定量（OECD Guidance Document on Pesticide Residue Analytical Methods参照）[YY注：本報告書の渡邉博士の部分を参照のこと]
- 試験物質に由来する分析対象物質の回収率についての情報を得るため及び妥当性が確認されたLOQを確立するために、分析法のいくつかの添加濃度における回収試験を、各作物残留試験の試料の分析と同時に実施

NUMBER OF CROP FIELD TRIALS

ある食品に関するデータセットの統合 (paras 100-104)

- OECDの加盟国や政治的な地域は、STMR, HR及びMRLの推定に必要なデータを作成するためにcGAPに従って実施する作物残留試験の例数とその地理的な分布について

[10] [YY 脚注]現在、OECD は Residue definition のガイドラインを作成中であるため、それを待ってから対応

要求

- 2つ以上の国や地域で同じGAPで実施した作物残留試験を評価する場合には、STMR, HR及びMRLの推定には同じ方法を使用
- GAPが似通っている場合、2か国または2地域で実施した作物残留試験の結果を、STMR, HR及びMRLを推定するのに評価[YY注：厚労省はすでに、GAPが同様か、Proportionalityが適用できる場合には、海外で実施した作物残留試験もMRL設定に使用できることを決定済み]
- OECD加盟国の現在のガイドラインでは以下の検討により作物残留試験の例数を特定
  - ➢ 作物の生産地域（生産方法によって定義または特定。例えば、下から灌水するのか上から灌水するのか、果樹の植栽密度）及び地域における土壌の性質や気候
  - ➢ 生産地域・国における作物の重要性（多くの場合、生産面積や生産量で決定）。これらの要素によりある作物が主要作物であるのかマイナー作物であるのかが決定。マイナー作物の生産面積や量を全ての国が決定しているわけではない
  - ➢ 食事中の重要性
- OECDの諸加盟国は、それぞれ、作物に使用するための登録と適切なMRLの設定のために必要な最低限の作物残留試験例数を要求
- 重要な作物生産地域からの作物残留試験データが入手できるように、そして作物残留試験において十分な種類の栽培方法が反映されているように、国または地域の中の作物残留試験の地理的分布についても要求
- 気候と生態の残留濃度への影響の解析をFAO/OECDが実施したり、米国・カナダが実施中だったりしている。解析が終了するまでは地理的なゾーンの重要性の程度は未決定[11]。しかし、予備的な結論では、作物栽培方法の方が、地理的なゾーンよりも残留濃度に対して大きなインパクトを持つとされている。
- 国・地域の作物残留試験は、それぞれの地域のcGAPのレベルで実施するべき。これまで大きく異なる使用量やPHIをまとめて検討することに対する解析はない。しかし、PHI、使用量*または*使用回数の±25%の変化は現在でも許容 (25%ルール)

完全なデータ提出 (Comprehensive submission) (para. 105-112)

OECD の全ての国への提出の場合

[YY 注：実際には Global joint review でしか起きないので省略]

GENERAL INFORMATION ON CROP GROUPS AND EXTRAPOLATION

代表作物からの外挿と原則 (paras 113-119)

[YY 注：本ガイドラインの完成後の 2012 年に採択された Codex の「代表作物の選択の原則とガイダンス」（Principles and Guidance on the Selection of Representative Commodities for the Extrapolation of Maximum Residue Limits for Pesticides to Commodity Groups, CXG-84-2012, 最終改訂は 2017 年）も参照のこと]

- 個々の主要作物やマイナー作物、作物群について、暴露評価またはMRL設定に十分なデータ量を確保するために、政府当局は対象を決めたデータセットやデータの外挿を使用
- 外挿により数種(典型的には2つか3つ)の代表作物の作物残留試験データを、同じ作物群の関連する農産物に外挿することが可能
- 作物分類と代表作物の特定は、代表作物のために作成されたデータセットの利用を最大限にするために不可欠

[11] [YY 脚注]OECD の 2 回の Zoning Projects の報告書(2002)では、気候の影響は insignificant であるとしている

- 作物群中の代表作物は次の特性を持つ
  - 群に含まれるすべてのまたはほとんどの作物への、農薬使用の要件が共通（GAPが25%ルールに整合）。登録された使用方法(ラベルの指示)も作物群またはそのうちの多くを参照しているということ。
  - 群に含まれる全ての農産物の収穫時における残留が共通
- 群に含まれる主要作物の残留濃度が最高であるとは限らない。経口暴露の観点からは、主要作物を代表作物とすることは、マイナー作物の消費が少ないため、ある当局にとって許容可能 [YY注：現行のMRLを、厚労省で決定した新食品群を用いて記述する場合も同じ原則が適用可能]
- しかし、地域における短期暴露量については、上記が適用できないこともあり
- サブグループは主に形態と生育状況によって分類し、通常各サブグループのうち少なくとも1つの農産物のデータが、グループMRL設定に必要。例えば、柑橘類は、直径の大きい(オレンジ、グレープフルーツ)サブグループと小さい（レモン、ライム、みかん）サブグループに分類される。各サブグループの1つの農産物がグループMRLには必要。同様に、オレンジはグレープフルーツ(同じサブグループ)に外挿可能。
- 農産物のどの部位を消費するかもサブグループ分類に反映。例えばバルブ野菜は、(1)にんにく・たまねぎ・エシャロット、(2)ねぎ、の２つのサブグループに分けられる。この分類は(1)では鱗茎のみが消費されるのに対して、（２）では鱗茎と地上部分の両方か消費されることによる。ほとんどの農薬の使用によって、これらのサブグループでは異なる残留が予想される。従って、たまねぎからにんにくやエシャロットには外挿できるが、ねぎには外挿できない
- 相互サポートとして、同様の残留濃度を示す2つの関連した農産物の作物残留試験を、一方または両方の作物残留試験が不十分な場合、両方のMRLを設定するために、まとめて評価できる。例えば、りんごに8例、なしに4例、同一のGAPに基づいて作物残留試験をしており、残留が同様である場合、なしは4例では不十分であるが、りんごとなしの試験を一緒に評価することによって、なしのMRLを推定可能。
- 申請者は、作物分類とデータの外挿に関するポリシーの詳細について、個々の当局に問い合わせること[YY注：厚労省がガイドラインを示せばよい]

作物群を超えた外挿 (paras 120-123)

- 作物群を超えた外挿は、特別な場合には可能
- 使用方法（例えばシーズン初期、可食部が形成される前の葉面散布、種子処理、または除草剤の雑草への直接散布）のため、または、農薬の性質(例えば、浸透せず迅速に分解する)により、恒常的に広い範囲の農産物中の残留濃度はゼロかごく低い（＜LOQからLOQより少し高い）状況では、作物残留試験を実施した作物群を超えて多くの農産物や農産物群に外挿してMRLを設定可能
- 作物群やサブグループを超えた外挿は、非常に類似した形態、容積や重量を持つ農産物の場合、ケースバイケースで可能。例えば、オーストラリアでは、りんご、もも、ネクタリンのデータは、かき[12]に利用できる
- グループMRLの拡張は、以下の要素に基づいてケースバイケースで検討
  - 使用方法
  - 浸透移行性の有無
  - 安定性（分解速度）
  - いくつかの作物または農産物のタイプにわたる残留濃度の測定値
- GAPの同一性の判断には、ラベルの記載（使用量、施用方法、使用時期、PHI）だけでなく、残留濃度に影響する現地の農法も検討。例えば、小麦は世界中で同様の方法で栽培されるが、ぶどうは大きく異なる方法で栽培されている。とくにぶどうについ

[12] [YY 脚注]当時、かきは熱帯果実に分類されていたが、現在は仁果類に分類されている

では、関連するGAPが実際に同一かどうか確かめる必要。

- もし適切なデータがあれば、データ集団の同一性を確かめる検定が有用。

***DATA REPORTING** (para. 124)*

[YY 注：6 ページにわたっての記述であること、わが国では新規剤の登録申請には OECD ドシエフォーマットを使用すべきであることがすでに数年前農水省で決定済みであることから、本報告書では省略]

ESSENTIAL DEFINITIONS

[YY 注：ガイドライン作成に関して、科学的な内容としては重要ではないため省略。厚労省がガイドラインを作成する際には翻訳を添付すべきである]

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品分会委員対象の勉強会資料

国際的に調和した残留農薬基準設定について

Yukiko Yamada, Ph.D.
JMPR FAO Panel Member (since 2001)

1

Contents

- なぜ国際調和が必要か？
- Maximum Residue Limit for pesticides(農薬残留基準値) (MRL)とは何か
- MRL設定のために必要なデータ
  - OECDのTechnical Guidelines, Guidance documents
- 基準値の推定方法の概要
  - JMPRや欧米における方法論
- Residue definitionの決定 (MRL設定に最重要)
- Codex基準値の設定の実際(一部)
- 安全性の確認
- まとめ

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 2

2

なぜ国際調和が必要か？

3

SPS Agreement

- 世界貿易機関 (WTO):
  国際貿易に関連した協定 ⇐ 食品を含む
- The Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures is one of the WTO Agreements ⇐ 食品安全を含む
- The SPS Agreementは以下を要求:
  - Scientific principles and sufficient scientific evidence (Art. 2.3);
  - Harmonization with Codex standards, guidelines or recommendations where they exist (Art. 3.1); and
  - Conducting risk assessment (Art. 5.1)

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 4

4

食品の輸出入

- 輸出：輸入国の法令に適合させる必要
  - 商売
  - 輸入先国ごとに生産・製造方法を変更するのは面倒・不経済
- 世界標準が必要←Codexの規格・基準
- 輸入においても、SPS協定に従う必要
  - 輸入を止めるために規制を使ってはダメ
  - 科学的に証明できるなら、Codex規格・基準より高いレベルの保護をもたらす措置の実施は可能←証明する必要
- 「国際調和」は数値より、原理・原則、方法論

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 5

5

食品・飼料の国際貿易と残留農薬

- Codex Committee on Pesticide Residues (CCPR)
  - Codex委員会の下部組織である一般問題部会の一つ(ホスト国: 中国)
  - 政府間組織(政府代表団)、(事業者団体も)
  - リスク管理者
- Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR)
  - 科学的助言を与える独立した委員会
  - 個別の科学者の会議(製造者は参加できない。データを出すのと質問に答えるだけ)
  - リスク評価者

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 6

6

Maximum Residue Limit for pesticide (農薬残留基準値) (MRL) とは何か

7

農薬とは

- 安定的な食料供給のために必須　Benefit
- 作物生産に農薬を使用した結果として食品に残留する可能性　Potential risk
- 農薬は、以下の要素を満たすことが必要:
  - 病害虫の防除に効果
  - 使用者(農業者)にとって安全
  - 環境やエコシステムにとって安全
  - 食品や飼料に残留しないか、低濃度で残留
  - 分析可能
  - 安価　　　その他
- ほとんどの農薬は、ある程度以上の量または濃度では、安全とは言えない

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 8

8

リスク管理措置の必要性

- 登録システム(農水省：農薬取締法、H30改正)
  - 登録された剤のみを、決められた作物等のみに、決められた方法でのみで使用
  - Efficacy/phytotoxicity
  - Toxicological data
  - Crop/Livestock metabolism
  - Occupational exposure
  - Environmental fate
  - Ecotoxicity, etc.
  - 使用基準の設定 (GAP)
- 残留基準値(厚生労働省)
  - GAP等を遵守しているかどうかの保証
  - 消費者の健康保護

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 9

9

Maximum Residue Limits (MRLs)

- 承認された使用法(GAP)に基づく
  - 使用基準に従って作成した作物・家畜残留試験のデータを使用
- 食品安全を保証
- 十分低くなければならない
  - 消費者の健康保護
  - 農薬・動物薬の違法な使用や誤用の防止
- 十分高くなければならない
  - 病気や寄生虫・虫害等の効果的な防除
  - 濃度の自然変動を考慮
  - 正しい使用をしている農家が罰せられることがないように

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 10

10

MRLsのHarmonizationはなぜ重要?

- 基準値が各国で異なると、
  - 貿易紛争起きる可能性
- 世界的に統一されたMRLが望ましい
- しかし、MRLsは、その国で承認された使用方法(病気や害虫・寄生虫等の防除の必要性)と食品消費量による
  - もし、科学的な正当性を示すことができれば、異なるMRLの設定は可能(SPS協定)
- Codex MRLs
- APECのImport tolerancesのガイドライン
  - Codex MRLの利用を勧告

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 11

11

CodexにおけるPesticideの定義

- Intended for preventing, destroying, attracting, repelling, or controlling any pest during the production, storage, transport, distribution and processing of food, agricultural commodities, or animal feeds or which may be administered to animals for the control of ectoparacites　Veterinary drugとの重複
- Includes plant growth regulator, defoliant, desiccant, fruit thinning agent, protectant during storage and transport

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 12

12

Codexにおける MRL for Pesticideの定義

- Maximum concentration of a pesticide residue (expressed as mg/kg), recommended to be legally permitted in or on food commodities and animal feeds.
- Based on GAP data
- Foods derived from commodities that comply with the respective MRLs are intended to be toxicologically acceptable.

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 13

13

MRL設定のために必要なデータ (OECDのTesting Guidelines, Guidance documents)

14

OECD WGP

- OECD Working Group on Pesticides
  - Environmental Directorateが所管するJoint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnologyの下部組織
  - 加盟国の課長クラス以上が参加
    (わが国からは、課長補佐、係長も参加)
  - Residue Chemistry Expert Group
    - 多くの下部組織の一つ
    - Expertsの会合(JMPRのメンバーの多くを含む)
    - 食品・飼料中の残留農薬評価のための、データ要求や評価方法のtesting guidelines (義務)やguidance document(勧告)を作成

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 15

15

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Section 5: Pesticides

タイトル	TGL番号(年)
Metabolism in Crops	501 (2007)
Metabolism in Rotational Crops	502 (2007)
Metabolism in Livestock	503 (2007)
Residues in Rotational Crops (Limited Field Studies)	504 (2007)
Crop Filed Trials	509 (2009)
Residues in Livestock	505 (2007)
Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities	506 (2007)
Nature of Pesticide Residues in Processed Commodities – High Temperature Hydrolysis	507 (2007)
Magnitude of Pesticide Residues in Processed Commodities	508 (2008)

16

OECD Guidance Documents

タイトル	年
Overview of Residue Chemistry Studies	2006
Definition of Residue	2006(改訂中)
Pesticide Residue Analytical Methods	2007
Crop Field Trials	2011 (2016改訂)

これらのTesting guidelines (TGL)やGuidance documents (GD)は、インターネットからダウンロード可能

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 17

17

OECD TGL

- 植物代謝
  - GAPと同じ条件で実施
  - 同じ使用方法(例えば、葉面散布)で、数多くの作物に使用を登録の予定なら、次のうち3種類で試験し、代謝が
    - 定性的に同様ならそれ以上は不要
    - 定性的に異なるなら、その他にも実施
    - 違う使用方法の場合は、新たに試験を実施
  - 根菜・芋類(たまねぎも含む)
  - 葉菜類(茎菜・ホップを含む)
  - 果実・果菜類
  - マメ・油糧種子類
  - 穀類.

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 18

18

- 保存安定性試験
  - 以下のマトリックスについて実施
    - high water content;
    - high acid content;
    - high oil content;
    - high protein content;
    - high starch content.

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 19

19

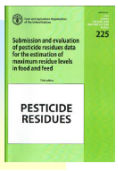
- 作物残留試験
  - 最低試験例数は記載なし
  - 各国の要件をリスト化
  - 同じ使用法の場合は読み替え可能
    - 例：葉面散布
    - 厳密に言うと、有機溶媒を含む剤型と含まない剤型では残留がやや異なる場合もあり
  - 同じ作物でも、異なる使用方法の場合は別に試験を実施
    - この場合、より高い基準値を採用

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 20

20

基準値の推定方法の概要 (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR)や欧米諸国における方法論)

21



JMPR FAO Panel

評価の原則:
「科学に基づく」
・Case-by-case
・機械的にやらない
・常に進化

評価の基礎:
FAO Manual (第1版、1997; 改訂版、2002、2009、2016)
・データ提出者がどのようなデータをどのように提出するのかの指針も含む

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 22

22

残留評価

- 作物代謝・輪作作物代謝
- 家畜代謝
  (代謝物の性質と濃度)
- 環境動態
- 分析法

→ 残留物の定義

- 保存安定性(冷凍)
- GAP情報
- 作物残留
- 加工の影響
- 家畜移行(飼養試験)

成果
✓ 基準値
✓ STMR
✓ HR

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 23

23

評価

- 大量のデータを評価
  - データの有効性のチェック
  - 企業の作成するモノグラフは300-500ページ(企業の意向が入っている)
  - それぞれオリジナルのStudy reportにあたる必要
  - 多くの分野のデータを評価
  - 農薬のラベルを参照して、作物残留試験が適切に行われているかチェック
- 評価に使うデータをJMPRのMonographにまとめ、評価結果とその理由をAppraisalにまとめる (透明性と論理性が重要) (Peer review)

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 24

24

残留農薬データ評価の概要

1. 農薬(原体)の明確な同定と物理学的化学的性質の記述
2. 代謝試験と土壌中の動態試験は、作物や家畜から生産される食品・飼料中の残留物の性質の情報を得るために不可欠。「残留物の定義」(MRL設定用及び経口暴露評価用)を決定するために必須
3. サンプリング・分析法は、残留データを策定するのに必須。従って、データの妥当性を決定するためにはこれらの妥当性を知ることが必要

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 25

25

4. Residue Definitions
   - 残留基準値用
     - 使用基準の遵守のチェックのため
     - 食品中に残留している物質
     - 毒性学的重要性も考慮
     - 簡便・迅速に分析可能であること
   - リスク評価用
     - 経口暴露による人の健康影響の可能性
     - 毒性のある代謝物を含むように設定
     - 分析は簡便とは限らない

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 26

26

5. 適切な残留試験の選択→基準値(食品全体)
   リスク評価のために、可食部の残留濃度の中央値(STMR)と最大値(HR)を決定
6. 作物残留試験の評価(基準値設定に最重要; STMR/HR推定にも最重要)
   - 残留濃度を決定する多くの因子を検討 剤型、投下量、使用回数、使用時期、休薬期間
   - データの妥当性をチェックすること
7. 食品群に適用するMRLも推定可能
   - 適切なデータがある場合
   - グループで同様の残留が期待される場合 例えば、食品群と同様の作物群に登録がある場合等

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 27

27

8. 農作物が加工されて消費される場合、残留農薬濃度が変化する可能性大。そこで、加工食品のMRLが必要かどうかや、経口摂取量を知るために加工試験が必要。(ケースによる)
9. 家畜飼養試験は、飼料中の残留濃度をもとに畜産食品中の濃度を知るために使用。畜産食品中の残留は動物への直接使用によっても起こる。それらの濃度を比較し、Codexは高いほうをMRLとする。
10. 以前農薬として登録されていたが、現在は登録されていない物質で、難分解性のため環境に存在し続け、農作物を汚染するものには、モニタリングデータに基づいて、EMRLを設定

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 28

28

11. 経口摂取量評価では、食品中の残留濃度と、人の食品摂取量を組み合わせて残留農薬の長期及び一日摂取量を算出。ADIまたはARfDと比較。Excelのマクロを用いて算出。
12. 推定経口摂取量が、ADIやARfDを超過しなければ、残留農薬データ評価は終了。CodexにMRLを勧告。

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 29

29

Residue definitionの決定 (MRL設定に最重要)

30

JMPRによる作物残留評価

- 毒性学的重要性、残留濃度、分析可能性等を考慮して、Residue definition(何に基準値を設定するのか、何を分析するべきなのか)を決定
  - MRL用
  - リスク評価用(毒性のある代謝物を含む)
- 上記の定義に従って、作物残留試験結果から基準値を推定
  - データが十分でない場合は推定しない。すなわち、その作物には残留が認められない

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 31

31

何にMRLを設定するのか？ (何を分析するのか？) - Codex

- 対象食品と分析部位
  - CCPRが決定(CACが採択)
  - 食品・飼料分類の中に記載
    - 食品・飼料分類
    - MRL適用・分析部位
    - 農薬への暴露についても記載
  - ほとんどの場合、食品全体(例外:しおれた部分を除く、へたを除く、等)
  - 経口暴露評価においては、可食部

農薬は作物に使用。MRLは食品(商品)に設定

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 32

32

Residue Definitions

- According to the current draft OECD document:

"The basic requirements for the definition of residues are that it should:

- include compounds of toxicological interest for dietary intake estimations and risk assessment, and
- be the most suitable for setting an MRL/tolerance.

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 33

33

Residue Definitions

- どの化合物にMRLを適用するのか、どのような化合物を分析する必要があるのかを決定
- MRLの規制のためのもの←基準値設定に必須
  - GAPを順守していることの確認
  - できるだけ簡単に(可能なら一化合物のみ)
- 摂取量評価のためのもの⇒安全性の確認
  - 毒性学的に検討が必要な代謝物や分解物を含む
- 植物及び動物性の食品に対して
- 一つの農薬に一つだけのこともあり
- 代謝、環境動態、分析法、毒性等に基づく

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 34

34

Residue Definitions

JMPRや欧米では:
- 残留基準値用
  - 食品中に残留している物質
  - 毒性学的重要性も考慮
  - 簡便・迅速にルーティン分析が可能であること
  - 標準物質が入手可能であること
- リスク評価用(暴露評価用)
  - 経口暴露による人の健康影響の可能性を知る
  - 毒性のある代謝物を含むように設定
  - 分析は簡便とは限らないが、規制のようにルーティンで分析するわけではない
  - 問題が起きれば、登録時のデータを活用可能。

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 35

35

Codex基準値の設定の実際

Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues (JMPR) & Codex Committee on Pesticide Residues (CCPR)

36

JMPR

- 第一回会合:1963
- WHO Core Assessment Group and the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment
- 食品・飼料中の残留農薬の科学的評価を実施(わが国では、飼料のMRLは農水省)
- 貿易される食品・飼料中の残留農薬の許容されるレベルを勧告

JMPRは"リスク評価者"

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 37

37

JMPRの任務

- 農薬の有効成分とその代謝物の毒性学的評価 ⇒ Acceptable daily intake (ADI) or provisional tolerable daily intake (PTDI), and Acute reference dose (ARfD) (WHO); (この部分はJECFAも同じ)
- 最も高い残留濃度をもたらす使用基準(GAP)に基づく作物残留試験の結果やその他関連データを評価 ⇒ MRL (FAO);
- 長期及び短期摂取量評価のためにSupervised Trials Median Residue (STMR)値及びHighest Residue (HR)値を推定 (暴露評価のため) (FAO)

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 38

38

ADI/PTDI/ARfD

ADI: 毎日、一生摂取し続けても、明らかな健康リスクが生じない量(範囲)

PTDI: 過去に農薬として使用された化合物について、人の健康に影響を与えない量 (長期摂取量評価に使用)

ARfD: 24時間以内に摂取しても、明らかな健康リスクが生じない量

いずれも体重一キロ当たりで表現

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 39

39

毒性学的評価

- Absorption, excretion, distribution
- Metabolism
- Acute toxicity
- Short-term studies of toxicity
- Long-term studies of toxicity
- Carcinogenicity
- Genotoxicity
- Neurotoxicity
- Reproductive toxicity
  - Multi-generation studies
  - Developmental toxicity
- Endocrine activities
- Neuro-developmental toxicity
- On various laboratory animals (mostly)
- Epidemiological data

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 40

40

ADI/PTDIの推定

最小のNOAEL (no-observed-adverse-effect level)またはNOEL (長期または繰返しの投与後のno-observed-effect level)

↓ Safety factor (通常100) (種間 x 種内)

ADI (範囲で示す, 例, 0 - 0.1 mg/kg bw: 農薬について)、または

PTDI: 以前農薬として登録されていたが、現在は登録されていない化合物、例えばDDT、アルドリン等

mg/kg bwで示す。動物薬の場合μg/kg bw

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 41

41

ARfDの推定

最小のNOAEL (no-observed-adverse-effect level)またはNOEL (単回投与または短期投与後のno-observed-effect level)

↓ Safety factor (通常25-100) (種間 x 種内)

ARfD: これまで主に農薬について (e.g., 0.1 mg/kg bw)
一部の動物用医薬品(injection sites)、DONにも

mg/kg bwで示す。

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 42

42

植物(作物)代謝試験

- 放射性同位元素で標識された有効成分を、使用基準と同様に使用
- 作物(植物)の部分を成熟時に採取。未成熟時の草体も採取
- 有効成分が、どのように植物(作物)で代謝されるか評価(毒性試験の一部ではない!)
- どのような代謝物が、どのような濃度で、可食部や、家畜用の飼料中に存在するのか評価
- 散布部位からの移動の有無も評価
- 土壌中での分解物が後作作物に吸収されるかどうかも別に評価

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 43

43

動物(家畜)代謝試験

- 放射性同位元素で標識された有効成分を約7日間投与(一日だけの場合もあり)
- 泌乳ヤギ(必要なら泌乳牛)や産卵鶏を使用
- 乳・卵は毎日採取。排泄物も採取。(呼気)
- 最終投与後、24時間以内に屠殺。内臓を採取。屠殺直後では代謝されていない。
- 有効成分が、どのように動物(家畜)で代謝されるか評価(毒性試験の一部ではない!)
- どのような代謝物が、どのような濃度で、どの可食部に存在するのか評価(排泄物中・血中の濃度は、毒性評価の場合ほど重要ではない)

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 44

44

分析・サンプリング

- 規制ができるかどうか？
  - 分析できない濃度を基準値にしても、規制できない
- 提出されたデータは、科学的に信頼できるか？
  - サンプリングの統計学的妥当性(Codexの勧告との合致)
  - 分析法の妥当性確認(SOPは？添加回収試験は適切な濃度で実施？クロマトグラムは妥当か)
- 試料の保存期間をカバーする保存安定性？
  - -18˚C以下
  - 不検出は、分解の結果かもしれない!

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 45

45

植物に由来する食品のMRLs

- 最も高い残留濃度をもたらす使用基準(Critical GAP)に基づく作物残留試験の結果を評価
  - データの検証
    - 作物残留試験のデザインは適切か？
    - 分析法は適切か?
    - 残留物の安定性は？
  - 作物残留試験が、Critical GAPに則って実施されているかチェック
  - OECD Calculatorを使用して、統計学的に推定(最低3例、本来8例以上)
- 飼料に使用される作物(例, 稲わら)も評価
  - 畜産物の基準値設定に必須

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 46

46

MRL推定の例

Tomato Country, year (variety)	Application Form.	kg ai/ha	Kg ai/hL	No	DALT*	Matrix	Pesticide (mg/kg)
GAP, Spain	WG	-	0.11	-	14	Foliar application	
ES, 1995 (Roma)	WG	1.1	0.13	3	7	Tomato	0.05
ES, 1999 (Valenciano)	WG	1.0	0.1	2	7	Tomato	0.18
ES, 1999 (Valenciano)	WG	1.0	0.1	2	7	Tomato	0.08
IT, 1999 (Alican)	WG	1.0	0.1	2	7	Tomato	0.14
IT, 1999 (Red setter)	WG	1.0	0.1	2	7	Tomato	0.08
FR, 1996 (FY 55)	WG	0.76	0.075	3	7	Tomato	0.33
FR, 1999 (Campbell 28)	WG	0.84	0.1	4	7	Tomato	0.40

> 0.11 & < 0.11 x 125%

< 0.11 & < 0.11 x 75%

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 47

47

MRL推定の例

- スペインのCritical GAPに則った作物残留試験における残留濃度(n=8): 0.05, 0.08, 0.08, 0.14, 0.18, 0.38, 0.40, 0.60 (CY) mg/kg
- これらの数値をOECD MRL Calculatorに打ち込むと

Proposed MRL estimate

- Highest residue	0.600
- Mean + 4 SD	1.033
- CF x 3 Mean	0.716
Unrounded MRL	1.033
Rounded MRL	1

CF: censoring factor

HR: 0.60 mg/kg
STMR: 0.16 mg/kg
(MRL設定用と摂取量評価用のresidue definitionが同一である場合)

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 48

48

残留濃度を決める要因

- GAP
  - 農薬の使用時期
  - 最終散布時から収穫時までの期間
    - 農薬の分解、蒸散等
    - 植物(果実、葉等)の成長による希釈効果
- 農薬から保護されているかどうか
  - えんどうのさやは暴露している可能性大
  - 豆は保護されている
  - 農薬の性質も検討する必要
- 乾燥や油の抽出によって、濃度の増加もあり

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 49

49

加工食品及び家畜由来食品のMRLs

- 加工食品
  - 加工試験の結果に基づいて加工係数を算出
  - 加工によって残留濃度が高まる場合のみ、MRLsを設定
- 家畜由来の食品
  - 家畜による飼料からの最大摂取量と平均的摂取量を、試料中の残留濃度と飼料給与量から算定(dietary burden)
  - 家畜飼養試験の結果及び上記で算定した最大摂取量と平均的摂取量に基づいて、MRLを推定

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 50

50

農薬MRL推定の最近のトレンド

- 毎年、JMPRは新たな科学的知見や成果を検討
  - 全世界からのデータの活用
    ⇐ ゾーニングに関する報告(OECD)
  - 食品群に適用できるMRLの勧告
    - 作物群に対する同一または同様のGAP
    - 代表作物の設定(群の代表)
    - 残留濃度の中央値が5倍以内
  - Proportionality
    - Critical GAPに則った作物残留試験のデータが足りないときに活用
    - Critical GAPに比べて投下量のみが異なる場合(0.3x – 4xのみ)

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 51

51

Proportionality Concept for estimation of MRLs

- 作物残留試験のApplication rateが、登録されたGAP rateの±25%より大きく異なる(ただし0.3x – 4xの範囲内)
- GAP rateとApplication rateの割合で、実際に検出された残留濃度を補正してデータを活用

Scaled residue = Measured residue × (GAP rate / Trial application rate)

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 52

52

Proportionality Concept for estimation of MRLs

- JMPRに提出された作物残留データのうち、1146 side-by-side trialsから解析 (MacLachlan and Hamilton, 2011)
- 900以上のtrials(2306 side-by-side datasets)を加え、再解析(2012)

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 53

53

Principle and Guidance

- Active substances confirmed included insecticides, fungicides, herbicides, and plant regulators, except desiccants.
- Use of the concept confirmed for soil, seed and foliar treatments.
- Proportionality cannot be used for post-harvest and hydroponic situations.

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 54

54

Principle and Guidance

- Can be used on data from field trials within a rate range between 0.3× and 4× GAP rate.
- If there are no quantifiable residues (<LOQ), residue concentrations may only be scaled down.
- Scaling is only acceptable if application rate is the only deviation from cGAP.

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 55

55

Principle and Guidance

- Variation associated with the residue values using this approach may be considered to using data selected by using the ±25% rule for rate.
- The concept may be applied to both major and minor crops.
- Processing factors can be used for scaled datasets.

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 56

56

Principle and Guidance

- If scaling is applied on representative crops, there is no identified concern with extrapolation to other members of an entire crop group or subgroup.
- With respect to exposure assessments, no restrictions appear to be necessary.
- Scaled datasets for feeds may be used for dietary burden calculations for livestock.

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 57

57

Principle and Guidance

- The approach may be used where the dataset is otherwise insufficient to make an MRL recommendation.
- In some cases MRLs may be estimated from trials where 100% of the data may have been scaled.

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 58

58

Terms of Reference of CCPR

- To establish maximum residue limits for pesticides in
  - specific food items or groups of food;
  - Certain animal feedingstuffs moving in international trade;
- To prepare priority lists of pesticides for evaluation by JMPR;
- To consider methods of sampling and analysis for the determination of pesticide residues in food and feed

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 59

59

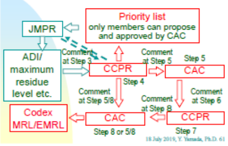
Terms of Reference of CCPR (2)

- To consider other matters in relation to the safety of food and feed containing pesticide residues; and
- To establish maxim limits for environmental and industrial contamination showing chemical or other similarity to pesticides, in specific food items or groups of food. (for compounds previously registered as pesticides but not registered any longer)

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 60

60

農薬のMRL策定のProcedure



18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 61

61

CCPRにおける農薬のMRLの議論

- 食品と飼料の安全性
- 消費者への影響
- 経済的影響
- JMPRによるMRL勧告の方法論、データと決定
  ⇒ Codex委員会に勧告;またはJMPRにconcern formを提出(各国)
- JMPRによるADI/ARfD勧告の方法論、データと決定⇒賛成できない場合はJMPRに concern formを提出(各国)

科学に基づくが他の要因も検討

Codexの残留農薬基準値はポジティブリスト。すなわち、基準値がない場合はLOQ未満でなければならない

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 62

62

残留農薬に関するCodexの勧告

- MRLs
- Extraneous maximum residue limits (EMRLs): モニタリングデータに基づく、DDT, aldrin, 等に
- サンプリング法
- 分析法, GLPを含む
- 関連する実施規範(codes of practice)やガイドライン(GLs)
- 食品と動物飼料の分類
  - MRLの一貫した記述のため
  - MRLが適用される(分析しなければならない)部位
  - 代表作物

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 63

63

安全性の確認

64

残留農薬の経口暴露評価

- MRL設定の重要な要素
- 農薬の使用やMRLの安全性を検証
- 以下を算定
  - 長期 (＝一生): 平均的経口暴露
  - 短期 (＝一日): 最悪のシナリオの経口暴露
- 異なるケースには異なる計算式
- 入手可能なデータの全てを使用、例えば可食部の残留濃度
- 算定された経口暴露推定量がADIやARfDを超える場合、リスク管理者に知らせるか、より低いMRLを導く代替GAPを探す
- Shorter-than-lifetime exposureにも言及

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 65

65

経口暴露評価に使用する因子

残留濃度(mg/kg): 農薬がCritical GAPに則って使用された場合にResidue definitionに含まれているすべての化合物の可食部中の濃度(なければ食品全体中の濃度)

- STMR
  Critical GAPに則った作物残留試験における残留濃度(各試験につき1つの値)の中央値
- HR
  Critical GAPに則った作物残留試験における残留濃度(各試験につき1つの値)の最大値

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 66

66

JMPRによる長期経口暴露評価

- International Estimated Daily Intake (IEDI)
  $= \Sigma\ STMR_i \times E_i \times P_i \times F_i$
  where STMR = supervised trials median residue level (mg/kg)
  E = edible portion factor
  P = processing factor
  F = food consumption (kg/day/capita)

➔ Compared with:
ADI (mg/kg-bw/day) x 体重 (kg/person)

欧米ではADI(NOAELを100以上で除したもの)と比較。

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 67

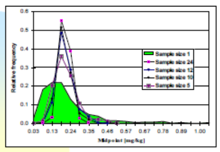
67

JMPRによる長期経口暴露評価

- 一日当たりの食品消費量:
  - GEMS/Foodの17 Cluster Dietsは、すべてのCodexメンバーを含む
  - 理論的な数値
  - *FAO Food Balance Sheet* と各国から提出されたデータを活用
  - 実際には国ごとに異なる
- 各国ではもっと詳細な推定が可能なはず。
  - 農薬の使用量
  - 農薬による処理の割合その他の情報の利用

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 68

68



18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 69

69

JMPRによる短期経口暴露評価

- International Estimated Short-Term Intake (IESTI)
- Case 1:
  - residues in a composite sample reflects the residue in a meal-sized portion (unit weight below 0.025 kg);
  - meat, liver, kidney, edible offal and eggs
  - When the estimates are based on post-harvest use of the pesticide, grains, oil seeds and pulses

IESTI=LP x HR / bw
LP: Large portion size (97.5th percentile consumption); and (HR) refers (HR or HR-P)

70

JMPRによる短期経口暴露評価

- Case 2:
  - Meal-sized portion (e.g., single fruit or vegetable unit) might have a higher residue than the composite (unit weight above 0.025 kg)
- Case 2a: unit weight < large portion size
  IESTI={U x HR x v + (LP - U) x HR} / bw
  v: variability factor=97.5th percentile / mean=3
- Case 2b: unit weight > large portion size
  IESTI=LP x HR x v / bw

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 71

71

JMPRによる短期経口暴露評価

- Case 3:
  - Commodities undergoing bulking or blending and the STMR or STMR-P represents the likely highest residue
  - Milk
  - Grains, oil seeds and pulses when the estimates are based on the pre-harvest use of the pesticide

IESTI=LP x (STMR or STMR-P) / bw

詳細は、FAO Manualを参照

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 72

72

短期経口暴露評価に必要なデータ

- 各国から提出された以下のデータを活用:
  - Large portion consumption (摂食者のみの97.5パーセンタイル消費量)
  - 上記に対応する体重
  - 食品1個当たりの重量
- JMPRの推定したSTMR and HR
- 世界における調査・研究から得た変動係数＝3（厚労科学研究でも3未満）
- Case 1か2のいずれを使うかは、残留農薬のためのCodex sampling法の記述による

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 73

73

暴露評価のトレンド

- TTC approach
- Cumulative exposure
  - 同じMode of actionの毒性を示す複数の農薬
  - 同じ食品
- Aggregate exposure
  - 同じMode of action
  - 異なる起源
- これらすべて暴露評価がなければできないもの
- "shorter than lifetime" exposure
  - WHOの別のグループで検討中

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 74

74

まとめ

75

わが国の問題(食品の場合)

- 評価する能力はあるか？
  - JMPR(非公開)に、評価者を出せているか？
  - いま中国が次々と評価者候補を出している
  - 以前は、1－2名の担当者が1－2年ごとに異動⇒所管する「室」がある
- 必要なデータを全部評価しているか？
  - 特に：植物代謝や家畜代謝は、どのような代謝物(分解物）がどの程度組織に存在するかを知るため
  - 毒性評価のためではない

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 76

76

- 先進国の標準的方法論で評価できるか？
  - 残留試験の結果→基準値
  - 従って残留試験における残留濃度は基準値より低いのは当たり前
  - しかし濃度分布を考慮する必要
  - 海外と使用方法が違う場合、実際の残留濃度より著しく高い基準値を設定すると、使用法を守らなくてもよいことになる
- 作物残留試験のデータが足りない
  - 試験する場所も足りない
- 加工試験を要求していない(特にコメ→飯のデータがない）
- グループ基準値の設定は？

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 77

77

まとめ

- CCPRの会合に積極的に参画
- JMPRによるリスク評価を可能な限り活用
- GAPは、病害虫等の状況に応じて確立
- 国ごとに経口暴露評価を実施する必要
- リスク評価者との連携が必須
- 農薬取締当局との連携も必須
  - 農薬等がGAPに従って使用されていることを確認⇐農場における査察や食品・飼料の基準値への整合のテスト⇐基準値が高すぎると違反の検出が不可能・低すぎると農薬が効能を発揮できない(使用しない方がよい）

18 July 2019, Y. Yamada, Ph.D. 78

78

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品分会、「食品中の農薬の残留基準値設定の基本原則について(案)」(本文のみ)

資料７

食品中の農薬の残留基準値設定の基本原則について　（案）

令和元年７月30日
農薬・動物用医薬品部会

はじめに

食品中の農薬の残留基準については、「食品中の農薬の残留基準値の設定について」（平成22年１月27日農薬・動物用医薬品部会）の考え方に基づき設定をしてきたところであるが、現時点での国際的な合意や考え方を踏まえ、これを全面改定して、農薬・動物用医薬品部会において、食品中の農薬の残留基準を新たに設定又は改正するに当たり、基本的な原則を示すものとする。なお、基準値設定に係るデータの要件については、可能な限りOECDガイドラインによるが、国内の関連ガイドライン等を反映するものとする。

１．残留基準値の設定の基本的考え方

○ 食品への農薬の残留基準値の設定に当たっては、以下の手順により行う。
　① 基準値設定及び基準値への適合検査のために、国際基準等を参考にしつつ、適切な残留物の定義[i]を決定する。
　② 国際基準や提出された作物残留試験成績に基づき基準値案を作成する。
　③ 当該基準値案を採用した場合に予想される長期及び短期の経口暴露量を試算し、これが食品安全委員会による食品健康影響評価の結果設定された一日摂取許容量（ADI）及び急性参照用量（ARfD）に基づく許容量を超えないことを確認して、残留基準値を決定する。

○ 上記の②の基準値案を作成するとき、国際基準が設定されている食品には当該国際基準を採用することを基本とするが、食品中の残留量は下記の(1)～(4)等の要因で変動することを踏まえ、① 国内の作物残留試験成績からみて国際基準を超える残留が国内で生産される食品に想定される場合や、② 外国において国際基準より高い残留基準値が設定されており、その基準値や根拠となる作物残留試験成績が提出された場合には、それらの作物残留試験成績等を踏まえて、基準値案を作成する。
　(1) 農薬の使用基準（施用方法や休薬期間等、農薬ラベルに記載の事項）
　(2) 栽培条件（施設/露地、植栽密度 等）
　(3) 気候（降雨量、日照量、気温 等）
　(4) 品種（作物の大きさや形態の違い、葉の茂り方の違い 等）

　国際基準が設定されていない食品に残留基準を設定するときは、提出された国内又は海外の作物残留試験成績[ii]を踏まえて基準値案を作成する。

[i] 暴露評価用の残留物の定義と同じとは限らない。また、代謝が異なれば、植物由来食品と動物由来食品で残留物の定義が異なることもある。

[ii] 作物残留試験成績について、国内で使用される農薬は、農薬取締法に基づく農薬登録の申請に際し、「農薬の登録申請において提出すべき資料について」（平成31年３月29日30消安第6278号農林水産省消費・安全局長通知）に従って、生産量が特に多い農作物については６例以上の試験成績が提出される。また、外国で使用される農薬についても、当該国等で実施された作物残留試験成績につき同通知を基本とした資料が提出される。詳細については、OECDのガイドラインを参照。

○ 畜産食品への農薬の残留基準値の設定に当たっても、適切な残留物の定義を決定の上、残留試験等により基準値案を作成する。その際、農水省が飼料に設定した基準値(案)及び飼料の給与量を考慮に入れる（別添１参照）。また、魚介類への残留基準値の設定について、国際的に確立された方法はないが、水田などの水系に直接処理、又はその近傍で使用され、魚介類への残留が見込まれる農薬については、残留試験データ、残留農薬等検査データ、水域環境中予測濃度、生物濃縮係数等の結果を基に、基準値案を作成する（別添２参照）。

○ 過去に農薬として使用されたが、現在は農薬として登録されておらず、汚染物質として検出される化学物質の基準設定の方法については、残留農薬等検査データ等を用いて残留基準の設定を行うこととする（別添３参照）。また、残留性が極めて低い農薬の基準値の設定にあたっては、原則として、一律基準と同じ規制値を設定することとする（別添４参照）。

２．基準値案の作成における考え方

２．１　規制対象物質の決定

○ 規制対象物質とは、基準値設定及び基準値への適合検査のための残留物の定義であり、以下の基本的要件に基づき決定する。
・ 基準値への適合判定を容易・迅速かつ妥当なコストで可能にするために、可能であれば、単一の化合物とする。
・ 適正農業規範（GAP）の遵守を確認する目的に最も適している化合物とする。
・ 可能であれば、全ての食品に対し同一の定義とする。
・ 複数の農薬に由来する共通の代謝物・分解物を対象とすることは可能な限り避ける。

○ 規制対象物質の決定に当たっては、植物（作物）代謝、動物（家畜）代謝、環境動態、作物残留試験成績や作物残留試験で用いられた分析法等の情報やデータを用いて、以下について検討する。
・ 植物代謝試験及び家畜代謝試験において明らかになった残留物の組成
・ 作物残留試験において分析された残留物
・ 規制の目的のために使用される分析法の実行可能性
・ 他の農薬と共通する代謝物又は分析対象の生成の可能性
・ その農薬の代謝物の別の農薬としての使用登録
・ ある国の政府によって既に確立されている残留の定義又は長い歴史があり慣習上受け入れられてきた定義
・ 脂溶性
・ 畜産食品中における農薬残留物となる可能性のある化合物に対し、既にされているJECFA(FAO/WHO合同食品添加物専門家会議)による残留指標の定義
・ 消費者による経口暴露への代謝物の寄与度

２．２　cGAPの決定

○ cGAPとは、推奨・登録等され最大残留濃度が想定される使用方法（原則、最大の単位面積当たりの処理量又は最大の処理濃度、最大の処理回数、最小の収穫前期間（PHI）での使用）であり、原則、cGAPに従って実施された作物残留試験結果のみを最大残留濃度の推定において検討する。

○ cGAPに従って実施した適切な一定数以上の独立した作物残留試験が必要である。

○ 作物残留試験は、信頼できる最大残留濃度推定の前提条件として地形や栽培・管理の方法・季節等の違いを考慮した、よく計画されたプロトコルに従い実施されていることが必要である。

○ 統計学的手法により比較可能なGAPに基づく同一の母集団から得られるデータであることが期待できる等の合理的な理由がなければ、異なるGAPに従い実施された作物残留試験から得られたデータは統合して評価しない。

○ GAPに含まれる範囲で条件を変更した同一の試験において、複数の残留濃度が得られている場合には、より高い値を選択する（例えば、PHIを過ぎてから採取した試料や、散布濃度が低い試験の試料等）。

○ 試験実施者はその責任において、cGAPに従った作物残留試験を実施することが求められる。

a. 単位面積当たりの処理量（又は処理濃度）
・ 作物残留試験における実際の単面積当たりの処理量（又は処理濃度）が、GAPにおける最大処理量の±25%以内で他はcGAPと同じ条件であればその作物残留試験を基準値設定に使用する。
・ 処理量が25%以上異なるが、他はcGAPに沿って実施されていれば、プロポーショナリティ（Proportionality）の原則が適用される[iii]。
・ プロポーショナリティの原則は、GAPの処理量又は濃度の0.3倍から4倍の範囲で実施された作物残留試験から得られたデータに適用され、比例計算によりcGAP相当に当該試験の残留濃度を調整する。
・ プロポーショナリティの原則に沿った調整は、処理量又は濃度にのみ適用され、その他のパラメータには適用されない。また、収穫後の農薬の処理（ポストハーベスト）や水耕栽培される作物にも適用されない。

b. 収穫前期間（PHI：Pre-Harvest Interval）
・ PHIの変化の許容の程度は、残留物の減衰率により判断される。減衰率から考えて妥当であれば、残留濃度が±25%となるPHIの範囲をcGAPの範囲内と判断できる。なお、特に分解が早い場合には、ケースバイケースで判断する。

c. 処理回数
・ 作物残留試験における処理回数と登録されている処理回数を比較する場合には、残留物の持続性と処理間隔を考慮する必要がある。
・ 農薬の最終処理から考えて3半減期（半減期の3倍の期間）以前に処理された農薬の最終残留への寄与は大きくないと考えられる。

d. 剤型
・ 多くの場合、剤型の違いはその他の要素に比べて残留濃度の変動に影響を及ぼさず、異なる剤型であっても同じ使用方法（例：使用前に水で希釈して散布）であれば、原則的には、OECDのガイドラインに従って、作物残留試験結果の読み替えが可能である。（乳剤（EC）、水和剤（WP）、顆粒水和剤（WG）、フロアブル製剤（FL又はSC）、液剤（SL）等）

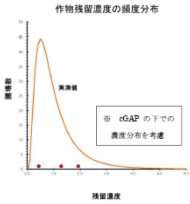
[iii] この場合、処理量の25%以内で実施している他の作物残留試験の残留濃度もプロポーショナリティの原則に従い、cGAPに従って換算する。なお、プロポーショナリティの原則を採用する場合は、上記の±25%のルールは適用できない。

２．３　作物残留試験成績からの基準値案の作成

○ 適切に実施された作物残留試験により、cGAPに従い農薬が処理された結果として、予想される食品中の残留濃度の範囲の定量、農薬残留物の減衰速度の決定、暴露評価を実施するための中央値（STMR：Supervised Trial Median Residue Value）及び最高残留濃度（HR：Highest Residue）の決定、残留基準値案の設定を行う。

○ 食品への農薬の残留は、上記１．(1)～(4)のような要因により変動することが知られていることから、作物残留試験の実測値から残留基準値案を作成するに際しては、こうした残留の変動のほか、分析誤差なども考慮して、基準値案を設定する。

作物残留濃度の頻度分布



注）食品残留濃度の分布は、対数正規型の分布に近似することが多い。

○ JMPR(FAO/WHO合同残留農薬専門家会議)や複数の国・地域の規制当局では、最大残留濃度の推定において、統計学に基づく計算方法として、OECD MRL Calculator[iv]を用いている。これは作物残留試験のデータセットから、以下の３つの計算結果のうちの最大値を残留基準値案として提案するものである。

[iv] OECD MRL Calculator は以下のサイトからダウンロードが可能
OECD Maximum Residue Limit Calculator
https://www.oecd.org/env/ehs/pesticides-biocides/oecdmaximumresiduelimitcalculator.htm

・「HR」（作物残留試験における最高の残留濃度であり、残留基準値案の値が常にHR以上となることを保障する）
・「算術平均＋４×標準偏差」（データセットの算術平均と標準偏差を用いた基礎提案値）
・「３×算術平均×CF[v]」（データセットの残留濃度の分布に合わせ、データセットの相対標準偏差が少なくとも0.5であることを保証するため算術平均の３倍に補正因子（correction factor, CF）を乗ずる）

○ OECD MRL Calculatorによる残留基準値案の推定は、統計学的な計算を行うことから、データセットに含まれるデータ数が３例以上必要となる（データ数が３～７例の場合は、不確かさが大きいとのメッセージが表示される）。このためOECD MRL Calculatorを使用するためには、最低限３例、可能なら８例以上の作物残留試験数が必要となる（同じ使用方法なら各剤型ごとに作物残留試験を実施しなくても良いことに留意）。

○ 我が国の農薬登録に必要な作物残留試験数は、米などの生産量・消費量が多い作物については､原則として６例以上の試験成績の提出が必要となっている｡また、基準設定に用いることのできる試験成績の増加を目的の１つとして、新たな食品分類を導入し、グループでの残留基準値の設定の検討を行っている（新たな食品分類、代表作物、必要な作物残留試験例数は別添５参照）。

○ 生産量が少ない作物等については、３例以上の試験成績の確保の観点から、プロポーショナリティの原則の活用、グループでの残留基準値を想定した代表作物での残留試験の実施、後述する海外で行われた試験成績の活用などが推奨される。

○ 以上のように必要な作物残留試験例数の確保のための取り組みを行った上で、国際的整合性を図る観点から､我が国でも､残留基準設定の際には､原則としてOECD MRL Calculatorを用いて基準設定を行う。

○ ただし、生産量が少ない作物等で、作物残留試験数が少ない食品については、原則３例以上でOECD MRL Calculatorの使用を検討するほか、得られている作物残留試験の最大値を用いた基準設定を行う。

３．国内で登録を行う作物の海外で行われた試験成績の受け入れにおける考え方

○ JMPRが策定した作物残留試験データを世界的規模で利用する原則を活用して、以下を実施する。

野外で栽培される作物に関する試験の場合、
・第一段階：わが国に登録をする農薬では、わが国のcGAPを反映（ただし、インポートトレランスを策定するためには、その国又は地域のcGAPを反映）した十分な数の作物残留試験が得られた場合は、そのデータセットを残留濃度の推定に使用する｡処理量だけが異なる条件で実施された作物残留試験については､プロポーショナリティの原則により調整された残留濃度が用いられる｡
・第二段階：第一段階によって十分な残留データが得られなかった場合には、他の国又は地域から得られたcGAP（上記と同じcGAP）に適合する､又はcGAPに対するプロポーショナリティによって調整された残留データを第一段階で得られたデータと共に検討する。
・第一段階と第二段階とで得られたデータセットは､統計学的に同一母集団に属することが否定できない場合（Mann-Whitney U-test又はKruskal Walis H-testによる）、統合することができる。しかし、統合できない場合は、どちらのデータセットを使用するのかを注意深く検討する。

○ 我が国では、基準値設定に当たっての必要な作物残留試験の例数の確保の観点から、上記のJMPRの考え方を導入し、cGAPに適合している国内の作物残留試験数が基準設定を行うための例数に満たない場合には、海外で行われた作物残留試験（わが国のcGAPに適合）を受け入れることとする。

○ なお､海外で行われた作物残留試験がcGAPに適合していない場合には､可能であればプロポーショナリティの考え方に基づき残留データを調整して差し支えない｡ただし、いずれも原則としてGLP試験である必要がある。

○ 温室等屋内で栽培される作物への登録の場合は､わが国のcGAPに則って試験されていれば、海外で実施された試験も基準値設定に受け入れる。

４．長期及び短期暴露評価

○ 作物残留試験結果や国際基準を元に作成した各基準値案で人への健康への悪影響がないことを確認するため、長期及び短期の暴露評価を行う。その暴露評価を行うに当たっては、その対象となる物質（暴露評価対象物質）を決定する。

４．１　暴露評価対象物質の決定

○ 暴露評価対象物質は、規制対象物質と必ずしも同じになるとは限らず、毒性学上の懸念のある代謝物や分解物を含めなければならないため、その対象が多くなることが多い。その決定には、植物代謝、家畜代謝、毒性、作物残留、加工による変化（文献による）等を検討する必要がある。

４．２　長期暴露評価

○ 長期暴露評価においては、作成した基準値案又は作物残留試験の平均値等と各食品の平均摂取量（平成17～19年度の食品摂取頻度・摂取量調査の特別集計業務報告書による）を乗じたものの総和により農薬の暴露量を推計[vi]し､その暴露量が国民全体（１歳以上）、幼小児（１～６歳）、妊婦、高齢者（65歳以上）のいずれの区分においても、ADIの範囲内であることを確認する。

○ 万一､推計した経口摂取量が､ADIの範囲を超える場合、さらなる試算の精密化を検討した上で、必要に応じてGAPを変更する検討の要請、新たなGAPに基づく基準値案の検討、登録の可否や基準値案の削除等を行う。

４．３　短期暴露評価

○ 短期暴露評価においては、各食品の基準値案、作物残留試験における最高残留濃度（HR）又は中央値（STMR）と各食品の一日最大摂取量等（摂食者における97.5パーセンタイル値、平成17～19年度の食品摂取頻度・摂取量調査及び平成19～24年度の厚生労働科学研究の結果による）により、短期摂取量を推定し、その摂取量がARfDを超えないことを確認する。

○ 原則として、作物残留試験のデータ数が、４例以上の場合は最高残留濃度（HR）を、３例以下の場合は残留基準値案を用いて各農薬の短期摂取量の推定を行う。

○ 農薬の短期摂取量の推定量がARfDを超過する場合には、GAPの変更の要請と基準値案の引き下げや必要なデータの追加などを個別に検討する。

５．　暴露実態の把握

○ 残留基準値が設定された農薬の飲食を介した人への暴露状況については、検疫所、都道府県等において実施される残留農薬検査や、マーケットバスケット調査方式による一日摂取量調査等により把握に努めているところである。

○ これまでの調査では、流通している農産物における農薬の残留レベルは低く、食品を通じた摂取について問題となるものでないことが確認されている。

[v] 補正因子は、「１－2/3×データセット中の定量限界（LOQ）未満のデータの割合」の計算値である。

[vi] 理論最大一日摂取量方式（TMDI 試算法）又は 推定一日摂取量方式（EDI 試算法）

令和元年度厚生労働行政推進調査事業費補助金　食品の安全確保推進研究事業

食品に残留する農薬管理における方法論の国際整合に関する研究
研究分担報告書

農薬の残留基準値設定に関する新たな国際的課題に関する研究

研究分担者　登田美桜　　国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

研究要旨

JMPR が公開する評価書では、個々の農薬の評価結果と MRL 案の他に、評価に際して特定された新規課題に関する検討結果が General considerations として報告される。本研究では、過去 3 年間（2015～2018 年）の JMPR 評価書の General considerations に報告された下記 2 課題について、検討されるに至った背景及び議論の経緯について調査して要点をまとめた。これら課題の中には現在も議論中のものがあることから、今後も動向を注視していく。

1）果菜類（ウリ科以外）のグループ MRL の設定プロセス

2）生涯よりも短期の暴露推定

研究協力者

畝山智香子　　国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

A. 研究目的

JMPR が公開する報告書では、個々の農薬の評価結果と MRL 案の他に、評価に際して特定された新規課題に関する検討結果が General considerations として報告される。この検討結果は、新たな MRL 設定の方法論あるいは考え方として、将来的に FAO マニュアル等の関連文書に収載されることになる。そのため、我が国における MRL 設定の方法論もまた、これに同調して更新されなければ、国際的に整合した MRL 設定を維持、継続できない。本研究では、JMPR 報告書をもとに新規課題が提案された背景と議論の動向を調査し、我が国の MRL 設定ガイド更新のための基礎資料を作成することを目的とした。

B. 研究方法

2015 年～2018 年に発行された JMPR 報告書に General considerations として報告された検討課題について、議論の背景と動向を調査して要点をまとめた。今年度

は調査対象の検討課題として「果菜類（ウリ科以外）のグループ MRL の設定プロセス」と「生涯よりも短期の暴露推定」を選択した。

JMPR の評価は、主にコーデックス残留農薬部会（以下、CCPR）からの諮問に応じて、残留農薬の管理のための MRL 案の評価を FAO パネルが、毒性学的評価を WHO パネルが担当している。本研究では、MRL 設定に資するものとして、主に FAO パネルの評価に関連する課題を選択した。さらに、動向を調査するにあたり、関連の深い CCPR の討議文書及び報告書、FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会（JECFA）の報告書等も参考にした。

＜JMPR＞

・JMPR Reports and evaluations

http://www.fao.org/agriculture/crops/thematic-sitemap/theme/pests/jmpr/jmpr-rep/en/

＜JECFA＞

・JECFA Reports：WHO Technical report series (TRS)

https://www.who.int/foodsafety/publications/jecfa-reports/en/

＜コーデックス＞

・Codex Alimentarius

http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/en/

C. D. 結果及び考察

1）果菜類（ウリ科以外）のグループ MRL の設定プロセス

コーデックスでは、農薬の残留基準の設定のための食品分類に関する文書「Codex Alimentarius Vol.2 Pesticides Residues in Food 2nd Edition, Codex Classification of Foods and Animal Feeds（CAC/MISC 4-1993）」（以下、コーデックス食品分類とする）が作成されている。この食品分類は、貿易される食品・飼料（commodity；以下、農産品とする）に関するできる限り完全なリストであること、そして農薬の残留の類似性に基づき食品・飼料をグループ化することを意図しており、そのグループ化に関する原則と基準は次の通りである。

1. 農産品での農薬の残留の可能性が似ている
（Commodities' similar potential for pesticide residues）；
2. 形態が似ている
（Similar morphology）；
3. 生産方式、生育習性などが似ている
（Similar production practices, growth habits, etc）；
4. 可食部（Edible portion）；
5. 農薬の使用に関する GAP が似ている
（Similar GAP for pesticide uses）；
6. 残留の挙動が似ている
（Similar residue behaviour）；
7. （サブ）グループトレランスの設定には柔軟性を与える
（To provide flexibility for setting (sub) group tolerances）

コーデックス食品分類には、各農産品

が学名等も含めて正確に説明されており、農薬の最大残留基準の設定では、対象となる農産品やその MRL 適用部位を特定するのに非常に重要な意味を持つ。また、コーデックスでは全ての農産品について個別の作物残留試験の実施が経済的にみて正当化できない可能性も認識しており、個別ではなく農産品の“グループ”について MRL を設定するというやり方が導入されている。これは、グループ又はサブグループ内から代表となる農産品（representative commodities）を選定した上で、代表農産品の作物残留試験で得られた残留濃度データを、作物残留試験が行われていない同グループ又はサブグループに含まれるその他の関連の農産品における残留濃度を推定するのに利用するというものである。代表農産品は、商業上の重要性と形態的な類似性、残留特性などに基づき選定される。選定の原則は次の 3 つがあり、代表に選定するには少なくとも最初の 2 つを満たさなければならないとされている。ただし、これらの原則はグループ MRL が設定される農産品全てが同様の農薬の使用パターン又は GAP に従っているという想定のもとで適用される。

- 残留物の濃度が最も高くなるだろう農産品を代表とする。
- 生産と消費がともに、あるいはそのいずれかが主要な農産品を代表とする。
- 形態、生育習性、害虫に関する問題、可食部がグループ又はサブグループに含まれる関連農産品と最も類似した農産品を代表とする。

現在 CCPR ではコーデックス食品分類の全般的な改訂が進められており、その議論に合わせて、残留農薬のグループ MRL に関連した、同じグループ又はサブグループで残留を外挿するための代表農産品の選定に関する原則及びガイダンス（CXG 84-2012）の改訂も検討された。CXG 84-2012 には、食品分類をもとにした代表農産品の選定例と外挿の対象農産品が別添の Table としてまとめられている。この表に記された代表農産品はあくまで「選定例」であり、農薬が使用される国や地域での状況を踏まえてケースバイケースで選定の判断をできるという柔軟性が備えられている。JMPR による評価においても代表農産品の選定はケースバイケースであり、選定例として示されたもの以外の農産品を代表に選ぶことがあるが、その場合には、その正当性を入手可能なデータに基づき CCPR に示すことになっている。

この CCPR における野菜の農産品グループ（commodity groups）の改訂について、JMPR（2017）が次の疑問を呈している。その疑問とは、代表農産品と残留の類似性がない、又はありそうにない農産品が同じグループに含まれているのではないか、という点である。問題になったのは、トマト（tomatoes）と peppers のサブグループである。CXG 84-2012（2017 改訂版）

の別添の Table のうち該当する部分は別添表 1 の通り。本研究報告では、この課題についての議論の経緯を順に以下にまとめる。

トマトのサブグループについては、トマトとチェリートマト（Cherry tomato）が作物残留試験の結果を入手できた農産品である。JMPR（2017）では、同サブグループに含まれる他の農産品について評価は行っていないが、その中には果実の成長、果実の大きさ（例：ハックルベリー Huckleberries）に違いがあり、果実をくるむ外皮をもつもの（例：ブドウホオズキ Cape Gooseberry）があることなどに言及して、トマト又はチェリートマトにおける残留はその他の農産品における残留の代表とはならないであろうと指摘した。そして、これら作物の相対残留データがないため、トマトについてデータを入手できたら、下記の農産品について個別に MRL を勧告すると決定した。

- VO 2700 Cherry tomato *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme (Dunal) A. Gray
- VO 0448 Tomato *Lycopersicon esculentum* Mill.; Syn*: Solanum lycopersicum* L.

peppers のサブグループについても同様で、JMPR（2017）は、オクラ（okra）での残留が peppers とは異なるということが入手可能な情報から示唆されている点に言及した。JMPR は、peppers、ローゼル（roselle）、オオツノゴマ（martynia）における残留を比較した試験は知らないが、生育習性、大きさ、形状の違いから、Bell 型及び non-Bell 型 peppers における残留は、その他の農産品（例：オクラ、オオツノゴマ、ローゼル）における残留の代表にはならないであろうと考えている。これら農産品の相対残留データがないため、Bell 型及び non-Bell 型 peppers についてデータを入手できたら、次の農産品について MRL を勧告すると決定した。

- VO 0051 Subgroup of Peppers (except okra, martynia and roselle)

しかし、上述の JMPR（2017）の結論を受け取った第 50 回 CCPR（2018）では、いくつかの国が当該農産品のグループ MRL が勧告されなかったことに懸念を表し、JMPR にて再度検討が行われることになった。これを受け JMPR（2018）では、コーデックス食品分類の農産品グループに関する原則と基準を再確認した上で、各農産品における残留の可能性を比較するための指標を決定し、問題となったサブグループの代表農産品について次のような結論を出している。

比較の指標

農薬の葉面散布による残留は初回散布の沈着に大きく左右されるため、異なる農産品についての残留の可能性を比較する場合には、葉面散布による投与当日の残留（つまり投与後 0 日の初期残留濃度）

が良い指標となる。JMPR は、1 kg ai/ha の投与率に対してノーマライズされた初期残留濃度のデータベースを構築するために、公開されている論文や EU のドラフト評価書のような公的に利用可能なその他の情報とともに 1993-2017 年の JMPR 評価書を利用した。

サブグループ・トマト（VO 2045）について

トマトに関するデータは、入手できた様々な情報からは、大きさで分類するのが難しく、チェリートマトやその他のトマトと区別することが出来なかった。ノーマライズされた初期残留濃度の中央値の比較を比較したところ、サブグループのトマト（012A）が 0.52 mg/kg（n=213）、ブドウホオズキが 0.47 mg/kg（n=2）であった。限られたデータだが、このように同程度の初期残留濃度が得られたという結果は、2017 年 JMPR 会合で示された代表農産品とすることへの懸念を払拭し、トマトに関する残留データをサブグループ全体に外挿することを支持している。

サブグループ・peppers（VO 0051）について

ノーマライズされた初期残留濃度の中央値の比較では、オクラの 7.4 mg/kg（n=108）が、他の農産品である peppers chili の 1.8 mg/kg（n=9）、Bell 型 peppers の 0.74 mg/kg（n=40）、non-Bell 型 peppers の 1.1 mg/kg（n=4）よりもはるかに高かった。このデータは、同じ cGAP に従って処理されたとしても、peppers における残留がオクラでの残留を反映しそうにないことを示唆している。食品分類の原則と基準に照らし合わせてオクラを peppers と比べると大きさや形状に違いが見られることから（peppers はつるつるしているのに対し、オクラは畝がありわずかに毛が生えている）、peppers とオクラでは残留の可能性が異なるものと考えられ、前回の JMPR 会合での結論を追認した。しかしながら、この結論を受け取った第 51 回 CCPR（2019）では、MRL 設定においてオクラをサブグループ peppers から外すことに複数国から懸念が示されたため検討をさらに継続することとなり、まずは検討のためのオクラの残留農薬に関するモニタリングデータと作物残留試験データの提出がメンバー国に呼びかけられた。データ提出についてはケニアがその意思を表明している。データ収集にあたり、現行では MRL 設定にモニタリングデータのみを使用することは GAP 情報などが得られないスパイスに限られていること、今後、グループ及びサブグループ内での残留農薬の外挿において他にどのような科学的根拠を検討すれば良いのか、また異なる農作物でのモニタリングデータと作物残留試験データに何らかの相関性があるのかなどを JMPR が検討できるようするためにデータが必要であることが確認されている。従って、本件に関する議論は現時点では中断され、データ収集が

行われているところである。

サブグループ・ナス（eggplants）

現行では、GAP が等しくナスの残留データがない場合には、トマトをナスに外挿することが勧告されている。ノーマライズされた初期残留濃度の中央値の比較では、ナスが 0.97 mg/kg（n=28）であるのに対して、トマトは 0.52 mg/kg（n=213）であり外挿するには値が低すぎる。Bell 型 peppers の 0.74 mg/kg（n=40）、non-Bell 型 peppers の 1.1 mg/kg（n=4）の方がナスの値に近く、peppers が、外挿のための代表農産品により適していることを示していることから、JMPR（2018）は、サブグループ・ナスに外挿するのにあたり GAPs に問題がなければ、peppers から外挿できると合意した。

以上、食品分類に基づくグループ MRL の設定プロセスにおける代表農産品の選択に関する、JMPR の検討の経緯をまとめた。我が国の残留基準設定においても、コーデックス食品分類や残留農薬のグループ MRL 設定の考え方を参考にした取り組みが現在進行中である（平成 29 年 6 月 22 日、平成 30 年 7 月 12 日及び平成 31 年 3 月 29 日薬事・食品衛生審議会農薬・動物用医薬品部会）。本報告でまとめた JMPR による代表農産品の検討は、我が国の食品分類やグループの代表農産品の選定プロセスにおいて、どのような検討方法がよいのか、さらに我が国の薬事・食品衛生審議会(食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会)で示されている食品分類（中分類）案のトマト類、ピーマン・とうがらし（オクラを含む）、なす類についての検討において参考になる。

【厚生労働省】薬事・食品衛生審議会(食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会)
https://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/shingi-yakuji_127891.html

2）生涯よりも短期の暴露推定

JMPR の評価では、CCPR に提案する MRL の設定とともに、その MRL が消費者の安全を十分に確保できるのかについても検討している（暴露評価）。残留農薬への暴露については、これまで、生涯にわたる「慢性（長期）暴露」と、24 時間（1 日）又はそれより短い時間の「急性暴露」によるヒトの健康への影響を考慮しており、1 日よりも長く生涯よりも短い期間の暴露については検討していなかった。しかしながら、慢性暴露になるまでの幅広い暴露期間を通して毒性影響の可能性が変わらない、つまり有害な影響の兆候が暴露される期間に関係しないという事象が動物試験の結果からまれではないことが示されており、食事暴露量が長期的（生涯暴露）には ADI よりも低いが短期的に ADI よりも高い場合に有害影響が生じる可能性への懸念が示された。そのため JMPR（2014、2015）では、生涯よりも短期の暴露による影響を評価するための

モデル開発が必要であると判断され、専門作業部会の設置が勧告された。

この課題については現在も検討中であるが、議論の背景や進捗状況を知っておくことも重要であることから、これまでの検討の経緯について以下にまとめる。

農薬の中には動物用医薬品としても使われる化合物があるため、この課題はJECFAとともに議論が進められている。

JMPR（2015）の勧告を受け、まずJMPR/JECFA合同作業部会（2017）において検討がなされた。作業部会では、動物用医薬品としても農薬としても両用される化合物について、両方の目的で使用された場合に、1）推定暴露量がADIを下回るのか、2）JMPRとJECFAがそれぞれ利用している現行の食事暴露評価法で比較可能な推定を行えるのかどうか、3）JMPRとJECFAの現行の食事暴露評価は、各国の推定食事暴露量と比較して、十分に保護的な推定を行えるのかどうか、という視点で食事暴露評価の方法論について議論された。

JECFAとJMPRの食事暴露評価に用いられるデータは、残留濃度についてはともに中央値を使用するものの、食品の摂取量データ（consumption data）は次のように異なる。

JMPR：IEDI（International Estimate of Daily Intake）

WHOのGEMS/Foodクラスターダイエットに基づいている。GEMS/Foodクラスターダイエットは、FAO food balance sheetsをもとに、1人当たりの平均的な一日摂取量を示している。クラスターとは20食品の摂取パターンの類似性をもとに世界の国を分類したもので、現在は17クラスターからなる。

JECFA：GECDE（Global Estimated Chronic Dietary Exposure）

JECFAによる残留動物用医薬品の暴露評価には、以前はモデルダイエット（動物由来の各食品の一日摂取量として規定値を使用：畜肉300g、肝臓100g、腎臓50g、脂肪50g（ここまでの家畜部位を合わせて500g）、魚肉300g、乳1500g、卵100g、蜂蜜20g）を使用していた。このモデルダイエットの食品摂取量と残留濃度の中央値から求められた暴露量がEDI（Estimated Daily Intake）と呼ばれる。しかしEDIは非常に保守的であるとの懸念から、2011年に、より現実的な食品摂取量を反映させたGECDEによるアプローチが提案された。GECDEは、習慣的な多量摂取者を考慮に入れており、ある一つの食品の高用量暴露量（consumer-onlyの97.5thパーセンタイル摂取量×残留濃度の中央値）と、それ以外の食品の平均暴露量（total populationの平均摂取量×残留濃度の中央値）を合わせたものである。用いられる各国の食品摂取量データは、2日以上の個人の食事記録をもとにして体重kg当たりで示される。97.5thパーセンタイルを用

いたのは、提出される食品摂取量データとして一般的な値であることが理由で、90th や 95th でも慢性的な多量摂取として考えることができるとしている。それらの摂取量データの入手には、FAO/WHO の CIFOCOss（chronic individual food consumption － summary statistics）が利用できる。CIFOCOSss は、26 ヵ国の 37 調査で得られた個別食品摂取量をもとにした要約統計量であり、各食品について性別、年齢別、パーセンタイル別の摂取量データを得られる。CIFOCOSss は 2012 年に構築され、2018 年に更新された。更新版では、コーデックス分類と EFSA の FoodEx2 分類がマッピングされている。

作業部会は、IEDI と GECDE のそれぞれの特徴から、IEDI は子供における暴露には対応しておらず、慢性暴露の推定には適しているが生涯よりも短期の暴露を推定するには向いていないことを指摘し、GECDE の方が生涯よりも短期の暴露を推定するのに適しているとの結論を出すとともに、下記のような勧告をまとめた。

<u>両用される化合物について</u>

1. JECFA と JMPR は、常に、両用による暴露を考慮するように努めること。
2. 近い将来、同じ動物性食品での動物用医薬品の使用と農薬の使用による残留濃度を、食事暴露評価のために提供される残留データとして追加すべきである。
3. JECFA 及び JMPR は、両用される化合物の暴露評価をより良くするために残留定義を統一するように努めること。
4. GECDE モデルを、より正確に各国の推定食事暴露量を網羅するために改良すべきである。

<u>生涯より短期の暴露について</u>

1. 暴露評価とハザード評価をより的確にリンクさせるため、JECFA と JMPR は、感受性が高い集団とそれら集団に関連する暴露期間を、検討対象の各化合物の毒性ファイルから、明確に同定すべきである。
2. JECFA は、このガイダンスを食品化学物質の今後の評価に導入し、その経験をもとに適宜改良すべきである。
3. JMPR は、毒性学的エンドポイントに応じて、個別食品摂取量データ（individual food consumption data）の利用を検討すべきである。

<u>食事暴露評価の方法論について</u>

1. さらに改良した GECDE を、生涯よりも短期の暴露を評価するために使用すべきである
2. 検討対象の化合物への暴露は、CIFOCOss で入手可能な個別食品摂取量調査を利用して評価すべきである
3. 97.5th パーセンタイルよりも、信頼できる最大パーセンタイルを全てのケースについて使用すべきである。

<u>食品摂取量データの収集について</u>

1. FAO と WHO は、さらに広範な国と集団をより完全に網羅できるようにするため CIFOCOss データベースの更新を継続すべきである
2. 可能な限り、FAO と WHO は、EFSA の FoodEx2 分類に基づきデータを収集すべきである。FoodEx2 分類はコーデックス分類よりも詳細である。
3. CIFOCOss で収集したデータを一次農産品（raw agricultural commodities）のデータに変換するための換算表を開発すべきである。

これらの作業部会による勧告を受け、第 85 回 JECFA（2017）では、毒性学的影響の特性と感受性が高い集団、その集団における暴露期間を考慮して、生涯よりも短期の暴露に関するリスクキャラクタリゼーションのための「決定木（案）」（別添図 1）を作成した。

この決定木（案）について、JMPR（2018）も毒性学的な視点と、暴露評価に用いる摂取量データの視点から検討を行い、主に次のような意見を出した上で、「決定木（案）」は役立つアプローチではあるが改善の必要性があるとの意見で合意し、今後も議論を継続すべきであると勧告している。

毒性学的な検討

- 1 シーズン又は生涯のうちのある時期での食事暴露量が ADI を短期的に超過した場合に毒性学的懸念が生じるサブ集団というのは、胎児（発達毒性 developmental toxicity）、乳幼児（1～6 才、出生児毒性 offspring toxicity）、農薬を含む食品の多量摂取者の成人である。
- 決定木（案）において、毒性学的な懸念がある集団を同定するための判断基準（decision points）に使用した係数 3 は、97.5th パーセンタイル暴露量と平均暴露量との比率に基づく。複数の試験で得られた基準点（points of departure : PODs）を比較するなら、毒性試験それぞれの強さ（power）を考慮することが必要である。もし暴露よりも毒性をもとにして 1 桁以内の差であるならば、PODs は類似していると考えるべきである。そのため、決定木の見直しとして、判断基準に係数 10（3 よりもむしろ）の利用を提案する。
- 生涯より短期の暴露について特別な懸念があるのかどうかを評価するには 4～104 週間で実施されたラット（及びマウス）試験から十分な情報を得られる。
- 毒性が親化合物よりも代謝物の方が高いものがあるが、多くの場合は、代謝物についての長期試験のデータが入手できないであろう。代謝物の親化合物に対する強さについて結論を出すのが可能であれば強さ係数（potency factor）をリスクキャラクタリゼーションに用いることができる。よって、決定木は、可能であれば、そして可能な限り、代謝物についても適用すべきである。
- 急性参照用量（ARfD）の検討が必要な化合物については、そのもとになった POD が ADI のもとになったものと同じで、子供と成人の急性暴露に懸念がないなら、生涯よりも短期の暴露についての

懸念もないだろう。

食事暴露についての検討

- JMPR で従来使用してきた IEDI は、特定の年齢/性別の集団、生涯よりも短期の暴露を評価するために必要であろう多量摂取者の集団に関する情報は提供できない。
- JECFA の GECDE は、生涯よりも短期の暴露による影響が懸念される化合物の評価に適しているだろう。しかしながら、このアプローチを JMPR の一般的な手順に組み込むには、より広範な農薬に関して利用可能であるか確認する必要がある。
- CIFOCOss データベースに摂取量データを集約するには、各国から提出される摂取量調査において、食品の一貫したコード化の作業が必要である。WHO が、消費されるものとして報告された食品についてのみ、EFSA の FoodEx2 コードを利用するデータベースを現在更新中である。

以上の通り、生涯よりも短期の暴露をどのように考慮すべきなのかについて JMPR と JECFA で数年にわたり議論されているが、ある程度の方向性は見えてきたものの最終結論はでておらず、いくつかの化合物を用いての試行と改善点の検討が続いている。将来、最終結論がまとまった後には JMPR の農薬評価の手順書（FAO マニュアル）に収載されるものと予測される。議論の背景や経緯を知っておくと、手順書に収載された最終的な方法論を理解する上で役立つため、本課題については JECFA での議論とともに議論が完了までフォローアップしていく。

E. 研究発表

1. 論文発表

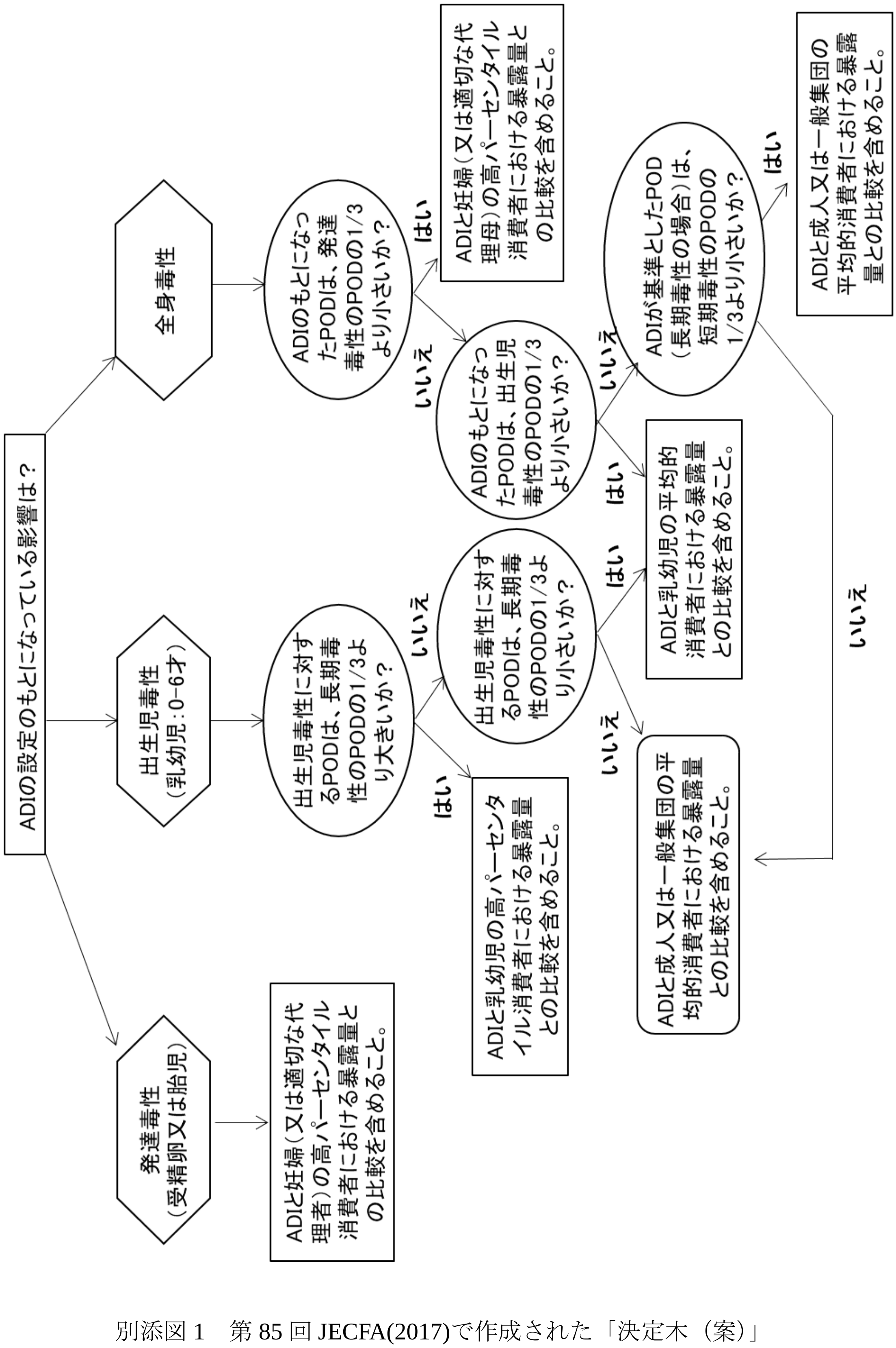
なし

2. 学会発表

なし

別添表 1. CXG 84-2012 amended in 2017- グループ 012

食品グループ/サブグループ	代表作物の例	外挿の対象作物
グループ 012　果菜類（ウリ科除く）		
サブグループ 12A, トマト類	大型トマトの 1 栽培品種、小型トマトの 1 栽培品種	トマト類(VO 2045): Bush tomato; Cherry tomato; Cocona; Currant tomato; Garden huckleberry; Goji berry; Ground cherries; Sunberry; Tomatillo; Tomato
サブグループ 12B, peppers 及び pepper-like 作物	ピーマン（Sweet Pepper）及びトウガラシ（Chili pepper）	Peppers (VO 0051): Martynia; Okra; Peppers, Chili; Peppers, sweet; Roselle;
サブグループ 12C, ナス及びナス様作物	大型ナス及び/又はトマトの 1 栽培品種、小型ナス及び/又はトマトの 1 栽培品種	ナス類 (VO 2046): African eggplant; Eggplant; Pea eggplant; Pepino; Scarlet eggplant; Thai eggplant



別添図 1　第 85 回 JECFA(2017)で作成された「決定木（案）」

＜JECFA による「決定木（案）」検討内容＞

- ADI が発達影響に基づく場合は、妊婦にリスクがある可能性があり、重要となる暴露期間はたったの数日か数週間であろう。そのようなケースでは、妊婦の高パーセンタイル摂取者又は適当な代替集団における暴露を検討する必要がある。
- ADI のもとになった POD（例：NOAEL）が発達影響ではなく、発達影響の POD の 1/3 以下の場合は、妊婦にリスクがある可能性があり、重要となる暴露期間はたったの数日か数週間であろう。そのようなケースでは、妊婦の高パーセンタイル摂取者又は適当な代替集団における暴露を検討する必要がある。
- ADI が出生児毒性に基づいており、その POD が長期毒性（例：ラット 2 年間試験）の POD の 1/3 以下の場合は、乳・幼児にリスクがあるだろう。そのようなケースでは、乳・幼児の典型的な（平均）摂取者における暴露を検討する必要がある。
- ADI のもとになった POD が、出生児毒性に関する POD の 1/3 以下の場合、乳・幼児にリスクがある可能性がある。そのようなケースでは、乳・幼児の典型的な（平均）摂取者における暴露を検討する必要がある。
- ADI が出生児毒性に基づき、もとになった POD が長期毒性の POD の 1/3 より大きい場合には、乳・幼児への潜在リスクが特に懸念されるだろう。そのようなケースでは、乳・幼児の高パーセンタイル摂取者における暴露を検討する必要がある。
- ADI が長期試験（例：ラット 2 年間試験）で観察された影響に基づき、より短期（例：ラット又はイヌの 90 日間毒性試験）の試験で観察された POD が、その ADI のもとになった POD の 3 倍以下の場合には、一般集団における生涯よりも短期の暴露について懸念があるだろう。そのようなケースでは、成人又は一般集団の高パーセンタイル摂取者における暴露を検討する必要がある。
- ARfD と ADI のもとになった POD が同じ場合、もし短期暴露（子供と一般集団）が懸念されないなら、生涯より短期の暴露についての懸念はないだろう。
- その他の全ての状況について、生涯よりも短期の暴露についての特別な懸念はないだろう。そのようなケースでは、平均的な成人または一般集団の摂取者における暴露の検討で十分である。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
渡邉敬浩，松田りえ子	検査について考えることができること-1つのサンプルの結果から検査が成立する場合に関する統計学的考察	食品衛生研究	69	17-24	2019
大原万里英,高畑正浩，渡邉敬浩	FAO/WHO合同食品規格計画第51回残留農薬部会(CCPR)	食品衛生研究	70	33-47	2020

令和２年３月２７日

厚生労働大臣　殿

機関名　国立医[redacted]

所属研究機関長　職　名　所長[redacted]

氏　名　奥田晴[redacted]

次の職員の令和元年度厚生労働行政推進調査事業費補助金の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

１．研究事業名　食品の安全確保推進研究事業

２．研究課題名　食品に残留する農薬管理における方法論の国際整合に関する研究

３．研究者名　（所属部局・職名）　安全情報部・第一室長

（氏名・フリガナ）　渡邉　敬浩・ワタナベ　タカヒロ

４．倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入（※1）		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査（※2）
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	□	☑	□		□
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	□	☑	□		□
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（※3）	□	☑	□		□
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	□	☑	□		□
その他、該当する倫理指針があれば記入すること （指針の名称：　　　　　　　　）	□	☑	□		□

（※1）当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

（※2）未審査に場合は、その理由を記載すること。
（※3）廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

５．厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☑　　未受講 □

６．利益相反の管理

当研究機関におけるＣＯＩの管理に関する規定の策定	有 ☑　無 □（無の場合はその理由：　　　）
当研究機関におけるＣＯＩ委員会設置の有無	有 ☑　無 □（無の場合は委託先機関：　　　）
当研究に係るＣＯＩについての報告・審査の有無	有 ☑　無 □（無の場合はその理由：　　　）
当研究に係るＣＯＩについての指導・管理の有無	有 □　無 ☑（有の場合はその内容：　　　）

（留意事項）　・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和２年４月３０日

厚生労働大臣　殿

機関名　農林水産[redacted]

所属研究機関長　職　名　大臣官房[redacted]

氏　名　枝元　真[redacted]

次の職員の令和元年度厚生労働行政推進調査事業費補助金の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

１．研究事業名　食品の安全確保推進研究事業

２．研究課題名　食品に残留する農薬管理における方法論の国際整合に関する研究

３．研究者名　（所属部局・職名）　農林水産省・大臣官房参事官

（氏名・フリガナ）　山田 友紀子・ヤマダ ユキコ

４．倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入（※1）		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査（※2）
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	□	☑	□		□
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	□	☑	□		□
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（※3）	□	☑	□		□
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	□	☑	□		□
その他、該当する倫理指針があれば記入すること（指針の名称：　　　）	□	☑	□		□

（※1）当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

（※2）未審査に場合は、その理由を記載すること。
（※3）廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

５．厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☑　未受講 □

６．利益相反の管理

当研究機関におけるＣＯＩの管理に関する規定の策定	有 □　無 ☑（無の場合はその理由：研究機関に該当しないため　）
当研究機関におけるＣＯＩ委員会設置の有無	有 □　無 ☑（無の場合は委託先機関：国立医薬品食品衛生研究所　）
当研究に係るＣＯＩについての報告・審査の有無	有 ☑　無 □（無の場合はその理由：　　）
当研究に係るＣＯＩについての指導・管理の有無	有 □　無 ☑（有の場合はその内容：　　）

（留意事項）　・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和２年３月２７日

厚生労働大臣　殿

機関名　国立医薬[redacted]

所属研究機関長　職　名　所長[redacted]

氏　名　奥田　晴[redacted]

次の職員の令和元年度厚生労働行政推進調査事業費補助金の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

１．研究事業名　食品の安全確保推進研究事業

２．研究課題名　食品に残留する農薬管理における方法論の国際整合に関する研究

３．研究者名　（所属部局・職名）　安全情報部・第三室長

（氏名・フリガナ）　登田　美桜・トダ　ミオウ

４．倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	☐	☑	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☑	☐		☐
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐	☑	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐	☑	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること（指針の名称：　　）	☐	☑	☐		☐

（※1）当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

（※2）未審査に場合は、その理由を記載すること。
（※3）廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

５．厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☑　未受講 ☐

６．利益相反の管理

当研究機関におけるＣＯＩの管理に関する規定の策定	有 ☑　無 ☐（無の場合はその理由：　　）
当研究機関におけるＣＯＩ委員会設置の有無	有 ☑　無 ☐（無の場合は委託先機関：　　）
当研究に係るＣＯＩについての報告・審査の有無	有 ☑　無 ☐（無の場合はその理由：　　）
当研究に係るＣＯＩについての指導・管理の有無	有 ☐　無 ☑（有の場合はその内容：　　）

（留意事項）　・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。