

# 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。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、ドライアイスが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もある。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