

令和 2 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

輸出先国のリスク管理に対応した  
残留農薬データ等の補完に関する研究

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

渡邊敬浩

研究分担者

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

山田友紀子

東京農業大学応用生物科学部

加藤 拓

日本ハム株式会社 中央研究所

荒川史博

令和 3 年(2021 年) 5 月

## 目 次

I. 総括研究報告	
輸出先国のリスク管理に対応した残留農薬データ等の補完に関する研究 渡邊敬浩.....	1
II. 分担研究報告	
1. 農薬等の残留する試料の作成と残留物の評価に関する研究 加藤 拓.....	36
2. 近年国際的に求められているリスク管理のための新規分析手法の開発と国内導入に 関する研究 渡邊敬浩 .....	46
3. 輸出可能性が高い農産品における残留物濃度の加工による変化に関する研究 荒川史博.....	76
4. MRL設定に関わる残留物の定義、MRL設定やインポートトレランス設定に利用可 能なデータセットに関する研究 山田友紀子.....	102
III. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	117

# I. 総括研究報告

輸出先国のリスク管理に対応した残留農薬データ等の  
補完に関する研究

渡邊敬浩

## 令和2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

### 輸出先国のリスク管理に対応した残留農薬データ等の補完に関する研究 総括研究報告書

研究代表者	渡邊敬浩	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	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部
研究分担者	加藤 拓	東京農業大学応用生物科学部
研究分担者	荒川史博	日本ハム株式会社 中央研究所

#### 研究概要

##### 研究課題 1. 農薬等の残留する試料の作成と残留物の評価に関する研究

農薬の適正使用の結果として農産品に含まれる可能性のある残留物の量を知ることが主目的として、作物残留試験が実施される。作物残留試験を通じて得られる、農薬を投与(処理)した結果としての残留物を含む試料はインカード試料と呼ばれ、加工試験や分析法の妥当性確認に必須である。本研究では、作物残留試験が実施できない場合におけるインカード試料の作成について検討し、作成したインカード試料に含まれる農薬残留物を評価することを目的とした。本年度の研究においては、エトフェンプロックス(Etofenprox)とジノテフラン(Dinotefuran)を有効成分として選定し、OECD Guideline for the Testing of Chemicals 509 に準拠した農薬投与と作物栽培を行い、稲に由来する各種農産品のインカード試料を作成した。まず、農薬処理区と対照区である無処理区を同一圃場内に設置し、各農薬の有効成分に定められた使用時期の収穫前期間、並びに使用間隔が最小となるように農薬を投与し、収穫後に試料を調製した。その結果、農薬を投与し栽培した各期間の稲の生育量に違いがないことが確認された。次に、公示分析法を基礎として開発した分析法を用いて、残留物としてのエトフェンプロックスとジノテフランを分析した。その結果、各残留物の濃度は、籾殻>稲わら>玄米の順に高い値を示した。これら残留物濃度の違いは、農薬の散布と作物の育成時期を考慮すると妥当な結果と考えられた。

## 研究課題 2. 近年国際的に求められているリスク管理のための新規分析手法の開発と国内導入に関する研究

農林水産物・農産加工品(農産品等)の輸出促進のためには、国際整合した食品安全行政とそれによる取組が基本となる。農薬残留物の規制に関しては、国際整合した考え方や方法論に基づいて輸出先国により設定された最大残留基準値(MRL)への適合を確実にすることや、MRL が設定されていない場合には設定申請(インポートトレランス申請)することが具体的な方策となる。取組の1つとして、規制の目的で使用可能な簡易で迅速な分析法の提示も必要だが、わが国においては検証が十分でなく、国産農産品等輸出促進の障壁となる可能性があり解決すべき課題である。

本研究では、農薬残留物の簡易で迅速な分析法として国際的にも急速に認められつつある QuEChERS 法について、インカード試料を用い、従来の分析法との比較を行いながら、厳密な性能評価を行う事を目的とした。本年度研究においては、研究課題1によって作成されたエトフェンプロックス及びジノテフランの残留物を含むインカード試料(玄米)の計画的な分析を通じて、QuEChERS 法の性能を評価するとともに試料調製方法等のさらなる検討につながる重要な知見を得た。

その他の課題として、国内流通する農産品における農薬残留物濃度の海外 MRL への適合度の検証を、先行研究により実施されたいちごの他にコメと茶を対象として実施した。その結果からも、わが国における農業の適正な実施の結果として生じる可能性のある濃度であることを科学的根拠に基づき実証し、インポートトレランス申請することが有効であると考えられた。

## 研究課題 3. 輸出可能性が高い農産品における残留物濃度の加工による変化に関する研究

農産品等の輸出推進の観点からも、MRL 設定は一国の課題ではなく、多くの国で受け入れられるよう適切な科学的根拠をもとに行わなければならない。農薬等を使用して栽培された作物由来の農産品を原料とする農産加工品を対象に、暴露量の精密推定や MRL 設定の必要性を判断するためには、農産品と農薬との組み合わせごとに、農薬残留物の加工による変化や加工後の濃度を明らかにする必要がある。そのために実施される研

究は加工試験と呼ばれるが、貿易量の大きな主要な農産加工品でしか実施されていない。

本研究課題では、わが国に特有であり輸出の可能性もあるが、これまでに加工試験の実施されていない農産加工品を選定し加工試験を実施することを通じて、暴露量の精密推定や MRL 設定の必要性の判断に資するデータを取得することを目的とした。本年度の研究においては、研究課題 1 で作成されたインカード試料(玄米)を原料として、プラントレベルでのこめ油の製造、及び家庭における一般的な方法を用いた米飯の調理を行い、エトフェンプロックス及びジノテフランに関する加工係数及び物質収支(マスバランス)について検討した。

#### **研究課題 4. MRL 設定に関わる残留物の定義、MRL 設定やインポートトレランス設定に利用可能なデータセットに関する研究**

わが国における農薬の MRL 設定や、わが国から輸出先国へのインポートトレランス設定の申請が、より科学的かつ国際的に整合した方法で実施できるようにすることを目的として、今年度の本研究においては、①昨年度に引き続き、MRL やインポートトレランスを設定するために重要な「残留物の定義」の決定に関する OECD Working Group on Pesticides の参加にある Residue Chemistry Expert Group の Subgroup である Drafting Group on Definition of Residue に参加し、残留分野において、日本の現状を説明するとともに、残留物の定義に関する OECD ガイドライン策定へ向けて貢献した。②他国で実施した作物残留試験の結果をわが国における MRL の設定に使用できるかどうかの検証の 2 年目として、その検証の対象とする農薬/食品の組合せを特定した。

本研究総括報告書は、研究課題の 1~4 について各分担研究者により執筆された分担研究報告書からの選択と抽出を通じて再構成された。

## 研究課題 1. 農薬等の残留する試料の作成と残留物の評価に関する研究

### A. 研究目的

暴露量の精密な推定や、農産物に含まれる農薬残留物を許容する上限値である最大残留基準値(MRL)設定の必要の判断には、農産加工品における残留物の挙動を知るために、加工試験が必要である。また、設定された MRL への適合判定を目的とした分析においては、使用する分析法が必要とされる性能規準を満たしているかを評価し、妥当性を確認しなければならない。本来、これらの加工試験や妥当性確認には、農薬等を投与した結果として生じる残留物を含む試料(インカード試料)を使用しなければならない。

農薬等の新規登録時であれば作物残留試験等を通じてインカード試料を作成することが可能である。しかし、すでに設定されている MRL に関するデータギャップを埋めるために、新たな作物残留試験等を実施することは不可能である。本研究では、登録済み農薬を対象に、インカード試料の作成検討、及びそこに含まれる残留物の評価を目的とした。具体的には、作物の栽培方法や当該作物に適用のある農薬の使用時期、使用方法等を考慮して使用する農薬を特定し、実際の農業における栽培を反映する方法で当該作物に使用し、3年間を通じて、複

数の農薬と作物の組み合わせについて、加工試験、及び妥当性確認に利用することのできるインカード試料の作成を検討する。1年目となる本年度の研究では、稲を対象作物とし、稲から調製される農産品(玄米・粳穀・稲わら)に含まれるエトフェンプロックス(Etofenprox)、並びにジノテフラン(Dinotefuran)残留物について検討する。

### B. 研究方法

#### 1. 投与農薬の選定

今年度の研究対象として栽培することを決めた稲への投与が登録されている農薬のうちから、①使用濃度が高く、かつ収穫直前に使用可能であることから、収穫した米粒における残留物の濃度が分析法の定量下限値に比べ十分に高くなると考えられること、②FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議(JMPR)に作物残留試験データが提出されており、評価書によって農産物における残留物の濃度が高いことが示されていること、③浸透移行性の低いものが望ましいこと、④分析法の特徴と性能に関係することから、水・オクタノール分配係数が高いものと低いもの、⑤分析対象化合に関する標準試薬が入手可能であること、⑥使いやすく、残留物の濃度がより一様になる

剤型が存在すること、⑦複数の有効成分を選択する場合には収穫前期間が同じであり、混合剤が市販されていること、⑧分析に必要な費用、などを総合的に考慮して、2剤を選択した。

## 2. インカード試料の作成方法

本年度の研究においては、わが国の代表的穀物である稲(品種：コシヒカリ)を検討対象作物として選定し、インカード試料の作成を検討した。実際の農業による取組に即した栽培を通じたインカード試料の作成が求められることから、本研究では、圃場スケールでのインカード試料の作成について検討した。OECD Guideline for the Testing of Chemicals 509 (OECD ガイドライン 509)は、圃場スケールでのインカード試料は、通常の使用方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く採取できる規模の圃場にて作成することを求めている。そこで、本研究では試験圃場として約 17a の水田を使用した。また、各処理区は、OECD ガイドライン 509 に準拠するために、同一の試験圃場内に農薬処理区と無処理区を設置し、無処理区への農薬成分による汚染が起こらないように処理区間に十分な規模の緩衝地帯を設けた。

種籾は令和 2 年 4 月 11 日に播種し、同年 5 月 1 日に育苗した 20 日苗を定植した。播種時に除草剤としてカフェンス

トロール・シクロスルファミロン・ダイムロン・ベンゾビシクロン粒剤(商品名サスケ-ラジカルジャンボ；OAT アグリオ株式会社)と殺虫剤としてイミダクロプリド粒剤(商品名アドマイヤ-CR 箱粒剤；クミアイ化学工業株式会社)を育苗箱処理した。

定植した苗の株間は 30 cm、畝間は 24 cm とし、裁植密度は 13.9 本  $m^{-2}$  とした。各処理区の面積は 200  $m^2$  とし、うち外周 50  $m^2$  を番外区とし、残りを試験区とした。

分析法の妥当性確認及び加工試験のためのインカード試料の作成に使用する農薬は、エトフェンプロックス・ジノテフラン水和剤(商品名トレボンスターフロアブル；三井化学アグロ株式会社)とした。本剤は、エトフェンプロックス(7.0%)とジノテフラン(3.0%)を含有する混合剤である。本研究においては、本剤をラベルに記載されている最大の使用方法に則り、300 倍希釈(エトフェンプロックス 23 g ai  $hL^{-1}$ ；ジノテフラン 10 g ai  $hL^{-1}$ )で使用した。また収穫前期間は 7 日間である。

ラベルに記載されている使用時期の収穫前期間、並びに使用間隔が最小となるように、収穫 21 日前(令和 2 年 8 月 4 日)、収穫 14 日前(令和 2 年 8 月 11 日)、収穫 7 日前(令和 2 年 8 月 18 日)の計 3 回、農薬散布を行った。登録されているエトフェンプロックスとジノテフラン



の使用回数は、育苗箱処理も含めると最大4回であるが、本研究では定植後の最大使用回数である3回を散布した。

収穫時(令和2年9月1日)に圃場の各処理区から、稲わらと籾の2種類の農産物を採取した。農薬残留物のコンタミネーションを避けるために、農産物の採取は無処理区から行った。稲わらは、各処理区の試験区内から、約4m毎に一株を地際から刈り取り、各計24株(各処理区12株)を個別にポリエチレン製袋に採取し、採取後直ちに冷凍保存した。一方、籾は番外区、試験区の順に、乗用コンバインを用いて、刈り取りし脱穀した。脱穀後の籾は、ガラス温室にて風乾し、水分が16%になるように調整した。水分調整した籾を籾すりし、玄米と籾殻に分け、それぞれを直ちに-20℃にて保存した。

### 3. インカード試料における農薬残留物の分析方法

玄米は、0.5 mm のメッシュを装備した超遠心粉砕機 ZM-200(Retsch 製)を用い粉砕した。籾殻は、1.0 mm メッシュを装備した同超遠心粉砕機を用いて粉砕した。稲わらは解凍後、各袋から2から3本を抜き取り、10 cm に細断・混合し、農薬処理区・無処理区ごとに1試料ずつを調製した。分析時には、更に2~3 cm に細切した後ブレンダーミキサー Blixer3(robot coupe 製)を用いて粉砕した。

調製した各分析用試料は、エトフェン

プロックス及びジノテフランを対象とする公示分析法を基礎として構築した、一斉分析法を用いて分析した。本一斉分析法の分析対象化合物は、エトフェンプロックス並びにその代謝物である  $\alpha$ -CO、及びジノテフランである

エトフェンプロックス及び  $\alpha$ -CO の分析では、試料 10.0 g に水 20 mL(稲わらの場合には 30 mL)を加え2時間静置後、アセトン 100 mL(稲わらの場合には 120 mL)を加えてホモジナイズした後に吸引ろ過した。残渣にアセトン 50 mL を加えホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトンにより 200 mL に定容し抽出液とした。抽出液 8 mL を分取し、InertSep C18 カラム及び Sep-pak Long Florisil カラムを用いて順次精製し、減圧濃縮して得られた残留物をメタノールにより 1 mL に定容した。エトフェンプロックス並びに  $\alpha$ -CO とともに、試料が籾殻の場合には 100 倍希釈、稲わらの場合には 50 倍希釈した後に液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)に注入して測定した。

ジノテフランの分析では、エトフェンプロックスの分析と同様に 10.0 g の試料からアセトンを用いて抽出を行った後に抽出液 0.8 mL を分取し、InertSep K-solute を用いて精製した。減圧濃縮後の残留物をメタノールにより 1 mL に定容した。試料が玄米の場合には、5 倍希釈、籾殻の場合には 40 倍希釈、稲わらの場

合には10倍希釈した後にLC-MS/MSに注入して測定した。

測定用標準溶液をLC-MS/MSに注入し、各分析対象化合物の重量とピーク面積から作成した検量線(最小二乗法)を使用し、試料における各分析対象化合物の濃度を算出した。なお、測定溶液から得られる信号強度が検量線の設計範囲を超えた場合は適宜希釈して再度測定した。

## C. D. 結果及び考察

### 1. インカード試料の作成

本年度の研究において栽培した稲の草丈は、農薬の無処理区では128.8(±2.7) cm、処理区では132.0(±3.9) cmであった。また、茎数は無処理区では29.4(±4.8)本、処理区では36.6(±5.2)本であった。以上の結果の通り、草丈及び茎数に、処理区間での顕著な違いは認められなかった。したがって、農薬の投与により作物の生育に異常等が生じることなく、作物体重量が揃ったインカード試料が作成できたと考えられる。

収量構成要素である穂数、一穂粒数、登熟歩合、千粒重の値を乗じて玄米収量を算出した結果、農薬の無処理区では608.7(±114.3) g/m<sup>2</sup>、処理区では690.7(±75.9) g/m<sup>2</sup>となり、処理区間の結果に顕著な違いは認められなかった。また各収量構成要素にも、処理区間での顕著な違いは認められなかった。こ

れらの点からも、農薬の投与により生育が異常になることは無く、玄米の収量も影響を受けず、通常の農業により得られる農産物を模したインカード試料が作成されたと考えられる。

### 2. インカード試料における各農薬残留物濃度

インカード試料から得られたエトフェンプロックス濃度は、籾殻>稲わら>玄米の順に高い値を示した。稲わら(葉身+稈+葉鞘)重と穂重の差が小さいこと、並びに農薬を出穂後に散布したことを鑑みると妥当な結果と考えられた。 $\alpha$ -COの濃度もエトフェンプロックスと同様に、籾殻>稲わら>玄米の順に高かった。 $\alpha$ -COについて得られた結果も、エトフェンプロックスと同様に農薬が付着する作物の部位と量に起因するものと考えられた。ジノテフランの濃度も同様に、籾殻>稲わら>玄米の順に高い値を示した。また、玄米と籾殻との間でジノテフラン濃度の比(玄米/籾殻)を計算した結果、エトフェンプロックス濃度について同様に計算した比の10倍に近い値となった。投与された農薬の作物への付着、生育環境下における分解、また植物体への浸透等、様々な要素を考慮する必要があるが、玄米における残留濃度に与える影響についても、今後検討する必要があると考えられた。

## 研究課題 2. 近年国際的に求められているリスク管理のための新規分析手法の開発と国内導入に関する研究

### A. 研究目的

現在のわが国政府の方針として農産品等の輸出促進が掲げられている。食品安全行政の国際整合は、この政府方針に沿った取組の基礎となるため極めて重要である。例えば、輸出先国に設定された MRL に対して輸出を意図する農産品等における農薬残留物濃度の適合を確実にすること、また MRL が設定されていない場合等には必要とされるデータを科学的根拠として示して MRL の設定を申請(インポートトレランス申請)することは、食品安全行政の国際整合に基づく輸出促進のための具体的な方策となる。国際的な観点から見て標準的な MRL の設定あるいはインポートトレランスの申請には、農薬残留物濃度を示すデータ等の他に、規制目的で使用可能な簡易で迅速な分析法の提示が求められる。しかし、これまでのわが国においては、そのような分析法の検証が十分でなかった。そのため、国産農産品等の輸出促進の障壁となる可能性があり解決すべき課題である。

本研究では、国際標準の MRL 設定については国産農産品等の輸出促進に資する研究として、QuEChERS 法の

厳密な性能評価、国内残留実態濃度に基づく海外 MRL への適合度の検証について検討した。以下、検討課題ごとに目的を示す。

### A-1. QuEChERS 法の厳密な性能評価

近年、農薬残留物の簡易で迅速な分析法として QuEChERS 法が開発された。QuEChERS とは、Quick(迅速)、Easy(簡単)、Cheap(安価)、Effective(効率的)、Rugged(頑健)、Safe(安全)の混成語であり、農薬残留物の分析に求められる様々な要件を満たす分析法として期待されている。農薬残留物の規制分野において、国際的にも急速に認められつつあり、規制のための分析法としてだけではなく、作物残留試験データの取得にも利用され始めている。

国産農産品の輸出促進の観点からは、国際標準の MRL 設定またインポートトレランスの申請に備え、QuEChERS 法の適用可否を明らかにしておくことが重要である。また国内においても、QuEChERS 法の利用が検討され始めているが、公的に示されてきた従来の分析法(公示分析法)との比較も含めた厳密な性能評価が最重要課題とされている。

本研究では、QuEChERS 法と呼称される分析法のうち代表的な方法を対象とし、農薬を投与した結果としての残留物を含む試料(インカード試料)の分析を通じて従来の分析法との比較も行いつつ、厳密な性能評価を行うことを目的とした。

## A-2. 残留物実態濃度に基づく海外 MRL への適合度の検証

農業に必要な最小量の農薬の使用が MRL 設定の前提であるが、農薬使用の最小量は、その国や地域の気候や病害虫等の発生により異なる。そのため、設定された MRL の値が国により異なる場合もあるが、科学的根拠を示すことで合理性が認められる。

輸出を意図する相手国において当該農産品等を対象とする MRL が設定されていた場合には、その MRL への適合を確実にすることが基本となる。しかし、当該国における農薬等の使用基準や登録が無く、一律設定が背景になる場合には、設定された MRL の値がわが国の農業により達成可能な値に比べ低くなる可能性がある。そのような場合に、わが国の MRL には適合しても、当該国では不適合になる場合も想像される。本研究では、そのように想像される事態が実際に発生する可能性の検証を目的として、国内流通する農産品等の残留

濃度データを対象に、海外 MRL への適合度を検証した。

## B. 研究方法

### B-1. QuEChERS 法の厳密な性能評価

#### B-1-1. 試薬等

##### B-1-1-1. 標準品

- ・エトフェンプロックス標準品：純度 99.9%(林純薬工業製)
- ・ジノテフラン標準品：純度 99.8%(富士フィルム和光純薬製)

##### B-1-1-2. 試薬

- ・アセトン、アセトニトリル：残留農薬試験用(関東化学製)
- ・メタノール：高速液体クロマトグラフ用(関東化学製)
- ・塩化ナトリウム、酢酸アンモニウム：試薬特級(関東化学製)
- ・くえん酸三ナトリウム二水和物、無水硫酸マグネシウム：試薬特級(富士フィルム和光純薬製)

##### B-1-1-3. 試液の調製

- ・1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液：酢酸アンモニウム 15.43 g を水に溶解し 200 mL とした。
- ・2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液：1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 2 mL に水を加えて 1000 mL とした。

##### B-1-1-4. 標準溶液の調製

###### 1)標準原液の調製

・エトフェンプロックス標準原液：エトフェンプロックス標準品 25 mg を精密に量り、50 mL 容全量フラスコに入れた。アセトンを加え、超音波を照射して溶解した後に定容し、これをエトフェンプロックス標準原液(500 mg/L)とした。

・ジノテフラン標準原液：ジノテフラン標準品 25 mg を精密に量り、以下上記と同様に調製し、ジノテフラン標準原液(500 mg/L)とした。

### 2) 添加用混合標準溶液の調製

・添加用混合標準溶液(1 mg/L)：標準原液(500 mg/L)1.0 mL を 25 mL 容全量フラスコに採り、アセトンを加えて定容し、希釈用標準溶液(20 mg/L)を調製した。次いで、希釈用標準溶液(20 mg/L)1.0 mL を 20 mL 容全量フラスコに採り、アセトンを加えて定容した。

・添加用混合標準溶液(5 mg/L)：標準原液(500 mg/L)1.0 mL を 25 mL 容全量フラスコに採り、アセトニトリルを加えて定容し、希釈用標準溶液(20 mg/L)を調製した。次いで、希釈用標準溶液(20 mg/L)2.5 mL を 10 mL 容全量フラスコに採り、アセトニトリルを加えて定容した。

### 3) 検量線用混合標準溶液の調製

標準溶液を希釈し調製した測定用混合標準溶液の一部を検量線用混合標準溶液とした。

### B-1-2. 装置

・超遠心粉碎機：ZM-200

[Retsch 製]

・エルビスシェーカー

[スギヤマゲン製]

・高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)

機種：LC 部；Nexera X2(LC30-AD)

[島津製作所製]

MS 部；LC/MS-8050

[島津製作所製]

解析ソフト：LabSolutions LCMS

[島津製作所製]

カラム：InertSustain C18 (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5 μm)

[ジーエルサイエンス製]

カラム温度：40°C

### B-1-3. 試料の調製

#### B-1-3-1. 分析用試料(インカード試料及びコントロール試料)の調製

稲の栽培時に農薬を投与し調製した玄米をインカード試料、農薬を投与せず調製した玄米をコントロール試料とした。約 1 kg のインカード試料、及びにコントロール試料を 0.5 mm メッシュを装備した超遠心粉碎機を用いて粉碎することにより、分析用試料を調製した。調製した分析用試料は、-20°C の条件で冷凍保存した。

#### B-1-3-2. 管理用試料の調製

適正な分析操作等が行われたことを確認する目的から、管理用試料を調製し、併行条件下でインカード試料とともに分析した。管理用試料の調製方法は以下の通りである。

B-1-3-1.に示した方法に従い調製した玄米コントロール試料を、基本分析法の場合には 10.0 g、QuEChERS 法の場合には 5.0 g 分取した後、濃度が 0.1 mg/kg になるようにエトフェンプロックス及びジノテフラン標準品を添加することで、管理用試料を調製した。具体的には、基本分析法の場合には添加用混合標準溶液(1 mg/L)を 1 mL、QuEChERS 法の場合には添加用混合標準溶液(5 mg/L)を 100  $\mu$ L を、それぞれ量りとった玄米コントロール試料に添加した。

#### B-1-4. 分析

##### B-1-4-1. 分析対象化合物

本研究で用いたインカード試料の作成には、エトフェンプロックス、及びジノテフランを用いた。規制のための残留物として定義されており、農薬投与の結果生じた残留物としてインカード試料に含まれることも予想されたことから、エトフェンプロックス及びジノテフランを分析対象化合物とした。

##### B-1-4-2. 分析法

##### B-1-4-2-1. 測定用溶液の調製

###### 1) 公示分析法に基づくエトフェンプロックス分析法(エトフェンプロックス基本分析法)

公示個別分析法：エトフェンプロックス(農産物)が採用している抽出溶媒を変更せず、LC-MS/MS による測定を前提に以下の分析法を構築し、本研究では使用した。

試料 10.0 g に水 20 mL を加え 2 時間静置した。アセトン 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトン 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に 200 mL とした。抽出液を 1 mL 分取し、メタノールで 20 mL に定容した。LC-MS/MS に注入し、B-1-4-2-2.測定条件に従い測定した

###### 2) 公示分析法に基づくジノテフラン分析法(ジノテフラン基本分析法)

公示個別分析法：ジノテフラン(農産物)が採用している抽出溶媒を変更せず、LC-MS/MS による測定を前提に以下の分析法を構築し、本研究では使用した。

試料 10.0 g に水 20 mL を加え 2 時間静置した。アセトニトリル 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトニトリル 50 mL を加え、ホモジナイズした

後、吸引ろ過した。得られたろ液をあわせ、アセトニトリルを加えて正確に200 mLとした。抽出液を1 mL分取し、メタノールで20 mLに定容した。LC-MS/MSに注入し、B-1-4-2-2.測定条件に従い測定した。

### 3)QuEChERS 法

エトフェンプロックス及びジノテフランを一斉に分析可能なQuEChERS法として以下を構築し、本研究では使用した。

試料5.0 gに水10 g及びアセトニトリル10 mLを加え、シェイカーを用いて250 rpmで1分間振とうした。無水硫酸マグネシウム4 g、塩化ナトリウム1 g、くえん酸三ナトリウム二水和物1 g及びくえん酸水素二ナトリウム1.5水和物0.5 gを加え、250 rpmで1分間振とうした。3000 rpmで5分間遠心分離し、アセトニトリル層を分取した。抽出液を0.5 mL分取し、メタノールで100 mLに定容した。

#### B-1-4-2-2. 測定条件

1)エトフェンプロックス測定のためのLC-MS/MS操作条件例

移動相：A液；2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B液；メタノール

A液：B液(13：87)

流量：0.2 mL/min

注入量：4  $\mu$ L

コリジョンガス：アルゴン

モニターイオン等：394、177  $m/z$

2)ジノテフラン測定のためのLC-MS/MS操作条件

移動相：A液；2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B液；メタノール

A液：B液(20：80)

流量：0.2 mL/min

注入量：2  $\mu$ L

コリジョンガス：アルゴン

モニターイオン等：203、113  $m/z$

#### B-1-4-2-3. 検量線の作成

分析時ごとに、検量線用混合標準溶液を測定して、各分析対象化合物の重量とピーク面積から、最小二乗法により得た一次回帰式を検量線として用いた。いずれの検量線についても、決定係数は $\geq 0.999$ となった。

#### B-1-4-3. 濃度の計算

各測定用溶液をLC-MS/MSに注入し計測されたピーク面積から、検量線を用いて各分析対象化合物の重量を逆推定後、分析法と分析対象化合物との組合せごとに、次式に従い試料における濃度を算出した。

##### 1)基本分析法の場合

公示分析法に基づき構築した基本

分析法によるエトフェンプロックス並びにジノテフラン分析時には、下式により試料における濃度を算出した。

・エトフェンプロックス濃度(mg/kg)  
= 検量線から求めた重量(ng) × 50 mL/4 μL × 200 mL/1 mL × 1(希釈率) × 1/10 g

・ジノテフラン濃度(mg/kg) = 検量線から求めた重量(ng) × 20 mL/2 μL × 200 mL/1 mL × 1(希釈率) × 1/10 g

## 2) QuEChERS 法の場合

構築した QuEChERS 法によるエトフェンプロックス並びにジノテフラン分析時には、下式により試料における濃度を算出した。

・エトフェンプロックス濃度(mg/kg)  
= 検量線から求めた重量(ng) × 50 mL/4 μL × 200 mL/1 mL × 1(希釈率) × 1/10 g

・ジノテフラン濃度(mg/kg) = 検量線から求めた重量(ng) × 20 mL/2 μL × 200 mL/1 mL × 1(希釈率) × 1/10 g

### **B-1-4-4. 定量下限値(LOQ)の推定**

各分析法の LOQ は、検量線の最下点として設計した分析対象化合物の量と、希釈を含む測定用溶液の調製手順から、以下の通り、計算により推定した。

#### 1) 基本分析法の LOQ

・エトフェンプロックスについて：

$0.0008 \text{ ng} \times 20 \text{ mL} / 4 \text{ } \mu\text{L} \times 200 \text{ mL} / 1 \text{ mL} \times 1 / 10 \text{ g} = 0.08 \text{ mg/kg}$

・ジノテフランについて： $0.0004 \text{ ng} \times 20 \text{ mL} / 2 \text{ } \mu\text{L} \times 200 \text{ mL} / 1 \text{ mL} \times 1 / 10 \text{ g} = 0.08 \text{ mg/kg}$

#### 2) QuEChERS 法の LOQ

・エトフェンプロックスについて： $0.0008 \text{ ng} \times 100 \text{ mL} / 4 \text{ } \mu\text{L} \times 10 \text{ mL} / 0.5 \text{ mL} / 5 \text{ g} = 0.08 \text{ mg/kg}$

・ジノテフランについて： $0.0004 \text{ ng} \times 100 \text{ mL} / 2 \text{ } \mu\text{L} \times 10 \text{ mL} / 0.5 \text{ mL} / 5 \text{ g} = 0.08 \text{ mg/kg}$

### **B-2. 残留物実態濃度に基づく海外 MRL への適合度の検証**

厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課が収集した、食品における農薬残留物検査結果(2013年～2017年実施分)から国内で生産された農産品等のデータを抽出し、諸外国が設定する MRL の値と比較した。諸外国が設定する MRL の値は、農林水産省が実施した「輸出環境整備推進事業(主要国・地域の残留農薬基準値調査事業)」報告書、並びに諸外国における残留農薬基準値に関する情報の品目別残留農薬基準値\*から引用した。農林水産省の調査事業では、香港、台湾、韓国、中国、シンガポール、マレーシア、インドネシア、タイ、ベトナム、米国、カナダ、オーストラリア、ニュージーラ



ンド、ロシア、アラブ首長国連邦(UAE)、サウジアラビア、欧州連合(EU)、及び国際政府間組織である Codex 委員会が調査対象とされていた。

諸外国による食品規格の策定においても、MRL が設定されることの他に、不検出であることが求められる場合が確認された。しかし、不検出であることを分析により担保するために必要な分析法の検出下限値が不明であったため、各種農産品と当該農薬との組み合わせを精査し、MRL として 0.01 mg/kg 以上の値が発見された場合には 0.005 mg/kg、0.01 mg/kg 未満の値が発見された場合にはその 1/2 の値を検出下限値と想定し解析を進めた。一方の国内で生産された農産品等のデータについては、ND(検出せず)として報告されている場合には、合わせて報告された検出下限値の 1/2 を取得された農薬残留物濃度として解析に使用した。

本研究では、わが国からの代表的な輸出農産品になる可能性があると考えた米、茶、いちごを対象とした。これら3種の農産品に対して実施された検査において取得された農薬残留物データと諸外国が設定する MRL の値を比較した。比較に使用したデータ数は、米について 91,045 件、茶について 11,418 件、いちごについて 63,768 件であった。

\*([https://www.maff.go.jp/j/shokusan/export/zannou\\_kisei.html](https://www.maff.go.jp/j/shokusan/export/zannou_kisei.html))

## C. D. 結果及び考察

### CD-1. QuEChERS 法の厳密な性能評価

#### ①基本分析法の構築

わが国において公的に示されている農産品中のエトフェンプロックス及びジノテフランを対象とする分析法は、抽出に使用する溶媒がアセトンとアセトニトリルに異なっている。また、測定系は HPLC-UV を基本としている。本研究における公的に示された分析法の役割は、QuEChERS 法の性能を評価するための基準を与えることである。そのため、測定系には、QuEChERS 法と共通させるために LC-MS/MS を使用することとした。さらに、エトフェンプロックスとジノテフランの抽出に同一溶媒を使用することで、両化合物を一斉分析可能な基本分析法の構築について検討した。

エトフェンプロックスとジノテフランの基本分析法は、アセトンとアセトニトリルのいずれを抽出溶媒として使用するかの点において異なっている。抽出に用いるこれら2つの溶媒による分析値への影響を明らかにすることを通じて、基本分析法を統一可能かについて検討した。具体的には2つの溶媒のそれぞれを用いて、玄米イ

ンカード試料を対象にエトフェンプロックスとジノテフランの併行分析(n=6)を行い、得られた分析値を比較した。異なる溶媒を用いて得られる分析値を比較すると、エトフェンプロックス分析値の平均値は、アセトンを用いた場合に 0.177 mg/kg であり、アセトニトリルを用いた場合に 0.174 mg/kg であった。同様にジノテフラン分析値の平均値を比較すると、アセトンを用いた場合に 0.322 mg/kg であり、アセトニトリルを用いた場合に 0.318 mg/kg であった。溶媒ごとに得られた分析値を一群として検定 (unpaired t-test)した結果、有意差は認められなかった(両側 95%信頼水準)。以上の結果に基づき、玄米中のエトフェンプロックスとジノテフランは、アセトンとアセトニトリルいずれの溶媒を用いても分析可能であり、有意差のない分析値が得られると考えた。しかし、アセトニトリルを用いた場合にアセトンを用いた場合に比べて、得られる分析値のばらつきが、2つの分析対象化合物に共通してわずかに大きくなった。また、単一の農薬残留物を対象とした分析法における抽出には、一般的にアセトンが用いられる。以上を考慮し、抽出溶媒にはアセトンを選択し、QuEChERS 法と比較するための基本分析法とした。

## ②QuEChERS 法における振とう時間

本研究において使用した QuEChERS 法は、QuEChERS 法と呼称される多様性のある分析法の一群の中で、2008年に発表された EU 法: EN 15662:2008 を基に構築した。EU 法では、分析試料に適宜水を加え、アセトニトリルを加えた後の振とう時間は 1 分間とされている。しかし、試料から残留物が容易に抽出されない場合には、振とう時間を 20 分程度まで延長するとの記載もある。そこで、振とう時間が分析値に与える影響について検討した。

玄米インカード試料にアセトンを加え、振とう時間を 1 分間、10 分間、そして 20 分間として抽出を行い、その後分析法に従い操作して分析値を得た(n=2)。その結果、エトフェンプロックス及びジノテフランともに、振とう時間が長いほど分析値が大きくなるといった変化や違いは認められなかった。この結果を踏まえ、振とう時間による分析値への明らかな影響はないと判断し、本研究において使用する QuEChERS 法においては、振とう時間を 1 分間とすることとした。

## ③管理用試料の分析

玄米インカード試料の分析時に、分析値の品質保証を目的として管理用試料を分析した。管理用試料は、玄米

コントロール試料を基本分析法の場合には 10.0 g、QuEChERS 法の場合には 5.0 g 分取した後、濃度が 0.1 mg/kg になるようにエトフェンプロックス及びジノテフラン標準品を添加することで調製した。調製した添加試料をインカード試料と同一の分析条件下で、基本分析法、及び QuEChERS 法のそれぞれにより併行分析(n=6)した。

エトフェンプロックス分析値の平均値と RSD%は、基本分析法を用いた場合にはそれぞれ 0.11 mg/kg と 1.6% であり、QuEChERS 法を用いた場合にはそれぞれ 0.098 mg/kg と 4.0% であった。いずれの方法を用いた場合にも、回収率は 70-110%の範囲に含まれており、分析が正常に行われたことが確認された。QuEChERS 法に比べ基本分析法による回収率が一定して高かったが、その原因は不明である。

ジノテフラン分析値の平均値と RSD%は、基本分析法を用いた場合にはそれぞれ 0.095 mg/kg と 3.6% であり、QuEChERS 法を用いた場合にはそれぞれ 0.095 mg/kg と 5.7% であった。いずれの方法を用いた場合にも、回収率は 70-110%の範囲に含まれており、分析が正常に行われたことが確認された。

#### ④インカード試料の凍結保存安定性

管理用試料を、インカード試料と同

一の条件(-20℃)で凍結保存し、0 日目及び 100 日目に、基本分析法を用いて併行分析(n=2)した。その結果、エトフェンプロックス及びジノテフランとともに、0 日目と 100 日目に実施した併行分析の結果に、異常なばらつきは認められなかった。また 0 日目の分析値に対する 100 日目の分析値の割合(残存率%)を計算した結果、エトフェンプロックスとジノテフランのそれぞれについて 98%及び 99%であった。これらの結果により、エトフェンプロックスとジノテフランは、凍結保存された試料において最低 100 日間は安定であることが確認された。

#### ⑤インカード試料の分析通じた QuEChERS 法の性能評価

まず基本分析法を用いて玄米インカード試料を分析し、その結果に基づき農薬残留物濃度の値付けをした。次いで、QuEChERS 法により得た分析値と付与値とを比較することで、QuEChERS 法の性能評価を試みた。なお、本分析は試料調製後 96 日間凍結保存された試料を用いて行われており、先に示された凍結保存安定性の結果から、試料におけるエトフェンプロックス及びジノテフランの安定性への懸念はない。

玄米インカード試料を基本分析法、及び QuEChERS 法のそれぞれにより

併行分析(n=6)した。玄米インカード試料から得られたエトフェンプロックスの分析値は、基本分析法を用いた場合には 0.187 mg/kg~0.201 mg/kg であり平均値(付与値)は 0.19 mg/kg、QuEChERS 法を用いた場合には 0.161 mg/kg~0.170 mg/kg であり平均値は 0.16 mg/kg であった。QuEChERS 法を用いて得られた分析値は、付与値に比べて低く、unpaired t-test を用いた検定により、95%信頼水準で有意差が認められた(P<0.01)。先に述べたとおり、基本分析法を用いた管理用試料の分析において回収率が高めの値となったことから、それら回収率の値を用いてインカード試料から得られた分析値を補正した。基本分析法と QuEChERS 法により得られた分析値の補正值は、それぞれ 0.176 mg/kg~0.189 mg/kg(平均値; 0.181 mg/kg)、0.164 mg/kg~0.173 mg/kg(平均値; 0.167 mg/kg)となった。これら補正值についても同様に検定した結果、有意差が認められた。付与値を真値とすると、QuEChERS 法の真度は 85%と推定され、わが国の検査において使用される分析法の性能規準を満たすことから、“妥当”な分析法であるということはあるが、QuEChERS 法を用いた場合の分析値が基本分析法に比べて低値になる確率は極めて高いと考えられる。

玄米インカード試料から得られた

ジノテフランの分析値は、基本分析法を用いた場合には 0.321 mg/kg~0.349 mg/kg であり平均値(付与値)は 0.34 mg/kg、QuEChERS 法を用いた場合には 0.323 mg/kg~0.347 mg/kg であり平均値は 0.34 mg/kg であった。これらの分析値を対象に、unpaired t-test を用いた検定を行った結果、95%信頼水準で有意差は認められなかった。以上の結果から、エトフェンプロックスの場合とは異なり、ジノテフランに関しては、QuEChERS 法により、基本分析法と有意差のない分析値を得ることが可能であることが強く示唆された。

エトフェンプロックス及びジノテフランのオクタノール・水分配係数(logPow)はそれぞれ 6.9 及び-0.549、水溶解度は 0.0225 mg/L(20-25℃)及び  $3.98 \times 10^4$  mg/L(20-25℃)であり、エトフェンプロックスは脂溶性が高く、ジノテフランは水溶性が高い。本研究によって得られた結果を基に考察すれば、玄米の分析試料に含まれる脂溶性が高い農薬残留物を対象に QuEChERS 法により得られる分析値は、これまでに公的に示されてきた一般的な分析法により得られる分析値に比べ、一定の割合で低くなると推測することも可能である。しかし、あくまで、単一試料に含まれる 2 種類の残留物を分析した結果を比較し考察したに過ぎず、明確な結論として一般化

することはできない。QuEChERS 法の適用にあたり、分析用試料の粒径をより小さくする調製の方法や、水を試料に添加した後の静置時間の延長についての検討など、技術的な課題もある。以上を踏まえ、QuEChERS 法の性能に影響を与える要素の特定や、多様な農産品と農薬残留物との組合せについて性能を評価するためのさらなる検討が必要である。

## CD-2. 残留物実態濃度に基づく海外 MRL への適合度の検証

本研究では、わが国からの代表的な輸出農産品になる可能性があると考えた米、茶、いちごを対象とし、これら3種の農産品に対して実施された検査において取得された農薬残留物データと諸外国が設定する MRL の値を比較した。

解析の結果、諸外国には米を対象に 286 種の農薬の MRL が設定されており、そのうち 2013 年～2017 年にかけて実施された検査によって、国内産の米を対象に残留物データが取得された農薬は 233 種、取得されなかった農薬は 53 種であることがわかった。わが国においては、米(玄米)と精米を区別して MRL が設定されている。これに対し、諸外国における MRL 設定では、玄米と精米を区別する場合と、米(rice)として区別しない場合とがあっ

た。そこで、この MRL 設定の違いを考慮するために、国内産の米から取得された農薬残留物データを玄米と精米とに区別した上で、諸外国が設定する MRL と比較した。玄米から取得された農薬残留物データと玄米を対象とする MRL、精米から取得された農薬残留物データと精米を対象とする MRL、両者を合わせた農薬残留物データと米(玄米・精米の区別なし)を対象とする MRL とを、それぞれ比較した。

諸外国には茶を対象に 205 種の農薬の MRL が設定されており、そのうち検査によって残留物データが取得された農薬は 135 種、取得されなかった農薬は 70 種であることがわかった。いちごに関しては、287 種の農薬に MRL の設定があり、そのうち検査によって残留物データが取得された農薬は 235 種、取得されなかった農薬は 52 種であることがわかった。

精米からは、諸外国が設定する MRL の値を超過する濃度で農薬残留物は検出されず、超過する濃度の残留物は全て玄米から検出された。残留物濃度が MRL の値を超過した農薬について、わが国が設定している MRL を調査すると、その範囲は 0.5 mg/kg～3 mg/kg であり、いわゆる一律基準とされる 0.01 mg/kg に比べると最大で 300 倍に相当する高い値であった。一方、該当する農薬について諸外国が設定して

いる MRL を参照すると、例えば Codex 委員会は MRL (Codex MRL; CXL) として、エトフェンプロックスに 0.01 mg/kg、クロチアニジンに 0.5 mg/kg、ジノテフランに 8 mg/kg を設定している。CXL に準じて MRL を設定している国がある一方で、CXL の値に比べてもより低い値を MRL として設定している、あるいは不検出を求めている国もある。CXL が 8 mg/kg に設定されているジノテフランを例とすれば、調査対象とする国により、MRL として 0.1 mg/kg~1 mg/kg の値が設定されている他に、不検出が求められている場合もあることがわかった。他の農薬について、さらに低濃度の MRL が設定されている場合もある。そのような場合には、わが国において設定されている MRL の値との乖離はさらに大きくなり、食品衛生法に基づく検査では適合と判定されるものの、諸外国における検査では不適合となる可能性が高いと考えられる。

茶についても、解析結果を同様に考察する。わが国において各種農薬を対象に設定されている MRL の値は、10 mg/kg~80 mg/kg の範囲にある。表 11 に示した農薬のうち、エトキサゾール、トルフェンピラド、フルフェノクスロンの CXL は、それぞれ 15 mg/kg、30 mg/kg、20 mg/kg に設定されており、調査対象とした国の中には、これら

CXL の値をそのまま採用している国も、一律基準に相当する濃度を MRL の値として設定している国もある。CXL が設定されていない農薬については一般に、さらに低濃度の MRL が設定されている。検出された残留物の濃度が諸外国において設定されている MRL の値を超過する件数が多いことが示されたが、これはわが国において、高値の MRL が設定されている農薬が多数あることを反映した結果であると考えられる。

いちごを対象とした解析により、非常に多くの農薬残留物データが諸外国において設定されている MRL の値を超過することがわかった。MRL の値の超過件数が 10 件以上となった農薬は 16 種確認されたが、わが国においてそれら農薬を対象に設定されている MRL の値は 0.4 mg/kg から 10 mg/kg であった。諸外国が設定している MRL の例として CXL のいくつかを挙げると、アセタミプリドには 0.5 mg/kg、イミダクロプリドには 0.5 mg/kg、ジフェノコナゾールには 2 mg/kg、チアクロプリドには 1 mg/kg、フェナリモルには 1 mg/kg が設定されている。その他諸外国では、MRL の値を 0.01 mg/kg とする場合あるいは不検出を求める場合も多い。いちごに関しては、傷まないようにするためにも複数の種類の農薬を適正に使用し栽培した結果

として妥当な残留物濃度が、MRLとして設定されている値を超過してしまう可能性が高いと考えられる。

上記の結果と考察は、輸出することを想定していないあくまで国内流通している国産品の検査を通じて取得された農薬残留物データと諸外国が設定するMRLの値との比較に基づく。国内流通している農産品における残留物濃度を国内基準値すなわち、わが国において設定されているMRLの値と比較し、適合を判定することを目的とする検査において取得された農薬残留物データであるため、取得に関する分析の保証も検査の目的に相応している。そのため、わが国におけるMRLが高値に設定されている場合には、分析法の検出下限値もそれに応じて高値でしか保証されていない場合がある。そのような場合、不検出と報告されていたとしてもそれは

保証された高値の検出下限を指標としており、実際の濃度は不明である。そのため、諸外国が設定するMRLの値との比較においては、検出下限値として保証されている濃度に応じて、判定が変化する可能性がある。例えば、わが国においては、玄米を対象としたγ-BHCのMRLとして0.3 mg/kgが設定されているため、一律基準である0.01 mg/kgよりも高い濃度でしか検出下限を保証していない分析法により検査される場合もある。しかし、諸外国では、MRLの値に0.01 mg/kgが設定されることや、不検出が求められることもある。当然のことであるが、これら規制上の指標設定に対し、上記の検出下限値しか保証しない分析法により取得した結果に基づき適合判定することは適当ではない。

## 研究課題 3. 輸出可能性が高い農産品における残留物濃度の加工による変化に関する研究

### A. 研究目的

わが国は 1981 年から 30 年連続して貿易黒字が続く貿易立国であったが、2011 年以降、貿易赤字を記録するようになった。財務省の令和 2 年度貿易統計(令和 3 年 4 月 19 日)によると、輸出額は 69 兆 4873 億円、輸入額は 68 兆 1803 億円となっており、輸出から輸入を差し引いた貿易収支は 1 兆 3070 億の黒字になると推計されている。貿易収支は 3 年ぶりの黒字になったものの、輸出額は 2 年連続の減少となっている。農林水産物の輸出額は 0.9 兆円、輸入額は 8.9 兆円で、純輸入額が 8.0 兆円にもなり、世界一の農林水産物純輸入国となっている。このような状況を是正するために令和 2 年 4 月に施行された「農林水産物及び食品の促進に関する法律」では、輸出拡大のための方策の 1 つとして「輸出先国の食品安全等の規制への対応」が挙げられている。例えば、国産農産品等の輸出先国において、該当する品目に農薬等の MRL が設定されていない場合や、設定されていたとしてもその値がわが国に比べ低い場合に課題がある。暴露量の精密推定や農産加工

品を対象とした MRL 設定の必要性を検討するためのデータ取得を目的とする加工試験が、貿易量の大きな主要な農産加工品でしか実施されていないことも重要な課題である。

そこで本研究では、わが国からの輸出可能性は高いがこれまでに加工試験が実施されていない農産加工品を OECD のガイドラインに加工係数の収載がないことも参考として選定し、各種農薬と組合せて加工試験を実施し、加工係数等の重要な知見を得ることを目的とした。昨年度の研究においては、わが国の主要農産品である米を原料とするこめ油を対象として選定の上、パイロットスケールでの検証を通じて試験設計を検討した。本年度の研究においては、こめ油に加えて米飯の加工試験を実施し、加工係数とマスバランスを導出した。

### B. 研究方法

#### B-1. こめ油の製造

築野食品工業株式会社の協力により、研究課題 1 により作成されたインカード試料を原料とするこめ油がプラントスケールで製造された。稲



の収穫、脱穀、乾燥、脱ふは、研究課題 1 により実施された。28.88 kg のインカード試料(玄米)を得た。得られた玄米を築野食品工業株式会社に冷蔵便で送付した。インカード試料(もみ殻及び稲わら)は日本ハム(株)中央研究所において冷凍保管した。

インカード試料(玄米)を精白度 10%でとう精し、3.12 kg の米糠を得た。得られた米糠に対して 5 倍量に相当する約 15 kg のヘキサンを加えて、数時間攪拌し米原油が溶解したヘキサン層を分取した。残った糠に対して 1 kg のヘキサンを加え、数時間攪拌後、米原油が溶解したヘキサン層を分取し、上記と合一した後にヘキサンを除去し、米原油を得た。得られた米原油の重量は 340 g であった。この米原油に温水を加え混合しガム質を除去する脱ガム工程、ヘキサンを加えロウ分を除去する脱ロウ工程、水酸化ナトリウム処理による脱酸工程、酸性白土の処理による脱色工程、及び 240℃で 533 Pa 以下の状態で 2 時間水蒸気処理を行う脱臭工程を経て、こめ油を製造した。本研究では、脱臭油試料が市場流通するこめ油に相当すると考えた。こめ油製造は、得られた米原油を等量に分け、2 試行で行った。加工試験の工程と相当する工程の市販コメ油製造用中間産物を選びコントロール試料と

した。

## B-2. 米飯の調理

米飯調理時の白米の研ぎ方には様々な方法があり、調査の結果一様とはならなかった。この結果を踏まえ、白米の研ぎ方により残留物濃度ひいては加工係数に違いが生じるかを検証するため、本研究では株式会社神明、及び福井精米株式会社が推奨する 2 つの方法で白米を研ぎ、家庭用炊飯器を用いて炊飯した。

株式会社神明により示されている米飯の調理方法を以下に記す。炊飯釜に約 480 g(3 合)の米を入れ、水 1 L を加え 2~3 回手早くかき混ぜ、水を捨てる。この操作をさらに 2 回繰り返す。最後に水を約 550 mL 加え、30 分間浸漬し、家庭用炊飯器の標準モードで炊飯する。

福井精米株式会社により示されている米飯の調理方法を以下に記す。ザルに約 480 g(3 合)の米を広げ、米全体に行き渡るように水 2 L を流しながら米を洗う。その後炊飯釜に米を移し、水 1 L を加え、2~3 回手早くかき混ぜ、水を捨てる。最後に、水を約 550 mL 加え、30 分間浸漬し、家庭用炊飯器の標準モードで炊飯する。

上記 2 つの方法で調理し、米飯を得た。得られた米飯に、重量の 1.15 倍

の水を加え米粒が確認できなくなる程度まで粉碎し、分析用試料を調製した。

### B-3. インカード試料の分析

インカード試料の分析は、一般財団法人日本食品分析センターが実施した。

#### B-3-1. 分析対象化合物

分析対象化合物は、ジノテフラン、エトフェンプロックス及びその代謝物であるエトフェンプロックスカルボキシ( $\alpha$ -CO)とした。

#### B-3-2. 分析対象品目

稲わら、粃殻、玄米、糠、脱脂糠、米原油、脱ガム油、脱ロウ油、脱酸油、脱色油、脱臭油、白米及び炊飯米の13品目を分析対象品目とした。

#### B-3-3. 標準品

分析には以下の標準品を使用した。  
エトフェンプロックス(Etofenprox)標準品：純度 99.9 % (林純薬工業製)  
エトフェンプロックスカルボキシ(2-(4-ethoxyphenyl)-2-methoxypropyl-3-phenoxybenzene)標準品( $\alpha$ -CO)：純度 98.7 % (Dr.Ehrenstorfer 製)  
ジノテフラン(Dinotefuran)標準品：純度 99.8 % (富士フィルム和光純薬製)

#### B-3-4. 試薬

アセトン、アセトニトリル、酢酸エチル、ジエチルエーテル、ヘキサンは関東化学株式会社製の残留農薬試験用、メタノールは関東化学株式会社製の高速液体クロマトグラフ用を使用した。塩化ナトリウム、酢酸アンモニウムは関東化学株式会社製の特級を使用した。InertSep C18(1 g)、InertSep k-solute 5 mL 用はジーエルサイエンス株式会社製、Sep-pak Long Florisil(910 mg)は Waters corporation 製を使用した。

#### B-3-5. 試液の調製方法

ジエチルエーテル/ヘキサン混液(1:9)は、ジエチルエーテル 100 mL とヘキサン 900 mL を混合又は同割合で混合し調製した。ヘキサン飽和アセトニトリルは、アセトニトリル約 500 mL とヘキサン約 100 mL を混合し、5 分間振とう後静置してアセトニトリル層を分取し調製した。水/メタノール混液(1:1)は、メタノール 500 mL と水 500 mL を混合又は同割合で混合し調製した。1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液は、酢酸アンモニウム 15.43 g を水に溶解し 200 mL とし、2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液は、1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 2 mL に水を加えて 1000 mL とし調製した。

### **B-3-6.標準溶液の調製方法**

#### **B-3-6-1.標準原液調製法**

エトフェンプロックス標準品 25 mg を精密に量り、50 mL 容全量フラスコに入れた。アセトンを加え、超音波処理をしながら溶解した後定容し、これをエトフェンプロックス標準原液(500 mg/L)とした。ジノテフラン標準品 25 mg を精密に量り、エトフェンプロックスと同様に調製し、ジノテフラン標準原液(500 mg/L)とした。 $\alpha$ -CO 標準品 5 mg を精密に量り、25 mL 容全量フラスコに入れた。アセトンを加え、超音波処理をしながら溶解した後定容し、これを $\alpha$ -CO 標準原液(200 mg/L)とした。

#### **B-3-6-2.希釈用標準溶液調製法**

エトフェンプロックス及びジノテフランは標準原液 1 mL をアセトンで 25 mL に定容し、20 mg/L とした。 $\alpha$ -CO は標準原液 2 mL をアセトンで 20 mL に定容し、20 mg/L とした。

#### **B-3-6-3.測定用標準溶液調製法**

20 mg/L の標準溶液を用いて、0.0001 mg/L から 1 mg/L の範囲で希釈し、試料からの農薬の検出濃度に応じて検量線の範囲を選択した。

#### **B-3-6-4.添加用混合標準溶液調製法**

添加回収試験を行うための標準溶液は、試験試料、添加濃度に応じてアセトン、メタノールを用いて適宜調製した。

### **B-3-7.測定用溶液の調製**

測定用溶液は、試料に応じて異なる 3 種の方法を用いて調製した。一例として玄米を対象とする測定溶液の調製方法を以下に示す。

玄米 10.0 g を採取し、水 20 mL を加え 2 時間放置した。その後、アセトン 100 mL を加え、ホモジナイズ後吸引ろ過をした。ろ紙上の残留物にアセトン 50 mL を加え、再度ホモジナイズし、吸引ろ過をした。得られたろ液を合一し、アセトンで 200 mL に定容した。メタノール 5 mL 及び水 5 mL でコンディショニングした InertSep C18(1 g)カラムに上記アセトン抽出液 8 mL と水 20 mL を混合した溶液を負荷後、水/メタノール混液(1:1)を 10 mL 通液しカラムの洗浄を行った。その後メタノール 10 mL で溶出し、10 mL に定容した。メタノール定容液を 1 mL 分取し、減圧濃縮、窒素乾固を行いヘキサン 5 mL に再溶解した。これをあらかじめヘキサン 10 mL でコンディショニングした Sep-pak Long Florisil(910 mg)カラムに負荷し、ヘキサン 5 mL で洗浄しジエチルエーテル/ヘキサン混液(1:9)10 mL で溶出した。溶出液を減圧濃縮、窒素乾固を行い得られた残留物をメタノールを用いて 1 mL に定容した。これを適宜希釈し、LC-MS/MS による測定に供した。

### B-3-8.LC-MS/MSによる測定条件

エトフェンプロックス及び $\alpha$ -CO

機種：LC部；Nexera X2(LC-30AD)

MS部；LCMS-8050

解析ソフト：LabSolutions LCMS

(以上、島津製作所製)

カラム：InertSustain C18

内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5  $\mu$ m

(ジーエルサイエンス株式会社製)

オープン温度：40 °C

移動相：

A液；2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B液；メタノール

A液：B液(13：87)

流量：0.2 mL/min

注入量：4  $\mu$ L

コリジョンガス：アルゴン

モニターイオン等：エトフェンプロックス(394、177  $m/z$ )、 $\alpha$ -CO(408、177  
あるいは 107  $m/z$ )

ジノテフラン

機種：LC部；Nexera X2(LC-30AD)

MS部；LCMS-8050

解析ソフト：LabSolutions LCMS

(以上、島津製作所製)

カラム：InertSustain C18

内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5  $\mu$ m

(ジーエルサイエンス株式会社製)

オープン温度：40°C

移動相：

A液；2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B液；メタノール

A液：B液(80：20)

流量：0.2 mL/min

注入量：2  $\mu$ L

コリジョンガス：アルゴン

モニターイオン等：203、113  $m/z$

### C. D. 結果及び考察

#### 1. 保管設備の温度モニタリング

研究課題 1 により作成されたインカード試料は試験開始まで日本ハム(株)中央研究所にて冷凍にて保管した。保管を開始した 2020 年 9 月 1 日より、6 時間毎に冷凍保管庫の温度モニタリングを行った。温度記録計は株式会社シロ産業の MI1TP-251-FRM を用いた。保存期間中の最も高い温度は -15.87 °C、最も低い温度は -20.43 °C であり、試料保管設備の温度に異常が発生しなかったことが確認された。

#### 2. こめ油の製造及び炊飯試験

マスバランスを確認するために、本研究において実施したこめ油の加工試験並びに米飯の調理を通じて扱った試料の重量並びに各試料における農薬残留物濃度を測定した。加工試験に伴う試料の重量は以下の通り

であった。玄米 28.88 kg をとう精し、米糠 3.12 kg と白米 24.77 kg を得た。白米は調理するまで冷凍保管した。得られた米糠からヘキサン抽出にて 340 g の米原油を得た。試験用試料として 10 g 抜き取った後、330 g の米原油を等分し、脱臭油までの製造工程を 2 併行で実施した。各製造工程で 5 g を試験用試料として抜き取った。米原油を温水処理してガム層を除去した脱ガム油の重量は、156 g であった。ヘキサン処理した脱ロウ油の重量は 143 g であった。水酸化ナトリウム処理した脱酸油の重量は 124 g、酸性白土処理した脱色油の重量は 113 g であった。こめ油製造の最終工程となる脱臭を行った脱臭油の重量は 105 g であった。

農林水産省食料・農業・農村政策審議会食糧部会において纏められた資料「米をめぐる関係資料」(令和 2 年 7 月 30 日)において、国内の米の消費は 67.3 % が家庭内消費であると調査されていることから、米飯の調理は家庭用炊飯器を用いて行った。米の研ぎ方には、株式会社神明と福井精米株式会社が推奨する 2 つの方法を選択し、それぞれの方法で 2 併行の調理を行った。その結果 0.48 kg の白米から、1.1 kg の米飯が得られ、調理方法や調理回による収量の違いは無かった。農薬残留物を含まない白米

を材料として、株式会社神明の方法を用いて 1 回調理し、コントロール試料を調製した。

### 3. 分析法の性能評価

本研究に用いる分析法の性能規準を、定量下限値(LOQ)が 0.01 mg/kg 以下であること、回収率が 70~120% であること、及び併行精度が 20% 未満であることとして設定した。

分析法に規定された操作内容から計算により推定されたエトフェンプロックス及び  $\alpha$ -CO の定量下限値は、炊飯米では 0.002 mg/kg、その他の試料では 0.01 mg/kg であった。また同様に計算により推定されたジノテフランの定量下限値は、全ての試料で 0.01 mg/kg であった。標準品を用いた添加回収試験は、米飯が試料の場合には 5 併行、その他の試料の場合には 3 併行で実施した。添加試料の基材として用いたコントロール試料から低濃度の分析対象化合物が検出される場合があった。そのため、コントロール試料から検出された濃度の影響を受けずに分析法の性能を評価可能な濃度として添加濃度を決定した。決定した添加濃度は、検出された濃度に応じて試料ごとに異なるが、最大で 0.05 mg/kg であった。

添加試料の分析を通じて得られた分析値から推定された併行精度は、

脱ガム油に含まれる $\alpha$ -COが対象の場合に最大となり、8.5%であった。回収率は、エトフェンプロックスの場合には80~106%、 $\alpha$ -COの場合には78~108%、ジノテフランの場合には98~117%と分析対象化合物と試料の全ての組合せを通じて、性能規準を満たした。以上の結果から、本研究において使用する分析法の妥当性が確認されたと判断した。

#### 4. こめ油及び米飯の加工係数とマスバランス

稲わら、籾殻、玄米、糠、脱脂糠、米原油、脱ガム油、脱ロウ油、脱酸油、脱色油、脱臭油、白米及び米飯の13品目を分析対象品目とした。米飯は併行で調理して得た2試料を混合することなく独立で分析した。その他の試料については、2併行で製造した場合であっても、調製された2試料から採取した等量の混合により1試料を調製し分析した。

マスバランスは、加工試験においてえられた加工工程ごとの試料重量に相当する試料から得た分析値を乗じて計算により求めた。米飯調理におけるマスバランスの計算では、得られた精米を全て調理したと仮定して計算した。加工係数は、玄米をRAC(raw agricultural commodities)として、こめ油と米飯についての導出

を試みた。エトフェンプロックス、ジノテフランを対象として加工係数の導出を試みた。また、エトフェンプロックスの代謝物である $\alpha$ -CO濃度を分子量に基づきエトフェンプロックス濃度に換算することで総エトフェンプロックス濃度を求めた後に加工係数の導出も試みた。

玄米・インカード試料をとう精して得た糠と白米の分析結果から、玄米に残留するジノテフランの大部分が糠層ではなく白米となる部分に局在していることが明らかとなった。こめ油の製造において、糠に存在するジノテフランは、ヘキサン抽出後の脱脂糠に残留することが確認された。ジノテフランのlogPowは-0.5であり、この物理的・化学的特徴に一致する結果であると考えられた。

JMPRにより作成された報告書によると、ジノテフランはpH11やpH13のようなアルカリ条件下では加水分解により45時間程度で半減し、pH4~9の酸性から弱アルカリ条件下では安定であることが報告されている。本研究により得られたマスバランスからは、米飯調理時の加熱を含む一般的な条件では、白米に含まれるジノテフランの約8割が米飯に残存することが確認された。

エトフェンプロックスのマスバランスは、玄米において4.072 mg、糠

において 1.657 mg、白米において 0.803 mg と算出された。上記の結果、及び糠を原料として製造された各工程のこめ油に対するマスバランスの計算結果からは、糠におけるエトフェンプロックス量が低値で計算されていると考えられるが、原因は不明である。こめ油製造の各工程についてエトフェンプロックスのマスバランスを計算した結果、米原油においては 2.508 mg、温水処理による脱ガム油においては 2.340 mg、ヘキサシ処理による脱ロウ油においては 2.196 mg、水酸化ナトリウム処理による脱酸油においては 1.954 mg、酸性白土の処理による脱色油においては 1.374 mg となった。米原油を起点とすると、市場流通する製品に相当する脱臭油におけるエトフェンプロックスの量は半分程度に減少する。しかし、玄米におけるエトフェンプロックス濃度を母数として導出した加工係数は、米原油の 53.9 から脱色油の 43.1 までは大きな変化がなく、JMPR 報告書により述べられている 1N NaOH や 1N HCl で安定であることと一致する結果であると考えられた。エトフェンプロックスの量は脱臭工程により大きく変化し、マスバランスで見ると、脱色油における 1.374 mg から脱臭油における 0.433 mg、加工係数で見ても、43.1 から 14.6

と約 30%に減少した。JMPR 報告書では、エトフェンプロックスは、80℃で3ヶ月間安定であり 100℃で部分的に分解すると述べられており、蒸気圧下では熱に比較的安定であると考えられる。本研究により、これまでに得られていた知見に加え、減圧下での 240℃加熱というコメ油の製造に必要な特異な物理的条件下では、分解が起こることが示唆された。

本年度の研究においては、logPow の値が極端に大きいエトフェンプロックスと極端に小さいジノテフランを対象農薬として選定して、コメ油の加工試験、並びに米飯調理について検討した。本研究の最終的な目的である国産農産品の輸出促進に繋がるよう、今後も引き続き輸出可能性の高い農産加工品と農薬の組合せを模索しつつ検討を重ね、精緻な研究を遂行していく必要がある。

## 研究課題 4. MRL 設定に関わる残留物の定義、MRL 設定やインポートトレランス設定に利用可能なデータセットに関する研究

### A. 研究目的

農産品等の輸出には、作物への使用が登録されている農薬を使用した結果として農産品等に含まれる残留物の濃度が、輸出先国において設定された MRL、または輸出国から輸入国に申請して設定されるインポートトレランスに適合していなければならない。輸出先国において、当該農薬/食品に MRL が設定されていない場合には、輸出先国の要件を満たす科学的データの輸出先国担当部局への提出によるインポートトレランス設定の申請が必須である。

令和元年 6 月に政府は、「農林水産物・食品の輸出拡大のための輸入国規制への対応等に関する関係閣僚会議」において、国内農産品等の輸出拡大に向けた対策として、「輸出拡大のための相手国・地域の規制等への対応強化(工程表)」(以下「工程表」)を策定し、厚生労働省に対して積極的な関与を求めている。

以前は、農林水産省や農薬製造事業者が輸出先国に、厚生労働省が食品衛生法に基づいて設定した MRL を受け入れることを依頼してきた。しかし、作物残留試験の例数が 2 例では、海外先進国で MRL を設定するには不十分とされており、追加の作物残留試験の農薬製造事業者による実施に対して農林水産省が資金援

助をし、その結果を活用して、輸出先国に対してインポートトレランスを農薬製造事業者が申請している。

昨年度、農林水産省においてインポートトレランス申請のための研修を実施するとともに、厚生労働省と農林水産省の協議を設定し、作物残留試験が 8 例あり、欧米等輸出先国にインポートトレランスを申請できる状態にある農薬については、厚生労働省が優先的に MRL を見直すことが決定された。

今後、欧米でインポートトレランスをより容易に取得するためには、農林水産省だけでなく厚生労働省も、JMPR や欧米諸国がどのように農薬の MRL を設定しているのかをしっかりと理解する必要がある。加えて、MRL 設定及び暴露評価それぞれの目的に応じた残留物の定義が国ごとに異なれば、同じ作物残留試験データを活用しても異なる数値の MRL が設定されたり、暴露評価が示す安全性の程度が異なる結果となったりする可能性がある。つまり、世界標準で残留物の定義を決定できることが、国内における MRL の設定並びに Codex MRL(CXL)受入の判断とインポートトレランス申請による MRL 設定に不可欠である。

現在、OECD Working Group on Pesticides 傘下の Residue Chemistry



Expert Group(RCEG)の下部組織である Drafting group on Definition of Residue が、残留物の定義に関するガイダンス文書(GD)の改訂版を策定中であるため、日本の状況を科学的に適切であれば改訂 GD に反映するため、及び改訂 GD が設定されればそれを国内の MRL 設定のガイドラインにも反映するため、Drafting Group の会議に積極的に参加する必要がある。

また、2019 年に厚生労働省は、MRL 設定のための基本原則を改訂し、OECD の Zoning Project 報告書を参考に、海外で実施された作物残留試験であっても、わが国の GAP に整合しているか、Proportionality の原則を適用できる場合には、わが国の MRL 設定に使用できることを決定した。わが国の GAP が、世界でも特殊であることから、海外で実施された作物残留試験が、実際に MRL 設定に使用可能であるかどうかを、本研究では JMPR に提出された作物残留試験データを活用して検証する。

## B. 研究方法

### 1. Drafting Group on Definition of Residue への参加

Drafting Group on Definition of Residue(Drafting group)は、2018 年に設置され、2018 年 12 月にジュネーブで会合を持ち、今後検討すべき論点を検討した。その任務は残留物の定義にどのような代謝物をどのような理由で含めるのかについて OECD

ガイダンス文書を作成することである。分担研究者である山田友紀子博士は、本 Drafting Group に 2019 年夏から参加している。2020 年度においては、1 年を通じて Web 会議システム(Zoom)を活用したリモート会議が実施された。全体会議及び残留サブグループの会合はそれぞれほぼ 5 週間に 1 度の頻度で開催されており、それに参加し適宜発言した。さらに、会議ごとに概要を作成し、厚生労働省と共有した。なお、毒性サブグループもリモート会議を開催している。

COVID-19 の世界各国におけるまん延のため、本来パリの OECD 本部で実施される予定であった 2020 年度の会議は、11 月 17 日及び 19 日にそれぞれ日本時間 20 時から 24 時まで、Zoom を用いたリモート会議として実施された。会議における議論と決定の概要を「結果」で報告する。

### 2. 2. 海外で実施した作物残留試験が、国内の MRL 設定に使用可能であるかどうかの検証

(1)どのような農薬/食品の組合せについて検証するかの特定

- ・リスクに基づく考え方で特定
- ・わが国で出荷量の多い農薬(カットオフ：10 万トン)を特定
- ・そのうち、JMPR で評価されている農薬を特定
- ・わが国で消費量がある程度以上多く、農薬残留物の摂取に寄与する可能性の高い食品を特定。ただし、MRL 設定の対象とならない加

工食品は除く(または可能であれば一次産物と合算)

- ・消費量の多い食品のうち、輸入に依存している食品を特定

(2)上記で選んだ有効成分について、わが国の使用基準を調査するとともに、上記で特定した食品について JMPR に提出された作物残留試験があるかどうかを調査

## C. D. 結果及び考察

### 1. Drafting Group on Definition of Residue への参加

2020 年度における議論の中心は、暴露評価用(リスク評価用)の残留物の定義である。昨年度の議論を引き継いで、現在の議論のポイントは以下の通り。

#### (1)残留物の定義に入れるかどうかを決定するための Decision tree とその説明文の策定

- ・毒性評価者に諮問して、毒性学的な情報を求めるべき代謝物の決定のためのカットオフ値について

食品については>10% TRR 及び 0.01 mg/kg、飼料については>10% TRR 及び 0.05 mg/kg に合意。また、食品については<10% TRR であっても、critical GAP において 0.05 mg/kg 以上の代謝物を含む。GAP に整合するかどうかを常に考慮する必要があることが強調されている。従って、残留評価をする厚生労働省は責任をもって残留物を特定しなければならない。

- ・暴露評価で総暴露量の何%まで

カバーすれば、十分な安全性を確保したことになるのか(75%、80%またはそれ以上か?)

これについては、厚生労働省の考え方を聞き取り Drafting Group に提供。

- ・本件については、合意が近い。

#### (2)Conjugates と Bound residues について

・代謝試験における conjugates と bound residues の定義の明確化

→Conjugates は通常抽出可能な代謝物、Bound residue は抽出されない代謝物で、強い共有結合をしているか、天然物に取り込まれているもの

- ・ぶどう糖やグルクロン酸との conjugates と、グルタチオン、アミノ酸、硫酸との conjugates のうち、どれを暴露評価の対象に入れるか、また、それらを conjugates として扱うのか、conjugates と遊離の合計として扱うのか?

・Conjugates が人の体内の条件で、遊離するかどうか、つまり、生体内で吸収され、毒性を発揮するかどうか?

→代謝試験における抽出条件として、6 mol/L の酸や塩基中で高温加水分解したり、電子レンジで分解したりするなどの過酷な条件は不適切

→生理学的条件を反映する条件を定義することとする

→毒性学的な検討も必要

- ・ 検討は未だ初期段階

### (3)代謝試験で同定されない代謝物を、暴露評価に入れるかどうか

- ・ 同定されない代謝物の比率が高い場合、現行の方法では暴露を過小評価する可能性
- ・ 同定されないもののうち、特性解明により、天然物や、消化管では分解されないと考えられる代謝物及び毒性学的懸念のない物質を除いて、他を暴露評価に加えるとの提案
- ・ 残留サブグループでは、本件の重要性を認識し、一部の基本概念について GD に入れることに合意したが、主要な内容については OECD の別のフォーラムで議論するべきとの意見であった。

### (4)TTC アプローチの利用

- ・ 毒性情報のない代謝物について、Threshold of Toxicological Concern アプローチ (TTC アプローチ)を活用すべきかどうかは、毒性評価者が決定
- ・ これまで通りのやり方で実行するのか、類似した構造を持つ代謝物を統合して計算するのかどうか?
- ・ 急性参照用量(ARfD)が設定されている場合に、TTC アプローチが使えるかどうか?
- ・ 検討が始まったばかりであり、毒性サブグループとの連携が必要

### (5)それ以外の課題

- ① 何度も、残留評価者と毒性評価者との間の継続した連携やコミュニケーションが必要であることを強調
- ② 1つの化合物で農薬としての利用の他に、動物用医薬品としての利用もある場合の MRL 設定と暴露評価 → JECFA の専門家を招いているが、参加はない
- ③ 立体異性体(優先度は低い)
- ④ 飲料水、魚、はちみつ等における農薬残留物について  
→ 魚、はちみつ等については OECD の他のグループによる検討や EFSA のガイドラインを参考にする
- ⑤ スケジュール：2021 年秋に RCEG に Peer review を依頼する予定で、2021 年末までに完了予定。

## **2. 海外で実施した作残試験が、国内の MRL 設定に使用可能であるかどうかの検証**

### (1)農薬/食品の組合せの特定

- ・ リスクに基づく評価のために、わが国において使用量の多い農薬と消費量の多い食品の特定を試みた
- ① 農薬の特定
  - ・ 使用量のデータはわが国にはないため、国内での年間出荷量を使用した。2019 年度において出荷量が 10 万トンより多い農薬の有効成分を選択した。それに合致するものは 51 成分であった。そのうち除草剤は 22 剤、殺菌剤は 20 剤、殺虫剤は 9 剤であった。出荷量が最大であったのは、1,3-ジクロロプロペンであったが、本有効成分は JMPR では評価されていない

い。

・上記の出荷量のデータは、農薬有効成分の農林水産省名に基づいて集められたものである。一方、JMPR がすでに作物残留試験を評価したかどうかを知るためには、農薬有効成分について、JMPR や海外諸国において使用されている ISO 名を知る必要がある。

上記の農林水産省名が ISO 名と異なっていたり、ISO の命名ルールに従っていないかたりする場合がいくつもあった。また、農林水産省名には一貫したルールがあるようには見えず、最近になると ISO 名により近くなっている。

国産農産品等の輸出促進の観点からは、農薬有効成分及び残留物の名称に ISO 名を使用することが望ましい。また最近では、厚生労働省は ISO 名を使う傾向にある。

・それらのうちから JMPR で評価されている有効成分を特定した。グループとして評価されているものを含めて、24 剤が特定された。このうち、わが国における出荷量の最大のもののはグリホサートであり、出荷量としては 2 位に位置する。

## ②食品

・厚生労働省において、農薬残留物の経口暴露評価に使用している食品消費量データから、食品全体の消費量に対して 0.01% 以上を占める食品を選択した。作物残留試験を実施できる食品であることが必要であるため、加工食品は除いたが、収穫後、加

工して摂食する作物は含めた。

・作物残留試験が活用できるかどうかの検証が主目的であるため、細かい分類に位置する食品は、より多く消費されている食品が含まれている限り、除外した。

・その結果、61 食品が特定された。分類の中の複数の食品が含まれている場合(例、かんきつ類におけるうんしゅうみかん、いよかん、なつみかん、オレンジ類)や、同じ作物の成熟、未成熟の食品が含まれている場合(例、大豆、えだまめ)があった。

・これらのうち、農林水産省が作物残留試験の目的のため「生産量が特に多い作物」に分類しており、使用登録がある作物には 6 例の作物残留試験が要求されており、OECD Calculator が使用できる条件を満たすので、本研究では優先度を低くする。

・しかし、「生産量が特に多い作物」に分類されている作物に適用のない農薬の場合は、検討の対象とする。特に、わが国の消費量の大部分を輸入に頼っている小麦、だいずについては、検討対象として優先度が高い。

・「生産量が特に多い作物」は以下のとおりである(飼料作物は除く)。

稲、小麦、みかん、かき、なし、りんご、キャベツ、きゅうり、すいか、だいこん、たまねぎ、トマト、なす、にんじん、ねぎ、はくさい、ほうれんそう、レタス、かんしょ、ばれいしょ、だいず、茶。

・消費量が多くても、わが国での生

産が少ない食品の場合、国内に適用がなければ、JMPR で評価した作物残留試験を国内の MRL 設定に使用可能である。ただし、特定の国からインポートトレランス設定の申請があれば、その国の GAP に基づいて MRL を設定する必要がある。そのような作物としては、バナナ、パイナップルなどがある。

(2)特定した農薬についてわが国の使用基準を調査するとともに、特定した食品について JMPR に提出された作物残留試験があるかどうかを調査

・現在、JMPR の評価があるものについて、上から 5 有効成分(glyphosate, mancozeb, sodium bentazone,

chlorothalonil, captan)について、わが国の GAP を記述するとともに、JMPR に提出された作物残留試験との比較を実施中である。さらに、もし海外で実施された作物残留試験があれば、わが国における MRL 設定に使用できるかどうかを検討する。

・ただし、これらは古い農薬であるため、glyphosate 以外は、日本以外で登録が抹消されている場合があり、その場合は古いデータを活用するのではなく、これらに次いで出荷量の多い農薬について検討することとする。

#### 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

なし

##### 2.学会発表

渡邊敬浩, 松田りえ子, 畝山智香子: 国内農薬残留検査データと海外 MRL の比較, 第 43 回残留農薬分析研究会, 2021, 11.06

##### 3. 特記事項

・ Meeting of the Drafting Group on

Definition of Residue (Subgroup of the Residue Chemistry Expert Group, RCEG)(2020 年 11 月 17 日及び 19 日、日本時間 20 時から 24 時まで、Zoom によるリモート会議)に参加

・ Zoom meetings of the Drafting Group on Definition of Residue(平均 5 週間で 1 回。1 回当たり 1.5 時間)に参加

・ Zoom meetings of the Drafting Group on Definition of Residue – Residue Subgroup (平均 5 週間で 1 回。上記の 1 週間前に実施。1 回当たり 1.5 – 2 時間)

#### 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2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

輸出先国のリスク管理に対応した残留農薬データ等の補完に関する研究

研究分担報告書

農薬等の残留する試料の作成と残留物の評価に関する研究

研究分担者 加藤 拓

東京農業大学応用生物科学部

### 研究要旨

本研究では、新たな作物残留試験等の実施が困難な場合に、加工試験や妥当性確認において利用可能なインカード試料の作成について検討し、作成したインカード試料における残留物を評価した。本年度は Etofenprox と Dinotefuran に暴露された稲のインカード試料を OECD Guideline for the Testing of Chemicals 509 に準拠して作成した。まず、農薬処理区と対照区である無処理区を同一圃場内に設置し、各農薬成分に定められた使用時期の収穫前期間ならびに使用間隔が最小となるように、農薬を散布し、収穫後に試料調製を行った。その結果、各処理間におけるインカード試料の生育量に有意差が無いことが確認された。次に、公示試験法による各農薬成分（Etofenprox と Dinotefuran）の分析を行った。その結果、各農薬成分の残留濃度は、籾殻>稲わら>玄米の順に高い値を示した。これら残留濃度の違いは、農薬散布時期を考慮すると妥当な結果と考えられた。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部・客員研究員

山田友紀子

### A. 研究目的

精密な暴露量の推定や、農産物に残留する農薬の成分の量の限度値（最大残留基準値、以下、MRL）設定の必要の判断には、農産加工品における残留物の挙動を知らなければならない（加工試験）。また、設定された MRL への適合判定を目的とした分析においては、使用する分析法が必要とされる性能規準を満たしているかを評価

しなければならない（妥当性確認）。本来、これらの加工試験や妥当性確認には、農薬等を投与した結果として生じる残留物を含む試料（以下、インカード試料）を使用しなければならない。農薬等の新規登録時であれば作物残留試験等を通じてインカード試料を作成することが可能である。

しかし、すでに設定されている MRL に関するデータギャップを埋めるために、新

たな作物残留試験等を実施することは不可能である。本研究では、登録済み農薬についてインカード試料の作成を検討し、残留物を評価する。具体的には、作物の栽培方法や当該作物に適用のある農薬の使用時期、使用方法等を考慮して使用する農薬を特定し、実際の栽培を反映する方法で当該作物に使用し、3年間で、複数の組み合わせについて、加工試験及び妥当性確認に用いるためのインカード試料を作成する。

1年目の本研究では、稲（玄米・粳穀・稲わら）に含まれる Etofenprox 並びに Dinotefuran 残留物について検討する。

## B. 研究方法

### 1) 使用する農薬の決定

稲に適用できることが登録されている農薬のうちから、①使用濃度が高く、かつ収穫直前に使用可能であることから、収穫した米粒中の有効成分の残留濃度が定量下限値より有意に高くなると考えられること、② JMPR に作物残留試験が提出されており、収穫物の残留濃度が高いことが示されていること、③浸透移行性の低いものが望ましいこと、④分析法の性能評価のために、水・オクタノール分配係数が高いものと低いもの、⑤分析対象物質として、標準試薬が入手可能であること、⑥使いやすく、残留濃度がより均一になる剤型が存在すること、⑦複数選ぶ場合には収穫前期間が同じであり、混合剤が市販されていること、⑧分析に必要な費用、などを総合的に考慮して、2剤を選択した。

### 2) インカード試料（稲）の作成方法

本年度は、我が国の代表的穀物である稲（品種コシヒカリ）のインカード試料を作成した。イネの場合、肥料試験などでは1/5000 a ワグネルポットが通常用いられるが、根圏が制御されるなどの理由から、稲体が小さくなる傾向がある。本研究では、MRL の設定に用いる、並びに次段階の加工試験に作成したインカード試料を供試するために、実際の栽培に即した条件下におけるインカード試料の作成が求められることから、圃場スケールでのインカード試料の作成を行った。OECD Guideline for the Testing of Chemicals 509（以下、OECD ガイドライン）は、圃場スケールでのインカード試料は、通常の使用方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く採取できる規模の圃場にて作成することを求めている。そこで、本研究では試験圃場として約 17a の水田を使用した。また、各処理区は、OECD ガイドラインに準拠（農薬処理区と無処理区は同様または同一の栽培条件下におく）するために、同一の試験圃場内に設置し、無処理区への農薬成分による汚染が起らないように各処理区間に十分な規模の緩衝地帯を設けた（図1）。

種籾は令和2年4月11日に播種し、同年5月1日に育苗した20日苗を定植した。播種時に除草剤としてカフェンストロール・シクロスルファミロン・ダイムロン・ベンゾビシクロン粒剤（商品名サスケラジカルジャンボ；OAT アグリオ株式会社）

と殺虫剤としてイミダクロプリド粒剤(商品名アドマイヤー CR 箱粒剤;クミアイ化学工業株式会社)を育苗箱処理した。

定植した苗の株間は 30 cm、畝間は 24 cm とし、栽植密度は 13.9 本  $m^{-2}$  とした。各処理区の面積は 200  $m^2$  とし、うち外周 50  $m^2$  を番外区とし、残りを試験区とした。

分析法の妥当性確認及び加工試験のためのインカード試料の作成に使用する農薬は、エトフェンプロックス・ジノテフラン水和剤(商品名トレボンスターフロアブル;三井化学アグロ株式会社)とした。本剤は、Etofenprox (7.0%) と Dinotefuran (3.0%) の二成分を含有する混合剤である。Etofenprox は脂溶性が高く、Dinotefuran は水溶性が高い。本研究で作成したインカード試料は加工試験に用いられるが、本剤は、ラベルに記載されている最大の使用方法に則り、300 倍希釈 (Etofenprox 23 g  $ai\ hL^{-1}$ ; Dinotefuran 10 g  $ai\ hL^{-1}$ ) で使用した。また収穫前期間は 7 日間である。

農薬のラベルに記載されている使用時期の収穫前期間、並びに使用間隔が最小となるように、収穫 21 日前 (令和 2 年 8 月 4 日)、収穫 14 日前 (令和 2 年 8 月 11 日)、収穫 7 日前 (令和 2 年 8 月 18 日) に計 3 回の 7 日おきに農薬散布を行った。各農薬成分の使用回数は育苗箱処理も含めると最大 4 回であるが、本研究では定植後の最大使用回数である 3 回の散布を行った。

収穫時 (令和 2 年 9 月 1 日) に圃場の各処理区から、稲わらと籾の 2 種類のサンプル

を持ち出した。収穫は、農薬成分のコンタミを避けるために無処理区から行った。稲わらは、各処理区の試験区内から、約 4 m 毎に一株を地際から刈り取り、各計 24 株 (各処理区 12 株) を個別にポリエチレン製袋に採取した。採取後、直ちに冷凍保存した。一方、籾は番外区、試験区の順に、乗用コンバインを用いて、刈り取りと脱穀を行った。脱穀後の籾は、ガラス温室にて風乾処理し、水分 16% に調整した。水分調整した籾は、籾摺り後に玄米と籾殻を直ちに  $-20^{\circ}C$  にて保存した。

### 3) インカード試料 (稲) の残留農薬分析方法

玄米は超遠心粉碎機 ZM-200 (Retsch 製) の 0.5 mm メッシュを用い粉碎した。籾殻は超遠心粉碎機 ZM-200 (Retsch 製) の 1.0 mm メッシュを用い粉碎した。稲わらは解凍後、各袋から 2 から 3 本抜き取り、はさみで 10 cm に細断・混合し、各処理区 1 試料とした。分析時に更に 2~3 cm に細切し、ブレンダーミキサー Blixer3 (robot coupe 製) で粉碎した。

粉碎調製した分析用各試料は、公示試験法である LC/MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物) 【以下、一斉試験法】を用いて残留した各農薬成分を定量した。Etofenprox 及び  $\alpha$ -CO 並びに Dinotefuran の一斉試験法の手順を図 2 と図 3 に示した。すなわち、Etofenprox 及び  $\alpha$ -CO では、試料 10.0 g に水 20 mL (稲わらは 30 mL) を加え 2 時間静置後、アセトン 100 mL を加



えてホモジナイズした後に吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトン 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトンにて 200 mL に定容した。抽出液を 8 mL 分取し、水 20 mL を加え負荷、洗浄後に水及びメタノールの混液 (1:1) 10 mL にて更に洗浄を行い、メタノール 10 mL で溶出させメタノールで 10 mL に定容した。定容した溶液 1 mL を分取し、減圧濃縮、窒素乾固後、ヘキサンにて 5 mL に溶解した。これをヘキサン 5 mL で洗浄した後にジエチルエーテル及びヘキサンの混液 (1:9) 10 mL で溶出し、減圧濃縮後に窒素乾固した。得られた残留物をメタノールにて 1 mL に定容し、Etofenprox の場合では籾殻は 100 倍希釈、稲わらは 50 倍希釈、 $\alpha$ -CO の場合では籾殻は 100 倍希釈、稲わらは 50 倍希釈し、液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計 (以下、LC-MS/MS) にて測定した。

一方、Dinotefuran では、試料 10.0 g に水 20 mL (稲わらは 30 mL) を加え 2 時間静置後、アセトン 100 mL (稲わらは 120 mL) を加えてホモジナイズした後に吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトン 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトンにて 200 mL に定容した。抽出液を 0.8 mL 分取し、水 3 mL および塩化ナトリウム約 1 g を加え負荷し 5 分間静置した。ヘキサン 40 mL にて洗浄後に、酢酸エチル 60 mL で溶出させた後に減圧濃縮、窒素乾固した。得られた残留物をメタノールにて 1 mL に

定容し、玄米は 5 倍希釈、籾殻は 40 倍希釈、稲わらは 10 倍希釈し、LC-MS/MS にて測定した。

測定用標準溶液を LC-MS/MS に注入し、各成分の重量とピーク面積から検量線 (最小二乗法) を作成し、以下の式 1 または式 2 に従い、試料中の各成分の含有量を算出した。なお、試験溶液中の各成分の重量が検量線の範囲を超えた場合は適宜希釈して再度測定した。

#### 【式 1 : Etofenprox および $\alpha$ -CO】

試料中の Etofenprox 及び  $\alpha$ -CO の含有量 (mg/kg) =  

$$\text{検量線から求めた重量 (ng)} \times 1 \text{ mL} / \text{注入量 } (\mu\text{L}) \times 200 \text{ mL} / 8 \text{ mL} \times 10 \text{ mL} / 1 \text{ mL} \times \text{希釈率} \times 1 / 10 \text{ g}$$

#### 【式 2 : Dinotefuran】

試料中の Dinotefuran の含有量 (mg/kg) =  

$$\text{検量線から求めた重量 (ng)} \times 1 \text{ mL} / \text{注入量 } (\mu\text{L}) \times 200 \text{ mL} / 0.8 \text{ mL} \times \text{希釈率} \times 1 / 10 \text{ g}$$

### C. D. 結果及び考察

#### 1) インカード試料の作成

無処理区および農薬処理区におけるイネの生育データを表 1 に示した。草丈は無処理区 128.8(±2.7) cm と農薬処理区 132.0(±3.9) cm であり、茎数は無処理区 29.4(±4.8) 本と農薬処理区 36.6(±5.2) 本であった。草丈および茎数に、各処理間で有意な差は認められなかった。作物の大き

さ（草丈など）と重量は、農薬成分の残留性に大きく影響すると考えられる。草丈は作物の葉面積と高い正の相関を示す。そのため、作物の大きさに比例して、作物に付着する農薬分量が増加することが予想される。本研究では葉身、稈+葉鞘及び穂の各部位重量にも有意な差は認められなかった。したがって、試験区間の差が少なく、作物体重量が揃ったインカード試料が作成できたと考えられる。

収量構成要素とは作物の収量を規定する形質要素を指す。イネの収量構成要素は、穂数（本/株）、一穂粒数（粒/穂）、登熟歩合及び千粒重（g）であり、ここでの登熟歩合は全粒数に対する登熟した粒数の割った値である。玄米収量（g/m<sup>2</sup>）は、これら収量構成要素をすべて乗じた値であり、以下の式3で表される。

#### 【式3：玄米収量】

単位面積あたりの玄米収量（g/m<sup>2</sup>）＝  
穂数（本/株）×一穂粒数（粒/穂）×登熟歩合×千粒重（g）

玄米収量は、無処理区 608.7(±114.3) g/m<sup>2</sup>と農薬処理区 690.7(±75.9) g/m<sup>2</sup>であり、各処理間で有意な差は認められなかった。また、収量構成要素である穂数、一穂粒数、登熟歩合、及び千粒重においても各処理間で有意な差が認められなかったことから、本研究では均質なインカード試料が作成でき、暴露試験による農薬成分残留に対する各処理間における稲体の大きさ

や重量に起因するの影響は無いと考えられた。

## 2) インカード試料の残留農薬分析結果

各農薬成分の残留濃度を表2に示した。各農薬分析に供した作物体試料は、合一した後に再分取した試料であるため、玄米収量などの個別結果とは対応していない。一斉試験法による分析の結果、Etofenproxの残留濃度は籾殻>稲わら>玄米の順に高い値を示した。稲わら（葉身+稈+葉鞘）重と穂重の差が小さいこと、並びに農薬散布が出穂後に行われていることを鑑みると妥当な結果と考えられた。 $\alpha$ -COもEtofenproxと同様の傾向を示し、籾殻>稲わら>玄米の順に残留濃度が高かった。この結果もEtofenproxと同様に薬剤の部位への付着量の違いに起因すると考えられた。Dinotefuranの残留濃度も、他の二成分と同様に、籾殻>稲わら>玄米の順に高い値を示した。また、農薬処理区におけるDinotefuran残留濃度の玄米/籾殻の値は、Etofenproxの10倍近く高い値を示した。生体付着後の保存環境下におけるEtofenproxとDinotefuranの分解率の違いなど様々な条件を考慮する必要があるが、玄米への残留率の違いに与える影響について、今後検討する必要があると考えられた。

## 3) 小括

農薬処理区のインカード試料の生育

量が無処理区（対照区）と同等することが出来れば、Etofenprox（7.0%）とDinotefuran（3.0%）の二成分を含有する混合剤であるエトフェンプロックス・ジノテフラン水和剤のインカード試料が作成できることが明らかとなった。

## **E. 研究発表**

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

なし

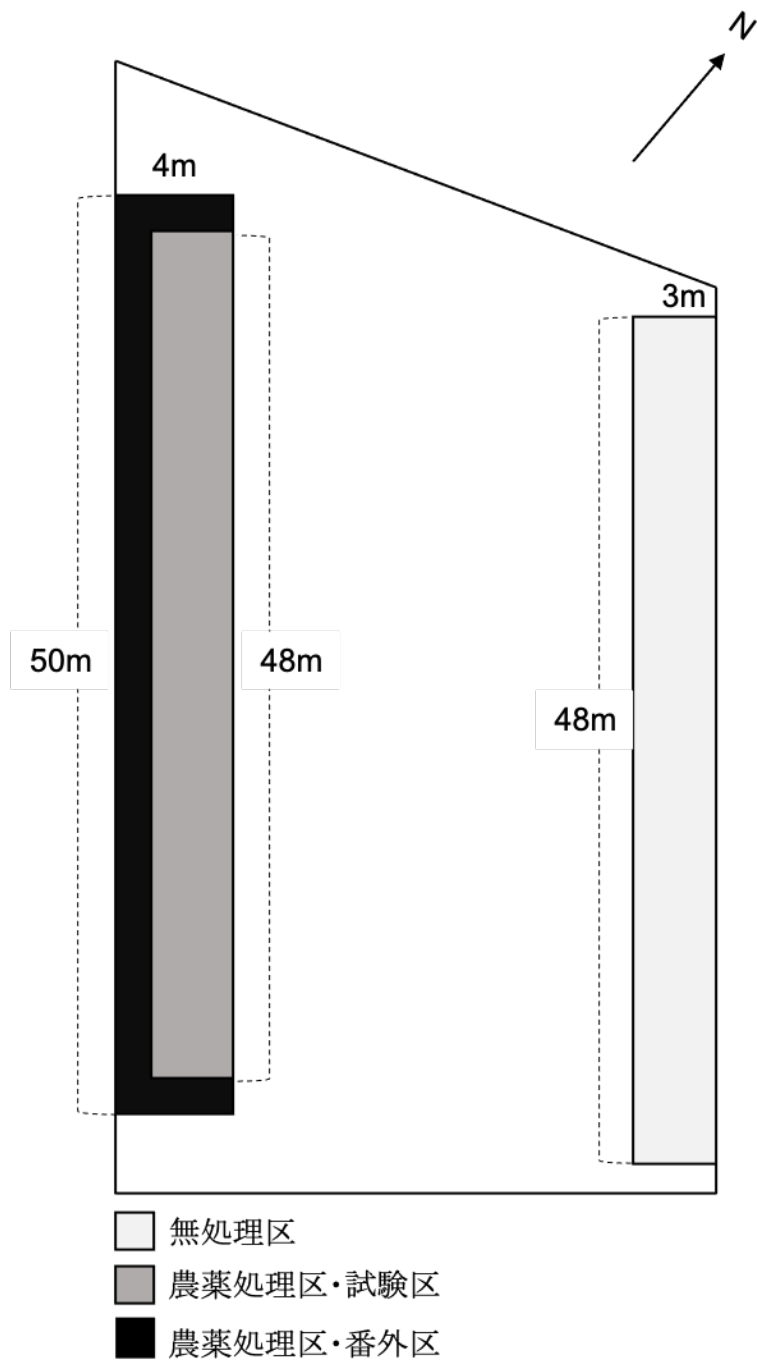


図1 試験圃場概況

試料10.0 g (糖及び脱脂糠は2.0 g) 採取

水20 mL (稲わらは30 mL) を加え2時間放置

アセトン100 mL (稲わらは120 mL) を加えホモジナイズ後、吸引ろ過  
ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えホモジナイズ後、吸引ろ過  
得られたる液を合わせアセトンで200 mLに定容

InertSep C18 (1 g)

(カラムを予め、メタノール5 mL及び水5 mLで洗浄)

抽出液8 mL分取

水20 mLを加え負荷、洗浄

水及びメタノールの混液 (1:1) 10 mLで洗浄

メタノール10 mLで溶出、メタノールで10 mL定容

Sep-pak Long Florisil (910 mg)

(予めヘキサン10 mLで洗浄)

定容液1 mL (糖及び脱脂糠は5 mL) 分取

減圧濃縮、窒素乾固、ヘキサン5 mLに溶解、負荷

ヘキサン5 mLで洗浄

ジエチルエーテル及びヘキサンの混液 (1:9) 10 mLで溶出

減圧濃縮、窒素乾固

残留物

メタノールで1 mL定容

インカード試料エトフェンプロックス：玄米及び糠は5倍希釈、

粃殻は100倍希釈、稲わらは50倍希釈

インカード試料 $\alpha$ -CO：粃殻は100倍希釈、稲わらは50倍希釈

LC-MS/MS注入

図 2 Etofenprox および $\alpha$ -CO の一斉試験法

試料10.0 g（糠及び脱脂糠は2.0 g）採取

水20 mL（稲わらは30 mL）を加え2時間放置

アセトン100 mL（稲わらは120 mL）を加えホモジナイズ後、吸引ろ過

ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えホモジナイズ後、吸引ろ過

得られたろ液を合わせアセトンで200 mLに定容

InertSep k-solute 5 mL用

抽出液0.8 mL（糠及び脱脂糠は4 mL）分取

糠及び脱脂糠のみ約0.5 mLまで減圧濃縮

水3 mL及び塩化ナトリウム約1 gを加え負荷、5分間放置

ヘキサン40 mLで洗浄

酢酸エチル60 mLで溶出、減圧濃縮、窒素乾固

残留物

メタノールで1 mL定容

インカード試料：玄米、精米及び糠は5倍希釈、脱脂糠は10倍希釈、

粃殻は40倍希釈、稲わらは10倍希釈

LC-MS/MS注入

図 3 Dinotefuran の一斉試験法

表1 無処理区および農薬処理区におけるイネの生育データ

無処理区	草丈 cm	茎数 本/株	穂数 本/株	葉身 g	稈+葉鞘 g	穂 g	籾数 個/株	整粒 個/株	千粒重 g	一穂籾数 個/穂	登熟歩合 %	玄米収量 g/m <sup>2</sup>
1	124.6	28	23	19.0	54.9	51.3	2309	1884	19.5	100.4	81.6	510.9
2	127.4	23	22	15.2	35.8	54.7	-	-	-	-	-	-
3	132.4	37	35	23.3	79.9	99.9	-	-	-	-	-	-
4	129.2	27	30	13.2	40.6	57.4	2638	2001	19.6	87.9	75.9	546.0
5	130.4	32	30	18.5	57.8	76.9	3280	2799	19.8	109.3	85.3	769.1
標準偏差	2.7	4.8	4.9	3.5	15.5	18.3	403	407	0.1	8.8	3.9	114.3
平均	128.8	29.4	28.0	17.8	53.8	68.0	2742	2228	19.7	99.2	80.9	608.7
CV	0.02	0.16	0.17	0.20	0.29	0.27	0.15	0.18	0.01	0.09	0.05	0.19

農薬処理区	草丈 cm	茎数 本/株	穂数 本/株	葉身 g	稈+葉鞘 g	穂 g	籾数 個/株	整粒 個/株	千粒重 g	一穂籾数 個/穂	登熟歩合 %	玄米収量 g/m <sup>2</sup>
1	127.7	39	38	23.2	66.4	91.1	-	-	-	-	-	-
2	130.0	42	44	27.1	61.3	90.5	3981	2968	19.0	90.5	74.6	784.6
3	130.5	29	29	20.8	51.5	71.9	3237	2672	18.6	111.6	82.5	688.9
4	132.6	32	33	21.1	50.2	68.0	3233	2208	19.5	98.0	68.3	598.7
5	139.2	41	41	26.4	62.3	91.2	-	-	-	-	-	-
標準偏差	3.9	5.2	5.4	2.6	6.4	10.3	352	313	0.4	8.8	5.8	75.9
平均	132.0	36.6	37.0	23.7	58.3	82.5	3484	2616	19.0	100.0	75.1	690.7
CV	0.03	0.14	0.15	0.11	0.11	0.13	0.10	0.12	0.02	0.09	0.08	0.11

表2 玄米、籾殻および稲わらにおける各農薬成分の残留濃度

Etofenprox (mg/kg)

玄米		籾殻		稲わら	
無処理区	農薬処理区	無処理区	農薬処理区	無処理区	農薬処理区
0.0029	0.141	0.0542	20.4	N.D.	4.92

α-CO (mg/kg)

玄米		籾殻		稲わら	
無処理区	農薬処理区	無処理区	農薬処理区	無処理区	農薬処理区
N.D.	0.0294	0.0158	6.02	N.D.	2.05

Dinotefuran (mg/kg)

玄米		籾殻		稲わら	
無処理区	農薬処理区	無処理区	農薬処理区	無処理区	農薬処理区
N.D.	0.351	0.0182	5.13	N.D.	1.2

註 N.D. は検出限界以下、Etofenproxの玄米の無処理区の値は、定量下限値（0.01 mg/kg）以下のため参考値

令和 2 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

輸出先国のリスク管理に対応した残留農薬データ等の補完に関する研究

研究分担報告書

近年国際的に求められているリスク管理のための新規分析手法の開発と

国内導入に関する研究

研究代表・分担者 渡邊敬浩

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

研究要旨

農林水産物・農産加工品(農産品等)の輸出促進のためには、国際整合した食品安全行政とそれによる取組が基本となる。農薬残留物の規制に関しては、国際整合した考え方や方法論に基づいて輸出先国により設定された最大残留基準値(MRL)への適合を確実にすることや、MRL が設定されていない場合には設定申請(インポートトレランス申請)することが具体的な方策となる。取組の 1 つとして、規制の目的で使用可能な簡易で迅速な分析法の提示も必要だが、わが国においては検証が十分でなく、国産農産品等輸出促進の障壁となる可能性があり解決すべき課題である。

本研究では、農薬残留物の簡易で迅速な分析法として国際的にも急速に認められつつある QuEChERS 法について、農薬を投与した結果としての残留物を含む試料(インカード試料)を用い、従来の分析法との比較を行いながら、厳密な性能評価を試みた。本年度研究においては、ジノテフラン及びエトフェンプロックスの残留物を含むコメ・インカード試料の作成に成功し、本試料の計画的な分析を通じて、QuEChERS 法の性能を評価するとともに試料調製方法等のさらなる検討につながる重要な知見を得た。

その他の課題として、国内流通する農産品における農薬残留物濃度の海外 MRL への適合度の検証を、先行研究により実施されたいちごの他にコメと茶を対象として実施した。その結果からも、わが国における適正な農業の実施の結果として生じる可能性のある濃度であることを科学的根拠に基づき実証し、インポートトレランス申請することが有効であると考えられた。

研究協力者

明治薬科大学薬学部

永山敏廣

日本食品分析センター

中村歩 渡邊文子 伊佐川聡

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

松田りえ子



## A. 研究目的

現在のわが国政府の方針として、農林水産物・農産加工品(農産品等)の輸出促進が掲げられている。食品安全行政の国際整合は、この政府方針に沿った取組の基礎となるため極めて重要である。例えば、輸出先国に設定された最大残留基準値(MRL)に対して輸出を意図する農産品等における農薬残留物濃度の適合を確実にすること、また MRL が設定されていない場合等には必要とされるデータを科学的根拠として示して MRL の設定を申請(インポートトレランス申請)することは、食品安全行政の国際整合に基づく輸出促進のための具体的な方策となる。国際的な観点から見て標準的な MRL の設定あるいはインポートトレランスの申請には、農薬残留物濃度を示すデータ等の他に、規制目的で使用可能な簡易で迅速な分析法の提示が求められる。しかし、これまでのわが国においては、そのような分析法の検証が十分でなかった。そのため、国産農産品等の輸出促進の障壁となる可能性があり解決すべき課題である。

本研究では、国際標準の MRL 設定については国産農産品等の輸出促進に資する研究として、QuEChERS 法の厳密な性能評価、国内残留実態濃度に基づく海外 MRL への適合度の検証について検討した。以下、検討課題ごとに目的を示す。

### A-1. QuEChERS 法の厳密な性能評価

近年、農薬残留物の簡易で迅速な分析

法として QuEChERS 法が開発された。QuEChERS とは、Quick(迅速)、Easy(簡単)、Cheap(安価)、Effective(効率的)、Rugged(頑健)、Safe(安全)の混成語であり、農薬残留物の分析に求められる様々な要件を満たす分析法として期待されている。農薬残留物の規制分野において、国際的にも急速に認められつつあり、規制のための分析法としてだけではなく、作物残留試験データの取得にも利用され始めている。

国産農産品の輸出促進の観点からは、国際標準の MRL 設定またインポートトレランスの申請に備え、QuEChERS 法の適用可否を明らかにしておくことが重要である。また国内においても、QuEChERS 法の利用が検討され始めているが、公的に示されてきた従来の分析法(公示分析法)との比較も含めた厳密な性能評価が最重要課題とされている。

現在では、QuEChERS 法は簡易・迅速な分析法の総称となっており、数種類の分析操作の工程が存在し、多様性を生じている。そこで本研究では、QuEChERS 法と呼称される分析法のうち、代表的な方法を対象とし、農薬を投与した結果としての残留物を含む試料(インカード試料)の分析を通じて従来の分析法との比較も行いつつ、厳密な性能評価を行うことを目的とした。

### A-2. 残留物実態濃度に基づく海外 MRL への適合度の検証

農業に必要な最小量の農薬の使用が、MRL 設定の前提になる。この最小量の農

薬を使用した結果として農産品に生じる残留物濃度を許容するための指標値が MRL である。農業に必要な農薬の最小量は、その国や地域の気候や病害虫等の発生により異なる。そのため、設定された MRL の値が国により異なる場合もあるが、科学的根拠を示すことで合理性が認められる。

農産品等の輸出を意図する相手国において当該農産品等を対象とする MRL が設定されていた場合には、その MRL への適合を確実にすることが基本となる。しかし、先述のとおり、当該国における農薬等の使用基準や登録が無く、一律設定が背景になる場合には、設定された MRL の値がわが国の農業により達成可能な値に比べ低くなる可能性がある。そのような場合に、わが国の MRL には適合しても、当該国では不適合になる場合も想像される。本研究では、そのように想像される事態が実際に発生する可能性の検証を目的として、国内流通する農産品等の残留濃度データを対象に、海外 MRL への適合度を検証した。

## B. 研究方法

### B-1. QuEChERS 法の厳密な性能評価

#### B-1-1. 試薬等

##### B-1-1-1. 標準品

- ・エトフェンプロックス標準品：純度 99.9%(林純薬工業製)
- ・ジノテフラン標準品：純度 99.8%(富士フィルム和光純薬製)

##### B-1-1-2. 試薬

- ・アセトン、アセトニトリル：残留農薬試験用(関東化学製)
- ・メタノール：高速液体クロマトグラフ用(関東化学製)
- ・塩化ナトリウム、酢酸アンモニウム：試薬特級(関東化学製)
- ・くえん酸三ナトリウム二水和物、無水硫酸マグネシウム：試薬特級(富士フィルム和光純薬製)

#### B-1-1-3. 試液の調製

- ・1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液：酢酸アンモニウム 15.43 g を水に溶解し 200 mL とした。
- ・2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液：1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 2 mL に水を加えて 1000 mL とした。

#### B-1-1-4. 標準溶液の調製

##### 1) 標準原液の調製

- ・エトフェンプロックス標準原液：エトフェンプロックス標準品 25 mg を精密に量り、50 mL 容全量フラスコに入れた。アセトンを加え、超音波を照射して溶解した後に定容し、これをエトフェンプロックス標準原液(500 mg/L)とした。
- ・ジノテフラン標準原液：ジノテフラン標準品 25 mg を精密に量り、以下上記と同様に調製し、ジノテフラン標準原液(500 mg/L)とした。

##### 2) 添加用混合標準溶液の調製

- ・添加用混合標準溶液(1 mg/L)：標準原液(500 mg/L)1.0 mL を 25 mL 容全量フラス

コに採り、アセトンを加えて定容し、希釈用標準溶液(20 mg/L)を調製した。次いで、希釈用標準溶液(20 mg/L)1.0 mL を 20 mL 容全量フラスコに採り、アセトンを加えて定容した。

・添加用混合標準溶液(5 mg/L)：標準原液(500 mg/L)1.0 mL を 25 mL 容全量フラスコに採り、アセトニトリルを加えて定容し、希釈用標準溶液(20 mg/L)を調製した。次いで、希釈用標準溶液(20 mg/L)2.5 mL を 10 mL 容全量フラスコに採り、アセトニトリルを加えて定容した。

### 3)検量線用混合標準溶液の調製

表 1 に従って希釈し、測定用混合標準溶液を調製し、その内の一部を検量線用混合標準溶液とした。

#### B-1-2. 装置

・超遠心粉砕機：ZM-200

[Retsch 製]

・エルビスシェーカー

[スギヤマゲン製]

・高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)

機種：LC 部；Nexera X2(LC30-AD)

[島津製作所製]

MS 部；LC/MS-8050

[島津製作所製]

解析ソフト：LabSolutions LCMS

[島津製作所製]

カラム：InertSustain C18(内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5 μm)

[ジーエルサイエンス製]

カラム温度：40℃

#### B-1-3. 試料の調製

##### B-1-3-1. 分析用試料(インカード試料及びコントロール試料)の調製

稲の栽培時に農薬を投与し調製した玄米をインカード試料、農薬を投与せず調製した玄米をコントロール試料とした。約 1 kg のインカード試料、及びにコントロール試料を 0.5 mm メッシュを装備した超遠心粉砕機を用いて粉砕することにより、分析用試料を調製した。調製した分析用試料は、-20℃の条件で冷凍保存した。

##### B-1-3-2. 管理用試料の調製

適正な分析操作等が行われたことを確認する目的から、管理用試料を調製し、併行条件下でインカード試料とともに分析した。管理用試料の調製方法は以下の通りである。

B-1-3-1.に示した方法に従い調製した玄米コントロール試料を、基本分析法の場合には 10.0 g、QuEChERS 法の場合には 5.0 g 分取した後、濃度が 0.1 mg/kg になるようにエトフェンプロックス及びジノテフラン標準品を添加することで、管理用試料を調製した。具体的には、基本分析法の場合には添加用混合標準溶液(1 mg/L)を 1 mL、QuEChERS 法の場合には添加用混合標準溶液(5 mg/L)を 100 μL を、それぞれ量り取った玄米コントロール試料に添加した。

#### B-1-4. 分析

##### B-1-4-1. 分析対象化合物

本研究で用いたインカード試料の作成には、オクタノール・水分配係数(logPow)を指標として脂溶性の異なる農薬として選定したエトフェンプロックス(Etofenprox)、及びジノテフラン(Dinotefuran)を用いた。インカード試料の作成方法については、加藤による分担研究報告書を参照のこと。

規制のための残留物として定義されており、農薬投与の結果生じた残留物としてインカード試料に含まれることも予想されたことから、エトフェンプロックス及びジノテフランを分析対象化合物とした。

##### B-1-4-2. 分析法

###### B-1-4-2-1. 測定用溶液の調製

###### 1) 公示分析法に基づくエトフェンプロックス分析法(エトフェンプロックス基本分析法)

別添1に示した公示個別分析法:エトフェンプロックス(農産物)が採用している抽出溶媒を変更せず、LC-MS/MSによる測定を前提に以下の分析法を構築し、本研究では使用した。

試料 10.0 g に水 20 mL を加え 2 時間静置した。アセトン 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトン 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に 200 mL とした。抽出液を 1 mL 分取し、メタ

ノールで 20 mL に定容した。LC-MS/MS に注入し、B-1-4-2-2.測定条件に従い測定した。

###### 2) 公示分析法に基づくジノテフラン分析法(ジノテフラン基本分析法)

別添2に示した公示個別分析法:ジノテフラン(農産物)が採用している抽出溶媒を変更せず、LC-MS/MSによる測定を前提に以下の分析法を構築し、本研究では使用した。

試料 10.0 g に水 20 mL を加え 2 時間静置した。アセトニトリル 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトニトリル 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 200 mL とした。抽出液を 1 mL 分取し、メタノールで 20 mL に定容した。LC-MS/MS に注入し、B-1-4-2-2.測定条件に従い測定した。

###### 3) QuEChERS 法

エトフェンプロックス及びジノテフランを一斉に分析可能な QuEChERS 法として以下を構築し、本研究では使用した。

試料 5.0 g に水 10 g 及びアセトニトリル 10 mL を加え、シェイカーを用いて 250 rpm で 1 分間振とうした。無水硫酸マグネシウム 4 g、塩化ナトリウム 1 g、くえん酸三ナトリウム二水和物 1 g 及びくえん酸水素二ナトリウム 1.5 水和物 0.5 g を加え、250 rpm で 1 分間振とうした。3000 rpm で 5 分間遠心分離し、アセトニトリ

ル層を分取した。抽出液を 0.5 mL 分取し、メタノールで 100 mL に定容した。

#### B-1-4-2-2. 測定条件

1) エトフェンプロックス測定のための

LC-MS/MS 操作条件例

移動相：A 液；2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B 液；メタノール

A 液：B 液(13：87)

流量：0.2 mL/min

注入量：4  $\mu$ L

コリジョンガス：アルゴン

モニターイオン等：表 2 の通り

2) ジノテフラン測定のための LC-MS/MS 操作条件

移動相：A 液；2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B 液；メタノール

A 液：B 液(20：80)

流量：0.2 mL/min

注入量：2  $\mu$ L

コリジョンガス：アルゴン

モニターイオン等：表 2 の通り

#### B-1-4-2-3. 検量線の作成

分析時ごとに、検量線用混合標準溶液を測定して、各分析対象化合物の重量とピーク面積から、最小二乗法により得た一次回帰式を検量線として用いた。検量線の一例を図 1 及び図 2 に示す。

いずれの検量線についても、決定係数は

$\geq 0.999$  となった。

#### B-1-4-3. 濃度の計算

各測定用溶液を LC-MS/MS に注入し計測されたピーク面積から、検量線を用いて各分析対象化合物の重量を逆推定後、分析法と分析対象化合物との組合せごとに、次式に従い試料における濃度を算出した。

##### 1) 基本分析法の場合

公示分析法に基づき構築した基本分析法によるエトフェンプロックス並びにジノテフラン分析時には、下式により試料における濃度を算出した。

・エトフェンプロックス濃度(mg/kg) = 検量線から求めた重量(ng)  $\times$  50 mL/4  $\mu$ L  $\times$  200 mL/1 mL  $\times$  1(希釈率)  $\times$  1/10 g

・ジノテフラン濃度(mg/kg) = 検量線から求めた重量(ng)  $\times$  20 mL/2  $\mu$ L  $\times$  200 mL/1 mL  $\times$  1(希釈率)  $\times$  1/10 g

##### 2) QuEChERS 法の場合

構築した QuEChERS 法によるエトフェンプロックス並びにジノテフラン分析時には、下式により試料における濃度を算出した。

・エトフェンプロックス濃度(mg/kg) = 検量線から求めた重量(ng)  $\times$  50 mL/4  $\mu$ L  $\times$  200 mL/1 mL  $\times$  1(希釈率)  $\times$  1/10 g

・ジノテフラン濃度(mg/kg) = 検量線から求めた重量(ng)  $\times$  20 mL/2  $\mu$ L  $\times$  200 mL/1 mL  $\times$  1(希釈率)  $\times$  1/10 g

#### B-1-4-4. 定量下限値(LOQ)の推定

各分析法の LOQ は、検量線の最下点と

して設計した分析対象化合物の量と、希釈を含む測定用溶液の調製手順から、以下の通り、計算により推定した。

#### 1)基本分析法の LOQ

・エトフェンプロックスについて： $0.0008 \text{ ng} \times 20 \text{ mL} / 4 \text{ } \mu\text{L} \times 200 \text{ mL} / 1 \text{ mL} \times / 10 \text{ g} = 0.08 \text{ mg/kg}$

・ジノテフランについて： $0.0004 \text{ ng} \times 20 \text{ mL} / 2 \text{ } \mu\text{L} \times 200 \text{ mL} / 1 \text{ mL} \times / 10 \text{ g} = 0.08 \text{ mg/kg}$

#### 2) QuEChERS 法の LOQ

・エトフェンプロックスについて： $0.0008 \text{ ng} \times 100 \text{ mL} / 4 \text{ } \mu\text{L} \times 10 \text{ mL} / 0.5 \text{ mL} / 5 \text{ g} = 0.08 \text{ mg/kg}$

・ジノテフランについて： $0.0004 \text{ ng} \times 100 \text{ mL} / 2 \text{ } \mu\text{L} \times 10 \text{ mL} / 0.5 \text{ mL} / 5 \text{ g} = 0.08 \text{ mg/kg}$

### B-2. 残留物実態濃度に基づく海外 MRL への適合度の検証

厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課が収集した、食品における農薬残留物検査結果(2013 年～2017 年実施分)から国内で生産された農産品等のデータを抽出し、諸外国が設定する MRL の値と比較した。諸外国が設定する MRL の値は、農林水産省が実施した「輸出環境整備推進事業(主要国・地域の残留農薬基準値調査事業)」報告書、並びに諸外国における残留農薬基準値に関する情報の品目別残留農薬基準値\*から引用した。農林水産省の調査事業では、香港、台湾、韓国、中国、シンガポール、マレーシア、インドネシア、タイ、ベトナム、米国、カナダ、オーストラリア、

ニュージーランド、ロシア、アラブ首長国連邦(UAE)、サウジアラビア、欧州連合(EU)、及び国際政府間組織である Codex 委員会が調査対象とされていた。

諸外国による食品規格の策定においても、MRL が設定されることの他に、不検出であることが求められる場合が確認された。しかし、不検出であることを分析により担保するために必要な分析法の検出下限値が不明であったため、各種農産品と当該農薬との組み合わせを精査し、MRL として  $0.01 \text{ mg/kg}$  以上の値が発見された場合には  $0.005 \text{ mg/kg}$ 、 $0.01 \text{ mg/kg}$  未満の値が発見された場合にはその  $1/2$  の値を検出下限値と想定し解析を進めた。一方の国内で生産された農産品等のデータについては、ND(検出せず)として報告されている場合には、合わせて報告された検出下限値の  $1/2$  を取得された農薬残留物濃度として解析に使用した。

本研究では、わが国からの代表的な輸出農産品になる可能性があると考えた米、茶、いちごを対象とした。これら 3 種の農産品に対して実施された検査において取得された農薬残留物データと諸外国が設定する MRL の値を比較した。比較に使用したデータ数は、米について 91,045 件、茶について 11,418 件、いちごについて 63,768 件であった。

\*([https://www.maff.go.jp/j/shokusan/export/zannou\\_kisei.html](https://www.maff.go.jp/j/shokusan/export/zannou_kisei.html))

### C. D. 結果及び考察

## CD-1. QuEChERS 法の厳密な性能評価

### CD-1-1. 結果

#### ①基本分析法の構築

別添 1 並びに別添 2 に示したとおり、わが国において公的に示されている農産品中のエトフェンプロックス及びジノテフランを対象とする分析法は、抽出に使用する溶媒がアセトンとアセトニトリルに異なっている。また、測定系は HPLC-UV を基本としている。本研究における公的に示された分析法の役割は、QuEChERS 法の性能を評価するための基準を与えることである。そのため、測定系には、QuEChERS 法と共通させるために LC-MS/MS を使用することとした。さらに、エトフェンプロックスとジノテフランの抽出に同一溶媒を使用することで、両化合物を一斉分析可能な基本分析法の構築について検討した。

本報告書の方法 B-1-4-2-1 に示したエトフェンプロックスとジノテフランの基本分析法は、アセトンとアセトニトリルのいずれを抽出溶媒として使用するかの点において異なっている。エトフェンプロックス基本分析法ではアセトンを使用し、ジノテフラン基本分析法ではアセトニトリルを使用する。抽出に用いるこれら 2 つの溶媒による分析値への影響を明らかにすることを通じて、基本分析法を統一可能かについて検討した。具体的には 2 つの溶媒のそれぞれを用いて、玄米インカード試料を対象にエトフェンプロックスとジノテフランの併行分析(n=6)を行い、得られた分析値を比較した。エトフェンプロックスの

分析結果を表 3 に、ジノテフランの分析結果を表 4 に示す。

玄米インカード試料に含まれるエトフェンプロックス並びにジノテフランの真の量は不明であるため、真度については考察しない。異なる溶媒を用いて得られる分析値を比較すると、エトフェンプロックス分析値の平均値は、アセトンを用いた場合に 0.177 mg/kg であり、アセトニトリルを用いた場合に 0.174 mg/kg であった。同様にジノテフラン分析値の平均値を比較すると、アセトンを用いた場合に 0.322 mg/kg であり、アセトニトリルを用いた場合に 0.318 mg/kg であった。溶媒ごとに得られた分析値を一群として検定 (unpaired t-test) した結果、有意差は認められなかった(両側 95%信頼水準)。以上の結果に基づき、玄米中のエトフェンプロックスとジノテフランは、アセトンとアセトニトリルいずれの溶媒を用いても分析可能であり、有意差のない分析値が得られると考えた。しかし、アセトニトリルを用いた場合にアセトンを用いた場合に比べて、得られる分析値のばらつきが、2 つの分析対象化合物に共通してわずかに大きくなった。また、単一の農薬残留物を対象とした分析法における抽出には、一般的にアセトンが用いられる。以上を考慮し、抽出溶媒にはアセトンを選択し、QuEChERS 法と比較するための基本分析法とした。基本分析法のフローを図 5 に示す。なお、表 3 及び表 4 により示された併行精度(エトフェンプロックスの場合に 2.6%、ジノテフランの場合に

2.2%)は、公的な検査等に用いられる分析法に一般的に要求される性能を満たしている。本研究においては再現条件下での分析は計画されていないため、再現精度を証明していないが、上記の推定された併行精度からは、再現精度の要求も十分に満たすことが予想される。

## ②QuEChERS法における振とう時間

本研究において使用した QuEChERS 法は、QuEChERS 法と呼称される多様性のある分析法の一群の中で、より標準的な内容であるため、2008 年に発表された EU 法：EN 15662:2008 (Foods of plant origin-Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE- QuEChERS-method)を基に構築した。EU 法では、分析試料に適宜水を加え、アセトニトリルを加えた後の振とう時間は 1 分間とされている。しかし、試料から残留物が容易に抽出されない場合には、振とう時間を 20 分程度まで延長するとの記載もある。そこで、振とう時間が分析値に与える影響について検討した。

玄米インカード試料にアセトンを加え、振とう時間を 1 分間、10 分間、そして 20 分間として抽出を行い、その後分析法に従い操作して分析値を得た(n=2)。表 5 に示した結果の通り、エトフェンプロックス及びジノテフランともに、振とう時間が長いほど分析値が大きくなるといった変化や違いは認められなかった。この結果を踏ま

え、振とう時間による分析値への明らかな影響はないと判断し、本研究において使用する QuEChERS 法においては、振とう時間を 1 分間とすることとした。QuEChERS 法のフローを、基本分析法のフローとともに図 3 に示す。また、基本分析法と QuEChERS 法のそれぞれにより得られたエトフェンプロックスとジノテフランのクロマトグラムの一例を図 4 及び図 5 に示す。

## ③管理用試料の分析

玄米インカード試料の分析時に、分析値の品質保証を目的として管理用試料を分析した。管理用試料は、B-1-3-1.に示した方法に従い調製した玄米コントロール試料を、基本分析法の場合には 10.0 g、QuEChERS 法の場合には 5.0 g 分取した後、濃度が 0.1 mg/kg になるようにエトフェンプロックス及びジノテフラン標準品を添加することで調製した。調製した添加試料をインカード試料と同一の分析条件下で、基本分析法、及び QuEChERS 法のそれぞれにより併行分析(n=6)した。得られた分析結果を、エトフェンプロックスとジノテフランごとにまとめ、表 6 及び表 7 に示す。

添加濃度は、わが国において設定されている玄米を対象としたエトフェンプロックスとジノテフランの MRL が、それぞれ 0.5 mg/kg と 2 mg/kg であること、及び基本分析法の構築検討時にインカード試料から得られた濃度(表 3 及び表 4)を考慮し、



それら濃度の分析時に異常があれば検出可能な濃度として設定した。

エトフェンプロックス分析値の平均値と RSD%は、基本分析法を用いた場合にはそれぞれ 0.11 mg/kg と 1.6%であり、QuEChERS 法を用いた場合にはそれぞれ 0.098 mg/kg と 4.0%であった。いずれの方法を用いた場合にも、回収率は 70-110%の範囲に含まれており、分析が正常に行われたことが確認された。QuEChERS 法に比べ基本分析法による回収率が一定して高かったが、その原因は不明である。

ジノテフラン分析値の平均値と RSD%は、基本分析法を用いた場合にはそれぞれ 0.095 mg/kg と 3.6%であり、QuEChERS 法を用いた場合にはそれぞれ 0.095 mg/kg と 5.7%であった。いずれの方法を用いた場合にも、回収率は 70-110%の範囲に含まれており、分析が正常に行われたことが確認された。

#### ④インカード試料の凍結保存安定性

管理用試料を、インカード試料と同一の条件(-20°C)で凍結保存し、0日目及び100日目に、基本分析法を用いて併行分析(n=2)した。表8に示した通り、エトフェンプロックス及びジノテフランともに、0日目と100日目に実施した併行分析の結果に、異常なばらつきは認められなかった。また0日目の分析値に対する100日目の分析値の割合(残存率%)を計算した結果、エトフェンプロックスとジノテフランのそれぞれについて98%及び99%であった。

これらの結果により、エトフェンプロックスとジノテフランは、凍結保存された試料において最低100日間は安定であることが確認された。

#### ⑤インカード試料の分析通じたQuEChERS法の性能評価

まず基本分析法を用いて玄米インカード試料を分析し、その結果に基づき農薬残留物濃度の値付けをした。次いで、QuEChERS法により得た分析値と値付けした値とを比較することで、QuEChERS法の性能評価を試みた。なお、本分析は試料調製後96日間凍結保存された試料を用いて行われており、先に示された凍結保存安定性の結果から、試料におけるエトフェンプロックス及びジノテフランの安定性への懸念はない。

玄米インカード試料を基本分析法、及びQuEChERS法のそれぞれにより併行分析(n=6)した。得られた分析結果を、エトフェンプロックスとジノテフランごとにまとめ表9及び表10に示す。

玄米インカード試料から得られたエトフェンプロックスの分析値は、基本分析法を用いた場合には0.187 mg/kg～0.201 mg/kgであり平均値は0.19 mg/kg、QuEChERS法を用いた場合には0.161 mg/kg～0.170 mg/kgであり平均値は0.16 mg/kgであった。QuEChERS法を用いて得られた分析値は、基本分析法を用いて値付けされた値に比べて低く、unpaired t-testを用いた検定により、95%信頼水準で有意差が認められた(P<0.01)。先に述べたとおり、

基本分析法を用いた管理用試料の分析において回収率が高めの値となったことから、それら回収率の値を用いてインカード試料から得られた分析値を補正した。基本分析法と QuEChERS 法により得られた分析値の補正值は、それぞれ 0.176 mg/kg～0.189 mg/kg(平均値; 0.181 mg/kg)、0.164 mg/kg～0.173 mg/kg(平均値; 0.167 mg/kg)となった。これら補正值についても同様に検定した結果、有意差が認められた。基本分析法により値付けされた値を真値とすると、QuEChERS 法の真度は 85%と推定され、わが国の検査において使用される分析法の性能規準を示した「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(平成 19 年 11 月 15 日付け食安発第 1115001 号; 一部改正 平成 22 年 12 月 24 日食安発 1224 第 1 号)に示された目標値(70～120%)を満たすことから、“妥当”な分析法であるということはあるが、QuEChERS 法を用いた場合の分析値が基本分析法に比べて低値になる確率は極めて高いと考えられる。

玄米インカード試料から得られたジノテフランの分析値は、基本分析法を用いた場合には 0.321 mg/kg～0.349 mg/kg であり平均値は 0.34 mg/kg、QuEChERS 法を用いた場合には 0.323 mg/kg～0.347 mg/kg であり平均値は 0.34 mg/kg であった。これらの分析値を対象に、unpaired t-test を用いた検定を行った結果、95%信頼水準で有意差は認められなかった。以上の結果から、エトフェンプロックスの場合とは異なり、

ジノテフランに関しては、QuEChERS 法により、基本分析法と有意差のない分析値を得ることが可能であることが強く示唆された。

エトフェンプロックス及びジノテフランのオクタノール・水分配係数(logPow)はそれぞれ 6.9 及び -0.549、水溶解度は 0.0225 mg/L(20～25℃)及び  $3.98 \times 10^4$  mg/L(20～25℃)であり、エトフェンプロックスは脂溶性が高く、ジノテフランは水溶性が高い。本研究によって得られた結果を基に考察すれば、玄米の分析試料に含まれる脂溶性が高い農薬残留物を対象に QuEChERS 法により得られる分析値は、これまでに公的に示されてきた一般的な分析法により得られる分析値に比べ、一定の割合で低くなると推測することも可能である。しかし、あくまで、単一試料に含まれる 2 種類の残留物を分析した結果を比較し考察したに過ぎず、明確な結論として一般化することはできない。QuEChERS 法の適用にあたり、分析用試料の粒径をより小さくする調製の方法や、水を試料に添加した後の静置時間の延長についての検討など、技術的な課題もある。以上を踏まえ、QuEChERS 法の性能に影響を与える要素の特定や、多様な農産品と農薬残留物との組合せについて性能を評価するためのさらなる検討が必要である。

## CD-2. 残留物実態濃度に基づく海外 MRL への適合度の検証

本研究では、わが国からの代表的な輸出

農産品になる可能性があると考えた米、茶、いちごを対象とし、これら3種の農産品に対して実施された検査において取得された農薬残留物データと諸外国が設定するMRLの値を比較した。

解析の結果、諸外国には米を対象に286種の農薬のMRLが設定されており、そのうち2013年～2017年にかけて実施された検査によって、国内産の米を対象に残留物データが取得された農薬は233種、取得されなかった農薬は53種であることがわかった。わが国においては、米(玄米)と精米を区別してMRLが設定されている。これに対し、諸外国におけるMRL設定では、玄米と精米を区別する場合と、米(rice)として区別しない場合とがあった。そこで、このMRL設定の違いを考慮するために、国内産の米から取得された農薬残留物データを玄米と精米とに区別した上で、諸外国が設定するMRLと比較した。玄米から取得された農薬残留物データと玄米を対象とするMRL、精米から取得された農薬残留物データと精米を対象とするMRL、両者を合わせた農薬残留物データと米(玄米・精米の区別なし)を対象とするMRLとを、それぞれ比較した。

諸外国には茶を対象に205種の農薬のMRLが設定されており、そのうち検査によって残留物データが取得された農薬は135種、取得されなかった農薬は70種であることがわかった。いちごに関しては、287種の農薬にMRLの設定があり、そのうち検査によって残留物データが取得さ

れた農薬は235種、取得されなかった農薬は52種であることがわかった。

米、茶、いちごから検出された農薬残留物の濃度が、諸外国が設定するMRLの値を超過した件数が10以上となった農薬を表11に示す。

精米からは、諸外国が設定するMRLの値を超過する濃度で農薬残留物は検出されず、超過する濃度の残留物は全て玄米から検出された。残留物濃度がMRLの値を超過した農薬について、わが国が設定しているMRLを調査すると、その範囲は0.5 mg/kg～3 mg/kgであり、いわゆる一律基準とされる0.01 mg/kgに比べると最大で300倍に相当する高い値であった(表11)。一方、該当する農薬について諸外国が設定しているMRLを参照すると、例えばCodex委員会はMRL(Codex MRL; CXL)として、エトフェンプロックスに0.01 mg/kg、クロチアニジンに0.5 mg/kg、ジノテフランに8 mg/kgを設定している。CXLに準じてMRLを設定している国がある一方で、CXLの値に比べてもより低い値をMRLとして設定している、あるいは不検出を求めている国もある。CXLが8 mg/kgに設定されているジノテフランを例とすれば、調査対象とする国により、MRLとして0.1 mg/kg～1 mg/kgの値が設定されている他に、不検出が求められている場合もあることがわかった。他の農薬について、さらに低濃度のMRLが設定されている場合もある。そのような場合には、わが国において設定されているMRLの値との乖離はさら

に大きくなり、食品衛生法に基づく検査では適合と判定されるものの、諸外国における検査では不適合となる可能性が高いと考えられる。

茶についても、解析結果を同様に考察する。わが国において各種農薬を対象に設定されている MRL の値は、10 mg/kg～80 mg/kg の範囲にある。表 11 に示した農薬のうち、エトキサゾール、トルフェンピラド、フルフェノクスロンの CXL は、それぞれ 15 mg/kg、30 mg/kg、20 mg/kg に設定されており、調査対象とした国の中には、これら CXL の値をそのまま採用している国も、一律基準に相当する濃度を MRL の値として設定している国もある。CXL が設定されていない農薬については一般に、さらに低濃度の MRL が設定されている。検出された残留物の濃度が諸外国において設定されている MRL の値を超過する件数が多いことが示されたが、これはわが国において、高値の MRL が設定されている農薬が多数あることを反映した結果であると考えられる。

いちごを対象とした解析により、非常に多くの農薬残留物データが諸外国において設定されている MRL の値を超過することがわかった。MRL の値の超過件数が 10 件以上となった農薬は 16 種確認されたが、わが国においてそれら農薬を対象に設定されている MRL の値は 0.4 mg/kg から 10 mg/kg であった。諸外国が設定している MRL の例として CXL のいくつかを挙げると、アセタミプリドには 0.5 mg/kg、イ

ミダクロプリドには 0.5 mg/kg、ジフェノコナゾールには 2 mg/kg、チアクロプリドには 1 mg/kg、フェナリモルには 1 mg/kg が設定されている。その他諸外国では、MRL の値を 0.01 mg/kg とする場合あるいは不検出を求める場合も多い。いちごに関しては、傷まないようにするためにも複数の種類の農薬を適正に使用し栽培した結果として妥当な残留物濃度が、MRL として設定されている値を超過してしまう可能性が高いと考えられる。

上記の結果と考察は、輸出することを想定していないあくまで国内流通している国産品の検査を通じて取得された農薬残留物データと諸外国が設定する MRL の値との比較に基づく。国内流通している農産品における残留物濃度を国内基準値すなわち、わが国において設定されている MRL の値と比較し、適合を判定することを目的とする検査において取得された農薬残留物データであるため、取得に関する分析の保証も検査の目的に相応している。そのため、わが国における MRL が高値に設定されている場合には、分析法の検出下限値もそれに応じて高値でしか保証されていない場合がある。そのような場合、不検出と報告されていたとしてもそれは保証された高値の検出下限を指標としており、実際の濃度は不明である。そのため、諸外国が設定する MRL の値との比較においては、検出下限値として保証されている濃度に応じて、判定が変化する可能性がある。例えば、わが国においては、玄米を対

象とした $\gamma$ -BHCのMRLとして0.3 mg/kgが設定されているため、一律基準である0.01 mg/kgよりも高い濃度でしか検出下限を保証していない分析法により検査される場合もある。しかし、諸外国では、MRLの値に0.01 mg/kgが設定されることや、不検出が求められることもある。当然のことであるが、これら規制上の指標設定に対し、上記の検出下限値しか保証しない分析法により取得した結果に基づき適合

判定することは適当ではない。

## **E. 研究発表**

### **1. 論文発表**

特になし

### **2. 学会発表**

渡邊敬浩, 松田りえ子, 畝山智香子: 国内農薬残留検査データと海外 MRL の比較, 第 43 回残留農薬分析研究会, 2021, 11.06

表-1 検量線用混合標準溶液の調製

名称	調製濃度 (mg/L)	使用溶液	使用量 (mL)	定容量 (mL)
標準溶液A	1	希釈用標準溶液 20 mg/L	1	20
標準溶液B	0.05	標準溶液A	1	20
標準溶液C	0.01	標準溶液B	4	20
標準溶液D	0.006	標準溶液C	6	10
標準溶液E	0.004	標準溶液C	4	10
標準溶液F	0.001	標準溶液C	1	10
標準溶液G	0.0008	標準溶液E	5	25
標準溶液H	0.0006	標準溶液D	1	10
標準溶液I	0.0004	標準溶液E	1	10

[調製溶媒、A:アセトン、B~J:メタノール]

標準溶液 F~J を検量線用混合標準溶液として使用した。

表2 イオン化法、モニターイオン、Q1 Pre Bias、コリジョンエネルギー(CE)及び保持時間の目安

	イオン化法	プレカーサーイオン ( <i>m/z</i> )	プロダクトイオン ( <i>m/z</i> )	Q1 Pre Bias (V)	CE (eV)	保持時間の目安(分)
エトフェンプロックス	ESI (+)	394	177	-14	-16	11.1
ジノテフラン	ESI (+)	203	113	-14	-12	4.6

表3 基本分析法に用いる溶媒による分析値への影響 (エトフェンプロックス)

Repeat	分析値 (mg/kg)	
	アセトン	アセトニトリル
1	0.1814	0.1733
2	0.1796	0.1696
3	0.1751	0.1618
4	0.1732	0.1689
5	0.1718	0.1725
6	0.1827	0.1951
Mean	0.177	0.174
SD	0.0045	0.011
RSD%	2.6	6.5

表4 基本分析法に用いる溶媒による分析値への影響 (ジノテフラン)

Repeat	分析値 (mg/kg)	
	アセトン	アセトニトリル
1	0.3278	0.3320
2	0.3286	0.3126
3	0.3275	0.3156
4	0.3158	0.3104
5	0.3126	0.3062
6	0.3170	0.3334
Mean	0.322	0.318
SD	0.0072	0.012
RSD%	2.2	3.6

表 5 QuEChERS 法における振とう時間の分析値への影響

振とう時間	分析値 (mg/kg)		
	エトフェンプロックス	ジノテフラン	
1分間	Repeat1	0.166	0.333
	Repeat2	0.165	0.322
	平均	0.17	0.33
10分間	Repeat1	0.162	0.320
	Repeat2	0.159	0.323
	平均	0.16	0.32
20分間	Repeat1	0.165	0.336
	Repeat2	0.161	0.338
	平均	0.16	0.34

表 6 管理用試料の併行分析結果 (エトフェンプロックス)

	分析結果			
	基本分析法		QuEChERS法	
	分析値 mg/kg	回収率 %	分析値 mg/kg	回収率 %
Repeat 1	0.1063	106	0.1004	100
Repeat 2	0.1072	107	0.09559	96
Repeat 3	0.1057	106	0.09608	96
Repeat 4	0.1061	106	0.09641	96
Repeat 5	0.1039	104	0.09625	96
Repeat 6	0.1090	109	0.1057	106
Mean	0.11		0.10	
SD	0.0017		0.0040	
RSD(%)	1.6		4.0	



表7 管理用試料の併行分析結果 (ジノテフラン)

	分析結果			
	基本分析法		QuEChERS法	
	分析値 mg/kg	回収率 %	分析値 mg/kg	回収率 %
Repeat 1	0.09762	98	0.0997	100
Repeat 2	0.09234	92	0.08888	89
Repeat 3	0.08918	89	0.09198	92
Repeat 4	0.09592	96	0.09444	94
Repeat 5	0.09484	95	0.09252	93
Repeat 6	0.09804	98	0.1037	104
Mean	0.09		0.10	
SD	0.0034		0.0055	
RSD(%)	3.6		5.8	

表8 凍結保存安定性

保存日数	Repeat	エトフェンプロックス		ジノテフラン	
		分析値(mg/kg)	残存率(%)	分析値(mg/kg)	残存率(%)
0日	1	0.1030		0.09262	
	2	0.1031		0.09314	
	Mean	0.1031		0.09288	
100日	1	0.1016		0.09170	
	2	0.1010		0.09224	
	Mean	0.1013	98	0.09197	99

表9 インカード試料の併行分析結果 (エトフェンプロックス)

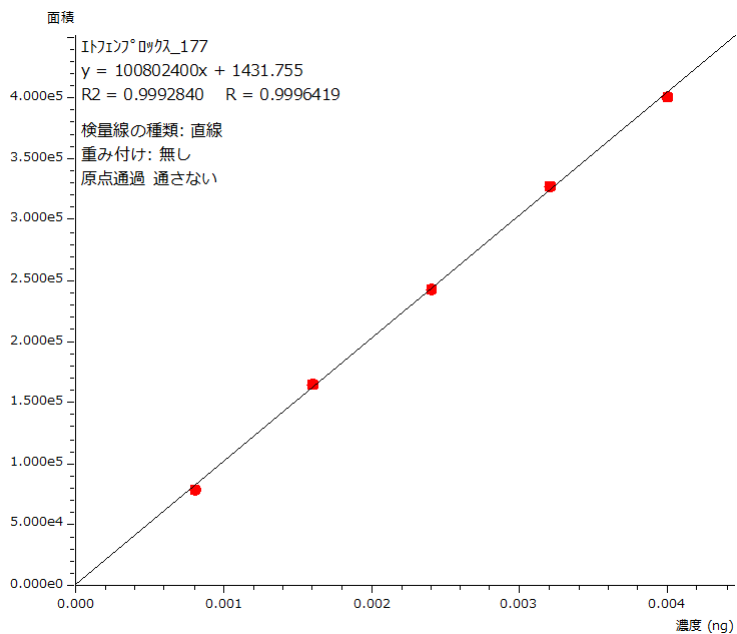
Repeat	分析結果 mg/kg	
	基本分析法	QuEChERS法
1	0.1865	0.1606
2	0.2008	0.1655
3	0.1913	0.1620
4	0.1992	0.1615
5	0.1871	0.1612
6	0.1874	0.1695
Mean	0.19	0.16
SD	0.0064	0.0035
RSD(%)	3.3	2.1

表10 インカード試料の併行分析結果 (ジノテフラン)

Repeat	分析結果 mg/kg	
	基本分析法	QuEChERS法
1	0.3441	0.3420
2	0.3212	0.3364
3	0.3410	0.3228
4	0.3264	0.3348
5	0.3485	0.3383
6	0.3335	0.3466
Mean	0.34	0.34
SD	0.0106	0.0081
RSD(%)	3.2	2.4

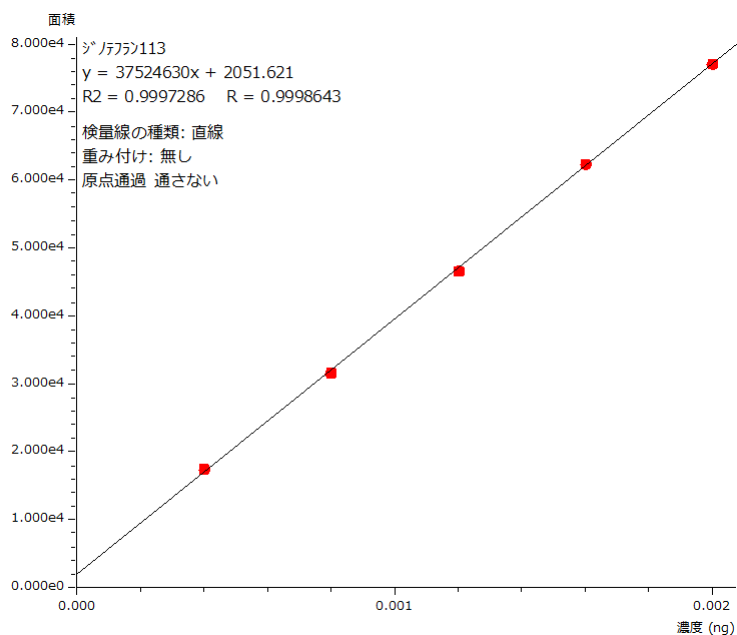
表 11 検査により検出された農薬残留物濃度が、諸外国が設定する MRL の値を超過した件数が 10 以上となった農薬とわが国の MRL

米	わが国の MRL (mg/kg)	茶	わが国の MRL (mg/kg)	いちご	わが国の MRL (mg/kg)
エトフェンプロックス	0.5	エトキサゾール	15	アセタミプリド	3
クロチアニジン	1	クロルフェナピル	40	イミダクロプリド	0.4
ジノテフラン	2	シラフルオフエン	80	エトキサゾール	0.5
トリシクラゾール	3	テブコナゾール	50	クレソキシムメチル	5
フェリムゾン	2	トルフェンピラド	20	ジフェノコナゾール	2
フサライド	1	ピリプロキシフェン	15	シフルフェナミド	0.7
フルトラニル	2	ピリミホスメチル	10	シメコナゾール	3
		フルフェノクスロン	15	チアクロプリド	5
		メトキシフェノジド	20	テトラジホン	1
		ルフェヌロン	10	テブフェンピラド	1
				トリフルミゾール	1
				フェナリモル	1
				フルフェノクスロン	0.5
				プロシミドン	5
				メバニピリム	10
				ルフェヌロン	1



濃度 (重量 : ng)	面積値
0.004	401018
0.0032	327781
0.0024	243449
0.0016	165684
0.0008	78857

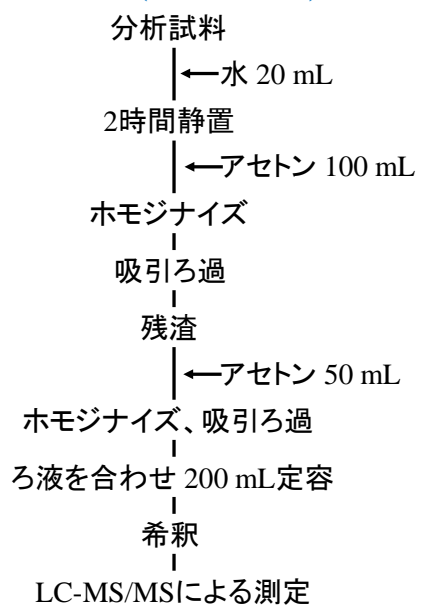
図 1 エトフェンプロックス検量線の一例



濃度 (重量 : ng)	面積値
0.002	77218
0.0016	62320
0.0012	46734
0.0008	31611
0.0004	17523

図 2 ジノテフラン検量線の一例

### 公示分析法 (基本分析法)



### QuEChERS法

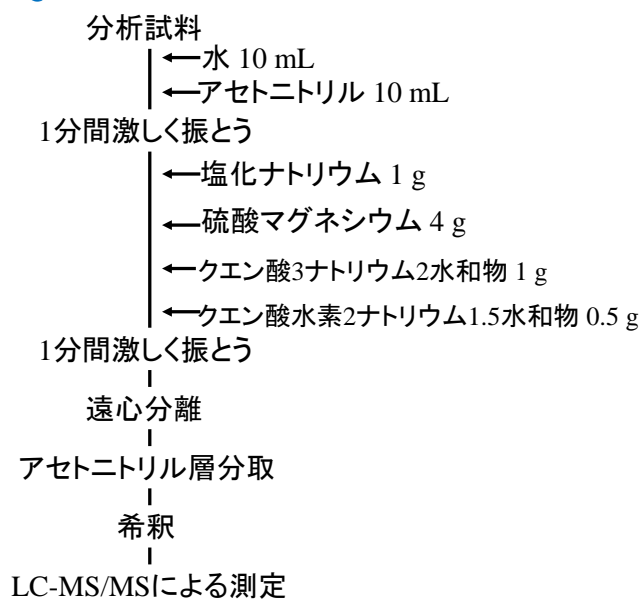
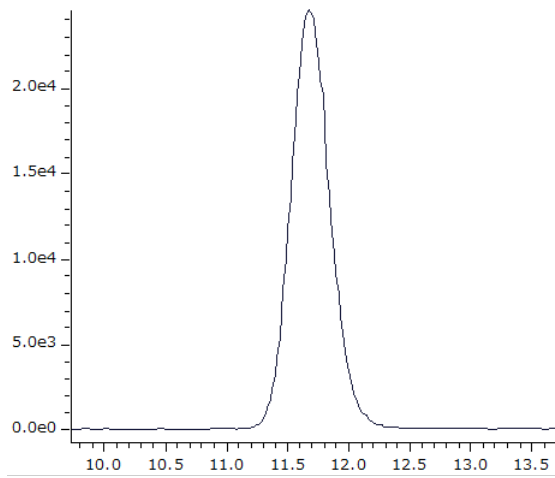


図3 本研究において比較した2つの分析法

標準溶液 0.001 mg/L

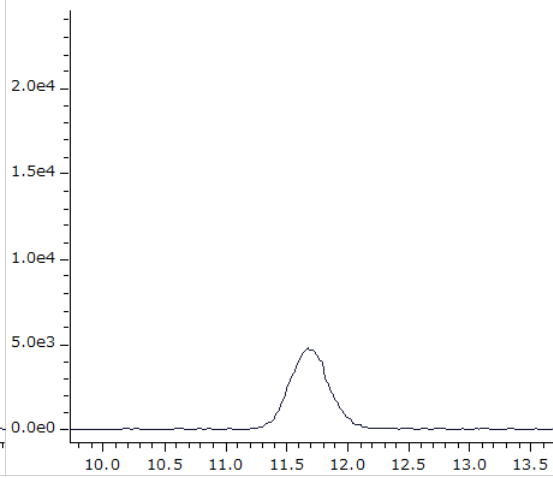
Q 394.25>177.35 (+)



標準溶液 0.0002 mg/L

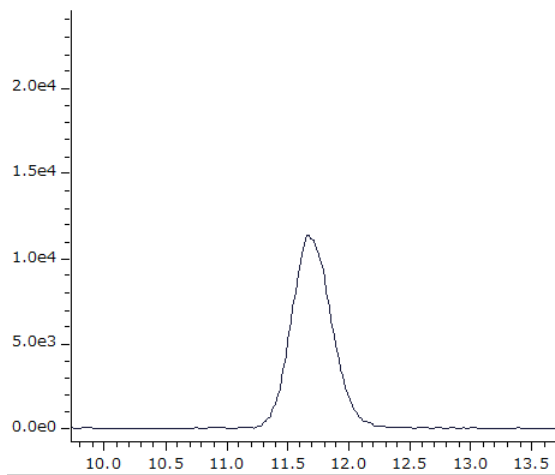
2.46e4 Q 394.25>177.35 (+)

4.77e3



基本分析法

Q 394.25>177.35 (+)



QuEChERS 法

1.14e4 Q 394.25>177.35 (+)

1.02e4

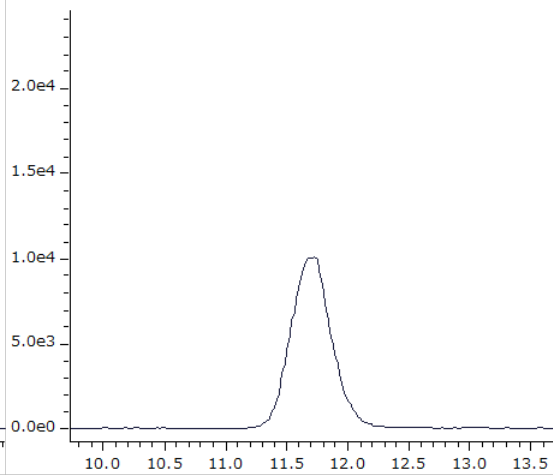
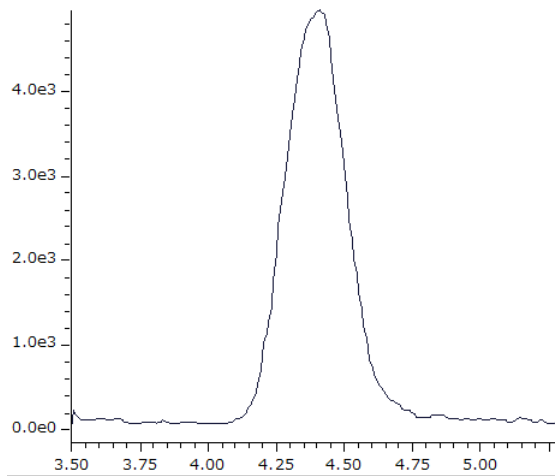


図4 エトフェンプロックスのクロマトグラムの一例

標準溶液 0.001 mg/L

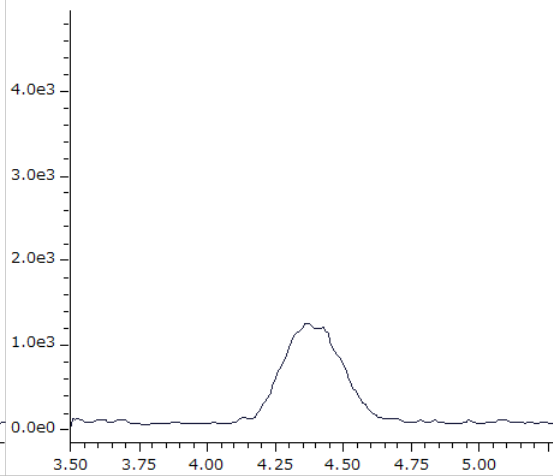
Q 203.11>113.25 (+)



標準溶液 0.0002 mg/L

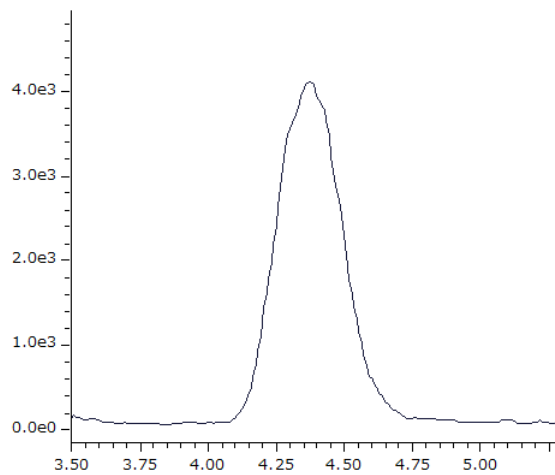
4.96e3 Q 203.11>113.25 (+)

1.26e3



基本分析法

Q 203.11>113.25 (+)



QuEChERS 法

4.12e3 Q 203.11>113.25 (+)

4.22e3

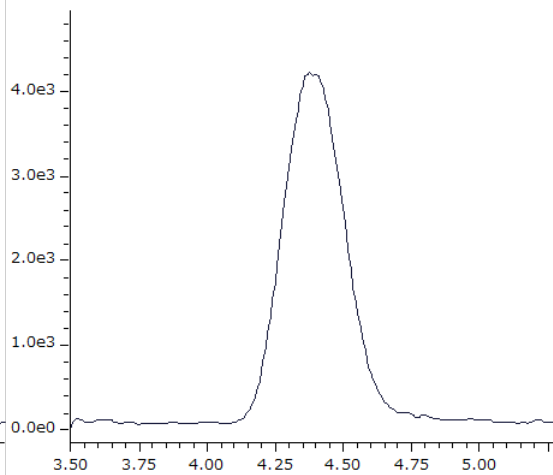


図5 ジノテフランのクロマトグラムの一例

## エトフェンプロックス試験法

### 1. 分析対象化合物

エトフェンプロックス

### 2. 装置

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフを用いる。

### 3. 試薬、試液

総則の 3 に示すものを用いる。

### 4. 標準品

エトフェンプロックス 本品はエトフェンプロックス 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 36~38° である。

### 5. 試験溶液の調製

#### a 抽出法

##### (1) 穀類、豆類及び種実類の場合

検体を 420  $\mu\text{m}$  の標準網ふるいを通るように粉碎した後、その 10.0 g を量り採り、水 20 mL を加え 2 時間放置する。

これにアセトン 100 mL を加え 3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採りアセトン 50 mL を加え、3 分間細砕した後、上記と同様に操作してろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で約 30ml に濃縮する。これをあらかじめ 10%塩化ナトリウム溶液 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗に移す。n-ヘキサン 100ml を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後静置し、n-ヘキサン層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に n-ヘキサン 50 mL を加え、上記と同様に操作して n-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで n-ヘキサン 20 mL を用いて三角フラスコを洗いその洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で n-ヘキサンを除去する。この残留物に n-ヘキサン 30 mL を加え 100 mL の分液漏斗に移す。これに n-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後静置し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。n-ヘキサン層に n-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、上記と同様の操作を 2 回繰り返し、アセトニトリル層をその減圧濃縮器中に合わせ 40°C以下でアセトニトリルを除去する。この残留物に n-ヘキサン 5 mL を加えて溶かす。

##### (2) 果実、野菜、抹茶及びホップの場合

果実及び野菜の場合は、検体約 1 kg を精密に量り、必要に応じ適量の水を量つて加え細



切均一化した後、検体 20.0 g に相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、検体 5.00 g を量り採り、水 20 mL を加えて 2 時間放置する。

ホップの場合は細切均一化した後、検体 5.00 g を量り採り、水 20 mL を加えて 2 時間放置する。

これにアセトン 100 mL を加え 3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン 50 mL を加え、3 分間細砕した後、上記と同様に操作してろ液をその減圧濃縮器中に合わせ 40°C 以下で約 30 mL に濃縮する。これをあらかじめ 10% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗に移す。n-ヘキサン 100 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後静置し、n-ヘキサン層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に n-ヘキサン 50 mL を加え上記と同様に操作して、n-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで n-ヘキサン 20 mL を用いて三角フラスコを洗いその洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ 40°C 以下で n-ヘキサンを除去する。この残留物に n-ヘキサン 5 mL を加えて溶かす。

### (3) 抹茶以外の茶の場合

検体 9.00 g を 100°C の水 540 mL に浸し、室温で 5 分間放置した後ろ過し、冷後ろ液 360 mL を 500 mL の三角フラスコに移す。これにアセトン 100 mL 及び飽和酢酸鉛溶液 2 mL を加え室温で 1 時間放置した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ液を 1,000 mL の分液漏斗に移す。次いでアセトン 50 mL を用いてろ紙上の残留物を洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。これに塩化ナトリウム 30 g 及び n-ヘキサン 100 mL を加え 5 分間振り混ぜた後静置し、n-ヘキサン層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に n-ヘキサン 100 mL を加え、上記と同様に操作して、n-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで n-ヘキサン 20 mL を用いて三角フラスコを洗いその洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C 以下で n-ヘキサンを除去する。この残留物に n-ヘキサン 5 mL を加えて溶かす。

### b 精製法

内径 15 mm、長さ 300 mm のクロマトグラフ管に、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム 5 g を n-ヘキサンに懸濁したもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約 5 g を入れカラムの上端に少量の n-ヘキサンが残る程度まで n-ヘキサンを流出させる。このカラムに a 抽出法で得られた溶液を注入した後、エーテル及び n-ヘキサンの混液(2 : 98)30 mL を注入し流出液は捨てる。次いでエーテル及び n-ヘキサンの混液(5 : 95)50 mL を注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り 40°C 以下でエーテル及び n-ヘキサンを除去する。この残留物にアセトニトリルを加えて溶かし正確に 2 mL とした後、孔径 0.5 µm のメンブランフィルターを用いてろ過しこれを試験溶液とする。

## 6. 操作法

### a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 5  $\mu\text{m}$ )を用いる。

クロマトグラフ管 内径 4.6 mm、長さ 150 mm のステンレス管を用いる。

カラム温度 40°C

検出器 波長 225 nm で操作する。

移動相 アセトニトリル及び水の混液(3 : 1)を用いる。エトフェンプロックスが約 10 分で流出する流速に調整する。

### b 定量試験

a 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

## 7. 定量限界

0.02 mg/kg(茶にあっては 0.1 mg/kg)

## 8. 留意事項

なし

## 9. 参考文献

なし

## 10. 類型

A

## ジノテフラン試験法(農産物)

### 1. 分析対象化合物

ジノテフラン

### 2. 装置

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ(HPLC-UV)

液体クロマトグラフ・質量分析計(LC/MS)

### 3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

ジノテフラン標準品 本品はジノテフラン 99%以上を含み、融点は 107.5°Cである。

### 4. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合は試料 10.0 g に水 20 mL を加え、2 時間放置する。

果実、野菜及びハーブの場合は試料 20.0 g を量り採る。

茶の場合は試料 5.00 g に水 20 mL を加え、2 時間放置する。

これにアセトニトリル 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトニトリル 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトニトリルを加え正確に 200 mL とする。この 50 mL(茶の場合は 10 mL)を 40°C以下で約 5 mL まで濃縮する。

#### 2) 精製

##### (1) 多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィー

1)で得られた溶液に水 10 mL を加え、多孔性ケイソウ土カラム(20 mL 保持用)に流し入れ、10 分間放置する。n-ヘキサン 100 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで酢酸エチル 200 mL を注入し、溶出液を 40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル 5 mL を加えて溶かす。

##### (2) グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム(500 mg)に酢酸エチル 5 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに(1)で得られた溶液を注入した後、酢酸エチル 15 mL を注入する。全溶出液を 40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル 5 mL を加えて溶かす。

##### (3) 中性アルミナカラムクロマトグラフィー

中性アルミナミニカラム(1,710 mg)に酢酸エチル 5 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに(2)で得られた溶液を注入した後、酢酸エチル 15 mL を注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン 20 mL を注入し、溶出液を 40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を水に溶解し、穀類、豆類、種実類及び茶の場合は正確に 1 mL、果実、野菜及びハーブの場合は正確に 2 mL としたものを試験溶液とする。

## 5. 検量線の作成

ジノテフラン標準品の 0.025～0.5 mg/L 水溶液を数点調製し、それぞれ 40  $\mu$ L を HPLC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

## 6. 定量

試験溶液 40  $\mu$ L を HPLC に注入し、5 の検量線でジノテフランの含量を求める。

## 7. 確認試験

LC/MS により確認する。

## 8. 測定条件

### 1) HPLC

検出器：UV(波長 270 nm)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 3～5  $\mu$ m)、内径 4.6 mm、長さ 150～250 mm

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

移動相：アセトニトリル及び水(1：9)混液

保持時間の目安：8 分

### 2) LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 6～5  $\mu$ m)、内径 2～2.1 mm、長さ 150 mm

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

移動相：アセトニトリル及び 2 mmol/L 酢酸アンモニウム(1：9)混液

イオン化モード：ESI(+)

主なイオン( $m/z$ )：203

注入量：2  $\mu$ L

保持時間の目安：5 分

## 9. 定量限界

0.01 mg/kg(茶の場合は 0.1 mg/kg)

## 10. 留意事項

### 1) 試験法の概要

ジノテフランを試料からアセトニトリルで抽出し、多孔性ケイソウ土カラム、グラファイトカーボンミニカラム及び中性アルミナミニカラムにより精製した後、HPLC-UV で測定、LC/MS で確認する方法である。

### 2) 注意点

(1)抽出時、豆類等の試料が十分に分散しない場合には、水で膨潤させた試料にケイソウ土を加えた後、アセトニトリルを加えてホモジナイズし、抽出効率の向上を図る。

(2)夾雑成分の多い試料では HPLC 分析において、ジノテフラン溶出後に移動相を十分に流しカラム内に残存する夾雑物を溶出させた後に、次の分析を行う。

11. 参考文献

環境省告示第 35 号「ジノテフラン試験法」(平成 14 年 4 月 24 日)

12. 類型 C

## 令和2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

輸出先国のリスク管理に対応した残留農薬データ等の補完に関する研究

### 研究分担報告書

輸出可能性が高い農産品における残留物濃度の加工による変化に関する研究

研究分担者 荒川 史博

日本ハム株式会社 中央研究所

#### 研究要旨

農林水産物・食品の輸出を推し進める中で、農薬の最大残留基準値（MRL）の設定は一国の課題ではなく、多くの国で受け入れられるよう適切な根拠をもとに設定されるべきである。農薬等を使用して栽培された作物由来の農産品を原料とする農産加工品を対象に、精密な暴露量の推定や MRL 設定の必要性を判断するためには、個々の農産品と農薬等との組み合わせごとに、残留物等の加工による変化や加工後の濃度を明らかにする必要がある。そのために実施される研究は、加工試験と呼ばれるが、世界規模で輸出入される主要な農産加工品でしか実施されていない。

本研究課題では、我が国からの輸出可能性が高く特有の農産加工品の原料ともなる農産品を対象とした加工試験を実施する上で必要な条件検討を実施し、農薬の有効成分やそれらの代謝産物並びに分解物の加工による挙動に関するデータ解析を行うために、課題1で作製した農薬を投与して栽培した結果得られる農薬残留物を含むインカード試料を原料として加工試験を行い、加工工程での残留物の挙動を明らかにすることを目的とした。

本年度は、エトフェンプロックス、ジノテフランを散布した稲からこめ油の製造、炊飯試験を行いこれら農薬の加工係数及び物質収支（マスバランス）の算出を行った。

#### 研究協力者

渡邊 敬浩

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

山田 友紀子

国立医薬品食品衛生研究所安全情報部

築野 卓夫

築野食品工業株式会社

山中 崇

築野食品工業株式会社

中村 歩

一般財団法人 日本食品分析センター

渡邊 文子

一般財団法人 日本食品分析センター

## A. 研究目的

わが国は 1981 年から 30 年連続して貿易黒字が続く貿易立国であったが、2011 年の東日本大震災発生を機に貿易赤字を記録するようになった。財務省の令和 2 年度貿易統計（令和 3 年 4 月 19 日）によると、輸出額は 69 兆 4873 億円、輸入額は 68 兆 1803 億円となっており、輸出から輸入を差し引いた貿易収支は 1 兆 3070 億の黒字になると推計されている。貿易収支は 3 年ぶりの黒字になったものの、輸出額は 2 年連続の減少となっている。農林水産物の輸出額は 0.9 兆円、輸入額は 8.9 兆円で、純輸入額が 8.0 兆円にもなり、世界一の農林水産物純輸入国となっている。このような状況を是正するために令和 2 年 4 月に施行された「農林水産物及び食品の促進に関する法律」では、輸出拡大のための課題の 1 つとして「輸出先国の食品安全等の規制への対応」が挙げられている。例えば、国内の農産品等の輸出先国において、該当する品目に農薬等の MRL が設定されていない場合や、設定されていたとしてもその値が我が国に比べ低い場合がこれにあたり、世界規模で輸出入される主要な農産加工品でしか、加工試験は実施されていないのが現状である。

そこで本分担研究では、我が国からの輸出可能性は高いが OECD のガイドラインに加工係数の記載がない農産品の加工係数を算出することを目的とした。昨年

度は我が国の主要農産品である米を原料としたこめ油の加工係数の算出についてパイロットスケールでの試験を実施した。本年度は、昨年度の検討を踏まえて工業的に製造したこめ油及び日本国民の摂取量が多い炊飯米の加工試験を実施し、加工係数とマスバランスの算出を行った。

## B. 研究方法

### こめ油の製造

本分担研究では、精密な暴露量推定に資する科学的データを得るために、研究課題 1 で作製した脂溶性のエトフェンプロックス、水溶性のジノテフラン 2 種の薬剤を散布したインカード試料を用いて、こめ油製造時の加工係数を算出する。本年度の産業的なこめ油の製造は、築野食品工業株式会社に委託した。

圃場から稲の収穫、脱穀、乾燥、脱ぷまでの工程は東京農業大学で実施した。上記工程でインカード試料として 28.88 kg の玄米を得た。得られた玄米はこめ油の製造委託先である築野食品工業株式会社に冷蔵便で送付した。もみ殻は日本ハム（株）中央研究所に冷蔵で輸送し、到着後は冷凍保管した。稲わらについては圃場から日本ハム株式会社に直接輸送し、分析開始まで冷凍で保管した。

インカード試料である玄米を精米度合い 10 % で精米し 3.12 kg の米糠を得た。得られた米糠に対して 5 倍量に相当する約 15 kg のヘキサンを加えて、数時間攪拌し

米原油が溶解したヘキサン層を分取した。残った糠に対して当初糠の3分の1量に相当する1 kgのヘキサンを加え、数時間攪拌後、米原油が溶解したヘキサン層を分取し、上記と合一した後にヘキサンを除去し、米原油を得た。得られた米原油は340 gであった。この米原油に温水を加え混合しガム質を除去する脱ガム工程、ヘキサンを加えロウ分を除去する脱ロウ工程、水酸化ナトリウム処理による脱酸工程、酸性白土の処理による脱色工程及び240℃で533 Pa以下の状態で2時間水蒸気処理を行う脱臭工程を経てこめ油を精製した。本試験報告では市場に流通するこめ油に相当する試料を脱臭油と定義した。こめ油の精製は得られた米原油を等量に分け、2試行で行った。こめ油の製造のフローを図1に示した。また、加工試験と同じ工程の市販こめ油を購入し、コントロール試料とした。

### 炊飯試験

炊飯時の白米の研ぎ方は様々な方法があり、調査の結果一様に定義された方法はなかった。従って、白米の研ぎ方により加工係数に違いが生じるか検証するため、本研究では株式会社神明及び福井精米株式会社が推奨する2種の方法で白米を研ぎ、家庭用の炊飯器で炊飯を行った。

株式会社神明の方法を以下に記す。炊飯釜に約480 g(3合)の米を入れ、水1 Lを加え2~3回手早くかき混ぜ、水を捨てた。この操作をさらに2回繰返した。最

後に水を約550 mL加え、30分間浸漬し、家庭用炊飯器の標準モードで炊飯を行った。

福井精米株式会社の方法を以下に記す。ザルに約480 g(3合)の米を広げ、米全体に行き渡るように水2 Lを流しながら米を洗った。その後炊飯釜に米を移し、水1 Lを加え、2~3回手早くかき混ぜ、水を捨てた。最後に、水を約550 mL加え、30分間浸漬し、家庭用炊飯器の標準モードで炊飯を行った。

2種の方法で炊飯した試料は、農薬試験の抽出に供する前に、1.15倍の水を加え米粒が確認できなくなる程度まで粉碎操作を行った。

### インカード試料の分析

農薬の分析は一般財団法人日本食品分析センターへ委託した。本研究で実施する試験方法の性能は、インカード試料栽培時に農薬散布区と非散布区の境界で栽培、収穫した玄米を試料(以下、額縁試料)として用いた。

### 分析対象化合物

分析対象化合物は、ジノテフラン、エトフェンプロックス及びその代謝物であるエトフェンプロックスカルボキシとした。

### 分析対象品目

稲わら、粃殻、玄米、糠、脱脂糠、米原油、脱ガム油、脱ロウ油、脱酸油、脱色油、脱臭油、白米及び炊飯米の13品目を分析対象とした(表1)。



## 標準品

分析には以下の標準品を使用した。

エトフェンプロックス (Etofenprox) 標準品：純度 99.9 % (林純薬工業製)

エトフェンプロックスカルボキシ (2-(4-ethoxyphenyl)-2-methoxypropyl-3-phenoxybenzene) 標準品 (以下、 $\alpha$ -CO)：純度 98.7 % (Dr.Ehrenstorfer 製)

ジノテフラン (Dinotefuran) 標準品：純度 99.8 % (富士フィルム和光純薬製)

## 試薬

アセトン、アセトニトリル、酢酸エチル、ジエチルエーテル、ヘキサンは関東化学株式会社製の残留農薬試験用、メタノールは関東化学株式会社製の高速液体クロマトグラフ用を使用した。塩化ナトリウム、酢酸アンモニウムは関東化学株式会社製の特級を使用した。InertSep C18 (1 g)、InertSep k-solute 5 mL 用はジーエルサイエンス株式会社製、Sep-pak Long Florisil (910 mg) は Waters corporation 製を使用した。

## 試液の調製方法

ジエチルエーテル/ヘキサン混液 (1:9) は、ジエチルエーテル 100 mL とヘキサン 900 mL を混合又は同割合で混合し、調製した。ヘキサン飽和アセトニトリルは、アセトニトリル約 500 mL とヘキサン約 100 mL を混合し、5 分間振とう後静置してアセトニトリル層を分取し、調製した。水/メタノール混液 (1:1) は、メタノール 500 mL と水 500 mL を混合又は同割合で混合し、調製した。1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液は、酢酸アンモニウム

15.43 g を水に溶解し 200 mL とし、2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液は、1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 2 mL に水を加えて 1000 mL とし、調製した。

## 標準溶液の調製方法

### 標準原液調製法

エトフェンプロックス標準品 25 mg を精密に量り、50 mL 容全量フラスコに入れた。アセトンを加え、超音波処理をしながら溶解した後定容し、これをエトフェンプロックス標準原液 (500 mg/L) とした。ジノテフラン標準品 25 mg を精密に量り、エトフェンプロックスと同様に調製し、ジノテフラン標準原液 (500 mg/L) とした。 $\alpha$ -CO 標準品 5 mg を精密に量り、25 mL 容全量フラスコに入れた。アセトンを加え、超音波処理をしながら溶解した後定容し、これを $\alpha$ -CO 標準原液 (200 mg/L) とした。

### 希釈用標準溶液調製法

エトフェンプロックス及びジノテフランは標準原液 1 mL をアセトンで 25 mL に定容し、20 mg/L とした。 $\alpha$ -CO は標準原液 2 mL をアセトンで 20 mL に定容し、20 mg/L とした。

### 測定用標準溶液調製法

20 mg/L の標準溶液を用いて、0.0001 mg/L から 1 mg/L の範囲で希釈し、試料からの農薬の検出濃度に応じて検量線の範囲を選択した。標準溶液の濃度は表 2 に示す。

### 添加用混合標準溶液調製法

添加回収試験を行うための標準溶液は、試験試料、添加濃度に応じてアセトン、

メタノールを用いて適宜調製した。

#### 試験溶液の調製

試験溶液は、試料に応じて 3 種の調製方法を行った。一例として玄米の調製方法を以下に示す。

玄米 10.0 g を採取し、水 20 mL を加え 2 時間放置した。その後、アセトン 100 mL を加え、ホモジナイズ後吸引ろ過をした。ろ紙上の残留物にアセトン 50 mL を加え、再度ホモジナイズし、吸引ろ過をした。得られたろ液を合一し、アセトンで 200 mL に定容した。メタノール 5 mL 及び水 5 mL でコンディショニングした InertSep C18 (1 g) カラムに上記アセトン抽出液 8 mL と水 20 mL を混合した溶液を負荷後、水/メタノール混液 (1:1) を 10 mL 通液しカラムの洗浄を行った。その後メタノール 10 mL で溶出し、10 mL に定容した。メタノール定容液を 1 mL 分取し、減圧濃縮、窒素乾固を行いヘキサン 5 mL に再溶解した。これをあらかじめヘキサン 10 mL でコンディショニングした Sep-pak Long Florisil (910 mg) カラムに負荷し、ヘキサン 5 mL で洗浄しジエチルエーテル/ヘキサン混液 (1:9) 10 mL で溶出した。溶出液を減圧濃縮、窒素乾固を行い得られた残留物をメタノールを用いて 1 mL に定容した。これを適宜希釈し、LC-MS/MS による測定に供した。

その他の試料についての詳細な方法は図 2 に示した。

#### LC-MS/MS による測定条件

#### エトフェンプロックス及び $\alpha$ -CO

機種：LC 部；Nexera X2 (LC-30AD)

MS 部；LCMS-8050

解析ソフト：LabSolutions LCMS

(以上、島津製作所製)

カラム：InertSustain C18

内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5  $\mu$ m

(ジーエルサイエンス株式会社製)

オープン温度：40  $^{\circ}$ C

移動相：

A 液；2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B 液；メタノール

A 液：B 液 (13 : 87)

流量：0.2 mL/min

注 入 量：4  $\mu$ L

コリジョンガス：アルゴン

モニターイオン等：イオン化法、モニターイオン等の詳細は表 3 に示す。

#### ジノテフラン

機種：LC 部；Nexera X2 (LC-30AD)

MS 部；LCMS-8050

解析ソフト：LabSolutions LCMS

(以上、島津製作所製)

カラム：InertSustain C18

内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5  $\mu$ m

(ジーエルサイエンス株式会社製)

オープン温度：40  $^{\circ}$ C

移動相：

A 液；2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B 液；メタノール

A 液：B 液 (80 : 20)

流量：0.2 mL/min

注 入 量：2  $\mu$ L

コリジョンガス：アルゴン

モニターイオン等：イオン化法、モニターイオン等の詳細は表4に示す。

## C.D. 結果及び考察

### 保管設備の温度モニタリング

研究課題1で作製したインカード試料及び加工を行った試料は試験開始まで日本ハム（株）中央研究所にて保管した。保管を開始した2020年9月1日より、6時間毎に冷凍保管庫の温度モニタリングを行った。温度記録計は株式会社シロ産業のMI1TP-251-FRMを用いた。温度記録の結果を図3に示す。保存期間中の最も高い温度は-15.87℃、最も低い温度は-20.43℃であり、試料保管設備の温度は問題ない事が確認できた。

### こめ油の製造及び炊飯試験

本研究ではこめ油の産業的な製造における加工係数の算出に加えて製造過程でのマスバランスも合わせて確認することを目的としているため、図1で示す各工程の試料重量とその農薬濃度を測定した。玄米28.88kgから精米を行い米糠3.12kgと白米24.77kgを得た。白米は炊飯試験に供するまで冷凍庫で保管をした。得られた米糠からヘキサン抽出にて340gの米原油を得た。米原油から試験用試料として10g抜取り、残りの米原油を等分し、脱臭油までの工程を2試行で行った。2試行とも各工程で5gずつ試験用試料としてサンプリングを行った。米原油を温

水処理してガム層を除去した脱ガム油は156gであった。次にヘキサンによる脱ロウ処理を行った脱ロウ油は143gであった。その後、水酸化ナトリウム処理をした脱酸油は124g、酸性白土で処理をした脱色油は113gであった。最後に533Paの減圧下で240℃の水蒸気処理を2時間行った脱臭油の収量は105gであった。

農林水産省食料・農業・農村政策審議会食糧部会において纏められた資料「米をめぐる関係資料」（令和2年7月30日）において、国内の米の消費は67.3%が家庭内消費であると調査されていることから、炊飯米の加工は家庭用炊飯器を用いて行った。炊飯前の米の研ぎ方は、株式会社神明と福井精米株式会社が推奨する方法の2種で2試行の試験を実施した。その結果0.48kgの白米から、1.1kgの炊飯米が得られ、2種の方法による収量の違い、試行回数による収量の違いは無かった。また、コントロールは株式会社神明の方法で1試行実施した。

### 試験方法の性能評価

試験法の性能要求事項は、LOQが0.01mg/kg以下であること、添加回収率が70～120%の範囲内であること及び併行精度が20%未満であることを確認し、試験法としての妥当性を評価する。

表2で示した試験溶液と試験溶液の調製方法の項で示した抽出方法から、本研究で実施するエトフェンプロックス及び

$\alpha$ -CO の定量下限は、炊飯米では 0.002 mg/kg、その他の試料では 0.01 mg/kg であった。また、ジノテフランの定量下限は、全ての試料で 0.01 mg/kg であった。添加回収試験は炊飯米 5 試行、その他の試料は 3 試行実施した。添加濃度を表 4 に、添加回収試験の結果を表 5 に添加回収率一覧を表 6 に示した。併行精度は脱ガム油の $\alpha$ -CO で最も大きく 8.5 % であった。添加回収率は、エトフェンプロックスでは 80 ~ 106 %、 $\alpha$ -CO では 78 ~ 108 %、ジノテフランでは 98 ~ 117 % と薬剤、試料いずれの組合せにおいても性能評価要件を満たしていた。以上より、開発された方法は本研究に用いる分析法として妥当であると評価した。

#### こめ油及び炊飯米の加工係数とマスバランス

稲わら、籾殻、玄米、糠、脱脂糠、米原油、脱ガム油、脱ロウ油、脱酸油、脱色油、脱臭油、白米及び炊飯米の 13 品目について試験を行った。炊飯米は 2 試行実施した加工試験をそれぞれ独立で分析し、その他の試料については 2 試行で実施した加工試験の試料を分析前にそれぞれから等量を採取後合一し、1 試料とした。エトフェンプロックスの分析結果一覧を表 7.1、 $\alpha$ -CO の分析結果一覧を表 7.2、ジノテフランの分析結果一覧を表 7.3 に示した。

散布した薬剤の加工工程での挙動を確認するため各工程で得られた試料の収量

とその試料の分析値を乗じて得た薬剤量をマスバランスとして表 8 に示した。炊飯米のマスバランスは、得られた白米を全て炊飯したと仮定して計算した。さらに、加工品による精密な暴露量の推定を行うために玄米を RAC (raw agricultural commodities) として、こめ油製造時の加工係数、炊飯試験時の加工係数を算出した。加工係数はエトフェンプロックス、ジノテフランに加えて、エトフェンプロックスの代謝物である $\alpha$ -CO をエトフェンプロックス量に換算し、エトフェンプロックスと合算したものの 3 種を計算した。また、マスバランスについては加工の工程による挙動を可視化するために、こめ油と炊飯試験のフロー中にまとめ図 5 とした。

精米工程を経た糠と白米の結果から水溶性のジノテフランは大半が白米に局在していることが明らかとなった。糠に存在していたジノテフランはヘキサンの抽出による米原油の製造過程で全て脱脂糠に残り米原油へは移行しないことが確認できた。これは logPow-0.5 という水溶性の性質と一致した。また、JMPR の報告書によると pH11 や 13 のようなアルカリ条件下では、加水分解により 45 時間程度で半減し、pH4~9 の酸性から弱アルカリ性では安定であることが報告されている。今回の研究により通常の炊飯器で炊飯するような加熱条件では白米中に残ったジノテフランの 8 割程度は炊飯後の米に残

存することが確認された。

エトフェンプロックスについては玄米で4.072 mg、精米により米糠に1.657 mg、白米に0.803 mgと算出されたが、米糠以降の工程中で確認されるエトフェンプロックスの量から考えると、原因は特定できていないが米糠中のエトフェンプロックスは本来の量よりも低く見積もられていると考えられる。こめ油の精製過程中的エトフェンプロックスのマスバランスは米原油の2.508 mg、温水処理による脱ガム油で2.340 mg、ヘキサン処理による脱ロウ油で2.196 mg、水酸化ナトリウム処理による脱酸油で1.954 mg、酸性白土の処理による脱色油で1.374 mgと米原油からは半分程度に減少はしているが、玄米を起点とした加工係数からみると米原油の53.9から脱色油の43.1まで大きな変化はなく、JMPRの報告書にある1N NaOH、1N HClで安定である事と一致した。エトフェンプロックスの量が大きく変化したのは533 Paの減圧下で240 °Cの水蒸気処理を2時間行う脱臭工程で、マスバランスでは脱色油の1.374 mgから脱臭油では0.433 mg、加工係数についても43.1から14.6と約30%に減少した。JMPRの報告書では、80 °Cで3ヶ月間安定、100 °Cにおいては部分的に分解すると示されており、蒸気圧下では熱に比較的安定であるが、減圧下での240 °C処理という特殊な条件下で加水分解されたと示唆された。

本年度は研究初年度ということもあり、

logPowが極端に大きいエトフェンプロックスと極端に小さいジノテフランで試験を行った。本研究の目的である輸出の促進に繋がるよう、来年度も引き続き、輸出可能性の高い加工品と薬剤の組合せを検討し、OECDのガイドラインに記載されるべきデータを取得できるよう、より精緻な研究を遂行していく必要がある。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

なし

別添資料等

表 1 試験試料の一覧

試料名	加工機関	保管機関	試験実施機関
稲わら	日本ハム(株)中央研究所	日本ハム(株)中央研究所	一般財団法人日本食品分析センター
粳穀	東京農業大学	日本ハム(株)中央研究所	一般財団法人日本食品分析センター
玄米	東京農業大学	日本ハム(株)中央研究所	一般財団法人日本食品分析センター
糠	築野食品工業株式会社	日本ハム(株)中央研究所	一般財団法人日本食品分析センター
白米	築野食品工業株式会社	日本ハム(株)中央研究所	一般財団法人日本食品分析センター
脱脂糠	築野食品工業株式会社	日本ハム(株)中央研究所	一般財団法人日本食品分析センター
米原油	築野食品工業株式会社	日本ハム(株)中央研究所	一般財団法人日本食品分析センター
脱ガム油	築野食品工業株式会社	日本ハム(株)中央研究所	一般財団法人日本食品分析センター
脱口ウ油	築野食品工業株式会社	日本ハム(株)中央研究所	一般財団法人日本食品分析センター
脱酸油	築野食品工業株式会社	日本ハム(株)中央研究所	一般財団法人日本食品分析センター
脱臭油	築野食品工業株式会社	日本ハム(株)中央研究所	一般財団法人日本食品分析センター
脱臭油	築野食品工業株式会社	日本ハム(株)中央研究所	一般財団法人日本食品分析センター
炊飯米	築野食品工業株式会社	日本ハム(株)中央研究所	一般財団法人日本食品分析センター
額縁試料	東京農業大学	日本ハム(株)中央研究所	一般財団法人日本食品分析センター

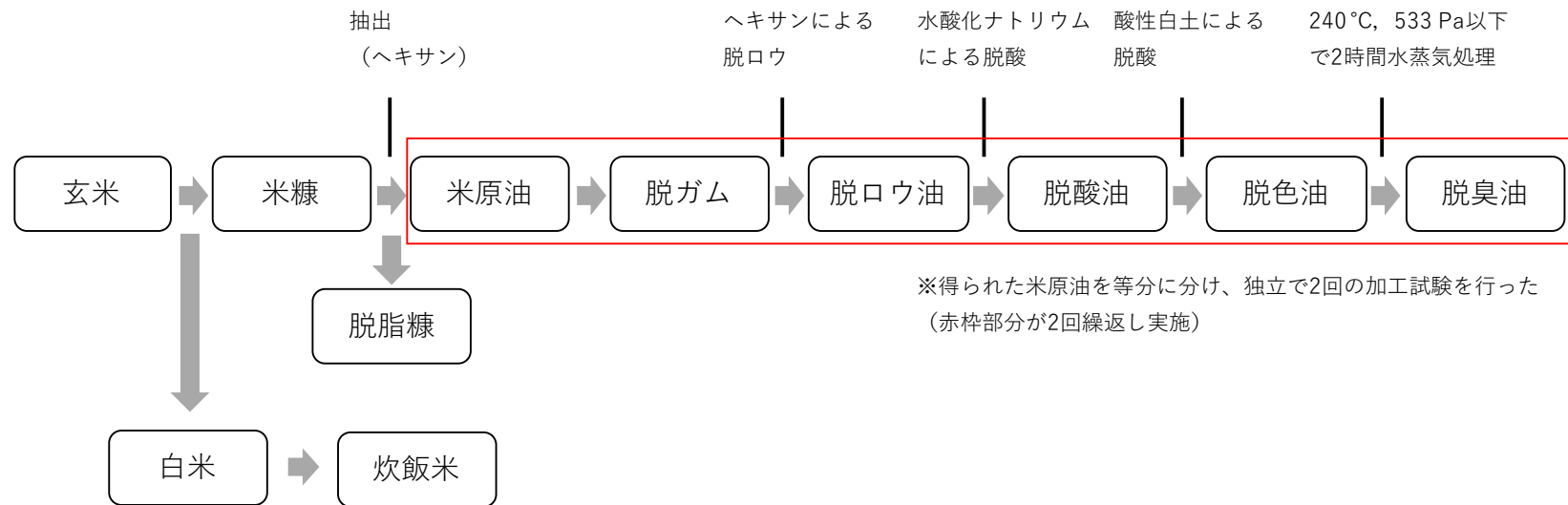


図1 こめ油と炊飯の加工試験フロー

表 2 測定用標準溶液

名称	調製濃度 (mg/L)	使用溶液	使用量 (mL)	定容量 (mL)
標準溶液 A	1	20 mg/L	各 1	20
標準溶液 B	0.05	標準溶液 A	1	20
標準溶液 C	0.01	標準溶液 B	4	20
標準溶液 D	0.008	標準溶液 B	4	25
標準溶液 E	0.006	標準溶液 C	6	10
標準溶液 F	0.004	標準溶液 C	4	10
標準溶液 G	0.002	標準溶液 C	2	10
標準溶液 H	0.001	標準溶液 C	1	10
標準溶液 I	0.0008	標準溶液 D	1	10
標準溶液 J	0.0006	標準溶液 E	1	10
標準溶液 K	0.0004	標準溶液 F	1	10
標準溶液 L	0.0002	標準溶液 G	1	10
標準溶液 M	0.0001	標準溶液 H	1	10

[調製溶媒…A：アセトン、B～M：メタノール]



①エトフェンプロックス及び $\alpha$ -CO

a. 玄米、白米、糠、脱脂糠、粃殻及び稲わら試験法

試料10.0 g (糠及び脱脂糠は2.0 g) 採取

水20 mL (稲わらは30 mL) を加え2時間放置  
アセトン100 mL (稲わらは120 mL) を加えホモジナイズ後、吸引ろ過  
ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えホモジナイズ後、吸引ろ過  
得られたろ液を合わせアセトンで200 mLに定容

InertSep C18 (1 g)

(カラムを予め、メタノール5 mL及び水5 mLで洗浄)  
抽出液8 mL分取  
水20 mLを加え負荷、洗浄  
水及びメタノールの混液 (1:1) 10 mLで洗浄  
メタノール10 mLで溶出、メタノールで10 mL定容

Sep-pak Long Florisil (910 mg)

(予めヘキサン10 mLで洗浄)  
定容液1 mL (糠及び脱脂糠は5 mL) 分取  
減圧濃縮、窒素乾固、ヘキサン5 mLに溶解、負荷  
ヘキサン5 mLで洗浄  
ジエチルエーテル及びヘキサンの混液 (1:9) 10 mLで溶出  
減圧濃縮、窒素乾固

残留物

メタノールで1 mL定容  
インカード試料エトフェンプロックス：玄米及び糠は5倍希釈、  
粃殻は100倍希釈、稲わらは50倍希釈  
インカード試料 $\alpha$ -CO：粃殻は100倍希釈、稲わらは50倍希釈

LC-MS/MS注入

図 2-1 エトフェンプロックス及び $\alpha$ -CO の玄米、白米、糠、脱脂糠、粃殻及び稲わらに対する試験溶液の調製法

b. 炊飯米試験法

試料21.6 g (米飯10 g相当) 採取

アセトン100 mLを加えホモジナイズ後、吸引ろ過  
ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えホモジナイズ後、吸引ろ過  
得られたろ液を合わせアセトンで200 mLに定容

InertSep C18 (1 g)

(カラムを予め、メタノール5 mL及び水5 mLで洗浄)  
抽出液8 mL分取  
水20 mLを加え負荷、洗浄  
水及びメタノールの混液 (1:1) 10 mLで洗浄  
メタノール10 mLで溶出、メタノールで10 mL定容

Sep-pak Long Florisil (910 mg)

(予めヘキサン10 mLで洗浄)  
定容液5 mL分取、減圧濃縮、窒素乾固  
ヘキサン5 mLに溶解、負荷  
ヘキサン5 mLで洗浄  
ジエチルエーテル及びヘキサンの混液 (1:9) 10 mLで溶出  
減圧濃縮、窒素乾固

残留物

メタノールで1 mL定容

LC-MS/MS注入

図 2-2 エトフェンプロックス及び $\alpha$ -CO の炊飯米に対する試験溶液の調製法

c. 米糠原油、脱ガム油、脱ロウ油、脱酸油、脱色油及び脱臭油試験法

試料1.0 g採取

アセトン50 mLを加え1分間超音波照射、10分間振とう  
綿栓ろ過、アセトンで100 mL定容

抽出液

10 mL分取  
減圧濃縮

残留物

ヘキサン30 mL及びヘキサン飽和アセトニトリル30 mLを加え  
5分間振とう

アセトニトリル層

ヘキサン層

ヘキサン飽和アセトニトリル30 mL  
5分間振とう

アセトニトリル層

ヘキサン層

減圧濃縮、窒素乾固

残留物

メタノールで2.5 mL定容

Sep-pak Long Florisil (910 mg)

(予めヘキサン10 mLで洗浄)

定容液1 mL分取、窒素乾固、ヘキサン5 mLに溶解、負荷  
ヘキサン5 mLで洗浄

ジエチルエーテル及びヘキサンの混液 (1:9) 10 mLで溶出

減圧濃縮、窒素乾固

残留物

メタノールで1 mL定容

インカード試料は40倍希釈

LC-MS/MS注入

図 2-3 エトフェンプロックス及び $\alpha$ -CO の米糠原油、脱ガム油、脱ロウ油、脱酸油、脱色油及び脱臭油に対する試験溶液の調製法

## ②ジノテフラン

### a. 玄米、白米、糠、脱脂糠、粃殻及び稲わら試験法

試料10.0 g (糠及び脱脂糠は2.0 g) 採取

水20 mL (稲わらは30 mL) を加え2時間放置  
アセトン100 mL (稲わらは120 mL) を加えホモジナイズ後、吸引ろ過  
ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えホモジナイズ後、吸引ろ過  
得られたろ液を合わせアセトンで200 mLに定容

InertSep k-solute 5 mL用

抽出液0.8 mL (糠及び脱脂糠は4 mL) 分取  
糠及び脱脂糠のみ約0.5 mLまで減圧濃縮  
水3 mL及び塩化ナトリウム約1 gを加え負荷、5分間放置  
ヘキサン40 mLで洗浄  
酢酸エチル60 mLで溶出、減圧濃縮、窒素乾固

残留物

メタノールで1 mL定容  
インカード試料：玄米、精米及び糠は5倍希釈、脱脂糠は10倍希釈、  
粃殻は40倍希釈、稲わらは10倍希釈

LC-MS/MS注入

図 2-4 ジノテフランの玄米、白米、糠、脱脂糠、粃殻及び稲わらに対する試験溶液の調製法

b. 炊飯米試験法

試料21.6 g (米飯10 g相当) 採取

アセトン100 mLを加えホモジナイズ後、吸引ろ過  
ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えホモジナイズ後、吸引ろ過  
得られたろ液を合わせアセトンで200 mLに定容

InertSep k-solute 5 mL用

抽出液0.8 mL分取  
水3 mL及び塩化ナトリウム約1 gを加え負荷、5分間放置  
ヘキサン40 mLで洗浄  
酢酸エチル60 mLで溶出、減圧濃縮、窒素乾固

残留物

メタノールで1 mL定容

LC-MS/MS注入

図 2-5 ジノテフランの炊飯米に対する試験溶液の調製法

c. 米糠原油、脱ガム油、脱ロウ油、脱酸油、脱色油及び脱臭油試験法

試料1.0 g採取

アセトン50 mLを加え1分間超音波照射、10分間振とう  
綿栓ろ過、アセトンで100 mL定容

抽出液

10 mL (試料 0.1 g相当) 分取  
減圧濃縮

残留物

ヘキサン30 mL及びヘキサン飽和アセトニトリル30 mLを加え  
5分間振とう

アセトニトリル層

ヘキサン層

ヘキサン飽和アセトニトリル30 mL  
5分間振とう

アセトニトリル層

ヘキサン層

減圧濃縮、窒素乾固

残留物

メタノールで2.5 mL定容

LC-MS/MS注入

図 2-6 ジノテフランの米糠原油、脱ガム油、脱ロウ油、脱酸油、脱色油及び脱臭油に対する試験溶液の調製法

表 3-1. エトフェンプロックス及びエトフェンプロックスカルボキシの測定条件

	イオン化法	プレカーサーイオン ( <i>m/z</i> )	プロダクトイオン ( <i>m/z</i> )	Q1 Pre Bias (V)	CE (eV)	保持時間の 目安 (分)
エトフェンプロックス	ESI (+)	394	177	-14	-16	11
$\alpha$ -CO* <sup>1</sup>	ESI (+)	408	177	-13	-14	9
$\alpha$ -CO* <sup>2</sup>	ESI (+)	408	107	-12	-45	9

\*1 米原油、脱ガム油、脱ロウ油、脱酸油、脱色油及び脱臭油

\*2 玄米、精米、糠、脱脂糠、粃殻、稲わら及び炊飯米

表 3-2. ジノテフランの測定条件

	イオン化法	プレカーサーイオン ( <i>m/z</i> )	プロダクトイオン ( <i>m/z</i> )	Q1 Pre Bias (V)	CE (eV)	保持時間の 目安 (分)
ジノテフラン	ESI (+)	203	113	-14	-12	5

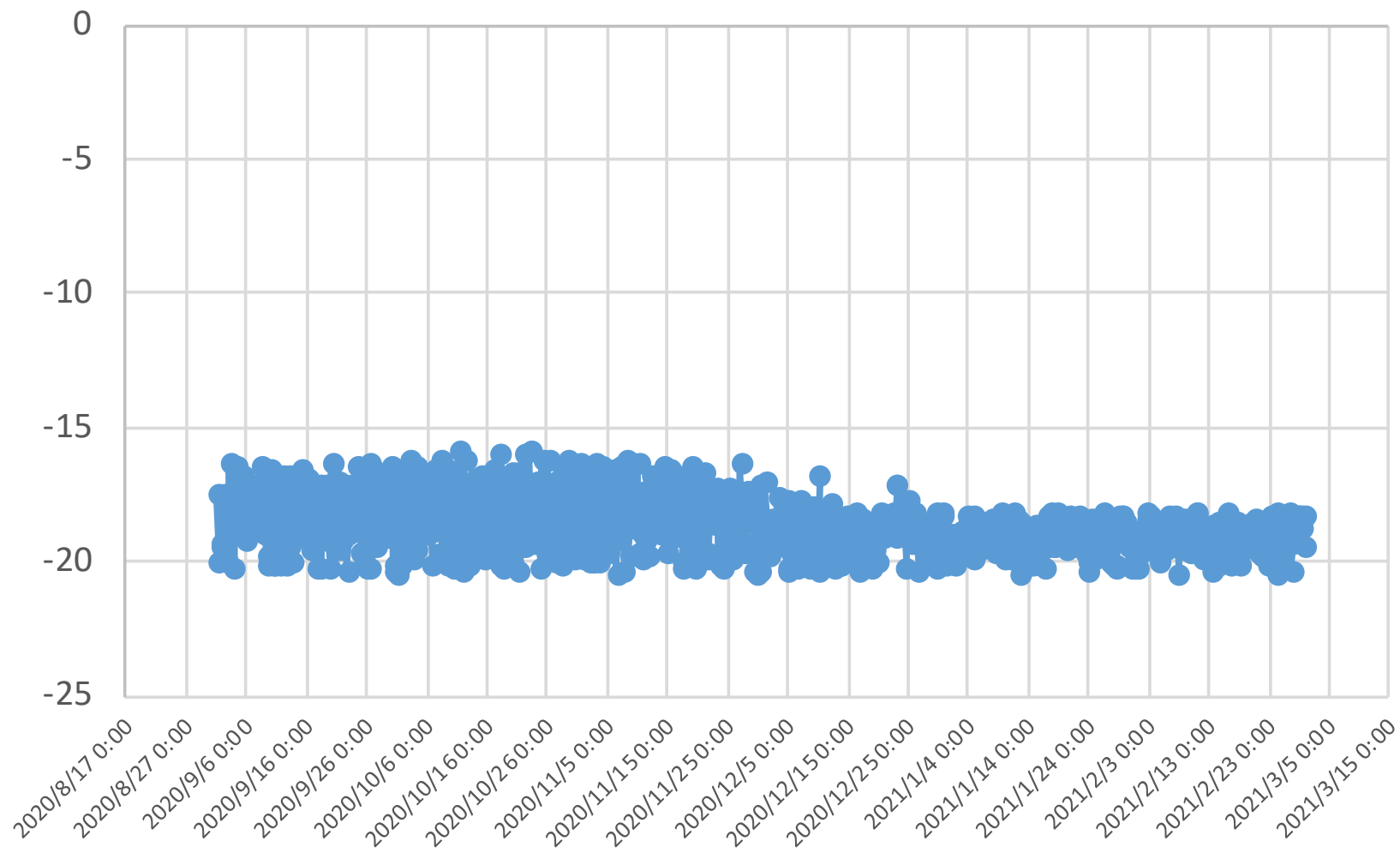


図 3. インカード試料の保管冷凍庫の温度モニタリング

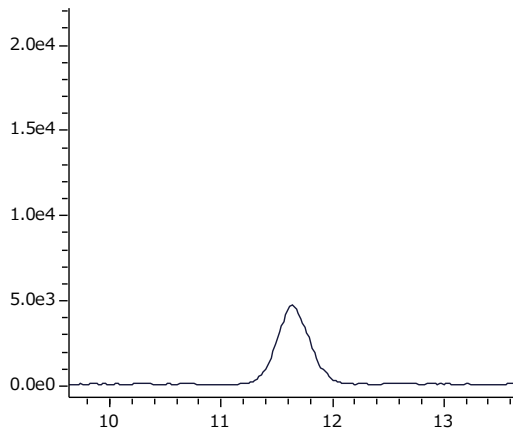


エトフェンプロックス標準溶液

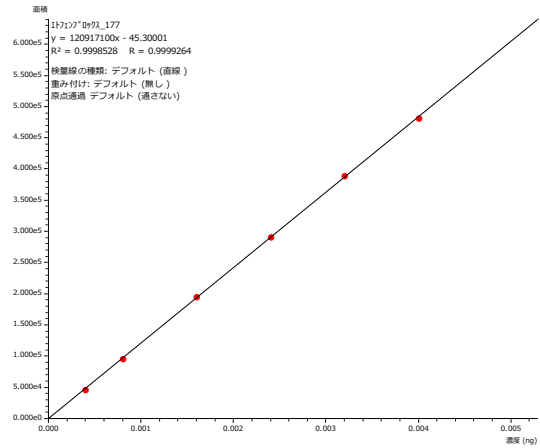
0.0002 mg/L

Q 394.25>177.35 (+)

4.73e3



低濃度検量線

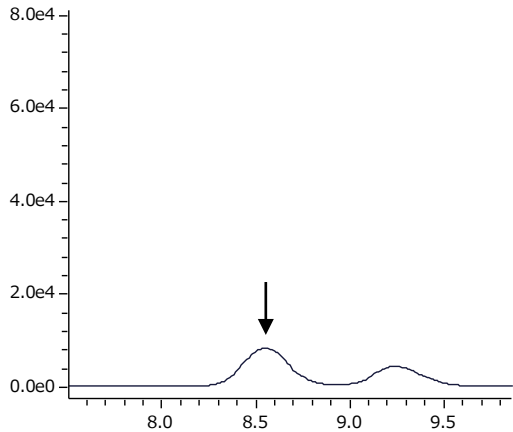


α-CO 標準溶液

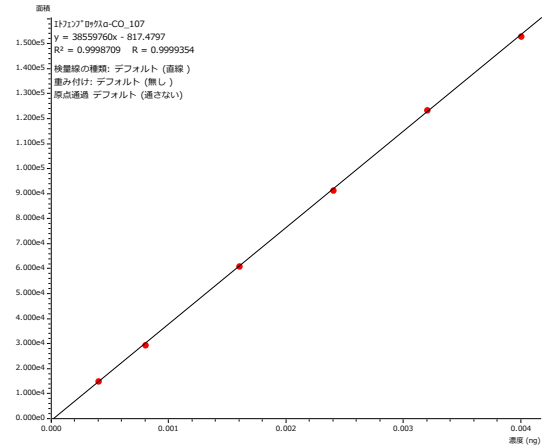
0.0006 mg/L

Q 408.00>177.30 (+)

8.38e3



低濃度検量線

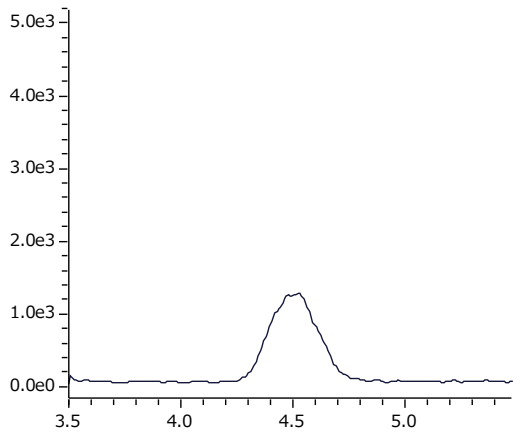


ジノテフラン標準溶液

0.0002 mg/L

Q 203.11>113.25 (+)

1.29e3



低濃度検量線

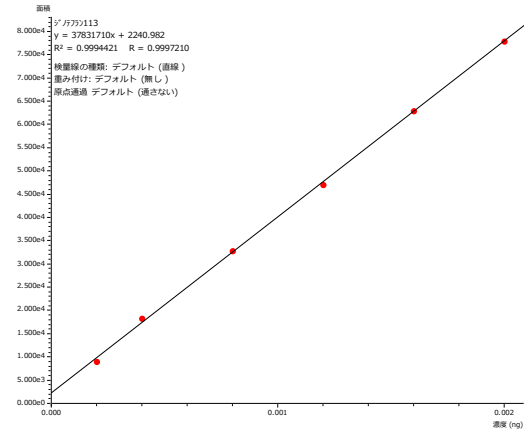


図 4 クロマトグラムと検量線の一例

表 4 添加回収試験における各試料への添加濃度一覧

試料名	稲わら	籾殻	玄米	糠	脱脂糠	米原油	脱ガム油	脱ロウ油	脱酸油	脱色油	脱臭油	白米	炊飯米
エトフェンプロックス	0.01	0.05	0.01	0.01	0.01	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.01	0.002
$\alpha$ -CO	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.002
ジノテフラン	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

表 5-1 エトフェンプロックスの添加回収試験結果 (mg/kg)

試料名	稲わら	籾殻	玄米	糠	脱脂糠	米原油	脱ガム油	脱ロウ油	脱酸油	脱色油	脱臭油	白米	炊飯米
無添加	<LOQ	0.0542	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.0365	0.0363	0.0374	0.0275	0.0233	<LOQ	<LOQ	<LOQ
添加1	0.0080	0.0949	0.0127	0.0142	0.0138	0.0943	0.0856	0.0897	0.0774	0.0685	0.0575	0.0092	0.00165
添加2	0.0080	0.0972	0.0125	0.0144	0.0145	0.0865	0.0894	0.0871	0.0756	0.0712	0.0556	0.0091	0.00171
添加3	0.0079	0.0944	0.0124	0.0143	0.0149	0.0863	0.0928	0.0858	0.0759	0.0726	0.0563	0.0087	0.00171
添加4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00176
添加5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00168
平均	0.0080	0.0955	0.0125	0.0143	0.0144	0.0890	0.0893	0.0875	0.0763	0.0708	0.0565	0.0090	0.00170
RSD(%)	0.7	1.6	1.2	0.7	3.9	5.1	4.0	2.3	1.3	2.9	1.7	2.9	2.0

表 5-2 a-CO の添加回収試験結果 (mg/kg)

試料名	稲わら	籾殻	玄米	糠	脱脂糠	米原油	脱ガム油	脱ロウ油	脱酸油	脱色油	脱臭油	白米	炊飯米
無添加	<LOQ	0.0158	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
添加1	0.0081	0.0314	0.0104	0.0121	0.0108	0.0299	0.0256	0.0301	0.0285	0.0260	0.0253	0.0092	0.00182
添加2	0.0078	0.0319	0.0106	0.0120	0.0113	0.0258	0.0301	0.0285	0.0274	0.0263	0.0237	0.0088	0.00189
添加3	0.0076	0.0322	0.0100	0.0125	0.0122	0.0283	0.0293	0.0279	0.0269	0.0284	0.0238	0.0082	0.00178
添加4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00186
添加5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00172
平均	0.0078	0.0318	0.0103	0.0122	0.0114	0.0280	0.0283	0.0288	0.0276	0.0269	0.0243	0.0087	0.00183
RSD(%)	3.2	1.3	3.0	2.2	6.2	7.4	8.5	3.9	3.0	4.9	3.7	5.8	3.7

表 5-3 ジノテフランの添加回収試験結果 (mg/kg)

試料名	稲わら	籾殻	玄米	糠	脱脂糠	米原油	脱ガム油	脱ロウ油	脱酸油	脱色油	脱臭油	白米	炊飯米
無添加	<LOQ	0.0182	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
添加1	0.0114	0.0384	0.0117	0.0163	0.0163	0.0116	0.0111	0.0114	0.0111	0.0106	0.0115	0.0118	0.0103
添加2	0.0114	0.0369	0.0118	0.0165	0.0166	0.0115	0.0110	0.0111	0.0108	0.0104	0.0116	0.0117	0.0109
添加3	0.0112	0.0381	0.0116	0.0161	0.0152	0.0115	0.0115	0.0111	0.0109	0.0103	0.0113	0.0117	0.0108
添加4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0106
添加5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0107
平均	0.0113	0.0378	0.0117	0.0163	0.0160	0.0115	0.0112	0.0112	0.0109	0.0104	0.0115	0.0117	0.0107
RSD(%)	1.0	2.1	0.9	1.2	4.6	0.5	2.4	1.5	1.4	1.5	1.3	0.5	2.2

表 7-1 エトフェンプロックスの試験結果 (mg/kg)

試料名	稲わら	籾殻	玄米	糠	脱脂糠	米原油	脱ガム油	脱ロウ油	脱酸油	脱色油	脱臭油	白米	炊飯米			
													神明1	神明2	福井1	福井2
試行1	4.83	20.4	0.139	0.536	0.0199	7.54	7.46	7.66	7.92	6.03	2.11	0.0338	0.0064	0.0063	0.0063	0.0066
試行2	4.95	20.5	0.139	0.524	0.0200	7.56	7.64	7.71	7.73	5.65	2.07	0.0319	0.0064	0.0062	0.0062	0.0067
試行3	4.97	20.2	0.144	0.534	0.0197	7.71	7.41	7.68	7.98	6.56	2.01	0.0314	0.0066	0.0065	0.0062	0.0067
平均	4.92	20.4	0.141	0.531	0.0199	7.60	7.50	7.68	7.88	6.08	2.06	0.0324	0.0065	0.0063	0.0062	0.0067
RSD(%)	1.5	0.8	2.1	1.2	0.8	1.2	1.6	0.3	1.7	7.5	2.4	3.9	1.8	2.4	0.9	0.9

表 7-2  $\alpha$ -CO の試験結果 (mg/kg)

試料名	稲わら	籾殻	玄米	糠	脱脂糠	米原油	脱ガム油	脱ロウ油	脱酸油	脱色油	脱臭油	白米	炊飯米			
													神明1	神明2	福井1	福井2
試行1	2.03	5.98	0.0297	0.126	< LOQ	1.80	1.69	1.80	1.94	1.63	1.00	0.0082	0.0018	0.0017	0.0018	0.0019
試行2	2.04	6.03	0.0285	0.124	< LOQ	1.85	1.84	1.92	1.90	1.48	1.02	0.0077	0.0017	0.0017	0.0017	0.0018
試行3	2.07	6.06	0.0299	0.127	< LOQ	1.76	1.63	1.82	1.91	1.75	0.98	0.0081	0.0018	0.0018	0.0017	0.0019
平均	2.05	6.02	0.0294	0.126	-	1.80	1.72	1.85	1.92	1.62	1.00	0.0080	0.0018	0.0017	0.0017	0.0019
RSD(%)	1.0	0.7	2.6	1.2	-	2.5	6.3	3.5	1.1	8.4	2.2	3.3	3.3	3.3	3.3	3.1

表 7-3 ジノテフランの試験結果 (mg/kg)

試料名	稲わら	籾殻	玄米	糠	脱脂糠	米原油	脱ガム油	脱ロウ油	脱酸油	脱色油	脱臭油	白米	炊飯米			
													神明1	神明2	福井1	福井2
試行1	1.21	5.11	0.352	0.547	1.000	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0.394	0.143	0.151	0.150	0.150
試行2	1.20	5.16	0.353	0.533	0.998	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0.414	0.152	0.151	0.151	0.153
試行3	1.20	5.13	0.349	0.540	1.000	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0.411	0.148	0.154	0.149	0.154
平均	1.20	5.13	0.351	0.540	0.999	-	-	-	-	-	-	0.406	0.148	0.152	0.150	0.152
RSD(%)	0.5	0.5	0.6	1.3	0.1	-	-	-	-	-	-	2.7	3.1	1.1	0.7	1.4

表8 マスバランスの算出

試料名	収量 (kg)	エトフェンプロックス (mg/kg)	マスバランス (mg)	$\alpha$ -CO (mg/kg)	マスバランス (mg)	ジノテフラン (mg/kg)	マスバランス (mg)
玄米	28.88	0.141	4.072	0.0294	0.849	0.351	10.137
糠	3.12	0.531	1.657	0.126	0.393	0.540	1.685
脱脂糠	2.78	0.0199	0.055	0.0055*	0.0152*	0.999	2.777
米原油	0.330	7.60	2.508	1.80	0.594	-	-
脱ガム油	0.312	7.50	2.340	1.72	0.537	-	-
脱ロウ油	0.286	7.68	2.196	1.85	0.529	-	-
脱酸油	0.248	7.88	1.954	1.92	0.476	-	-
脱色油	0.226	6.08	1.374	1.62	0.366	-	-
脱臭油	0.210	2.06	0.433	1.00	0.210	-	-
白米	24.77	0.0324	0.803	0.0080	0.198	0.406	10.057
炊飯米*	56.76	0.0064	0.363	0.0018	0.102	0.151	8.571

炊飯米の収量は得られた白米を全て炊飯したと仮定した

表9 加工係数の算出

試料名	エトフェンプロックス logPow 6.9 (Mw:376.49) (mg/kg)	換算後 α-CO* (Mw:390.47) (mg/kg)	Pf (エトフェンプロックス)	Pf (エトフェンプロックス +換算後α-CO)	ジノテフラン logPow -0.5 (Mw:202.21) (mg/kg)	Pf (ジノテフラン)
玄米	0.141	0.0283	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>	0.351	<b>1.0</b>
糠	0.531	0.1215	<b>3.77</b>	<b>3.85</b>	0.540	<b>1.54</b>
脱脂糠	0.0199	0.0053	<b>0.14</b>	<b>0.15</b>	0.999	<b>2.85</b>
米原油	7.60	1.74	<b>53.9</b>	<b>55.1</b>	-	-
脱ガム油	7.50	1.66	<b>53.2</b>	<b>54.1</b>	-	-
脱ロウ油	7.68	1.78	<b>54.5</b>	<b>55.9</b>	-	-
脱酸油	7.88	1.85	<b>55.9</b>	<b>57.5</b>	-	-
脱色油	6.08	1.56	<b>43.1</b>	<b>45.1</b>	-	-
脱臭油	2.06	0.964	<b>14.6</b>	<b>17.9</b>	-	-
白米	0.0324	0.0077	<b>0.23</b>	<b>0.24</b>	0.406	<b>1.16</b>
炊飯米	0.0064	0.0017	<b>0.05</b>	<b>0.05</b>	0.151	<b>0.43</b>

\*換算後α-CO: α-COの測定値に分子量換算をし、エトフェンプロックスとしての濃度に換算した

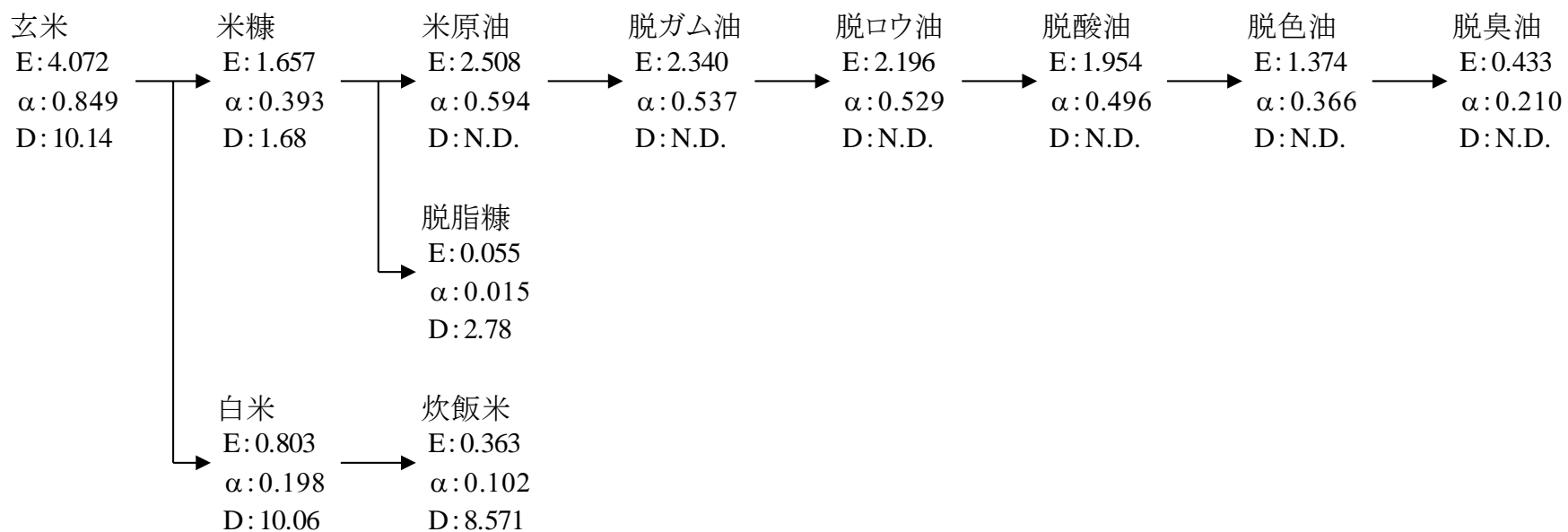


図5 マスバランスのフローチャート

## 令和 2 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

輸出先国のリスク管理に対応した残留農薬データ等の補完に関する研究

研究分担報告書

MRL 設定に関わる残留物の定義、MRL 設定やインポートトレランス設定に  
利用可能なデータセットに関する研究

研究分担者 山田友紀子

国立医薬品食品衛生研究所客員研究員

### 研究要旨

わが国における農薬の MRL 設定や、わが国から輸出先国へのインポートトレランス設定の申請が、より科学的かつ国際的に整合した方法で実施できるようにすることを目的として、令和 2 年度は、①昨年度に引き続き、MRL やインポートトレランスを設定するために最重要な「残留物の定義」の決定に関する OECD Working Group on Pesticides の参加にある Residue Chemistry Expert Group の Subgroup である Drafting Group on Definition of Residue に参加し、残留分野において、日本の現状を説明するとともに、残留物の定義に関する OECD ガイドライン策定へ向けて貢献した。②他国で実施した作物残留試験の結果をわが国における残留基準値の設定に使用できるかどうかの検証の 2 年目として、その検証の対象とする農薬/食品の組合せを特定した。

### A. 研究目的

農産品・農産加工品(農産品等)の輸出には、作物への使用が登録されている農薬を使用した結果として農産品等に含まれる残留物の濃度が、輸出先国において設定された残留基準値(MRL)または輸出国から輸入国に申請して設定されるインポートトレランスに適合していなければならない。輸出先国において、当該農薬/食品に MRL が  
ない場合、輸出先国の要件を満たす科学的データの輸出先国担当部局への提出によるインポートトレランス設定の申請が必須である。

令和元年 6 月に政府は、「農林水産物・食品の輸出拡大のための輸入国規制への対

応等に関する関係閣僚会議」において、国内農産品等の輸出拡大に向けた対策として、「輸出拡大のための相手国・地域の規制等への対応強化(工程表)」(以下「工程表」)を策定し、厚生労働省に対して積極的な関与を求めている。

以前は、農水省や農薬メーカーが輸出先国に、厚労省が食品衛生法に基づいて設定した基準値を受け入れさせることを依頼してきた。しかし、作物残留試験(作残試験)の例数が 2 例では、海外先進国で基準値を設定するには不十分とされており、追加の作残試験のメーカーによる実施に対して農水省が資金援助をし、その結果を活用して、



輸出先国に対してインポートトレランスをメーカーが申請している。

昨年度、農水省にインポートトレランス申請のための研修を実施するとともに、厚労省と農水省の協議を設定し、作物残留試験が 8 例あり、欧米等輸出先国にインポートトレランスを申請できる状態にある農薬については、厚労省が優先的に MRL を見直すことが決定された。

今後、欧米でインポートトレランスをより容易に取得するためには、農水省だけでなく、厚労省も、JMPR (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues) や欧米諸国がどのように農薬の MRL を設定しているのかをしっかりと理解する必要がある。加えて、MRL 設定及び暴露評価それぞれの目的に応じた残留物の定義が国ごとに異なれば、同じ作残試験を活用しても異なる数値の MRL が設定されたり、暴露評価が示す安全性の程度が異なる結果となったりする可能性がある。つまり、世界標準で残留物の定義を決定できることが、国内における MRL の策定並びに Codex MRL とインポートトレランスの取得に不可欠である。

現在、OECD Working Group on Pesticides 傘下の Residue Chemistry Expert Group (RCEG; 山田はメンバーの一人) の下部組織である Drafting group on Definition of Residue が、残留物の定義に関するガイダンス文書 (GD) の改訂版を策定中であるため、日本の状況を科学的に適切であれば改訂 GD に反映するため、および改訂 GD が設定されればそれを国内の MRL 設定のガイドラインにも反映するため、本研究者及び厚労省は Drafting Group の会議に積極的に参加する必要がある。

また、2019 年厚労省は、MRL 設定のための基本原則を改訂し、OECD の Zoning Project 報告書を参考に、海外で実施された作残試験であっても、わが国の GAP に整合しているか、Proportionality の原則を適用できる場合には、わが国の MRL 設定に使用できることを決定した。わが国の GAP が、世界でも特殊であることから、海外で実施した作残試験が、実際に MRL 設定に使用可能であるかどうかを、本研究では JMPR に提出された作残試験を活用して検証する。

## B. 研究方法

### 1. OECD Working Group on Pesticides 傘下の Residue Chemistry Expert Group (RCEG) の下部組織である Drafting group on Definition of Residue への参加

Drafting Group は、2018 年に設置され、2018 年 12 月にジュネーブで会合を持ち、今後検討すべき論点を検討した。その任務は残留物の定義にどのような代謝物をどのような理由で含めるのかについて OECD ガイダンス文書を作成することである。山田は、本 Drafting Group には 2019 年夏から参加した。令和 2 年度においては、1 年を通じて Zoom を活用したリモート会議が実施されている。全体会議及び残留サブグループの会合はそれぞれほぼ 5 週間に 1 度の頻度で開催されており、それに参加し、適宜発言した。さらに、会議ごとに概要を作成し、厚労省と共有した。

なお、毒性サブグループもリモート会合を開催している。

Covid-19 の世界各国におけるまん延のため、本来パリの OECD 本部で実施される予定であった 2020 年の会議は、11 月 17 日及び 19 日にそれぞれ日本時間 20 時から 24 時まで、Zoom を用いたリモート会議として実施された。一日空いているのは、日本やオーストラリアのように会議が深夜に及ぶ国や米国、カナダのように早朝から始まる国に配慮したものである。会議における議論と決定の概要は、「結果」で報告する。

## 2. 海外で実施した作残試験が、国内の MRL 設定に使用可能であるかどうかの検証

- (1) どのような農薬／食品の組合せについて検証するかの特定
  - リスクに基づく考え方で特定
  - わが国で出荷量の多い農薬(10 万トンカットオフとする)を特定
    - そのうち、JMPR で評価されている農薬を特定
  - わが国で消費量がある程度以上多く、農薬の摂取に寄与する可能性の高い食品を特定
    - ただし、MRL 設定の対象とならない加工食品は除く(または可能であれば一次産物と合算)
  - 消費量の多い食品のうち、輸入に依存している食品を特定

- (2) 上記で選んだ有効成分について、わが国の使用基準を調査するとともに、上記で特定した食品について JMPR に提出された作残試験があるかどうかを調査

## C. D. 結果及び考察

### 1. OECD Working Group on Pesticides 傘下の RCEG の下部組織である Drafting group on Definition of Residue への参加

令和 2 年度における議論の中心は、暴露評価用(リスク評価用)の残留物の定義である。昨年度の議論を引き継いで、現在の議論のポイントは以下の通り。

- (1) 残留物の定義に入れるかどうかを決定するための Decision tree とその説明文の策定
  - 毒性評価者に諮問して、毒性学的な情報を求めるべき代謝物の決定のためのカットオフ値について食品については>10% TRR 及び 0.01 mg/kg、飼料については>10% TRR 及び 0.05 mg/kg に合意。また、食品については<10% TRR であっても、critical GAP において 0.05 mg/kg 以上の代謝物を含む。GAP に整合するかどうかを常に考慮する必要があることが強調されている。従って、残留評価をするべき厚労省の責任は重く、毒性評価しからない食品安全委員会ではこれらの特定は不可能である。
  - 暴露評価で総暴露量の何%までカバ

一すれば、十分な安全性を確保したことになるのか（75%、80%またはそれ以上か？）

これについては、厚労省の考え方を聞き取り Drafting Group に提供。

- 本件については、合意が近い。

## (2) Conjugates と Bound residues について

- 代謝試験における conjugates と bound residues の定義の明確化
  - Conjugates は通常抽出可能な代謝物、Bound residue は抽出されない代謝物で、強い共有結合をしているか、天然物に取り込まれているもの
- ぶどう糖やグルクロン酸との conjugates と、グルタチオン、アミノ酸、硫酸との conjugates のうち、どれを暴露評価の対象に入れるか、また、それらを conjugates として扱うのか、conjugates と遊離の合計として扱うのか？
- Conjugates が人の体内の条件で、遊離するかどうか、つまり、生体内で吸収され、毒性を發揮するかどうか？
  - 代謝試験における抽出条件として、6 mol/L の酸や塩基中で高温加水分解したり、電子レンジで分解したりするなどの過酷な条件は不適切
  - 生理学的条件を反映する条件を定義することとする
  - 毒性学的な検討も必要

- 検討は未だ初期段階

## (3) 代謝試験で同定されない代謝物を、暴露評価に入れるかどうか

- 同定されない代謝物の比率が高い場合、現行の方法では暴露を過小評価する可能性
- 同定されないもののうち、特性解明により、天然物や、消化管では分解されないと考えられる代謝物及び毒性学的懸念のない物質を除いて、他を暴露評価に加えるとの提案
- 残留サブグループでは、本件の重要性を認識し、一部の基本概念について GD に入れることに合意したが、主要内容については OECD の別のフォーラムで議論するべきとの意見であった。

## (4) TTC アプローチの利用

- 毒性情報のない代謝物について、TTC アプローチを活用すべきかどうかは、毒性評価者が決定
- これまで通りのやり方で実行するのか、類似した構造を持つ代謝物を統合して計算するのかどうか？
- ARfD がある場合に、TTC アプローチが使えるかどうか？
- 検討が始まったばかりであり、毒性サブグループとの連携が必要

## (5) それ以外の課題

- ① 何度も、残留評価者と毒性評価者との間の継続した連携やコミュニケーションが必要であることを強調
- ② 1つの化合物で農薬利用以外に動物

用医薬品としての利用もある場合の  
MRL 設定と暴露評価

▶ JECFA の専門家を招いている  
が、参加はない

③ 立体異性体(優先度は低い)

④ 飲料水、魚、はちみつ等における残  
留農薬について

▶ 魚、はちみつ等については  
OECD の他のグループによる  
検討や EFSA のガイドライン  
を参考にする

⑤ スケジュール

2021 年秋に RCEG に Peer review を依  
頼する予定で、2021 年末までに完了  
予定。

## 2. 海外で実施した作残試験が、国内の MRL 設定に使用可能であるかどうか の検証

(1) 農薬／食品の組合せの特定

- リスクに基づく評価のために、わが  
国において使用量の多い農薬と消費  
量の多い食品の特定を試みた

① 農薬の特定(別添資料 1)

- 使用量のデータはわが国にはないた  
め、国内での年間出荷量を使用した。  
2019 年度において出荷量が 10 万ト  
ンより多い農薬の有効成分を選択し  
た。それに合致するものは 51 成分で  
あった。そのうち除草剤は 22 剤、殺  
菌剤は 20 剤、殺虫剤は 9 剤であった。  
出荷量が最大であったのは 1,3-ジク  
ロプロペンであったが、本有効成

分は JMPR では評価されていない。

- 上記の出荷量のデータは、農薬有効  
成分の農水省名に基づいて集められ  
たものである。一方、JMPR がすで  
に作残試験を評価したかどうかを知  
るためには、JMPR や海外諸国にお  
いて使用されている ISO 名を知る必  
要がある。

農水省名が ISO 名と異なっていたり、ISO の命名ルールに従っていな  
かったりする場合がいくつもあった。  
また、農水省名には一貫したルール  
があるようには見えず、最近になる  
と ISO 名により近くなっている。

輸出促進の観点からは、ISO 名を  
使用することが望ましい。また最近  
では、厚労省は ISO 名を使う傾向に  
ある。

- それらのうちから JMPR で評価され  
ている有効成分を特定した。グルー  
プとして評価されているものを含め  
て、24 剤が特定された。このうち、  
わが国における出荷量の最大のもの  
はグリホサートであり、出荷量とし  
ては 2 位に位置する。

② 食品(別添資料 2)

- 厚労省において、残留農薬の経口暴  
露評価に使用している食品消費量デ  
ータから、食品全体の消費量に対し  
て 0.01%以上を占める食品を選択し  
た。作残試験を実施できる食品であ  
ることが必要であるため、加工食品  
は除いたが、収穫後、加工して摂食

する作物は含めた。

- 作残試験が活用できるかどうかの検証が主目的であるため、細かい分類に位置する食品は、より多く消費されている食品が含まれている限り、除外した。
- その結果、61 食品が特定された。分類の中の複数の食品が含まれている場合（例、かんきつ類におけるうんしゅうみかん、いよかん、なつみかん、オレンジ類）や、同じ作物の成熟、未成熟の食品が含まれている場合（例、大豆、えだまめ）があった。
- これらのうち、農水省が作残試験の目的のため「生産量が特に多い作物」に分類しており、使用登録がある作物には、作残試験 6 例が要求されており、OECD Calculator が使用できる条件を満たすので、本研究では優先度を低くする。
- しかし、「生産量が特に多い作物」に分類されている作物に適用のない農薬の場合は、検討の対象とする。特に、わが国の消費量の大部分を輸入に頼っている小麦、だいにずについては、検討対象として優先度が高い。
- 「生産量が特に多い作物」は以下のとおりである（飼料作物は除く）。

稲、小麦、みかん、かき、なし、りんご、キャベツ、きゅうり、すいか、だいこん、たまねぎ、トマト、なす、にんじん、ねぎ、はくさい、ほうれんそう、レタス、かんしょ、

ばれいしょ、だいにず、茶。これに相当する作物は別添資料 2 に特定した。

- 消費量が多くても、わが国での生産が少ない食品の場合、国内に適用がなければ、JMPR で評価した作残試験を国内の MRL 設定に使用可能である。ただし、特定の国からインポートトレランス設定の申請があれば、その国の GAP に基づいて MRL を設定する必要がある。そのような作物としては、バナナ、パイナップルなどがある。

(2) (1)①で特定した農薬について、わが国の使用基準を調査するとともに、②で特定した食品について JMPR に提出された作残試験があるかどうかを調査  
現在、別添資料 1 に示す有効成分のうち、JMPR の評価があるものについて、上から 5 有効成分 (glyphosate, mancozeb, sodium bentazone, chlorothalonil, captan) について、わが国の GAP を記述するとともに、JMPR に提出された作残試験との比較を実施中である。さらに、もし海外で実施された作残試験があれば、わが国における MRL 設定に使用できるかどうかを検討する。

ただし、これらは古い農薬であるため、glyphosate 以外は、日本以外で登録が抹消されている場合があり、その場合は古いデータを活用するのではなく、これらに次いで出荷量の多い農薬について検討することとする。

## E. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

3. 特記事項

- Meeting of the Drafting Group on Definition of Residue (Subgroup of the Residue Chemistry Expert Group, RCEG)(2020年11月17日及び19日、日本時間20時から24時まで、Zoomによるリモート会議)に参加
- Zoom meetings of the Drafting Group on Definition of Residue (平均5週間で1回。一回当たり1.5時間)に参加
- Zoom meetings of the Drafting Group on Definition of Residue – Residue Subgroup (平均5週間で1回。上記の1週間前に実施。一回当たり1.5 – 2時間)

別添資料 1. わが国において 2019 年度の出荷量が年間 10 万トン以上あった農薬有効成分と、JMPR における評価の有無  
(黄色のハイライトは、ISO 名と農水省名の不整合があるものを示す)

有効成分名	出荷量, t	農薬の種類		化学的分類	ISO 名 (注及び他の英語名)	2000 年以降の JMPR 評価	
		わが国	Alanwood			有無	注釈
D-D(1,3-ジクロロプロペン)	8991377	殺虫剤	Mematicide	Fumigant	1,3-Dichloropropene	No	Spec. 1989
グリホサート(カリウム塩+イソプロピルアミン塩)	6163124	除草剤	Herbicide	OP	Glyphosate	○	
マシン油	4693647	殺虫剤			-	No	-
ダゾメット	2842987	殺菌剤	Fungicide	Cyclic dithiocarbamate	Dazomet	No	
			Herbicide	Dithiocarbamate			
			Nematocide	Unclassified			
マンゼブ	2208211	殺菌剤	Fungicide	Polymeric dithiocarbamate	Mancozeb	○	Dithiocarbamates の一部として
				Zinc			
塩基性硫酸銅	1140547	殺菌剤	Fungicide	Copper	Basic copper sulfate	No	
塩素酸ナトリウム	1002381	除草剤	Herbicide	Inorganic	Sodium chlorate (化学名。ISO common name は不要)	No	
石灰硫黄合剤	866119	殺菌剤	Fungicide	Polysulfide	Calcium polysulfide or Lime sulfur	No	
			Insecticide	Inorganic			
硫酸銅五水塩	856064	殺菌剤	Algicide	None	(農水・厚労名は硫酸銅)	No	
			Fungicide	Copper	無水塩の ISO 名は copper		
			Herbicide	Inorganic	sulfate		
			Molluscicide	None			

有効成分名	出荷量, t	農薬の種類		化学的分類	ISO 名 (注及び他の英語名)	2000 年以降の JMPR 評価	
		わが国	Alanwood			有無	注釈
プロベナゾール	733548	殺菌剤	Bacteriocide Fungicide Plant activator	None Benzothiazole None	(Probenazole, JMAFF)	No	
ブロモブチド	497502	除草剤	Herbicide	Amide	Bromobutide	No	
ベンタゾンナトリウム塩	478698	除草剤	Herbicide	Unclassified	Bentazone-sodium (ISO, 塩の場合は明記)	○	Bentazone
臭化メチル	445756	殺菌剤	Fungicide Herbicide Insecticide Namaticide	Fumigant Fumigant, halogenated apliphatic Fumigant Fumigant	Methyl bromide	○	
TPN	369396	殺菌剤	Fungicide	Aromatic	Chlorothalonil	○	
キャプタン	355433	殺菌剤	Fungicide	Phthalimide	Captan	○	
チオファネートメチル	344604	殺菌剤	Fungicide	Benzimidazole precursor, Carbamate	Thiophanate-methyl	○	
MEP(フェニトロチオン)	338576	殺虫剤	Insecticide	Phenyl organothiophosphate	Fenitrothion	○	
ダイアジノン	313253	殺虫剤	Acaricide Insecticide (bird repellent)	Organothiophosphate Pyrimidine organothiophospahte	Diazinon	○	
塩基性塩化銅	306675	殺菌剤	Bird repellent Fungicide	None Copper	Copper oxychloride	No	
ダイムロン	301725	除草剤	Herbicide	Phenylyurea	Daimuron	No	



有効成分名	出荷量, t	農薬の種類		化学的分類	ISO 名 (注及び他の英語名)	2000年以降の JMPR 評価	
		わが国	Alanwood			有無	注釈
マンネブ	266801	殺菌剤	Fungicide	Polymeric dithiocarbamate	Maneb (JMAFF 英語名 Dymron)	○	Dithiocarbamates の一部として
有機銅	260564	殺菌剤	Fungicide	Copper	Oxine-copper(カナダでは copper-8-quinolinolate)	No	
アセフェート	243126	殺虫剤	Insecticide	Phosphoramidothioate	Acephate	○	
チウラム	235518	殺菌剤	Bird repellent Fungicide	None Dithiocarbamate	Thiram (JMAFF 英語名 Thiuram)	○	
アシュラム	196723	除草剤	Herbicide	Carbamate, sulfonamide	Asulam	No	Spec. 1998
カーバムナトリウム塩 (free もあり 50000 程度)	191625	殺菌剤	Fungicide Herbicide Nematicide	Dithiocarbamate Dithiocarbamate Unclassified	Metam-sodium (フリーの物質の JMAFF 英語名 Carbam)(ISO, 塩の場合は明記)	No	
硫黄	184666	殺菌剤	Acaricide Fungicide	Unclassified Inorganic	Sulfur	No	
プロスルホカルブ	182274	除草剤	Herbicide	Thiocarbamate	Prosulfocarb	No	
プロピネブ	172987	殺菌剤	Fungicide	Polymeric dithiocarbamate, Zinc	Propineb	○	
DBN	164695	除草剤	Herbicide	Nitrile	Dichlobenil (JMAFF 英語名 DBN)	○	
ジノテフラン	160876	殺虫剤	Insecticide	Nitroguanidine neonicotinoid	Dinotefuran	○	
メタミロン	159613	除草剤	Herbicide	Triazinone	Metamitron	No	Spec. 1994
ピラゾレート	154343	除草剤	Herbicide	Benzoylpyrazole	Pyrazolynate (JMAFF 英語名)	No	

有効成分名	出荷量, t	農薬の種類		化学的分類	ISO 名 (注及び他の英語名)	2000 年以降の JMPR 評価	
		わが国	Alanwood			有無	注釈
グルホシネート	148106	除草剤	Herbicide	Organophosphorus	名 Pyrazolate) Glufosinate (ISO, ester や 塩の場合は明記)	○	Ammonium 塩
メチルイソチオシアネート	145084	殺虫剤	Fungicide	Fumigant	(Methyl isothiocyanate, 化 学名) (ISO, common name 不要)	No	天然 物
			Herbicide	Fumigant			
			Insecticide	Fumigant			
			Nematicide	Fumigant			
ペンディメタリン	144299	除草剤	Herbicide	Dinitroaniline	Pendimethalin	○	
アラクロール	138693	除草剤	Herbicide	Chloroacetanilide	Alachlor	No	Spec. 1993
ピラクロニル	136692	除草剤	Herbicide	Nitrile, Pyrazole	Pyraclonil	No	
ブタクロール	135334	除草剤	Herbicide	Chloroacetanilide	Butachlor	No	
トリフルラリン	134602	除草剤	Herbicide	Dinitroaniline	Trifluralin	○	Spec 1992
プレチラクロール	126199	除草剤	Herbicide	Chloroacetanilide	Pretilachlor	No	
リニュロン	121341	除草剤	Herbicide	Phenylurea	Linuron	○	
ジクワット	116114	除草剤	Herbicide	Quarternary ammonium	Diquat (ISO, 塩の場合は 明記)	○	
MCPAナトリウム塩	113982	除草剤	Herbicide	Phenoxyacetic	MCPA-sodium (ISO, エス テルと塩の場合は明記)	No	
ピロキロン	113594	殺菌剤	Fungicide	Unclassified	Pyroquilon	No	
カルタップ	107387	殺虫剤	Insecticide	Nereistoxin analogue	Cartap (ISO, 塩の場合は 明記)	○	
DMTP(メチダチオン)	105496	殺虫剤	Insecticide	Thiadiazole organothiophosphate	Methidathion	○	

有効成分名	出荷量, t	農薬の種類		化学的分類	ISO 名 (注及び他の英語名)	2000 年以降の JMPR 評価		
		わが国	Alanwood			有無	注釈	
DCMU	103589	除草剤	Algicide Herbicide	Phenylurea	Diuron	No	Spec.	1980(TC, DP), 1998(WG)
ベノミル	103323	殺菌剤	Acaricide Fungicide Nematicide	Carbamate Benzimidazole, benzimidazolylcarbamate Carbamate	Benomyl	○		
イミノクタジン酢酸塩(別の塩もあり 50000 程度)	102317	殺菌剤	Fungicide	Aliphatic nitrogen	Iminoctadine triacetate (ISO, 塩の場合は明記) (昔は ISO 名が guazatine であったが、商品は反応 生成物であることが分か ったので、定義が変更に なった)	No		
2, 4-PAジメチルアミン	101054	除草剤	Herbicide Plant growth regulator	Phenoxyacetic Auxin	2,4-D-dimethylammonium (ISO, エステルまたは塩 の場合は明記)	○		
JMPR 評価済み有効成分						24		

別添資料2. わが国全体の総食品消費量のうち0.01%以上を占める食品と作残試験実施における「生産量が特に多い作物」との整合

消費量の多い順	作業のため、あいうえお順にしたもの	
	食品名	「生産量が特に多い作物」に該当するか?
米	アスパラガス	—
小麦	いちご	—
じゃがいも(ばれいしょ)	いよかん(かんきつ類に統合)	—
だいず	いんげん類	—
えだまめ	うめ	—
だいこん類	うんしゅうみかん(かんきつ類に統合)	○
ラディッシュ(だいこんとは残留濃度が異なる)	えだまめ	—
トマト	えんどう	—
たまねぎ	おおむぎ	—
りんご	オクラ	—
キャベツ	オレンジ類(かんきつ類に統合)	—
芽キャベツ(キャベツとは残留濃度が異なる)	ガーキン類(きゅうりとは残留濃度が異なる)	—
きゅうり	かき	○
ガーキン類(きゅうりとは残留濃度が異なる)	かぶ類	—
にんじん	かぼちゃ類	—
うんしゅうみかん	キウイ	—
はくさい	キャベツ	○
バナナ	きゅうり	○
ほうれんそう	きょうな	—
なす	ごぼう	—
柿	こまつな	—
ねぎ類(含りキ)	こむぎ	○
かぼちゃ類	こめ	○
サマースカッシュ(未成熟で収穫するので残留濃度がかぼちゃと異なる)	ササゲ類	—
ぶどう	さつまいも(かんしょ)	○
レタス	さといも	—

消費量の多い順	作業のため、あいうえお順にしたもの	
	食品名	「生産量が特に多い作物」に該当するか?
すいか	サマースカッシュ(未成熟で収穫するので残留濃度がかぼちゃと異なる)	—
オレンジ類	じゃがいも(ばれいしょ)	○
さつまいも(かんしょ)	しゅんぎく	—
なし	しょうが	—
緑茶(茶葉・乾燥)	すいか	○
いちご	だいこん類	○
大麦	だいず	○
ブロッコリー	たけのこ	—
さといも	たまねぎ	○
こまつな	ちゃ	○
ピーマン	チンゲンサイ	—
とうもろこし	とうもろこし	—
ごぼう	トマト	○
たけのこ	なし	○
メロン	なす	○
もも・ネクタリン	なつみかん(かんきつ類に統合)	—
かぶ類	にがうり	—
やまいも類	にら	—
いんげん類	にんじん	—
きょうな	ねぎ類(含りき)	○
キウイ	パイナップル	—
にら	はくさい	○
いよかん	バナナ	—
ササゲ類	ピーマン	—
チンゲンサイ	ぶどう	—
れんこん	ブロッコリー	—
パイナップル	ほうれんそう	○
アスパラガス	めキャベツ(キャベツとは残留濃度が異なる)	—
にがうり	メロン	—
えんどう	もも・ネクタリン	—
しゅんぎく	やまいも類	—
しょうが	ラディッシュ(だいこんとは残留濃度が	—

消費量の多い順	作業のため、あいうえお順にしたもの	
	食品名	「生産量が特に多い作物」に該当するか?
オクラ うめ なつみかん	異なる) りんご レタス れんこん	○

### 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
該当なし					

令和3年 3 月 29 日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 合田 幸広 印

次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費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 輸出先国のリスク管理に対応した残留農薬データ等の補完に関する研究 (20KA2002)
- 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) 渡邊 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	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
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	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
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: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※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) 未審査の場合は、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 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

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 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (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 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (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 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (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 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (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3年 5月 12日

厚生労働大臣  
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿  
(国立保健医療科学院長)

機関名 東京農業大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 江口 文陽

次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費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 輸出先国のリスク管理に対応した残留農薬データ等の補完に関する研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 応用生物科学部農芸化学科・准教授  
(氏名・フリガナ) 加藤 拓・カトウ タク

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	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
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	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
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: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※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) 未審査の場合は、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 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

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 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (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 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (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 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (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 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (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。

厚生労働大臣 殿

令和3年 4月 6日

機関名 日本ハム株式会社 中央研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 岩間 清

次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費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 輸出先国のリスク管理に対応した残留農薬データ等の補完に関する研究 (20KA2002)
3. 研究者名 (所属部局・職名) 品質科学センター ・ センター長  
(氏名・フリガナ) 荒川 史博 ・ アラカワ フミヒロ

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	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
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	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
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: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※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 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

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 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (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 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (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 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (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 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する口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 3年 3月 31日

厚生労働大臣 殿

機関名 国際食品安全コンサルタント

所属研究機関長 職 名 代表

氏 名 山田 友紀子

次の職員の令和2年度厚生労働科学研究費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 輸出先国のリスク管理に対応した残留農薬データ等の補完に関する研究 (20KA2002)
3. 研究者名 (所属部局・職名) 代表
- (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	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
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	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
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: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※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) 未審査の場合は、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 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

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 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (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 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (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 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (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 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (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。