

# I. 総括研究報告

輸出先国のリスク管理に対応した残留農薬データ等の  
補完のための研究

渡邊敬浩

令和元年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 厚生労働科学特別研究事業

輸出先国のリスク管理に対応した残留農薬データ等の補完のための研究  
総括研究報告書

研究代表者	渡邊敬浩	国立医薬品食品衛生研究所安全情報部
研究分担者	山田友紀子	農林水産省・顧問 (大臣官房参事官)
研究分担者	加藤 拓	東京農業大学応用生物科学部
研究分担者	荒川史博	日本ハム株式会社 中央研究所

研究概要

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

分析法の厳密な性能評価や、食品製造のための加工における農薬残留物の挙動解析(加工試験)には、農薬等を投与した結果としての残留物を含む試料(インカード試料)が必要となる。しかし、作物残留試験がすでに完了している場合や新たに実施することが困難な場合には、インカード試料を入手することができない。本研究では、分析法性能の厳密な評価や加工試験において使用することができる、適正なインカード試料の作成方法を検討した。限られた研究期間内に栽培することが可能な葉菜類(コマツナ・チンゲンサイ・ホウレンソウ)と脂溶性の違い等から選択した農薬(アゾキシストロビン、ピリダリル、ベンチオピラド、メタフルミゾン)の組合せとなるインカード試料をノイバウエル法により作成した。その他、ハクサイ、レタス、カブを野外栽培することによるインカード試料作成の可能性についても検討した。その結果、コマツナとホウレンソウについては、試験区間差が少ないインカード試料の作成が可能であった。再現性の高いインカード試料の作成には、栽培環境を制御できるノイバウエル法が適していると考えられたが、作物種によっては、生育のばらつきが大きくなることが確認された。その一方で、比較的短期間で多くのインカード試料を作成できることから、作物種の特성에応じてノイバウエル法を活用すべきだと考えられた。

**研究課題 2. 近年国際的に求められているリスク管理のための新規分析**

## 手法の開発と国内導入に関する研究

現在わが国では、農林水産物・農産加工品(農産品等)の輸出拡大が図られている。そのための方策の1つとして、輸出を意図する農産品等における農薬残留物濃度の、輸出先国が設定する最大残留基準値(Maximum Residue Limit; MRL)への適合を確実にすることまた、MRLが設定されていない場合等には、必要とされるデータを科学的根拠として示してMRLの設定を申請(インポートトレランス申請)することが挙げられている。国際標準となるMRLの設定あるいはインポートトレランスの申請には、農薬残留物濃度を示すデータ等の他に、規制目的で使用可能な簡易で迅速な分析法の提示が求められる。しかし、これまでのわが国においては、そのような分析法の検証が十分でなかった。そのため、国産農産品等の輸出促進の障壁となる可能性があり解決すべき課題である。本研究では、農薬残留物の簡易で迅速な分析法として国際的にも急速に認められつつあるQuEChERS法について、研究課題1で作成されたインカード試料(アゾキシストロビン、ピリダリル、ペンチオピラド及びメタフルミゾンの残留物を含むコマツナ、チンゲンサイ及びホウレンソウ)を用いて厳密な性能評価を試みた。公示個別分析法により得た、コマツナ、チンゲンサイ及びホウレンソウのインカード試料におけるアゾキシストロビン、ピリダリル、ペンチオピラド、メタフルミゾン(*E*-異性体)及びメタフルミゾン(*Z*-異性体)濃度に基づく付与値と比較した結果、QuEChERS法により得られる分析値は、対付与値率が86%~110%となることが明らかとなった。また、全てのマトリクスと分析対象化合物の組合せを通じて、分析用試料の調製方法として細切粉碎に比べ凍結粉碎を用いた場合に、分析値がより高値になる傾向が見られた。併行条件下におけるQuEChERS法による分析値のばらつきはRSD%10未満であり、規制等の目的で使用される分析法の性能としても妥当であると考えられた。今後、物理的・化学的特性の異なる農薬と異なるマトリクスを持つ作物との組合せ数を増加させる等してより詳細な検討を重ねることにより、QuEChERS法をインポートトレランスにおいて諸外国に示すことが可能になると同時に、わが国における国際標準のMRL設定においてや、規制のために用いられる1つの分析法として活用できるものと考えられた。その他の課題として、国内流通する農産品における残留物濃度の海外MRLへの適合度を検証した結果、海外政府により設定されたMRLの値がわが国において設定されている値に比

べて大幅に小さい場合には、インポートトレランス申請や検査における分析法性能の補償水準の変更等が課題になることが明らかにされた。FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議(JMPR)が公開している作物残留試験データのデータベース化の検討にも取組み、①農薬名、②作物名、③実施国名、④実施地域名、⑤実施年、⑥剤型、⑦農薬使用方法の ID、⑧投与回数、⑨投与率、⑩分析部位、⑪投与後日数、⑫残留物、⑬データタイプ、⑭データ(分析結果)等を要素として、約 10 種の農薬に対する 5000 件以上のデータを整理した。今後、データ利用の観点からも検討を進めより有効なデータベースとして構築していくことが考えられた。

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

農薬の MRL 設定は一国の課題ではない。農薬の MRL は、第一に農業における必要性を踏まえて設定されるものであるが、農産品等の輸出推進にも大きな影響を与えるため、可能であれば多くの国で受け入れられるよう適切な根拠をもとに設定されるべきである。また場合によっては、生の農産品だけでなく、それらを原料とする農産加工品についても、精密な暴露量の推定や MRL 設定の必要性を検討しなければならない。しかしそのために必要な加工試験は、世界規模で輸出入される主要な農産加工品に関してのみ実施されているのが現状である。

本研究では、わが国からの輸出可能性が高い農産加工品の原料ともなる農産品を対象とした加工試験を実施する上で必要な条件を、研究課題 1 によるインカード試料の作成と連動させて検討することを計画した。しかし本年度研究期間が冬期の 6 ヶ月間ほどに制限され加工の原材料となるインカード試料を作成することができなかつたため実際の加工試験は実施せず、今後の加工試験のための知見を蓄積するためにコメ油の製造に関する予備的検討を行った。その結果、2.42 kg のコメ糠を原料とした場合に 0.2 kg のコメ原油が得られ、その収率は 8.3%であった。しかし、日本食品標準成分表に記載されているこめ糠の脂肪の割合 19.6 %に比べ小さな値であったため、原因について検討した結果、加工工程に含まれるヘキサン抽出後のろ過において、メッシュ上の残渣が原料としたコメ糠の重量を超えることが明らかとなり、油脂を含んだヘキサンの回収が不

十分であることが明らかになった。このような基礎的な知見を下にまた、製造事業者らからの協力や助言も得つつ、今後より実際の製造に近い内容でコメ油を製造し加工試験を行うべきと考えられた。

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

わが国における農薬の MRL 設定や、わが国から輸出先国へのインポートトレランス設定の申請を、より科学的かつ国際的に整合した方法で実施できるようにすることを目的として、農林水産省生産局の果実・茶の輸出促進を担当する職員に対して、欧米諸国にインポートトレランスを申請する際に必要な知識やデータ、報告書に記述すべきことなどについて、演習を伴う研修を実施した。さらに、MRL やインポートトレランスを設定するために最重要な「残留物の定義」の決定に関する OECD Working Group on Pesticides の傘下にある Residue Chemistry Expert Group の Subgroup である Drafting Group on Definition of Residue に参加し、残留分野において、日本の現状を説明するとともに、残留物の定義に関する OECD ガイドライン策定へ向けて科学的に貢献した。

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

#### **A. 研究目的**

食品安全行政の国際統合は、消費者の健康保護と公正な貿易の 2 つの側面において基本であり絶対的に必要な取組である。農薬残留物規制においても国際統合の重要性は変わらない。例えば国際標準の農薬残留物規制においては、その取組の 1 つとして、農薬の適正使用の結果としての残留物濃度をデータに基づき推定し、該当食品に対して最大残留基

準値(Maximum Residue Limit ; MRL)を設定する。そして、この MRL への適合を検査し、農薬の適正使用ひいては消費者の健康への懸念がないことを証明する。

上記の MRL 設定及び MRL への適合を判定する検査に関連し、食品製造のための加工における農薬残留物の挙動解析(加工試験)や、分析法性能の厳密な評価に基づく妥当性確認を行わなければならない。これらの加工試験や分析法の

妥当性確認を行うためには、農薬等を投与した結果としての残留物を含む試料(インカード試料)が必要となる。しかし、作物残留試験がすでに完了している場合や新たに実施することが困難な場合には、インカード試料を入手することができない。

本研究では、新たな作物残留試験の実施が困難な場合等に、加工試験や妥当性確認に利用することができるインカード試料の作成について検討することを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 投与農薬の選定と投与液の調製

本研究では、選択した作物(葉菜類)に使用登録がされていること及び、オクタノール/水分係数(以下、Log Pow)の違いが大きいことを基準として 4 種の農薬を選定し、インカード試料の作成に使用した。なお、残留の仕方と程度あるいは、分析や加工における挙動に影響する可能性のある物理化学的特性の指標として、Log Pow を使用した。本研究において選択した農薬は、ピリダリル(Log Pow=8.1)、メタフルミゾン(Log Pow=5.1)、ペンチオピラド(Log Pow=3.2)、アズキシストロビン(Log Pow=2.5)の 4 種である。

各農薬を含有する市販製品を用いた。各農薬を含有する市販製品の名称(農薬剤名)は以下の通りである。アズキシス

トロビン；アミスター20 フロアブル、ピリダリル；プレオフロアブル、ペンチオピラド；アフェットフロアブル、メタフルミゾン；アクセルフロアブル。

各製品は一律 500 倍に希釈して投与液とした。

### 2. インカード試料(コマツナ・チンゲンサイ・ホウレンソウ)の作成方法

一般的にバイオアッセイを行う場合、規定の施肥量に対する生育量の再現性を得るために、一定の環境条件下で作物を栽培する。この栽培のために用いられる最も一般的な方法が、新規登録をする化学肥料の肥効試験に用いられるノイバウエル法である。本研究の実施期間は 4 ヶ月間程度に限られていたため、その期間中に栽培可能な葉菜類(コマツナ・チンゲンサイ・ホウレンソウ)を選定し、ノイバウエル法による栽培を通じてインカード試料の作成を試みた。

ノイバウエルポット(1/10,000 a)に、予め化学肥料を混和し、最大容水量の 40%となるように水分調整した土壌(未耕地黒ぼく土)を充填した。混和した化学肥料のうち、N は硝酸アンモニウムにて 200 mg N/pot(200 kg N/ha)、K は塩化カリウムにて 200 mg K<sub>2</sub>O/pot(200 kg K<sub>2</sub>O/ha)、P はリン酸水素カルシウム二水和物にて 200 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/pot(200 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ha)となるように施用した。選定した 4 種の農薬の投与区並びに無投与区

として、それぞれ3ポットずつ(計15ポット)のノイバウエルポットを準備した。

コマツナ栽培の場合、準備したノイバウエルポットにコマツナ(品種;CR葉山)種子5粒を播種した。播種後18日目に草丈を計測する第1回目の生育調査を行った。播種後24日目に間引きを行い、ノイバウエルポット内のコマツナを2株に調整後、第2回目の生育調査を行った。第3回目の生育調査は、播種後35日目に行った。コマツナに対して、各農薬の使用回数が最大となり且つ、各農薬に定められた使用時期の収穫前期日並びに使用間隔が最小となるように、播種後39日目(収穫12日前)、播種後44日目(収穫7日前)、播種後47日目(収穫4日前)、播種後50日目(収穫1日前)に、スプレーによる葉面散布にて計4回、農薬を投与した。

チンゲンサイ栽培の場合も、コマツナ栽培の場合と同様に、準備したノイバウエルポットに種子(品種;長江)5粒を播種した。播種後18日目に草丈を計測する第1回目の生育調査を行った。播種後24日目に間引きを行い、ノイバウエルポット内のチンゲンサイを2株に調整後、第2回目の生育調査を行った。第3回目の生育調査は、播種後35日目に行った。チンゲンサイに対して、各農薬の使用回数が最大となり且つ、各農薬に定められた使用時期の収穫前期日並びに使用間隔が最小となるように、播種後

39日目(収穫12日前)、播種後44日目(収穫7日前)、播種後47日目(収穫4日前)、播種後50日目(収穫1日前)に、スプレーによる葉面散布にて計4回、農薬を投与した。

ハウレンソウ栽培の場合も、コマツナ、チンゲンサイの栽培と同様に、種子(品種;パレード)5粒を播種した。播種後7日目と18日目に草丈を計測する生育調査を行った。ハウレンソウに対しても、各農薬の使用回数が最大となり且つ、各農薬に定められた使用時期の収穫前期日並びに使用間隔が最小となるように農薬投与日を調整したが、第1回目の農薬投与を播種後22日目(収穫40日前)に行ったため再度収穫日を調整し、播種後55日目(収穫7日前)、播種後58日目(収穫4日前)、播種後61日目(収穫1日前)に残り3回の投与を行った。投与方法はコマツナ、チンゲンサイの場合と同様にスプレーによる葉面散布とした。

各作物の栽培期間中の散水量は、蒸散量相当とした。すなわち、栽培前にあらかじめ測定していた重量(ノイバウエルポット+充填した最大容水量40%調整済み土壌重量)から、散水前に測定したノイバウエルポット重量を差し引いた重量の水量(蒸散量相当)を散水した。農薬投与液(製品の500倍希釈液)の投与量も、散水量と同様に決定した。すなわち、前述のとおり算出した蒸散量相当の水量を散布量とした。

### 3. インカード試料(ハクサイ・レタス・カブ)の作成方法

ノイバウエル法の適用により栽培環境が限定されるため、農薬残留物濃度等の一致の程度が高いインカード試料を繰り返し作成することができるようになると期待される。しかし、比較的大型の作物の栽培には、ノイバウエル法を適用することができない。そのため、作物一個当たりの重量が大きいもしくは、栽培に使う根域が広い作物に対して、野外圃場での栽培によるインカード試料の作成を検討した。イバウエル法により栽培した作物に投与した農薬が投与可能であることも理由として、ハクサイ、レタス、カブを野外圃場で栽培する作物に選定した。

野外圃場として、神奈川県相模原市に位置する生産者圃場を借上した。圃場は生食用カブを周年で栽培していた畑であり、土壌型は腐植質黒ぼく土に分類される。平畝マルチでのトンネル栽培(不織布と農業用メッシュシートの二重がけ)を栽培方法とした。ハクサイ及びレタスは15日苗を定植し、カブは播種した。3種の作物のそれぞれについて、1農薬につき4処理区を複製し、ノイバウエル法にて栽培した作物と同じ考え方に沿って農薬を投与し栽培した。すなわち、アズキシストロピンを定植後76日目(収穫9日前)と77日目(収穫8日前)の

計2回、ピリダリルを定植後77日目(収穫8日前)と81日目(収穫4日前)の計2回、ペンチオピラドとメタフルミゾンで定植後77日目(収穫8日前)、81日目(収穫4日前)と84日目(収穫1日前)の計3回、スプレーによる葉面散布にて投与した。ノイバウエル法による栽培時と同様に、各農薬製品の500倍希釈液を投与液として用いた。

### 4. 作物収穫後のインカード試料の保存

収穫した各作物は重量(収量)を測定し、有姿のまま速やかに-20℃で冷凍した。冷凍状態を維持したまま試験機関に輸送し、-20℃あるいは-30℃にて保管した。

### 5. インカード試料の分析

本研究課題において作成したインカード試料からの分析用試料の調製及び、各農薬残留物の分析方法については、研究課題2「近年国際的に求められているリスク管理のための新規分析手法の開発と国内導入に関する研究」における研究方法の項を参照のこと。

## C. D. 結果及び考察

### 1. インカード試料の作成

ノイバウエル法を用いて栽培した各作物の生育を各農薬の投与区並びに無投与区ごとに観察した。コマツナは、播種後18日目に各ポットあたりの平均草丈が6.9~8.0cmになり、初期生育にはば



らつきが認められたものの、収穫時には 17.9~18.9 cm となった。収穫時の各ポット間の草丈に有意差は認められなかった。チンゲンサイは、播種後 18 日目に各ポットあたりの平均草丈が 8.7~9.2 cm になり、収穫時には 16.3~18.4 cm となった。ホウレンソウは、播種後 18 日目に各ポットあたりの平均草丈が 6.8~7.5 cm になり、収穫時には 9.0~10.1 cm となった。チンゲンサイとホウレンソウも、コマツナ同様に、収穫時に各ポット間に草丈の有意差は認められなかった。

コマツナとホウレンソウについては、投与した農薬による収量への影響が小さく、比較的重量のそろったインカード試料が作成できたと考えられる。一方、チンゲンサイは個体差が大きく、収量に差が認められた。作物の大きさ(草丈)と重量は、農薬成分の残留性に大きく影響すると考えられる。多くの場合、草丈は葉面積と関係性が高い。そのため、草丈に比例して、作物に付着し残留する農薬成分量が増加することが予想される。また、葉菜類の草丈は、収量と高い正の関係を示す。

インカード試料作成の再現性を高めるためには、環境を制御することのできるノイバウエル法が栽培法として適していると考え検討した。その結果、個体差の小さいコマツナとホウレンソウについては、再現性の高いインカード試料

作成への効果が期待された。一方で、チンゲンサイについては、元々の個体差が大きいためか、生育程度のばらつきが大きくなることが確認された。総じてノイバウエル法は、比較的短時間で多くのインカード試料を作成できることから、作物種の特性に応じて、活用すべきだと考えられる。

野外圃場にて栽培したハクサイ、レタス、カブの生育を各農薬の投与区並びに無投与区ごとに観察した。ハクサイの重量(収量)には、各農薬投与区間で大きな差が認められなかった。収量のばらつきは、ハクサイ<レタス<カブの順で小さかった。

農薬の残留性や分析に影響する可能性を考えると、必ずしもというわけではないが、目的外の農薬残留物を含まないインカード試料を作成あるいは入手することが理想である。つまり、意図する農薬以外の農薬を可能な限り投与せずに栽培することが、理想的なインカード試料の作成には必要ということになる(現実的には、除草や防虫等の用途において、同一の分析対象化合物が生じないことの保証を条件に、検討対象外の農薬が使用される場合はある)。制御された環境下で作成できるノイバウエル法と野外圃場での栽培法の双方の特徴を栽培する作物の特徴と合わせて考慮し、引き続きインカード試料の作成について検討していく必要がある。

## 2. 作成したインカード試料(コマツナ・チンゲンサイ・ホウレンソウ)における各農薬残留物濃度

検討した全ての農薬の総投与量は、コマツナを対象とした場合に最も多く、次いでチンゲンサイ、ホウレンソウの順であった。

公示されている分析法により、作成した各インカード試料を分析した結果、個別分析法により得られる値が一斉分析法により得られる値に比べて高値になる傾向が明らかとなっているが、これは分析法の性能によるものと考えられる。分析法の性能による分析値への影響については、研究課題 2 において詳解する。

インカード試料作成の観点から考察すれば、分析用試料は同一作物の複数個体を合一し均質化した試料であるため、個体の大きさ(収量)やポットごとの農薬投与量のばらつきといった要素は、分析値には反映されない。コマツナ、チンゲンサイ、ホウレンソウに対する各農薬の総投与量を比較すると、ホウレンソウに対する総投与量が 4 種の農薬の全てについて最も少ない。しかしアゾキシストロビン、ピリダリル、メタフルミゾン E 体の残留濃度は、3 種の作物中最も高値となった。このことは作物の形状等により個体への付着量が違うことや、植物種の生理機能としての代謝率(分解率)が異なる可能性を示すと考えられる。

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

### A. 研究目的

現在わが国では、農林水産物・農産加工品(農産品等)の輸出拡大が図られている。そのための方策の 1 つとして、農産品等に含まれる農薬残留物の量が輸出先国において設定された MRL に適合することまた、MRL が設定されていない場合等には必要とされるデータを科学的根

拠として示し、MRL の設定を申請(インポートトレランス申請)することが挙げられている。国際標準となる MRL の設定あるいはインポートトレランス申請には、農薬残留物濃度を示すデータ(作物残留試験データ)等の他に、規制等の目的において使用することができる簡易で迅速な分析法も求められる。しかし、

これまでのわが国においては、QuEChERS 法等の簡易で迅速な分析法の規制目的での使用に関して十分な検証が行われておらず、国産農産品等の輸出促進における障壁の1つになる可能性がある。

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

#### **A-1. QuEChERS 法の厳密な性能評価**

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

国産農産品の輸出促進の観点からは、国際標準の MRL 設定またインポ

ートトレランス申請に備え、QuEChERS 法の適用可否を明らかにしておくことが重要である。また国内においても、QuEChERS 法の利用が検討され始めているが、公的に示されてきた従来の分析法(公示分析法)との比較も含めた厳密な性能評価が最重要課題とされている。

そこで本研究では、代表的な手法として特定した QuEChERS 法を対象とし、インカード試料の分析を通じて従来の分析法との比較も行いつつ、厳密な性能評価を行うことを目的とした。

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

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

農産品等の輸出先国において当該農産品等を対象とした MRL が設定されていた場合、基本的には、その MRL への適合を確実にすることに

なる。しかし、先述のとおり、当該国における農薬の使用基準や、農薬登録が無く一律設定が背景になる場合には、設定された MRL の値がわが国の農業により達成可能な値に比べ低くなる可能性がある。そのような場合に、わが国の MRL には適合しても、当該国では不適合になることも想像される。本研究では、そのように想像される事態が実際に発生する可能性の検証を目的として、国内流通する農産品等の残留濃度データを対象に、海外 MRL への適合度を検証した。

### A-3. 国際的な残留物濃度データのデータベース化

MRL の導出では、適正農業規範 (GAP) に沿って登録された使用基準に従い農薬を投与した試験(作物残留試験)を行い、本試験により取得された実際の残留物濃度データ(作物残留試験データ)を、合意された方法論(OECD MRL calculator を使用する方法論)により解析する。この MRL 導出に使用する残留物濃度データ数が多いほど、可能性のある残留物濃度をより精確に推定することができる。現時点では国際的な規定はないが、JMPR の評価書や FAO マニュアル (FAO Plant production and protection paper 225 「Submission and evaluation of pesticide residues data for the

estimation of maximum residue levels in food and feed」)を見ると、主要な作物に関しては 8 データ以上が求められていると理解することができる。わが国においても、農薬登録に関する要求事項の最近の改訂(農薬の登録申請において提出すべき資料について、平成 31 年 3 月 29 日付け 30 消安第 6278 号農林水産省消費・安全局長通知)により、主要作物については 6 例以上の作物残留試験データが要求されるようになった。しかし、要求されるデータが取得困難である場合や、今後の MRL の見直しにおいて新たな作物残留試験の実施が困難になる場合等に備えて、既存データの活用検討を進めることは有益である。

本研究では、上記 MRL の設定に活用可能な既存データとして、JMPR が評価書において公開している諸外国で実施された作物残留試験のデータに着目し、それらを活用し易くすることを目的として、データベース化を検討した。

## B. 研究方法

### B-1. QuEChERS 法の厳密な性能評価

#### B-1-1. 試薬等

##### B-1-1-1. 標準品

・アゾキシストロビン標準品:純度 99.8%(富士フィルム和光純薬製)

- ・ピリダリル標準品：純度 99.5%(富士フィルム和光純薬製)
- ・ペンチオピラド標準品：純度 98.2%(Supelco 製)
- ・メタフルミゾン(*E*-異性体)標準品：純度 99.0%(富士フィルム和光純薬製)
- ・メタフルミゾン(*Z*-異性体)標準品：純度 99.2%(富士フィルム和光純薬製)
- ・メタフルミゾン代謝物 D 標準品：純度 99.4%(富士フィルム和光純薬製)

#### B-1-1-2. 試薬

- ・アセトン：残留農薬試験用(関東化学製)
- ・アセトニトリル、メタノール：高速液体クロマトグラフ用(関東化学製)
- ・塩化ナトリウム、ギ酸、酢酸アンモニウム：試薬特級(関東化学製)
- ・くえん酸三ナトリウム二水和物、無水硫酸マグネシウム：試薬特級(富士フィルム和光純薬製)
- ・くえん酸水素二ナトリウム 1.5 水和物：和光一級(富士フィルム和光純薬製)

#### B-1-1-3. 試液の調製

- ・0.1 vol%ギ酸：ギ酸 1 mL に水を加えて 1000 mL とした。
- ・1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液：酢

酸アンモニウム 15.43 g を水に溶解し 200 mL とした。

- ・2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液：1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 2 mL に水を加えて 1000 mL とした。

#### B-1-1-4. 標準溶液の調製

##### 1)標準原液の調製

- ・アゾキシストロビン：アゾキシストロビン標準品 25 mg を精密に量り、50 mL 容全量フラスコに入れた。アセトンを加えて溶解した後定容し、これをアゾキシストロビン標準原液(500 mg/L)とした。
- ・ピリダリル及びペンチオピラド：ピリダリル標準品 25 mg 及びペンチオピラド標準品 20 mg を精密に量り、以下同様に調製し、ピリダリル標準原液(500 mg/L)及びペンチオピラド標準原液(400 mg/L)とした。
- ・メタフルミゾン：メタフルミゾン(*E*-異性体)標準品 25 mg を精密に量り、50 mL 容全量フラスコに入れた。アセトニトリルを加えて溶解した後定容し、これをメタフルミゾン(*E*-異性体)標準原液(500 mg/L)とした。メタフルミゾン(*Z*-異性体)標準品及びメタフルミゾン代謝物 D 標準品各 25 mg を精密に量り、以下同様に調製し、メタフルミゾン(*Z*-異性体)標準原液(500 mg/L)及びメタフルミゾン代謝物 D 標準原液(500 mg/L)とした。

## 2)希釈用混合標準溶液の調製

各標準原液について、500 mg/L 溶液はその 2 mL、400 mg/L 溶液はその 2.5 mL を精密にとり、それぞれアセトニトリルを用いて正確に 50 mL に定容し、希釈用混合標準溶液(50 mg/L)とした。設計した検量線に設定した検量点の濃度になるよう、希釈用混合標準溶液を適宜希釈し、検量線用混合標準溶液を調製した。

### B-1-2. 装置

・粉砕攪拌機：

ブリクサー(BLIXER-3D)

[エフ・エム・アイ製]

・高速液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)

機種：LC部；Nexera X2(LC30-AD)

[島津製作所製]

MS部；LC/MS-8050

[島津製作所製]

解析ソフト：LabSolutions LCMS

[島津製作所製]

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

[ジーエルサイエンス製]

カラム温度：40 °C

### B-1-3. 分析用試料の調製

#### B-1-3-1. インカード試料の場合

##### 1) コマツナ及びチンゲンサイ

インカード試料(有姿の作物)を作物種ごとに合一し、食品衛生法に基づき実施する検査に規定された手順(以下「検査手順」という)に従い、細切混合した。細切混合した試料(以下「アグリゲート試料」という)を、ほぼ等分量になるよう 20 分割した。20 個の分割試料から 10 個を無作為に抜き取り合一することで再アグリゲート試料 1 を、残りの 10 個を合一することで再アグリゲート試料 2 を調製した。再アグリゲート試料 1 を再度検査手順に従い細切混合し、これを公示分析用試料とした。再アグリゲート試料 2 は、再度検査手順に従い細切混合した後、さらに、ほぼ等分量になるよう 20 分割した。20 個の分割試料から 10 個を無作為に抜き取り合一することで QuEChERS 用試料 1 とした。残り 10 個の分割試料を合一し凍結粉砕等を行い、QuEChERS 用試料 2 を調製した。

##### 2) ホウレンソウ

インカード試料(有姿の作物)を合一し、検査手順に従い細切混合することでアグリゲート試料を調製した。アグリゲート試料をほぼ等分量で 10 分割した。10 個の分割試料から 5 個を無作為に抜き取り合一することで再アグリゲート試料 1 を、残りの 5 個を合一することで再アグリゲート試

料 2 を調製した。再アグリゲート試料 1 を再度検査手順に従い細切混合した試料を公示分析用試料とした。再アグリゲート試料 2 は、再度検査手順に従い細切混合した後さらに、ほぼ当分量で 8 分割した。8 個の分割試料から 4 個を無作為に抜取り合一して QuEChERS 用試料 1 とした。残り 4 個の分割試料を合一し、凍結粉砕等を行い、QuEChERS 用試料 2 を調製した。

### 3)QuEChERS 用試料 2 調製のための追加操作(凍結粉砕等)

粉砕攪拌機でドライアイスを適量粉砕し、付属容器を冷却した。この容器に試料の体積の約 2~5 倍の粉砕済ドライアイスを入れた後、細切混合した試料を入れ、さらに粉砕済ドライアイスを少量加え、粉砕した。凍結粉砕した試料を別の容器に移し、蓋を少し開けた状態で-30℃の冷凍庫内に 1 日以上保存し、ドライアイスを揮散した。

#### B-1-3-2.管理用試料の場合

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

##### 1)コマツナ及びチンゲンサイ

B-1-4-1 に挙げる分析対象化合物が検出されないことをあらかじめ確認した有姿のコマツナあるいはチンゲンサイを、検査手順に従い細切混合した。この細切混合試料 400 g にアゾキシストロビン、ピリダリル、メタフルミゾン(*E*-異性体)、メタフルミゾン(*Z*-異性体)及びメタフルミゾン代謝物 D の各標準原液(500 mg/L)をそれぞれ 2 mL、ペンチオピラド標準原液(400 mg/L)を 2.5 mL 添加しよく混合し 30 分間放置した。放置後、インカード試料の場合と同様に操作した。この一連の調製操作により、アグリゲート試料 1 並びに 2 及び、QuEChERS 用試料 1 並びに 2 にそれぞれ対応する管理用試料を調製した。管理用試料における各分析対象化合物の名目上の濃度は、2.5 mg/kg となる。

##### 2)ホウレンソウ

コマツナやチンゲンサイと同様に、分析対象化合物が検出されないことをあらかじめ確認した有姿のホウレンソウを、検査手順に従い細切混合した。この細切混合試料 200 g にアゾキシストロビン、ピリダリル、メタフルミゾン(*E*-異性体)、メタフルミゾン(*Z*-異性体)及びメタフルミゾン代謝物 D の各標準原液(500 mg/L)をそれぞれ 0.4 mL、ペンチオピラド標準

原液(400 mg/L)を 0.5 mL 添加しよく混合し 30 分間放置した。放置後、インカード試料の調製と同様に操作した。この一連の調製操作により、アグリゲート試料 1 並びに 2 及び、QuEChERS 用試料 1 並びに 2 にそれぞれ対応する管理用試料を調製した。管理用試料における各分析対象化合物の名目上の濃度は、1 mg/kg となる。

#### **B-1-3-3.凍結保存安定性試験用試料の場合**

凍結保存期間中の分析対象化合物の安定性を検証する目的で、凍結保存安定性試験を実施した。検査手順に従い細切混合したホウレンソウ 20 g に対し、各分析対象化合物の混合標準溶液(50 mg/L)を 0.2 mL 添加しよく混合することで凍結保存安定性試験用試料は調製した。調製した試料を-30℃に保存し、調製後(0 日目)また、5 日目及び、10 日目に分析した。

#### **B-1-4. 分析**

##### **B-1-4-1. 分析対象化合物**

オクタノール・水分係数(logPow)を指標として脂溶性の異なる農薬を選定し、本研究で使用したインカード試料の作成に用いた。インカード試料の作成方法については、加藤による分担研究報告書を参照のこと。インカード試料に残留物とし

て含まれることが予想され、よって分析対象とした化合物は、アゾキシストロビン、ピリダリル、ペンチオピラド、メタフルミゾン(*E*-異性体)、メタフルミゾン(*Z*-異性体)、メタフルミゾン代謝物 D の計 6 化合物である。

#### **B-1-4-2. 分析法**

##### **B-1-4-2-1. 測定用溶液の調製**

##### **1)公示一斉分析法：LC/MS による農薬等の一斉分析法**

試料 20.0 g(ホウレンソウは 10.0 g)にアセトニトリル 50 mL を加えホモジナイズした後、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトニトリル 20 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL として抽出液とした。抽出液を 0.5 mL 分取し、アセトニトリルで 50 mL(ホウレンソウは 25 mL)に定容して測定用溶液とした。アゾキシストロビンの分析ではさらに、50 mL に定容した溶液を 1 mL 分取し、アセトニトリルで 20 mL に定容して測定用溶液とした。ペンチオピラドの分析ではさらに、50 mL に定容した溶液を 1 mL 分取し、アセトニトリルで 50 mL に定容して測定用溶液とした。

再アグリゲート試料 1 に相当する管理用試料の分析時には、50 mL に定容した溶液を 1 mL(ホウレンソウ



は 2.5 mL)分取し、アセトニトリルで 5 mL に定容して測定用溶液とした。

## 2)公示個別分析法：アゾキシストロビン分析法、ピリダリル分析法、ペンチオピラド分析法及びメタフルミゾン分析法

試料 20.0 g(ホウレンソウは 10.0 g) にアセトン 100 mL を加えホモジナイズした後、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物に、アセトン 50 mL を加えてホモジナイズした後、吸引ろ過した。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に 200 mL として抽出液とした。メタフルミゾン代謝物 D の分析では、抽出液を 1 mL 分取し、アセトニトリルで 50 mL(ホウレンソウは 25 mL)に定容して測定用溶液とした。アゾキシストロビン、ピリダリル及びメタフルミゾン(Z-異性体)の分析では、50 mL に定容した溶液を 1 mL 分取し、アセトニトリルで 20 mL に定容して測定用溶液とした。ペンチオピラド及びメタフルミゾン(E-異性体)の分析では、50 mL に定容した溶液を 1 mL 分取し、アセトニトリルで 50 mL に定容して測定用溶液とした。

再アグリゲート試料 1 に相当する管理用試料の分析時には、50 mL に定容した溶液を 1 mL(ホウレンソウは 2.5 mL)分取し、アセトニトリルで

5 mL に定容して測定用溶液とした。

## 3)QuEChERS 法

試料 10 g(ホウレンソウは 5 g)にアセトニトリル 10 mL を加え 1 分間激しく振とうした。無水硫酸マグネシウム 4 g、塩化ナトリウム 1 g、くえん酸三ナトリウム二水和物 1 g 及び、くえん酸水素二ナトリウム 1.5 水和物 0.5 g を加え、1 分間激しく振とうした。3000 rpm で 5 分間遠心分離した後のアセトニトリル層から 1 mL 分取してアセトニトリルで 25 mL に定容した。

アゾキシストロビン、ピリダリル及びメタフルミゾン(Z-異性体)の分析では、25 mL に定容した溶液を 1 mL 分取し、アセトニトリルで 20 mL に定容して測定用溶液とした。ペンチオピラド及びメタフルミゾン(E-異性体)の分析では、25 mL に定容した溶液を 1 mL 分取し、アセトニトリルで 50 mL に定容して測定用溶液とした。メタフルミゾン代謝物 D の分析では、25 mL に定容した溶液を 1 mL 分取し、アセトニトリルで 20 mL(ホウレンソウは 10 mL)に定容して測定用溶液とした。

QuEChERS 用試料に相当する管理用試料の分析時には、25 mL に定容した溶液を 1 mL(ホウレンソウは 2.5 mL)分取し、アセトニトリルで 5 mL

に定容して測定用溶液とした。

#### B-1-4-2-2. 測定条件

1)アズキシストロビン及びメタフルミゾン代謝物 D の LC-MS/MS 操作条件

移動相：A 液；2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B 液；メタノール

A 液：B 液(30：70)

流量：0.2 mL/min

注入量：2  $\mu$ L

コリジョンガス：アルゴン

2)ペンチオピラド、メタフルミゾン (E-異性体)及びメタフルミゾン (Z-異性体)の LC-MS/MS 操作条件

移動相：A 液；2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B 液；メタノール

A 液：B 液(20：80)

流量：0.2 mL/min

注入量：2  $\mu$ L

コリジョンガス：アルゴン

3)ピリダリルの LC-MS/MS 操作条件

移動相：A 液；0.1 vol% ぎ酸

B 液；メタノール

A 液：B 液(5：95)

流量：0.2 mL/min

注入量：2  $\mu$ L

コリジョンガス：アルゴン

#### B-1-4-2-3. 検量線の作成

分析時ごとに、検量線用混合標準溶液を測定して、各分析対象化合物の重量とピーク面積から検量線(最小二乗法)を作成した。いずれの検量線についても、決定係数は $\geq 0.999$ となった。

#### B-1-4-3. 濃度の計算

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

##### 1)コマツナ及びチンゲンサイの分析時

B-1-4-2-1. に示した測定用溶液の調製方法の違いに応じて、以下 3 通りの計算式を試料における各化合物濃度の算出に使用した。

・式 1:濃度(mg/kg)=検量線から求めた重量(ng) $\times 50$  mL/2  $\mu$ L $\times 100$  mL/0.5 mL $\times$ 希釈率 $\times 1/20$  g

・式 2:濃度(mg/kg)=検量線から求めた重量(ng) $\times 50$  mL/2  $\mu$ L $\times 200$  mL/1 mL $\times$ 希釈率 $\times 1/20$  g

・式 3:濃度(mg/kg)=検量線から求めた重量(ng) $\times 20$  mL/2  $\mu$ L $\times 10$  mL/1 mL $\times 25$  mL/1 mL $\times$ 希釈率 $\times 1/10$  g

##### 2)ハウレンソウの分析時

B-1-4-2-1. に示した測定用溶液の

調製方法の違いに応じて、以下 3 通りの計算式を試料における各化合物濃度の算出に使用した。

・式 1:濃度(mg/kg)=検量線から求めた重量(ng)×25 mL/2 μL×100 mL/0.5 mL×希釈率×1/10 g

・式 2:濃度(mg/kg)=検量線から求めた重量(ng)×25 mL/2 μL×200 mL/1 mL×希釈率×1/10 g

・式 3:濃度(mg/kg)=検量線から求めた重量(ng)×10 mL/2 μL×10 mL/1 mL×25 mL/1 mL×希釈率×1/5 g

## B-2. 残留物実態濃度に基づく海外 MRL への適合度の検証

厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課が収集した農薬残留物の検査結果から、国内産食品を対象としたとして報告されたデータを抜き出し、海外政府により設定されている MRL と比較した。2013 年から 2017 年までに取得されたデータを対象に解析した。

海外政府により設定されている MRL は、農林水産省が実施した「輸出環境整備推進事業(主要国・地域の残留農薬基準値調査事業)」報告書並びに、諸外国における残留農薬基準値に関する情報の品目別残留農薬基準値 ([https://www.maff.go.jp/j/shokusan/export/zannou\\_kisei.html](https://www.maff.go.jp/j/shokusan/export/zannou_kisei.html)) から引用した。

ここには、13 種類の農作物(コメ、りんご、ぶどう、もも、なし、かんきつ類、温州みかん、いちご、かき、メロン、ながいも、かんしょ、茶)に対して、17 の国・地域(日本、Codex 委員会、香港、台湾、韓国、中国、シンガポール、マレーシア、インドネシア、タイ、ベトナム、米国、カナダ、オーストラリア、ニュージーランド、EU、ロシア、アラブ首長国連邦)が設定する MRL が調査されている。

本年度の研究では、対象とする農産品にいちごを選択し、国産いちごの農薬残留物検査データと上記国・地域において設定されている MRL とを比較した。いちごを対象に MRL 設定されている農薬は 287 種あり、このうち検査されていた農薬は 235 種、検査されていない農薬は 52 種であった。

台湾においては、MRL 設定されていない残留物は不検出とされている。シンガポールは、Codex 委員会が設定する MRL を自国の MRL として採用しており、Codex 委員会が MRL を設定していない残留物は含まれてはならないとされている。ベトナムも同様に、Codex 委員会が設定する MRL を自国の MRL として採用しており、Codex 委員会が MRL 設定していない農薬が残留する食品は輸入を認めないとされている。タイにおい

ては、MRLとして不検出であることが規定されている農薬がある。米国並びにオーストラリアは、MRL設定されていない残留物は不検出としている。以上、多数の国が実施する農薬残留物規制に、不検出とする規定が含まれている。しかし、これら不検出として規定された残留物を分析対象化合物とする分析法の定量下限値(LOQ)あるいは検出下限値(LOD)が不明である。そのため不検出規定の場合に検査データと比較する指標値の基本を、0.005 mg/kgとすることにした。この値は、Codex委員会におけるMRL設定において、分析法のLOQ未満の作物残留試験データしか得られなかった場合にデフォルトとされる0.01 mg/kgの1/2の値である。しかしMRLとしてより低い値の設定があることが確認された場合には、該当するMRLの1/2の値を指標とした。

分析法の真の性能あるいは証明されている性能によっては、検査結果としては不検出と判断されるが、実際には残留物を含んでおり場合によってはその濃度がMRLを超過していることも考えられる。例えば、MRLに設定された値よりも高いLODの分析法で分析すれば、検査における判定は不検出となるが、より低いLODの分析法で分析すれば、実際に

はMRLを超過していたことが明らかになる可能性もある。解析した検査データには、LOQの情報が付随していた。そこでこのLOQの情報を利用し、その1/2の値が分析結果として得られたことを仮定したMRLとの比較も行った。

### B-3. 国際的な残留物濃度データのデータベース化

作物残留試験により得られた農薬残留物濃度の国際的なデータとして、JMPRが作成する評価書(JMPR Evaluations)によって公開されているデータに着目した。

1993年以降に発行されたJMPR Evaluationsは、FAOのウェブサイトから入手可能である。本研究ではそのうち2018年に発行されたJMPR Evaluationsを入手した。残留物濃度データの報告のされ方は、評価者によってすなわち農薬によってある程度の多様性を有するため、まず始めに主要情報の欠損を防いで残留農薬データを整理するための様式(データベース化のための様式)について検討した。その後、JMPR Evaluationsからのデータ抽出と様式を使用した整理を実際に行い、データベース化を試行した。

### C. D. 結果及び考察

## **CD-1. QuEChERS 法の厳密な性能評価**

### **CD-1-1. 結果**

#### **管理用試料の分析**

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

#### **農薬残留物の安定性の評価**

本研究で使用したインカード試料は、2019年の秋から冬にかけて採取され、試験所に送付するまでの期間は、有姿の状態で凍結保存(-30℃以下)された。試験所送付後に分析用試料として調製され、-30℃以下の条件で保存された。

ここでは、分析用試料として調製されてから分析に供されるまでの期間をシミュレートして、農薬残留物の安定性を評価した。調製した凍結保存安定性試験用試料を、インカード試料と同一の保存条件(-30℃以下)で保存した。保存後、0日、5日及び10日目に保存試料の一部を取り出し、分析した。

#### **インカード試料の分析を通じた**

#### **QuEChERS 法の性能評価**

公示分析法2種(公示一斉分析法及び公示個別分析法)及び、QuEChERS法によりインカード試料を分析した。QuEChERS法により分析する試料の調製方法として、公示分析法と共通

する細切混合の方法(QuEChERS用試料1)とさらに凍結粉碎する方法(QuEChERS用試料2)を検討した。分析する試料の点数は5点を基本としたが、作成されたインカード試料の量の制限を踏まえ、チンゲンサイ及びホウレンソウ試料を対象とした公示分析法による分析点数は3点とした。

### **CD-1-2. 考察**

インカード試料の使用は、本研究のキーファクターの1つである。日常的に行われる分析法の性能評価では、実行可能性を踏まえて添加試料が使用される。しかし、分析対象化合物の検出が認められない試料(コントロール試料)に分析対象化合物の標準品を添加して調製する添加試料には、農産品における農薬残留物の存在状態が正確に反映されていない可能性がある。例えば、通常の作物栽培において農薬が投与された場合には、植物による代謝の結果として農産品の成分であるタンパク質や糖とのコンジュゲートが形成される場合がある。しかし添加試料では、これらコンジュゲートを再現することができないと考えられる。また農薬等の転流や浸透移行の結果として、組織あるいは細胞によって農薬残留物の濃度に異なりが生じる可能性がある

が、添加試料においてその異なりを再現することは難しい。

日常的な分析法の性能評価における添加試料使用の前提は、評価対象となる分析法の抽出力に疑問がないことである。残留物がコンジュゲート等を形成していたとしても、それらを抽出するために必要な物理化学的な能力(熱や溶媒の極性等)は十分であることが仮定される。明確に意識されることは少ないかも知れないが、このことを仮定とするからこそ、添加試料の分析結果から性能パラメータ(回収率や精度)を推定し評価することができる。

本研究においては、国際標準のMRL 設定やインポートトレランス申請に必要であることから、従来の分析法の性能とも比較しながら、QuEChERS 法の性能を厳密に評価することを目的とした。この厳密な性能評価には、インカード試料の分析が必要である。しかし、本研究は正式には 2019 年の 11 月に開始され、研究終了期限は 2020 年 3 月であった。そのため、インカード試料作成に必要な、作物栽培期間を十分に設けることはできなかった。また、適切なインカード試料を作成するための作物栽培管理方法の検討も不十分とならざるを得なかった。そのため、本研究に使用することのできるインカード

試料は 3 種の葉菜類に限定されまた、その量も十分ではなく、変則的な分析計画を採用せざるを得なかった。今後の研究は、分析法の性能を評価するために、適切な作物種並びに量の要件を満たしたインカード試料の作成をまず検討した上で進める予定である。

### 管理用試料の分析

本研究で使用したインカード試料の作成では、分析法の性能評価が可能な程度に残留物濃度が高値になることを期待して、過剰量の農薬を投与し収穫までの期間を短くした。残留物濃度が高値になることが期待されるインカード試料から得られる分析値の品質保証を目的としたため、管理用試料における残留物濃度も、意図的に相当程度高くなるように設定した。具体的には全分析対象化合物を通じて、コマツナとチンゲンサイの管理用試料では 2.5 mg/kg、ホウレンソウの管理用試料では 1.0 mg/kg の濃度になるよう設定し調製した。

アゾキシストロビン、ピリダリル、ペンチオピラド、メタフルミゾン(*E*-異性体)及びメタフルミゾン(*Z*-異性体)の回収率は、全ての管理用試料と分析法の組合せを通じて 91~111% の範囲に含まれた。これらの結果から、試料調製手順を含む分析が適正

に実施されていることが確認され、インカード試料から得られた分析結果を解析する上で問題のないことが判明した。

管理用試料を 2 併行分析した結果ではあるが、アゾキシストロビン及びペンチオピラドを対象とする公示一斉分析法と個別分析法により得られる値には、若干大きな乖離が認められた。いずれの分析対象化合物の場合にも、個別分析法の回収率が一斉分析法の回収率に比べ約 10%高く、より 100%に近い値となっている。2 つの分析法の回収率は 70~120%の範囲に含まれ国が設定する分析法の性能規準を満たしているため、食品衛生法下で実施される検査に使用することは妥当である。しかし一方で、これら 2 つの分析法により同一試料を分析した場合には、分析値に上記の乖離が生じる可能性があることについて、留意すべきであろう。個別分析法は各分析対象化合物により特化した分析法として設計され、精製効果も高く、より高い性能を達成しているものと考察される。そこで本研究におけるインカード試料の値付けには、個別分析法により得られた結果を用いることとした。

本研究において選定した分析対象化合物のうち、メタフルミゾン代謝物 D については、検討した試料と分

析法との組合せを通じて、回収率が 19%~85%と大きく異なる結果となった。チンゲンサイを公示分析法により分析した場合にのみ、70%を超える回収率(85%)が得られているが、その他の試料と分析法との組合せから得られた回収率は 70%を下回っている。2 併行分析結果はよく一致しているが、比較的類似したマトリクスを持つと考えられる葉菜類の間、特にコマツナとチンゲンサイの間でも回収率が大きく異なる。実験計画上、取得された分析値の数が少ないため結論することはできないが、評価にあたり留意する必要性が示された。

### 農薬残留物の安定性の評価

保存した分析用試料中での農薬残留物の安定性を評価するために、細切混合したハウレンソウをマトリクスとした添加試料をインカード試料と同一条件(-30℃)で保存後、0 日、5 日及び 10 日目に分析した。その結果、アゾキシストロビン、ピリダリル、ペンチオピラド、メタフルミゾン(*E*-異性体)及びメタフルミゾン(*Z*-異性体)の分析値は顕著に変化せず、保存開始後 10 日目の残存率は 97%以上であった。以上の結果から、インカード試料を分析用試料として調製した後の保存により、残留物濃度に顕著な変化がないことが確認された。一方、

メタフルミゾン代謝物 D の分析値は、保存期間を通じて大きく減少傾向にあり、残存率は、5 日目で 46%、10 日目には 35%となった。そのため、インカード試料中のメタフルミゾン代謝物 D の分析は実施するが、その結果を評価しないことを決めた。

### インカード試料の分析を通じた QuEChERS 法の性能評価

先述の通り、管理用試料の分析結果に基づく考察を踏まえ、公示個別分析法により得られた分析結果によって、コマツナ、チンゲンサイ及びホウレンソウのインカード試料における各残留物濃度を値づけした。ただし、メタフルミゾン代謝物 D を除く。各インカード試料における残留物濃度の付与値は以下の通りである。

- ・アゾキシストロビン：コマツナ;7.48 mg/kg、チンゲンサイ;5.42 mg/kg、ホウレンソウ;14.5 mg/kg。
- ・ピリダリル：コマツナ;8.22 mg/kg、チンゲンサイ;7.26 mg/kg、ホウレンソウ;9.13 mg/kg。
- ・ペンチオピラド：コマツナ;31.6 mg/kg、チンゲンサイ;37.7 mg/kg、ホウレンソウ;22.6 mg/kg。
- ・メタフルミゾン(E-異性体)：コマツナ;37.6 mg/kg、チンゲンサイ;26.1 mg/kg、ホウレンソウ;41.1 mg/kg。
- ・メタフルミゾン(Z-異性体)：コマツ

ナ;13.8 mg/kg、チンゲンサイ;9.42 mg/kg、ホウレンソウ;12.4 mg/kg。

値付けしたインカード試料は、検査手順に沿って細切混合試料(QuEChERS 用試料 1)及びさらに追加操作をして凍結粉碎試料(QuEChERS 用試料 2)として調製し、それぞれ QuEChERS 法に従い分析した。以下、分析対象化合物ごとに結果について考察する。

#### アゾキシストロビン

コマツナ、チンゲンサイ及びホウレンソウのいずれが試料となる場合であっても、QuEChERS 用試料 1 及び 2 のそれぞれから付与値に近い分析値が得られた。QuEChERS 用試料 1 に比較して、わずかではあるが QuEChERS 用試料 2 から得られる分析値が高値になる傾向が観察された。

#### ピリダリル

コマツナとチンゲンサイから QuEChERS 法により得られた値は、付与値に比べて若干低値となった。特に細切混合試料(QuEChERS 用試料 1)の分析値は低く、それらの付与値比率は 84%(コマツナ)と 78%(チンゲンサイ)となった。凍結粉碎試料(QuEChERS 用試料 2)から得た分析値は QuEChERS 用試料 1 から得た分析値に比べより付与値に近く、付与値比率は 95%(コマツナ)と 86%(チンゲンサイ)となった。付与値は細切混合



試料を公示個別分析法により分析した値に基づいている。使用した分析値の数が十分ではないため、付与値の確からしさをより高めることも必要である。一方で、コマツナ(チンゲンサイ)とピリダリル残留物の組合せについては、QuEChERS法の抽出力が公示個別分析法の抽出力に比べて低く、この抽出力の差が試料の凍結粉碎によって見かけ上補われている結果であると解釈することもできるだろう。分析法の性能としては顕著な差ではないが、QuEChERS法の特性を明らかにする上では、今後開発されるインカード試料を用いた検討においても、注視すべき現象である。なお、ハウレンソウが基材のインカード試料からは付与値に近い値(对付与値率として96%と101%)が得られている。QuEChERS用試料1に比較して、わずかではあるがQuEChERS用試料2から得られる分析値が高値になる傾向は、アゾキシストロビンと同様である。

#### ペンチオピラド

コマツナ、チンゲンサイ及びハウレンソウのいずれが試料となる場合であっても、QuEChERS用試料1及び2のそれぞれから付与値に近い分析値が得られた。先に考察した2つの農薬同様、QuEChERS用試料1に比較して、わずかではあるが

QuEChERS用試料2から得られる分析値が高値になる傾向が観察された。メタフルミゾン

メタフルミゾンE体及びZ体ともに、コマツナ、チンゲンサイ及びハウレンソウのいずれが試料となる場合であっても、QuEChERS用試料1及び2のそれぞれから付与値に近い分析値が得られた。

メタフルミゾンの食品衛生法食品規格に基づく基準値は、農産物にあつてはメタフルミゾン(E体)、メタフルミゾン(Z体)及び代謝物Dをメタフルミゾンに換算したものの和とされていることから、保存安定性の観点から適正な分析値を得ることができないことが明らかとなった代謝物Dを除くE体及びZ体の分析値を合算した。その結果、合算値も付与値に近い値となることが確認された。Z体に比べE体の濃度が2~3倍程度高いため、合算値への寄与も当然高くなる。保存安定性の低さが明らかとなったため確実とは言えないが、インカード試料から得られた代謝物Dの濃度は、E体及びZ体の濃度の1/100程度であり、合算値への寄与は極めて小さいと考えられる。

先に考察した農薬と同様に、QuEChERS用試料1に比較して、わずかではあるがQuEChERS用試料2から得られる分析値が高値になる傾

向が観察された。

### CD-1-3. まとめ

葉菜類におけるアゾキシストロビン、ピリダリル、ペンチオピラド及びメタフルミゾンの残留物を対象に、QuEChERS 法の性能の厳密な評価を試みた。

公示個別分析法の分析結果に基づき、コマツナ、チンゲンサイ及びホウレンソウのインカード試料におけるアゾキシストロビン、ピリダリル、ペンチオピラド、メタフルミゾン(*E*-異性体)及びメタフルミゾン(*Z*-異性体)濃度の値付けをした。そのうえで、公示された検査手順に含まれる細切混合法と、凍結粉碎法により分析用試料を調製し、QuEChERS 法により分析した。その結果、保存安定性が低いことが明らかとなったメタフルミゾン代謝物を除き、付与値に近い分析値(对付与値率；86%~110%)が得られることが明らかとなった。また、全てのマトリクスと分析対象化合物の組合せを通じて、分析用試料の調製方法として、細切粉碎に比べ凍結粉碎を用いた場合に、分析値がより高値になる傾向が見られた。

今後、物理化学的特性の異なる農薬と異なるマトリクスを持つ作物との組合せ数を増加させる等してより詳細な検討を重ねることにより、

QuEChERS 法をインポートトレランスにおいて諸外国に示すことが可能になると同時に、わが国における国際標準の MRL 設定や、規制のために用いられる 1 つの分析法としての課題解明にも大きく貢献するものと考ええる。

### CD-2. 残留物実態濃度に基づく海外 MRL への適合度の検証

国産のいちごにおける農薬残留物の濃度が、海外政府が設定した MRL の値を超過する可能性のある検査件数を推定した。ただし、国内登録された農薬の使用基準に沿って農薬が使用されていたのであろうことには、あらかじめ言及しておく。

2013 年~2017 年にかけてわが国において実施された検査において、国産いちごにおける農薬残留物の濃度が、海外政府が設定した MRL の値を超過した数が 10 件以上の農薬は、アセタミプリド、イミダクロプリド、エトキサゾール、クレソキシムメチル、ジフェノコナゾール、シフルフェナミド、シメコナゾール、チアクロプリド、テトラジホン、テブフェンピラド、トリフルミゾール、フェナリモル、フルフェノクスロン、プロシミドン、メパニピリム、ルフェヌロンであった。国内検査の結果としては不検出と判断されるが、設定されている

LOQ の 1/2 の値が MRL を超過した数が 10 件以上の農薬は、BHC、DDT、アクリナトリン、アトラジン、アラクロール、アルドリン及びディルドリン、イソキサチオン、ウニコナゾール-P、エチオン、エトリジアゾール、エンドスルファン、エンドリン、オキサジキシル、オキサミル、カズサホス、カルフェントラゾンエチル、カルボフラン、キナルホス、キノキシフェン、キノメチオナート、キントゼン、クレソキシムエチル、クロピラリド、クロマゾン、クロルピリホスメチル、クロルフェナピル、クロルフェンビンホス、クロルプロファム、シアノホス、ジエトフェンカルブ、シハロトリン、シフルトリン、シプロコナゾール、シペルメトリン、シマジン、シメコナゾール、ジメトエート、テクナゼン、テトラコナゾール、テトラジホン、テブフェンピラド、テフルトリン、テルブホス、トリアジメノール、トリアジメホン、トリアレート、トリデモルフ、トリフルラリン、トルクロホスメチル、ナプロパミド、パラチオンメチル、ビテルタノール、ピリダベン、ピリプロキシフェン、ピリミフェジン、ピリミホスメチル、ピリメタニル、ビンクロゾリン、フェナミホス、フェニトロチオン、フェンバレレート、フェンプロピモルフ、ブタミホス、ブプロフェジン、フルシトリネー

ト、フルトラニル、フルバリネート、プロシミドン、プロチオホス、プロモプロピレート、ベナラキシル、ペルメトリン、ペンコナゾール、ペンディメタリン、ホスチアゼート、ホスメット、ホレート、マラチオン、メチダチオン、メトキシクロール、レナシルであった。これらの農薬を対象とした MRL としてわが国が設定する値に比べて、海外政府により設定された値がかなり低い場合がある。実際の残留物の濃度は不明であるが、分析法性能の保証水準が不適切となり、判定の合理性が低下する場合といえる。実際の残留物濃度が MRL の値を下回っていることが前提となるが、適切な LOQ(あるいは LOD。規制上の取扱の整理が必要)をもった分析法を用いて分析しなければ、判定の合理性は低くなる。つまり MRL の値に依じて、その値を下回る濃度を LOD とする分析法を用いて検査することが、相手先国の MRL への適合を証明し輸出するためには必要である。

### CD-3. 国際的な残留物濃度データのデータベース化

JMPR Evaluations により公開された作物残留試験データを整理するに当たり、データベース化後の利用を踏まえ、作成するデータ様式の項目には以下を設定することとした。①

農薬名、②作物名、③実施国名、④実施地域名、⑤実施年、⑥剤型、⑦農薬使用方法の ID、⑧投与回数、⑨投与率、⑩分析部位、⑪投与後日数、⑫残留物、⑬データタイプ、⑭データ(分析結果)、⑮JMPR Evaluations 中での掲載頁、⑯その他の情報。

上記項目のうち、⑦農薬使用方法の ID は、同一の農薬使用方法を特定するための指標として追加した項目である。しかし、作物残留試験ごとのわずかな使用方法の違いを区別したために ID 数が大きくなった。利用可能な作物残留試験データの絞り込みを容易にするためにも、25%の変動範囲にある使用方法には同一 ID をつける等して、さらに整理することを検討できるかも知れない。⑬データタイプは、分析値が報告されている場合、報告されていない場合、LOQ

未満として報告されている場合の 3 通りを識別するために追加した項目である。このデータ様式の外、提供された各国 GAP の情報と上記⑦の農薬使用方法の ID に対応する具体的な農薬使用方法をまとめた表を作成した。

1つの農薬に対して1つのエクセルファイルによりデータは整理した。農薬名をエクセルファイル名としており、解析が必要なデータはエクセルファイル名で検索することができる。アクセス等のソフトウェアについてデータベースを構築することについても考察したが、現状のデータ様式であればエクセルファイルにより区別しファイルを蓄積することでも使用上の不具合は無いと考える。

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

#### A. 研究目的

財務省の令和元年度貿易統計(令和 2 年 4 月 20 日)によると、輸出額は 75 兆 8800 億円、輸入額は 77 兆 1713 億円となっており、輸出から輸

入を差し引いた貿易収支は 1 兆 2913 億円の赤字になっている。わが国は 1981 年から 30 年連続して貿易黒字が続く貿易立国であったが、2011 年の東日本大震災発生を機に貿易赤字

を記録するようになった。農林水産物の輸入額は 9.5 兆円、輸出額 0.9 兆円で、純輸入額が 8.6 兆円にもなり、世界一の農林水産物純輸入国となっている。このような状況を是正するために令和元年度に農林水産物及び食品の促進に関する法律が制定され、令和 2 年 4 月より施行された。本法律の中で、輸出拡大のための課題の 1 つとして「輸出先国の食品安全等の規制への対応」が挙げられている。例えば、国内の農産品等の輸出先国において、該当する品目に農薬等の MRL が設定されていない場合や、設定されていたとしてもその値がわが国において設定されている値に比べ低い場合がこれにあたる。

農薬等の MRL は、第一に農業における必要性を踏まえて設定されるものであるが、農産品等の輸出推進にも大きな影響を与えるため、可能であれば多くの国で受け入れられるよう適切な根拠をもとに設定されるべきである。また場合によっては、生の農産品だけでなく、それらを原料とする農産加工品についても、精密な暴露量の推定や MRL 設定の必要性を検討しなければならない。しかしそのために必要な加工試験は、世界規模で輸出入される主要な農産加工品に関してのみ実施されているのが現状である。

そこで本研究では、わが国からの輸出可能性が高く特有の農産加工品の原料となる農産品を対象とし加工試験を行い、加工係数を算出することを目的とした。具体的課題として、わが国の主要農産品である米を原料としたこめ油の加工係数の算出を取り上げ、本年度は、植物油脂の一般的な製造方法の工程のうち原料から原油までの製造について予備検討を行った。

## B. 研究方法

### 1. 製造環境の確認

本研究では、研究課題 1 で作製したインカード試料の一次加工/または保管を目的としている。そのため、一次加工する製造環境中からの汚染がないこと、試料保管施設の温度が適切であることが求められる。そこで製造環境中の農薬試験及び試料保管用の冷凍庫の温度モニタリングを行った。

### 2. 農薬の分析法

#### 2-1. 試薬

アセトニトリル、ヘキサンは残留農薬試験用濃縮 300 を使用した。メタノールは残留農薬試験用濃縮 300 又は試薬特級を使用した。トルエン、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナ

トリウム、2-プロパノールは試薬特級を使用した。リン酸トリフェニルは和光一級を使用した。超純水はLC/MS用を使用した。1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液は HPLC 用を使用した。

グラファイトカラムは InertSep GC(500mg/20mL)(GL サイエンス製)を使用した。濾紙は ADVANTEC 5A を使用した。

エトフェンプロックス標準品(純度 95%以上)は林純薬工業製を、フルトラニル標準品(純度 98.0%)は富士フィルム和光純薬工業製を、ジノテフラン標準品(純度 99.0%)は富士フィルム和光純薬工業製を使用した。

## 2-2. 試液等

・0.2 mg/mL リン酸トリフェニル：リン酸トリフェニル 100 mg をアセトニトリルで 100 mL に定容し、1 mg/mL リン酸トリフェニルを調製した。この液をアセトニトリルで 5 倍希釈し、0.2 mg/mL リン酸トリフェニルを調製した。

・アセトニトリル/トルエン(3:1)：アセトニトリル 750 mL にトルエン 250 mL を加えて調製した。

・エトフェンプロックス標準原液：エトフェンプロックス 10 mg をアセトンに溶解して 100 mL に定容し、

100 mg/L 溶液を調製した。

・ジノテフラン標準原液：ジノテフラン 10 mg をアセトニトリルに溶解して 100 mL に定容し、100 mg/L 溶液を調製した。

・フルトラニル標準原液：フルトラニル 10 mg をアセトンに溶解して 100 mL に定容し、100 mg/L 溶液を調製した。

・検量線用標準溶液：エトフェンプロックス標準原液、ジノテフラン標準原液及びフルトラニル標準原液各 1 mL をアセトニトリルで 100 mL に定容し、1 mg/L の混合標準溶液を調製した。この液をアセトニトリルで希釈し、0.1 mg/L 混合標準溶液及び 0.05 mg/L 混合標準溶液を調製した。さらに希釈し、1、5、10、25、50 µg/L の混合標準溶液を調製し、検量線用標準溶液とした。

## 2-3. 抽出方法

### 2-3-1. 抽出

ふき取り液全量(9.6 g)に内部標準として 0.2 mg/mL リン酸トリフェニルを 50 µL 加え、アセトニトリル 60 mL、無水硫酸マグネシウム 20 g を入れて、薬さじで軽く攪拌した後、30 分以上静置した。氷冷下で 8,000 rpm、3 分間ホモジナイズした後ろ過し、残渣をアセトニトリル 20 mL で 2 回洗

浄した後、吸引ろ過を行い、抽出液 1 とした。

### 2-3-2. 精製

抽出液 1 の全量にアセトニトリル飽和ヘキサン 50 mL を加え、15 分間振とう抽出を行い、その後 15 分以上静置し、下層(アセトニトリル層)を分取し、抽出液 2 とした。予めアセトニトリル 10 mL で洗浄した InertSep GC に抽出液 2 を全量負荷し、溶出液をなす型フラスコに採取した。アセトニトリル/トルエン(3:1)15 mL でカラムを洗浄し、溶出液を同じなす型フラスコに採取した。最後にメタノール 15 mL でカラムを洗浄し、溶出液を同じなす型フラスコに採取した後、37 °C のロータリーエバポレーターで溶媒留去した。

### 2-3-3. 定容

残留物をアセトニトリル 4 mL に溶解し、遠心分離した上清を試料溶液とした。

### 2-3-4. 液体クロマトグラフータンデム型質量分析計測定条件

機種 : Agilent 製 6470 TripleQuad LC/MS

カラム : GL Sciences 製 InertSustain

C18 HP 3 $\mu$ m、内径 2.1 mm、長さ 150 mm

移動相 : 2.5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液とメタノールのグラジエント

流量 : 0.3 mL/min

カラム温度 : 40 °C

注入量 : 2  $\mu$ L

イオン化モード : ESI 正イオン検出

コリジョンガス : 窒素

コリジョンエネルギー : 8 eV(エトフェンプロックス)、4 eV(ジノテフラン)、16 eV(フルトラニル)

質量数 :  $m/z$  394.2 $\rightarrow$ 177.1(エトフェンプロックス)、 $m/z$  203.1 $\rightarrow$ 129.1(ジノテフラン)、 $m/z$  324.1 $\rightarrow$ 262.0(フルトラニル)

### 2-3-5. 定量

検量線用標準溶液の各 2  $\mu$ L を液体クロマトグラフータンデム型質量分析計に注入し、ピーク面積から検量線を作成した。

試料溶液 2  $\mu$ L を液体クロマトグラフータンデム型質量分析計に注入し、検量線及び得られたピーク面積から、試料溶液中の物質の濃度を求めた。

## 3. こめ原油の製造

加工係数を算出するための加工試験では、本来インカード試料を用い

なければならない。しかし本年度の研究では、コメインカード試料を入手することができなかった。そこで、産業的な製造を模した製造が可能か確認するために、市販のこめ糠を原料として、こめ原油の製造についてプラントスケールで予備検討を行った。こめ原油の製造は、日本ハム株式会社 中央研究所で実施した。

植物油を産業的に製造する場合には、原料の油分に応じて圧搾法または抽出法が用いられる。こめ油の製造については、製造業者によっていずれの方法を選択するかが異なることが明らかとなった。今回の加工試験では、所有する製造設備に合わせ、抽出法を選択した。こめ原油を抽出するための溶媒には、産業的に用いられているヘキサンを採用した。

米ぬか(約 2.4 kg)を縦型ミキサー(マイティ S90;愛工社製作所製)に投入し、ヘキサン 9 L(5.89 kg)を加え 2 時間攪拌後、一晚静置した。その後目開き 2、1、0.3 mm の 3 種のメッシュでろ過を行いこめ油/ヘキサン画分を得た。この画分の溶媒を留去し、こめ原油を得た。

## C. D. 結果及び考察

### 1. 保管設備の温度モニタリング

温度記録計(株式会社シロ産業 ;

MI1TP-251-FRM)を用いて研究課題 1 で作成したインカード試料の保管を開始時から 6 時間毎に冷凍保管庫の温度モニタリングを行った。その結果、保存期間中の最も高い温度は  $-14.0^{\circ}\text{C}$ 、最も低い温度は  $-21.3^{\circ}\text{C}$  であり、試料保管設備の温度は問題ない事が確認できた。

### 2. 製造環境の農薬検査

こめ原油製造中に環境から試料への汚染がない事を確認するために、製造に使用する機材をふき取り、そのふき取り水を試料として農薬分析を行った。ふき取りを行った機材は、抽出作業に使用する縦型ミキサー、ろ過に使用する 3 種のメッシュのうち目開き 2 mm、1 mm の 2 種、ろ液を受けるステンレス製容器の計 4 箇所とした。分析対象化合物にはエトフェンプロックス、フルトラニル、ジノテフランの 3 種の農薬を選択した。分析の結果、3 種の農薬とも製造環境中からは検出されなかった。このことから、製造環境中の農薬汚染がないことが確認出来た。

### 3. こめ原油の製造

2.42 kg のこめ糠から 0.2 kg のこめ原油を得た。その収率は 8.3 %であった。日本食品標準成分表には、こめ



糠の脂肪は 19.6 %と示されているため、2.42 kg 中に含まれる標準的な脂肪量は 0.47 kg と試算される。この試算値を元に計算した予備検討時の脂肪回収率は 42.6 %であった。試算値に比べ少量のこめ原油しか得られず、回収率が低値となった原因として、ヘキサン抽出後のろ過においてメッシュ上に残ったこめ糠の質量が 4.32 kg であり、こめ糠の初期量 2.42 kg より約 2 kg 程度増加していることから、油脂を含んだヘキサンがこめ糠とともにメッシュ上に残り、回収されなかったことが考えられる。次回

以降の加工試験においては、メッシュ状に残るこめ糠をガーゼで絞る、または複数回の抽出操作を行う等の改善が必要である。

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

### A. 研究目的

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

の申請が必須である。

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

農林水産省はこれまで、輸出対象作物の MRL が輸出先国に設定されていない場合、厚生労働省が食品衛

生法に基づいて設定した基準値(MRL)を、輸出先国に受け入れることを依頼してきた。しかし、作物残留試験の例数が2例では、海外先進国でMRLを設定するには不十分とされており、追加の作物残留試験のメーカーによる実施に対して資金援助をしてきた。そのことに関して、作物残留試験の実施についてOECD GuidelineやGuidance Documentが策定されていることを知らず、データの作成や報告書の作成についてもメーカーに任せていた状態であった。また、世界貿易機関のSPS協定(Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures)で明記されているCodex委員会において採択されたMRL(Codex MRL)の取得についての知識もなかった。

今後、欧米でインポートトレランスを取得するためには、JMPRや欧米諸国がどのように農薬のMRLを設定しているのか、これまでわが国のメーカーがJMPR等に提出したデータにどのような問題点があったのかをしっかりと理解し、改善する必要がある。さらに、作物残留試験が共通であっても、MRL設定及び暴露評価それぞれの目的に応じた残留物の定義が国ごとに異なれば、MRLや暴露評価により推定される安全性の程度が異なる結果となることがありうる。つまり、世界標準で残留物の定義を決定できることが、国内におけるMRLの策定並びにCodex MRLとインポートトレランスの取得に不

可欠である。

現在、OECD Working Group on Pesticides傘下のResidue Chemistry Expert GroupのサブグループであるDrafting group on Definition of Residueが、残留物の定義に関するガイドラインを策定中であるため、日本の状況を科学的に適切であれば、ガイドラインに反映するため及び、ガイドラインが設定されればそれ国内のMRL設定のガイドラインにも反映できるよう、Drafting Groupの会議に積極的に参加する。

## B. 研究方法

### 1. 農林水産省生産局における果実・茶の輸出促進を担当する職員に対するインポートトレランスに関する研修

これまで農林水産省生産局の輸出促進担当者は、食品衛生法に基づく農薬のMRLは世界一厳しく、インポートトレランスの取得とは、輸出先国にわが国のMRLを受け入れさせることと考えていた。しかし先進諸国の中で、作物残留試験2例でMRLを設定しているのはわが国以外にない。2例では統計的な解析は不可能であるからである。また、わが国の散布剤の使用基準は特殊であり、輸出先国のラベルに合わせて情報を提供すると、MRLの設定に悪影響があり得る。また、内規表を使用してMRLを設定するのが一般的と誤解しており、作物残留試験の例数が増えるほどMRLの値が小さくなると誤解して

いた。OECD Calculator は残留物の濃度分布を考慮して MRL を導出するため、ばらつきが大きいほど、作物残留試験のうち一番大きい 1 つの数値しか考慮に入れない内規表に比べて、より大きい MRL が導出される。

そこで生産局の担当者を対象に、まず、JMPR や欧米等先進国における MRL 設定の科学的常識について講義をするとともに演習を実施した。さらに、これまでわが国のメーカーが JMPR や欧米諸国に提出した資料の問題点や欠けているデータなどを明示し、改善策を提案した。

## 2. OECD Working Group on Pesticides 傘下の Residue Chemistry Expert Group の Drafting group on Definition of Residue への参加

当該の Drafting Group は 2018 年に設置され、2018 年 12 月にジュネーブで会合を持ち、今後検討すべき論点を検討した。当該 Drafting Group は、残留物の定義にどのような代謝物をどのような理由で含めるのかについてガイドラインを作成することを目的としている。令和 2 年 3 月 9-11 日にパリで会合が予定されており、それに向けて Video 会議アプリ (Zoom) による全体会議がほぼ 1.5 か月に 1 回の頻度で開催されていた。それに参画した。また、2 月半ばから、残留グループも独自に月 1 回の Zoom 会合を開始した。

Covid-19 のフランスをはじめとするヨーロッパにおける蔓延のため、

上記会合は 1 日 4 時間、3 日間の Zoom 会議となり、それに参加した。それ以降も、上記に示すのと同じ頻度で Zoom 会議が開催されているので、それに参画して、適宜発言している。

## C. D. 結果及び考察

### 1. 農林水産省生産局における果実・茶の輸出促進を担当する者に対するインポートトレランスに関する研修

研修の実施は以下の通り。毎日 2 時間、講義と演習を実施した。

日	講義内容 (演習内容)
2019 12/03	国際対応に必要な農薬の基礎知識(基準値の推定と暴露評価)
12/04	代謝試験の Residue definitions
12/06	(代謝試験の評価と Residue definition の決定)
2020 2/12	Import tolerance-EU, JP-
2/13	(GAP の記述)
2/14	MRLs の推定ー試験の妥当性のチェック (同内容の演習)

2/20	提出データの 問題及びデー タの読替え (同内容の演習)
------	---------------------------------------

改善点として、以下を提示した

- (1) 追加の作物残留試験の実施に関して
  - (ア)メーカーの勉強会の実施(厚生労働省と農林水産省生産局の協力)
  - (イ)優先度の高い農薬について、輸出される作物の追加作物残留試験の結果を含めて、すべての作物残留試験のデータを厚生労働省に提出。国際的に整合する試験例数を用いて、OECD Calculatorにより、国際的に通用するMRLの設定が可能。厚生労働省との協力が必須。
- (2) EUその他輸出先国(アジアは除く)に対して、茶や茶の浸出に関する情報を提供。チャノキが樹木であることや荒茶の製法などは欧米政府にはあまり認識されていない。
- (3) 茶の浸出については、厚生労働省が加工試験と位置づけ、現実的な浸出方法を勧告。

## 2. OECD Working Group on Pesticides 傘下の Residue Chemistry Expert Group の Drafting group on Definition of Residue への参加

現在まで、すでに規制用(MRL設定用)の残留物の定義は、簡略であること、可能なら親化合物のみにするこ

と、規制のための分析が容易・迅速に実施できること、などで合意がある。一方、暴露評価用(リスク評価用)の残留物の定義については、未だに細部にわたる合意はない。現在の議論のポイントは以下の通り。

- (1) どのようにして、残留物の定義に入れる代謝物を決定するか
  - >10% TRR と 0.01 mg/kg というカットオフ値がすでに使われているが、それを AND の条件で使うか OR の条件で使うかについては合意がなく、残留物の定義に含む代謝物の数が大きく異なることが認識されている
  - %Lead contributor や cumulative contributor などの新しい概念を導入するかどうか
  - 暴露評価で総暴露量の何%までカバーすれば、十分な安全性を確保したことになるのか(80%、85%またはそれ以上?)
  - 濃度が上述のカットオフ値に整合しなくても親化合物を含むべきか
- (2) 作物残留試験や動物飼養試験で分析されていないが、代謝試験では検出され、毒性的に暴露の検討が必要な代謝物について、どのようにその濃度を暴露評価用に推定するか
  - Convesion factors の利用により、代謝試験における親化合物と代謝物の濃度比及び作物残留試験における親化合物の濃度から、必要な親化合物+代謝物の濃度

を計算

- Conversion factor は代謝試験がどのような条件のもとに実施された場合に使えるのか
- Conversion factor は代謝試験の数だけ計算可能であるが、複数ある場合、Median や Mean を使用するべきか、最も合計濃度が高くなる比率を使うのか

(3) それ以外の課題

- 代謝物の毒性
- TTC の利用
- 代謝試験における放射性物質のラベルの位置による影響

**E.健康危険情報(研究班の活動全体を通じて)**

なし

**F.研究発表(研究班の活動全体を通じて)**

**1.論文発表**

なし

**2.学会発表**

なし

**3. 特記事項**

農林水産省生産局インポートトレラ

- 1つの化合物で農薬利用以外に動物用医薬品としての利用もある場合の MRL 設定と暴露評価(優先度は低い)
- 立体異性体(優先度は低い) 等
- スケジュールの再考  
2020 年中に、パリで会合を持ち、ガイドライン作成を完了する予定であったが、Covid-19 のため、多くの政府がリモートワークを実施していることから、スケジュールの再考が必要

ンス勉強会(令和元年 12 月 3 及び 4 日、令和 2 年 2 月 12、13、14、20 日)にて講義・演習の指導

Meeting of the Drafting Group on Definition of Residue (Subgroup of the Residue Chemistry Expert Group, RCEG)(9-11 March 2020, 4 hours each by Zoom)に参加

Zoom meeting of the Drafting Group on Definition of Residue(平均月 1 回 1.5 - 2 時間)に参加

**G.知的財産権の出願・登録状況(研究班の活動全体を通じて)**

なし