

厚生労働科学研究費補助金

食品の安全確保推進研究事業

食品や環境からの農薬等の摂取量の推計と

国際標準を導入するための研究

(令和3年度)2021年度 総括研究報告書

研究代表者 鈴木 美成

令和4年(2022)年 5月

## 目 次

I. 総括研究報告		
食品や環境からの農薬等の摂取量の推計と 国際標準を導入するための研究 鈴木美成	-----	1
II. 分担研究報告		
1. 食品を介した農薬等の摂取量推定に関する研究 鈴木美成	-----	17
2. 食品以外の暴露要因である環境中の農薬濃度の評価に関する研究 鈴木美成・大河内博	-----	58
3. 総合的な摂取量評価における推定値の精緻化および 信頼性の向上に関する研究 鈴木美成	-----	75
4. 検査部位の変更が残留農薬等の検査及び分析結果に及ぼす影響と 対処法の検討 根本 了	-----	114
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	139

# I. 総括研究報告



研究代表者 国立医薬品食品衛生研究所 鈴木美成

## 研究要旨

### 課題 1. 食品を介した農薬等の摂取量推定に関する研究

一日摂取許容量 (ADI) に対する推定摂取量の割合が高いと推定されている農薬、国民の関心が高まっているネオニコチノイド系農薬および残留性の高い有機塩素系農薬計 26 農薬に対して、食品を介した摂取量評価を行った。これらの農薬の 1 日推定摂取量の ADI に対する比率を算出したところ、全ての農薬において、対 ADI 比は 1%未満であった。対 ADI 比が比較的高かったのは、クロルデン (0.32%)、ヘプタクロル (0.19%)、クロルピリホス (0.18%)、アセフェート (0.13%)であった。

### 課題 2. 食品以外の暴露要因である環境中の農薬濃度の評価に関する研究

2019 年度に構築した分析法を基にして、ADI に対する推定摂取量の割合が高いと推定されている農薬を中心として、都市部と地方部において大気中農薬濃度の分析を行った。地方においてブプロフェジンのみが検出され、都市部においてはフェントロチオン、アセフェート、フルアジホップブチル、ノバルロン、クロルピリホス、ブプロフェジン、ボスカリドが検出された。また、季節変動や日内変動も観察された。検出された大気中農薬濃度はいずれも低値であり、1 日に最大濃度の大気中農薬を 24 時間暴露したと仮定しても、全ての農薬において ADI に対する比率は 1%未満であった。

### 課題 3. 総合的な摂取量評価における推定値の精緻化および信頼性の向上に関する研究

国民が食品を介して摂取する農薬の量をより精緻に推定するために、1) ベイズ推定 (BE) 法を用いた農薬摂取量の推定、2) 真値に 0 を含むデータにおける統計妥当性の高い推定法、3) 二次元モンテカルロシミュレーションを用いた摂取量分布の推定に関して検討を行った。1 日農薬摂取量の理論平均値に関する事後予測分布と LOQ の 0.2 倍の値を代入した推定値および最尤推定 (MLE) 法と比較した。この点を踏まえると、BE 法による推定結果の方が MLE 法による推定結果よりも妥当である可能性が示唆された。

また、非天然型農薬は、使用履歴が無ければ、検体中の残留農薬含有量が 0 である可能性もありうる。そこで、真値に 0 を含むデータの推定 に関して、ゼロ過剰対数正規 (ZILN) 分布を仮定して BE 法と MLE 法による推定値の真度・精度・妥当性について数値シミュレーションを用いて検討した。その結果、MLE 法よりも BE 法の方が、推定の真度・精度・妥当性が良好であった。さらに、この傾向は事前分布の設定に寄らず、無情報事前分布を用いた場合でも BE 法の方が MLE 法よりも良好な真度・精度・妥当性を示した。以上のことから、ZILN 分布に従う不検出例を含むデータの解析においても、BE 法が有効であることが示された。以上結果を基にゼロ過剰モデルも考慮して、各食品群中の農薬濃度分布を BE 法で推定し、2D-MCS による残留農薬摂取量分布を推定した。ADI を超過する確率は、アセフェートの 0.001%が最大であったことから、検討したいずれの農薬も健康リスクは小さ

いと示唆された。さらに、2D-MCS から推定した結果と、摂取量のデータから BE 法で推定した結果を比較したところ、農薬摂取量の平均値の事後予測分布が良い一致を示した。以上のことから、いずれの推定方法も妥当であると考えられた。

以上の検討により、食品に含まれる残留農薬を対象とした統計的推定において BE 法は有効であることが示された。

#### **課題 4. 検査部位の変更が残留農薬等の検査及び分析結果に及ぼす影響と対処法の検討**

検査部位が変更される果実を含めた 10 食品について、通常常温磨砕法よりも均質な試料が得られる可能性が高い凍結粉砕法を用いた試料調製を検討した。凍結粉砕法の操作手順を確立した後、試料の粉砕状況を常温磨砕法と比較した。その結果、柔軟性のある果皮は凍結粉砕法の方が微粒子となったのに対し、硬い種子や果皮は常温磨砕法の方が小さくなる傾向が認められ、食品によって均質化しやすい試料調製法が異なることが明らかとなった。また、農薬が残留した食品を凍結粉砕法及び常温磨砕法で試料調製し、分析値のばらつきを求めた結果、均質性が低い場合、少量の試料を分析に供すると農薬の分布によってはばらつきが大きくなることが示された。これらの結果から、食品によって適切な試料調製法を選択するのが望ましいと考えられた。

#### **研究分担者**

根本 了 (国立医薬品食品衛生研究所  
食品部第一室長)

大河内 博 (早稲田大学理工学術院教授)

#### **研究協力者**

坂井隆敏 (国立医薬品食品衛生研究所  
食品部主任研究官)

菊地博之 (国立医薬品食品衛生研究所  
食品部主任研究官)

志田 (齊藤) 静夏 (国立医薬品食品衛生研究所  
食品部主任研究官)

川嶋文人 (愛媛大学農学研究科教授)

青柳光敏 (北海道立衛生研究所)

平間祐志 (北海道立衛生研究所)

竹脇優太郎 (北海道立衛生研究所)

宮島祥太 (北海道立衛生研究所)

伊藤 功一 (秋田市保健所)

戸田英汰 (秋田市保健所)

林 孝子 (神奈川県衛生研究所)

萩尾真人 (神奈川県衛生研究所)

新宅 沙織 (和歌山県環境衛生研究センター)

中島 安基江 (広島県立総合技術研究所)

井原紗弥香 (広島県立総合技術研究所)

川崎恭寛 (広島県立総合技術研究所)

堀 就英 (福岡県保健環境研究所)

佐藤 環 (福岡県保健環境研究所)

飛石和大 (福岡県保健環境研究所)

#### **A. 研究目的**

##### **課題 1. 食品を介した農薬等の摂取量推定に関する研究**

厚生労働省では食品を介した残留農薬等の暴露量を推定し、ADI の 80%を超えないよう食品中残留農薬等の基準値を設定している。しかし、食品以外の暴露経路も懸念され、例えば、家庭用殺虫剤を使用することで経気暴露の可能性がある。食品を介した農薬等の暴露推定のみを根拠とした食品中残留農薬の基準値設定は、食品以外の暴露量に不確定な要素があるため、

精密なリスク管理には食品以外の経路も含めた総合的評価が必要である。

本研究班においては、ADI が低く設定されている成分かつ、一日推定摂取量試算での ADI 占有率が 70%を超える農薬等、国民の関心の高いネオニコチノイド系農薬、および残留性の高い有機塩素系農薬を主な調査対象物質とした。また、本分担課題においては、食品からの摂取量をマーケットバスケット (MB) 法によるトータルダイエツト (TD) 試料を用いた評価研究を行った。

## **課題2. 食品以外の暴露要因である環境中の農薬濃度の評価に関する研究**

厚生労働省では食品を介した残留農薬等の暴露量を推定し、ADI の 80%を超えないことを確認している。しかし、国際的には ADI の 100%を基に食品中の残留農薬基準値が設定されているのが現状である。日本において ADI の 80%としているのは、農薬摂取は 80%が食品から、残りの 20%は環境由来の経気暴露あるいは経皮暴露によるものとの仮定の元に成り立つ。食品以外の暴露経路として、室内で家庭用殺虫剤を使用する、あるいは家庭菜園等に散布した農薬の経気暴露の可能性がある。

しかしながら、全農薬摂取量の 20%と設定するに足る科学的な根拠は充分ではない。したがって、食品を介した農薬等の暴露推定のみを根拠とした食品中残留農薬の基準値設定は、食品以外の暴露量に不確定な要素があるため、精密なリスク管理には食品以外の経路も含めた総合的評価が必要である。そこで、本年度は都市部 (東京都) および地方 (愛媛県) において空气中農薬の分析を行った。

## **課題3. 総合的な摂取量評価における推定値の精緻化および信頼性の向上に関する研究**

食品を介した農薬の摂取量評価は、残留農

薬基準値といった健康リスクの管理を目的とする規格値策定等の行政施策の検討、及び効果検証のための科学的根拠となる。

食品中の農薬濃度については打ち切り問題が生じる。打ち切り (censoring) は、ある値よりも大きい、小さい、またはその両方の値を非表示にする。より具体的に残留農薬分析の場合について言及すると、検出限界 (LOD) あるいは定量下限値 (LOQ) 未満のデータは、妥当な数値を割りてゐることは困難となる。とくに、本研究課題の様に複数の研究機関が参加した調査の場合には、ある機関の LOQ が他の機関の LOQ よりも高い場合に ND となった場合には影響が大きくなる。

これまでの厚生労働省が主体となって行ってきた農薬摂取量評価において、LOD 未満・および LOD 以上 LOQ 未満のデータは、ND として扱い、ND には LOQ の 0.2 倍した値を代入し平均的な摂取量を評価してきた。しかしながら、代入法は問題のある方法として認識されて来ている。限定された場合のみ使用を推奨されるようになってきている。代入法に代わり、最尤推定 (MLE) 法などの代替法の使用が推奨されて来ている。しかしながら、サンプル数が少ない場合は、検出値と検出された割合のみを報告すべきとの提言もある。

このような場合に、ベイズ推定 (BE) が有効となる可能性がある。BE 法は尤度分布にこれまでの知識を用いて重み付けしたものと解釈できる。適切な事前分布を用いることで、MLE 法よりも安定した推定値を得ることができると期待されている。そこで、2019 年から 2021 年度の間に得られた農薬摂取量のデータに対して、BE 法による推定を行い、代入法および MLE 法との相違について評価した。

ND の問題と関連して、非天然型農薬は、使用履歴が無ければ、検体中の残留農薬含有量が 0 である可能性もありうる。近年になって、真値に 0 を含むようなデータの解析に関する報告がなされてきた。そこで、本研究では真値が 0 と

る割合および不検出割合について幅広い組合せで、BE 法と MLE 法による推定結果の真度・精度・妥当性について評価を行った。また、BE 法については事前分布の影響についても検討した。さらに、TD 試料中の農薬濃度について適用を試み、モンテカルロシミュレーション (MCS) を用いた農薬の摂取量推定を行った。

#### **課題 4. 検査部位の変更が残留農薬等の検査及び分析結果に及ぼす影響と対処法の検討**

国内の残留農薬等の検査における検査部位は『食品、添加物等の規格基準 (昭和 34 年厚生省告示第 370 号)』に規定されているが、一部の食品は CODEX 基準と一致していない。検査部位の不一致は輸出入の際に係争の原因となるため、国際的な整合を図る必要がある。CODEX 基準の検査部位を採用した場合、現行の検査部位とは試料マトリックス等が異なるため、試験操作や分析結果に影響を及ぼす可能性がある。そこで本研究では、検査機関における変更後の検査部位の円滑な導入及び運用を目的として、検査部位の変更によって起こり得る検査への影響や問題点を把握するとともに、それらの対処法について提案する。

令和 3 年度 (2021 年度) は、検査部位が変更される果実を含めた 10 食品について、通常の常温磨砕法よりも均質な試料が得られる可能性が高い凍結粉砕法を用いた試料調製を検討し、試料の粉砕状況や分析値のばらつきを比較することを目的とした。

## **B. 研究方法**

### **課題 1. 食品を介した農薬等の摂取量推定に関する研究**

日常食からの残留農薬摂取量を推定するため、日常食のモデルとして MB 方式による TD 試料を調製した。各地域における個々の食品喫食

量は、平成 26 から平成 28 年に行われた国民健康・栄養調査の結果を地域別に集計した平均値を用いた。2019 年の夏から秋にかけて、各地の小売店から食品を購入し、一日当たりの摂取量に従って秤量し、茹でる、焼く等の一般的な調理加工を行ってから、混合・均一化して試料とした。分析に必要な均質性を確保する目的から、調製時に試料に加水される場合があるが、その量は農薬濃度を算出する過程において考慮した。

TD 試料は、混合・均質化の際に組み合わせる食品の種類に応じて、下記 14 群に分割して調製した。1 群:米及びその加工品、2 群:雑穀・芋、3 群:砂糖・菓子類、4 群:油脂類、5 群:豆・豆加工品、6:果実類、7 群:有色野菜、8 群:その他の野菜・海草類、9 群:嗜好飲料、10 群:魚介類、11 群:肉・卵、12 群:乳・乳製品、13 群:調味料、14 群:飲料水。

各食品群に含まれる農薬等濃度は、LC-MS/MS あるいは GC-MS/MS で分析し、得られた濃度と食品喫食量を掛け合わせて、各食品群からの一日当たりの食品を介した残留農薬摂取量とした。各食品群からの残留農薬摂取量の総和を推定 1 日摂取量とした。各分析は 3 試行で行い、各食品群において 1 試行で添加試料の分析を行うことを基本とした。

### **課題 2. 食品以外の暴露要因である環境中の農薬濃度の評価に関する研究**

#### **1. 捕集地点**

採取地点は、地方部の大気として、愛媛大学 (愛媛県松山市) の食堂、農場近傍、建物近傍で行った。都市部の大気として、早稲田大学西早稲田キャンパス (東京都新宿区) のある研究棟屋上 (高さ 65 m) で行った。

#### **2. 捕集方法**

捕集フィルターには、石英フィルター (東京ダ



イレック製 Model 2500 QAT-UP, 47 mm) 及びエムポアディスク C18 FF オクタデシル (3M 製, 47 mm) を用いた。捕集フィルターは事前に測定対象化合物が無いことを確認し、そのまま用いた。捕集時に使用するフィルターホルダーは、使用前にアセトン及びヘキサンで溶媒洗浄を行い、乾燥させた後サンプリングに用いた。前段に石英フィルター、後段にエムポアディスクを配置し、6～24 時間捕集した。LC-MS/MS あるいは GC-MS/MS で分析した。

### 3. ウェラブルサンプラーによる大気中農薬濃度の曝露量評価

ウェラブルサンプラーに用いる捕集材として、ポリジメチルシロキサン (PDMS) をコーティングさせた Twister (ゲステル社製) を用いて屋内、屋外での採取を行った。

#### 課題3. 総合的な摂取量評価における推定値の精緻化および信頼性の向上に関する研究

##### 1. 尤度関数

打ち切りとなったレコードには累積確率関数  $F(L, U|\theta) = P(L \leq Y \leq U|\theta)$  から累積確率を使用して、尤度関数次のように求めることが出来る。

$$L(\theta|Y) = \prod_{i=1}^{N_{\text{obs}}} f(Y_i|\theta) \cdot \prod_{j=1}^{N_{\text{cen}}} F(L_j, U_j|\theta)$$

ここで、 $N_{\text{obs}}$  は定量値が得られたサンプル数、 $N_{\text{cen}}$  は定量値未満のサンプル数、 $L_j$  はサンプル  $j$  の下限値、 $U_j$  は上限値を示す。この尤度関数を用いて、MLE 法及び BE 法で解析を行った。

##### 2. 残留農薬摂取量分布の解析

残留農薬摂取量のデータには 2019 年から 2021 年に本研究班で行った TD 試料を用いた調査による、残留農薬摂取量の下限値および上限値を用いた。ただし、下限値がすべて 0 となった農薬及び、サンプル数が 2 未満の農薬は除いた。

解析には R (3.4.0) を用いた。BE 法の計算は rstan パッケージ (2.16.2) を用いた。作成したベイズモデルの妥当性は、広く使える情報量規準 [widely applicable information criterion (WAIC)] を用いて WAIC が最も低いモデルを採用した。MLE 法は Excel のソルバー機能を使用して、一般化簡約勾配法により最適解を算出した。

### 3. 数値シミュレーション

以下の①～⑥に従って、MLE 法および BE 法で分布パラメーターの推定を行った。

- ① サンプルサイズ=200、幾何平均値=1、幾何標準偏差=3 の乱数を生成した。
- ② 真値が 0 のレコードとなる割合  $\omega$  (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9) を決め、200 のサンプルから  $\omega$  の割合で 0、 $(1 - \omega)$  の割合で 1 を生成し、①と掛け合わせることで ZILN 分布に従う乱数を得た。
- ③ 不検出割合  $\phi$  (0.15, 0.25, 0.35, 0.45, 0.55, 0.65, 0.75, 0.85, 0.95) を決めた。ただし、 $\phi > \omega$  を満たす。
- ④ 不検出とした最大値—検出された最小値間の一様分布から、不検出となる基準 (reporting limit, RL) を決めた。不検出となった測定値の下限値を 0、上限値を RL とした。
- ⑤ 無情報、弱情報、強情報事前分布を用いた BE 法および MLE 法を用いて、分布パラメーター等を推定した。その際には Eq.2 で示した尤度関数を用いた。ただし、 $L$  の値には 0 を、 $U$  の値には RL を用いた。
- ⑥ ①～⑤を 1000 回 ( $N_{\text{sim}}$ ) 繰返す。

BE 法においては、3 つの事前分布を用いた；無情報事前分布、弱情報事前分布 [ $\text{gsd} \sim \text{cauchy}(3,1)$ ,  $\text{mean\_est} \sim \text{cauchy}(\text{mean}^{\text{MB}}, \text{mean}^{\text{MB}})$ ]、特定情報事前分布 [ $\omega \sim N(\omega, \omega/10)$ ,  $\text{gm} \sim N(1,0.1)$ ,  $\text{gsd} \sim N(3, 0.3)$ ]。ここで、 $\text{mean}^{\text{MB}}$  は不検出となった観測値に LOQ の半値を代入して算出した平均値である。

推定した分布パラメーターおよび期待値等について、以下の項目で評価した。

$$\text{真度: rMSE}(\hat{\theta}) = \sqrt{\frac{\sum(\hat{\theta} - \theta)^2}{N_{\text{sim}}}}$$

精度: RSD( $\hat{\theta}$ )

妥当性: 平均値の 95%推定区間に母平均が含まれる確率

平均値の 95%推定区間は、BE 法では事後予測分布の 95%信用区間を用い、MLE 法ではブートストラップ法 (500 回) を用いて計算した平均値の 95%区間を用いた。

解析には R (4.1.0) を用いた。BE 法の計算は cmdstanr パッケージ (2.16.2) を用いた。MLE 法の計算は stats パッケージ (4.1.0) の constrOptim 関数を用いた。

#### 4 二次元モンテカルロシミュレーションによる残留農薬摂取量分布の推定

TD 試料中の残留農薬濃度データには、2019 年から 2021 年に本研究班で行った TD 試料中の残留農薬濃度の下限値および上限値を用いた。各食品群の喫食量には、2014 年から 2016 年の国民健康・栄養調査のデータを用いた。

解析には R (3.4.0) を用いた。BE には rstan パッケージ (2.16.2) を用いて、2000 個のモンテカルロサンプルを事後予測分布として得た。得られた事後予測分布を分布パラメーターとする乱数を 50 個発生させ、計 10 万 (2000×50) 個の乱数を残留農薬濃度及び喫食量について生成した。

### 課題 4. 検査部位の変更が残留農薬等の検査及び分析結果に及ぼす影響と対処法の検討

#### 1. 食品

果実 (みかん、びわ、もも、キウイ、すいか、まくわうり、メロン、トマト、ぶどう及びパイナップル)、大豆及びごまの種子 (洗いごま及びいりごま) はインターネットを介して購入したものを用いた。みかん、びわ、もも、キウイ、すいか、まくわうり及びメロンについては変更後の検査部位、トマト、ぶどう、パイナップル、大豆及びごまの種子は食品、添加物等の規格基準 (昭和 34 年厚生省告示第 370 号) の第 1 食品の部 A 食品一

般の成分規格に示された部位を試料調製した。

#### 2. 試料調製

検体約 500 g を約 2.5 cm 角にカットし、常温磨砕法 (A) 及び凍結粉砕法 (B~D) の各方法で試料調製した。なお、びわ及びももの種子はいずれの方法でも粉砕が困難であったため、種子を除いた後、試料調製を行った。

##### A. 常温磨砕法

カットした検体約 500 g を全量、粉砕機に入れ、120 秒間磨砕した。

##### B. 凍結粉砕法 (液体窒素・凍結方式)

①ステンレスビーカー (5 L 容) に液体窒素を約 2 L 入れ、カットした検体約 500 g を加えた。

②①の液体窒素が 500 mL 程度となったら、液体窒素をさらに 1~2 L 加え、合計 4 分間冷却した。

③液体窒素約 200 mL を粉砕機に入れ、約 5 秒間運転し、粉砕機を冷却した。

④②で得られた凍結試料の約半量をステンレス製穴あきおたまを用いて粉砕機に入れ、10 秒間粉砕した。

⑤残りの凍結試料を穴あきおたまを用いて粉砕機に加え、110 秒間粉砕した。

##### C. 凍結粉砕法 (ドライアイス・予冷方式)

①カットした検体約 500 g 及び検体重量の 1.1 倍量のドライアイス (約 550 g) を予冷用容器に入れ、蓋を被せ (密閉せずに)、3 分間予冷した。なお、予冷容器に入れる際は、予冷に用いるドライアイスの約半量を入れた後、検体を加え、その上に残り半量のドライアイスを加えた。また、予冷中は、約 30 秒毎に 5 秒間程度、容器を振り、よく混合した。

②粉砕機にドライアイス 100 g (粉砕機冷却用) を入れ、約 10 秒間運転し、粉砕機を冷却した。

③①で得られたドライアイス混合試料の約半量を粉砕機に入れ、10 秒間粉砕した。

④残りのドライアイス混合試料を粉砕機に加え、110 秒間粉砕した。

#### D. 凍結粉砕法 (ドライアイス・予備凍結方式)

①カットした検体約 500 g をフリーザーバッグに入れた。これを冷凍庫 (-30°C) で一晩静置し、凍結した。

②粉砕機にドライアイス 100 g (粉砕機冷却用) を入れ、約 10 秒間運転し、粉砕機を冷却した。

③①で得られた凍結試料の約半量を粉砕機に入れ、10 秒間粉砕した。

④残りの凍結試料及び試料重量の 0.5 倍量のドライアイス (約 250 g) を加え、110 秒間粉砕した。

#### 3. 粒子径分布測定

調製した試料の粒子径分布をレーザ回折法により測定した。

#### 4. 分析値のばらつきを検討

農薬が残留したぶどう (巨峰、種子なし) を a ~d の各方法により試料調製した。得られた試料を量り採り (試料量 5、10 及び 20 g: 各 5 個)、試験溶液を調製後、LC-MS/MS で測定し、分析値及びそのばらつきを求めた。

#### C. 研究結果及び考察

##### 課題 1. 食品を介した農薬等の摂取量推定に関する研究

ND となったデータに、LOQ の 0.2 倍を代入して算出した農薬の 1 日推定摂取量は、1 日推定摂取量は、BHC: 0.078 µg/person/day, γ-BHC: 0.078 µg/person/day, アセタミプリド (代謝物含む): 1.17 µg/person/day, アセフェート: 0.177 µg/person/day, イミダクロプリド: 0.067 µg/person/day, インドキサカルブ: 0.005 µg/person/day, クロチアニジン: 0.418 µg/person/day, クロルピリホス: 0.099 µg/person/day, ジノテフラン: 2.67 µg/person/day,

スルホキサフロル: 0.923 µg/person/day, チアクロプリド: 0.137 µg/person/day, チアメトキサム: 0.309 µg/person/day, テフルトリン: 0.078 µg/person/day, ニテンピラム: 0.067 µg/person/day, ノバルロン: 0.114 µg/person/day, ハルフェンブロック: 0.078 µg/person/day, ビフェントリン: 0.112 µg/person/day, ピリダベン: 0.048 µg/person/day, フェニトロチオン: 0.235 µg/person/day, ブプロフェジン: 0.050 µg/person/day, フルアジホップブチル(代謝物含む): 0.089 µg/person/day, フルベンジアミド: 0.468 µg/person/day, ヘキサジノン: 0.043 µg/person/day, ヘプタクロル (異性体含む): 0.012 µg/person/day, ポスカリド: 0.871 µg/person/day, メタミドホス: 0.018 µg/person/day であった。

調査した全ての農薬において、対 ADI 比は 1%未満であった。対 ADI 比が比較的高かったのは、クロルデン (0.32%), ヘプタクロル (0.19%), クロルピリホス (0.18%), アセフェート (0.13%) であった。

##### 課題 2. 食品以外の暴露要因である環境中の農薬濃度の評価に関する研究

#### 1. 地方部における大気中農薬の実態評価

本分析法を用いて愛媛大学 (愛媛県松山市) の農場近傍、建物近傍、食堂の 3 か所にて n=2 で大気中農薬の測定を行った。サンプリングは 2020 年 10 月~2022 年 2 月の期間に月 1 回、晴天または曇りの日の 10 時~17 時の間に行った。4 月、6 月、7 月の農場近傍と建物近傍の 2 か所において対象農薬のうちブプロフェジンのみが検出され、6 月、7 月の検出濃度は定量下限値 (0.73 ng/m<sup>3</sup>, 1.14 ng/m<sup>3</sup>) 以上の 5.2~6.2 ng/m<sup>3</sup>であった。食堂では全期間において対象農薬は検出されなかった。また、7 月のサンプリング時に建物近傍にて 24 時間サンプリングも行

い、ブプロフェジン 1.8 ng/m<sup>3</sup>を検出した。日中の6時間サンプリングの濃度が24時間サンプリングの検出濃度がよりも高いことから、ブプロフェジンの夜間の揮散は少ないものと推測された。

ブプロフェジンは蒸気圧  $4.2 \times 10^{-5}$  Pa (20°C) の比較的揮発しやすい農薬である。また、分解性については pH7 での加水分解半減期 378 日 (25°C)、水中光分解における自然水中での半減期 14 日 (25°C) と報告されている。これらの物性から散布形態等によっては飛散が予想され、本サンプリング方法における検出は十分に可能と考えられる。

また、ブプロフェジンは本暴露評価の測定対象農薬 14 種の内、愛媛県で最も使用される農薬である。2019 年度における愛媛県の農薬に係る適用対象別・対象化学物質別の排出量推計結果によると、年間推定使用量 1803 kg であり、農薬 155 種における使用順位 18 位となっている。県内での使用内分けとしては果樹が 74%と最も多く、次に家庭 10%、田 9%となっている。使用時期としては、平成 23 年度の愛媛県の農作物病害虫等防除指針によると 4 月～10 月であり、特に 5 月～8 月にかけての使用作物種 (柑橘類、水稻、桃、栗、キウイフルーツ、イチジク等) での使用が多い。サンプリング地点である農場近傍、建物近傍は果樹 (柑橘類) や田が多い。また、これらの防除指針における散布時期は柑橘 5 月～10 月、田 4 月中旬～8 月までである。以上のことから、今回の調査においてブプロフェジンが検出されたことは、物性・散布時期の観点からも妥当であると考えられた。

## 2. 都市部における大気中農薬の実態評価

季節変化を明らかにすることを目的として、春季として 2021 年 3 月 29 日～4 月 2 日、夏季として 7 月 19～24 日、8 月 23～28 日、秋季として

10 月 18～21 日、冬季として 2022 年 1 月 5～8 日にかけて昼夜 12 時間採取 (6:00～18:00、18:00～6:00) を行った。その結果、最大濃度に着目すると、フェニトロチオン 36.44 (ng/m<sup>3</sup>) は春季、アセフェート 2.10 (ng/m<sup>3</sup>)、フルアジホップチル 1.43 (ng/m<sup>3</sup>)、ノバルロン 2.81 (ng/m<sup>3</sup>) は夏季、クロルピリホス (夏季:0.47 ng/m<sup>3</sup>、冬季:0.38 ng/m<sup>3</sup>) とブプロフェジン (夏季:0.12 ng/m<sup>3</sup>、冬季:0.13 ng/m<sup>3</sup>) は夏季と冬季、ボスカリド (秋季:0.26 ng/m<sup>3</sup>、冬季:0.29 ng/m<sup>3</sup>) は秋季と冬季に高いことが分かった。なお、インドキサカルブ、ヘキサジノン は秋季にのみ検出され、それぞれ  $0.16 \pm 0.031$  ng/m<sup>3</sup>、 $0.15 \pm 0.100$  ng/m<sup>3</sup>であった。ボスカリドは気温が低下する秋季と冬季に高いことから、粒子態として大気中に存在している可能性が考えられた。アセフェートはすべての季節を通じて夜間にのみ検出されることが明らかになった。

室内環境中農薬を調べるため、2021 年 4 月 22 日から 23 日、12 月 15 日から 19 日にかけて、横浜市中川スクウェア (住宅展示場) で築 17 年の住宅内のウォークインクローゼット内で 24 時間毎の採取を行った。クロルピリホスの明瞭なピークが検出されたものの検出下限であった。

## 3. ウェラブルサンプラーに関する検討

室内実験により Twister による農薬吸着特性を調べた。30°C に設定した密閉恒温槽内で農薬の揮発を行って Twister で捕集し、アセトンで超音波抽出を行って LCMS および GCMS で各種農薬を定量した。GCMS で定量したクロルピリホス、フェニトロチオン、ヘプタクロルは蒸気圧に応じた回収量が得られた。一方、LCMS で定量したフルアジホップ、ピリダベン、アセフェート、ブプロフェジン、メタミドホス、クロルピリホスは、蒸気圧が低いことからバラツキが大きいものの、蒸気圧とともに回率が増加する傾向が見られ

た。

次に、最適暴露日数の検討を行ったところ、蒸気圧の高いクロルピリホス、フェントロチオン、ヘプタクロルは 14 日までは日数とともに直線的に回収率が增大したが、これ以降は減少することが明らかとなった。したがって、蒸気圧の高いクロルピリホス、フェントロチオン、ヘプタクロルは二週間程度の屋外暴露によりパッシブサンプラーにより大気中濃度を計測できるものと考えられた。今後、屋外暴露試験により大気中農薬の広域濃度分布を調べ、都内における発生源解明を行って行く予定である。

#### 4. 吸入曝露による農薬摂取量の推定

検出された大気中農薬濃度の最大値と、日本人の平均呼吸率 (17.3 m<sup>3</sup>/day) を用いて、吸入曝露量を評価したところ次のように推定された；フェントロチオン：0.630 μg/person/day, アセフェート：0.036 μg/person/day, フルアジホップブチル：0.025 μg/person/day, ノバルロン：0.049 μg/person/day, クロルピリホス：0.008 μg/person/day, ブプロフェジン：0.107 μg/person/day, ボスカリド：0.005 μg/person/day, インドキサカルブ：0.003 μg/person/day, ヘキサジノン：0.003 μg/person/day。

体重 55 kg とすると、対 ADI 比は次のように推定された；フェントロチオン：0.23%, アセフェート：0.03%, ブプロフェジン：0.02%, フルアジホップブチル：0.01%, ノバルロン：0.01%, クロルピリホス：0.01%, ボスカリド：2.1 × 10<sup>-4</sup>%, インドキサカルブ：9.7 × 10<sup>-4</sup>%, ヘキサジノン：9.6 × 10<sup>-5</sup>%。

上記の推定は過剰な吸引曝露量として推定したものであるが、対 ADI 比は 1%未満であった。この結果から、日本において一般的な生活をしている限りは、農薬の吸入曝露による健康リスクは小さいことが示唆された。

### 課題 3. 総合的な摂取量評価における推定値の精緻化および信頼性の向上に関する研究

#### 1. 残留農薬摂取量分布の解析

BE 法では、対数正規分布が 12 農薬で、ガンマ分布が 4 農薬で、ワイブル分布が 4 農薬でも適していると判断された。

対数正規分布の形状パラメーターは平均して 3.14 ± 1.20、ガンマ分布の形状パラメーターは 1.63、ワイブル分布の形状パラメーターは平均して 0.97 ± 0.51 であった。これらの値は、設定した事前分布との乖離は小さかった。この結果から、BE 法に用いた形状パラメーターの事前分布は妥当であったと判断できた。

BE 法と MLE 法で異なる確率密度分布と推定された農薬が散見された。MLE 法でガンマ分布が最適と判断されたもののうち、フルアジホップブチル・フルアジホップブチル代謝物・フラ時ホップブチルは、BE 法ではワイブル分布が最適であると判断された。

1 日農薬摂取量の理論平均値に関する事後予測分布と LOQ の 0.2 倍の値を代入した推定値および MLE 法と比較した。ND に LOQ の 0.2 倍の値を代入して推定した値よりも BE 法による推定値の方が低かったのは、アセフェート・メタミドホスであった。MLE 法よりも BE 法による推定値の方が低かったのは、アセフェート・クロチアニジン・クロルピリホス・チアクロプリド・ノバルロン・ビフェントリン・ヘキサジノン・メタミドホスであった。インドキサカルブ・ビフェントリン・ブプロフェジン・フルベンジアミド代謝物の BE 法による平均値の事後予測分布の四分位範囲内には、0.2LOQ を代入して推定した値が含まれていなかった。MLE 法による 1 日農薬摂取量の平均値は、全て BE 法による平均値の事後予測分布の四分位範囲内に収まっていた。

MLE 法と BE 法の差異に与える要因を解析するために、BE 法と MLE 法で推定した平均値の相対的な差  $[2(\hat{\mu}^{BE} - \hat{\mu}^{MLE})/(\hat{\mu}^{BE} + \hat{\mu}^{MLE})]$  について解析を行った。

すべての食品群で不検出となったサンプルの割合が高い場合、推定した分布の $\sigma/\mu$ 比が大きい場合、用いたデータのサンプルサイズが小さい場合に、BE法とMLE法による推定値の相対的な差が大きくなる傾向が認められた。

$L=0$ となるサンプルの割合は、有効なサンプルサイズに相当すると考えられる。また、本研究で仮定した確率密度分布の場合、 $\sigma/\mu$ が大きくなると歪度が大きくなることを意味する。これらの結果より、BE法とMLE法の差異が大きくなった要因は、歪みの大きい確率密度分布であること、サンプルサイズが小さいこと、および $L=0$ となるサンプルの割合が大きかったことの影響が大きいと考えられた。MLE法は、有効なサンプルサイズが少なくなるほど、また分布の歪みが大きくなるほど、推定の精度が低くなることが報告されている。この点を踏まえると、MLE法が不得意なデータにおいて、事前分布を用いることでBE法がMLE法の弱点をカバーしているとも捉えることができる。つまり、BE法による推定結果の方がMLE法による推定結果よりも妥当である可能性が示唆された。

## 2. 真値に0を含むデータの推定 (数値シミュレーション)

BE法の点推定値として事後分布の中央値(MED)を用いて、真度・精度・妥当性を評価した。MLE法は、 $\omega$ よりも $\phi$ による影響を強く受け、 $\phi$ が大きくなるほど、推定の真度および精度が悪くなる傾向があった。一方で、BE法は $\phi$ よりも $\omega$ による影響の方が強い傾向にあった。また、MLE法よりもBE法の方が、推定の真度・精度・妥当性が良好であった。さらに、この傾向は事前分布の設定に寄らず、無情報事前分布を用いた場合でもBE法の方がMLE法よりも良好な真度・精度・妥当性を示した。MLEとBE(NIP)を比較すると、 $\omega$ と $gm$ の真度・精度はBE法が広い $\phi$ と $\omega$ の組合せでMLE法よりも良い推定結果となる傾向を示したが、 $gsd$ に関してはそれほど大きな差異は認められなかった。この結果

は、事前分布に形状パラメーターである $gsd$ の情報を追加することで推定結果が向上する可能性を示唆するものと考えられた。実際に、弱事前分布として、 $gsd$ に関する事前分布を用いることで、推定の真度・精度・妥当性が向上することが示された。以上のことから、ZILN分布に従う不検出例を含むデータの解析においても、BE法が有効であることが示された。また、事前分布の利用は推定の真度・精度・妥当性を向上させるが、通常の利用では真値は不明であるため、弱情報事前分布の使用を検討するのが現実的であろう。事前分布に利用できるデータベースを整備することが有効であると考えられる。

## 3. 二次元モンテカルロシミュレーションによる農薬摂取量分布の推定

ゼロ過剰モデルも考慮に入れ、TD試料中の残留農薬濃度を、BE法を用いて推定した。解析の対象としたのは、14群全ての農薬が検出され、データサンプルサイズが6以上のものとした。ここでは、サンプルサイズの最も大きかったチアマトキサムの結果について示す。14群中13群でゼロ過剰モデルが最適なモデルであると推定され、ZILN分布は11の食品群で、ゼロ過剰ワイブル分布が2つの食品群で最適な分布であった。検出率が最も高かった8群でもゼロ過剰モデルが採用されたことから、ゼロ過剰モデルが適切かどうかは検出率だけで決定されるものではないと示唆された。

農薬濃度分布の推定の不確かさを考慮するために、BE法で得られた2000個の事後予測サンプルから50個の乱数を生成し、計10万個の乱数を生成した。別途国民健康・栄養調査のデータを解析して得られた体重当たりの喫食量分布の乱数と掛け合わせ、摂取量分布を推定した。チアマトキサムの場合、5, 25, 50, 75, 96パーセントイル値は、0.0005, 0.0024, 0.0060, 0.0148, 0.0586  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ であり、ADI (18  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ) を超過する確率は0%であった。ADIを超過する確率は、アセフェートの0.001%が最大であった

ことから、検討したいずれの農薬も健康リスクは小さいと示唆された。

農薬摂取量の平均値について、2D-MCS から推定した結果と、摂取量のデータからBE法で推定した結果を比較した。異なるアプローチで算出した平均値の分布が良い一致を示したことから、いずれの推定方法も妥当であると考えられた。

#### **課題 4. 検査部位の変更が残留農薬等の検査及び分析結果に及ぼす影響と対処法の検討**

凍結粉砕法による試料調製では、通常行われている常温磨砕法よりも均質な試料が得られると考えられている。しかしながら、各試料調製法による均質性を比較した報告は非常に少ない。そこで本研究では、検査部位が変更される7食品(みかん、びわ、もも、キウイ、すいか、まくわうり及びメロン)に加えて、常温磨砕法では均質化が困難とされているトマト、ぶどう及びパイナップルについて、3種類の凍結粉砕法[液体窒素・凍結方式(B)、ドライアイス・予冷方式(C)及びドライアイス・予備凍結方式(D)]の操作手順を確立した後、試料の粉砕状況や分析値のばらつきを常温磨砕法(A)と比較することとした。なお、試料の均質性は、試料調製法に加えて、使用する粉砕機、刃の形状、回転数、粉砕時間、検体量等によって大きく異なることから、本研究では以下の条件に統一して検討を行うこととした。

粉砕機: 残留農薬等の検査で汎用されている Robot Coupe BLIXER-3D (回転数 3000 rpm)

運転時間: 120 秒間

検体量: 500 g

##### **1. 粉砕状況及び粒子径分布**

検査部位が変更される果実を含めた10食品について、凍結粉砕法を用いた試料調製法を

確立後、試料の粉砕状況を常温磨砕法と比較した。その結果、柔軟性のある果皮(ぶどう、トマト及びキウイ)は、常温磨砕法では均質化しにくいことが確認された。これらの果皮は、刃と接触しても切断されにくいと考えられた。一方、硬い果皮(メロン及びすいか)や種子(キウイ、すいか及びまくわうり)は、凍結粉砕法では常温磨砕法と比べ、粉砕されにくいことがわかった。常温磨砕法では試料が液状となるものが多いが、凍結粉砕法では試料が粉体であるため、流動性がやや低く、試料と刃が接触しにくいことが原因と考えられた。

ぶどう及びすいか試料の粒子径分布を測定したところ、いずれも微粒子の割合は常温磨砕法の方が低いことがわかった。ぶどう及びすいかの果肉は、いずれも常温では柔軟性があり、凍結した試料よりも切断されにくいと推測された。また、凍結粉砕法間で比較すると、液体窒素を用いた凍結粉砕法(B)の方がドライアイスを用いた凍結粉砕法(C及びD)よりも粒子が小さく、CとDでは大きな差異は認められなかった。液体窒素を用いた凍結粉砕法(B)では、液体窒素によって脆化することに加え、冷却剤の非存在下で粉砕するため、刃と接触しやすく、小さい粒子に粉砕されやすいものと考えられた。

##### **2. 分析値のばらつき**

試料調製法による試料の均質性の違いを評価するため、農薬が残留したぶどう(巨峰、種子なし)をA~Dの各方法により試料調製し、得られた試料を5、10及び20g(各5個)量り採り、試験溶液を調製後、LC-MS/MSで測定して分析値及びそのばらつきを求めた。その結果、分析に供する試料量を20gとした場合、試料調製法間で分析値のばらつきに大きな差は認められず、いずれもRSD 11%以下であった。分析に供する試料量を5gとした場合においても、アセタミ

ブリド及びイミダクロブリドは、試料調製法間で分析値のばらつきに大きな差は認められず、いずれも RSD 9%以下であった。テブコナゾール及びフルジオキソニルについても、凍結粉碎法 (B～D) ではRSD 10%以下であった。しかしながら、常温磨砕法 (A) ではテブコナゾールは RSD 17%、フルジオキソニルは RSD 20%となり、凍結粉碎法と比較してばらつきが大きかった。これらの結果から、試料の均質性が低い場合、分析に供する試料量が少量であると、農薬の分布によっては分析値のばらつきが大きくなることが示された。

### 3. 凍結粉碎法を行う上での留意事項の検討

凍結粉碎法を行う上での主な懸念点として、1) 試料への冷却剤の残存、2) 結露や吸湿による試料中の水分含量の増加、3) (ドライアイスを用いた凍結粉碎法では) ドライアイス由来の二酸化炭素による試料 pH の変化が挙げられる。そこで本研究ではこれら3点について検討した。

#### 1) 試料への冷却剤の残存

ドライアイスを用いた凍結粉碎法で試料調製を行うと、粉碎直後の試料中にはドライアイスが残存している。試料採取時にドライアイスが大量に残存していた場合、正確に試料を秤量することができない。そこで、試料中のドライアイスが昇華したかどうかを判断する方法を検討することとした。粉碎後の試料の温度は、ドライアイスの残存量が減少すると上昇することから、試料温度を判断指標として用いることができるか検討した。キウイを用いてドライアイス・予冷方式 (C) で凍結粉碎し、残存するドライアイスの割合と試料温度の関係を調べた。その結果、試料中のドライアイスの残存割合が 2%以上の場合、試料温度は-79～-78℃となった。一方、2%未満の場合には、ドライアイスの割合が低くなるほど、試料温度が上昇し、1%では約-60℃となった。ドライアイ

スの残存割合が 1%未満であれば、ドライアイスの残存に伴う試料の秤量誤差が分析値へ及ぼす影響はほとんどないものと考えられる。-50℃以上の時、ドライアイスの残存割合は常に 0.6%以下であったことから、「試料温度-50℃以上」を分析値への影響がほとんどない量までドライアイスが昇華したことを示す判断指標とすることができると考えられた。なお、試料温度が-50℃未満となり、ドライアイスを昇華させる必要がある場合は、粉碎機で追加粉碎するか、冷凍庫内で静置するのが良いと考えられた。

#### 2) 吸湿・結露の影響

凍結粉碎法では、粉碎機及び試料を低温に保ちながら粉碎を行うため、空気中の水分による試料の吸湿の可能性がある。また、空気中の水分はドライアイス自身にも結露すると考えられており、ドライアイスによる水分の持ち込みの可能性も指摘されている。そこで、水分含量の高いキウイと低い大豆及びごまの種子 (洗いごま及びいりごま) をA～Dの各方法で試料調製し、得られた試料の水分含量を比較した。その結果、凍結粉碎法 (B～D) ではいずれの食品においても常温粉碎法と比較して 0.1～1%高値を示した。調製直後の試料温度を測定したところ、常温粉碎法ではキウイで 19℃であったのに対し、水分含量の低い食品では大豆:46℃、洗いごま:53℃、いりごま:59℃と粉碎時に発熱が見られた。一方、凍結粉碎法では、いずれの食品も液体窒素を用いた凍結粉碎法 (B) :-69～-38℃、ドライアイスを用いた凍結粉碎法 (C 及び D) :-79～-78℃と低温であった。これらの結果から、常温磨砕法よりも凍結粉碎法の方が水分含量が高値を示した原因として、①凍結粉碎法での吸湿、持ち込みの他に、②水分含量の低い食品では常温粉碎時に発生する熱による試料中水分の気化の可能性が考えられた。しかし



ながら、常温磨砕法と凍結粉砕法の水分含量の差は 2%未満であることから、水分含量の変化による分析値への影響はほとんどないと考えられた。

### 3) ドライアイスを用いた凍結粉砕法における試料 pH への影響

ドライアイスを用いた凍結粉砕法では、試料調製の過程でドライアイス由来の二酸化炭素が試料に溶解し、試料の pH が低下する可能性が指摘されている。そこで、A～D の各方法で調製した試料の pH を測定し、比較した。その結果、いずれの食品においても凍結粉砕法 (B～D) で得られた試料と常温磨砕法 (A) で得られた試料の pH の差は±0.3 以内であり、ドライアイス由来の二酸化炭素による試料の pH 変化はほとんどないことが示された。

## D. 結論

### 課題 1. 食品を介した農薬等の摂取量推定に関する研究

ADI に対する推定摂取量の割合が高いと推定されている農薬と、国民の関心が高まっているネオニコチノイド系農薬に対してトータルダイエツト試料の分析結果に基づき農薬摂取量を評価した。その結果、調査対象とした農薬の 1 日推定摂取量の ADI に対する比率は、全ての農薬において、対 ADI 比は 1%未満であった。また、多くの農薬で 6 (果実類)、7 (有色野菜)、あるいは 8 群 (その他の野菜・海草類) 群の寄与率が高かった。

### 課題 2. 食品以外の暴露要因である環境中の農薬濃度の評価に関する研究

ADI に対する推定摂取量の割合が高いと推定されている農薬と、国民の関心が高まっているネオニコチノイド系農薬に対してトータルダイエツト

試料の分析結果に基づき農薬の吸引摂取量を評価した。地方においてはブプロフェジンが検出され、都市部においてはフェニトロチオン、アセフェート、フルアジホップブチル、ノバルロン、クロルピリホス、ブプロフェジン、ボスカリドが検出された。検出された大気中農薬濃度はいずれも低値であり、1 日に最大濃度の大気中農薬を 24 時間暴露したと仮定しても、全ての農薬において ADI に対する比率は 1%未満であった。

### 課題 3. 総合的な摂取量評価における推定値の精緻化および信頼性の向上に関する研究

食品中残留農薬濃度のような不検出例の多いデータに対する統計的推定方法について検討を行った。推定法間の比較・推定法間の差異に影響を及ぼす要因の解析・数値シミュレーションの結果から、BE 法の有用性が示された。

### 課題 4. 検査部位の変更が残留農薬等の検査及び分析結果に及ぼす影響と対処法の検討

検査部位が変更される果実を含めた 10 食品について、通常の常温磨砕法よりも均質な試料が得られる可能性が高い凍結粉砕法を用いた試料調製を検討した。凍結粉砕法の操作手順を確立した後、試料の粉砕状況を常温磨砕法と比較した。その結果、食品によって均質化しやすい試料調製法は異なり、必ずしも凍結粉砕法の方が均質化しやすいとは言えないことが示された。また、農薬が残留した食品を用いて分析値のばらつきを求めた結果、均質性が低い場合、少量の試料を分析に供すると農薬の分布によってはばらつきが大きくなることが示された。これらの結果から、食品によって適切な試料調製法を選択するのが望ましいと考えられた。

## E. 健康危険情報

なし

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- 1) 鈴木美成, 青柳光敏, 戸田英汰, 伊藤功一, 福光徹, 萩尾真人, 林孝子, 新宅沙織, 井原紗弥香, 川崎恭寛, 中島安基江, 佐藤環, 飛石和大, 堀就英, 穠山浩; ベイズ法を用いた食品を介した残留農薬摂取量の推定の試み, 第 29 回環境化学討論会 2021 年 6 月.
- 2) 駒場啓祐, 大河内博, 鈴木美成, 川嶋文人; 都市大気中農薬の実態解明と個人暴露評価のためのウェアブルサンプラーの開発 (1), 第 29 回環境化学討論会 2021 年 6 月.
- 3) 駒場啓祐, 大河内博, 鈴木美成, 川嶋文人; 都市大気中農薬の実態解明と個人暴露評価のためのウェアブルサンプラーの開発 (3), 第 63 回大気環境学会年会 2021 年 9 月
- 4) Keisuke KOMABA, Hiroshi OKOCHI,

Yoshinari SUZUKI, Ayato KAWASHIMA; Pesticides in the urban atmosphere and the development of wearable samplers to assess personal exposure(2), The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem), 2021 年 12 月.

- 5) 鈴木 美成, 青柳 光敏, 戸田 英汰, 伊藤功一, 福光 徹, 萩尾 真人, 林 孝子, 新宅沙織, 井原 紗弥香, 川崎 恭寛, 中島 安基江, 佐藤 環, 飛石 和大, 堀 就英, 穠山 浩; 不検出値を含むデータを用いたベイズ推定による残留農薬摂取量の精緻化の試み, 第 58 回全国衛生化学技術協議会年会 2021 年 12 月.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## Ⅱ．分担研究報告

### 課題 1. 食品を介した農薬等の摂取量推定 に関する研究

研究分担者 鈴木 美成



## 令和3年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 食品の安全確保推進研究事業

食品や環境からの農薬等の摂取量の推計と国際標準を導入するための研究

研究分担報告書

### 食品を介した農薬等の摂取量推定に関する研究

#### 研究分担者

国立医薬品食品衛生研究所食品部 鈴木美成

#### 研究要旨

有害物質の摂取量推定値は、健康リスクの管理を目的とする規格値策定等の行政施策の検討、及び効果検証のための科学的根拠となる。本研究では、日常的な食事から国民が平均的に摂取する残留農薬の量を、マーケットバスケット方式により全国6地域、トータルダイエツト試料の分析結果に基づき推定した。調査対象とした農薬等にはこれまで ADI に対する推定摂取量の割合が高いと推定されている農薬と、国民の関心が高まっているネオニコチノイド系農薬に対して摂取量評価研究を行った。さらに有機塩素系農薬についても調査を行った。

1 日推定摂取量は、次に示すとおりであった; BHC: 0.078  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ ,  $\gamma$ -BHC: 0.078  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , アセタミプリド (代謝物含む): 1.17  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , アセフェート: 0.177  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , イミダクロプリド: 0.067  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , インドキサカルブ: 0.005  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , クロチアニジン: 0.418  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , クロルピリホス: 0.099  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ジノテフラン: 2.67  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , スルホキサフロル: 0.923  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , チアクロプリド: 0.137  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , チアメトキサム: 0.309  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , テフルトリン: 0.078  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ニテンピラム: 0.067  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ノバルロン: 0.114  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ハルフェンブロック: 0.078  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ビフェントリン: 0.112  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ピリダベン: 0.048  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , フェントロチオン: 0.235  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ブプロフェジン: 0.050  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , フルアジホップブチル(代謝物含む): 0.089  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , フルベンジアミド: 0.468  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ヘキサジノン: 0.043  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ヘプタクロル (異性体含む): 0.012  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ボスカリド: 0.871  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , メタミドホス: 0.018  $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ 。

これらの農薬の1日推定摂取量の ADI に対する比率を算出したところ、全ての農

葉において、対 ADI 比は 1%未満であった。対 ADI 比が比較的高かったのは、クロルデン (0.32%), ヘプタクロル (0.19%), クロルピリホス (0.18%), アセフェート (0.13%)であった。

#### 研究協力者

北海道立衛生研究所 平間祐志、竹脇優太郎、宮島祥太、青柳 光敏

秋田市保健所 戸田英汰、伊藤功一

神奈川県衛生研究所 萩尾真人、林 孝子

和歌山県環境衛生研究センター 新宅 沙織

広島県立総合技術研究所 井原紗弥香、川崎恭寛、中島 安基江

福岡県保健環境研究所 飛石和夫、佐藤 環、堀 就英

#### A. 目的

厚生労働省では食品を介した残留農薬等の暴露量を推定し、ADI の 80%を超えないことを確認している。しかし、食品以外の暴露経路も懸念され、例えば、家庭用殺虫剤を使用することで経気暴露の可能性がある。食品を介した農薬等の暴露推定のみを根拠とした食品中残留農薬の基準値設定は、食品以外の暴露量に不確定な要素があるため、精密なリスク管理には食品以外の経路も含めた総合的評価が必要である。

本研究班においては、ADI が低く設定されている成分かつ、一日推定摂取量試算での ADI 占有率が 70%を超える農薬等に加えて、国民の関心の高いネオニコチノイド系農薬・残留性の高い有機塩素系農薬を主な調査対象物質とした。また、本分担課題においては、食品からの摂取量をマーケットバスケット (MB) 方式によるトータルダイエットスタディ (TD) 試料を用いた評価研究を行った。

#### B. 試料と方法

日常食からの残留農薬摂取量を推定するため、日常食のモデルとして MB 方式による TD 試料を調製した。各地域における個々の食品喫食量は、平成 26 から平成 28 年に行われた国民健康・栄養調査の結果を地域別に集計した平均値を用いた。2021 年の夏から秋にかけて、各地の小売店から食品を購入し、茹でる、焼く等の一般的な調理加工を行ってから、一日当たりの摂取量に従って秤量し、混合・均一化して試料とした。分析に必要な均質性を確保する目的から、調製時に試料に加水される場合があるが、その量は農薬濃度を算出する過程において考慮した。

TD 試料は、混合・均質化の際に組み合わせる食品の種類に応じて、下記 14 群に分割して調製した。1 群:米及びその加工品、2 群:雑穀・芋、3 群:砂糖・菓子類、4 群:油脂類、5 群:豆・豆加工品、6:果実類、7 群:有色野菜、8 群:その他の野菜・海草類、9 群:嗜好飲料、10 群:魚介類、11 群:肉・卵、12 群:乳・乳製品、13 群:調味料、14 群:飲

料水。

各食品群に含まれる農薬等濃度は、LC-MS/MS あるいは GC-MS/MS で分析し、得られた濃度と食品喫食量を掛け合わせて、各食品群からの一日当たりの食品を介した残留農薬摂取量とした。各食品群からの残留農薬摂取量の総和を推定 1 日摂取量とした。1 日当たりの飲水量を 250 mL day<sup>-1</sup> として 14 群から残留農薬摂取量を算出した。各分析は 3 試行で行い、各食品群において 1 試行で添加試料の分析を行うことを基本とした。

摂取量調査の対象とした農薬等は、ADI 占有率が高いことが推定される農薬 (アセフェート, インドキサカルブ, クロルピリホス, ノバルロン, ビフェントリン, ピリダベン, フェントロチオン, ププロフェジン, フルアジホップブチル, フルベンジアミド, ヘキサジノン, ヘプタクロル, ボスカリド, メタミドホス) およびネオニコチノイド系農薬 (アセタミプリド, イミダクロプリド, クロチアニジン, ジノテフラン, スルホキサフロル, チアクロプリド, チアメトキサム, ニテンピラム) とした。また、残留性の高い有機ハロゲン系農薬 (BHC,  $\gamma$ -BHC, クロルデン, テフルトリン, ハルフェンプロックス) およびフェンプロパトリンも測定を行った。対象とした農薬、およびその適用作物と代表的な物理化学的パラメーター [水への溶解度, 蒸気圧, オクタノール-水分配係数 ( $K_{ow}$ )] を Table 1 に示す。適用作物は、独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC) の農薬抄録あるいは厚生労働省のデータベースを参照した。物理化学的パラメーターはアメリカ国立

衛生研究所 (National Institutes of Health, NIH) が公開している PubChem のデータベースを用いた。

分析法の妥当性の確認として行った添加回収試験においては、試験は最低限 2 種の濃度で行った。1 つは定量下限近辺の濃度とし、もう 1 つは定量下限の 10 倍近辺の濃度、検量線の中間近辺の濃度、基準値がある場合は基準値近辺の濃度等から適切な濃度を選んで行った。

定量下限値および検出限界値は、5 併行以上でブランク操作を実施し、それぞれの測定溶液から得られた対象農薬等に由来する信号の平均値と標準偏差  $\sigma$  を求める。あるいは、目的とする農薬等に由来するピークの近傍 (ピークの半値幅の 10 倍の範囲) のノイズを計測し、その幅 (最大値と最小値の差) の 2/5 をノイズの標準偏差とした。

このブランクの信号の平均値と  $\sigma$  の値から、平均値 + 3 $\sigma$  に相当する濃度を検出限界値、平均値 + 10 $\sigma$  に相当する濃度を定量下限値とした。

#### C.D. 結果と考察

##### 1 ADI 占有率が高い農薬の傾向

TD 試料中の農薬分析は、地方衛生研究所に協力して頂き行った。各食品群について、分析の妥当性を添加回収試験により確認したところ、全食品群の平均回収率は低濃度或いは高濃度添濃度のどちらかで、ほとんどの農薬の回収率は 70~120%の範囲内であった Table 2。しかしながら、インドキサカルブ (13 群)、フルアジホップブチル代謝物 (3, 5, 6, 10, 13 群)、ヘプタクロル (4 群) の回収率は 50%

未満と悪かった。これらの農薬に関しては、回収率が悪かった点を踏まえて考察する必要があるだろう。

食品中農薬濃度に喫食量を乗じて 1 日農薬摂取量を推定した。各地域の 1 日農薬摂取量の平均値を一日推定摂取量とした。定量下限 (LOQ) 値未満のデータは not detected (ND) として扱った。なお、農薬の摂取量評価においてはこれまで ND に  $0.2 \times \text{LOQ}$  を代入して算出してきたことから、これまでと同様の計算方法と同様に算出した。とくに断りが無い限り、以降の解析においては  $\text{ND} = 0.2\text{LOQ}$  を代入して解析を行った。

食品群ごとの農薬濃度の平均値と標準偏差および検出率を Table 3 に示す。調査地域が 2 以上の農薬を対象とすると、検出率の最小であったのはビフェントリン ( $3.6 \pm 13.4.1\%$ ) とフェニトロチオン ( $3.6 \pm 9.1\%$ ) であり、最大であったのはブプロフェジン ( $53.6 \pm 30.8\%$ ) であった。検出率は最大でも 53.6%であったということは、得られたデータの半数以上に不確かな推定を含んでいるという事になる。登録が失効となった農薬および POPs 条約で使用が禁止されている農薬である、BHC,  $\gamma$ -BHC, ハルフェンブロックス, ヘプタクロルはいずれの試料からも検出されなかった。クロルデンに関しては、残留が長期にわたることが報告されている。11 群から検出されクロルデンは、長期残留していた何らかの要因で混入したものと考えられた。メタミドホスに関しては、アセフェート使用由来で残留が認められることから、アセフェートが検出された試料においては検出される割合が高くな

った。

農薬の 1 日摂取量と対 ADI 比の結果を Table 4 に示す。1 日推定摂取量は、BHC:  $0.078 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ ,  $\gamma$ -BHC:  $0.078 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , アセタミプリド (代謝物含む):  $1.17 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , アセフェート:  $0.177 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , イミダクロプリド:  $0.067 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , インドキサカルブ:  $0.005 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , クロチアニジン:  $0.418 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , クロルピリホス:  $0.099 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ジノテフラン:  $2.67 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , スルホキサフロル:  $0.923 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , チアクロプリド:  $0.137 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , チアメトキサム:  $0.309 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , テフルトリン:  $0.078 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ニテンピラム:  $0.067 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ノバルロン:  $0.114 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ハルフェンブロックス:  $0.078 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ビフェントリン:  $0.112 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ピリダベン:  $0.048 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , フェニトロチオン:  $0.235 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ブプロフェジン:  $0.050 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , フルアジホップブチル (代謝物含む):  $0.089 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , フルベンジアミド:  $0.468 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ヘキサジノン:  $0.043 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ヘプタクロル (異性体含む):  $0.012 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ボスカリド:  $0.871 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , メタミドホス:  $0.018 \mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$  であった。

調査した全ての農薬において、対 ADI 比は 1%未満であった。対 ADI 比が比較的高かったのは、クロルデン (0.32%), ヘプタクロル (0.19%), クロルピリホス (0.18%), アセフェート (0.13%) であった。

## 2 食品群の寄与率



食品群ごとの農薬の1日摂取量ボックスプロットを Fig. 1 に示す。ここでは、2 地域以上で調査を行った農薬のみを示した。推定1日農薬摂取量における各食品群の寄与率を Table 5 に、その結果を積み上げ棒グラフで示したものを Fig. 2 に示す。

多くの農薬について、農作物である1・2・6・7・8 群の寄与率が高かった。1 群の寄与が高かったのは、ジノテフラン (40.6%)、ノバルロン (39.5%)、ヘキサジノン (36.8%) であった。2 群の寄与が高かったのは、アセフェート (79.4%) であった。6 群の寄与率が高かったのは、アセタミプリド (67.2%)、アセタミプリド代謝物 (41.5%)、スルホキサフロル (50.3%)、チアクロプリド (74.0%)、ビフェントリン (60.5%) であった。7 群の寄与が高かったのは、アセタミプリド代謝物 (50.9%)、フルベンジアミド (52.3%) であった。8 群の寄与率が高かったのは、チアメトキサム (78.22.0%) であった。

### 3. Not detected としたデータの取扱い

上記までの解析において、LOD 未満・および LOD 以上 LOQ 未満のデータは、ND として扱い、ND には LOQ の 0.2 倍した値を代入し平均的な摂取量を評価してきた。しかしながら、代入法は問題のある方法として認識されて来ており、限定された場合にのみ使用を推奨されるようになってきている。代入法に代わり、最尤推定などの代替法の使用が推奨されて来ている。また、サンプル数が少ない場合は、検出値と検出された割合を報告すべきとの提言もある。

そこで、本年度の研究成果としては、農

薬摂取量の不確かな推定値を示すよりは、下限値と上限値を示す方が、より客観的なデータの提示方法になると思われる。

Table 5 には、各地域における農薬摂取量推定値の下限値と上限値を示す。下限値の計算は、LOD 未満のレコードには 0 を代入し、LOD 以上 LOQ 未満のレコードには LOD を代入した。上限値の計算には、LOD 未満のレコードには LOD を代入し、LOD 以上 LOQ 未満のレコードには LOQ を代入した。本研究においては、LOD・LOQ の値は分析機関によって異なるため、それぞれの値を用いた。

LOD および LOQ は協力機関ごとの値を使用しているため、上限値と下限値の範囲が広いレコードも散見された。例えば、アセフェートでは地域 A の摂取量の範囲は [0.066, 0.560] であり、その範囲は他地域の約 2 倍となっていた。

このような場合に ND となった値に 0.2LOQ を代入することは、他地域のデータよりも高値となることもあり、そのような代入値が妥当であることには疑問が生じる。一方で、ND となった値に 0 を代入することは過小評価であり、上限値を採用することは過大評価につながる。

本分担課題においては、Table 6 から解析できる内容のみ記述するのみに留め、より統計的妥当性の高い解析法については「総合的な摂取量評価における推定値の精緻化および信頼性の向上に関する研究」の分担研究班にて検討を行った。

### E. 結論

ADI に対する推定摂取量の割合が高い

と推定されている農薬と、国民の関心が高まっているネオニコチノイド系農薬に対してトータルダイエツト試料の分析結果に基づき農薬摂取量を評価した。その結果、調査対象とした農薬の1日推定摂取量のADIに対する比率は、全ての農薬において、対ADI比は1%未満であった。また、多くの農薬で6(果実類), 7(有色野菜), あるいは8群(その他の野菜・海草類)群の寄与率が高かった。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- 1) 鈴木 美成, 青柳 光敏, 戸田 英汰, 伊藤 功一, 福光 徹, 萩尾 真人, 林 孝子, 新宅 沙織, 井原 紗弥香, 川崎 恭寛, 中島 安基江, 佐藤 環, 飛石 和太, 堀 就英, 穉山 浩; ベ

イズ法を用いた食品を介した残留農薬摂取量の推定の試み, 第29回環境化学討論会, 2021年6月.

- 2) 鈴木 美成, 青柳 光敏, 戸田 英汰, 伊藤 功一, 福光 徹, 萩尾 真人, 林 孝子, 新宅 沙織, 井原 紗弥香, 川崎 恭寛, 中島 安基江, 佐藤 環, 飛石 和太, 堀 就英, 穉山 浩; 不検出値を含むデータを用いたベイズ推定による残留農薬摂取量の精緻化の試み, 第58回全国衛生化学技術協議会年会, 2021年12月.

## H. 知的財産権の出願, 登録状況

なし

## I. 健康危機情報

なし

Table 1 研究対象とした農薬等の適用作物及び物理化学的パラメーター

農薬名	農薬の系統	主要な適用作物等	溶解度 [g/L]	蒸気圧 [Pa]	log $K_{ow}$
BHC*	有機塩素系	本剤は、国内では農薬登録がなされていない。			
$\gamma$ -BHC*	有機塩素系	本剤は、国内では農薬登録がなされていない。	0.0073	0.0056	3.72
アセタミプリド	ネオニコチノイド系殺虫剤	2群 (とうもろこし等), 5群, 6群, 7群 (トマト, ピーマン等), 8群 (キャベツ等)	4.45	0.0058	0.80
アセフェート	有機リン系殺虫剤	2群 (ばれいしょ等), 6群, 7群 (トマト等), 8群 (キャベツ, はくさい等)	819	0.0002	-0.85
イミダクロプリド*	ネオニコチノイド系殺虫剤	1群, 5群, 6群 (すいか等), 7群 (トマト等), 8群 (キャベツ, はくさい等)	0.61	$4 \times 10^{-10}$	0.57
インドキサカルブ	オキサダイアジノン系殺虫剤	2群 (かんしょ), 5群, 6群 (いちご), 7群 (トマト等), 8群 (キャベツ, はくさい等)	0.0002	$253 \times 10^{-10}$	4.65
クロチアニジン	ネオニコチノイド系殺虫剤	1群, 2群 (ばれいしょ等), 5群, 6群 (りんご等), 7群 (トマト等), 8群 (キャベツ, はくさい等), 9群 (茶)	0.327	$1.3 \times 10^{-10}$	0.7
クロルデン*	有機塩素系	本剤は、国内では農薬登録がなされていない。	$0.056 \times 10^{-3}$	0.0013	6.16
クロルピリホス	有機リン系殺虫剤	2群 (ばれいしょ等), 3群 (てんさい等), 5群, 6群 (りんご等), 8群 (たまねぎ), 9群 (茶)	0.0014	0.0024	4.96
ジノテフラン*	ネオニコチノイド系殺虫剤	1群, 3群 (さとうきび), 5群, 6群 (すいか等), 7群 (トマト等), 8群 (キャベツ, はくさい等)	54.3	$< 1 \times 10^{-6}$	-0.64

\*が付いた農薬は今年度から調査対象に追加したものを示す。

Table 1 続き

農薬名	系統	主要な適用作物	溶解度 [g/L]	蒸気圧 [Pa]	log K <sub>ow</sub>
スルホキサフロル*	ネオニコチノイド系殺虫剤	1群, 6群(りんご等), 7群(トマト), 8群(キャベツ, レタス等)	0.809	2.53×10 <sup>-10</sup>	0.802
チアクロプリド	ネオニコチノイド系殺虫剤	1群, 2群(ばれいしょ等), 6群(りんご等), 7群(トマト等), 8群(きゅうり等), 9群(茶), 13群(とうがらし類)	0.1855	7.99×10 <sup>-10</sup>	1.26
チアメトキサム	ネオニコチノイド系殺虫剤	1群, 2群(ばれいしょ等), 5群, 6群(かんきつ類, 果樹), 7群(野菜類), 8群(野菜類), 9群(茶)	4.1	6.6×10 <sup>-9</sup>	-0.13
テフルトリン*	有機塩素・合成ピレスロイド殺虫剤	野菜、果樹、茶、豆、花卉類に適用	0.02×10 <sup>-3</sup>	8×10 <sup>-4</sup>	6.4
ニテンピラム	ネオニコチノイド系殺虫剤	1群, 2群(ばれいしょ等), 6群(りんご等), 7群(トマト等), 8群(レタス等), 13群(わさび等)	570	1.1×10 <sup>-9</sup>	-0.66
ノバルロン	ウレア系殺虫剤	2群(かんしょ等), 6群(いちご), 7群(トマト等), 8群(レタス等)	0.9531×10 <sup>-3</sup>	500×10 <sup>-6</sup>	5.27
ハルフェンプロックス*	有機ハロゲン系殺虫剤	本剤は、国内では農薬登録が失効となっている。	5×10 <sup>-8</sup>	77.9×10 <sup>-10</sup>	
ビフェントリン	合成ピレスロイド系殺虫剤	2群(ばれいしょ等), 3群(あずき), 5群, 6群(かんきつ等), 8群(キャベツ等), 9群(茶)	<0.001×10 <sup>-3</sup>	1.78×10 <sup>-6</sup>	6
ピリダベン	ヘテロ系殺ダニ・殺虫剤	2群(さといも等), 3群(あずき), 5群, 6群(果樹), 7群(トマト等), 8群(みょうが等), 9群(茶)	0.012×10 <sup>-3</sup>	157×10 <sup>-6</sup>	6.37

Table 1 続き

農薬名	系統	主要な適用作物	溶解度 [g/L]	蒸気圧 [Pa]	log $K_{ow}$
フェニトロチオン	有機リン・有機硫黄系殺虫剤	1 群, 2 群 (大麦等), 3 群 (さとうきび), 4 群 (オリーブ), 5 群, 6 群 (りんご等), 7 群 (トマト等), 8 群 (ねぎ等), 9 群 (茶), 11 群 (動物医薬品として家畜・家禽の外部寄生虫の駆除), 12 群 (動物医薬品として家畜・家禽の外部寄生虫の駆除)	0.038	0.018	3.3
フェンプロパトリン*	ピレスロイド系殺虫剤	適用農作物等は果樹、野菜、豆、樹木、花き等	$1.41 \times 10^{-5}$	$730 \times 10^{-6}$	6.0
ブプロフェジン	ヘテロ系殺虫剤	1 群, 2 群 (小麦), 6 群 (みかん等), 7 群 (トマト等), 8 群 (きゅうり), 9 群 (茶)	0.0009	$1253 \times 10^{-6}$	4.3
フルアジホップブチル	フェノキシ酸系除草剤	1 群, 2 群 (やまのいも等), 3 群 (てんさい), 5 群, 6 群 (いちご等), 7 群 (にんじん等), 8 群 (きゅうり)	0.001	$55 \times 10^{-6}$	4.5
フルベンジアミド	フェニル系殺虫剤	2 群 (とうもろこし等), 3 群 (てんさい), 4 群 (なばな類), 5 群, 6 群 (もも等), 7 群 (ブロッコリー等), 8 群 (キャベツ等), 9 群 (茶)	$29.9 \times 10^{-6}$	$<1 \times 10^{-4}$	4.2
ヘキサジノン	トリアジン系除草剤	3 群 (さとうきび), 6 群 (ブルーベリー等),	33	$30 \times 10^{-6}$	1.85
ヘプタクロル	有機塩素系殺虫剤	(POPs 条約により使用が原則禁止とされている。)	0.00018	0.053	6.1
ボスカリド	アリニド系殺菌剤	2 群 (小麦), 5 群, 6 群 (りんご等), 7 群 (にんじん等), 8 群 (レタス等), 9 群 (茶)	0.00046	$0.72 \times 10^{-6}$	2.96
メタミドホス	有機リン系殺虫剤	本剤は、国内では農薬登録がなされていない。本剤はアセフェート使用由来で残留が認められる。	1000	0.002	-0.8

\*が付いた農薬は今年度から調査対象に追加したものを示す。

Table 2 添加回収試験における各食品群の平均回収率 (%) の範囲

	BHC	γ-BHC	アセタミブ リド	アセタミブ リド代謝物	アセフェー ト	イミダクロ プリド	インドキサ カルブ	クロチアニ ジン
低濃度添加群	64.8 – 91.9	63.3 – 97.2	79.0 – 99.0	71.0 – 102	77.7 – 103	89.2 – 109	22.1 – 127	79.6 – 94.9
高濃度添加群	62.9 – 95.3	54.1 – 99.2	78.9 – 101	66.0 – 116	72.2 – 102	89.1 – 107	26.4 – 111	70.0 – 105
回収率が 70~120% を満たした食品群数*	14	14	14	14	14	14	10	14

	クロルデン	クロルピリホ ス	ジノテフラン	スルホキサフ ロール	チアメトキサ ム	チアクロプリ ド	テフルトリン	ニテンピラム
低濃度添加群	57.1 – 94.1	82.7 – 112	89.0 – 103	89.7 – 112	83.6 – 105	79.8 – 95.5	67.7 – 104	70.4 – 94.5
高濃度添加群	65.4 – 94.4	87.6 – 108	79.9 – 103	88.7 – 101	82.1 – 101	76.9 – 104	64.1 – 96.1	70.9 – 96.2
回収率が 70~120%を 満たした食品群数*	12	14	14	14	14	14	14	14

\*: 低濃度あるいは高濃度添加群のどちらかで回収率の平均値が 70~120%を満たした食品群の数

Table 2 続き

	ノバルロン	ハルフェン ブロックス	ビフェント リン	ピリダベン	フェニトロ チオン	フェンプロ パトリン	ブプロフェ ジン	フルアジホ ップブチル
低濃度添加群	81.0 – 94.5	59.4 – 109	68.8 – 105	63.8 – 119	85.9 – 125	75.7 – 118	70.8 – 97.2	68.6 – 102
高濃度添加群	80.8 – 112	70.5 – 98.8	74.8 – 97.0	62.9 – 115	96.5 – 129	73.2 – 101	72.9 – 97.8	67.3 – 105
回収率が 70~120% を満たした食品群数*	14	14	14	13	13	14	14	13

	フルアジホッ プブチル代謝 物	フルベンジア ミド	ヘキサジノン	ヘプタクロル	ヘプタクロル エポキシド (異性体 A)	ヘプタクロル エポキシド (異性体 B)	ボスカリド	メタミドホス
低濃度添加群	39.1 – 105	91.0 – 103	88.8 – 102	43.9 – 120	54.0 – 107	52.9 – 96.3	77.0 – 101	51.3 – 91.9
高濃度添加群	37.4 – 109	90.8 – 107	84.4 – 101	47.3 – 112	54.6 – 103	56.6 – 101	79.1 – 106	51.0 – 92.5
回収率が 70~120%を 満たした食品群数*	10	14	14	13	13	12	14	5

\*: 低濃度あるいは高濃度添加群のどちらかで回収率の平均値が 70~120%を満たした食品群の数

Table 3 各食品群中の農薬濃度 (ng/g) の平均値, 標準偏差, および検出率\*

食品群	BHC			γ-BHC			アセタミプリド		
	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率
1	0.040		0/1	0.010		0/1	0.017	0.0350	0/4
2	0.040		0/1	0.010		0/1	0.017	0.0349	0/4
3	0.040		0/1	0.010		0/1	0.018	0.0342	0/4
4	0.040		0/1	0.010		0/1	0.114	0.2204	0/4
5	0.040		0/1	0.010		0/1	0.058	0.0889	0/4
6	0.040		0/1	0.010		0/1	6.750	5.9473	4/4
7	0.040		0/1	0.010		0/1	2.436	3.1490	3/4
8	0.040		0/1	0.010		0/1	0.130	0.2457	1/4
9	0.040		0/1	0.010		0/1	0.022	0.0337	0/4
10	0.040		0/1	0.010		0/1	0.022	0.0274	0/4
11	0.040		0/1	0.010		0/1	0.021	0.0269	0/4
12	0.040		0/1	0.010		0/1	0.015	0.0226	0/4
13	0.040		0/1	0.010		0/1	0.374	0.7479	2/4
14	0.004		0/1	0.001		0/1	0.016	0.0351	0/4

\* ND となったデータには 0.2×LOQ を代入して平均値と標準偏差を算出した。検出率の分子は検出できたデータ数を示し、分母は分析したデータ数を示す。



Table 3 続き

食品群	アセタミプリド代謝物			アセフェート			イミダクロプリド		
	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率
1	0.001	0.0002	1/3	0.004	0.002	0/3	0.001		0/1
2	0.001	0.0004	1/3	0.828	1.399	2/3	0.001		0/1
3	0.002	0.0005	1/3	0.007	0.002	1/3	0.007		1/1
4	0.002	0.0005	1/3	0.005	0.003	0/3	0.506		0/1
5	0.074	0.1030	2/3	0.019	0.022	1/3	0.205		0/1
6	0.624	0.098	3/3	0.037	0.027	2/3	0.001		1/1
7	0.801	1.13	2/3	0.026	0.022	2/3	0.183		1/1
8	0.001	0.0004	1/3	0.112	0.174	2/3	0.003		1/1
9	0.001	0.0004	0/3	0.004	0.004	0/3	0.024		1/1
10	0.002	0.0005	1/3	0.010	0.005	0/3	0.049		0/1
11	0.020	0.026	2/3	0.008	0.003	1/3	0.047		0/1
12	0.014	0.017	1/3	0.005	0.004	0/3	0.016		1/1
13	0.002	0.0005	1/3	0.006	0.002	0/3	0.035		1/1
14	0.001	0.0001	1/3	0.003	0.003	0/3	0.001		0/1

Table 3 続き

食品群	インドキサカルブ			クロチアニジン			クロルデン		
	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率
1	0.002		0/1	0.147	0.294	2/5	0.040		0/1
2	0.002		0/1	0.017	0.017	0/5	0.040		0/1
3	0.002		0/1	0.019	0.015	1/5	0.040		0/1
4	0.002		0/1	0.123	0.215	0/5	0.040		0/1
5	0.002		0/1	0.058	0.083	0/5	0.040		0/1
6	0.002		0/1	0.182	0.302	3/5	0.040		0/1
7	0.002		0/1	0.429	0.836	2/5	0.040		0/1
8	0.002		0/1	0.596	1.116	3/5	0.040		0/1
9	0.002		0/1	0.270	0.546	2/5	0.040		0/1
10	0.002		0/1	0.027	0.018	0/5	0.159		0/1
11	0.002		0/1	0.026	0.017	0/5	0.040		0/1
12	0.002		0/1	0.020	0.013	0/5	0.040		0/1
13	0.002		0/1	0.024	0.015	1/5	0.040		0/1
14	0.001		0/1	0.013	0.017	0/5	0.004		0/1

Table 3 続き

食品群	クロルピリホス			ジノテフラン			スルホキサフロル		
	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率
1	0.020	0.016	0/5	3.29		1/1	0.251		1/1
2	0.041	0.028	2/5	0.054		1/1	0.001		0/1
3	0.075	0.048	3/5	0.055		1/1	0.002		1/1
4	0.589	0.252	5/5	0.088		1/1	0.153		0/1
5	0.016	0.018	0/5	0.005		0/1	0.062		0/1
6	0.137	0.117	3/5	5.90		1/1	4.784		1/1
7	0.015	0.018	0/5	7.86		1/1	1.926		1/1
8	0.015	0.018	0/5	0.248		1/1	0.885		1/1
9	0.041	0.033	2/5	0.231		1/1	0.003		0/1
10	0.018	0.021	0/5	0.004		0/1	0.001		0/1
11	0.017	0.022	0/5	0.001		0/1	0.003		0/1
12	0.024	0.020	1/5	0.001		0/1	0.002		0/1
13	0.264	0.461	2/5	0.307		1/1	0.021		0/1
14	0.008	0.012	0/5	0.017		0/1	0.000		0/1

Table 3 続き

食品群	チアクロプリド			チアメトキサム			テフルトリン		
	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率
1	0.033	0.064	1/5	0.016	0.019	0/6	0.040		0/1
2	0.033	0.064	1/5	0.019	0.017	1/6	0.040		0/1
3	0.005	0.006	0/5	0.017	0.018	1/6	0.040		0/1
4	0.064	0.132	1/5	0.105	0.198	0/6	0.040		0/1
5	0.172	0.380	1/5	0.050	0.078	0/6	0.040		0/1
6	1.03	2.14	2/5	0.051	0.073	2/6	0.040		0/1
7	0.004	0.006	0/5	0.266	0.447	3/6	0.040		0/1
8	0.004	0.006	0/5	1.227	1.291	6/6	0.040		0/1
9	0.005	0.005	0/5	0.020	0.017	0/6	0.040		0/1
10	0.005	0.006	0/5	0.024	0.021	0/6	0.040		0/1
11	0.005	0.006	0/5	0.024	0.020	0/6	0.040		0/1
12	0.005	0.006	0/5	0.018	0.017	0/6	0.040		0/1
13	0.023	0.026	2/5	0.031	0.035	2/6	0.040		0/1
14	0.004	0.006	0/5	0.013	0.016	1/6	0.004		0/1

Table 3 続き

食品群	ニテンピラム			ノバルロン			ハルフェンブロックス		
	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率
1	0.001		0/1	0.137	0.272	1/5	0.0400		0/1
2	0.001		0/1	0.148	0.297	1/5	0.0400		0/1
3	0.007		0/1	0.023	0.029	1/5	0.0400		0/1
4	0.506		1/1	0.666	0.666	4/5	0.0400		0/1
5	0.205		1/1	0.015	0.023	0/5	0.0400		0/1
6	0.001		0/1	0.013	0.023	0/5	0.0400		0/1
7	0.183		1/1	0.014	0.023	0/5	0.0400		0/1
8	0.003		0/1	0.015	0.023	0/5	0.0400		0/1
9	0.024		1/1	0.028	0.035	1/5	0.0400		0/1
10	0.049		1/1	0.010	0.013	0/5	0.0400		0/1
11	0.047		1/1	0.011	0.013	0/5	0.0400		0/1
12	0.016		1/1	0.046	0.080	2/5	0.0400		0/1
13	0.035		1/1	0.017	0.023	0/5	0.0400		0/1
14	0.001		0/1	0.013	0.023	0/5	0.0040		0/1

Table 3 続き

食品群	ビフェントリン			ピリダベン			フェニトロチオン		
	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率
1	0.023		0/2	0.032	0.036	1/3	0.082	0.042	0/4
2	0.024		0/2	0.039	0.046	1/3	0.086	0.039	0/4
3	0.024		0/2	0.009	0.007	0/3	0.087	0.050	1/4
4	0.024		0/2	0.035	0.045	1/3	0.074	0.027	0/4
5	0.024		0/2	0.033	0.035	1/3	0.058	0.045	0/4
6	0.690		1/2	0.040	0.048	1/3	0.058	0.045	0/4
7	0.024		0/2	0.021	0.015	1/3	0.058	0.045	0/4
8	0.024		0/2	0.014	0.002	1/3	0.059	0.042	0/4
9	0.024		0/2	0.009	0.007	0/3	0.193	0.240	1/4
10	0.024		0/2	0.008	0.005	0/3	0.052	0.028	0/4
11	0.024		0/2	0.009	0.005	1/3	0.052	0.028	0/4
12	0.024		0/2	0.022	0.024	1/3	0.086	0.050	0/4
13	0.024		0/2	0.087	0.129	1/3	0.086	0.050	0/4
14	0.003		0/2	0.007	0.006	0/3	0.041	0.051	0/4

Table 3 続き

食品群	フェンプロパトリン			ブプロフェジン			フルアジホップブチル		
	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率
1	0.040		0/1	0.030		2/2	0.007		0/1
2	0.040		0/1	0.020		1/2	0.010		0/1
3	0.040		0/1	0.051		1/2	0.010		0/1
4	0.040		0/1	0.028		1/2	0.010		0/1
5	0.040		0/1	0.037		1/2	0.010		0/1
6	0.040		0/1	0.052		1/2	0.010		0/1
7	0.040		0/1	0.029		1/2	0.010		0/1
8	0.040		0/1	0.053		2/2	0.010		0/1
9	0.040		0/1	0.005		1/2	0.010		0/1
10	0.040		0/1	0.011		1/2	0.010		0/1
11	0.040		0/1	0.007		1/2	0.010		0/1
12	0.040		0/1	0.003		0/2	0.010		0/1
13	0.040		0/1	0.109		2/2	0.010		0/1
14	0.004		0/1	0.000		0/2	0.003		0/1

Table 3 続き

食品群	フルアジホップブチル代謝物			フルベンジアミド			ヘキサジノン		
	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率
1	0.026		0/1	0.107	0.144	1/3	0.048	0.082	1/4
2	0.035		0/1	0.117	0.149	2/3	0.049	0.084	1/4
3	0.035		0/1	0.018	0.027	2/3	0.010	0.008	1/4
4	0.035		0/1	0.203	0.304	1/3	0.091	0.172	1/4
5	0.035		0/1	0.017	0.028	0/3	0.024	0.036	0/4
6	0.035		0/1	0.490	0.807	1/3	0.007	0.004	0/4
7	0.035		0/1	2.670	4.271	2/3	0.073	0.132	1/4
8	0.035		0/1	0.496	0.475	2/3	0.005	0.005	0/4
9	0.035		0/1	0.020	0.025	0/3	0.005	0.005	0/4
10	0.035		0/1	0.019	0.017	1/3	0.037	0.067	1/4
11	0.035		0/1	0.012	0.015	1/3	0.004	0.003	0/4
12	0.035		0/1	0.010	0.016	0/3	0.003	0.002	0/4
13	0.035		0/1	0.018	0.026	1/3	0.005	0.005	0/4
14	0.003		0/1	0.017	0.028	0/3	0.003	0.006	0/4



Table 3 続き

食品群	ヘプタクロル			ヘプタクロルエポキシド (異性体 A)			ヘプタクロルエポキシド (異性体 B)		
	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率
1	0.001		0/1	0.003		0/1	0.001		0/1
2	0.001		0/1	0.004		0/1	0.001		0/1
3	0.001		0/1	0.004		0/1	0.001		0/1
4	0.001		0/1	0.004		0/1	0.001		0/1
5	0.001		0/1	0.004		0/1	0.001		0/1
6	0.001		0/1	0.004		0/1	0.001		0/1
7	0.001		0/1	0.004		0/1	0.001		0/1
8	0.001		0/1	0.004		0/1	0.001		0/1
9	0.001		0/1	0.004		0/1	0.001		0/1
10	0.001		0/1	0.004		0/1	0.001		0/1
11	0.001		0/1	0.004		0/1	0.001		0/1
12	0.001		0/1	0.004		0/1	0.001		0/1
13	0.001		0/1	0.004		0/1	0.001		0/1
14	0.001		0/1	0.002		0/1	0.001		0/1

Table 3 続き

食品群	ボスカリド			メタミドホス		
	平均	標準偏差	検出率	平均	標準偏差	検出率
1	0.094	0.152	1/6	0.014	0.017	1/3
2	0.098	0.156	1/6	0.015	0.018	1/3
3	0.056	0.033	2/6	0.006	0.006	1/3
4	2.223	3.001	5/6	0.027	0.038	1/3
5	0.115	0.128	2/6	0.016	0.020	1/3
6	1.029	1.249	4/6	0.018	0.022	1/3
7	1.165	1.175	4/6	0.023	0.031	1/3
8	0.280	0.397	3/6	0.004	0.006	0/3
9	0.808	0.311	6/6	0.005	0.006	0/3
10	0.034	0.034	0/6	0.004	0.006	0/3
11	0.047	0.039	1/6	0.004	0.006	0/3
12	0.032	0.035	1/6	0.004	0.006	0/3
13	0.219	0.396	2/6	0.007	0.006	1/3
14	0.020	0.028	0/6	0.001	0.001	0/3

Table 4 農薬の推定一日摂取量と対 ADI 比に関する基礎統計量

対象農薬	推定 1 日摂取量 ( $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ ) <sup>a</sup>			ADI ( $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ )	対 ADI 比 (%) <sup>b</sup>		
	平均値	標準偏差	中央値		平均値	標準偏差	中央値
BHC	0.078			0.0047	0.030		
$\gamma$ -BHC	0.078			0.005	0.028		
アセタミプリド	1.022	0.628	1.069	0.071	0.026	0.016	0.027
アセタミプリド代謝物	0.148	0.095		0.071	0.004	0.002	
アセフェート	0.177	0.268	0.025	0.0024	0.134	0.203	0.019
イミダクロプリド	0.067			0.057	0.002		
インドキサカルブ	0.005			0.0052	0.002		
クロチアニジン	0.418	0.354	0.309	0.097	0.008	0.007	0.006
クオルデン	0.087			0.0005	0.316		
クオルピリホス	0.099	0.035	0.081	0.001	0.180	0.064	0.147
ジノテフラン	2.668			0.22	0.022		
スルホキサフロル	0.923			0.042	0.040		
チアクロプリド	0.137	0.198	0.078	0.01	0.025	0.036	0.014
チアメトキサム	0.309	0.302	0.205	0.018	0.031	0.031	0.021
テフルトリン	0.078			0.005	0.028		
ニテンピラム	0.067			0.53	0.000		
ノバルロン	0.114	0.134	0.052	0.011	0.019	0.022	0.009
ハルフェンブロックス	0.078			0.003	0.047		
ビフェントリン	0.112			0.01	0.020		
ピリダベン	0.048	0.036	0.029	0.005	0.017	0.013	0.011
フェニトロチオン	0.235	0.187	0.181	0.0049	0.087	0.069	0.067
フェンプロバトリン	0.078			0.027	0.005		
ブプロフェジン	0.050			0.009	0.010		
フルアジホップブチル	0.020			0.0044	0.008		
フルアジホップブチル代謝物	0.069			0.0044	0.028		
フルベンジアミド	0.468	0.439	0.289	0.017	0.050	0.047	0.031
ヘキサジノン	0.043	0.052	0.020	0.049	0.002	0.002	0.001
ヘブタクロル	0.002			0.00012	0.033		
ヘブタクロルエポキシド(異性体 A)	0.008			0.00012	0.116		
ヘブタクロルエポキシド(異性体 B)	0.002			0.00012	0.037		
ボスカリド	0.871	0.256	0.930	0.044	0.036	0.011	0.038
メタミドホス	0.018	0.017	0.022	0.0006	0.056	0.051	0.067

a ND=0.2LOQ として算出, b 体重 55 kg として計算

Table 5 食品を介した農薬の推定 1 日摂取量への各食品群への平均寄与率 (%)\*

食品群	BHC	γ-BHC	アセタミプリド	アセタミプリド 代謝物	アセフェート	イミダクロプリ ド	インドキサカル ブ	クロチアニジン
1	17.32	17.32	0.52	0.19	0.74	0.45	11.48	11.16
2	8.58	8.58	0.28	0.12	79.40	0.30	7.38	0.67
3	1.37	1.37	0.06	0.04	0.12	0.32	1.45	0.15
4	0.47	0.47	0.11	0.01	0.03	7.41	0.48	0.29
5	3.50	3.50	0.34	3.55	0.65	18.56	3.41	0.84
6	5.68	5.68	67.17	41.45	2.06	0.15	4.67	4.31
7	4.69	4.69	23.32	50.91	1.40	26.90	4.29	9.47
8	11.73	11.73	2.42	0.13	12.02	0.83	8.69	26.92
9	25.53	25.53	1.40	0.45	1.51	22.75	33.30	43.02
10	3.72	3.72	0.15	0.08	0.38	5.11	2.86	0.43
11	5.08	5.08	0.28	1.61	0.59	9.29	5.38	0.81
12	6.21	6.21	0.18	1.24	0.35	2.98	6.11	0.60
13	4.83	4.83	3.38	0.11	0.33	4.66	4.38	0.55
14	1.28	1.28	0.40	0.11	0.41	0.29	6.11	0.78

\*ND となったデータには LOQ の 0.2 倍したものを代入し計算した。

Table 5 続き\*

食品群	スルホキサフロ							
	クロルデン	クロルピリホス	ジノテフラン	ル	チアクロプリド	チアメトキサム	テフルトリン	ニテンピラム
1	15.59	6.58	40.58	8.94	7.93	1.65	17.32	0.45
2	7.72	6.62	0.32	0.02	3.84	1.09	8.58	0.30
3	1.23	2.35	0.07	0.01	0.12	0.17	1.37	0.32
4	0.42	6.29	0.03	0.16	0.46	0.34	0.47	7.41
5	3.15	0.96	0.01	0.40	7.12	0.98	3.50	18.56
6	5.11	14.25	21.44	50.27	74.01	1.65	5.68	0.15
7	4.22	1.41	29.00	20.53	0.25	7.95	4.69	26.90
8	10.55	3.18	1.86	19.21	0.53	78.20	11.73	0.83
9	22.98	25.81	5.48	0.18	2.40	3.72	25.53	22.75
10	13.35	1.31	0.01	0.00	0.25	0.55	3.72	5.11
11	4.57	1.96	0.00	0.04	0.44	0.95	5.08	9.29
12	5.59	3.08	0.00	0.02	0.43	0.74	6.21	2.98
13	4.35	24.27	1.04	0.20	1.54	0.95	4.83	4.66
14	1.15	1.92	0.16	0.01	0.67	1.06	1.28	0.29

\*ND となったデータには LOQ の 0.2 倍したものを代入し計算した。

Table 5 続き\*

食品群	ノバルロン	ハルフェンプロ ックス	ビフェントリン	ピリダベン	フェニトロチオ ン	フェンプロパト リン	ブプロフェジン	フルアジホップ ブチル
1	39.45	17.32	6.88	21.65	11.76	17.32	19.67	11.81
2	20.46	8.58	3.53	12.82	6.80	8.58	6.19	7.60
3	0.65	1.37	0.58	0.59	1.18	1.37	3.30	1.50
4	6.04	0.47	0.20	0.72	0.34	0.47	0.56	0.50
5	0.77	3.50	1.47	4.24	1.45	3.50	4.53	3.51
6	1.20	5.68	60.48	8.28	2.46	5.68	10.11	4.81
7	1.12	4.69	1.95	4.19	2.27	4.69	5.73	4.42
8	2.52	11.73	4.72	5.45	4.90	11.73	19.48	8.94
9	16.18	25.53	11.33	12.33	52.19	25.53	6.49	34.27
10	0.62	3.72	1.51	1.03	1.51	3.72	1.54	2.94
11	1.27	5.08	2.16	2.29	2.50	5.08	1.77	5.53
12	5.36	6.21	2.61	6.00	4.94	6.21	0.65	6.29
13	1.46	4.83	2.00	16.56	3.38	4.83	19.81	4.51
14	2.90	1.28	0.56	3.86	4.32	1.28	0.17	3.38

\*ND となったデータには LOQ の 0.2 倍したものを代入し計算した。

Table 5 続き\*

食品群	フルアジホップ ブチル代謝物	フルベジアミド	ヘキサジノ ン	ヘプタクロル	ヘプタクロルエ ポキシド (異性 体 A)	ヘプタクロルエ ポキシド (異性 体 B)	ボスカリド	メタミドホス
1	12.08	7.51	36.84	11.21	11.45	10.78	3.52	24.78
2	7.77	3.97	18.14	7.21	7.36	6.93	1.78	12.85
3	1.53	0.13	0.75	1.42	1.45	1.37	0.20	1.08
4	0.51	0.43	2.09	0.47	0.48	0.46	2.46	1.45
5	3.59	0.20	3.42	3.33	3.40	3.20	0.78	5.64
6	4.92	10.34	1.63	4.56	4.66	4.38	12.10	9.29
7	4.52	52.28	16.65	4.19	4.28	4.03	12.83	12.03
8	9.14	20.13	2.21	8.48	8.67	8.16	6.38	4.48
9	35.05	2.84	7.78	32.52	33.22	31.27	55.54	17.19
10	3.01	0.30	5.26	2.79	2.85	2.68	0.26	1.22
11	5.66	0.35	1.09	5.25	5.36	5.05	0.68	2.36
12	6.43	0.26	0.95	5.97	6.09	5.74	0.46	2.57
13	4.61	0.39	1.17	4.28	4.37	4.12	2.41	3.36
14	1.19	0.89	2.02	8.32	6.34	11.85	0.58	1.70

\*ND となったデータには LOQ の 0.2 倍したものを代入し計算した。

Table 6 食品を介した農薬の推定 1 日摂取量 ( $\mu\text{g person}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) の下限値と上限値\*

地域	BHC		$\gamma$ -BHC		アセタミプリド		アセタミプリド 代謝物		アセフェート		イミダクロプリド	
	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値
A					1.25	1.25	0.213	0.215	0.479	0.489		
F	0.000	0.196	0.000	0.196								
B					0.923	0.926						
C					1.63	1.88						
D					1.84	1.84			0.024	0.195	1.699	1.700
E					1.06	1.07	0.078	0.082	0.000	0.028		

地域	インドキサカルブ		クロチアニジン		クロルデン		クロルピリホス		ジノテフラン		スルホキサフロル	
	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値
A			0.283	0.322			0.007	0.108				
F					0.013	0.204	0.003	0.197				
B			0.831	0.839			0.052	0.057				
C			0.664	0.789								
D			0.278	0.279			0.143	0.158	2.67	2.67	0.921	0.926
E	0	0.007	0.086	0.152			0.118	0.124				

\*下限値には、LOD 未満の場合には 0 を、LOD 以上 LOQ 未満の場合には LOD を代入した。上限値には、LOD 未満の場合には LOD を、LOD 以上 LOQ 未満の場合には LOQ を代入した。定量可能であったデータには、上限値および下限値には定量値を用いた。



Table 6 続き

地域	チアクロプリド		チアメトキサム		テフルトリン		ニテンピラム		ノバルロン		ハルフェンブロックス	
	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値
A	0.477	0.493	0.077	0.113					0.033	0.049		
F			0.344	0.502	0.000	0.196					0.000	0.196
B	0.030	0.031	0.230	0.235					0.033	0.037		
C	0.049	0.093	0.799	0.916					0.010	0.190		
D	0.081	0.082	0.081	0.083			0.061	0.072	0.332	0.343		
E	0.006	0.008	0.174	0.177					0.003	0.011		

地域	ビフェントリン		ピリダベン		フェニトロチオン		フェンプロパトリン		ブプロフェジン		フルアジホップブチル	
	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値
A					0.000	0.339						
F	0.000	0.196			0.000	0.196	0.000	0.196				
B					0.251	0.448						
C			0.000	0.037								
D			0.089	0.090					0.067	0.067		
E	0.131	0.153	0.000	0.044	0.016	0.242			0.029	0.035	0	0.030

\*下限値には、LOD 未満の場合には 0 を、LOD 以上 LOQ 未満の場合には LOD を代入した。上限値には、LOD 未満の場合には LOD を、LOD 以上 LOQ 未満の場合には LOQ を代入した。定量可能であったデータには、上限値および下限値には定量値を用いた。

Table 6 続き

地域	フルアジホップブチル 代謝物		フルベンジアミド		ヘキサジノン		ヘプタクロル		ヘプタクロルエポキシ ド (異性体 A)		ヘプタクロルエポキシ ド (異性体 B)	
	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値	上限値	下限値
A			0.287	0.291								
F												
B					0.000	0.015						
C			0.875	1.015	0.004	0.048						
D			0.147	0.147	0.120	0.120						
E	0	0.103			0.008	0.017	0.000	0.003	0.000	0.012	0.000	0.004

地域	ボスカリド		メタミドホス	
	上限値	下限値	上限値	下限値
A	1.11	1.12		
F	0.682	0.808		
B	0.867	0.875	0.000	0.000
C	1.00	1.23		
D	0.986	0.988	0.033	0.035
E	0.385	0.513	0.000	0.033

\*下限値には、LOD 未満の場合には 0 を、LOD 以上 LOQ 未満の場合には LOD を代入した。上限値には、LOD 未満の場合には LOD を、LOD 以上 LOQ 未満の場合には LOQ を代入した。定量可能であったデータには、上限値および下限値には定量値を用いた。

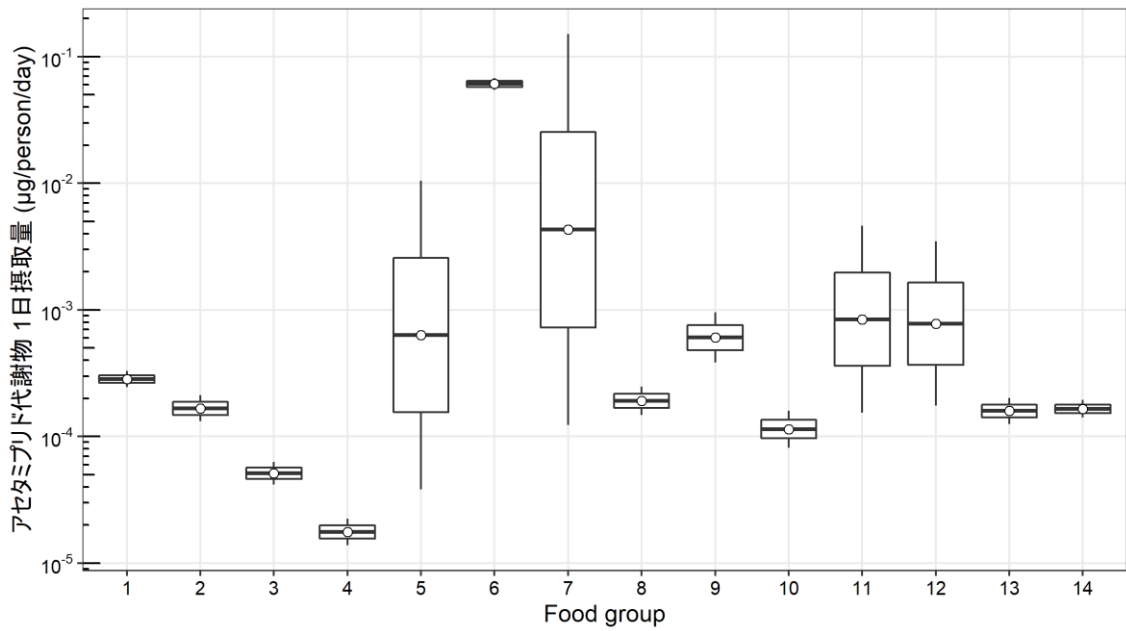
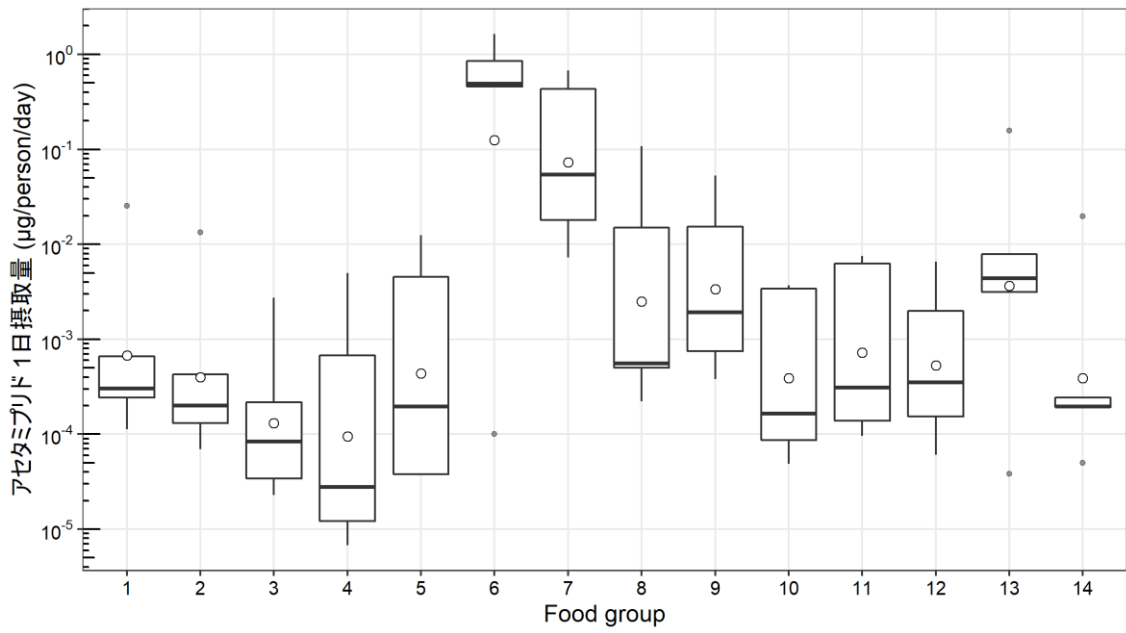
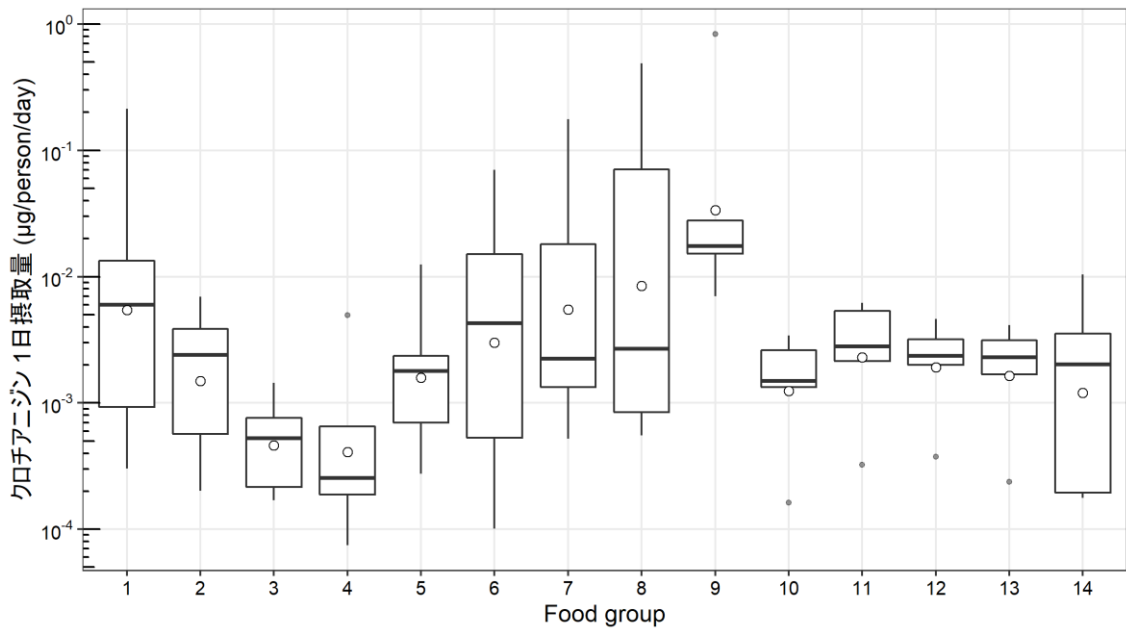
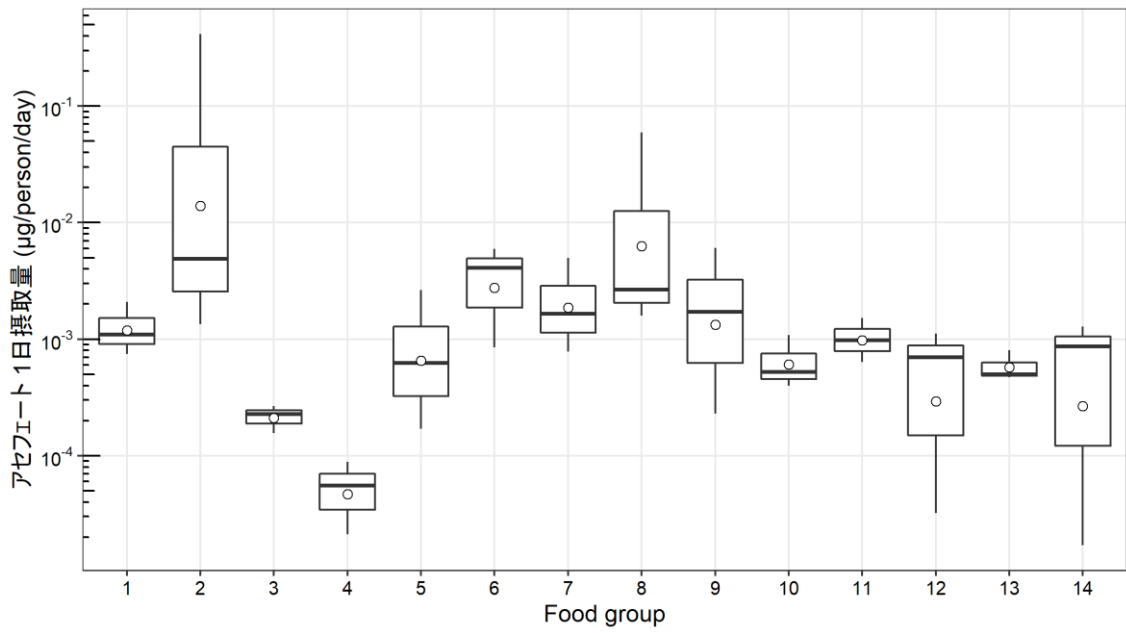
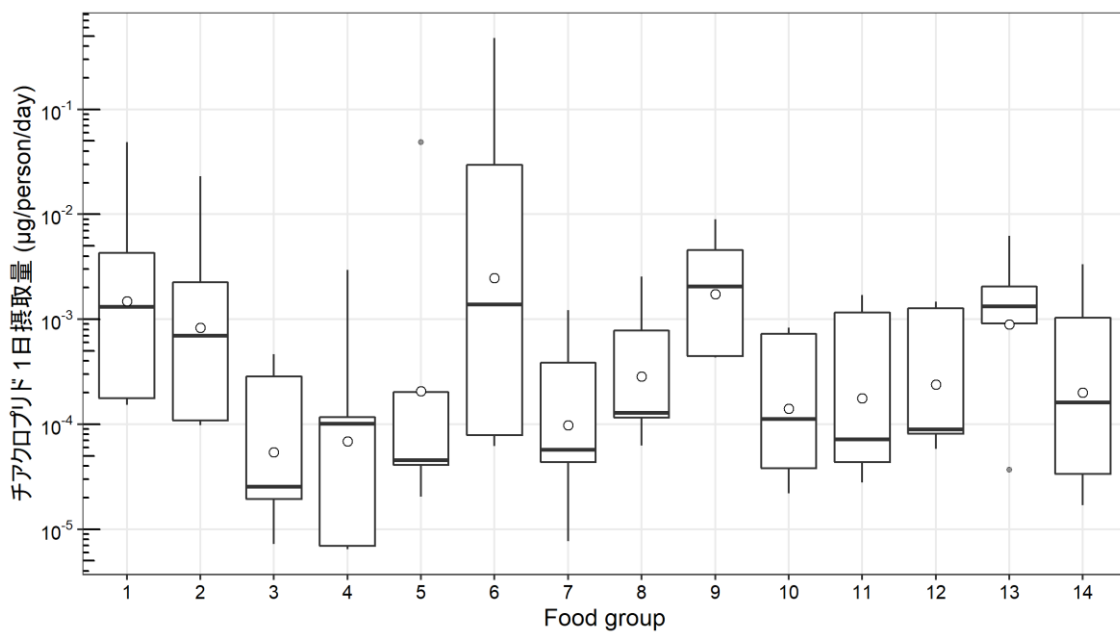
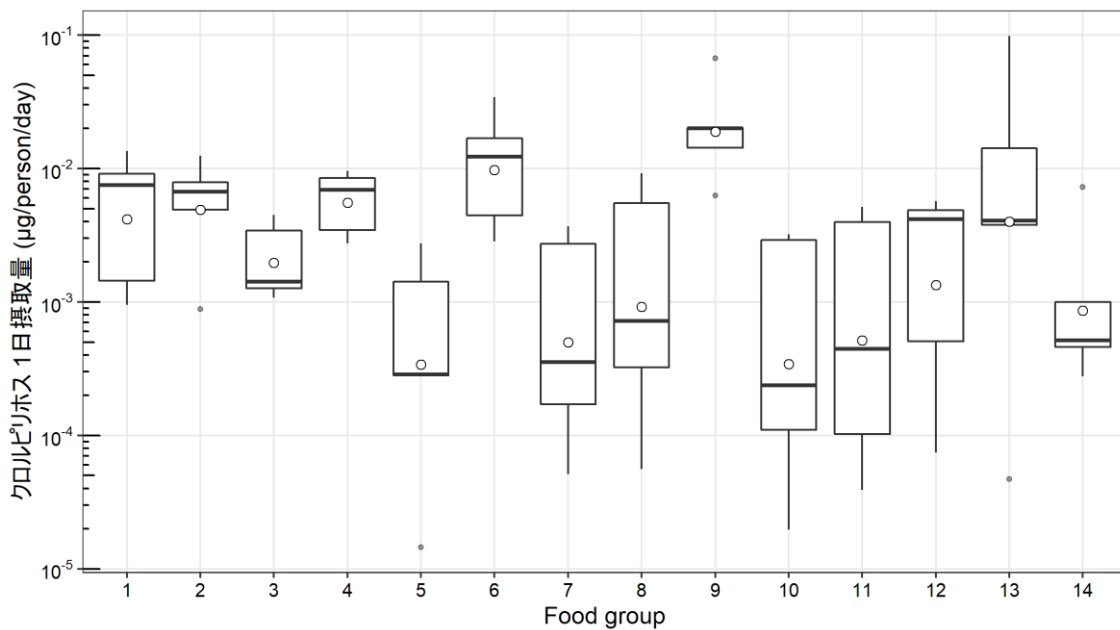
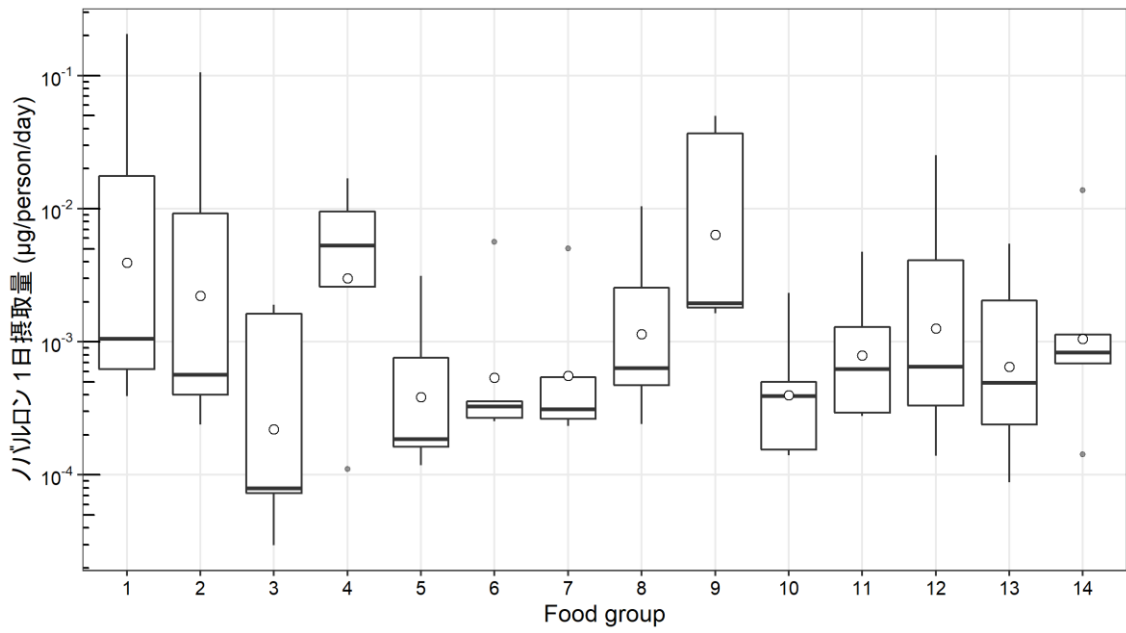
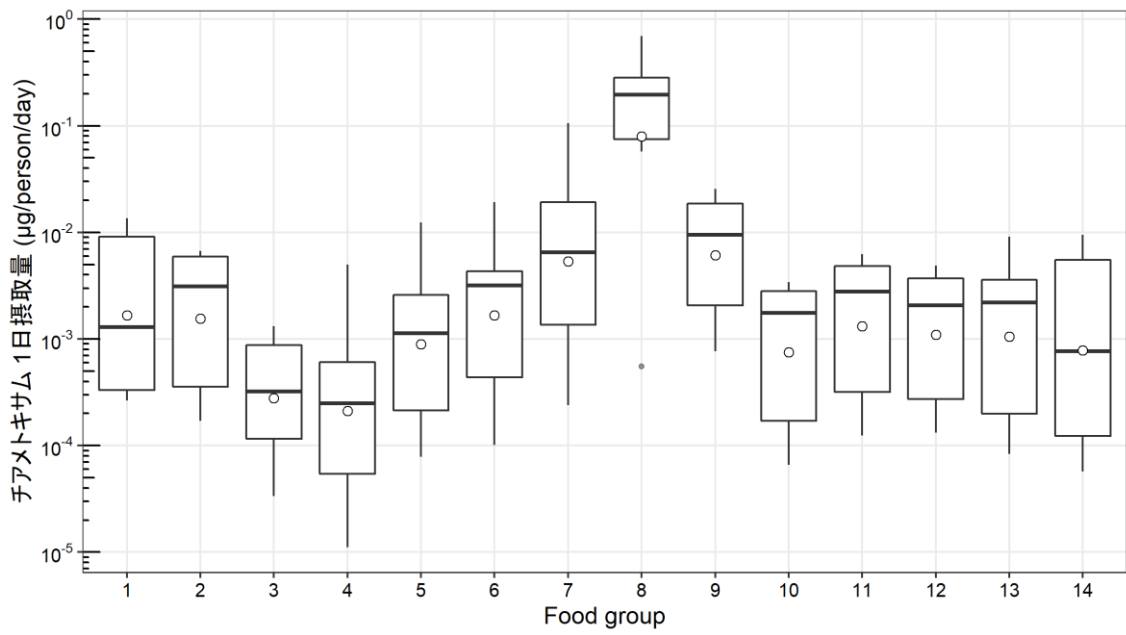
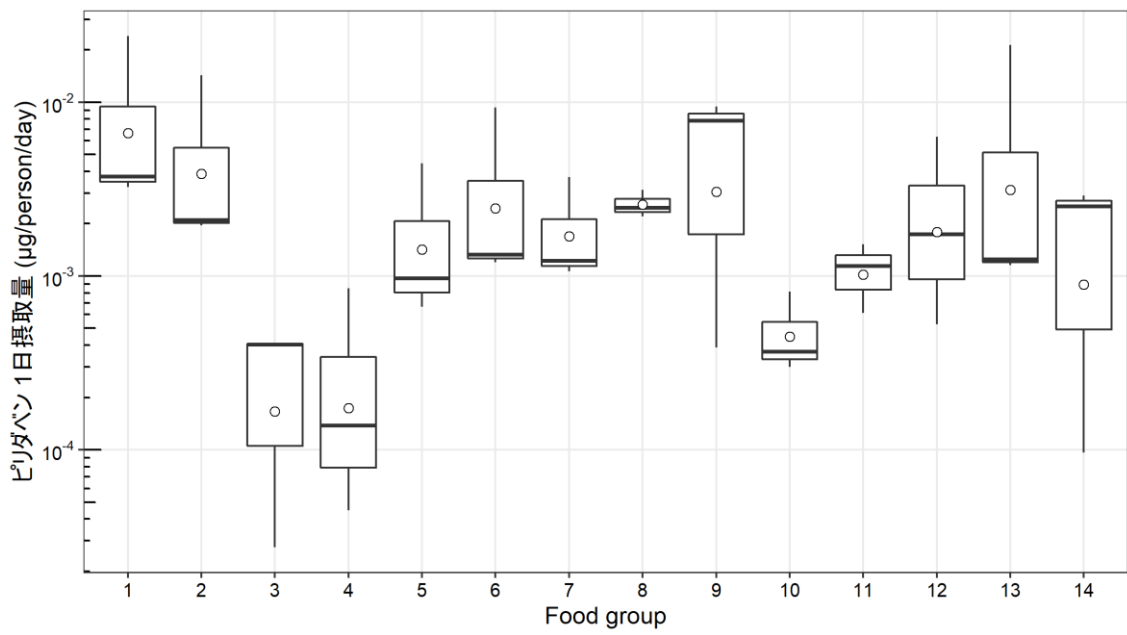
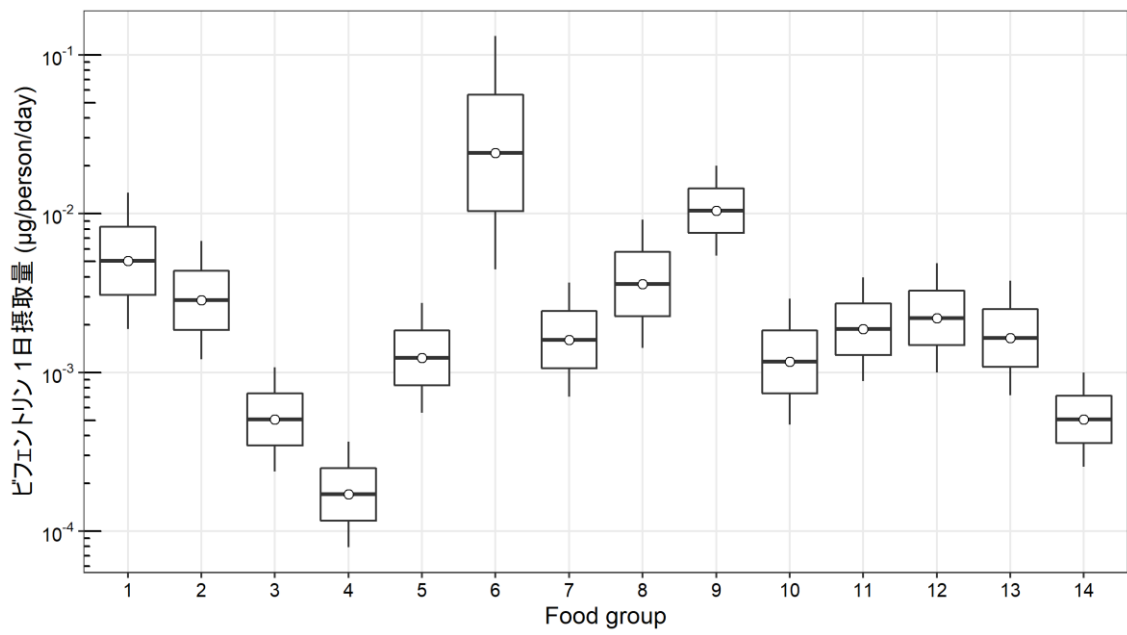


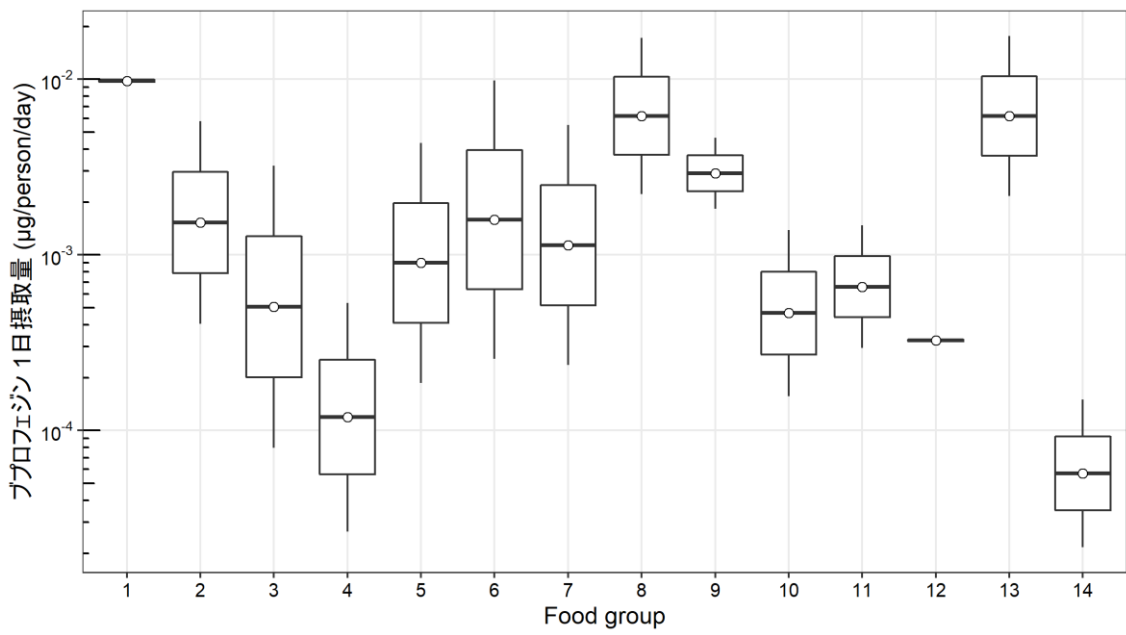
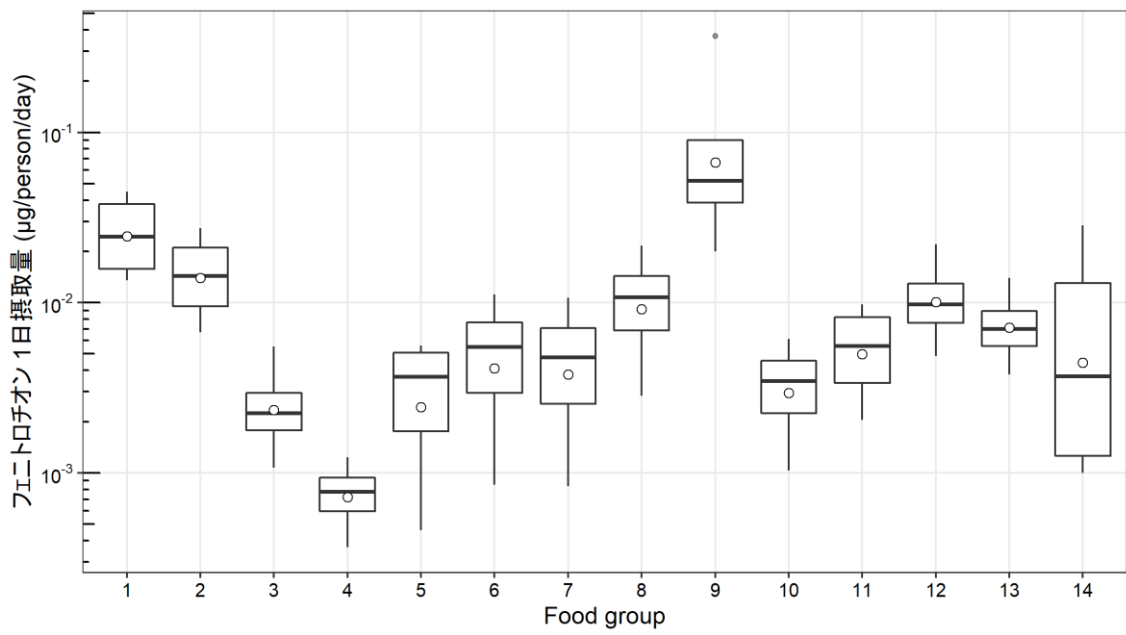
Fig. 1 各食品群における農薬の1日摂取量



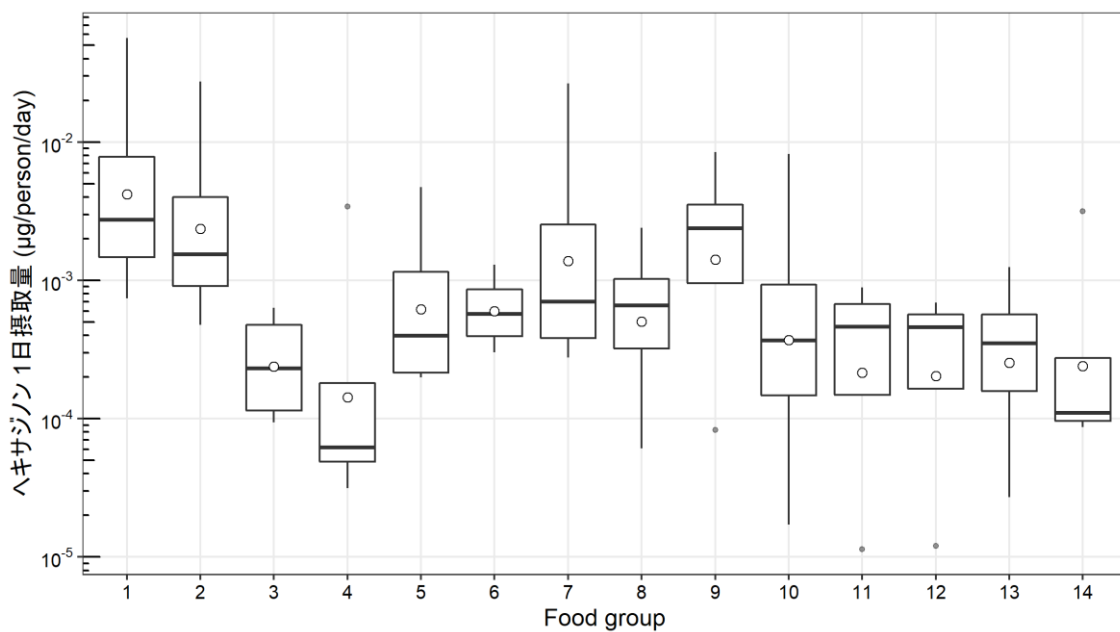
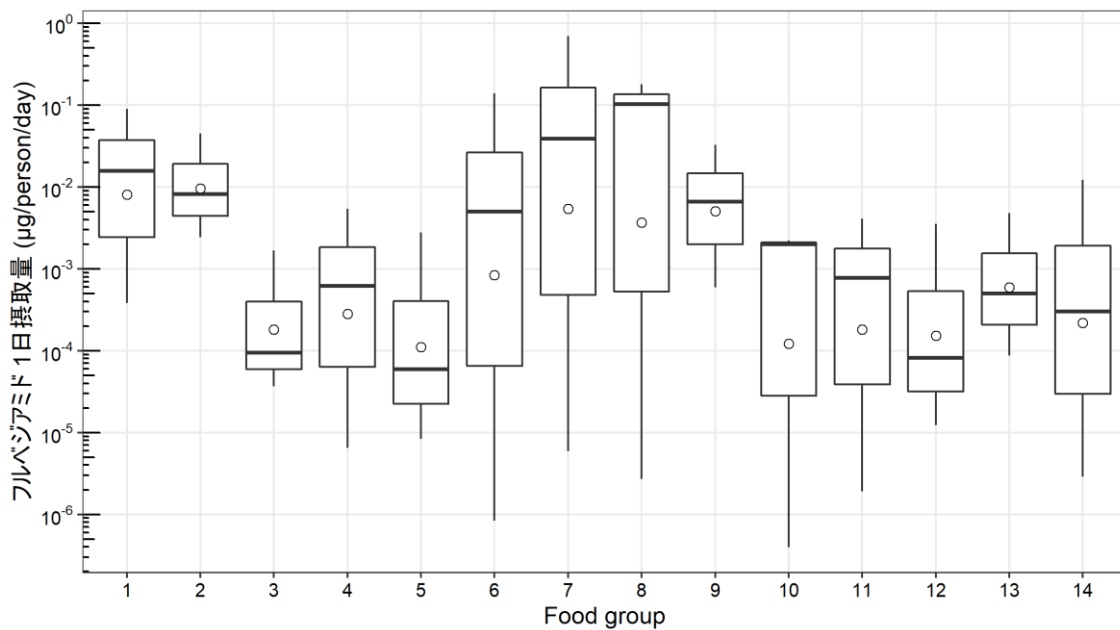


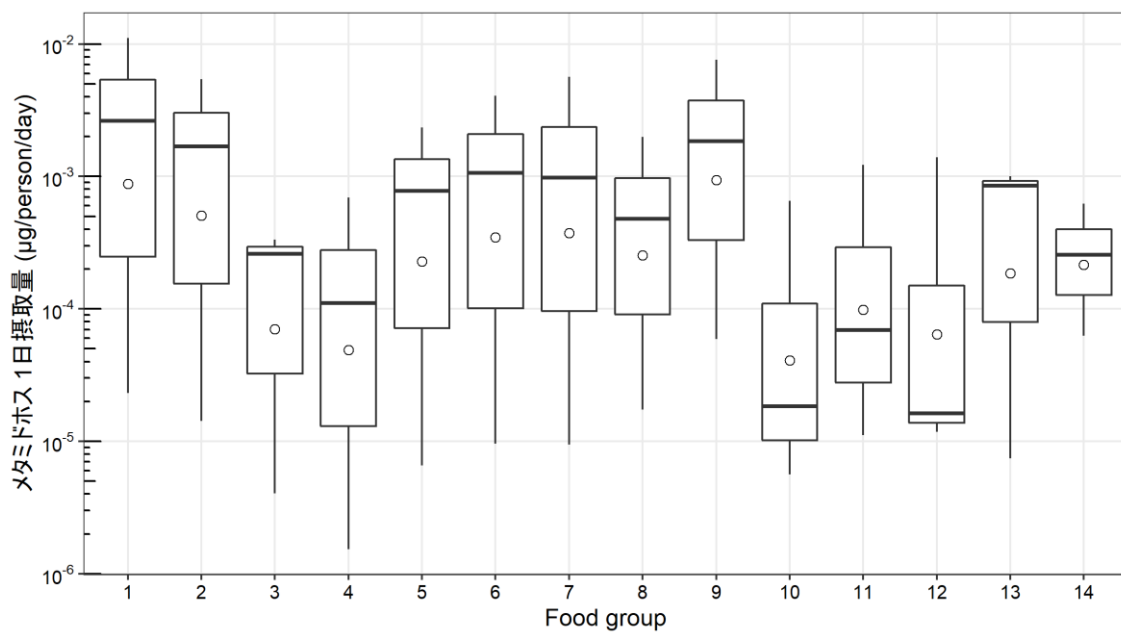
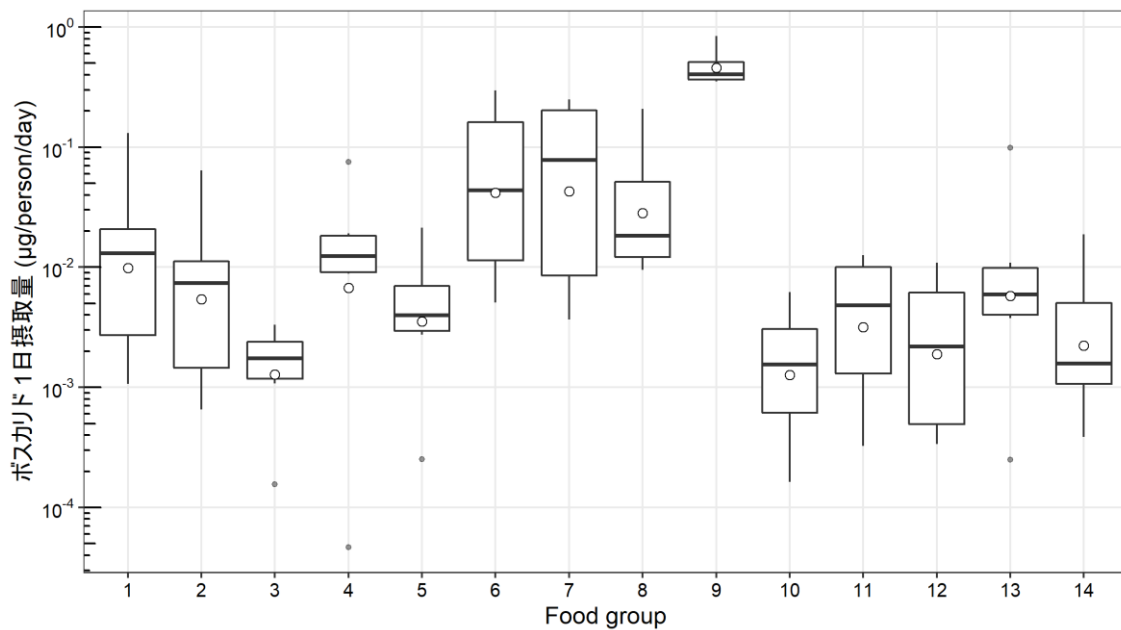












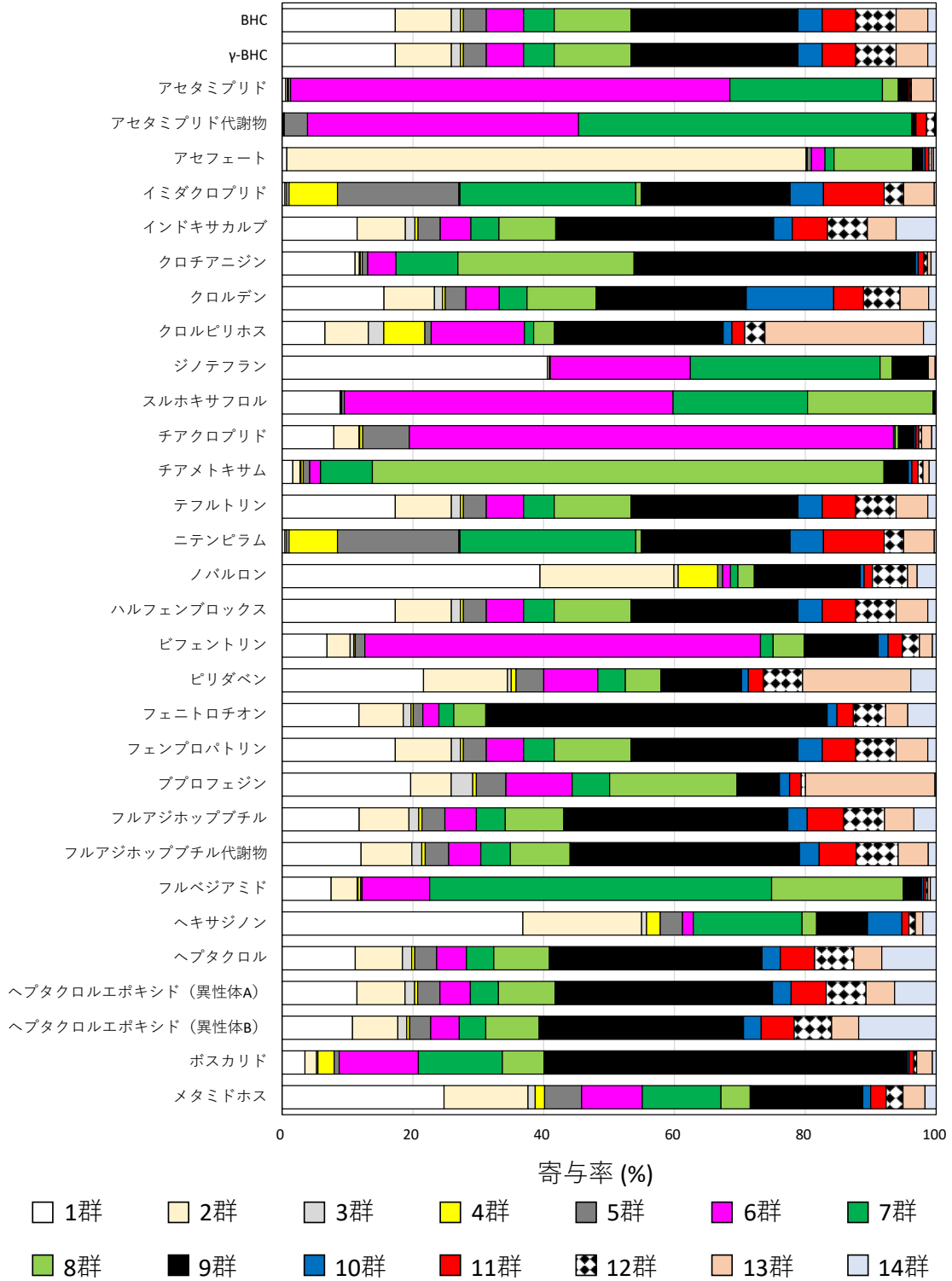


Fig. 2 各農薬の推定一日摂取量における各食品群の寄与率

## Ⅱ．分担研究報告

### 課題 2．食品以外の暴露要因である環境中の 農薬濃度の評価に関する研究

研究分担者 鈴木 美成  
大河内 博



## 令和3年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 食品の安全確保推進研究事業

食品や環境からの農薬等の摂取量の推計と国際標準を導入するための研究

研究分担報告書

### 食品以外の暴露要因である環境中の農薬濃度の評価に関する研究

#### 研究分担者

国立医薬品食品衛生研究所食品部 鈴木美成

#### 研究要旨

経気経由の暴露評価を行うべき農薬等として、推定暴露量が ADI の 70%以上の農薬 14 種を対象とし、空気中の農薬等の分析法を開発し、2020 年 10 月～2022 年 2 月の期間に愛媛大学の食堂、農場近傍、建物近傍の 3 か所にて空気中農薬の分析を行った。その結果、春から夏にかけて果樹等に使用される殺虫剤のブプロフェジンが 4 月、6 月、7 月に約 2.1～6.0 ng/m<sup>3</sup>の濃度で検出された。7 月の 24 時間サンプリングにおいてもブプロフェジンのみが観測され、その検出濃度は 6 時間サンプリングよりも低い濃度であり、夜間の農薬の飛散は少ないものと推定された。ブプロフェジンは本対象農薬中では愛媛県で最も多く使用される農薬であり、測定地点の周囲にある果樹園等で使用されたものが飛散し検出されたものと考えられる。検出濃度はいずれも低濃度であり、1 日に 6 ng/m<sup>3</sup>、24 時間暴露と仮定しても暴露量は 103.8 ng/person/day となり、許容量の数 1000 分の 1 であるため健康影響はほぼないと考えられた。

#### 研究協力者

愛媛大学 川嶋文人

#### A. 目的

厚生労働省では食品を介した残留農薬等の暴露量を推定し、ADI の 80%を超えないことを確認している。しかし、国際的には ADI の 100%を基に食品中の残留農薬基準値が設定されているのが現状である。

日本において ADI の 80%としているのは、農薬摂取は 80%が食品から、残りの 20%は環境由来の経気暴露あるいは経皮暴露によるものとの仮定の元に成り立つ。食品以外の暴露経路として、室内で家庭

用殺虫剤を使用する、あるいは家庭菜園等に散布した農薬の経気暴露の可能性がある。

しかしながら、全農薬摂取量の 20%と設定するに足る科学的な根拠は充分ではない。したがって、食品を介した農薬等の暴露推定のみを根拠とした食品中残留農薬の基準値設定は、食品以外の暴露量に不確定な要素があるため、精密なリスク管理には食品以外の経路も含めた総合的評価が必要である。

本研究班においては、ADI が低く設定さ

れている成分かつ、一日推定摂取量試算での ADI 占有率が 70%を超える農薬等を主な調査対象物質とし、本年度は、昨年度に構築した大気中農薬の測定系を用いて実地での回収試験を行い、測定系の性能評価と改良を行った。また、改良した本分析法を用いて、地方（愛媛県）において食堂、農場近傍、建物近傍の 3 か所にて大気中農薬の分析を行った。

## B. 試料と方法

### 1 試薬

フルアジホップ、フルアジホップブチル、アセフェート、クロルピリホス、ヘキサジノン、ボスカリド、ブプロフェジン、ノバルロン、ピリダベン、フルベンジアミド、ビフェントリンの 11 種類の標準物質については富士フィルム和光純薬製を使用した。ヘプタクロル、ヘプタクロルエポキシド A、ヘプタクロルエポキシド B については AccuStandard 製を使用した。メタミドホス、フェニトロチオン、インドキサカルブは、Dr.Ehrenstorfer GmbH 製を使用した。内部標準物質は、チアメトキサム-d4、クロルピリホス-d10 は関東化学製、フェニトロチオン-d6 は林純薬工業製、<sup>13</sup>C<sub>10</sub>-ヘプタクロル、<sup>13</sup>C<sub>10</sub>-ヘプタクロルエポキシド B は Cambridge Isotope Laboratories 製を使用した。アセトン、メタノール、アセトニトリル、ヘキサンは富士フィルム和光純薬製の残留農薬・PCB 試験用（300 倍）を使用した。LC/MS/MS の移動層に用いるメタノール及び蒸留水は関東化学製の LC/MS 用、酢酸アンモニウムはシグマアルドリッチ製の LC/MS 用を使用した。

### 2 捕集方法

捕集フィルターには、石英フィルター（東京ダイレック製 Model 2500 QAT-UP, 47 mm）及びエムポアディスク C18 FF オクタデシル（3M 製, 47 mm）を用いた。捕集フィルターは事前に測定対象化合物が無いことを確認し、そのまま使用した。捕集時に使用するフィルターホルダーは、使用前にアセトン及びヘキサンで溶媒洗浄を行い乾燥させた後、サンプリングに用いた。前段に石英フィルター、後段にエムポアディスクを配置し、吸引速度 1L/min（柴田科学製ミニポンプ MP-Σ300NII）で 6 または 24 時間捕集した。

### 3 測定用試料の調製方法

捕集後の石英フィルター及びエムポアディスクはそれぞれねじ口試験管に入れ、内部標準（クロルピリホス-d10、チアメトキサム-d4、<sup>13</sup>C<sub>10</sub>-ヘプタクロル、<sup>13</sup>C<sub>10</sub>-ヘプタクロルエポキシド B、フェニトロチオン-d6、各 100 ng）添加アセトン 10 mL を正確に加え、蓋の間にナフロン PTFE シートをはさみこみ、蓋をしめた。その後、軽く手で振り混ぜてから vortex ミキサーで攪拌し、フィルター全体がアセトンに浸かるようにした。さらに、10 分間超音波処理を行った。遠心分離機にて 1000×g で 10 分間遠心処理を行い、上澄み液を各捕集フィルターからの抽出液として各分析に使用した。

#### 3-1 LC-MS/MS 測定用の試料調製方法

上記の方法にて抽出したアセトン溶液 1 mL を分取し、窒素にて緩やかに濃縮乾固

させた。その後、メタノールを 1 mL 添加し、内容物を再溶解させた。バイアルフィルター（GE ヘルスケアライフサイエンス製 ミニユニ G2 (PVDF 0.2 μm)）でろ過し、LC-MS/MS 測定用試料とした。

### 3-2 LC-MS/MS 分析条件

測定用試料 2 μL を LC-MS/MS に注入し、MRM 法で定量を行った。内部標準法により作成した検量線から試料中の各成分の濃度を算出した。モニターイオン及び定量に用いた内部標準物質を表 1 に示した。検量線濃度は 0.5、1、2、5、10、20 μg/L（メタノール溶液）を測定し検量線を作成した。

装置：Thermo Fisher Scientific Vanquish、TSQ Quantis

カラム：Imtakt Cadenza CD-C18(2 mmID×150 mm、粒径 3μm)

溶離液：A:5mM 酢酸アンモニウム水溶液  
B:メタノール

A (98%) → (5 min)→A (50%) → (15 min)  
→A (2%) 8分保持

カラム流量：0.25 mL/分

コリジョンガス：アルゴン

脱溶媒ガス：窒素（350°C）

### 3-3 GC-MS 測定用の試料調製方法

上記の方法にて抽出したアセトン溶液を精確に 1000 μL 分取しバイアルインサートに入れた。窒素にて緩やかに約 100 μL に濃縮し、ボルテックスミキサーで攪拌、均一化したものを GC-MS 測定用サンプルとした。

### 3-4 GC-MS 分析条件

測定用試料 2 μL をスプリットレス方式で GC-MS に注入し、SIM 測定を行い定量した。内部標準法により作成した検量線から試料中の各成分の濃度を算出した。モニターイオン及び定量に用いた内部標準物質を表 2 に示す。検量線は各化合物の 5、10、20、50、100 μg/L（アセトン溶液）を測定し作成した。

装置：Agilent Technologies 7890A, 5975C  
カラム：DB-5MS (30m×0.25mmID、膜厚 0.25μm)

注入方式：スプリットレス、2 μL

注入口温度：250°C

イオン源温度：230°C

カラム温度：50°C（1 min 保持）→（25°C /min）→125°C→（10°C/min）→300°C（10 min 保持）

キャリアガス：ヘリウム（Constant Flow 1.0 mL/min）

## C.D. 結果と考察

本分析法を用いて愛媛大学（愛媛県松山市）の農場近傍、建物近傍、食堂の 3 か所にて n=2 で空气中農薬の測定を行った。サンプリングは 2020 年 10 月～2022 年 2 月の期間に月 1 回、晴天または曇りの日の 10 時～17 時の間に行った。測定結果を表 3 に示す。4 月、6 月、7 月の農場近傍と建物近傍の 2 か所において対象農薬のうちプロフェジンのみが検出され、6 月、7 月の検出濃度は定量下限値（0.73 ng/m<sup>3</sup>, 1.14 ng/m<sup>3</sup>）以上の 5.2～6.2 ng/m<sup>3</sup>であった。食堂では全期間において対象農薬は検出されなかった。また、7 月のサ



ンプリング時に建物近傍にて24時間サンプリングも行い、ブプロフェジン 1.8 ng/m<sup>3</sup>を検出した。日中の6時間サンプリングの濃度が24時間サンプリングの検出濃度がよりも高いことから、ブプロフェジンの夜間の揮散は少ないものと推測された。

ブプロフェジンは蒸気圧  $4.2 \times 10^{-5}$  Pa (20 °C) の比較的揮発しやすい農薬である。また、分解性についてはpH7での加水分解半減期 378 日 (25 °C)、水中光分解における自然水中での半減期 14 日 (25 °C) と報告されている。これらの物性から散布形態等によっては飛散が予想され、本サンプリング方法における検出は十分に可能と考えられる。

また、ブプロフェジンは本暴露評価の測定対象農薬 14 種の内、愛媛県で最も使用される農薬である。2019 年度における愛媛県の農薬に係る適用対象別・対象化学物質別の排出量推計結果によると、年間推定使用量 1803 kg であり、農薬 155 種における使用順位 18 位となっている。県内での使用内分けとしては果樹が 74% と最も多く、次に家庭 10%、田 9%となっている。使用時期としては、平成 23 年度の愛媛県の農作物病害虫等防除指針によると 4 月～10 月であり、特に 5 月～8 月にかけての使用作物種 (柑橘類、水稻、桃、栗、キウイフルーツ、イチジク等) での使用が多い。サンプリング地点である農場近傍、建物近傍は果樹 (柑橘類) や田が多い。また、これらの防除指針における散布時期は柑橘 5 月～10 月、田 4 月中旬～8 月までである。以上のことから、今回の調査においてブプロフェジンが検出された

ことは、物性・散布時期の観点からも妥当であると考えられた。

次に、健康影響について検討した。ブプロフェジンの ADI は 0.009 mg/kg 体重/日である。体重約 52.7 kg の成人が 1 日に取り込む空気量を約 17.3 m<sup>3</sup>、今回の検出量の最大値である約 6 ng/m<sup>3</sup>を暴露濃度とすると、24 時間の暴露量は約 103.8 ng/day となる。これは体重 52.7kg の人の ADI 474300 ng/day の 4570 分の 1 である。以上の結果から、今回検出されたブプロフェジンによる健康影響はないと考えられた。

## E. 結論

経気経由の暴露評価を行うべき農薬等として、推定暴露量が ADI の 70%以上の農薬 14 種を対象とし、空気中の農薬等の分析法を開発し、2020 年 10 月～2022 年 2 月の期間に愛媛大学の食堂、農場近傍、建物近傍の 3 か所にて空気中農薬の分析を行った。その結果、春から夏にかけて果樹等に使用される殺虫剤のブプロフェジンが 4 月、6 月、7 月に約 2.1～6.0 ng/m<sup>3</sup> の濃度で検出された。7 月の 24 時間サンプリングにおいてもブプロフェジンのみが観測され、その検出濃度は日中 6 時間のサンプリングよりも低い濃度であり、夜間の農薬の飛散は少ないものと推定された。ブプロフェジンは本対象農薬中では愛媛県で最も多く使用される農薬であり、測定地点の周囲にある果樹園等で使用されたものが飛散したのと考えられる。検出濃度はいずれも低濃度であり、1 日に検出された最大濃度である 6 ng/m<sup>3</sup>、24 時間暴露と仮定しても、暴露量は 103.8

ng/day であり、許容量の数 4570 分の 1  
であるため、健康影響はほぼないと考え  
られた。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の 出願, 登録状況

なし

I. 健康危機情報

なし

表 1 LC/MS/MS 対象化合物の測定条件

	保持時間(分)	定量イオン	確認イオン	極性	内部標準
フルアジホップチル	20.22	384.100 → 282.100	384.100 → 328.100	Positive	チアマトキサム-d4
フルアジホップ	11.75	328.080 → 282.000	328.080 → 238.000	Positive	チアマトキサム-d4
アセフェート	6.10	184.020 → 143.000	184.020 → 95.000	Positive	チアマトキサム-d4
クロルピリホス	21.40	349.930 → 198.000	349.930 → 97.000	Positive	クロルピリホス-d10
メタミドホス	5.20	142.010 → 94.000	142.010 → 125.000	Positive	チアマトキサム-d4
ヘキサジノン	11.65	253.124 → 171.071	253.124 → 71.071	Positive	チアマトキサム-d4
インドキサカルブ	19.26	528.080 → 203.000	528.080 → 150.000	Positive	チアマトキサム-d4
ボスカリド	15.43	343.040 → 307.000	343.040 → 140.000	Positive	チアマトキサム-d4
ブプロフェジン	20.63	306.160 → 201.100	306.160 → 116.000	Positive	チアマトキサム-d4
ノバルロン	19.66	491.000 → 471.000	491.000 → 305.000	negative	チアマトキサム-d4
ピリダベン	22.51	365.100 → 309.000	365.100 → 147.000	Positive	チアマトキサム-d4
フルベンジアミド	17.49	681.000 → 254.000	681.000 → 274.000	negative	チアマトキサム-d4
ビフェントリン	23.49	440.160 → 181.000	440.160 → 166.000	Positive	チアマトキサム-d4
チアマトキサム-d4	7.83	296.000 → 215.000	296.000 → 183.000	Positive	-
クロルピリホス-d10	21.32	360.000 → 199.000	360.000 → 99.000	Positive	-

表 2 GC/MS/MS 対象化合物の測定条件

	保持時間(分)	定量イオン	確認イオン	内部標準
フェニトロチオン	13.93	277	260	フェニトロチオン-d6
ヘプタクロル	13.63	337	339	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> -ヘプタクロル
ヘプタクロルエポキシドA	15.17	353	351	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> -ヘプタクロルエポキシドB
ヘプタクロルエポキシドB	15.10	353	351	<sup>13</sup> C <sub>10</sub> -ヘプタクロルエポキシドB
フェニトロチオン-d6	13.88	283	266	-
<sup>13</sup> C <sub>10</sub> -ヘプタクロル	13.63	347	349	-
<sup>13</sup> C <sub>10</sub> -ヘプタクロルエポキシドB	15.10	400	402	-

表 3 農場近傍、建物近傍、食堂におけるブプロフェジン検出濃度 (ng/m<sup>3</sup>)

観測月	農場近傍		建物近傍		食堂	
2021年 4月	2.25	2.11	2.28	2.14	ND	ND
2021年 6月	5.64	5.19	6.19	6.08	ND	ND
2021年 7月	5.58	5.58	5.97	5.86	ND	ND
2021年 7月(24時間)			1.83	1.82		

ND: 未検出



## 令和3年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 食品の安全確保推進研究事業

食品や環境からの農薬等の摂取量の推計と国際標準を導入するための研究

研究分担報告書

### 食品以外の暴露要因である環境中の農薬濃度の評価に関する研究

#### 研究分担者

早稲田大学 大河内 博

#### 研究要旨

早稲田大学西早稲田キャンパス（東京都新宿区）のある研究棟屋上（高さ 65 m）においてエムポアフィルター、石英繊維フィルターを用いて大気中農薬の捕集を行い、大気中農薬濃度を測定し季節変動を評価した。

フェニトロチオンは春季、アセフェート、フルアジホップブチル、ノバルロンは夏季、クロルピリホスとブプロフェジン は夏季と冬季、ボスカリド（秋季:  $\text{ng}/\text{m}^3$ 、冬季:  $\text{ng}/\text{m}^3$ ）は秋季と冬季に高いことが分かった。また、室内からはクロルピリホスの明瞭なピークが検出されたものの検出下限であった。

検出された農薬濃度の最大値と、日本人の平均呼吸率（ $17.3 \text{ m}^3/\text{day}$ ）を用いて、東京における吸入暴露量を評価したところ次のように推定された；フェニトロチオン:  $0.630 \text{ }\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , アセフェート:  $0.036 \text{ }\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , フルアジホップブチル:  $0.025 \text{ }\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ノバルロン:  $0.049 \text{ }\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , クロルピリホス:  $0.008 \text{ }\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ブプロフェジン:  $0.002 \text{ }\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ボスカリド:  $0.005 \text{ }\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , インドキサカルブ:  $0.003 \text{ }\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ , ヘキサジノン:  $0.003 \text{ }\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ 。

検出された大気中農薬濃度はいずれも低値であり、1日に最大濃度の大気中農薬を24時間暴露したと仮定しても、対ADI比は最大でフェニトロチオンの0.23%であった。以上の結果より、都市部において一般的な生活をしている限り、農薬の吸入暴露による健康影響はほぼないと考えられた。

## A. 目的

厚生労働省では食品を介した残留農薬等の暴露量を推定し、ADIの80%を超えないことを確認している。しかし、食品以外の暴露経路も懸念され、例えば、家庭用殺虫剤を使用することで経気暴露の可能性がある。食品を介した農薬等の暴露推定のみを根拠とした食品中残留農薬の基準値設定は、食品以外の暴露量に不確定な要素があるため、精密なリスク管理には食品以外の経路も含めた総合的評価が必要である。

本研究班においては、食品以外の残留農薬摂取量の把握を目的として、大気中農薬の実態解明を行った。そのために、簡易採取および迅速分析法の確立を行うとともに、経皮および経気道暴露評価のためにウェアブルサンプラーの検討を行った。

## B. 試料と方法

### 1 捕集地点

採取地点は、早稲田大学西早稲田キャンパス（東京都新宿区）のある研究棟屋上（高さ65m）で行った（図1）。

### 2 捕集方法

2019年度の研究成果に基づき、エアロゾル態捕集用に石英繊維フィルター、ガス態捕集用エムポアディスクを重ねて大気捕集を行った。

さらに、ウェアブルサンプラーに用いる捕集材として、ポリジメチルシロキサン（PDMS）をコーティングさせたTwister（グステル社製）を用いて屋内、屋外での採取を行った。

### 3 抽出方法

採取した試料は、25 mL 試験管にフィ

ルターを導入し、アセトンを約7 mL加え、超音波抽出を行った。Twisterについては、アセトンを約5 mL加え、超音波抽出を行った。その後、25 mL 試験管内の溶液を褐色遠沈管に移し替えた。このとき、ガラスシリンジに0.45 μm メンブランフィルターを取り付け、溶液を汙過しながら移し替えた。フィルターの入っていた25 mL 試験管を3回ほど洗浄した溶液も汉過して遠沈管に移した。その後、窒素（純度99.9999%）を吹き付けて、遠沈管内の溶液が0.2 mL以下となるまで濃縮した。そして、LC-MS用メタノールを使用し、1 mLに定容し、GC-MS、LC-MSに導入した。

## 4 機器分析

GC-MSの測定条件を表1、LC-MSの測定条件を表2に示す。

## C.D. 結果と考察

### 1 都市大気中農薬の実態解明

2020年度は石英繊維フィルター、エムポアフィルターの個別抽出を行ったが、簡便性かつ迅速性を高めるために2021年度からはフィルターを分けずに2枚重ねて抽出を行った。また、LCMSを用いた農薬分析条件の検討も行い、12種類の分析が可能となった。

季節変化を明らかにすることを目的として、春季として2021年3月29日 - 4月2日、夏季として7月19 - 24日、8月23 - 28日、秋季として10月18 - 21日、冬季として2022年1月5 - 8日にかけて昼夜12時間採取（6:00 - 18:00、18:00-6:00）を行った。その結果、最大濃度に着目すると、フェニトロチオン36.44 (ng/m<sup>3</sup>) は春季、アセフェート

2.10 (ng/m<sup>3</sup>)、フルアジホップブチル 1.43 (ng/m<sup>3</sup>)、ノバルロン 2.81 (ng/m<sup>3</sup>) は夏季、クロルピリホス (夏季:0.47 ng/m<sup>3</sup>、冬季:0.38 ng/m<sup>3</sup>) とブプロフェジン (夏季:0.12 ng/m<sup>3</sup>、冬季:0.13 ng/m<sup>3</sup>) は夏季と冬季、ボスカリド (秋季:0.26 ng/m<sup>3</sup>、冬季:0.29 ng/m<sup>3</sup>) は秋季と冬季に高いことが分かった。なお、インドキサカルブ、ヘキサジノン は秋季にのみ検出され、それぞれ 0.16 ± 0.031 ng/m<sup>3</sup>、0.15 ± 0.100 ng/m<sup>3</sup> であった。ボスカリドは気温が低下する秋季と冬季に高いことから、粒子態として大気中に存在している可能性が考えられる。アセフェートはすべての季節を通じて夜間にのみ検出されることが明らかになった。

室内環境中農薬を調べるため、2021年4月22日から23日、12月15日から19日にかけて、横浜市中川スクウエア(住宅展示場)で築17年の住宅内のウォークインクローゼット内で24時間毎の採取を行った。クロルピリホスの明瞭なピークが検出されたものの検出下限であった。

## 2 ウェラブルサンプラーによる大気中農薬濃度の暴露量評価

Twister (液相:PDMS) を用いた暴露実験でも一週間程度で農薬は捕集されていない。これはアクティブ捕集でも検出限界が多いことを考えれば妥当であった。2021年度には室内実験により Twister による農薬吸着特性を調べた。30℃に設定した密閉恒温槽内で農薬の揮発を行って Twister で捕集し、アセトンで超音波抽出を行って LCMS および GCMS で各種農薬

を定量した。GCMS で定量したクロルピリホス、フェニトロチオン、ヘプタクロルは蒸気圧に応じた回収量が得られた(図3、相関係数  $r=0.979$ )。一方、LCMS で定量したフルアジホップ、ピリダベン、アセフェート、ブプロフェジン、メタミドホス、クロルピリホスは、蒸気圧が低いことからバラツキが大きいものの、蒸気圧とともに回率が増加する傾向が見られた(図3)。

次に、最適暴露日数の検討を行ったところ、蒸気圧の高いクロルピリホス、フェニトロチオン、ヘプタクロルは14日までは日数とともに直線的に回収率が增大したが、これ以降は減少することが分かった(図4)。したがって、蒸気圧の高いクロルピリホス、フェニトロチオン、ヘプタクロルは二週間程度の屋外暴露によりパッシブサンプラーにより大気中濃度を計測できるものと考えられた。今後、屋外暴露試験により大気中農薬の広域濃度分布を調べ、都内における発生源解明を行って行く予定である。

## 3 吸入暴露による農薬摂取量の推定とリスク評価

検出できた濃度の最大値と、日本人の平均呼吸率 (17.3 m<sup>3</sup>/day) を用いて、吸入暴露量を評価したところ次のように推定された; フェニトロチオン: 0.630 μg/person/day, アセフェート: 0.036 μg/person/day, フルアジホップブチル: 0.025 μg/person/day, ノバルロン: 0.049 μg/person/day, クロルピリホス: 0.008 μg/person/day, ブプロフェジン: 0.002 μg/person/day, ボスカリド: 0.005 μg/person/day, インドキサカルブ: 0.003

µg/person/day, ヘキサジノン: 0.003 µg/person/day。

体重 55 kg とすると、対 ADI 比は次のように推定された; フェニトロチオン: 0.23%, アセフェート: 0.03%, フルアジホップブチル: 0.01%, ノバルロン: 0.01%, クロルピリホス: 0.01%, ププロフェジン:  $4.5 \times 10^{-4}\%$ , ボスカリド:  $2.1 \times 10^{-4}\%$ , インドキサカルブ:  $9.7 \times 10^{-4}\%$ , ヘキサジノン:  $9.6 \times 10^{-5}\%$ 。

季節変動及び日内変動が観察された点および室内では検出されなかった点を踏まえると、上記の推定は平均的な吸入暴露量としては過剰推定となっている点には注意が必要であろう。しかしながら、調査対象とした全ての農薬について、対 ADI 比は 1%未満であったことから、都市部において一般的な生活をしている限り、農薬の吸入暴露による健康影響はほぼないと考えられた。

#### E. 結論

経気経由の暴露評価を行うべき農薬等として、推定暴露量が ADI の 70%以上の農薬 14 種を対象とし、空気中の農薬等の分析法を開発し、2020 年 9 月~2022 年 1 月の期間に東京都の早稲田大学の屋上にて空気中農薬の分析を行った。その結果、複数の農薬が検出されたものの、検出された濃度は低く、検出された最大値を用いて推定した吸入暴露量はすべての農薬で ADI の 1%未満であった。以上の結果から、都市部において一般的な生活をしている限り、農薬の吸入暴露による健康影響はほぼないと考えられた。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし

#### 2. 学会発表

- 1) 駒場啓祐, 大河内博, 鈴木美成, 川嶋文人; 都市大気中農薬の実態解明と個人曝露評価のためのウェアラブルサンプラーの開発 (1), 第 29 回環境化学討論会, 2021 年 6 月.
- 2) 駒場啓祐, 大河内博, 鈴木美成, 川嶋文人; 都市大気中農薬の実態解明と個人曝露評価のためのウェアラブルサンプラーの開発 (3), 第 62 回大気環境学会年会, 2021 年 9 月.
- 3) Keisuke KOMABA, Hiroshi OKOCHI, Yoshinari SUZUKI, Ayato KAWASHIMA; Pesticides in the urban atmosphere and the development of wearable samplers to assess personal exposure (2), The 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem), 2021 年 12 月.

H. 知的財産権の 出願, 登録状況  
なし

I. 健康危機情報  
なし



表1 GC-MS 測定条件

項目	条件
	Agilent 19091S-433UI
カラム	(HP-5ms Ultra Inert 30 m×250 μm×0.25 μm) 流量：1 mL/min, 圧力：8.81 psi, 平均線速度：36.80 cm/sec
オープン温度	70 °C (ホールド時間：2 min, ランタイム：2 min) - 20 °C/min - 130 °C (ホールド時間：0 min, ランタイム：5 min) - 10 °C/min - 300 °C (ホールド時間：8 min, ランタイム：30 min)
注入口	注入量：2 μL, ヒーター：320 °C, 圧力：8.8085 psi, トータルフロー：14 mL/min, セプタムパージ流量：3 mL/min,
注入口モード	セプタムパージ流量モード：スタンダード パルスドスプリット, 注入圧：30 psi (1 min), スプリット比：10：1, スプリット流量：10 mL/min
イオン化源温度	300 °C
インターフェイス 温度	300 °C
イオン化法	EI 法
イオン化電圧	70 eV

表2 LC-MS 測定条件

カラム	AQUITY UPLC HSS T3 1.8um 2.1x100mm 温度：40 °C
溶離液	メタノール, 2mM 酢酸アンモニウム水溶液
流量	0.2 mL/min
イオン化法	ESI 法 Positive ion mode
Desolvation temperature (脱溶媒温度)	450°C

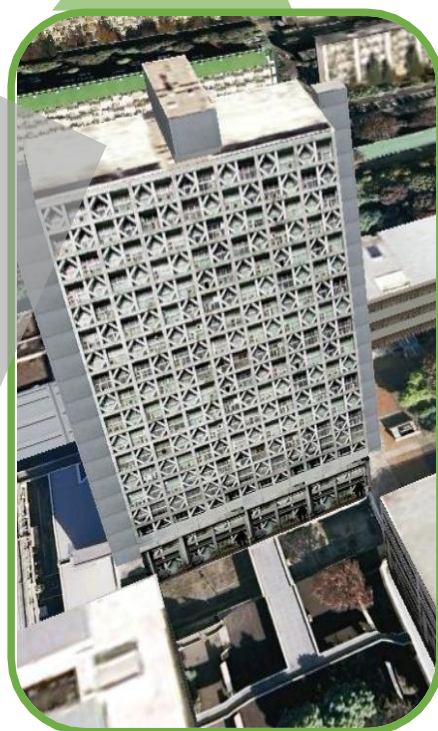
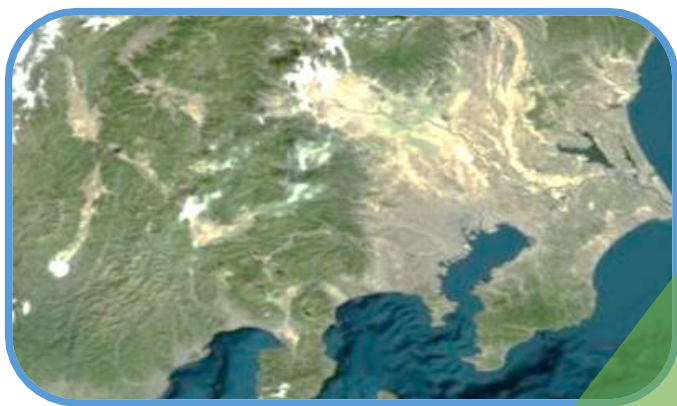


図 1 都市大気の採取地点と採取状況  
(左上:アクティブ, 左下:パッシブ)

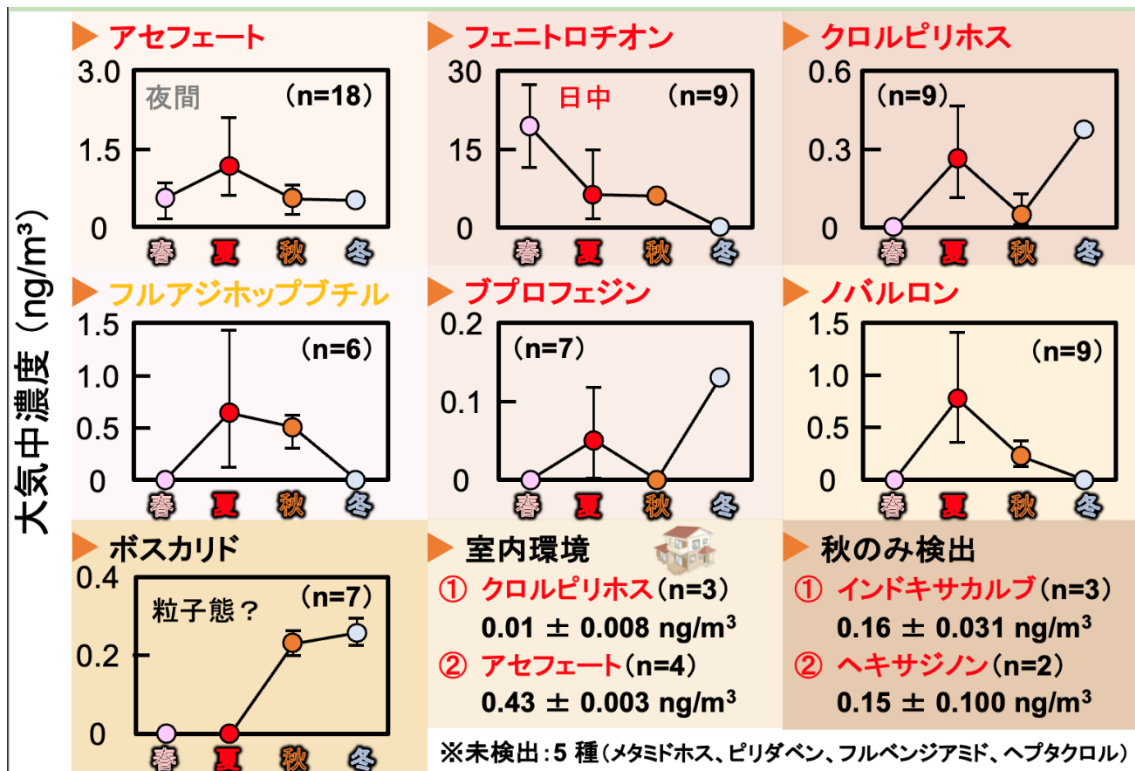


図2 新宿における大気中農薬の季節変化

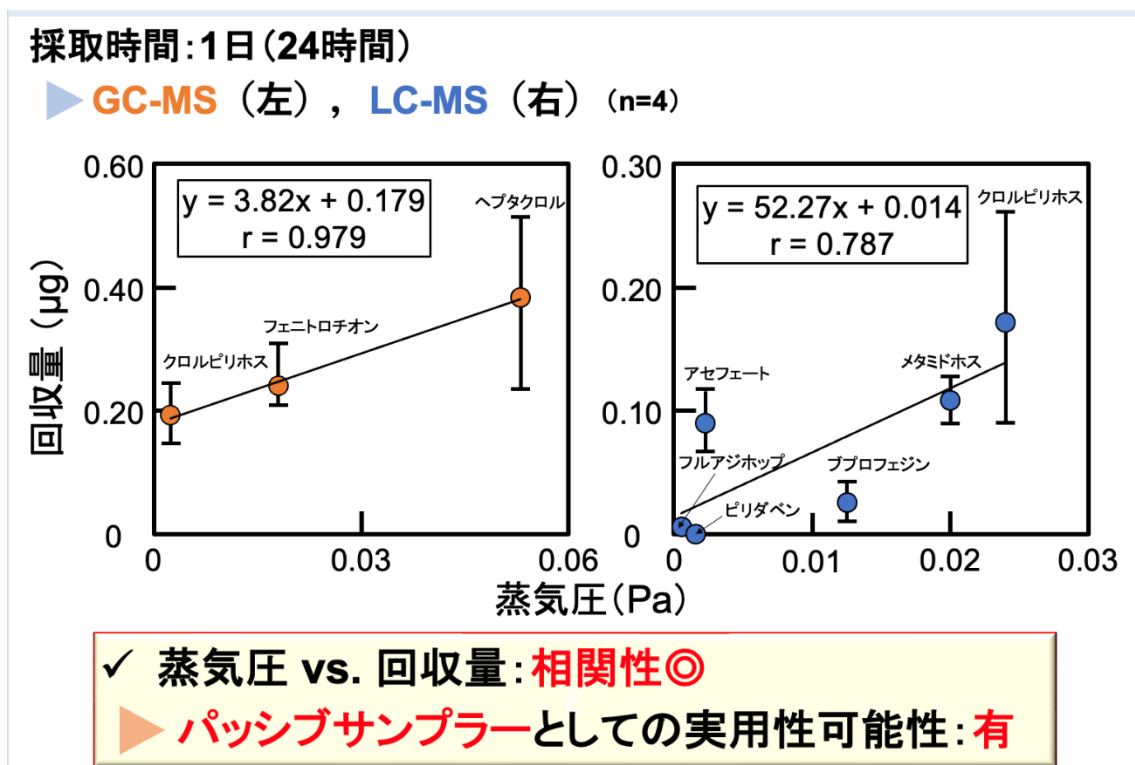
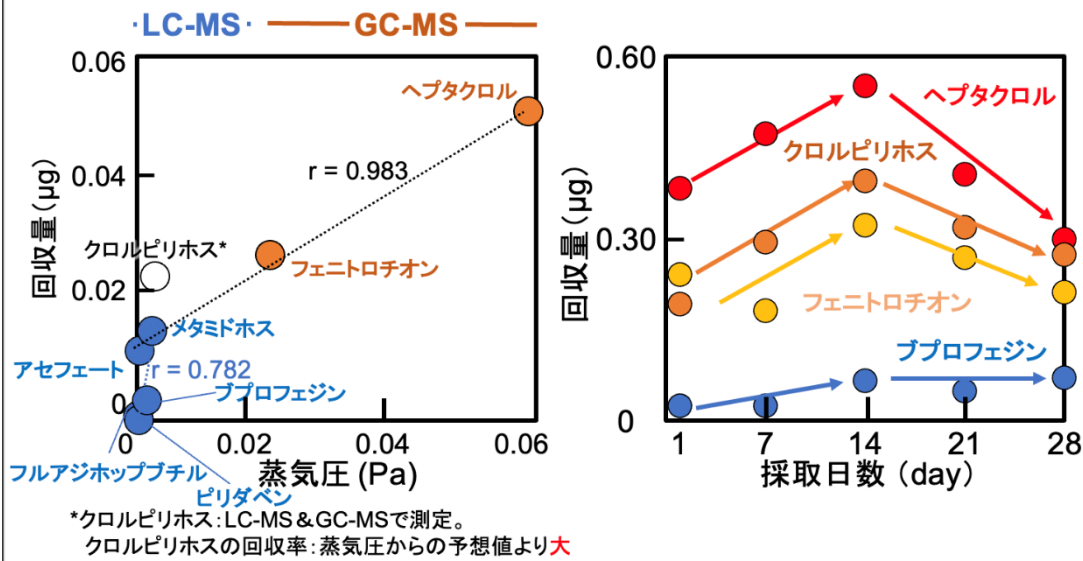


図3 Twisterによる農薬保持特性 (密閉恒温槽内, 30°C)

▶ 室内実験の結果



蒸気圧 vs. 回収量: **相関有** ▶ **ウェアラブルサンプラー**としての有用性  
 採取日数と共に**増加**

図4 Twisterによる大気中濃度の保持特性と採取日数との関係

## Ⅱ．分担研究報告

課題 3．総合的な摂取量評価における推定値の  
精緻化および信頼性の向上に関する研究

研究分担者 鈴木 美成



## 令和3年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 食品の安全確保推進研究事業

食品や環境からの農薬等の摂取量の推計と国際標準を導入するための研究

研究分担報告書

### 総合的な摂取量評価における推定値の精緻化および信頼性の向上に関する研究

#### 研究分担者

国立医薬品食品衛生研究所食品部 鈴木美成

#### 研究要旨

有害物質の摂取量推定値は、健康リスクの管理を目的とする規格値策定等の行政施策の検討、及び効果検証のための科学的根拠となる。本研究では、国民が食品を介して摂取する農薬の量をより精緻に推定するために、1) 不検出例を含むデータに対するベイズ推定 (BE)法の有用性、2) 真値に0を含むデータにおける統計妥当性の高い推定法に関する数値シミュレーション、3) 二次元モンテカルロシミュレーションを用いた摂取量分布の推定に関して検討を行った。

1日農薬摂取量の理論平均値に関する事後予測分布とLOQの0.2倍の値を代入した推定値およびMLE法と比較した。MLE法による1日農薬摂取量の平均値は全てBE法による平均値の事後予測分布の四分位範囲内に収まっていたが、BE法とMLE法で推定した平均値の相対的な差には次に示す傾向が認められた。すべての食品群で不検出となったサンプルの割合が高い場合、推定した分布の $\sigma/\mu$ 比が大きい場合、用いたデータのサンプルサイズが小さい場合に、BE法とMLE法による推定値の相対的な差が大きくなる傾向が認められた。これらの結果より、BE法とMLE法の差異が大きくなった要因は、歪みの大きい確率密度分布であること、サンプルサイズが小さいこと、および下限値が0となるサンプルの割合が大きかったことの影響が大きいと考えられた。MLE法は、有効なサンプルサイズが少なくなるほど、また分布の歪みが大きくなるほど、推定の精度が低くなることが報告されている。この点を踏まえると、BE法による推定結果の方がMLE法による推定結果よりも妥当である可能性が示唆

された。

また、NDの問題と関連して、非天然型農薬は、使用履歴が無ければ、検体中の残留農薬含有量が0である可能性もありうる。そこで、真値に0を含むデータの推定に関して、ゼロ過剰対数正規 (ZILN) 分布を仮定してベイズ推定法と最尤推定法による推定値の真度・精度・妥当性について数値シミュレーションを用いて検討した。数値シミュレーションの結果、MLE法よりもBE法の方が、推定の真度・精度・妥当性が良好であった。さらに、この傾向は事前分布の設定に寄らず、無情報事前分布を用いた場合でもBE法の方がMLE法よりも良好な真度・精度・妥当性を示した。以上のことから、ZILN分布に従う不検出例を含むデータの解析においても、BE法が有効であることが示された。

上記の結果を基にゼロ過剰モデルも考慮して、各食品群中の農薬濃度分布をBE法で推定し、2D-MCSによる残留農薬摂取量分布を推定した。ADIを超過する確率は、アセフェートの0.001%が最大であったことから、検討したいずれの農薬も健康リスクは小さいと示唆された。さらに、2D-MCSから推定した結果と、摂取量のデータからBE法で推定した結果を比較したところ、農薬摂取量の平均値の事後予測分布が良い一致を示した。以上のことから、いずれの推定方法も妥当であると考えられた。

以上の検討により、食品に含まれる残留農薬を対象とした統計的推定においてBE法は有効であることが示された。

## A. 目的

食品を介した農薬の摂取量評価は、残留農薬基準値といった健康リスクの管理を目的とする規格値策定等の行政施策の検討、及び効果検証のための科学的根拠となる。

食品中の農薬濃度については打ち切り (censoring) 問題が生じる。打ち切りは、ある値よりも大きい、小さい、またはその両方の値を非表示にする。切り捨てられた (truncated) データとは異なるのは、打ち切られたデータポイントの数がわかっている点である。より具体的に残留農薬

分析の場合について言及すると、検出限界 (LOD) あるいは定量下限値 (LOQ) 未満のデータは、妥当な数値を割りてることは困難となる。とくに、本研究課題の様に複数の研究機関が参加した調査の場合には、ある機関のLOQが他の機関のLOQよりも高い場合にNDとなった場合には影響が大きくなる。

これまでの厚生労働省が主体となって行ってきた農薬摂取量評価において、LOD未満・およびLOD以上LOQ未満のデータは、NDとして扱い、NDにはLOQの0.2倍した値を代入し平均的な摂取量



を評価してきた。しかしながら、代入法は問題のある方法として認識されて来ており、限定された場合にのみ使用を推奨されるようになってきている。代入法に代わり、最尤推定法などの代替法の使用が推奨されて来ている。しかしながら、サンプル数が少ない場合は、検出値と検出された割合のみを報告すべきとの提言もある。

このような場合に、ベイズ推定が有効となる可能性がある。ベイズ推定は尤度分布にこれまでの知識を用いて重み付けしたものと解釈できる。適切な事前分布を用いることで、最尤推定よりも安定した推定値を得ることができると期待されている。そこで、2019 年から 2021 年度の間で得られた農薬摂取量のデータに対して、ベイズ法による推定を行い、代入法および最尤推定 (MLE) 法との相違について評価した。

ND の問題と関連して、非天然型農薬は、使用履歴が無ければ、検体中の残留農薬含有量が 0 である可能性もありうる。近年になって、真値に 0 を含むようなデータの解析に関する報告がなされてきた。Friesen ら (10.1038/s41370-021-00331-7) は大気中 Pb 濃度の経年データにゼロ過剰対数正規分布 (ZILN) を適用した時系列解析に適用している。Lavoue と Burstyn (10.1093/annweh/wxaa086) は、LN 分布・ZILN 分布・切断 LN 分布を仮定した数値シミュレーションと大気中化学物質への適用例を報告している。Lavoue と Burstyn は仮定したモデルの相違に注目した検討であり、推定法の差異については検討していない。また、真値が 0 である割合も最大で 60% であり、より広い範囲での検討が必要である。そこで、本研究では真値が 0 とな

る割合および不検出割合について幅広い組合せで、ベイズ推定 (BE) 法と MLE 法による推定結果の真度・精度・妥当性について評価を行った。また、BE 法については事前分布の影響についても検討した。さらに、TD 試料中の農薬濃度について適用を試み、モンテカルロシミュレーション (MCS) を用いた農薬の摂取量推定を行った。

## B. 理論

### 1 尤度と最尤推定法

ここで、解析の基本となる尤度について基本的な数式を示す。 $N$  個の観測値  $Y$  がパラメータ  $\theta$  を持つ確率密度関数  $f(Y|\theta)$  に従うと仮定したときの尤度 ( $L$ ) は、以下の式で算出することができる。

$$L(\theta|Y) = \prod_{i=1}^N f(Y_i|\theta) \quad \dots \text{Eq. 1}$$

打ち切りのあるデータの場合、定量できたレコードには確率密度関数  $f(Y|\theta)$  から確率密度を、打ち切りとなったレコードには累積確率関数  $F(L, U|\theta) = P(L \leq Y \leq U|\theta)$  から累積確率を使用し、尤度関数次のように求めることが出来る。

$$L(\theta|Y) = \prod_{i=1}^{N_{\text{obs}}} f(Y_i|\theta) \cdot \prod_{j=1}^{N_{\text{cen}}} F(L_j, U_j|\theta) \quad \dots \text{Eq. 2}$$

ここで、 $N_{\text{obs}}$  は定量値が得られたサンプル数、 $N_{\text{cen}}$  は定量値未満のサンプル数、 $L_j$  はサンプル  $j$  の下限値、 $U_j$  は上限値を示す。

MLE 法は、尤度が最大となるパラメータを探索する。

## 2 ベイズ推定

尤度を基にした計算方法として、MLE法とBE法による方法がある。MLE法では尤度が最大となるパラメーターを計算する方法である。つまり、得られたデータの同時確率が最大となるパラメーターを推定する方法である。

BE法の場合も尤度を基にパラメーターを探索するという点は同じだが、最尤法と大きく異なる点が2つある。1つ目の相違は、探索する際に事前分布の情報が必要であることで、2つ目の相違は点ではなく分布を得る点である。BE法で得られる事後予測分布  $f_{\text{post}}(\theta|Y)$  は、ベイズの定理を用いて以下のようにあらわすことができる。

$$f_{\text{post}}(\theta|Y) = \frac{L(Y|\theta)f_{\text{pri}}(\theta)}{f_{\text{obs}}(Y)} \dots \text{Eq. 3,}$$

ここで、 $f_{\text{pri}}(\theta)$  は事前分布を、 $f_{\text{obs}}(Y)$  は観測値  $Y$  の確率密度分布を示す。観測値  $Y$  は観測後には変化しないため、定数とみなせるので、

$$f_{\text{post}}(\theta|Y) \propto L(Y|\theta)f_{\text{pri}}(\theta) \dots \text{Eq. 4}$$

と簡略化することができる。つまり、ベイズ推定は尤度を事前知識に基づいて重み付したものであると解釈できる。

一般的にMLE法は、サンプルサイズが小さい場合（例えば50未満）には、使用を勧められていない。原因の一つとして、少ないサンプルサイズでは標本の偏りによる影響が大きいことが挙げられる。BE法は、少ないサンプルサイズの場合に生じる標本の偏りを補正するために、事前分布を利用してMLE法を補正しているとも解釈できる。

## 3 検討する確率密度分布

本研究においては、1日農薬摂取量が従う確率密度分布に、対数正規分布、ガンマ分布、ワイブル分布を仮定した。

対数正規分布は、形状パラメーター  $e^\mu$ 、尺度パラメーター  $e^\sigma$  の2つのパラメーターで特徴づけられ、その確率密度関数は以下の式で表される。

$$f(Y|\mu, \sigma) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma Y} \exp\left[-\frac{1}{2}\left(\frac{\log Y - \mu}{\sigma}\right)^2\right] \dots \text{Eq. 5}$$

形状パラメーター  $e^\mu$  は幾何平均値、尺度パラメーター  $e^\sigma$  は幾何標準偏差に相当する。

ガンマ分布は形状パラメーター  $\alpha$ 、比率パラメーター  $\beta$  の2つのパラメーターで特徴づけられ、その確率密度関数は以下の式で表される。

$$f(Y|\alpha, \beta) = \frac{\beta^\alpha}{\Gamma(\alpha)} Y^{\alpha-1} e^{-\beta Y} \dots \text{Eq. 6}$$

ここで、 $\Gamma(\alpha)$  はガンマ関数である。ガンマ分布は、主に信頼性工学における電子部品の寿命分布や通信工学におけるトラフィックの待ち時間分布に応用される。また所得分布にも応用される。

ワイブル分布は、形状パラメーター  $m$ 、尺度パラメーター  $\eta$  の2つのパラメーターで特徴づけられ、その確率密度関数は以下の式で表される。

$$f(Y|m, \eta) = \frac{m}{\eta} \left(\frac{Y}{\eta}\right)^{m-1} \exp\left[-\left(\frac{Y}{\eta}\right)^m\right] \dots \text{Eq. 7}$$

ワイブル分布は、物体の強度を統計的に記述するために提案された確率密度分布であり、時間に対する劣化現象や寿命

を統計的に記述するためにも利用される。

#### 4 ゼロ過剰モデル

ゼロ過剰 (zero-inflated) モデルは混合分布の1種であり、 $\omega$  の確率で 0、 $(1-\omega)$  の確率である確率密度分布に従うモデルである。つまり、農薬が含まれているかどうかベルヌーイ分布に従い、含まれていた場合の残留農薬濃度がある確率密度分布に従うと解釈できる。残留農薬濃度は 0 以上の連続変数であるので、対数正規分布・ガンマ分布・ワイブル分布と組み合わせ、ゼロ過剰対数正規 (zero-inflated lognormal, ZILN) 分布、ゼロ過剰ガンマ (zero-inflated gamma, ZIG) 分布、およびゼロ過剰ワイブル (zero-inflated Weibull, ZIW) 分布への適用を検討した。

### C. 試料と方法

#### 1 残留農薬摂取量の推定

データには、2019 年から 2021 年に本研究班で行ったトータルダイエツトスタデー調査による、残留農薬摂取量の下限值および上限値を用いた。ただし、下限値がすべて 0 となった農薬及び、サンプル数が 2 未満の農薬は除いた。

解析には R (3.4.0) を用いた。ベイズモデルの計算は rstan パッケージ (2.16.2) を用いた。

作成したベイズモデルの選択は、下記の式で示した広く使える情報量規準 (widely applicable information criterion (WAIC)) を用いて WAIC が最も低いモデルを採用した。

$$WAIC = L_{WAIC} + p_{WAIC}$$

ここで、 $L_{WAIC}$  はベイズ学習損失を示す対数尤度の平均値で、 $p_{WAIC}$  は推定有効パラメ

ーター数を示す事後予測分布の揺らぎを示す。 $L_{WAIC}$  と  $p_{WAIC}$  は以下のように定義される。

$$L_{WAIC} = -\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \log E(L_i)$$
$$p_{WAIC} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n V(\log L_i).$$

ここで、 $n$  はサンプル数、 $L_i$  は事後予測分布から得られた各データポイントに対する尤度を、 $E(X)$  は変数  $X$  の平均値、 $V(X)$  は変数  $X$  の分散を示す。

最尤推定は Excel のソルバー機能を使用して、一般化簡約勾配法により最適解を算出した。

#### 2 数値シミュレーション

以下の①～⑥に従って、MLE 法および BE 法で分布パラメーターの推定を行った。

- ① サンプルサイズ=200、幾何平均値=1、幾何標準偏差=3 の乱数を生成した。
- ② 真値が 0 のレコードとなる割合  $\omega$  (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9) を決め、200 のサンプルから  $\omega$  の割合で 0、 $(1-\omega)$  の割合で 1 を生成し、①と掛け合わせることで ZILN 分布に従う乱数を得た。
- ③ 不検出割合  $\varphi$  (0.15, 0.25, 0.35, 0.45, 0.55, 0.65, 0.75, 0.85, 0.95) を決めた。ただし、 $\varphi > \omega$  を満たす。
- ④ 不検出とした最大値—検出された最小値間の一様分布から、不検出となる基準 (reporting limit, RL) を決めた。不検出となった測定値の下限値を 0, 上限値を RL とした。
- ⑤ 無情報、弱情報、強情報事前分布を用いた BE 法および MLE 法を用いて、分布パラメーター等を推定した。その際には Eq.2 で示した尤度関数を用いた。ただし、 $L$  の値には 0 を、 $U$  の値には RL

を用いた。

⑥ ①～⑤を 1000 回 ( $N_{sim}$ ) 繰返す。

BE 法においては、3 つの事前分布を用いた；無情報事前分布、弱情報事前分布 [gsd $\sim$ cauchy(3,1), mean\_est $\sim$ cauchy(mean<sup>MB</sup>, mean<sup>MB</sup>)], 特定情報事前分布 [ $\omega \sim N(\omega, \omega/10)$ , gm $\sim N(1,0.1)$ , gsd $\sim N(3, 0.3)$ ]。ここで、mean<sup>MB</sup>は不検出となった観測値に LOQ の半値を代入して算出した平均値である。

推定した分布パラメータおよび期待値等について、以下の項目で評価した。

$$\text{真度: } rMSE(\hat{\theta}) = \sqrt{\frac{\sum(\hat{\theta} - \theta)^2}{N_{sim}}}$$

精度: RSD( $\hat{\theta}$ )

妥当性: 平均値の 95% 推定区間に母平均が含まれる確率

平均値の 95% 推定区間は、BE 法では事後予測分布の 95% 信用区間を用い、MLE 法ではブートストラップ法 (500 回) を用いて計算した平均値の 95% 区間を用いた。

解析には R (4.1.0) を用いた。ベイズモデルの計算は cmdstanr パッケージ (0.4.0) を用いた。

### 3 二次元モンテカルロシミュレーション

TD 試料中の残留農薬濃度データには、2019 年から 2021 年に本研究班で行った TD 試料中の残留農薬濃度の下限値および上限値を用いた。各食品群の喫食量には、2014 年から 2016 年の国民健康・栄養調査のデータを用いた。

解析には R (3.4.0) を用いた。ベイズ推定には rstan パッケージ (2.16.2) を用いて、2000 個のモンテカルロサンプルを事後予測分布として得た。得られた事後予測分布を分布パラメータとする乱数を 50 個発生させ、計 10 万 (2000 $\times$ 50) 個の

乱数を残留農薬濃度及び喫食量について生成した。

## D. 結果と考察

### 1 確率モデルの設定

当初の計画では、各食品群について農薬濃度分布を推定し、喫食量の分布と掛け合わせることで、モンテカルロシミュレーションを用いた確率論的摂取量評価を行うことを想定していた。

しかしながら、ほぼすべての農薬において、すべての地域で農薬検出されない食品群が確認された。このように、全て不検出の場合は下限値-上限値間が最も狭い範囲内に確率密度分布が収まるように最適化される結果、パラメータが発散する、あるいは不適切な解が得られてしまう。つまり、14 食品群すべてで農薬濃度分布を推定することは現実的ではないと考えられた。そのため、農薬濃度の分布ではなく、14 食品群の総和である農薬摂取量の下限値及び上限値を用いて推定を行うこととした。

### 2 不検出レコードがあるデータの統計的解析手法について

化学分析で得られたデータが検出されたかどうか判断するためには、信号強度がある閾値 [検出限界値 (Limit of detection (LOD), 定量下限値 (Limit of Quantification (LOQ))] 以上である必要がある。分析化学においては、得られた信号は以下の 3 つのパターンに分けることが出来る。

- 1) 定量するに十分な信号強度が得られた。
- 2) 定量するに十分な信号強度が得られてはいないが、検出したとみなせる

信号強度が得られた。

- 3) 検出したとみなせる信号強度は得られなかった。

データに非定量値が存在すると、信頼できる値を割り当てることができないため、統計上の計算に困難を生じる。LOD や LOQ など、特定の基準より低い値が欠損したデータは、左打ち切りデータとして知られる。2006年に、EPAのガイダンスは、検出されなかった15%未満のデータで、0、LOD/2、またはLODを代入する計算方法をサポートしていた。しかし、2015年にEPAは左打ち切りデータの割合が5%未満で、データがわずかに歪んでいる場合にのみLOD/2による置換を使用するようにガイドラインを改訂した。代入法に代わる方法として、Kaplan-Meier (KM) 法、robust regression on order statistics (rROS) 法、最尤推定推定 (MLE)、ベイズ推定 (BE) 法などの利用が提案されている。

左打ち切りデータは2)と3)に分類することが出来る。この2つのパターンを分けた上で解析することで情報が細分化でき、より妥当な解析結果を得ることが出来ると考えられる。RのEnvStatパッケージには、KM, ROS, MLE法だけでなくその他多くの推定法を指定することができるが、2)と3)を区別して指定することには対応していない。

一方で、BE法にはBUGS, JAGS, Stanなどの確率的言語プログラムを利用した報告がなされている。商用の統計解析ソフトのようにグラフィックインターフェース環境が整っているわけではないため、利用者が明示的にコードを書く必要があり導入の敷居は高いが、利用者が様々な確率密度関数/累積確率を指定できるた

め自由度が高い。

### 3 ベイズ法を用いた農薬摂取量の推定

対数正規分布を仮定した場合のStanコードをFig. 1に示す。コード6つのブロックからなり、1~6行目はdataブロックで、解析に使用するデータを宣言している。2行目にはサンプル数、3行目には下限値、4行目には上限値をしている。5行目のN\_newは2次元モンテカルロシミュレーション用に生成させる乱数の個数を指定している。

8~12行目はtransformed dataブロックで、データを変換して別のデータを生成している。11行目では、下限値と上限値の平均から、この分布の推定平均値( $\hat{\mu}^{RL/2}$ )を算出している。

14~17行目はparametersブロックで、推定したいパラメーターを宣言している。このモデルでは、対数正規分布を仮定しているため、幾何平均値( $e^{\mu}$ )と幾何標準偏差( $e^{\sigma}$ )を推定するようにここで宣言している。GSDは1以上の実数であるので、GSDの取りうる範囲について制限している。

19~25行目はTransformed parametersブロックで、parametersブロックで宣言したパラメーターから、理論平均値および理論標準偏差を計算している。

27~44行目がmodelブロックで、そのなかでも29, 30行目は事前分布に相当する。形状パラメーターである幾何標準偏差の事前分布には、以下の確率密度関数で表せるコーシー分布を用いた。

$$f(Y|y_0, \gamma) = \frac{1}{\pi} \frac{\gamma}{(Y - y_0)^2 + \gamma^2}$$

対数正規分布を仮定した場合には  $(y_0, \gamma) = (3, 1)$  を用い、ガンマ分布及びワイブル分布には  $(y_0, \gamma) = (1, 1)$  をコーシー分布のパラメーターに用いた。

パラメーターから変換した理論平均値の事前分布には、下限値と上限値の平均値から求めた平均値  $\hat{\mu}^{RL/2}$  を用いて、 $N(\hat{\mu}^{RL/2}, \hat{\mu}^{RL/2})$  の正規分布を採用した。

33~44 行目がデータに対するモデル部分に相当する。34 行目では定量できたデータであるのかどうかを識別し、その場合は確率密度の対数値を計算し足しこむことを 35 行目で行っている。定量できなかった場合は (36 行目)、さらに LOD 未満のデータかどうかを 37 行目で識別し、38 行目で 0~下限値までの累積確率の対数値を計算し足しこんでいる。2つのパターンのどちらでもない場合 (29 行目) は、下限値~上限値までの累積確率の対数値を計算し足しこむ (40 行目)。この足し込み ("target +=") を 23 行目で 1~N まで繰り返す操作を行うことで、尤度が高くなるパラメーターを探索・推定している。

46~63 行目の generated quantity ブロックでは推定したパラメーターを利用して種々の計算を行う。ここでは、WAIC を計算するための各サンプルの対数確率密度あるいは対数累積確率 (log\_lik) を 50~60 行目において計算している。62 行目では、二次元モンテカルロシミュレーション用の乱数を生成している。

対数正規分布・ガンマ分布・ワイブル分布を仮定した BE を行い、WAIC を比較して WAIC が低い確率密度分布を採用した。また、その確率密度分布の元に得られた計算結果を Table 4 に示す。

BE 法で得られる推定結果は、事後予測分布として得られる。事後予測分布から推定値としては、3つの点推定値が頻繁に用いられる; 事後予測平均値 (expected a posteriori, EAP), 事後予測確率最大値 (maximum a posteriori, MAP), 事後予測中央値 (median of posterior predictive distribution, MED)。MED は計算が簡便でかつ分布の歪みに比較的頑健であるため、本研究では MED を代表値として用いた。しかしながら、どの点推定値を採用するのかについては、シミュレーション研究および継続的な評価によって検討すべきであろう。

各農薬のパラメーターおよび摂取量の理論平均値 ( $\hat{\mu}^{BE}$ ) と理論標準偏差 ( $\hat{\sigma}^{BE}$ ) の事後予測分布を Fig. 3 に示す。Table 1 にはベイズ推定の結果として事後予測中央値 (MED) と四分位範囲を表記した。BE 法に用いることのできるサンプル数は 2~10 であったが、サンプル数が小さい場合であっても事後予測分布の広がりが大きくなるといった傾向は無く、比較的妥当な推定が行えたと判断できた。また、昨年度の推定結果と比較して、全体的に事後予測分布の範囲が狭くなった。これはサンプル数が増えたことによるものであると考えられた。

BE 法では、対数正規分布が 12 農薬で、ガンマ分布が 4 農薬で、ワイブル分布が 4 農薬で最も適していると判断された。

対数正規分布の形状パラメーターは平均して  $3.14 \pm 1.20$ 、ガンマ分布の形状パラメーターは 1.63、ワイブル分布の形状パラメーターは平均して  $0.97 \pm 0.51$  であ

った。これらの値は、設定した事前分布との乖離は小さかった。この結果から、ベイズ推定に用いた形状パラメーターの事前分布は妥当であったと判断できた。

#### 4 最尤推定法を用いた農薬摂取量の推定

Table 2 には、最尤推定法による農薬摂取量の確率密度分布の推定結果および理論平均値 ( $\hat{\mu}^{\text{MLE}}$ ) と理論標準偏差 ( $\hat{\sigma}^{\text{MLE}}$ ) の値を表記した。MLE 法では、対数正規分布が9農薬で、ガンマ分布が8農薬で、ワイブル分布が3農薬で最も適していると判断された。15農薬では、BE法とMLE法で最適な確率密度分布が一致していた。

#### 5 推定法間の比較

BE法とMLE法で異なる確率密度分布と推定された農薬が散見された。MLE法でガンマ分布が最適と判断されたもののうち、フルアジホップブチル・フルアジホップブチル代謝物・フルベンジアミドは、BE法ではワイブル分布が最適であると判断された。

1日農薬摂取量の理論平均値に関する事後予測分布とLOQの0.2倍の値を代入した推定値およびMLE法と比較した結果をFig. 4に示す。NDにLOQの0.2倍の値を代入して推定した値よりもBE法による推定値の方が低かったのは、アセフェート・メタミドホスであった。MLE法よりもBE法による推定値の方が低かったのは、アセフェート・クロチアニジン・クロルピリホス・チアクロプリド・ノバルロン・ピフェントリン・ヘキサジノン・メタミドホスであった。インドキサカルブ・ピフェントリン・プロプロフェジン・フルベン

ジアミド代謝物のBE法による平均値の事後予測分布の四分位範囲内には、0.2LOQを代入して推定した値が含まれていなかった。MLE法による1日農薬摂取量の平均値は、全てBE法による平均値の事後予測分布の四分位範囲内に収まっていた。

MLE法とBE法の差異に与える要因を解析するために、BE法とMLE法で推定した平均値の相対的な差  $[ 2(\hat{\mu}^{\text{BE}} - \hat{\mu}^{\text{MLE}}) / (\hat{\mu}^{\text{BE}} + \hat{\mu}^{\text{MLE}}) ]$  について解析を行った (Fig. 5)。

すべての食品群で不検出となったサンプルの割合が高い場合、推定した分布の $\sigma/\mu$ 比が大きい場合、用いたデータのサンプルサイズが小さい場合に、BE法とMLE法による推定値の相対的な差が大きくなる傾向が認められた。

$L=0$ となるサンプルの割合は、有効なサンプルサイズに相当すると考えられる。また、本研究で仮定した確率密度分布の場合、 $\sigma/\mu$ が大きくなると歪度が大きくなることを意味する。これらの結果より、BE法とMLE法の差異が大きくなった要因は、歪みの大きい確率密度分布であること、サンプルサイズが小さいこと、および $L=0$ となるサンプルの割合が大きかったことの影響が大きいと考えられた。MLE法は、有効なサンプルサイズが少なくなるほど、また分布の歪みが大きくなるほど、推定の精度が低くなることが報告されている。この点を踏まえると、MLE法が不得意なデータにおいて、事前分布を用いることでBE法がMLE法の弱点をカバーしているとも捉えることができる。つまり、BE法による推定結果の方がMLE法による推定結果よりも妥当である可能性が示唆され

た。

しかしながら、真の値は不明であるため、代入法、MLE法、BE法のどちらの推定値が真値に近いかは判断できない。真の値との差(真度)、平均値の推定区間内に真の値が含まれているかどうか(妥当性)、異なるデータセットにおいても同様の解析結果を返すことができるか(繰返し性能)について、乱数を繰返し生成するシミュレーションを行い評価する必要があるだろう。

## 6 真値に 0 を含むデータの推定 (数値シミュレーション)

BE法の点推定値として事後分布の中央値(MED)を用いて、真度(Fig. 1)・精度(Fig. 2)・妥当性(Fig. 3)を評価した。MLE法は、 $\omega$ よりも $\phi$ による影響を強く受け、 $\phi$ が大きくなるほど、推定の真度および精度が悪くなる傾向があった。一方で、BE法は $\phi$ よりも $\omega$ による影響の方が強い傾向にあった。また、MLE法よりもBE法の方が、推定の真度・精度・妥当性が良好であった。さらに、この傾向は事前分布の設定に寄らず、無情報事前分布を用いた場合でもBE法の方がMLE法よりも良好な真度・精度・妥当性を示した。MLEとBE(NIP)を比較すると、 $\omega$ と $gm$ の真度・精度はBE法が広い $\phi$ と $\omega$ の組合せでMLE法よりも良い推定結果となる傾向を示したが、 $gsd$ に関してはそれほど大きな差異は認められなかった。この結果は、事前分布に形状パラメーターである $gsd$ の情報を追加することで推定結果が向上する可能性を示唆するものと考えられた。実際に、弱事前分布として、 $gsd$ に関する事前分布を用いることで、推定の真度・精

度・妥当性が向上することが示された。以上のことから、ZILN分布に従う不検出例を含むデータの解析においても、BE法が有効であることが示された。また、事前分布の利用は推定の真度・精度・妥当性を向上させるが、通常の利用では真値は不明であるため、弱情報事前分布の使用を検討するのが現実的であろう。事前分布に利用できるデータベースを整備することが有効であると考えられる。

## 7 二次元モンテカルロシミュレーションによる農薬摂取量分布の推定

ゼロ過剰モデルも考慮に入れ、TD試料中の残留農薬濃度を、BE法を用いて推定した。解析の対象としたのは、14群全ての農薬が検出され、データサンプルサイズが6以上のものとした。ここでは、サンプルサイズの最も大きかったチアメトキサムの結果をTable 4に示す。14群中13群でゼロ過剰モデルが最適なモデルであると推定され、ZILN分布は11の食品群で、ゼロ過剰ワイブル分布が2つの食品群で最適な分布であった。検出率が最も高かった8群でもゼロ過剰モデルが採用されたことから、ゼロ過剰モデルが適切かどうかは検出率だけで決定されるものではないと示唆された。

農薬濃度分布の推定の不確かさを考慮するために、BE法で得られた2000個の事後予測サンプルから50個の乱数を生成し、計10万個の乱数を生成した。別途国民健康・栄養調査のデータを解析して得られた体重当たりの喫食量分布(Table 5)の乱数と掛け合わせ、摂取量分布を推定した。チアメトキサムの場合、5, 25, 50, 75, 96パーセンタイル値は、0.0005, 0.0024,



0.0060, 0.0148, 0.0586  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  であり、ADI (18  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ) を超過する確率は0%であった (Table 6)。検討した農薬についての推定摂取量の平均値や各パーセントイル値等を Table 7 に示す。ADI を超過する確率は、アセフェートの0.001%が最大であったことから、検討したいずれの農薬も健康リスクは小さいと示唆された。

農薬摂取量の平均値について、2D-MCS から推定した結果と、摂取量のデータから BE 法で推定した結果を比較した (Fig. 9)。異なるアプローチで算出した平均値の分布が良い一致を示したことから、いずれの推定方法も妥当であると考えられた。

## E 結論

食品を介して摂取する農薬の量をより精緻に推定するために、不検出 (ND) となった例を含むデータにおける統計妥当性の高い推定法に関して検討を行った。農薬摂取量は、1) 定量下限値 (LOQ) 以上, 2) 検出限界値 (LOD) 以上 LOQ 未満, 3) LOD 未満の三パターンに分け、定量値, 下限値, 上限値に喫食量を乗じて1日摂取量の下限値と上限値を算出した。これらの値を用いて、BE 法を用いて推定したところ、相対標準偏差の推定値が大きくなるほど、また下限値が0のデータ (全ての食品群で不検出だった地域)が多いほど、サンプルサイズが小さいほど、BE 法と MLE 法との推定値の相対的な差が大きくなる傾向にあった。このようなデータは MLE 法の妥当性が低くなることから、BE 法による推定結果の方が MLE 法による推定結果よりも妥当である可能性が示唆された。

また、農薬は使用履歴がない場合には真値に0を含むデータもありうる。そこで、ZILN 分布を対象とした数値シミュレーションを行った結果、BE 法は MLE 法と比較して真度・精度・妥当性に優れた推定結果を得ることができた。

以上の結果を基にゼロ過剰モデルも考慮して、各食品群中の農薬濃度分布を BE 法で推定し、2D-MCS による残留農薬摂取量分布を推定した。ADI を超過する確率は、アセフェートの0.001%が最大であったことから、検討したいずれの農薬も健康リスクは小さいと示唆された。さらに、農薬摂取量の平均値について、2D-MCS から推定した結果と、摂取量のデータから BE 法で推定した結果を比較したところ、平均値の分布が良い一致を示した。以上のことから、いずれの推定方法も妥当であると考えられた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- 1) 鈴木美成, 青柳光敏, 戸田英汰, 伊藤功一, 福光徹, 萩尾真人, 林孝子, 新宅沙織, 井原紗弥香, 川崎恭寛, 中島安基江, 佐藤環, 飛石和太, 堀就英, 穠山浩; ベイズ法を用いた食品を介した残留農薬摂取量の推定の試み, 第29回環境化学討論会 2021年6月.
- 2) 鈴木美成, 青柳光敏, 戸田英汰, 伊藤功一, 福光徹, 萩尾真人, 林孝子, 新宅沙織, 井原紗弥香, 川崎恭寛, 中島安基江, 佐藤環, 飛石和太, 堀就英,

穂山浩; 不検出値を含むデータを用いたベイズ推定による残留農薬摂取量の精緻化の試み, 第 58 回全国衛生化学技術協議会年会 2021 年 12 月.

**H. 知的財産権の 出願, 登録状況**  
なし

**I. 健康危機情報**  
なし

Table 1 2019–2021 年に調査した農薬 1 日摂取量 ( $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ ) のベイズ推定による結果\*

	確率密度分布	Parameter1	Parameter2	平均値	標準偏差
アセタミプリド	対数正規分布	1.14 (0.99–1.31)	2.24 (2.01–2.53)	1.59 (1.35–1.88)	1.51 (1.11–2.12)
アセタミプリド代謝物	ワイブル分布	2.08 (1.72–2.45)	0.151 (0.134–0.174)	0.135 (0.119–0.156)	0.067 (0.056–0.083)
アセフェート	ガンマ分布	0.527 (0.394–0.703)	2.46 (1.68–3.51)	0.321 (0.234–0.434)	0.512 (0.349–0.798)
インドキサカルブ	対数正規分布	0.005 (0.003–0.007)	2.88 (2.31–3.47)	0.008 (0.006–0.011)	0.011 (0.007–0.019)
クロチアニジン	ガンマ分布	1.68 (1.36–2.08)	2.65 (2.07–3.32)	0.649 (0.566–0.738)	0.489 (0.421–0.582)
クロルピリホス	ガンマ分布	2.06 (1.61–2.65)	12.9 (9.92–17.1)	0.161 (0.141–0.183)	0.110 (0.094–0.132)
チアクロプリド	対数正規分布	0.110 (0.086–0.142)	4.49 (3.94–5.22)	0.354 (0.263–0.477)	1.04 (0.648–1.68)
チアメトキサム	ワイブル分布	0.787 (0.690–0.886)	0.698 (0.562–0.865)	0.820 (0.665–0.126)	1.04 (0.816–1.37)
ニテンピラム	対数正規分布	0.165 (0.119–0.219)	2.91 (2.49–3.38)	0.288 (0.217–0.383)	0.409 (0.270–0.656)
ノバルロン	対数正規分布	0.036 (0.029–0.045)	4.07 (3.62–4.68)	0.101 (0.076–0.133)	0.245 (0.166–0.381)
ビフェントリン	ワイブル分布	2.36 (1.89–2.97)	0.213 (0.187–0.244)	0.191 (0.167–0.220)	0.084 (0.067–0.108)
ピリダベン	ワイブル分布	0.609 (0.497–0.750)	0.051 (0.033–0.070)	0.076 (0.057–0.105)	0.129 (0.086–0.207)
フェントロチオン	対数正規分布	0.112 (0.079–0.148)	3.39 (2.92–3.99)	0.240 (0.176–0.322)	0.442 (0.289–0.719)
ブプロフェジン	対数正規分布	0.068 (0.053–0.087)	2.84 (2.45–3.25)	0.117 (0.092–0.151)	0.162 (0.107–0.249)
フルアジホップブチル	対数正規分布	0.010 (0.006–0.014)	3.86 (3.26–4.73)	0.025 (0.017–0.037)	0.059 (0.035–0.103)
フルアジホップブチル代謝物	対数正規分布	0.024 (0.016–0.036)	3.44 (2.95–4.15)	0.054 (0.037–0.080)	0.105 (0.062–0.189)
フルベンジアミド	対数正規分布	0.250 (0.198–0.309)	2.91 (2.57–3.32)	0.435 (0.349–0.561)	0.635 (0.443–0.937)
ヘキサジノン	対数正規分布	0.010 (0.007–0.013)	3.88 (3.32–4.62)	0.026 (0.019–0.035)	0.058 (0.037–0.096)
ボスカリド	対数正規分布	1.22 (1.08–1.36)	2.05 (1.85–2.29)	1.58 (1.40–1.82)	1.29 (1.00–1.71)
メタミドホス	ガンマ分布	0.227 (0.158–0.312)	4.82 (3.18–7.21)	0.049 (0.034–0.067)	0.098 (0.070–0.141)

\* Parameter 1,2 は、対数正規分布を仮定した場合には、それぞれパラメーター  $e^\mu$  と  $e^\sigma$  を、ガンマ分布の場合はパラメーター  $\beta$  および  $\alpha$  を、ワイブル分布の場合はパラメーター  $\eta$  および  $m$  を示す。全ての推定値は事後予測分布の中央値と四分位範囲を示す。

Table 2 2019–2021 年に調査した農薬 1 日摂取量 ( $\mu\text{g}/\text{person}/\text{day}$ ) の最尤推定による結果

	確率密度分布	Parameter1	Parameter2	平均値	標準偏差
アセタミプリド	対数正規分布	1.11	1.95	1.39	1.62
アセタミプリド代謝物	ワイブル分布	2.26	0.143	0.126	0.059
アセフェート	ガンマ分布	0.370	1.69	0.242	0.398
インドキサカルブ	ワイブル分布	1.71	0.007	0.007	0.004
クロチアニジン	ガンマ分布	1.69	2.54	0.665	0.512
クロルピリホス	ガンマ分布	2.23	13.5	0.165	0.111
チアクロプリド	対数正規分布	0.100	5.27	0.399	2.03
チアメトキサム	ワイブル分布	0.755	0.617	0.731	0.982
ニテンピラム	対数正規分布	0.157	2.33	0.226	0.377
ノバルロン	対数正規分布	0.033	4.62	0.106	0.466
ビフェントリン	対数正規分布	0.183	1.35	0.192	0.076
ピリダベン	ガンマ分布	0.233	3.91	0.060	0.123
フェニトロチオン	対数正規分布	0.088	3.63	0.202	0.660
ブプロフェジン	対数正規分布	0.067	2.28	0.093	0.149
フルアジホップブチル	ガンマ分布	0.328	13.6	0.024	0.042
フルアジホップブチル代謝物	ガンマ分布	0.335	8.68	0.039	0.067
フルベンジアミド	ガンマ分布	1.50	4.26	0.353	0.288
ヘキサジノン	対数正規分布	0.007	4.88	0.026	0.121
ボスカリド	対数正規分布	1.197	1.83	1.43	1.45
メタミドホス	ガンマ分布	0.151	2.38	0.064	0.163

\* Parameter 1,2 は、対数正規分布を仮定した場合には、それぞれパラメーター $e^{\mu}$ と $e^{\sigma}$ を、ガンマ分布の場合はパラメーター $\beta$ および $\alpha$ を、ワイブル分布の場合はパラメーター $\eta$ および $m$ を示す。全ての推定値は事後予測分布の中央値と四分位範囲を示す。

Table 3 TD 試料中のチアメトキサム濃度分布の推定結果 (事後予測分布の平均値 ± 標準偏差)

Food group	Detection ratio	Distribution <sup>a</sup>	Distribution parameter 1 <sup>b</sup>	Distribution parameter 2 <sup>c</sup>	Distribution parameter 3 <sup>d</sup>	Estimated mean	Estimated SD
FG01	0.188	ZILN	0.267 ± 0.110	0.081 ± 0.058	3.66 ± 1.40	0.043 ± 0.028	0.248 ± 0.509
FG02	0.188	ZIW	0.370 ± 0.135	3.26 ± 1.59	0.022 ± 0.007	0.007 ± 0.004	0.011 ± 0.005
FG03	0.125	ZILN	0.237 ± 0.118	0.047 ± 0.033	3.20 ± 1.11	0.019 ± 0.013	0.095 ± 0.128
FG04	0.125	ZILN	0.171 ± 0.080	0.286 ± 0.196	3.31 ± 1.07	0.088 ± 0.063	0.506 ± 0.603
FG05	0.063	ZILN	0.190 ± 0.135	0.036 ± 0.041	3.49 ± 1.67	0.011 ± 0.011	0.097 ± 0.249
FG06	0.500	Weibull	0.273 ± 0.046	0.231 ± 0.222		3.55 ± 3.34	32.1 ± 52.1
FG07	0.563	ZIW	0.601 ± 0.123	0.549 ± 0.131	2.00 ± 1.24	2.19 ± 1.31	6.97 ± 7.08
FG08	0.875	ZILN	0.845 ± 0.085	0.836 ± 0.242	3.33 ± 0.59	1.46 ± 0.50	3.11 ± 1.77
FG09	0.250	ZILN	0.340 ± 0.120	0.094 ± 0.050	3.44 ± 0.99	0.064 ± 0.035	0.271 ± 0.387
FG10	0.063	ZILN	0.174 ± 0.116	0.044 ± 0.049	3.45 ± 1.38	0.013 ± 0.012	0.105 ± 0.261
FG11	0.063	ZILN	0.180 ± 0.122	0.035 ± 0.040	3.58 ± 1.64	0.011 ± 0.010	0.099 ± 0.240
FG12	0.063	ZILN	0.203 ± 0.136	0.027 ± 0.033	3.68 ± 1.96	0.010 ± 0.010	0.111 ± 0.534
FG13	0.500	ZILN	0.558 ± 0.129	0.128 ± 0.052	3.21 ± 0.71	0.136 ± 0.059	0.367 ± 0.278
FG14	0.125	ZILN	0.238 ± 0.118	0.025 ± 0.019	3.15 ± 1.15	0.010 ± 0.009	0.053 ± 0.088

a: ZILN: ゼロ過剰対数正規, ZIW: ゼロ過剰ワイブル

b: Weibull の形状パラメーター  $m$ 、ZILN 分布と ZIW 分布の  $1-\omega$ を示す。

c: Weibull の位置パラメーター  $\eta$ 、ZILN 分布の  $e^\mu$ 、ZIW 分布の  $m$ 、を示す。

d: ZILN 分布の  $e^\sigma$ 、ZIW 分布の  $\eta$ を示す。

Table 4 体重当たりの喫食量に関する確率密度分布のパラメーターに関するベイズ推定の結果

Food Group	Distribution	Parameter 1 <sup>a</sup>	Parameter 2 <sup>b</sup>	Parameter 3 <sup>c</sup>	Estimated theoretical mean	Estimated theoretical SD <sup>d</sup>
1	ZIG	0.965 ± 0.001	3.13 ± 0.03	0.488 ± 0.005	6.19 ± 0.02	3.75 ± 0.02
2	Tweedie	3.26 ± 0.02	1.059 ± 0.008	1.553 ± 0.005	3.26 ± 0.02	2.58 ± 0.01
3	ZILN	0.869 ± 0.002	0.321 ± 0.003	4.55 ± 0.03	0.88 ± 0.01	2.84 ± 0.07
4	Tweedie	0.901 ± 0.002	1.49 ± 0.01	6.63 ± 0.06	0.203 ± 0.001	0.187 ± 0.001
5	ZIG	0.759 ± 0.003	1.19 ± 0.01	0.750 ± 0.008	1.204 ± 0.009	1.44 ± 0.01
6	ZIG	0.659 ± 0.003	1.19 ± 0.01	0.356 ± 0.004	2.20 ± 0.02	2.94 ± 0.02
7	ZIG	0.940 ± 0.001	1.19 ± 0.01	0.574 ± 0.006	1.95 ± 0.01	1.91 ± 0.01
8	Tweedie	0.9937 ± 0.0005	2.14 ± 0.02	0.534 ± 0.005	3.98 ± 0.02	2.75 ± 0.02
9	Tweedie	11.54 ± 0.06	2.14 ± 0.02	1.527 ± 0.003	11.54 ± 0.06	9.46 ± 0.06
10	Tweedie	1.309 ± 0.009	1.26 ± 0.01	1.476 ± 0.003	1.309 ± 0.009	1.369 ± 0.009
11	ZIG	0.963 ± 0.001	2.08 ± 0.02	0.815 ± 0.008	2.46 ± 0.01	1.80 ± 0.01
12	Tweedie	0.746 ± 0.003	0.799 ± 0.007	0.196 ± 0.002	3.04 ± 0.03	4.32 ± 0.04
13	ZILN	0.9990 ± 0.0002	1.204 ± 0.006	2.299 ± 0.008	1.70 ± 0.01	1.70 ± 0.02

a: パラメーター1は頻度パラメーターで、Tweedie分布の $\theta$ 、ZILN分布とZIG分布の $p$ を示す。

b: パラメーター2は位置あるいは割合パラメーターで、Tweedie分布の $\mu$ 、ZILN分布の $e^\mu$ 、ZIG分布の $\beta$ を示す。

c: パラメーター3は形状パラメーターで、Tweedie分布の $\phi$ 、ZILNの $e^\sigma$ 、ZIG分布の $\alpha$ を示す。

d: standard deviation

Table 5 ベイズ法と二次元モンテカルロ法を併用して推定した食品を介したチアメトキサムの1日摂取量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ) 分布の推定結果

Food Group	Mean	Standard deviation	5 <sup>th</sup> percentile	25 <sup>th</sup> percentile	50 <sup>th</sup> percentile	75 <sup>th</sup> percentile	95 <sup>th</sup> percentile	Contribution ratio (%)
1	0.00028	0.00245	0.00000	0.00000	0.00000	0.00001	0.00119	4.0 ± 13.0
2	0.00002	0.00005	0.00000	0.00000	0.00000	0.00003	0.00012	1.2 ± 5.8
3	0.00002	0.00029	0.00000	0.00000	0.00000	0.00003	0.00012	0.5 ± 4.0
4	0.00002	0.00021	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00007	0.6 ± 4.5
5	0.00001	0.00016	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00003	0.4 ± 3.7
6	0.00725	0.09014	0.00000	0.00000	0.00000	0.00032	0.0157	12.5 ± 26.1
7	0.0042	0.0222	0.00000	0.00000	0.00002	0.00152	0.0188	18.9 ± 30.3
8	0.0058	0.0171	0.00000	0.00041	0.00182	0.00545	0.0229	45.7 ± 36.9
9	0.00073	0.00553	0.00000	0.00000	0.00000	0.0002	0.0033	7.7 ± 19.0
10	0.00002	0.00026	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00005	0.5 ± 4.0
11	0.00003	0.00036	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00008	0.7 ± 4.9
12	0.00003	0.00089	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00006	0.6 ± 4.8
13	0.00023	0.00089	0.00000	0.00000	0.00002	0.00017	0.00098	5.4 ± 14.2
14	0.00005	0.00030	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00021	1.4 ± 6.7
Total	0.01864	0.09453	0.0005	0.0024	0.0060	0.0148	0.0586	

Table 5 二次元モンテカルロシミュレーションを用いた残留農薬の1日摂取量 (µg/kg/day) 分布

Pesticide	Mean	Standard deviation	5 <sup>th</sup> percentile	25 <sup>th</sup> percentile	50 <sup>th</sup> percentile	75 <sup>th</sup> percentile	95 <sup>th</sup> percentile	Probability of exceeding ADI (%)
Acephate	0.0049	0.0182	0.0002	0.0006	0.0016	0.0043	0.0181	0.001
Acetamiprid	0.032	0.093	0.001	0.006	0.017	0.038	0.105	0
Bupropedine	0.0027	0.0132	0.0003	0.0007	0.0011	0.0019	0.0079	0
Flubendiamide	0.0084	0.0141	0.0005	0.0023	0.0048	0.0093	0.0268	0
Hexazinone	0.00059	0.00171	0.00002	0.00009	0.00024	0.00058	0.00206	0
Methamidphos	0.00111	0.00417	0.00003	0.00012	0.00027	0.00071	0.00437	0
Thiacloprid	0.0091	0.0428	0.0000	0.0002	0.0009	0.0042	0.0394	0
Thiamethoxam	0.0186	0.0945	0.0005	0.0024	0.0060	0.0148	0.0586	0

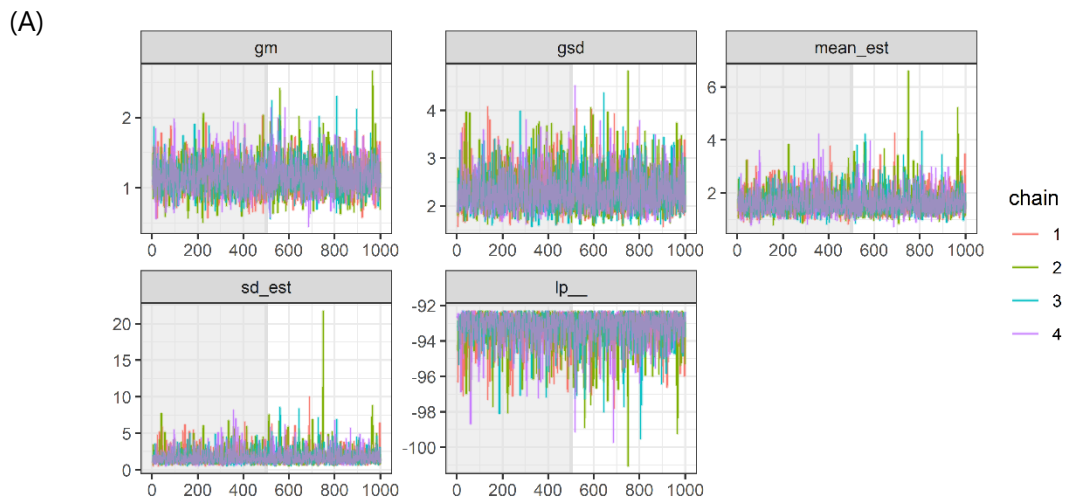


```

1. data {
2.   int<lower=1> N;
3.   vector<lower=0>[N] Y_L;
4.   vector<lower=0>[N] Y_U;
5.   int<lower=1> N_new;
6. }
7.
8. transformed data {
9.   real mean_RL2;
10.
11.   mean_RL2 = mean((Y_L + Y_U)/2);
12. }
13.
14. parameters {
15.   real<lower=0> gm;
16.   real<lower=1> gsd;
17. }
18.
19. transformed parameters {
20.   real mean_est;
21.   real sd_est;
22.
23.   mean_est = exp( log(gm) + 0.5*log(gsd)^2 );
24.   sd_est = mean_est * sqrt( exp( log(gsd)^2 ) - 1 );
25. }
26.
27. model {
28.   // prior distribution
29.   gsd ~ cauchy(1, 1);
30.   target += normal_lpdf(mean_est | mean_RL2, mean_RL2);
31.
32.   // model
33.   for (i in 1:N) {
34.     if ( Y_L[i]==Y_U[i] ) {
35.       target += lognormal_lpdf( Y_U[i] | log(gm), log(gsd) );
36.     } else {
37.       if ( Y_L[i]==0 ) {
38.         target += lognormal_lcdf( Y_U[i] | log(gm), log(gsd) );
39.       } else {
40.         target += log( exp(lognormal_lcdf( Y_U[i] | log(gm), log(gsd) )) - exp(lognormal_lcdf( Y_L[i] | log(gm),
41. log(gsd) )) );
42.       }
43.     }
44.   }
45.
46. generated quantities {
47.   real log_lik[N];
48.   real<lower=0> Y_new[N_new];
49.
50.   for (i in 1:N) {
51.     if ( Y_L[i]==Y_U[i] ) {
52.       log_lik[i] = lognormal_lpdf( Y_U[i] | log(gm), log(gsd) );
53.     } else {
54.       if ( Y_L[i]==0 ) {
55.         log_lik[i] = lognormal_lcdf( Y_U[i] | log(gm), log(gsd) );
56.       } else {
57.         log_lik[i] = log( exp(lognormal_lcdf( Y_U[i] | log(gm), log(gsd) )) - exp(lognormal_lcdf( Y_L[i] | log(gm),
58. log(gsd) )) );
59.       }
60.     }
61.
62.     for (i in 1:N_new) Y_new[i] = lognormal_rng(log(gm), log(gsd));
63.   }
64. }

```

Fig. 1 対数正規分布を仮定した農薬摂取量に対するベイズモデルの Stan コード



(B) Convergence indices for MCMC parameters (iterations=1000, warm-up=500, chain=4, thinning=1)

Parameter	Mean	SD	$\hat{R}$	$n_{\text{eff}}/N$	mcse/sd
gm	1.17	0.25	0.999	0.474	0.0301
gsd	2.31	0.41	0.999	0.627	0.0306
mu_est	1.68	0.48	1.000	0.491	0.0300
sd_est	1.79	1.11	1.000	0.581	0.0292
lp_	-93.27	0.98	1.004	0.396	0.0371

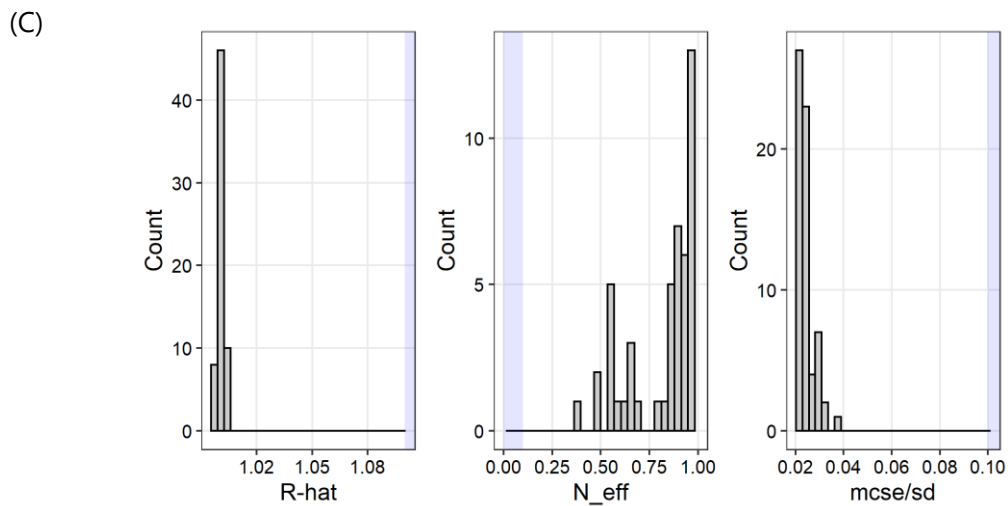


Fig. 2 アセタミプリドの1日摂取量推定におけるベイズ推定によるパラメーターの収束判断 (A) トレースプロット, (B) 推定したパラメーター等の記述統計量, (C) 収束判断指標 ( $\hat{R}$ ,  $n_{\text{eff}}/N$ , mcse/sd) のヒストグラム

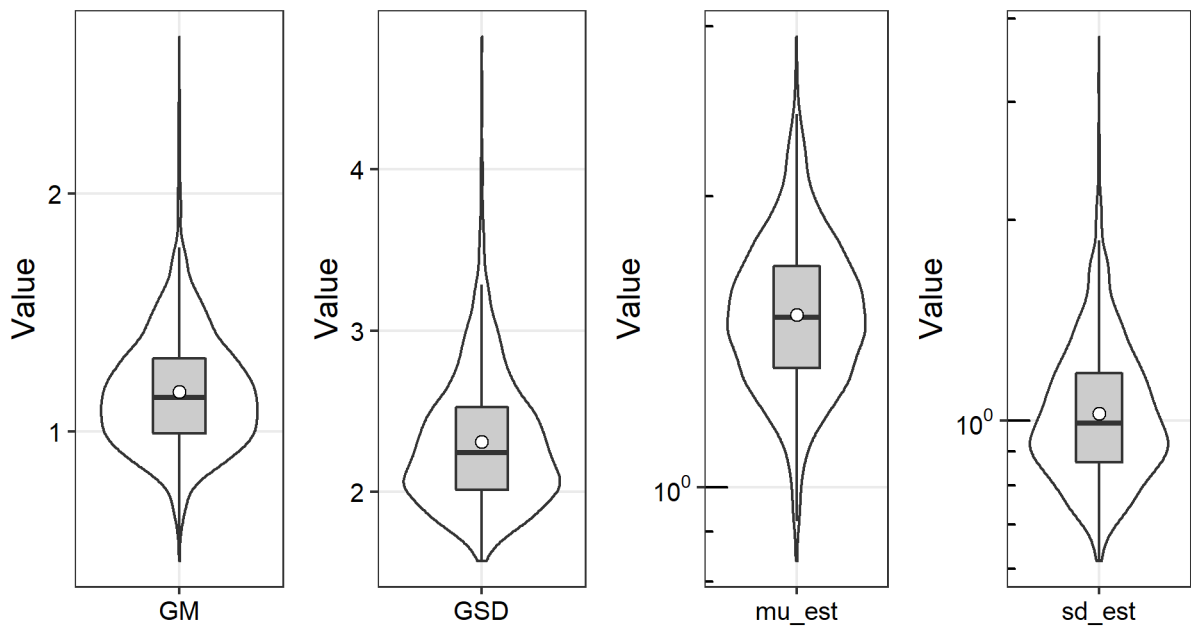


Fig. 3-1 ベイズ推定によるアセタミプリドの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

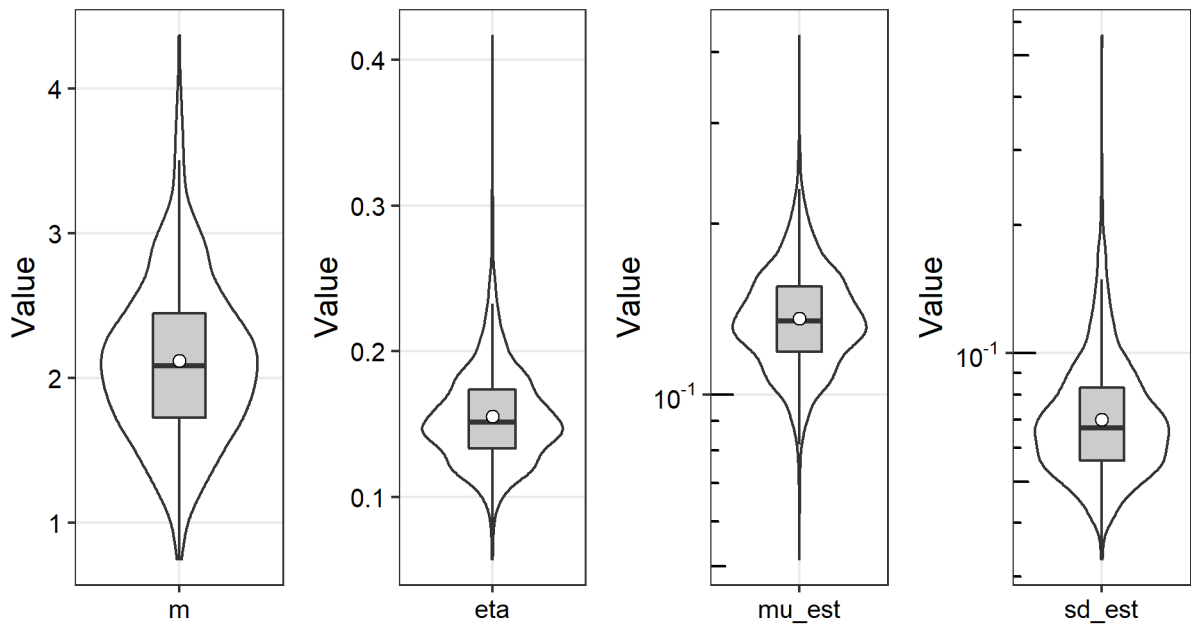


Fig. 3-2 ベイズ推定によるアセタミプリド代謝物の1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

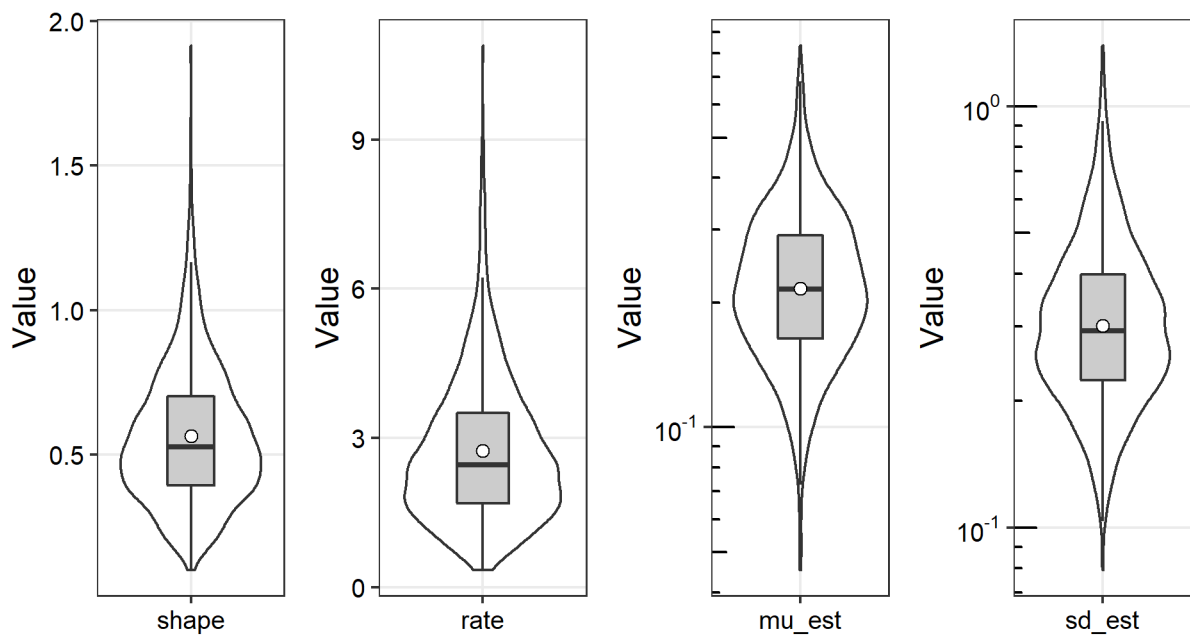


Fig. 3-3 バイズ推定によるアセフェートの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

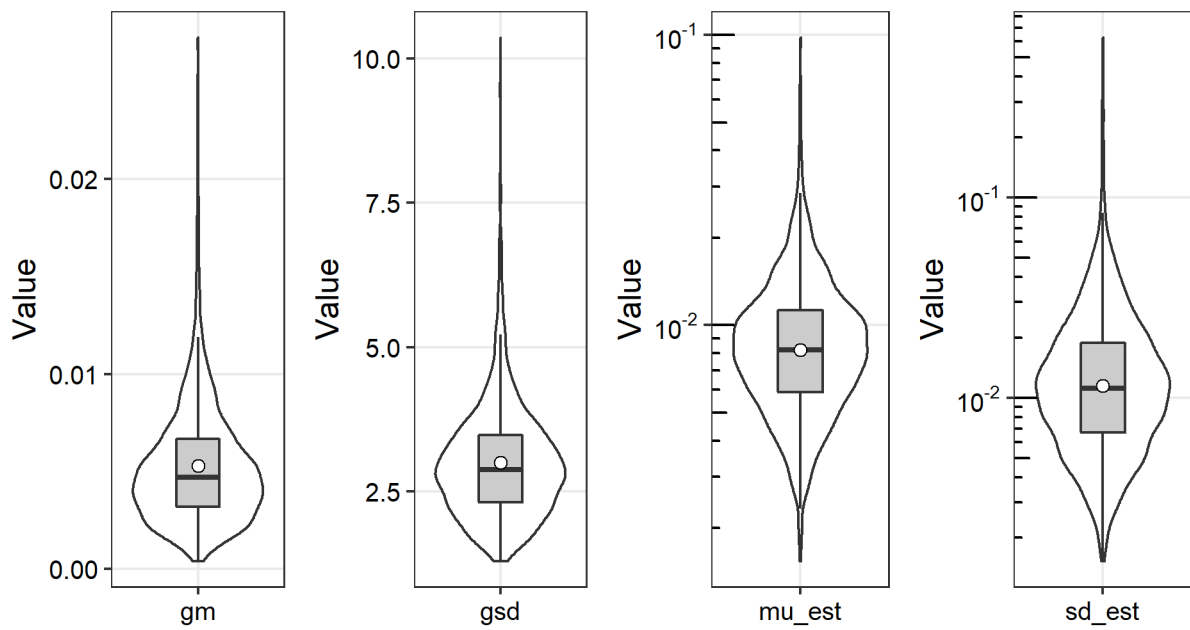


Fig. 3-4 バイズ推定によるインドキサルブの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

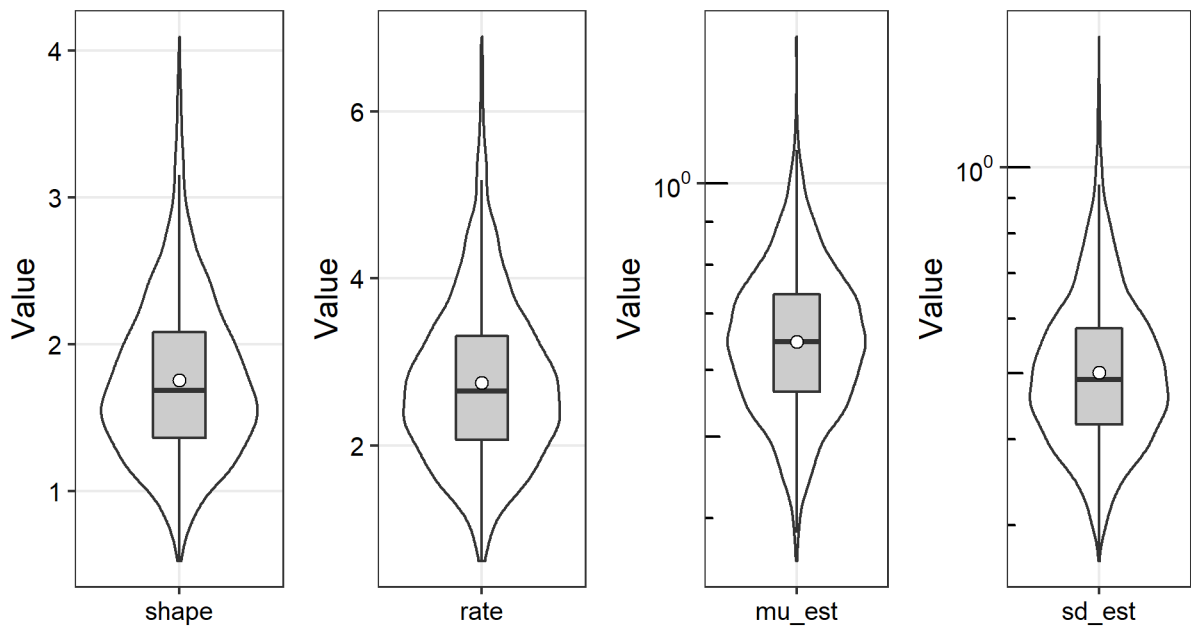


Fig. 3-5 ベイズ推定によるクロチアニジンの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

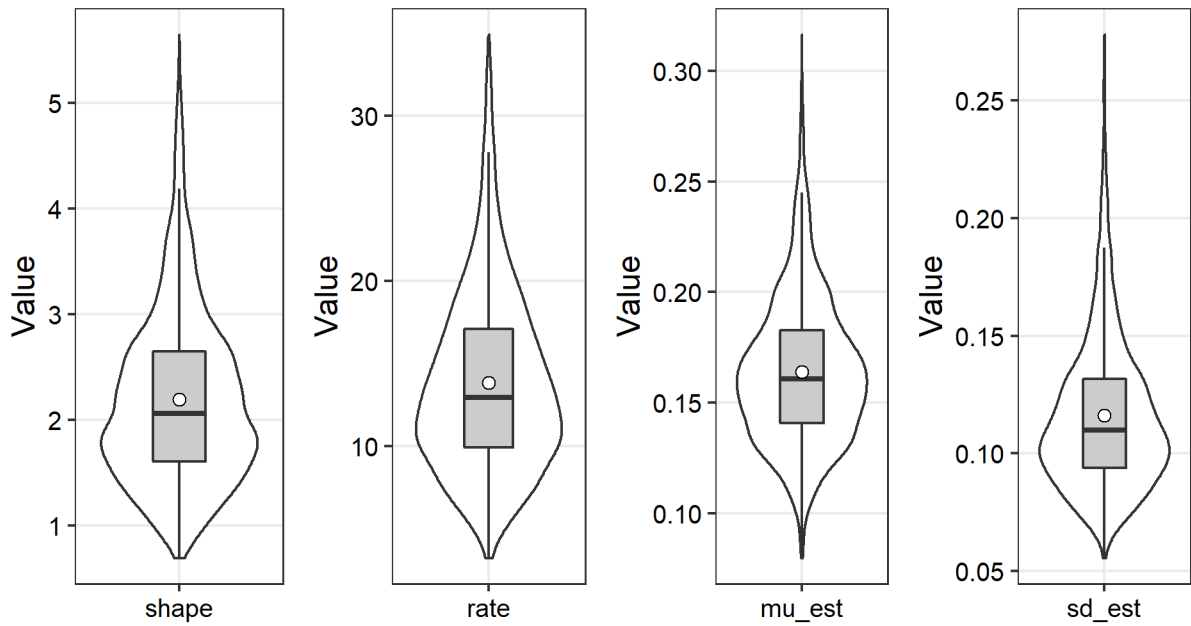


Fig. 3-6 ベイズ推定によるクロルピリホスの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

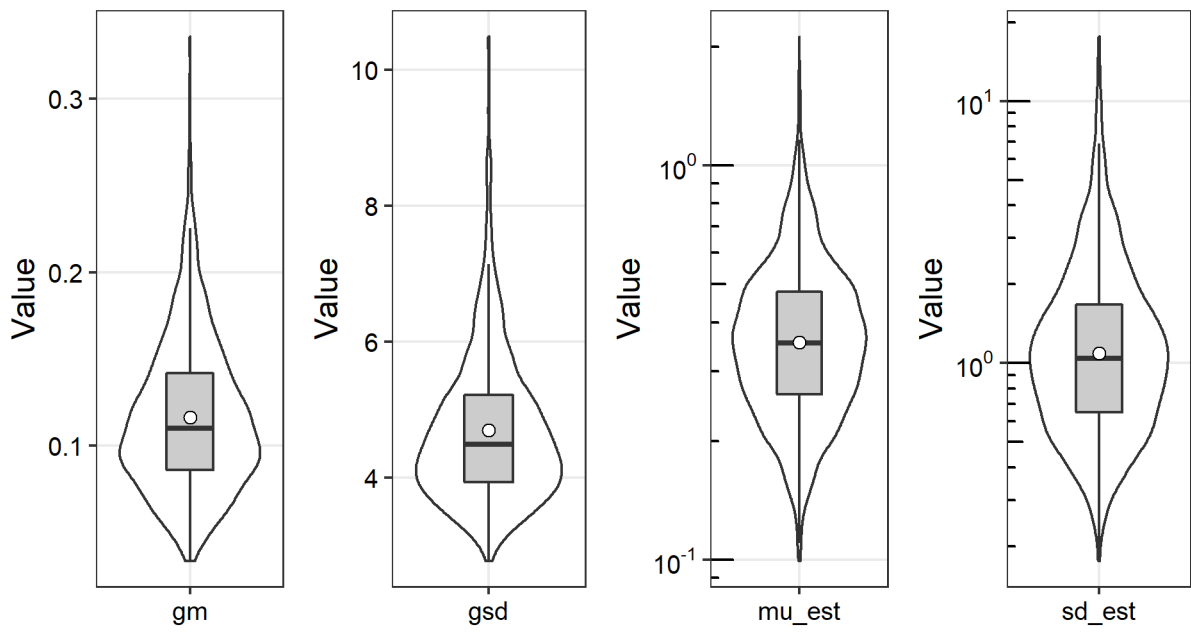


Fig. 3-7 ベイズ推定によるチアクロピリドの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

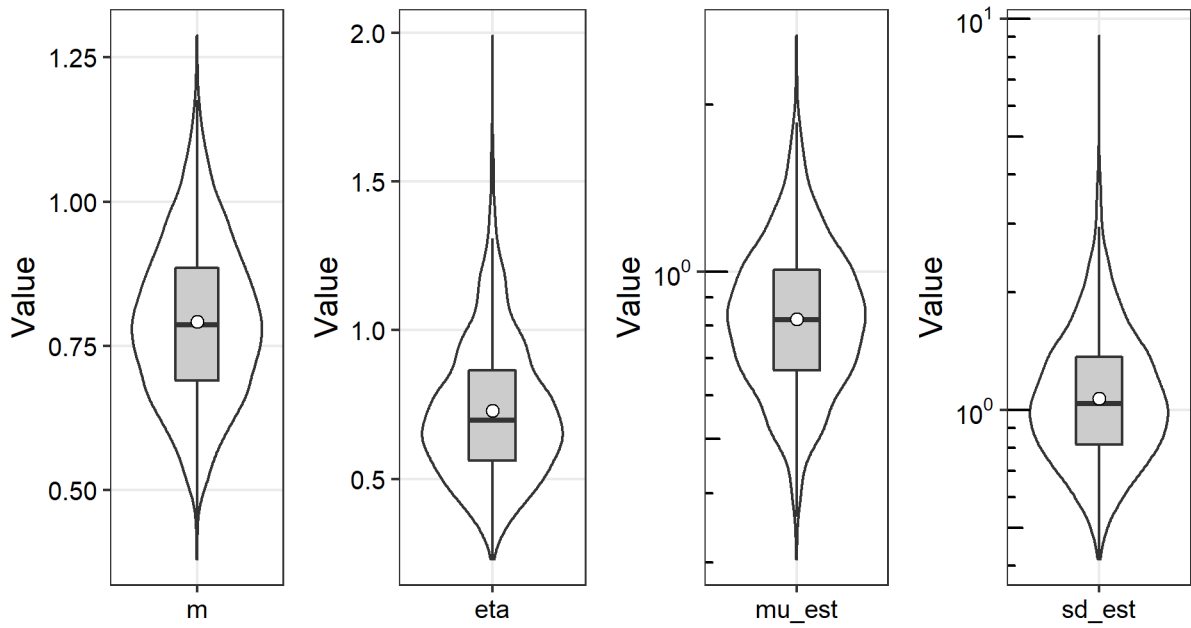


Fig. 3-8 ベイズ推定によるチアメトキサムの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

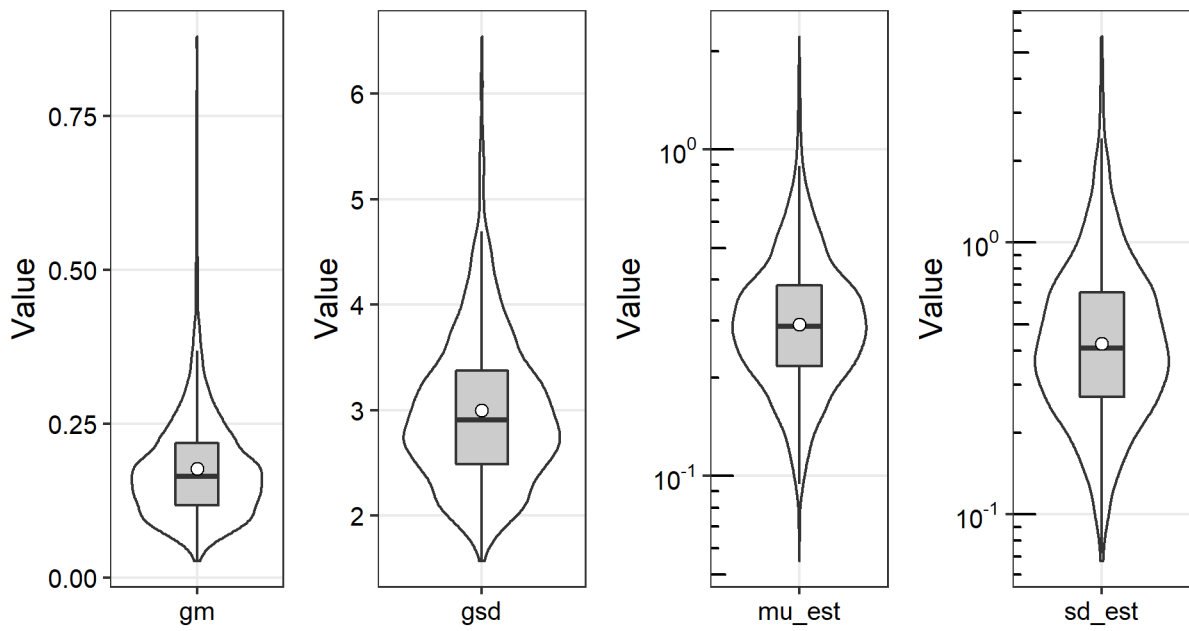


Fig. 3-9 ベイズ推定によるニテンピラムの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

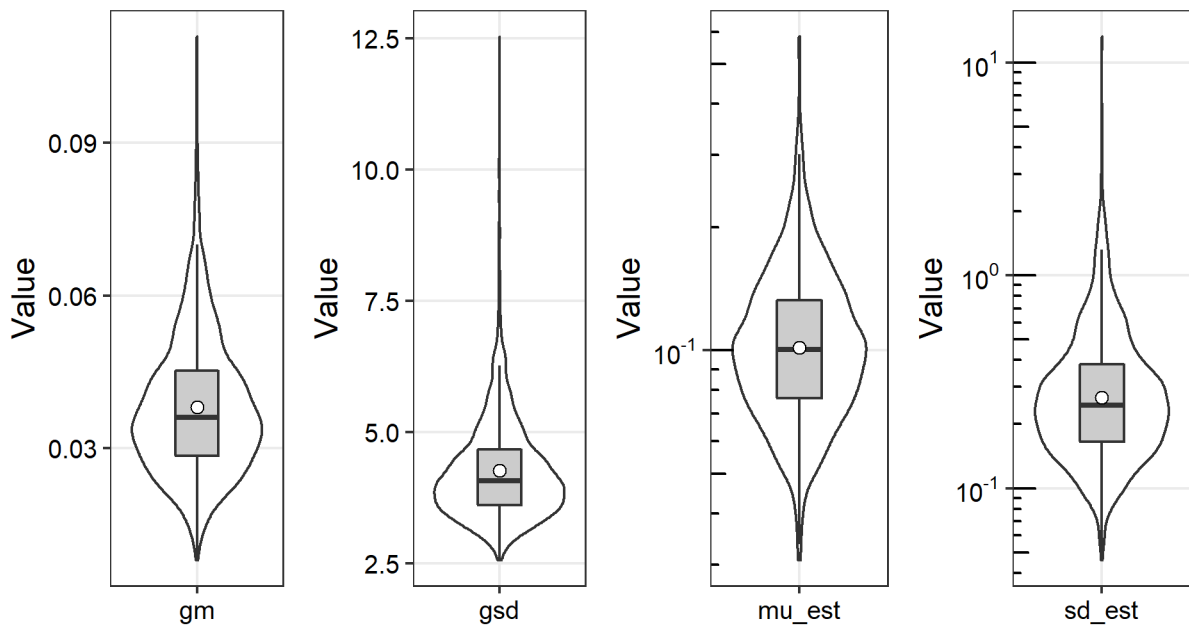


Fig. 3-10 ベイズ推定によるノバルロンの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

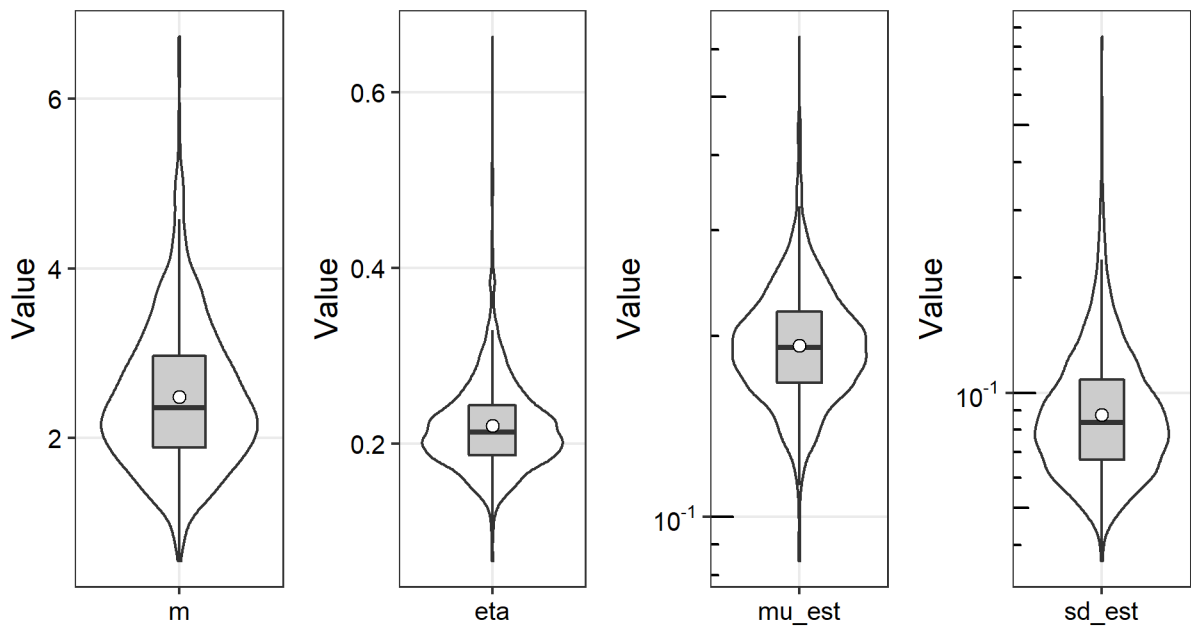


Fig. 3-11 バイズ推定によるピフェントリンの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

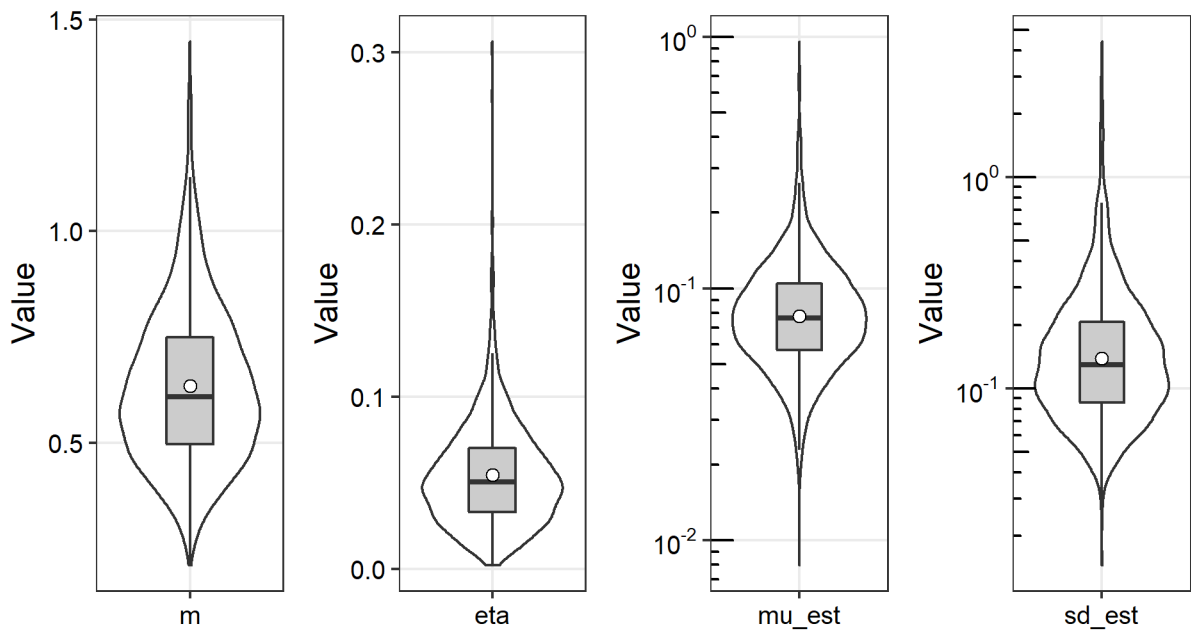


Fig. 3-12 バイズ推定によるピリダベン1日摂取量推定値に関わる事後予測分布



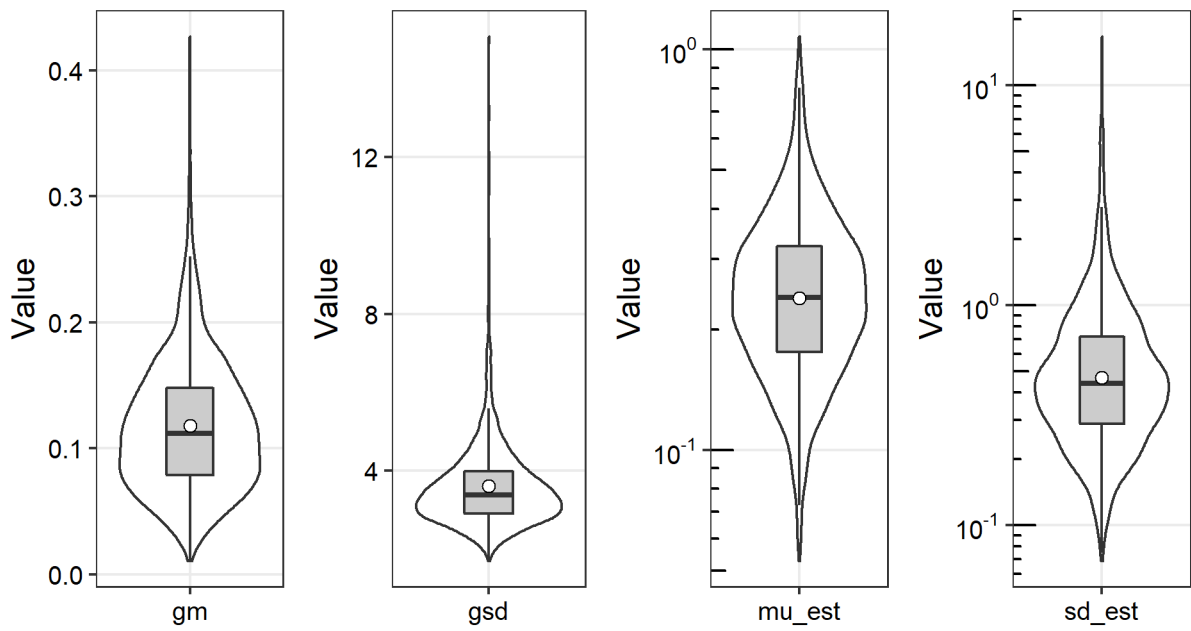


Fig. 3-13 バイズ推定によるフェニトロチオンの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

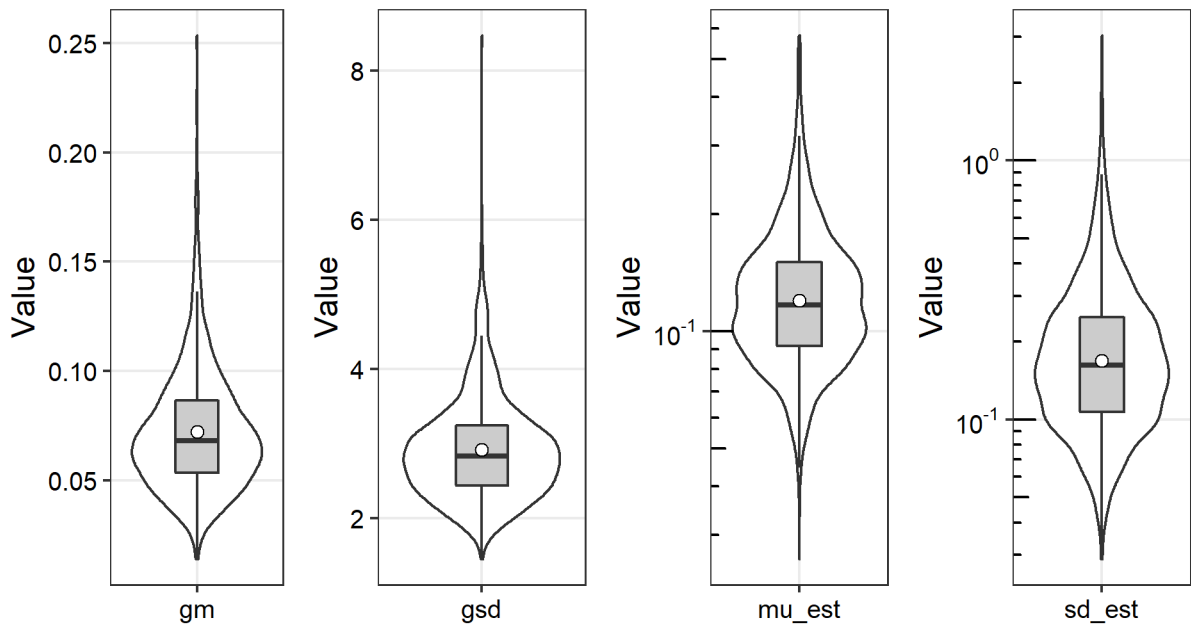


Fig. 3-14 バイズ推定によるプロフェジンの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

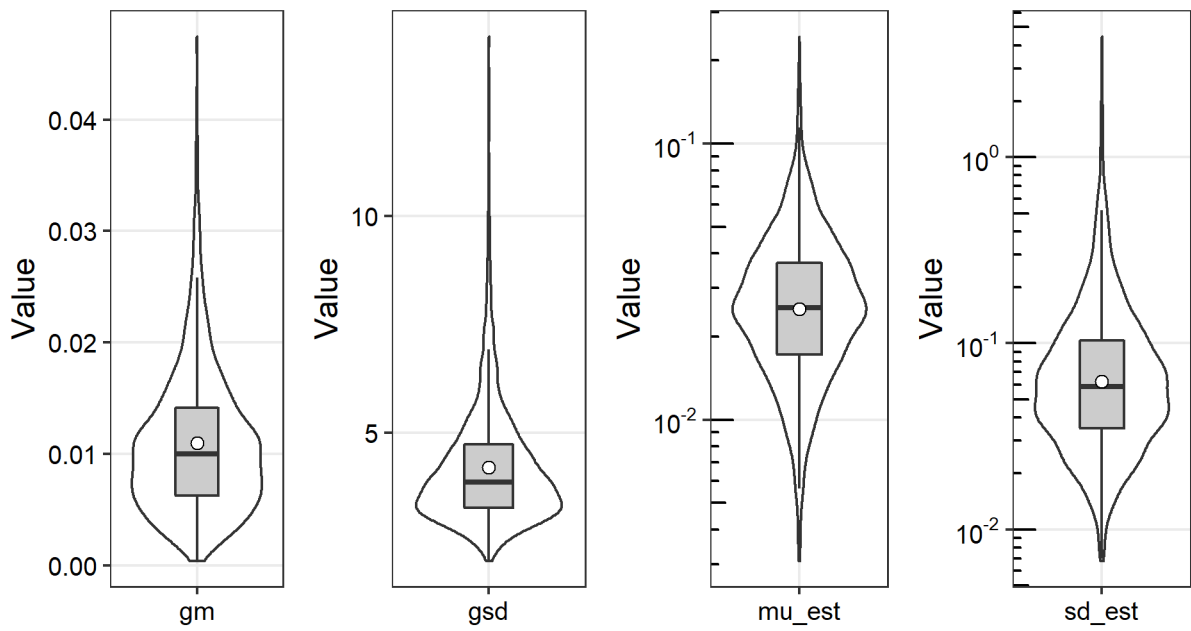


Fig. 3-15 ベイズ推定によるフルアジホップブチルの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

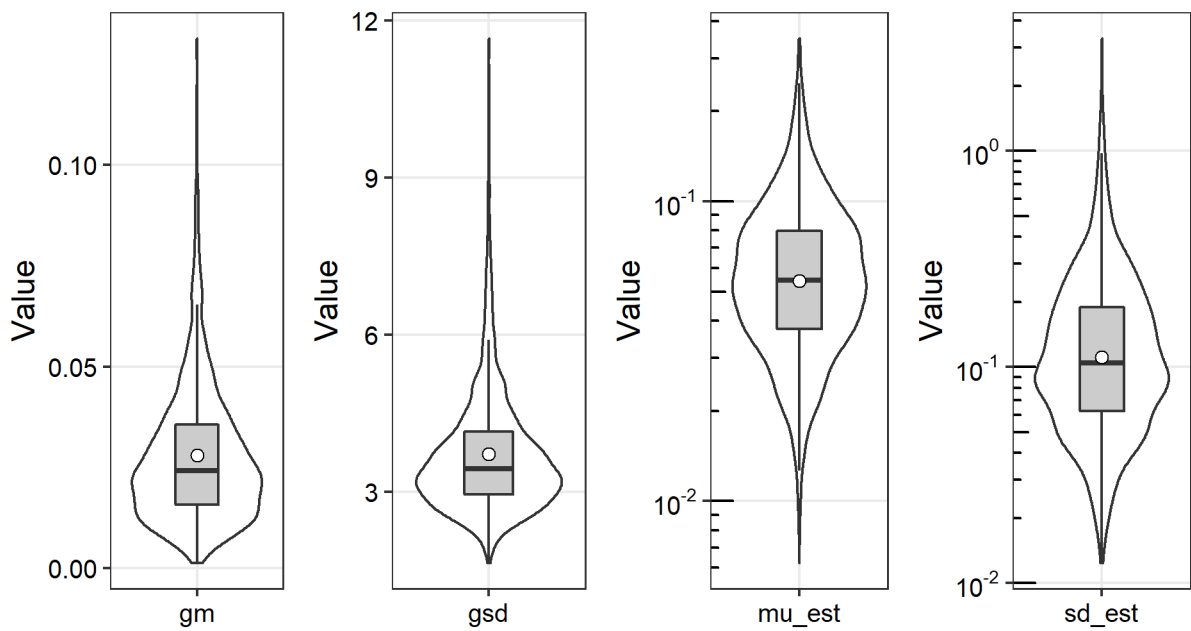


Fig. 3-16 ベイズ推定によるフルアジホップブチル代謝物の1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

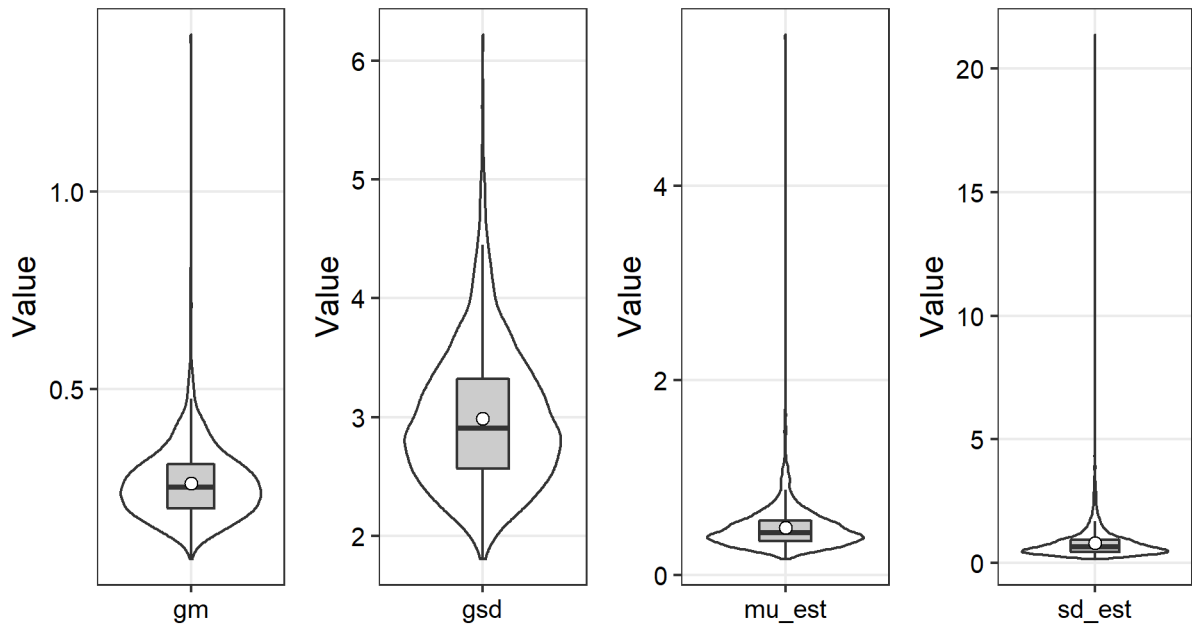


Fig. 3-17 バイズ推定によるフルベンジアミドの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

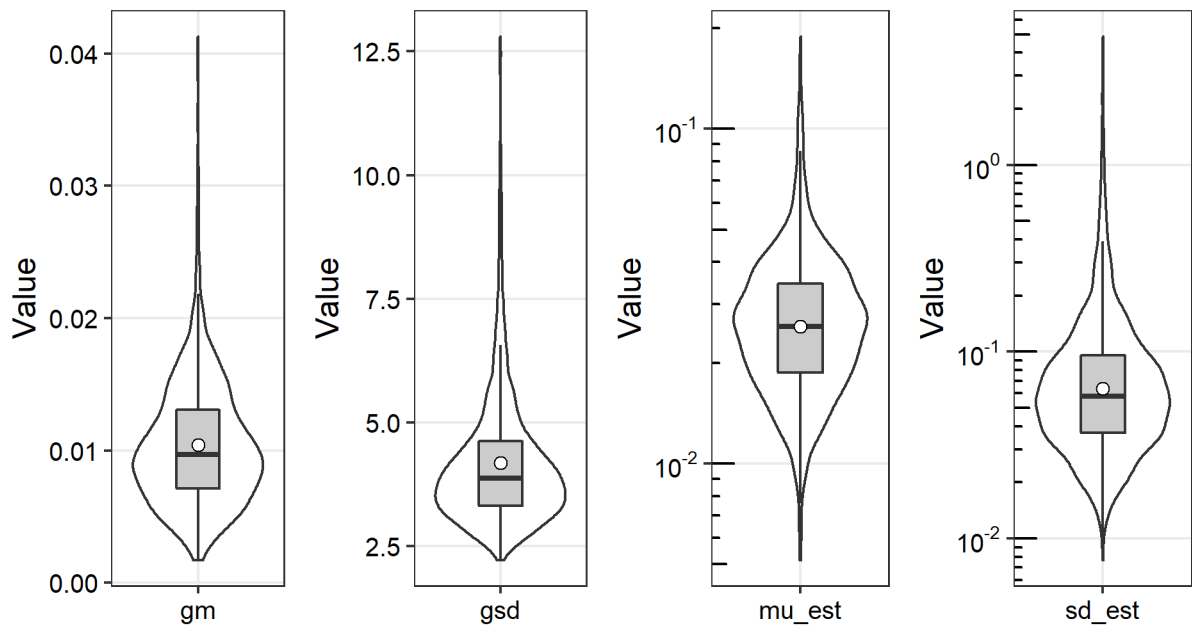


Fig. 3-18 バイズ推定によるヘキサジノンの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

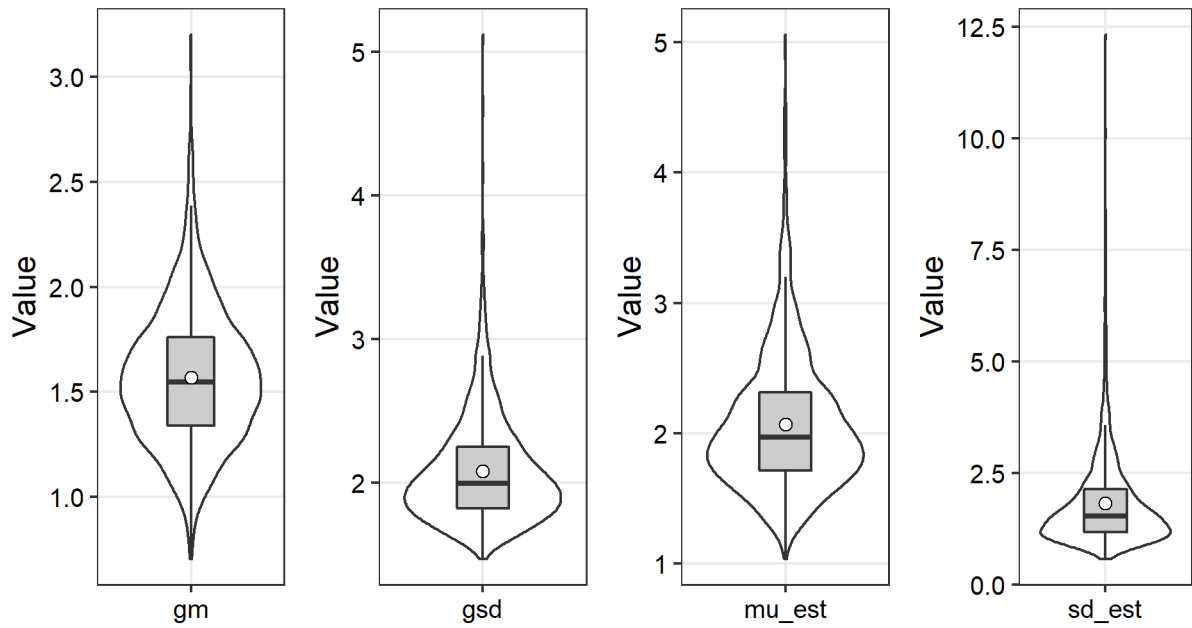


Fig. 3-19 バイズ推定によるボスカリドの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

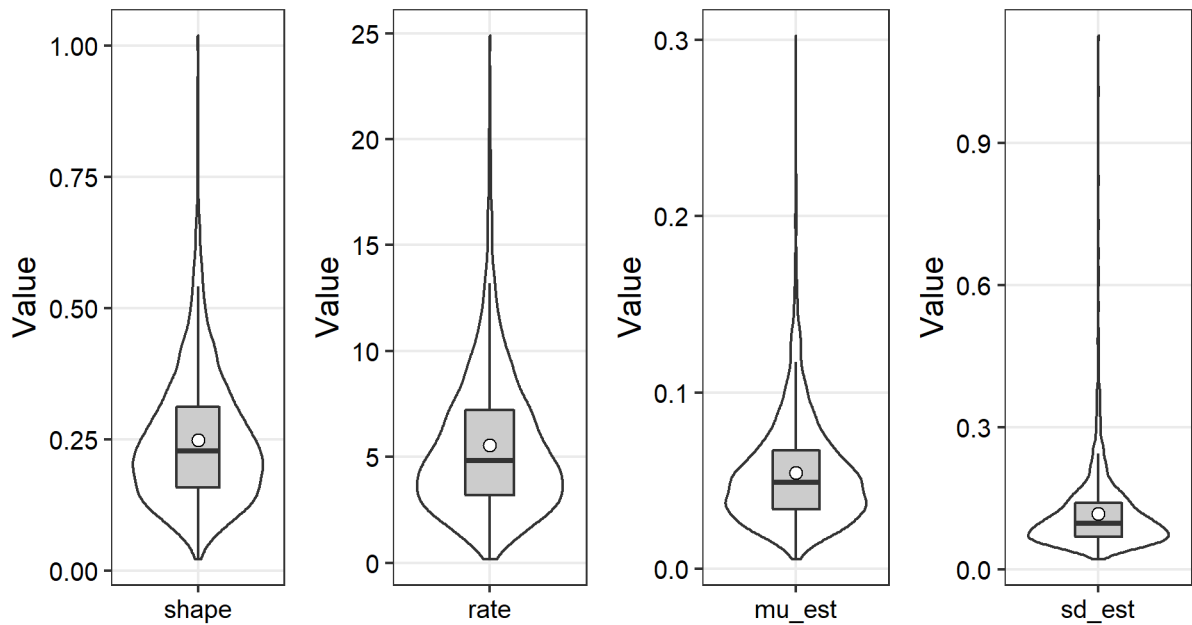


Fig. 3-20 バイズ推定によるメタミドホスの1日摂取量推定値に関わる事後予測分布

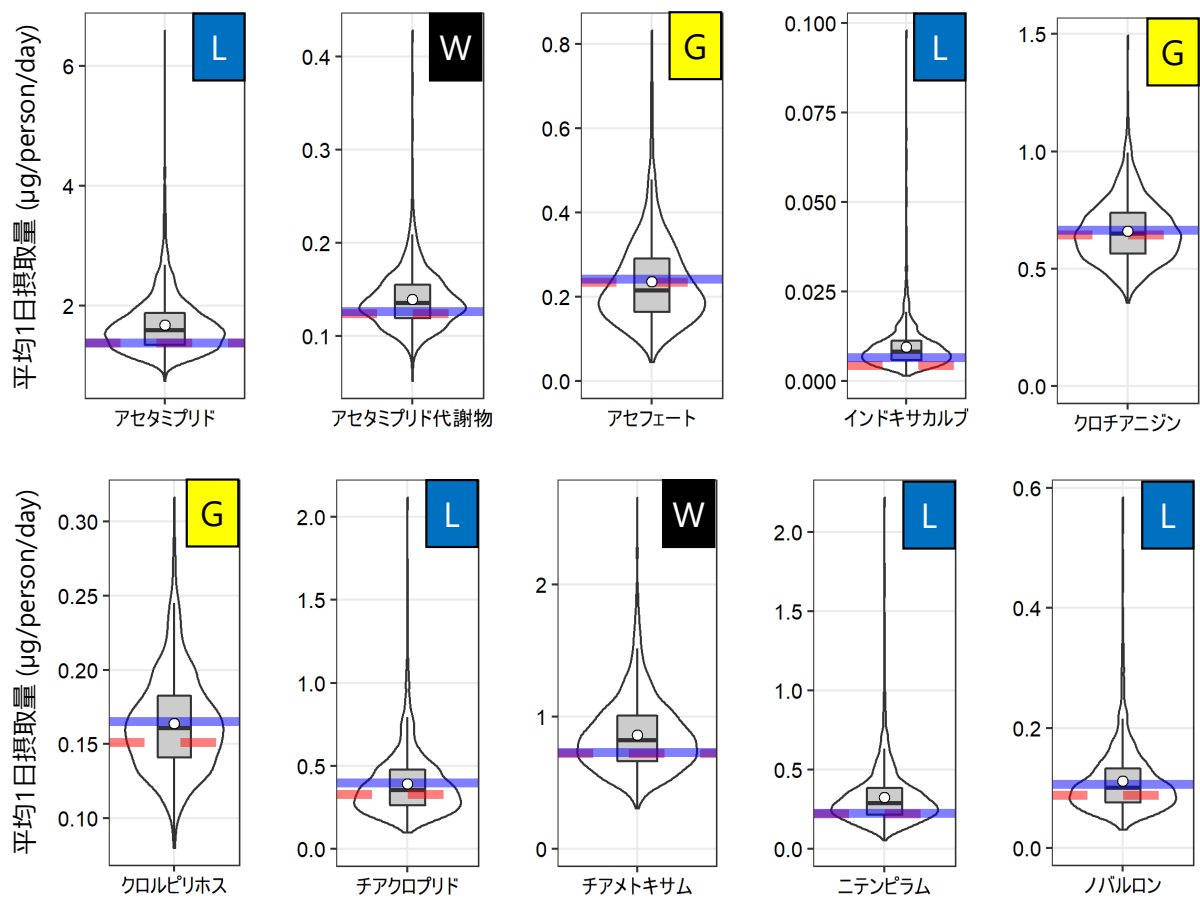


Fig. 4 不検出例を含むデータにおける平均農薬1日摂取量の推定

事後予測分布の確率密度分布 (バイオリン), 平均値 (白丸), 黒い横棒 (中央値), 四分位範囲 (灰色箱). 赤破線はRL/5法による推定値, 青横線は最尤推定値, Gはガンマ分布, Lは対数正規分布, Wはワイブル分布を示す.

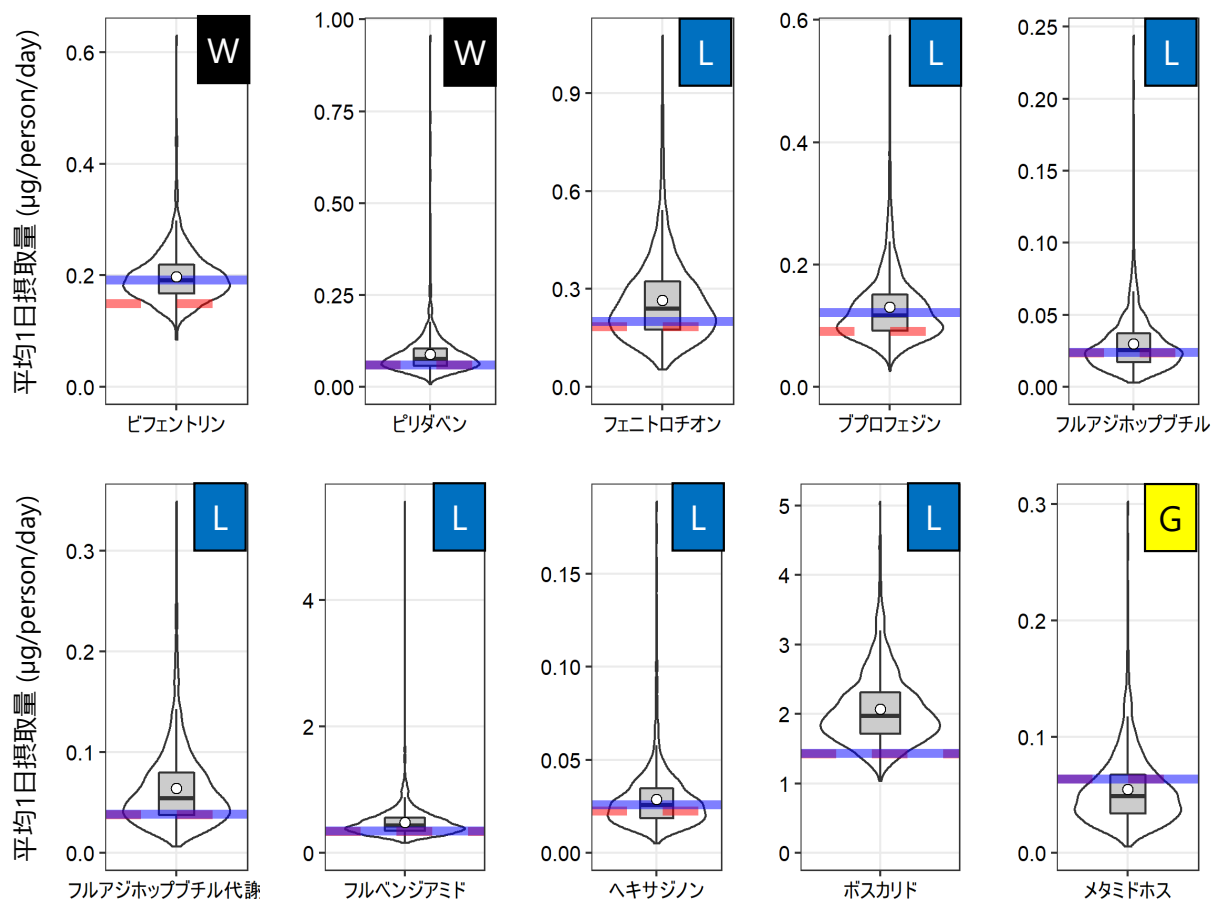


Fig. 4 続き

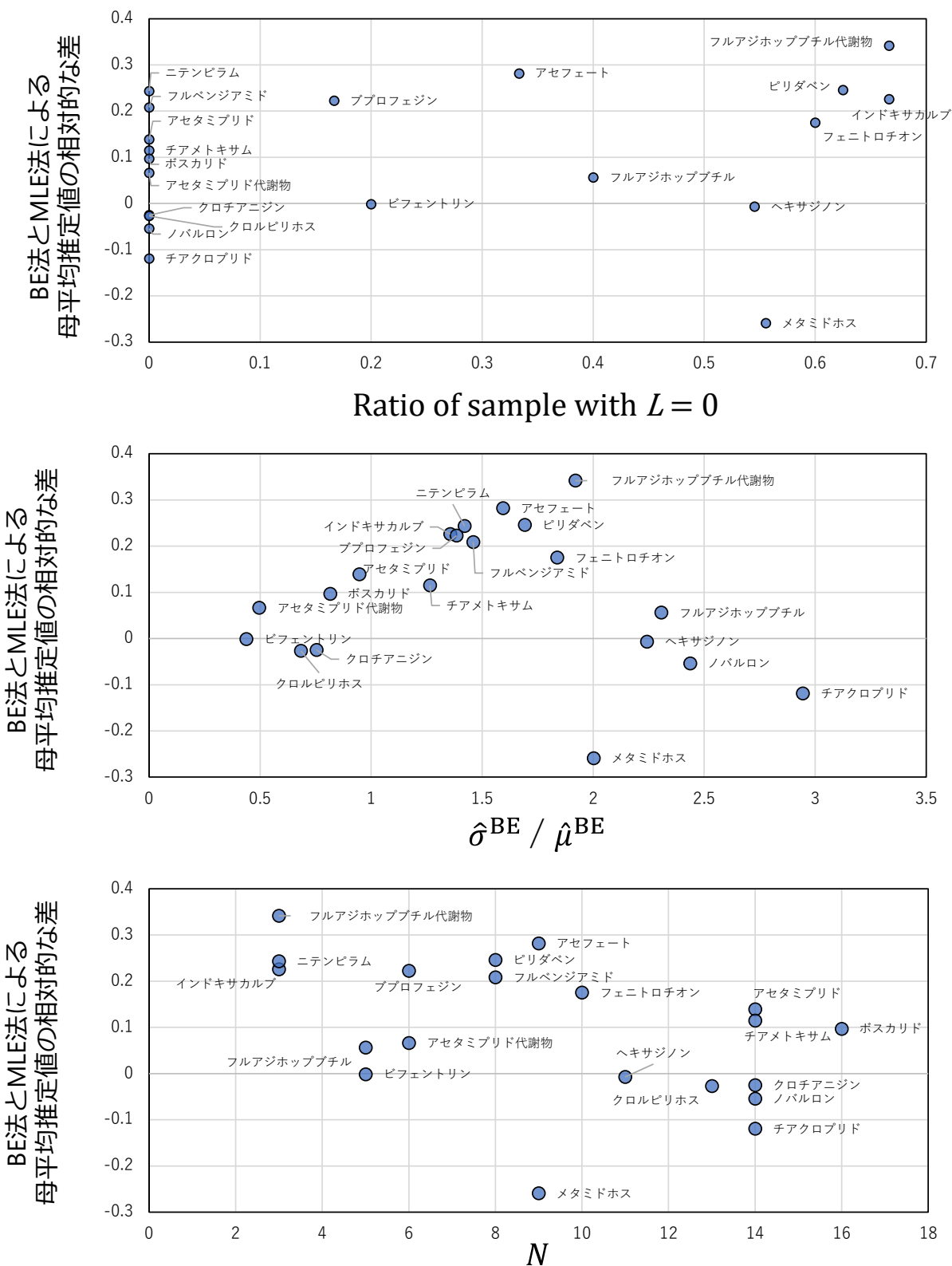


Fig. 5 ベイズ法と最尤推定法の推定結果の際に影響を与える要因

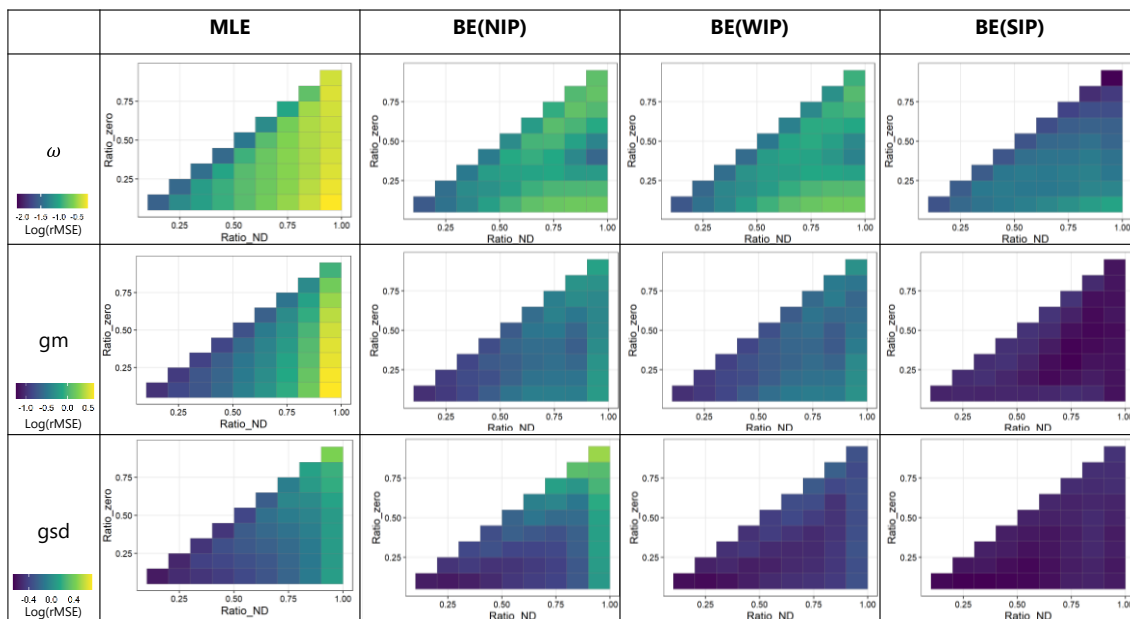


Fig. 6 ゼロ過剰対数正規分布に対する推定方法間の真度の比較

MLE: maximum likelihood estimation, BE: Bayesian estimation, NIP: no-informative prior, WIP: weak informative prior, SPI: specific informative prior.

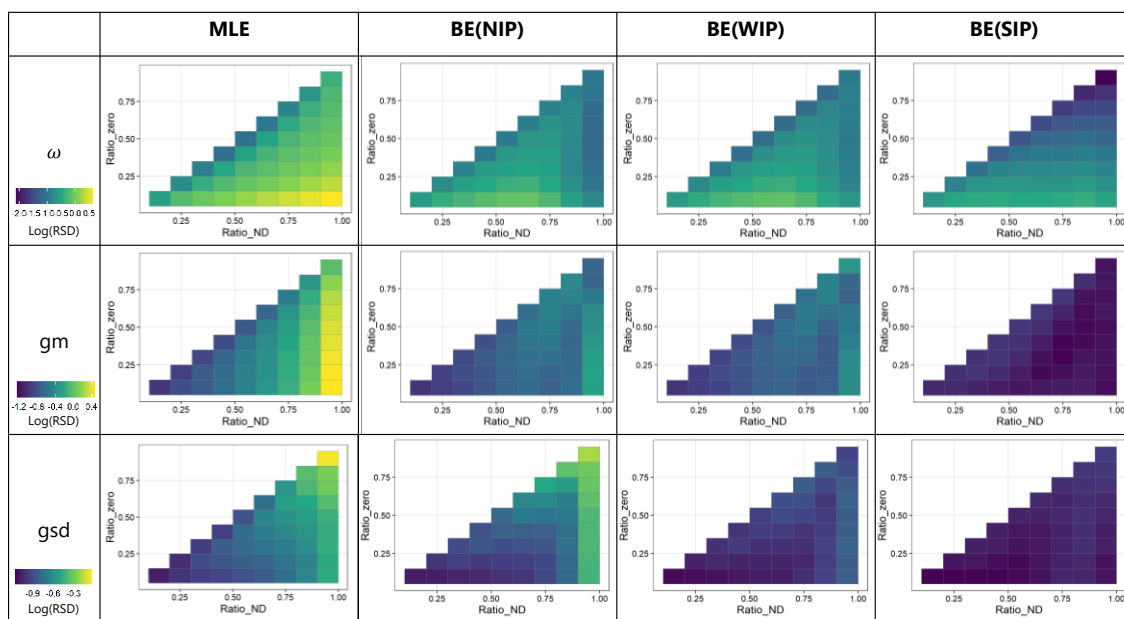


Fig. 7 ゼロ過剰対数正規分布に対する推定方法間の精度の比較

MLE: maximum likelihood estimation, BE: Bayesian estimation, NIP: no-informative prior, WIP: weak informative prior, SPI: specific informative prior.



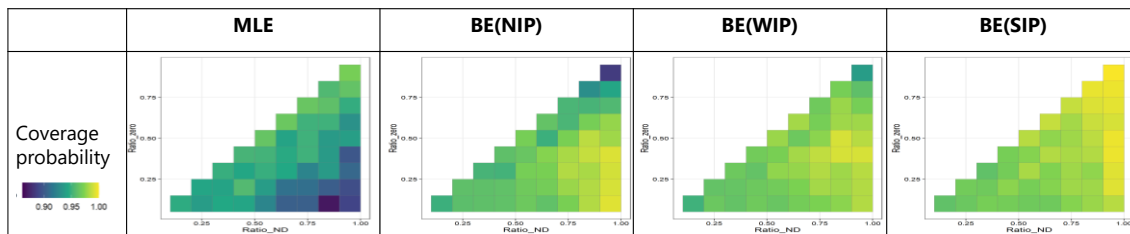


Fig. 8 ゼロ過剰対数正規分布の期待値に対する推定方法間の妥当性の比較

MLE: maximum likelihood estimation, BE: Bayesian estimation, NIP: no-informative prior, WIP: weak informative prior, SPI: specific informative prior

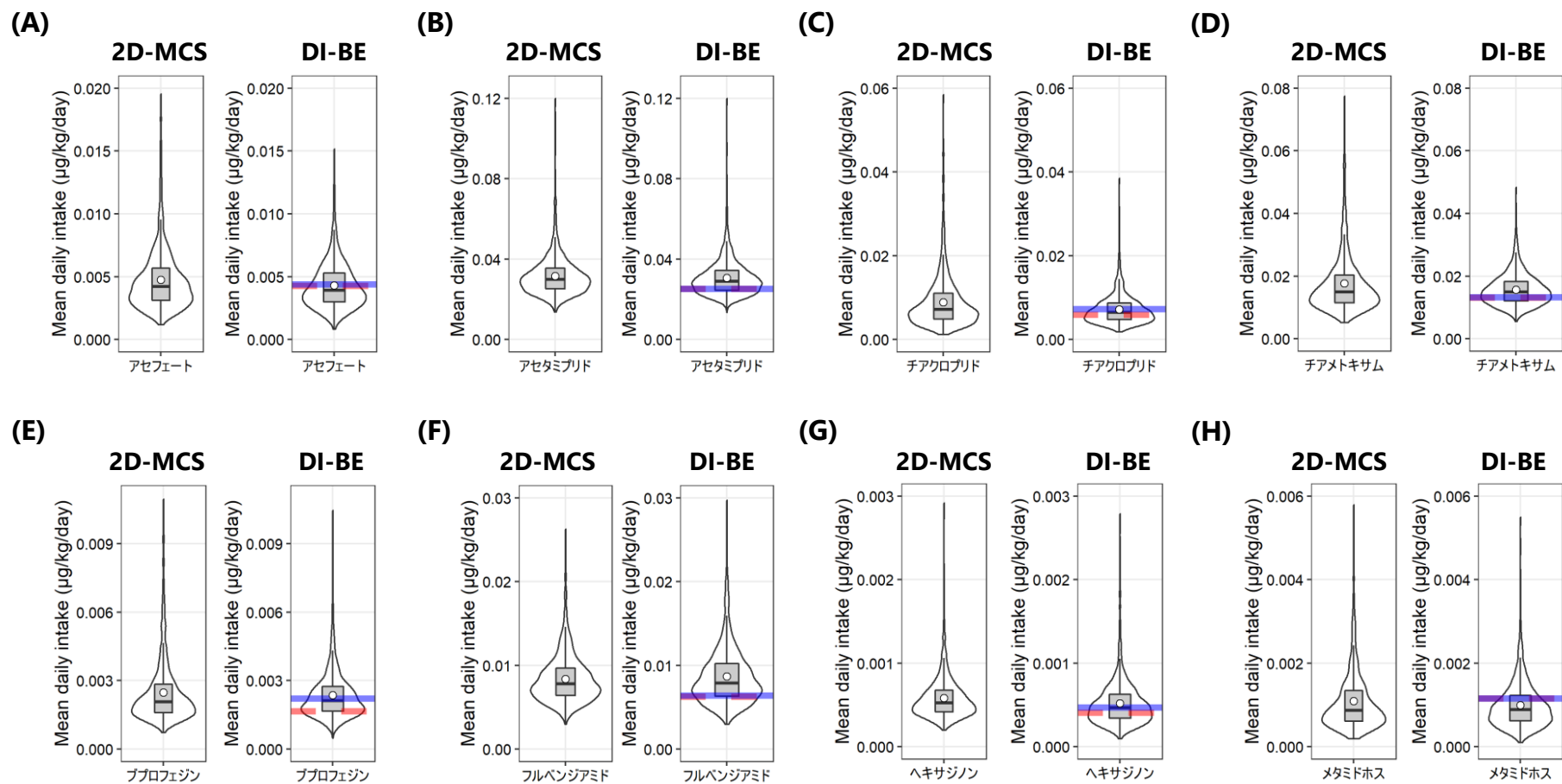


Fig. 9 平均農薬 1 日摂取量の推定値の推定方法間の違い

(A) アセフェート, (B) アセタミプリド, (C) チアクロプリド, (D) チアメトキサム, (E) プロフェジン, (F) フルベンジアミド, (G) ヘキサジノン, (H) メタミドホス。2D-MCS は濃度および喫食量ともに分布を推定した結果、DI-BE は農薬摂取量のデータをベイズ推定した結果、事後予測分布の確率密度分布 (バイオリン), 平均値 (白丸), 黒い横棒 (中央値), 四分位範囲 (灰色箱)。赤破線は RL/5 法による推定値, 青横線は最尤推定値

## Ⅱ. 分担研究報告

課題4. 検査部位の変更が残留農薬等の検査及び  
分析結果に及ぼす影響と対処法の検討

研究分担者 根本 了



食品や環境からの農薬等の摂取量の推計と国際標準を導入するための研究  
課題4. 検査部位の変更が残留農薬等の検査及び分析結果に及ぼす影響と対処法の検討

研究分担者 根本 了 国立医薬品食品衛生研究所 食品部第一室長

**研究要旨**

残留農薬等の検査における国内の現行の検査部位の一部は、国際基準であるCODEX基準と一致していない。検査部位の不一致は輸出入の際の係争の原因となるため、国際基準と整合を図る必要がある。国際基準の検査部位を採用した場合、現行の検査部位とは試料マトリックス等が異なるため、現行の試験操作や試料採取に影響を及ぼす可能性がある。本研究では、検査機関においてCODEX基準の検査部位を円滑に導入・運用するため、検査部位の変更によって起こり得る検査への影響や問題点を把握し、対処法を提案することを目的とした。本年度は検査部位が変更される果実を含めた10食品について、通常の常温磨砕法よりも均質な試料が得られる可能性が高い凍結粉砕法を用いた試料調製を検討した。3種類の凍結粉砕法(液体窒素・凍結方式、ドライアイス・予冷方式、ドライアイス・予備凍結方式)の操作手順を確立した後、試料の粉砕状況を常温磨砕法と比較した。その結果、柔軟性のある果皮は凍結粉砕法の方が微粒子となったのに対し、硬い種子や果皮は常温磨砕法の方が小さくなる傾向が認められ、食品によって均質化しやすい試料調製法が異なることが明らかとなった。また、農薬が残留した食品を凍結粉砕法及び常温磨砕法で試料調製し、分析値のばらつきを求めた結果、均質性が低い場合、少量の試料を分析に供すると農薬の分布によってはばらつきが大きくなることが示された。これらの結果から、食品によって適切な試料調製法を選択するのが望ましいと考えられた。

**研究協力者**

志田(齊藤)静夏(国立医薬品食品衛生研究所

食品部主任研究官)

坂井隆敏(国立医薬品食品衛生研究所

食品部主任研究官)

菊地博之(国立医薬品食品衛生研究所

食品部主任研究官)

**A. 研究目的**

国内の残留農薬等の検査における検査部位は『食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生省告示第370号)』に規定されているが、一部の食品はCODEX基準と一致していない。検査部位の不一

致は輸出入の際に係争の原因となるため、国際的な整合を図る必要がある。CODEX基準の検査部位を採用した場合、現行の検査部位とは試料マトリックス等が異なるため、試験操作や分析結果に影響を及ぼす可能性がある。そこで本研究では、検査機関における変更後の検査部位の円滑な導入及び運用を目的として、検査部位の変更によって起こり得る検査への影響や問題点を把握するとともに、それらの対処法について提案する。

令和3年度(2021年度)は、検査部位が変更される果実を含めた10食品について、通常の常温磨砕法よりも均質な試料が得られる可能性が高い凍結粉砕法を用いた試料調製を検討し、試料の

粉碎状況や分析値のばらつきを比較することを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 食品

果実(みかん、びわ、もも、キウイ、すいか、まくわうり、メロン、トマト、ぶどう及びパイナップル)、大豆及びごまの種子(洗いごま及びいりごま)はインターネットを介して購入したものを用いた。みかん、びわ、もも、キウイ、すいか、まくわうり及びメロンについては変更後の検査部位、トマト、ぶどう、パイナップル、大豆及びごまの種子は食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生省告示第370号)の第1食品の部A食品一般の成分規格に示された部位を試料調製した。

### 2. 試薬及び試液

#### (1) 有機溶媒及び試薬

アセトニトリル及びトルエンは関東化学製の残留農薬試験用、LC-MS/MS測定用の水及びメタノールは関東化学製のLC/MS用を用いた。試験溶液調製用の水は超高純度蒸留水精製装置で蒸留したものを用いた。塩化ナトリウムは富士フィルム和光純薬製の残留農薬試験用、酢酸アンモニウム、リン酸水素二カリウム及びリン酸二水素カリウムは富士フィルム和光純薬製の特級を用いた。ろ紙はアドバンテック製の定量ろ紙No.5A、ケイソウ土は富士フィルム和光純薬製のセライト545を用いた。液化炭酸ガス(純度>99.5 vol%)及び液体窒素(純度>99.99%)は鈴木商館から購入した。ドライアイス、液化炭酸ガスボンベ(サイホン付)にドライアイス製造装置(アイスティーサイエンス製)を接続し、用時調製した。

#### (2) 農薬標準品及び標準溶液

アセタミプリド標準品(純度99.9%)は林純薬工業製、イミダクロプリド標準品(純度99.5%)は富士

フィルム和光純薬製、フルジオキシニル標準品(純度99.6%)は富士フィルム和光純薬製、テブコナゾール標準品(純度99.5%)はMerck製の残留農薬試験用試薬を用いた。標準原液(1000 mg/L)は、各農薬10 mgを精秤し、アセトニトリル10 mLに溶解して調製した。検量線作成用の混合標準溶液は、各農薬の標準原液を混合し、メタノールで適宜希釈して調製した。

#### (3) 精製ミニカラム

グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル(グラファイトカーボン/PSA)積層ミニカラムはInertSep GC/PSA(500 mg/500 mg/6 mL、ジーエルサイエンス製)を用いた。

#### (4) 0.5 mol/L リン酸緩衝液(pH7.0)

リン酸水素二カリウム( $K_2HPO_4$ )52.7 g及びリン酸二水素カリウム( $KH_2PO_4$ )30.2 gを量り採り、水約500 mLに溶解し、1 mol/L水酸化ナトリウム溶液または1 mol/L塩酸を用いてpHを7.0に調整した後、水を加えて1 Lとした。

### 3. 装置

粉碎機はRobot Coupe BLIXER-3D(エフ・エム・アイ製:回転数3000 rpm、容器容量3.7 L)及びGM200(Verder Scientific社)を用いた。なお、Robot Coupe BLIXER-3Dに付属しているプラスチック製の蓋スクレーパーアーム Assy及びハンドルは、硬い試料を粉碎すると破損することがあるため、使用しなかった。

水分測定は、水分計MOC63u(島津製作所製)を用いて、標準乾燥自動停止モード(設定温度120°C、停止条件:水分変化率0.05%未満/30秒)で行った。

試料温度の測定は、精密型デジタル温度計SK-810PT(佐藤計量器製作所製)に低温センサS810PT-30を接続して使用した。

pH測定は、卓上型pHメータF-72(堀場製作所

製)にスリーブ Touph 電極 9681S-10D(堀場製作所製)を接続したものをを用いて行った。

粒子径分布測定は、レーザ回折式粒子径分布測定装置 SALD-2300(島津製作所製)及び多機能サンプラ MS23(島津製作所製)を用いて測定を行った。

実験室内の温度及び湿度は、温湿度ロガーSK-L754 に分離センサ SK-L754-2 を接続して測定した。

LC-MS/MS は、Nexera X3(島津製作所製)及び Triple Quad 7500(Sciex 製)を使用した。データ解析は Sciex OS(Sciex 製)を用いて行った。

#### 4. 測定条件

##### (1)MS 条件

イオン化法 ESI(+)及び ESI(-); イオンスプレー電圧 2500 V; ヒーター温度 350°C; カーテンガス N<sub>2</sub>, 35 psi; ネブライザーガス ドライエアー, 80 psi; ターボガス ドライエアー, 80 psi; コリジョンガス N<sub>2</sub>, 7; 測定イオン 表 1 に示した。

##### (2)LC 条件

カラム Inertsil ODS-4(内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 2 µm、ジエールサイエンス製); カラム温度 40°C; 注入量 3 µL; 移動相 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液(A 液)及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液(B 液); 流速 0.3 mL/min; グラジエント条件 0 分(A:B=90:10)→10 分(A:B=5:95)→15 分(A:B=5:95)→15.01 分(A:B=0:100)→20.00 分(A:B=0:100)→20.01 分(A:B=90:10); 保持時間 表 1 に示した。

#### 5. 試料調製

検体約 500 g を約 2.5 cm 角にカットし、常温磨砕法(A)及び凍結粉砕法(B~D)の各方法で試料調製した。なお、びわ及びももの種子はいずれの方法でも粉砕が困難であったため、種子を除い

た後、試料調製を行った。

##### A. 常温磨砕法

カットした検体約 500 g を全量、粉砕機に入れ、120 秒間磨砕した。

##### B. 凍結粉砕法(液体窒素・凍結方式)

①ステンレスビーカー(5 L 容)に液体窒素を約 2 L 入れ、カットした検体約 500 g を加えた。

②①の液体窒素が 500 mL 程度となったら、液体窒素をさらに 1~2 L 加え、合計 4 分間冷却した。

③液体窒素約 200 mL を粉砕機に入れ、約 5 秒間運転し、粉砕機を冷却した。

④②で得られた凍結試料の約半量をステンレス製穴あきおたまを用いて粉砕機に入れ、10 秒間粉砕した。

⑤残りの凍結試料を穴あきおたまを用いて粉砕機に加え、110 秒間粉砕した。

##### C. 凍結粉砕法(ドライアイス・予冷方式)

①カットした検体約 500 g 及び検体重量の 1.1 倍量のドライアイス(約 550 g)を予冷用容器(プラスチック製)に入れ、蓋を被せ(密閉せず)、3 分間予冷した。なお、予冷容器に入れる際は、予冷に用いるドライアイスの約半量を入れた後、検体を加え、その上に残り半量のドライアイスを加えた。また、予冷中は、約 30 秒毎に 5 秒間程度、容器を振り、よく混合した。

②粉砕機にドライアイス 100 g(粉砕機冷却用)を入れ、約 10 秒間運転し、粉砕機を冷却した。

③①で得られたドライアイス混合試料の約半量を粉砕機に入れ、10 秒間粉砕した。

④残りのドライアイス混合試料を粉砕機に加え、110 秒間粉砕した。

##### D. 凍結粉砕法(ドライアイス・予備凍結方式)

①カットした検体約 500 g をフリーザーバッグに入れた。これを冷凍庫(-30°C)で一晩静置し、凍結した。

②粉砕機にドライアイス 100 g(粉砕機冷却用)を入れ、約 10 秒間運転し、粉砕機を冷却した。

③①で得られた凍結試料の約半量を粉砕機に入れ、10 秒間粉砕した。

④残りの凍結試料及び試料重量の 0.5 倍量のドライアイス(約 250 g)を加え、110 秒間粉砕した。

## 6. 粒子径分布測定

調製した試料の粒子径分布をレーザ回折法により測定した。各方法で調製した試料約 5 mL をビーカー(100 mL 容)に採取し、分散媒液(水)を約 95 mL 加えてよく混合したものを測定試料とした。予め、サンプルバスを分散媒液で満たし、液を循環させてブランク測定を行った後、測定試料の一部を適正濃度になるまで投入して測定を行った。試料の希釈操作は 3 回行い、希釈ごとに測定を 1 回行った。屈折率は 1.65-0.01i を用いた。

## 7. 分析値のばらつきの検討

農薬が残留したぶどう(巨峰、種子なし)を A~D の各方法により試料調製した。得られた試料を量り採り(試料量 5、10 及び 20 g:各 5 個)、試験溶液を調製後、LC-MS/MS で測定し、分析値及びそのばらつきを求めた。

## 8. 試験溶液の調製

通知一斉試験法「LC/MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物)」に準じて以下のように調製した。

### (1) 抽出及び塩析

A~D の各方法で調製した試料(5、10 及び 20 g、各 5 個)を量り採り、アセトニトリル 50 mL を加え、約 1 分間ホモジナイズした後、ケイソウ土を約 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過した。残留物を採り、アセトニトリル 20 mL を加え、上記と同様に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 100 mL とした。

遠沈管(50 mL 容、PP 製)に、塩化ナトリウム 10 g 及びリン酸緩衝液 20 mL を入れた。これに抽出液(試料 0.2 g 相当: 試料量 5 g の場合は 4 mL、10 g の場合は 2 mL、20 g の場合は 1 mL)及びアセトニトリル(試料量 5 g の場合は 16 mL、10 g の場合は 18 mL、20 g の場合は 19 mL)を加え、10 分間振とう後、毎分 3000 回転で 5 分間遠心分離を行った。

### (2) 精製

(1)で得られたアセトニトリル層を採り、40°C以下で約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流により溶媒を除去し、残留物をアセトニトリル/トルエン(3:1)2 mL に溶解した。これを予めアセトニトリル/トルエン(3:1)10 mL でコンディショニングしたグラファイトカーボン/PSA 積層ミニカラム(500 mg/500 mg)に負荷した後、アセトニトリル/トルエン(3:1)20 mL で溶出した。全溶出液を 40°C以下で約 1 mL まで減圧濃縮後、窒素気流により溶媒を除去し、残留物をメタノール 1 mL に溶解したものを試験溶液(試料 0.2 g/mL)とした。

## C. 研究結果及び考察

凍結粉砕法による試料調製では、通常行われている常温磨砕法よりも均質な試料が得られると考えられている。しかしながら、各試料調製法による均質性を比較した報告は非常に少ない。そこで本研究では、検査部位が変更される 7 食品(みかん、びわ、もも、キウイ、すいか、まくわうり及びメロン)に加えて、常温磨砕法では均質化が困難とされているトマト、ぶどう及びパイナップルについて、3 種類の凍結粉砕法[液体窒素・凍結方式(B)、ドライアイス・予冷方式(C)及びドライアイス・予備凍結方式(D)]の操作手順を確立した後、試料の粉砕状況や分析値のばらつきを常温磨砕法(A)と比較することとした。なお、試料の均質性は、試料調製法



に加えて、使用する粉砕機、刃の形状、回転数、粉砕時間、検体量等によって大きく異なることから、本研究では以下の条件に統一して検討を行うこととした。

粉砕機： 残留農薬等の検査で汎用されている Robot Coupe BLIXER-3D(回転数 3000 rpm)

運転時間： 120 秒間

検体量： 500 g

## 1. 凍結粉砕法による試料調製の検討

### (1) 検体の大きさ

凍結粉砕法ではカットした検体を凍結した後、粉砕する。水分含量の多い果実等の食品では、凍結により検体が硬化するため、検体の大きさによっては粉砕が困難な場合がある。そこで、果実を対象とし、各試料調製法で磨砕/粉砕可能な検体の大きさについて検討した。その結果、常温磨砕法(A)では 4 cm 角以下の検体は磨砕可能であった。これに対し、凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式(D)では冷凍庫で凍結させた硬い検体を粉砕する必要があるため、3 cm 角以上では回転が停止する等粉砕が困難であった。凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式(D)で果実を粉砕する際は 2.5 cm 角以下が適切と考えられた。凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式(C)\*では、予冷操作で検体の表面は凍結するものの、内部は凍結しないため、3 cm 角程度の検体の粉砕が可能であった。また、凍結粉砕法 液体窒素・凍結方式(B)では、液体窒素により完全に凍結するものの、脆化(ひび割れ等)するため、3 cm 角程度の検体を粉砕することが可能であった。

以上のことから、果実の試料調製においては、常温磨砕法(A)では 4 cm 角以下、凍結粉砕法 液体窒素・凍結方式(B)及びドライアイス・予冷方式(C)では 3 cm 角以下、凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式(D)では 2.5 cm 角以下が適切と

考えられた。本研究では試料調製法間での試料の均質性を比較するため、いずれの方法においても約 2.5 cm 角にカットした検体を用いることとした。

\*粉砕前は半凍結状態であるが、ドライアイス存在下で粉砕中に凍結する。

### (2) 冷却剤量

#### ① ドライアイスを用いた凍結粉砕法(C及びD)

ドライアイスを用いた凍結粉砕法(C及びD)は、ドライアイスの存在下で粉砕する方法である。投入したドライアイスは粉砕中に昇華し、減少するが、粉砕中にドライアイスが不足した場合、試料温度が上昇し、試料が融解する恐れがある。一方、粉砕時にドライアイスが大過剰投入した場合、粉砕後にドライアイスが昇華させるのに時間を要することに加え、刃と試料が接触しにくくなることにより、試料の均質性の低下を招く。そこで、予冷方式(C)及び予備凍結方式(D)での適切なドライアイス量を検討した。その結果、予冷方式(C)では検体量の 1.1~1.2 倍量、予備凍結方式(D)では 0.5~0.6 倍量が適切と考えられた。本検討においては、予冷方式(C)は検体量の 1.1 倍量、予備凍結方式(D)は 0.5 倍量のドライアイスを用いることとした。また、これに加えて、予冷方式(C)、予備凍結方式(D)のいずれにおいても粉砕前にドライアイス 100 g を粉砕機に入れて約 10 秒間運転し、粉砕機を冷却することとした。なお、粉砕に必要なドライアイス量は、使用する粉砕機、粉砕時間、食品、検体量等によって異なるため、用いる粉砕条件で適切な量を検討する必要があると考えられる。

#### ② 液体窒素を用いた凍結粉砕法(B)

いずれの食品(500 g、2.5 cm 角)も液体窒素を 3~4 L 加えて 4 分間放置することにより、中心部まで完全に凍結した。また、液体窒素で凍結した検体は極めて低温となるため、液体窒素の非存在下で 120 秒間粉砕しても、粉砕直後の試料温度は-

70～-60℃となり、融解は認められなかった。これらの結果から、カットした検体を液体窒素 3～4 L で凍結した後、液体窒素の非存在下で粉砕することとした。なお、粉砕機の冷却のため、粉砕前に液体窒素を 200 mL 程度粉砕機に入れて約 5 秒間運転することとした。

## 2. 粉砕状況及び粒子径分布

果実 10 食品を A～D の各方法で試料調製し、得られた試料の粉砕状況を比較した。凍結粉砕法 (B～D) で得られた試料は、いずれの食品もパウダー状であり、均質であるように見受けられた。しかしながら、融解すると比較的大きい粒子も認められたことから、粉砕した試料を融解後、各方法で得られた試料を比較することとした。

### (1) 粉砕状況

①柔軟性のある果皮をもつ食品(トマト、ぶどう、みかん、びわ、もも)

常温磨砕法では均質化が難しいとされているトマトを試料調製した。その結果、常温磨砕法では 2 mm×2 mm 程度の果皮が多く見られた。一方、凍結粉砕法 (B～D) では 1 mm×1 mm 以上の果皮は認められなかった。凍結粉砕法 (B～D) で得られた試料を 1 mm の標準網ふるいに通したところ、ふるい上にはほとんど残らなかったが、常温磨砕法では観察されなかった種子が少量認められた。

トマトと同様に常温磨砕法では均質化が難しいとされているぶどう(巨峰、種子なし)の粉砕状況を図 3 に示した。常温磨砕法 (A) では 3 mm×3 mm 程度の果皮が多く残った。これに対し、凍結粉砕法 (B～D) では果皮も 1 mm×1 mm 以下に粉砕され、1 mm の標準網ふるい上にはほとんど残らなかった。

常温磨砕法においても、用いる装置によっては、ぶどうのような果皮を微細に磨砕することが可能と

推測された。そこで、Robot Coupe BLIXER-3D よりも高い回転数での運転が可能な GM200 を用いて常温磨砕し、粉砕状況を Robot Coupe BLIXER-3D と比較した。その結果、GM200 では果皮も 1 mm×1 mm 以下となり(図 2)、1 mm の標準網ふるいを通したところ、ふるい上にはほとんど残らなかった。この結果から、常温磨砕法では均質化が難しいとされているぶどうについても、粉砕機や粉砕条件によっては 1 mm×1 mm 以下の小さい粒子にすることが可能であることが示された。しかしながら、磨砕後の試料温度は Robot Coupe BLIXER-3D で 20℃、GM200 で 28℃となり、高回転数で運転すると試料温度が上昇することが確認された。揮散または熱分解しやすい農薬を分析する際は試料温度にも留意する必要があると考えられた。

みかんでは、常温磨砕法 (A) の方が凍結粉砕法 (B～D) よりも若干、果皮(外果皮、中果皮)と見られる粒子が多いようであった。凍結粉砕法間で比較すると、液体窒素を用いた凍結粉砕法 (B) の方が、ドライアイスを用いた凍結粉砕法 (C 及び D) よりも小さい粒子が多かった。

びわ及びももでは、A～D のいずれの方法でも種子を粉砕することはできなかった。このため、いずれも種子を除去した後、試料調製を行った。調製した試料を 1 mm の標準網ふるいに通したところ、いずれもふるい上にはほとんど残らなかった。各方法で得られた試料を比較したところ、液体窒素を用いた凍結粉砕法 (B) で大きい粒子が少ない傾向が見られた。

②硬い果皮及び種子をもつ食品(メロン、まくわうり、すいか)

メロンの粉砕状況を図 3 に示した。メロンは、トマトやぶどうとは異なり、常温磨砕法 (A) よりも凍結粉砕法 (B～D) において 1 mm×1 mm 以上の濃緑

色の果皮が多く見られた。また、種子についても凍結粉砕法(B~D)の方が常温磨砕法(A)よりも若干、大きい粒子が多かった。

まくわりでは、常温磨砕法(A)において1 mm×1 mm以上の濃黄色の果皮が多く見られた。これに対し、凍結粉砕法(B~D)では1 mm×1 mm以上の白色の種子が多く認められた。

すいかでは、ドライアイスを用いた凍結粉砕法(C及びD)において、種子や果皮(外果皮)の大きい粒子が多く認められた。また、常温磨砕法では1 mm×1 mm未満の果肉とみられる粒子が多く見られたのに対し、凍結粉砕法(B~D)で得られた試料はいずれも液状であり、肉眼では果肉の粒子は認められなかった。

③柔軟性のある果皮及び硬い種子をもつ食品(キウイ)

図4にキウイの粉砕状況を示した。常温磨砕法では1 mm×1 mm以上の茶色の果皮が多く見られたが、1 mm×1 mm以上の種子は認められなかった。これに対し、凍結粉砕法では1 mm×1 mm以上の果皮は認められず、1 mm×1 mm以上の種子が多く見られた。凍結粉砕法間で比較すると、液体窒素を用いた凍結粉砕法(B)よりもドライアイスを用いた凍結粉砕法(C及びD)の方が1 mm×1 mm以上の種子が多く見られた。

④その他の食品(パイナップル)

パイナップルでは、いずれの試料調製法でも1 mm×1 mm以上の果皮と見られる粒子が残り、試料調製法間で差異は認められなかった。

以上の結果から、ぶどう、トマト及びキウイ等の柔軟性のある果皮は、凍結粉砕法と比べ、常温磨砕法では均質化されにくいことが確認された。これらの果皮は、刃と接触しても切断されにくいためと考えられた。一方、硬い果皮(メロン及びすいか等)や種子(キウイ、すいか及びまくわり等)は、凍

結粉砕法では常温磨砕法と比べ、粉砕されにくいことがわかった。常温磨砕法では試料が液状となるものが多いが、凍結粉砕法では粉体であるため、流動性がやや低く、試料と刃が接触しにくいことが原因と考えられた。凍結粉砕法間(B~D)で比較すると、いずれの食品も液体窒素を用いた凍結粉砕法(B)の方が、ドライアイスを用いた凍結粉砕法(C及びD)よりも若干、粒子が小さい傾向が見られた。液体窒素を用いた凍結粉砕法(B)では、液体窒素によって脆化することに加え、ドライアイスを用いた凍結粉砕法(C及びD)とは異なり、冷却剤の非存在下で粉砕するため、刃と接触しやすく、小さい粒子に粉砕されやすいものと考えられた。

以上の結果から、食品によって均質化しやすい試料調製法は異なり、必ずしも凍結粉砕法の方が均質化しやすいとは言えないことが示された。

### 3. 分析値のばらつき

試料調製法による試料の均質性の違いを評価するため、農薬が残留した試料を用いて分析値のばらつきを比較した。予備検討により、アセタミプリド、イミダクロプリド、テブコナゾール及びフルジオキソニルが残留していることを確認したぶどう(巨峰、種子なし)をA~Dの各方法により試料調製し、得られた試料を5、10及び20 g(各5個)量り採り、B. 研究方法の『8. 試験溶液の調製』に従って試験溶液を調製後、LC-MS/MSで測定して分析値及びそのばらつきを求めた。その結果、分析に供する試料量を20 gとした場合、試料調製法間で分析値のばらつきに大きな差は認められず、いずれもRSD 11%以下であった(図7、表4)。分析に供する試料量を5 gとした場合においても、アセタミプリド及びイミダクロプリドは、試料調製法間で分析値のばらつきに大きな差は認められず、いずれもRSD 9%以下であった。テブコナゾール及びフル

ジオキソニルについても、凍結粉砕法(B~D)ではRSD 10%以下であった。しかしながら、常温磨砕法(A)ではテブコナゾールはRSD 17%、フルジオキソニルはRSD 20%となり、凍結粉砕法と比較してばらつきが大きかった。アセタミプリド及びイミダクロプリドは $\log P_{ow}$ がそれぞれ0.8及び0.57と比較的極性が高く、水溶性が高い(水溶解度はそれぞれ4.25及び0.61 g/L)のに対し、テブコナゾール及びフルジオキソニルは $\log P_{ow}$ がそれぞれ3.7及び4.12と極性が低く、水溶性が低い(水溶解度はそれぞれ0.036及び0.0018 g/L)ため、果皮に残留しやすい可能性がある。図1に示したように凍結粉砕法では1 mm×1 mm以上の粒子がほとんど認められなかったのに対し、常温磨砕法では3 mm×3 mm以上の果皮が多く見られたことから、常温磨砕法では果皮の均質性が低く、果皮に多く残留していた農薬の分析値のばらつきが大きくなったものと考えられた。これらの結果から、試料の均質性が低い場合、分析に供する試料量が少量であると、農薬の分布によっては分析値のばらつきが大きくなること示された。

本検討においては、常温磨砕法では均質化が難しいとされているぶどうを用いたが、前述のように、常温磨砕法よりも凍結粉砕法の方が大きい粒子が残る場合もあることから、他の食品でも検討が必要と考えられた。

#### 4. 留意事項の検討

凍結粉砕法を行う上での主な懸念点として、1) 試料への冷却剤の残存、2) 結露や吸湿による試料中の水分含量の増加、3) (ドライアイスを用いた凍結粉砕法では)ドライアイス由来の二酸化炭素による試料pHの変化が挙げられる。そこで本研究ではこれら3点について検討した。

##### 1) 試料への冷却剤の残存

###### ①ドライアイスを用いた凍結粉砕法

ドライアイスを用いた凍結粉砕法で試料調製を行うと、粉砕直後の試料中にはドライアイスが残存している。試料採取時にドライアイスが大量に残存していた場合、正確に試料を秤量することができない。そこで、試料中のドライアイスが昇華したかどうかを判断する方法を検討することとした。粉砕後の試料の温度は、ドライアイスの残存量が減少すると上昇することから、試料温度を判断指標として用いることができるか検討した。キウイを用いてドライアイス・予冷方式(C)で凍結粉砕し、残存するドライアイスの割合と試料温度の関係を調べた。その結果、試料中のドライアイスの残存割合が2%以上の場合、試料温度は-79~-78°Cとなった(図8)。一方、2%未満の場合は、ドライアイスの割合が低くなるほど、試料温度が上昇し、1%では約-60°Cとなった。ドライアイスの残存割合が1%未満であれば、ドライアイスの残存に伴う試料の秤量誤差が分析値へ及ぼす影響はほとんどないものと考えられる。図8の結果から、-50°C以上の時、ドライアイスの残存割合は常に0.6%以下であったことから、「試料温度-50°C以上」を分析値への影響がほとんどない量までドライアイスが昇華したことを示す判断指標とすることができると考えられた。なお、試料温度が-50°C未満となり、ドライアイスが昇華させる必要がある場合は、粉砕機で追加粉砕するか、冷凍庫内で静置するのが良いと考えられた。

###### ②液体窒素を用いた凍結粉砕法

本検討で確立した方法は、カットした検体を液体窒素で凍結後、凍結した検体のみを粉砕機に入れて粉砕する方法である。液体窒素の非存在下で粉砕するため、試料中に液体窒素は残存せず、粉砕直後に試料を採取しても問題はないと考えられる。

##### 2) 吸湿・結露の影響

凍結粉砕法では、粉砕機及び試料を低温に保

ちながら粉碎を行うため、空気中の水分による試料の吸湿の可能性がある。また、空気中の水分はドライアイス自身にも結露すると考えられており、ドライアイスによる水分の持ち込みの可能性も指摘されている。そこで、水分含量の高いキウイと低い大豆及びごまの種子(洗いごま及びいりごま)を A～D の各方法で試料調製し、得られた試料の水分含量を比較した。その結果、凍結粉碎法(B～D)ではいずれの食品においても常温粉碎法と比較して 0.1～1% 高値を示した(表 5)。調製直後の試料温度を測定したところ、常温粉碎法ではキウイで 19℃であったのに対し、水分含量の低い食品では大豆:46℃、洗いごま:53℃、いりごま:59℃と粉碎時に発熱が見られた(表 6)。一方、凍結粉碎法では、いずれの食品も液体窒素を用いた凍結粉碎法(B):-69～-38℃、ドライアイスを用いた凍結粉碎法(C 及び D):-79～-78℃と低温であった。これらの結果から、常温磨砕法よりも凍結粉碎法の方が水分含量が高値を示した原因として、①凍結粉碎法での吸湿、持ち込みの他に、②水分含量の低い食品では常温粉碎時に発生する熱による試料中水分の気化の可能性が考えられた。しかしながら、常温磨砕法と凍結粉碎法の水分含量の差は 2% 未満であることから、水分含量の変化による分析値への影響はほとんどないと考えられた。

### 3) ドライアイスを用いた凍結粉碎法における試料 pH への影響

ドライアイスを用いた凍結粉碎法では、試料調製の過程でドライアイス由来の二酸化炭素が試料に溶解し、試料の pH が低下する可能性が指摘されている。そこで、A～D の各方法で調製した試料の pH を測定し、比較した。その結果、いずれの食品においても凍結粉碎法(B～D)で得られた試料と常温磨砕法(A)で得られた試料の pH の差は±0.3 以内であり、ドライアイス由来の二酸化炭素によ

る試料の pH 変化はほとんどないことが示された(図 9)。

## 5. 果実を対象とした凍結粉碎法による試料調製の操作手順及び留意事項

Robot Coupe BLIXER-3D を使用して、果実 500 g を凍結粉碎法により試料調製する際の操作手順例とその留意事項を以下にまとめた。

### (1) 液体窒素を用いた凍結粉碎法

①ステンレスビーカーに液体窒素を約 2 L 入れ、カットした検体<sup>1</sup> 500 g を加える。

②①の液体窒素が 500 mL 程度となったら、液体窒素をさらに 1～2 L 加え、合計 4 分間程度冷却する<sup>2,3</sup>。

③液体窒素を 200 mL 程度粉碎機に入れ<sup>4,5</sup>、約 5 秒間運転し、粉碎機を冷却する。

④②で得られた凍結試料の約半量を粉碎機に入れ<sup>6</sup>、10 秒間粉碎する。

⑤残りの凍結試料を粉碎機に加え、110 秒間粉碎する。

<sup>1</sup> 3 cm 角程度にカットするとよい。

<sup>2</sup> 凍結していない場合は液体窒素を少量加えてさらに冷却する。

<sup>3</sup> 残った液体窒素は気化させる。

<sup>4</sup> プラスチック製の部品には液体窒素が触れないように注意する。

<sup>5</sup> ②で残った液体窒素を用いてもよい。

<sup>6</sup> 凍結試料のみを粉碎機に入れる。粉碎機に液体窒素を大量に加えて運転すると、粉碎機から試料が噴き出す恐れがある。

### (2) ドライアイスを用いた凍結粉碎法 I (予冷方式)

①カットした検体<sup>1</sup> 500 g 及び検体重量の 1.1 倍量のドライアイス(550 g)<sup>2</sup>を混合し<sup>3</sup>、3 分間予冷する。

②粉碎機にドライアイス 100 g(粉碎機冷却用)を入

れ、約 10 秒間運転し、粉砕機を冷却する。

③①で得られたドライアイス混合試料の約半量を粉砕機に入れ、10 秒間粉砕する。

④残りのドライアイス混合試料を粉砕機に加え、110 秒間粉砕する<sup>4</sup>。

<sup>1</sup> 3 cm 角程度にカットするとよい。

<sup>2</sup> 必要なドライアイス量は、使用する粉砕機、粉砕時間、食品、検体量等によって異なるため、適切なドライアイス量を検討する必要がある。

<sup>3</sup> 容器に入れて予冷する場合は、用いるドライアイスの約半量を容器に入れた後、カットした検体を加え、さらにその上に残りのドライアイスを加えて、軽く蓋を被せるとよい。また、検体とドライアイスがよく混合するように、予冷中は約 30 秒毎に 5 秒間程度、容器を振るとよい。なお、容器は密閉しないこと。

<sup>4</sup> 試料を採取する際、ドライアイスの残存量が多いと正確に秤量できない。試料温度が $-50^{\circ}\text{C}$ 未満の場合、ドライアイスが試料重量の 1%以上残存している可能性があるため、粉砕機で追加粉砕するか、冷凍庫内で静置することにより、ドライアイス昇華させる。なお、ドライアイスは昇華すると体積が増大するため、残存している可能性がある場合は、容器を密閉しないこと。

(3)ドライアイスを用いた凍結粉砕法 II(予備凍結方式)

①カットした検体 1500 g をフリーザーバッグに入れ、冷凍庫内で一晩静置し、凍結する。

②粉砕機にドライアイス 100 g(粉砕機冷却用)を入れ、約 10 秒間運転し、粉砕機を冷却する。

③①で得られた凍結試料の約半量を粉砕機に入れ、10 秒間粉砕する。

④残りの凍結試料及び試料重量の 0.5 倍量のドライアイス(250 g)<sup>2</sup>を加え、110 秒間粉砕する<sup>3</sup>。

<sup>1</sup> 凍結すると硬化するため、2.5 cm 角以下にカットするとよい。

<sup>2</sup> 必要なドライアイス量は、使用する粉砕機、粉砕時間、食品、検体量等によって異なるため、適切なドライアイス量を検討する必要がある。

<sup>3</sup> 試料を採取する際、ドライアイスの残存量が多いと正確に秤量できない。試料温度が $-50^{\circ}\text{C}$ 未満の場合、ドライアイスが試料重量の 1%以上残存している可能性があるため、粉砕機で追加粉砕するか、冷凍庫内で静置することにより、ドライアイス昇華させる。なお、ドライアイスは昇華すると体積が増大するため、残存している可能性がある場合は、容器を密閉しないこと。

(4)その他の留意事項

①試料調製は実験室を適宜換気して行うこと。ドラフト内で行うのが望ましい。

②液体窒素またはドライアイスを使用する際は、凍傷に注意すること。

③粉砕機の容器、カッター刃、カッター刃のシャフト等はステンレス製を用いるのが望ましい。プラスチック製の部品は粉砕中に破損し、異物混入の原因となる恐れがある。

④ブロック状やペレット状のドライアイスは、水等の添加剤や異物が含まれている場合があるため、留意すること。

## D. 結論

検査部位が変更される果実を含めた 10 食品について、通常の常温磨砕法よりも均質な試料が得られる可能性が高い凍結粉砕法を用いた試料調製を検討した。凍結粉砕法の操作手順を確立した後、試料の粉砕状況を常温磨砕法と比較した。その結果、食品によって均質化しやすい試料調製法は異なり、必ずしも凍結粉砕法の方が均質化しやすいとは言えないことが示された。また、農薬が

残留した食品を用いて分析値のばらつきを求めた結果、均質性が低い場合、少量の試料を分析に供すると農薬の分布によってはばらつきが大きくなることが示された。これらの結果から、食品によって適切な試料調製法を選択するのが望ましいと考えられた。

#### **E. 研究発表**

##### **1. 論文発表**

なし

##### **2. 学会発表**

なし

#### **F. 知的財産権の出願・登録状況**

なし

表 1 保持時間及びMS条件

	保持時間 (分)	イオン化 モード	定量イオン ( $m/z$ )		EP (V)	CE (eV)	CXP (V)	定性イオン ( $m/z$ )		EP (V)	CE (eV)	CXP (V)
			プリカーサー イオン	プロダクト イオン				プリカーサー イオン	プロダクト イオン			
アセタミプリド	5.6	ESI (+)	223.0	126.0	10	27	10	223.0	90.0	10	49	10
イミダクロプリド	5.0	ESI (+)	256.0	209.0	10	21	10	256.0	175.0	10	25	10
テブコナゾール	9.6	ESI (+)	308.2	70.1	10	58	15	308.1	125.0	10	51	6
フルジオキシニル	8.9	ESI (-)	247.1	180.1	-10	-38	-19	247.1	126.0	-10	-40	-11



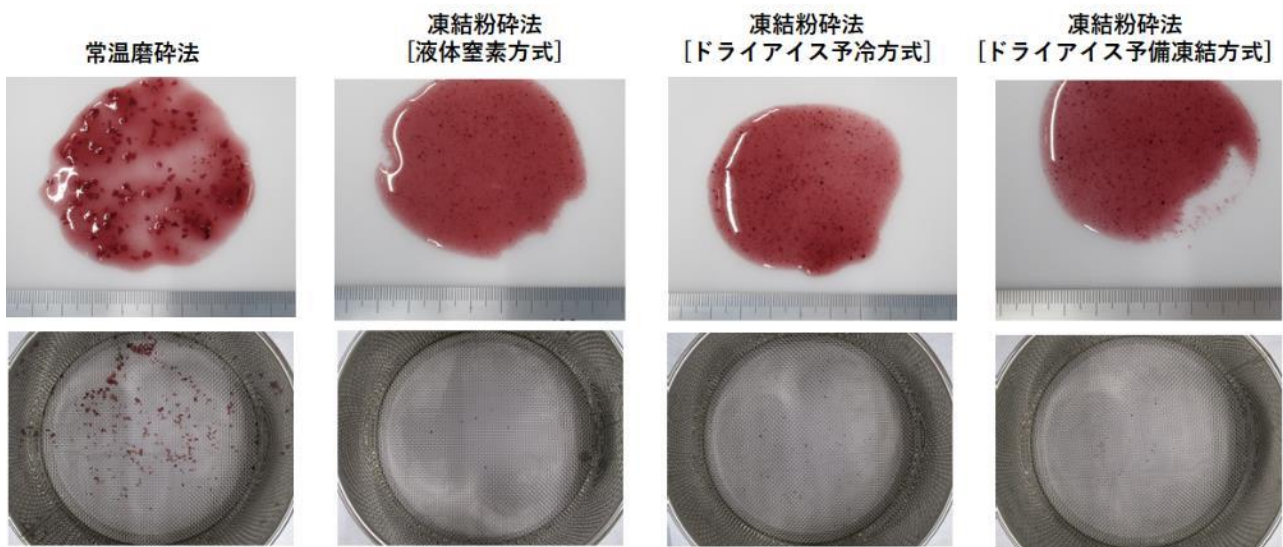


図1 粉砕状況

試料: ぶどう

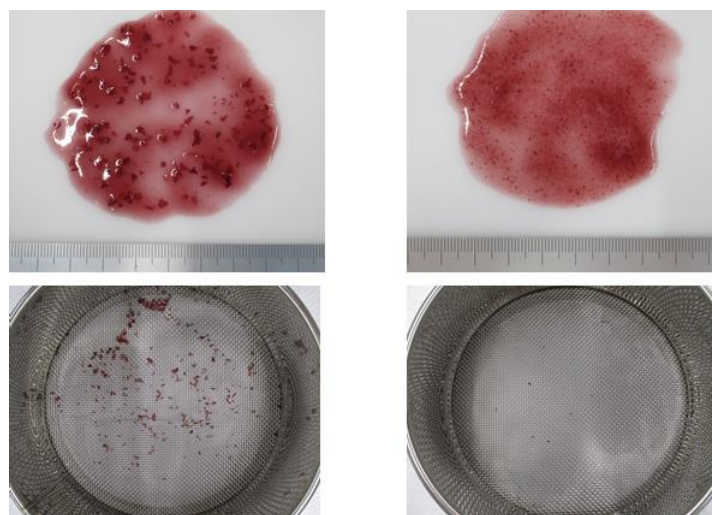


図2 粉砕状況

試料: ぶどう(巨峰、種子なし)

左: Robot Coupe Blixer 3D (3000 rpm で 120 秒間磨砕、検体量 500 g)

右: GM200 (3500 rpm 10 秒間磨砕後、7000 rpm で 110 秒間磨砕、検体量 250 g)

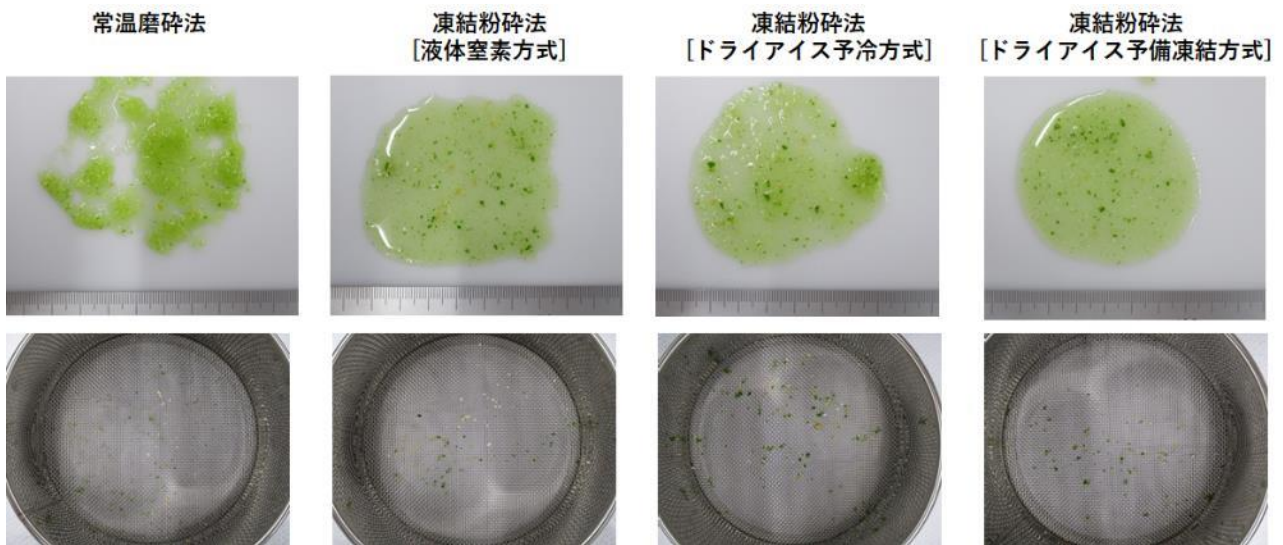


図 3 粉砕状況

試料: メロン

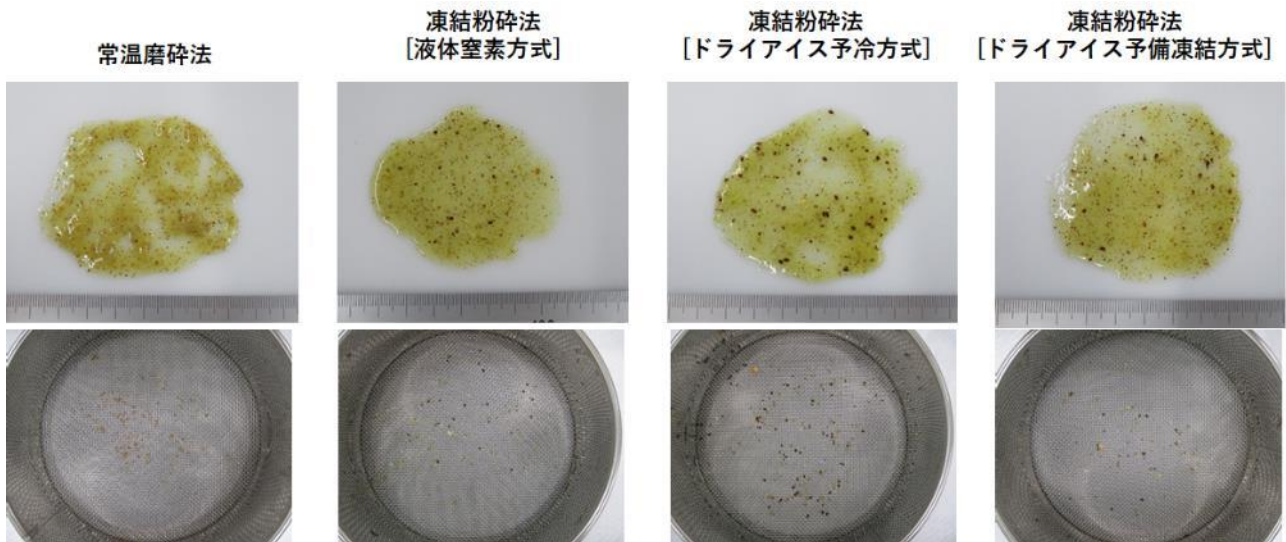


図 4 粉砕状況

試料: キウイー

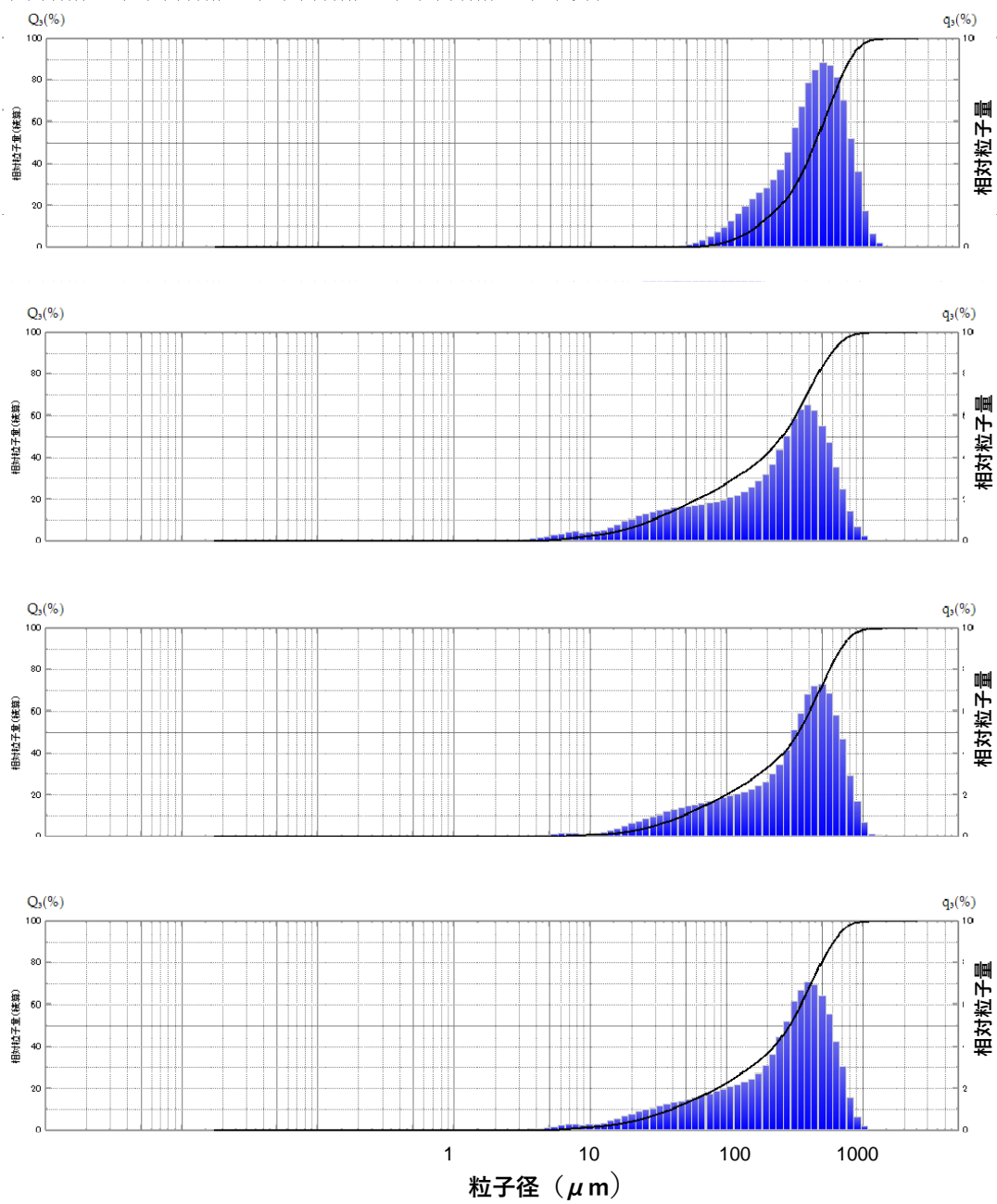


図5 各試料調製法で得られたぶどう試料の粒子径分布

上から A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式

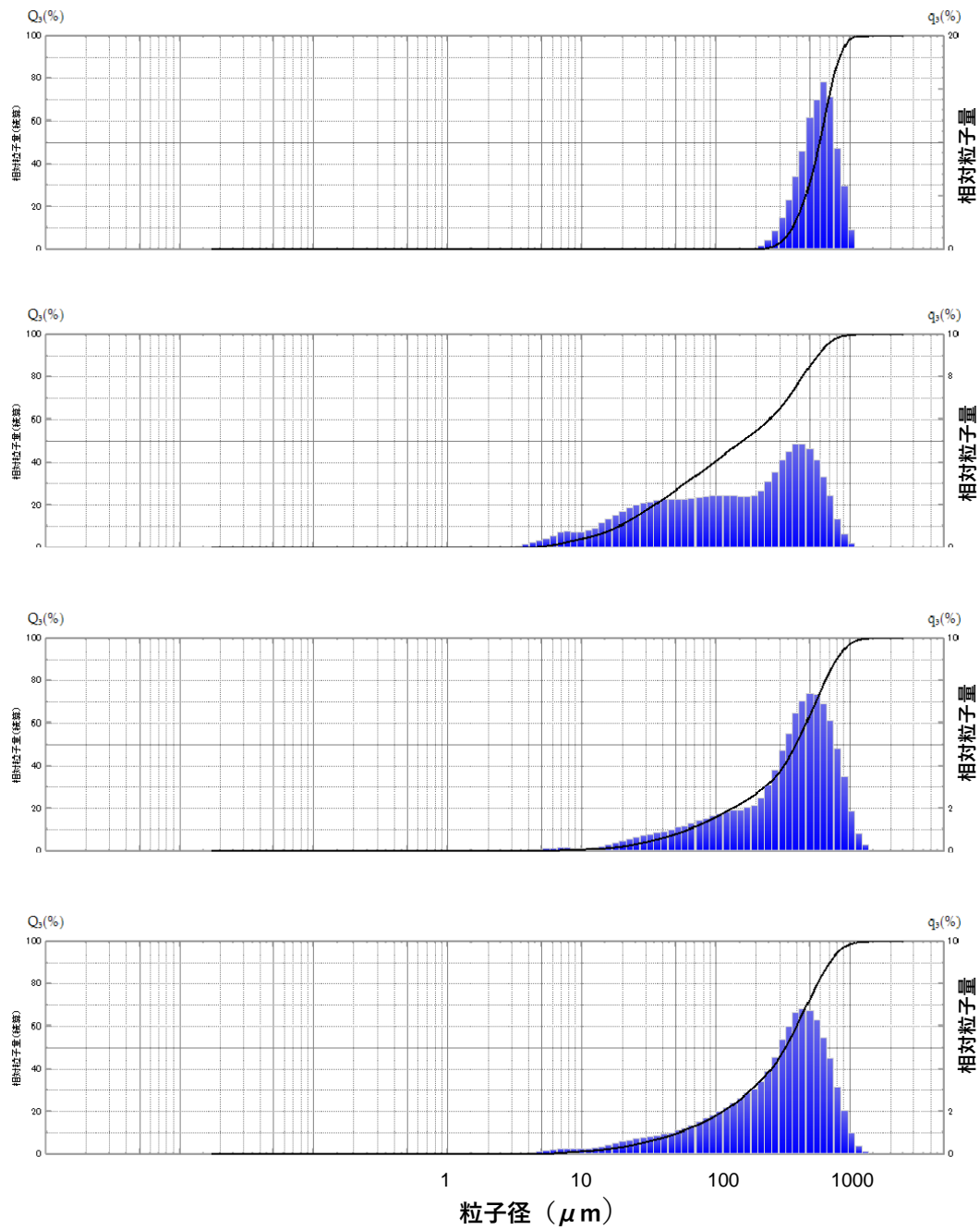


図 6 各試料調製法で得られたすいか試料の粒子径分布

上から A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式

表 2 各試料調製法で得られたぶどう試料の平均径、10%径、50%径、90%径及びスパン

	粒度分布 (μm)				粒子径分布幅
	平均径	10%径	50%径	90%径	スパン
常温磨砕	386	156	430	780	1.45
凍結粉砕 液体窒素方式	167	26	245	575	2.24
凍結粉砕 ドライアイス・予冷方式	233	44	327	688	1.97
凍結粉砕 ドライアイス・予備凍結方式	193	35	274	591	2.03

n=3、平均値

スパン=(90%径-10%径)/50%径

表 3 各試料調製法で得られたすいか試料の平均径、10%径、50%径、90%径及びスパン

	粒度分布 (μm)				粒子径分布幅
	平均径	10%径	50%径	90%径	スパン
常温磨砕	566	369	584	844	0.81
凍結粉砕 液体窒素方式	117	18	144	547	3.69
凍結粉砕 ドライアイス・予冷方式	263	53	362	757	1.95
凍結粉砕 ドライアイス・予備凍結方式	234	48	315	699	2.07

n=3、平均値

スパン=(90%径-10%径)/50%径

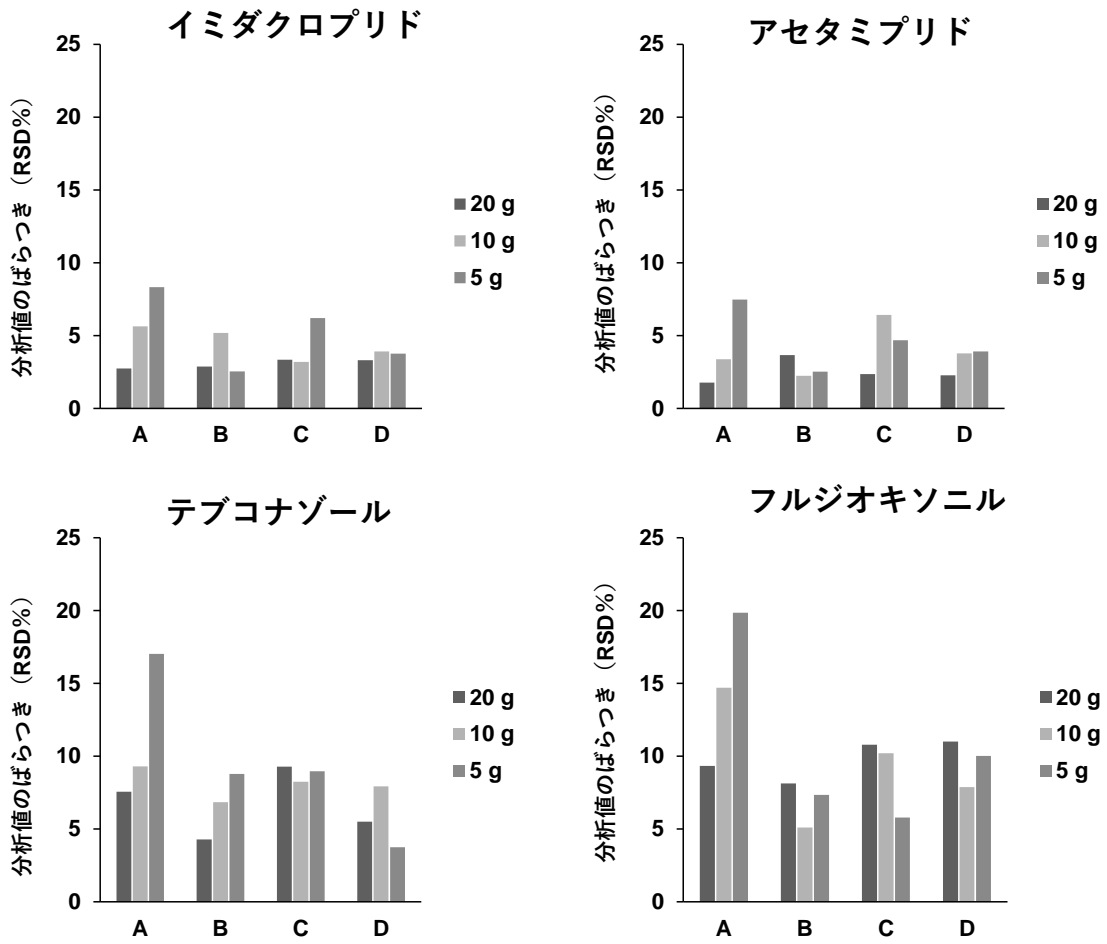


図7 分析値のばらつき

A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式

表 4 各試料調製法で得られた分析値（平均値、ppb）

	試料調製法			
	A	B	C	D
イミダクロプリド	46	52	58	60
アセタミプリド	1.0	1.4	1.4	1.4
フルジオキシニル	24	17	22	20
テブコナゾール	134	125	157	140

A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式

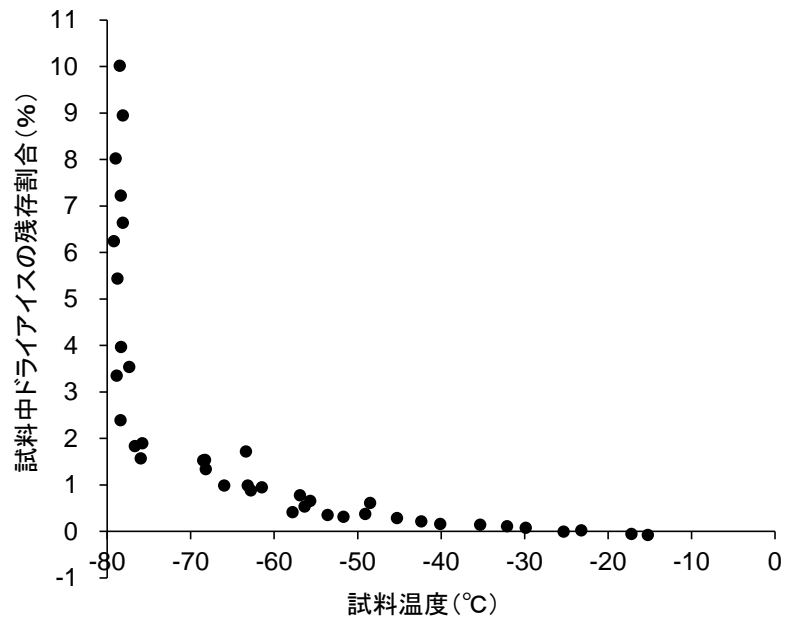


図 8 試料中に残存するドライアイスの割合と試料温度の関係

試料: キウイ

残存ドライアイス重量 = 粉碎後の容器、試料、ドライアイスの総重量 - (空の粉碎容器重量 + 試料重量)

試料中ドライアイスの残存割合 (%) = 残存ドライアイス重量 / (試料重量 + 残存ドライアイス重量) × 100



表 5 各試料調製法で得られた試料の水分含量(%)

	キウイ		大豆		洗いごま		いりごま	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
常温磨砕法	82.38	0.07	12.80	0.08	3.72	0.11	0.73	0.09
凍結粉砕法 液体窒素・凍結方式	82.71	0.12	13.12	0.04	4.54	0.05	1.57	0.16
凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式	82.68	0.10	13.15	0.05	4.76	0.06	1.55	0.13
凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式	82.47	0.04	12.95	0.05	4.58	0.03	1.34	0.03

n=3

表 6 粉砕直後の試料温度(°C)

	試料調製法			
	A	B	C	D
キウイ	19	-69	-78	-78
大豆	46	-38	-78	-78
洗いごま	53	-48	-79	-78
いりごま	59	-43	-79	-79

室温 21~23°C、湿度 52~58%

A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式

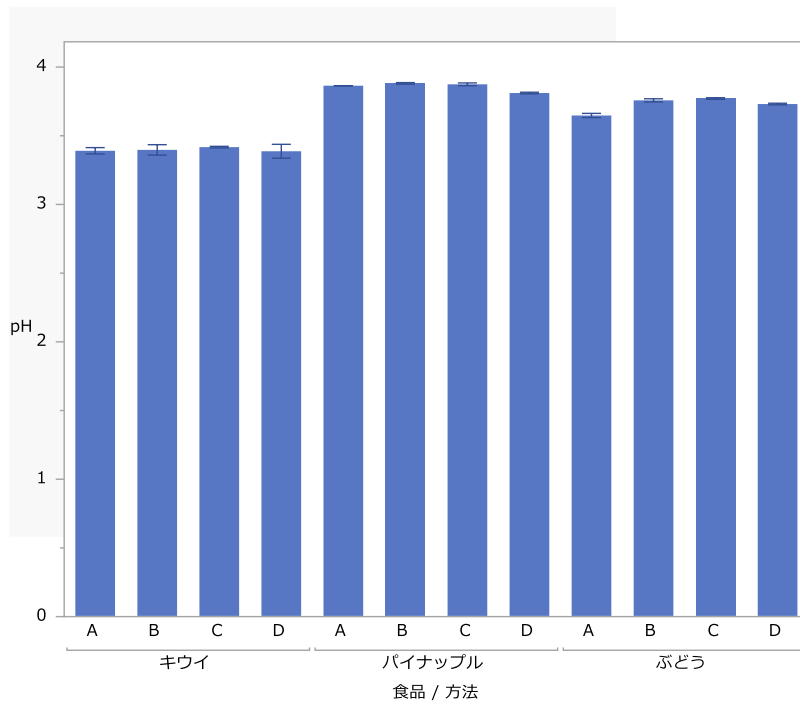


図 9-1 各試料調製法で得られた試料の pH

pH 3~4 の食品(キウイ、パイナップル、ぶどう)

A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式

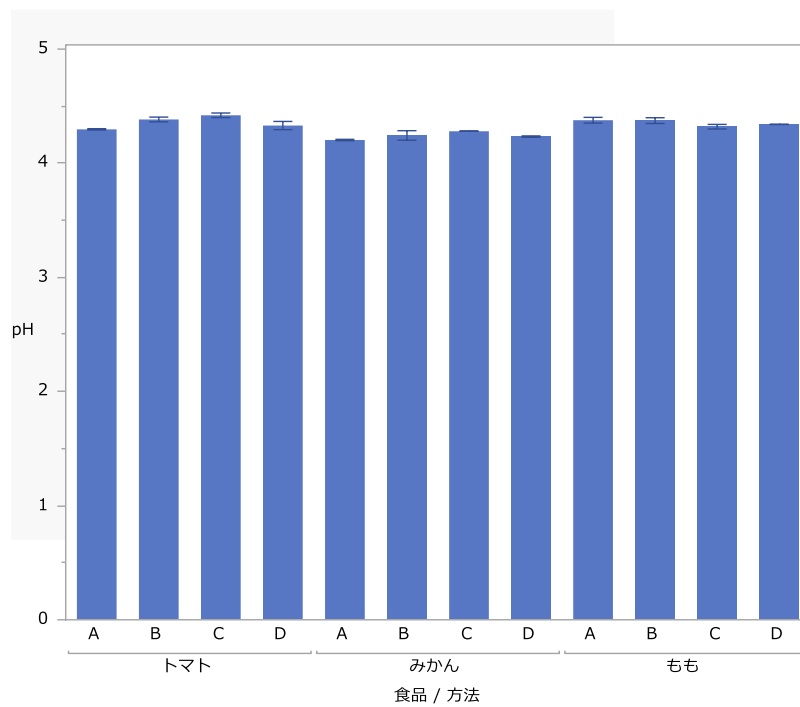


図 9-2 各試料調製法で得られた試料の pH

pH 4~5 の食品(トマト、みかん、もも)

A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライアイス・予備凍結方式

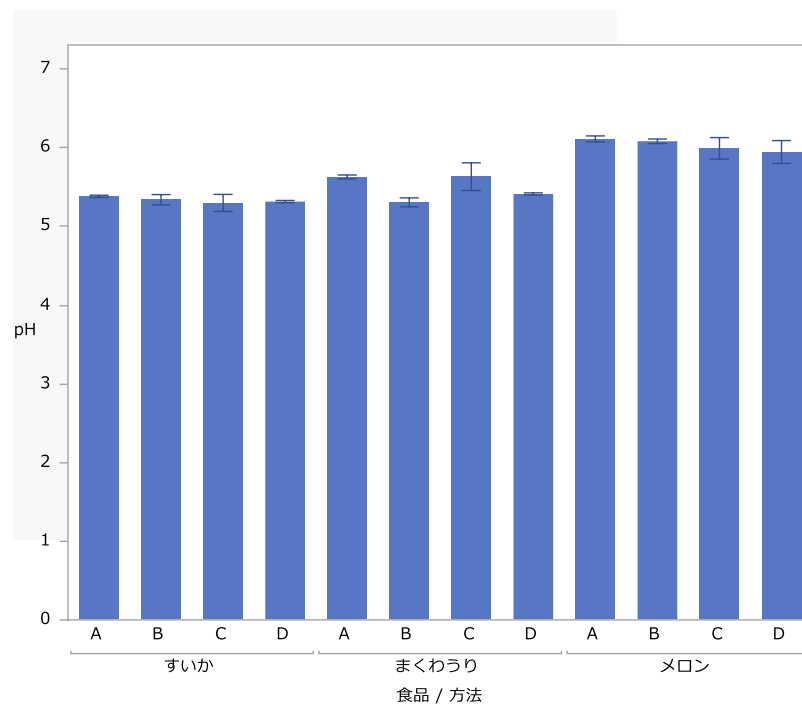


図 9-3 各試料調製法で得られた試料の pH

pH 5 以上の食品(すいか、まくわうり、メロン)

A. 常温磨砕法、B. 凍結粉砕法 液体窒素方式、C. 凍結粉砕法 ドライアイス・予冷方式、D. 凍結粉砕法 ドライア

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

なし

雑誌

なし

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

次の職員の令和3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 食品や環境からの農薬等の摂取量の推計と国際標準を導入するための研究

3. 研究者名 (所属部局・職名) 食品部 部室長

(氏名・フリガナ) 鈴木 美成 ・スズキ ヨシナリ

## 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)
人を対象とする生命科学・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"/>
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"/>
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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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

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

次の職員の令和3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 食品や環境からの農薬等の摂取量の推計と国際標準を導入するための研究

3. 研究者名 (所属部局・職名) 食品部 部室長

(氏名・フリガナ) 根本 了 ・ネモト サトル

## 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)
人を対象とする生命科学・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"/>
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"/>
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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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

機関名 早稲田大学

所属研究機関長 職名 総長

氏名 田中 愛治

次の職員の令和3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 食品や環境からの農薬等の摂取量の推計と国際標準を導入するための研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 早稲田大学 理工学術院・教授

(氏名・フリガナ) 大河内 博・オオコウチ ヒロシ

## 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)
人を対象とする生命科学・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"/>
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"/>
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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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。