I. 総括研究報告

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）
2019 年度 総括研究報告書

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（0.80%），ヘプタクロル（0.52%）、メタミドホス（0.35%），クロルピリホス（0.32%）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

昨年度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。地方においては調査したすべての農薬が検出せず、都市部においてはフェニトロチオンとアセフェートが検出された。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。

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

食品を介して摂取する農薬の量をより精緻に推定するために、未検出（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、ベイズ推定(BE)法を用いて推定したところ、ND に LOQ の 0.2 倍の値を代入して推定した 1 日農薬摂取量の平均値と比較すると、BE 法による推定値の方が低かったのは、クロチアニジンのみであった。また、BE 法によるクロチアニジン、チアクロプリド、ノバルロンの 1 日農薬摂取量の平均値は、最尤推定（MLE）法よりも低かった。また、インドキサカルブ、クロルピリホス、ビフェントリンの 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。一方で、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、BE 法と MLE 法との推定値の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が知られていることから、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。

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

令和2年度(2020年度)は、検査部位の変更が残留農薬等の分析結果に及ぼす影響について検討した。すなわち、みかん、すいか、びわを検討対象食品として、これら食品の検査部位変更前後の試料を調製した。検討対象農薬等39化合物を調製した試料に添加し、「LC/MS による農薬等の一斉試験法 I（農産物）」を用いて試験溶液を調製した。調製した試験溶液を LC-MS/MS で測定し、添加した各農薬等の回収率を求めた。検査部位変更前後の調製試料における回収率を比較し、検査部位の変更が農薬等の分析結果に及ぼす影響について検討した。

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)
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)
岡本悠佑（国立医薬品食品衛生研究所
食品部研究官）
川嶋文人 (愛媛大学)
青柳光敏 (北海道北海道立衛生研究所)
柿本洋一郎 (北海道北海道立衛生研究所)
伊藤 功一 (秋田市保健所)
林 孝子 (神奈川県衛生研究所)
中島 安基江 (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)

A. 研究目的

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ットスタディー (TD) 試料を用いた評価研究を行った。

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) において空気中農薬の分析を行った。

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。切り捨て (truncated) られた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はわかってる点である。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、昨年度および今年度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法との相違について評価した。

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。そのため、検査部位の変更の影響の有無や程度を明らかにするとともに対処法について提案する必要がある。

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、検査部位変更前後の試料を調製し、調製試料の状態や添加回収試験結果等を比較することにより、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 2 年度（2020 年度）は、検査部位変更前後の試料を用いて添加回収試験を行い、得られた結果を比較することにより、検査部位の変更が

分析結果に及ぼす影響について検討した。

B. 研究方法

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、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。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。

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、吸引速度 3 L/min で 6～24 時間捕集した。LC-MS/MS あるいは GC-MS/MS で分析し

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

2019 年および 2020 年に本研究班で行ったトータルダイエットスタディー調査による、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。

打ち切りとなったレコードには累積確率関数 $F(L,U|\theta) = P(L \le Y \le U|\theta)$ 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。

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

ここで、N_{obs} は定量値が得られたサンプル数、N_{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。子の尤度関数を最尤推定法及びベイズ推定法を用いて解析を行った。

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。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。

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検討対象食品

検討対象食品として、検査部位が変更される食品のうち、みかん、びわ及びすいかを選択した。

②試料調製

試料調製機はBraun社製Multiquick 7を用いた。検査部位変更前後の検討対象食品をそれぞれ試料調製機で均質化した。

③検討対象農薬等

検討対象農薬等は、検査部位が変更される食品（キウィー、すいか、みかん、もも、びわ、まくわうり、メロン類果実）に共通して基準値が設定されている農薬等のうち、「LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ（農産物）」の別表1に記載された39化合物を選択した。なお、これら化合物のうち、代謝物や関連化合物など、親化合物以外の化合物も規制対象に含まれているが、本研究では親化合物のみを対象として検討を実施した。

④添加回収試験

みかん、びわ及びすいかについて、検査部位変更前後の試料を調製した。調製した試料に検討対象化合物を添加、撹拌し、室温で30分間放置したものを添加試料とした。添加試料を「LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ（農産物）」に従って操作し、試験溶液を調製した。

得られた試験溶液をLC-MS/MSに注入し、各検討対象農薬等のピーク面積値を求めた。得られたピーク面積値から、絶対検量線法により各検討対象化合物の回収率を求めた。

⑤装置及び測定条件

以下に、本研究で使用した装置及び測定条件を示した。

・LC装置及び測定条件

高速液体クロマトグラフ：Nexera X2（島津製作所製）

分析カラム：XTERRA MS C18（内径2.1 mm、長さ150 mm、粒子径3 μm、Waters製）

カラム温度：40℃

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）

グラジエント条件（t：時間（分））

t_0, B=15%；t_1, B=40%；$t_{3.5}$, B=40%；t_6, B=50%；t_8, B=55%；$t_{17.5}$, B=95%；t_{35}, B=95%

流速：0.2 mL/分

注入量：5 μL

・質量分析装置及び測定条件

タンデム型質量分析計：LCMS-8060

イオン化モード：ESI（＋）及びESI（－）

インターフェイス電圧：4.0 kV（ESI（＋））及び-3.0 kV（ESI（－））

インターフェイス温度：300℃

DL温度：250℃

ネブライザーガス：3 L/min

ドライイングガス：10 L/min

ヒーティングガス：10 L/min

ヒートブロック温度：400℃

コリジョンガス：アルゴン（270 kPa）

C．研究結果及び考察

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: 0.099 μg person^{-1} day^{-1}, γ-BHC: 0.021 μg person^{-1} day^{-1}, アセタミプリド(代謝物含む): 0.841 μg person^{-1} day^{-1}, アセフェート: 0.260 μg person^{-1} day^{-1}, イミダクロプリド: 0.449 μg person^{-1} day^{-1}, インドキサカルブ: 0.005 μg person^{-1} day^{-1}, クロチアニジン: 0.521 μg person^{-1} day^{-1}, クロルピリホス: 0.175 μg person^{-1} day^{-1}, ジノテフラン: 6.73μg person^{-1} day^{-1}, スル

ホキサフロル: 0.028μg $person^{-1}$ day^{-1}, チアクロプリド: 0.744 μg $person^{-1}$ day^{-1}, チアメトキサム: 0.467 μg $person^{-1}$ day^{-1}, テフルトリン: 0.083 μg $person^{-1}$ day^{-1}, ニテンピラム: 0.491 μg $person^{-1}$ day^{-1}, ノバルロン: 0.067 μg $person^{-1}$ day^{-1}, ハルフェンブロック: 0.083 μg $person^{-1}$ day^{-1}, ビフェントリン: 0.164 μg $person^{-1}$ day^{-1}, ピリダベン: 0.165 μg $person^{-1}$ day^{-1}, フェニトロチオン: 0.195 μg $person^{-1}$ day^{-1}, ブプロフェジン: 0.074 μg $person^{-1}$ day^{-1}, フルアジホップブチル(代謝物含む): 0.144 μg $person^{-1}$ day^{-1}, フルベンジアミド: 0.149 μg $person^{-1}$ day^{-1}, ヘキサジノン: 0.006 μg $person^{-1}$ day^{-1}, ヘプタクロル (異性体含む): 0.034 μg $person^{-1}$ day^{-1}, ボスカリド: 2.15 μg $person^{-1}$ day^{-1}, メタミドホス: 0.115 μg $person^{-1}$ day^{-1}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 (0.80%), ヘプタクロル (0.52%), メタミドホス (0.35%), クロルピリホス (0.32%) であった。

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実地での添加回収試験と測定系構築

昨年度の空気中農薬の測定系の構築においては添加回収試験を実験室内にて行い、いずれの農薬においても良好な回収率が得られることを確認した。そこで本年度は検討の開始にあたり測定予定の 3 つのサンプリング地点のうち、建物近傍において添加回収試験を行ない、本測定系の実地での性能評価を行った。石英フィルター上に1 mg/L 混合標準液0.1 mLを添加し、1 時間放置することで溶媒を除去し農薬を石英フィルター上に保持させた。前段に対象化合物を添加後の石英フィルター、後段にエムポアディスクを配置し、実地にて空気を吸引速度 1～3 L/min で 6 時間捕集した。その後、前述のアセトン抽出ならびに測定試料調製方法により試料を調製し各装置にて分析を行った。

初めに、前段に対象化合物を添加後の石英フィルター1枚、後段にエムポアディスク1枚を配置し、実地にて空気を吸引速度 3L/min で 6 時間、合計 1.08 m^3の空気を捕集した。フィルターから農薬を抽出し各農薬の回収率を解析した。LC-MS/MS 対象農薬の測定結果ならびにGC-MS 対象農薬の測定結果を表3、表4に示す。LC-MS/MS 対象農薬ではクロルピリホス、メタミドホス、ピリダベン、ビフェントリンが、GC-MS 対象農薬ではヘプタクロル、ヘプタクロルエポキシド A において回収率が低い傾向がみられた。後段のエムポアディスクで十分なトラップができていない可能性、あるいは、対象農薬が光により分解している可能性が考えられたため、空気流量を2L/minで6時間の捕集とし、サンプリング時に遮光をして添加回収試験を行った。ピリダベンにおいては遮光したことにより回収率の向上がみられたが、その他の 5 農薬においては改善効果が見られなかった。そこで、空気流量を 1 L/min とし、後段のエムポアディスクを 2 枚配置して遮光下にて添加回収試験を行った。その結果、ヘプタクロル以外の農薬においてはほぼ 80%以上の回収率を得られることが確認された。ヘプタクロルについては50%程度の回収率しか得られなかったため、測定値を補正する必要があると考えられる。

以上の検討結果をもとに実地での測定条件を以下のように決定した。前段に石英フィルター1枚、後段にエムポアディスク 2 枚を配置し、空気の吸引速度は 1 L/min で捕集することとした。また、GC-MS 測定対象農薬についてはサンプリング空気量の低下により定量下限が高くなるため、GC-MS 測定サンプルの最終溶液濃度を 2 倍濃

縮することにより、いずれの農薬についても定量下限の目標値をクリアできることを確認した。

② 地方での結果

本分析法を用いて愛媛大学の食堂、農場近傍、建物近傍の3か所にてn=2で空気中農薬の測定を行った。その結果、10月から3月までの計6回の測定では対象農薬はいずれの測定地点においてもすべて検出下限未満であった。

③ 都市部での結果

石英フィルター上に 1 mg/L 混合標準液 0.1 mL を添加し、1 時間放置することで溶媒を除去し農薬を石英フィルター上に保持させた。前段に対象化合物を添加後の石英フィルター、後段にエムポアディスクを配置し、実験室内の空気を吸引速度 3 L/min で 6 時間、合計 1.08 m^3 の空気を捕集した。その後、前述のアセトン抽出ならびに測定試料調製方法により測定試料を調製し各装置にて分析を行った。その結果、各測定対象化合物は 1.08 m^3 の空気を捕集しても石英フィルターとエムポアディスクに保持されていることが確認できた。

④ 吸入曝露による農薬摂取量の推定

検出できたフェニトロチオン (濃度範囲: 2.21-36.4 ng/m^3) およびアセフェート (濃度範囲: 0.160-0.846 ng/m^3) 濃度と、日本人の平均呼吸率 (17.3 m^3/day) を用いて、吸入曝露量を評価した。フェニトロチオンの吸入曝露量は、0.038-0.630 µg/person/dayと推定された。体重 55 kg とすると、0.70-11.4 ng/kg-bw/day であり、対 ADI 比は0.01-0.23%となった。アセフェートの吸入曝露量は、0.003-0.015 µg/person/day と推定された。体重当たりの曝露量は、0.05 - 0.26 ng/kg-bw/dayであり、対ADI比は0.002-0.011%であった。この推定は、検出された数値のみを使用しているため、平均的な吸入曝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。

また、食品からの農薬摂取量 (フェニトロチオン: 0.195 µg/person/day; アセフェート: 0.260 µg/person/day) と比較すると、吸入曝露の寄与は、フェニトロチオン: 16.4-76.4%、アセフェート: 1.1-5.3%であった。この結果は、場合によっては大気経由の吸入曝露量が 20%を超過する可能性があることを示している。

<u>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</u>

BE法では、対数正規分布が8農薬で、ガンマ分布が1農薬で、ワイブル分布が11農薬で最も適していると判断された。一方 MLE 法では、対数正規分布が7農薬で、ガンマ分布が 6 農薬で、ワイブル分布が 7 農薬で最も適していると判断された。11 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。

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、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。

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、アセフェート、チアメトキサム、ピリダベン、フルアジホップブチル、フルアジホップブチル代謝物、メタミドホスは、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と比較すると、BE 法による推定値の方が低かったのは、クロチアニジンのみであった。MLE 法よりも BE 法による推定値の方が低かったのは、ク

ロチアニジン、チアクロプリド、ノバルロンであった。インドキサカルブ、クロルピリホス、ビフェントリンの 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、$(\hat{\mu}^{\mathrm{BE}} - \hat{\mu}^{\mathrm{MLE}})/\hat{\mu}^{\mathrm{BE}}$について解析を行った (Fig. 5)。の傾向が認められた。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、σ/μ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、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。

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

①一斉試験法の適用性について

先ず、本検討で用いた一斉試験法の適用性について検討した。精製用ミニカラムにおいてはロットによる保持・溶出のばらつきが問題になることもあることから、精製用ミニカラム(グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム、500 mg/500 mg)からの回収率を確認した。

チアベンダゾールを除き、検討対象農薬等は使用した精製用ミニカラムから良好に回収された。なお、チアベンダゾールについて、標準溶液のみを負荷した場合には良好な回収率が得られなかったが、検討対象食品を用いた添加回収試験においては比較的良好な回収率が得られたことから、試料マトリックス共存下においては良好なカラム回収率が得られると推察された。

以上の結果から、「LC/MS による農薬等の一斉試験法 I(農産物)」を用いることで、検討対象農薬等を精確に測定可能であり、検査部位の変更の影響の有無を正確に評価することが可能であることが期待された。

②分析結果に及ぼす検査部位の変更の影響

②-1 びわ

検査部位変更前後の試料を調製し、それぞれの調製試料に 0.01 ppm の濃度となるように検討対象農薬等を添加した。それぞれの添加試料から試験溶液を調製し、LC-MS/MS で測定した。

アトラジンでは、検査部位の変更に伴い回収率が低下した(変更前 83%、変更後 63%)。びわにおけるアトラジンの基準値が 0.02 ppm であることを考慮すると、実際の検査等において測定の際の影響により良好な回収率が得られない場合には、試験溶液を希釈して測定するなどの対応が効率的であると考えられた。イプロジオンにおいても、検査部位の変更に伴う回収率の低下が確認された(変更前 93%、変更後 72%)。びわにおけるイプロジオンの基準値が 10 ppm であることを考慮すると、実際の検査で基準値濃度を分析する場合には、検査部位変更の影響はほとんどないと考えられた。

その他の検討対象農薬等については、検査部位の変更に伴う回収率の大きな変動は確認されなかったことから、分析結果に及ぼす影響は小さいことが予想された。

②-2 すいか

検査部位変更前後の試料を調製し、それぞれの調製試料に 0.01 ppm の濃度となるように検討対象農薬等を添加した。それぞれの添加試料から試験溶液を調製し、LC-MS/MS で測定した。

メソミルにおいては、ブランク試料にピークが検出されたため、良好な回収率及びピーク面積比（「マトリックス添加標準溶液のピーク面積値」/「溶媒標準溶液のピーク面積値」）が得られなかった。しかしながら、検査部位変更前後の試料におけるブランク値は大きく変わらなかったことから、分析結果に及ぼす影響は小さいことが予想された。

その他の検討対象化合物については、検査部位の変更に伴う回収率の大きな変動は確認されなかったことから、分析結果に及ぼす影響は小さいことが予想された。

②-3 みかん

検査部位変更前後の試料を調製し、それぞれの調製試料に 0.01 ppm の濃度となるように検討対象農薬等を添加した。それぞれの添加試料から試験溶液を調製し、LC-MS/MS で測定した。

検査部位変更前の試料において、ジウロンでは、測定の際の試料マトリックスの影響により（ピーク面積比 0.76）、良好な真度が得られなかった（真度 66%）。ジウロンを除く検討対象農薬等については、比較的良好な真度、併行精度及びピーク面積比が得られた。

検査部位変更後の試料については、イプロジオン（真度 47%、ピーク面積比 0.51）、トリアジメノール（真度 40%、ピーク面積比 0.43）、トリアジメホン（真度 39%、ピーク面積比 0.38）、ブタフェナシル（真度 34%、ピーク面積比 0.35）及びメトキシフェノジド（真度 38%、ピーク面積比 0.39）においては、測定の際の試料マトリックスの影響が大きくなった結果、回収率が大幅に低下した。

実際の検査においては、基準値濃度における分析結果への影響の有無が重要と考えられることから、検査部位変更後の 0.01 ppm 添加試料において回収率の低下が確認された 10 化合物について、基準値濃度での添加回収試験を実施した。イプロジオン、トリアジメノール、トリアジメホン及びブタフェナシルについては、基準値濃度においても良好な真度が得られなかった。このことから、これらの化合物については、実際の検査において誤判定を生じる可能性が高くなることが予想された。

③良好な分析結果が得られない際の対応等

みかんにおいては、検査部位の変更に伴う試料中のマトリックス成分の変化により、回収率が大幅に低下する化合物が確認された（イプロジオン、トリアジメノール、トリアジメホン、ブタフェナシル及びメトキシフェノジド）。これらの化合物については、実際の検査において誤判定の結果を生じる可能性が高くなることが予想されたため、対応等について検討した。

本検討では実際の検査における効率等を考慮し、先ず試験溶液の希釈の有効性について検討した。

検査部位変更後のみかん試料の添加回収試験（添加濃度：基準値）で得られた試験溶液を 4 倍希釈して再測定した。イプロジオン、トリアジメノール及びブタフェナシルについては、試験溶液を希釈することにより比較的良好な回収率が得られた。トリアジメホンについては、若干ではあるが回収率が改善されたことから、更に高倍率の希釈を行うことで更に回収率が改善されることが期待された。メトキシフェノジドについては、回収率・ピーク面積値ともに 4 倍希釈での改善は認められなかったものの、基準値が 2 ppm と高いことから、更に高倍率の希釈を行うことで回収率が改善される可能性があると考えられた。

以上、検査部位の変更に伴い良好な回収率が得られなくなった場合、使用する LC-MS/MS における測定感度に応じて試験溶液を希釈することで効率的な対応が可能であると考えられた。

D. 結論

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ッ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。

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ッ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。地方においては調査したすべての農薬が検出せず、都市部においてはフェニトロチオンとアセフェートが検出された。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。

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

食品を介して摂取する農薬の量をより精緻に推定するために、未検出 (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、ベイズ推定(BE)法を用いて推定したところ、ND に LOQ の 0.2 倍の値を代入して推定した 1 日農薬摂取量の平均値と比較すると、BE 法による推定値の方が低かったのは、クロチアニジンのみであった。また、BE 法によるクロチアニジン、チアクロプリド、ノバルロンの 1 日農薬摂取量の平均値は、最尤推定 (MLE) 法よりも低かった。また、インドキサカルブ、クロルピリホス、ビフェントリンの 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。一方で、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、BE 法と MLE 法との推定値の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が知られていることから、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。

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

検査部位の変更が残留農薬等の分析結果に及ぼす影響について検討した。みかん、びわ、すいかを検討対象食品として、これら食品の検査部位変更前後の試料を調製した。検討対象農薬等 39 化合物を調製した試料に添加し、「LC/MS による農薬等の一斉試験法 I（農産物）」を用いて添加回収試験を実施した。検査部位変更前後の回収率を比較した結果、びわ及びすいかについては、検査部位の変更に伴う回収率の変化の程度は小さく、検査部位の変更が分析結果に及ぼす影響は小さいことが推察された。一方、みかんについては、検査部位の変更

に伴いイプロジオン、トリアジメノール、トリアジメホン、ブタフェナシル及びメトキシフェノジドにおいて回収率が大幅に低下したことから、実際の検査において誤判定の結果を生じる可能性が高くなることが予想された。

このような場合の効率的な対応としては、使用する LC-MS/MS の測定感度に応じて試験溶液を希釈することが有用である可能性が高いと考えられた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Suzuki Y, Tanaka N, Akiyama H.; Attempt of Bayesian Estimation from Left-censored Data Using the Markov Chain Monte Carlo Method: Exploring Cr(VI) Concentrations in Mineral Water Products. Food Safety. 8(4):67-89 (2020).

2. 学会発表

1) 鈴木美成, 穐山浩; トータルダイエットスタディによる農薬摂取量の推定におけるベイズモデルを用いた精緻化, 日本食品衛生学会第 116 回学術講演会(2020.11–12).

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし