

残留農薬にかかわる食品の安全性評価の精密化に関する研究

Study of Precise Estimation of Pesticide Residues
for Food-Safety Assessment

平成 29 年度

論文博士申請者

矢島 智成 (Yajima, Tomonari)

指導教員

石井 一行

第 3 章	作物形態が残留性評価に与える影響	33
第 1 節	仁果類作物における作物表面の形状が 残留性評価に与える影響	33
1.	緒言	33
2.	作物表面の形状の違いが及ぼす農薬残留性への影響	34
3.	リンゴの果梗の基部における内部裂果が 残留農薬の分布へ及ぼす影響	35
4.	小括	36
第 2 節	未成熟トウモロコシの分析部位の違いが 暴露量評価に及ぼす影響	37
1.	緒言	37
2.	未成熟トウモロコシ試料について	38
3.	未成熟トウモロコシ試料における残留農薬の分布	40
4.	分析部位の取り扱いが安全性評価に及ぼす影響	42
5.	小括	44
第 3 節	カブの根と葉の接合部の取り扱いによる 残留試験結果への影響評価	45
1.	緒言	45
2.	カブ試料について	47
3.	カブ試料における残留農薬の分布	47
4.	カブの接合部の取り扱いが残留性評価に与える影響	49
5.	小括	52

総括	53
実験の部	59
1. ハクサイ試料の調製及び残留分析	59
2. ホウレンソウ試料の調製及び残留分析	66
3. 仁果類作物試料の調製及び残留分析	70
4. 未成熟トウモロコシ試料の調製及び残留分析	77
5. カブ試料の調製及び残留分析	84
謝辞	90
引用文献	91

略語

ADI,	Acceptable Daily Intake
ANOVA,	Analysis of Variance
ARfD,	Acute Reference Dose
FAO,	Food and Agriculture Organization
GC,	Gas Chromatograph
GLP,	Good Laboratory Practice
JMPR,	joint FAO/WHO meeting on pesticide residues
LC,	Liquid Chromatograph
MRL,	Maximum Residue Limit
MRM,	Multiple Reaction Monitoring
MS,	Mass Spectrometer
MS/MS,	Tandem Mass Spectrometer
<i>m/z</i> ,	Mass-to-charge ratio
OECD,	Organisation for Economic Co-operation and Development
PHI,	Preharvest Interval
PTV,	Programmed Temperature Vaporization
RSD,	Relative Standard Deviation
SIM,	Selected Ion Monitoring
WHO,	World Health Organization

序論

医薬品も農薬も何らかの生理活性を有する化学物質であり、それらは使用方法や目的が異なるがストレプトマイシンやオキシテトラサイクリンなどの共通する成分もある。同じく化学物質であっても医薬品では主にヒトの疾病に対する治療や予防を目的として、使用する個人が意図して直接的に取り込むが、他方、農薬は農家が農作物の安定した生産・供給のために、意図して環境中に対して投下し、ヒトは農作物を介して、意図せずに間接的に摂取している。つまり、使用する対象が医薬品では限られた範囲の閉鎖系であるのに対して、農薬では不特定多数のヒトが取り込む可能性のある開放系であり対照的なものとなる。医薬品は病気に対して医師の判断と薬剤師の管理指導の下、リスクを超える治療の利益があるとされる時に使用される。医薬品による影響・効果はその個人のみであるが、ある程度のリスクも致し方ない場面も想定される。一方、農薬は万人が意図せずに取り込む可能性があるため、基本的にはヒトへの影響はあってはならないとされる。多くのヒトは農薬に対して「害虫を殺すものだからヒトにも何らかの害がある」や「自然環境に影響を与える」などといった漠然とした「農薬は怖い」という負のイメージが先行し、農薬の使用は望ましくないものと考えがちである。1・4) では、農薬を使用せずに栽培された農作物は生体に悪い影響を及ぼさないのであろうか。野菜や果物といった農作物は先人からの慣例的な感覚で安全なものとして食されてきているだけであり、存在が明らかな天然由来の物質もあれば、そうでない天然物質もある。当然、農作物には我々の健康を保つために必要な栄養素も数多く含

まれているが、農作物を構成する全ての物質の中に毒性の強い天然由来の物質が含まれていないわけではない。身近にあり有名なものでは、ジャガイモの芽に含まれるソラニン、梅や桃などバラ科植物の未熟な果実または種子に含まれる青酸配糖体アミグダリン（体内で加水分解されて青酸を生成）、トウガラシに含まれるカプサイシン、タバコに含まれるニコチンなど様々なものが挙げられる。^{1,5)} キャベツでは毒性をもつ 49 もの化学物質が含まれているという報告⁶⁾もある。農作物を構成する数多くの化学物質は、その全てに対して安全性評価がなされているわけではない。化学物質によるリスクは個々の毒性の強さとその摂取量で評価される。農薬は安全性評価をした上で、ヒト等に影響がないと判断されるように残留基準（食品中の最大残留量、MRL）が厳格に定められてリスク管理されている。適正に使用されていれば、MRL を超えて残留することはないことが知られており、安全性を評価していない化学物質を摂取するよりもリスクが低いとも考えられる。農薬は供給者である農家にとっては病虫害被害による減収被害を抑制できる他、労働時間の削減などの作業の簡素化、農作物の安定した供給といったメリットがあり、また、消費者にとっても安定した供給から農作物を安価に十分量入手できるため、必要不可欠な資材である。近年、我が国における農業就業人口は減少の一途を辿っているうえに、その高齢化は急速に進み、平成 27 年には 65 歳以上の就業者が全体の 6 割を超えている。⁷⁾ このことは社会的な問題ともなっており、農作業の簡素化は国内の生産力を保つために必須となる。また、一般社団法人日本植物防疫協会による報告⁸⁾では、農薬を使用せずに農作物を栽培した場合の平均減収率は、リンゴでは 97%、モモでは 70%、

キャベツでは 67%，キュウリでは 61%などであり，日常的に当たり前のように手に入る野菜や果物の栽培には農薬の使用は不可欠である現状を示している。農薬も登録制度があり，使用実態に即した厳しい安全性評価をされた上で市場に流通している。⁹⁾ 農薬登録に必要な試験成績としては，病虫害や作物に対する薬効・薬害試験やマウスやラットなどを用いた毒性試験，動植物や環境中における代謝試験，適用作物や環境中における残留性試験など多岐にわたる。農作物を通じて農薬を体内に取り込んだ時の影響評価だけでなく，適用作物を対象とした試験や周辺の農作物を含む周辺環境や後作物への影響評価，さらには作業者に及ぼす健康影響も考慮されている。近年の農薬開発は高活性・高選択性・低毒性・易分解性を追求しており，ヒトや環境中への影響がより少なくなるように工夫されている。

その中で，我が国では農作物中に残留する農薬などによる健康影響を抑え，厳しく管理するため，厚生労働省が所管する食品衛生法が制定されている。その中で農薬は，法第 11 条に規定された食品規格として残留基準が示されており，この基準を超えて農薬が残留した食品を市場から排除し，人々に喫食させないことで健康影響を未然に防いでいる。^{10,11)} 農薬の MRL は，農薬の登録時に動物を用いた毒性試験による科学的なデータ，農作物への残留性試験の結果ならびに国民健康・栄養調査による各食品の平均的な摂取量を基に農作物ごとに設定されており，ヒトにおける食の安全・安心に対する拠り所となっている。すなわち，基準を適切に設定することで，過量な農薬の摂取が防がれ，ヒトの健全な食生活が保持されている。我が国では，毒性試験による科学的なデータとしては，一日許容摂

取量（ADI）及び急性参照用量（ARfD）を指標として用いている。ADI は長期的な暴露評価の指標であり、「ヒトがある物質を毎日一生涯にわたって摂取し続けても、現在の科学的知見からみて健康への悪影響がないと推定される一日当たりの摂取量」と定義されており、慢性毒性試験や発がん性試験など様々な動物試験の結果から設定される。他方、ARfD は短期的な暴露評価の指標であり、「ヒトがある物質を 24 時間又はそれより短い時間経口摂取した場合に健康に悪影響を示さないと推定される一日当たりの摂取量」と定義されており、急性毒性試験など短期暴露試験による結果から設定される。^{12,13)} 近年まで、我が国での MRL の設定には ARfD は考慮されておらず、ADI による長期間の経口摂取による健康影響で評価されていたが、短期間の経口摂取による健康影響も懸念されるため、平成 26 年より ARfD による評価も導入されている。ARfD によるリスク評価の導入背景としては、農薬等による食品の汚染事件などが挙げられる。ヒトが高濃度の化学物質を一時に多量に摂取した時に、従来の ADI による毒性評価では過大評価となるため、国際的に FAO/WHO の合同残留農薬専門家会議（JMPR）により定義されている ARfD を登用した。これにより、慢性毒性及び急性毒性の両側面から、消費者に対する安全性を担保し、MRL 設定の根拠となっている。毒性データは新たな指標等を用いて整備し、国際的な評価と調和されてきている一方、農作物への残留性評価については、実態と即していない面や国際調和に至っていない部分もある。我が国においては MRL の対象部位は可食部分が基本となっているため、多くの場合、農薬残留濃度と暴露評価には整合性があるように見受けられる。様々な評価に用いられる残留濃度は、複数の農作物を均

一化した一定量の集団での代表値が用いられる。しかし、同じ畑や樹から採取した農作物でも、個々の農作物中の残留農薬濃度にはバラツキが生じる。¹⁴⁻¹⁶⁾ また、個々の農作物には均一に分布をしていない。¹⁷⁻²⁰⁾ 例えば茎葉散布（植物体に向けて農薬を散布する）をした場合、農作物の表面は高濃度になり、内面の残留濃度は低くなる。さらには、農作物の表面においても散布した薬液が付着しやすい部分と付着しにくい部分があり残留濃度に差が生じる。そのような中、MRLの対象部位¹¹⁾は、リンゴや日本梨の場合、「花おち（萼が付いている凹んだ部分）、しん及び果梗（軸）の基部（軸の付いている凹んだ部分）を除去したもの」と定められているが、それらをジュースにする時は対象部位以外を除くとは限らない。また、日本梨については、果皮まで食すことは一般的に少ない。未成熟トウモロコシの場合では、MRLの対象部位は「外皮、ヒゲ及び芯を除いた種子」となっているが、実際はヒゲや芯を口にすることはないとはいえず、さらに、一般にトウモロコシのヒゲ茶も商品として売られ、消費されている。このように、MRLの対象部位ではない部位についても、日々の食生活の中で摂食している場面は多々ある。これらのように農作物中で残留する農薬が均一に分布していないことやMRL対象部位でなくとも摂食し得ることを考慮すると、精密な農薬の暴露評価や健康影響を評価する上で、農作物中の様々な部位への残留農薬の分布傾向を知ることは大変意義があり、ヒトの健康増進にも繋がると考えられる。

また、国内の食料需要の増大や食生活の多様化の進展等を背景に、我が国における農作物の輸入は量や質に変化を伴いながら年々増加している。^{21,22)} 農林水産省が公表しているカロリーベースでの

食料自給率は、昭和40年には73%であったが、徐々に低下し、平成元年には50%を割った後、最近20年間では40%前後を推移しており、我が国では輸入農作物への依存は高い。²³⁾ その中で、輸入農作物に残留する農薬については、輸入時に検疫所での届出審査やモニタリング検査の他、輸入者による自主検査等によって監視されている。また、市場に出回っても自治体による収去検査などによって、消費者の安全を守るよう努めている。これら検査によって、毎年、様々な農作物がMRL超過により、廃棄や積戻し等の処分が科されているにも拘らず、市場における輸入農作物の残留農薬による問題が時おり生じ、マスメディアなどで取り上げられている。輸出元である各国や地域では、我が国と気候や風土、文化が全く異なるため、生産している農作物種や生産方法、農作物を害する病害虫は異なっており、用いられる農薬の種類や使用方法も様々である。また、食文化などの生活様式も異なっているため残留基準の適用に関しても、規制の方法は各国それぞれである。^{10,11,24-28)} 具体的な例を挙げると、我が国では前述したように、MRLの対象部位は主に農作物の可食部であり、その全量または均質化した一部を磨砕して分析に供することを基本としているが、国際的な残留基準評価においては、流通状態の農作物の一定量をそのまま均一化した試料を分析することを基本としている。リンゴなどの仁果類作物では、果梗のみを除去した果実全体がMRLの対象部位となり、トウモロコシでは外皮を除いたものと定義され、芯もMRLの対象部位に含まれる。そのような状況下で、我が国における農作物中の残留農薬のリスク評価では、残留基準評価に資する分析部位が諸外国と異なる場合もあり、国際的なリスク管理上の整合性に欠ける可能性がある。

そのため、各国の残留農薬データの相互活用に問題を生ずる可能性や、異なる分析部位の残留農薬検査により貿易上の問題が想定されることから、国際的に各国間での調和を図るような動きがある。^{29・31)}しかし、我が国においては、今まで基本的に可食部を分析部位として評価され、登録された農薬が数多くあり、それらの積み重ね上げられたデータの取り扱いが問題となることが想定される。我が国における現行の残留基準やその評価及び議論されてきた事柄は、我が国の農薬の使用方法や食文化に即したものであり、消費者であるヒトの食に対する安心安全の根底となっている。そのため、既存のデータを有効活用しつつ、残留農薬の規制について諸外国と調和していくことは、大きな課題であり、食に対する安心安全、さらにはヒトの健康維持へと繋がっていく。我が国における低い自給率の中で、輸入農作物も含めた食品の安全性は消費者にとって、非常に大きな関心事項の一つである。

食品に残留した農薬を喫食することに伴うヒトの健康への影響の度合いを知ることは、食品衛生上の重要な課題の一つである。残留農薬は、食品のロットごとに均一に使用される食品添加物などとは異なり、使用量の他、栽培期間中の気温や降雨といった環境要因とそれに伴う作物の生育速度などによっても食品中の濃度は大きく変動する。さらに、前述したように作物中で農薬が均一に分布していないことや、喫食する部位が人や国、地域によって異なることも、実際に摂取する農薬の量に変動を生じる要因となる。これらを踏まえ、残留基準の設定は大きなアローアンスを設けて対処しているが、これらの変動要因はヒトへの健康影響の精密な評価を困難にしている。

本研究では、国内の複数圃場で慣行農業に従い農薬を散布した各種作物を得て、これまで長期間にわたる圃場の確保が困難なため極めて実施例が少なく、ほとんど明らかにされていなかった作物中の残留農薬量における変動要因について詳細に調査、解析した。具体的にはハクサイ及びホウレンソウ試料による圃場間の栽培環境の違いに伴う残留農薬濃度の変動要因の比較検討、3種の仁果類作物及び未成熟トウモロコシ、カブ試料をそれぞれ様々な部位に分けて分析し、それらの取り扱いが残留性評価に与える影響について調査した。様々な部位に分別して分析することにより農作物の各個体における残留農薬の分布を把握し、より精密なヒトへの暴露量評価やリスク評価へと繋がることが期待される。また、我が国と諸外国における分析部位の取り扱いの違いが、農作物の種類や農薬の物理化学的性状に応じて農薬残留性評価に与える影響についても解析した。これらの結果として、実態に即した条件下で得られた科学的データに基づき、詳細な暴露量を導くことで適正な基準設定に寄与すると共に、残留農薬に起因したヒトの健康における安全性評価の精密化に繋げた。

第1章 作物栽培環境要因の変動に伴う農薬の残留性評価³²⁾

1. 緒言

農作物中の残留農薬濃度は、様々な要因に影響を受ける。農薬の使用方法（処理手法，希釈倍率，散布回数，散布量）の他，農薬処理と農作物の収穫までの期間（PHI）が長くなるほど，揮散や流亡などにより残留濃度は経時的に減衰していくのは一般的である。また，同じ条件で農薬を使用し，同じPHIで採取した農作物でも生産する場所（圃場）が異なれば，同じ残留分析結果を得られるとは限らない。残留濃度が試験圃場間で違いを生じることは広く認知されており，影響を与える要因としては農薬の散布条件（散布機，散布作業者の熟練度）の他，農作物の栽培環境（露地／施設栽培，気候，土性等）やその状態（品種，形態，出荷サイズ等）など様々である。そのため，農薬の安全性試験のうち，作物への農薬の残留性を試験する作物残留試験では，複数の圃場による経時的な減衰傾向の把握及び最高残留濃度の調査結果が要求される。OECDガイドライン³⁰⁾によると，各農作物について最低8圃場（8例）での試験データが要求されるが，我が国のガイドライン⁹⁾では全ての作物について従来2例以上が必要要件であった。そのため，多くの農薬は2例での試験データから，MRLを設定してきたが，平成23年度に作物残留試験のGLP（試験実施適正基準）化に合わせて，対象とする農作物の生産量によって3～6例以上を必要とするようになった。本章で取り扱うハクサイやハウレンソウはメジャー作物（年間生産量30万トン以上）に分類され，6例以上の試験データが要求される。それらのデータは，複数年で取得することや，基本的に同一年では異なる都道

府県で得ることが求められる。その中で、我が国の風土において、同一年における試験圃場間や、同一圃場における複数年での分析値の変動に関する知見は少ない。そこで、本章ではハクサイとホウレンソウを同一年度にそれぞれ国内8カ所の試験圃場で栽培し、概ね同一条件で複数の農薬を散布して得た試料を分析した。2009年と2010年の2年間で同様に試験を行ない、それぞれの作物について得られた各16例のデータ（ハクサイの7圃場、ホウレンソウの6圃場は2年間共通した同一圃場で実施）より、圃場間における残留性の変動、同一圃場における栽培年間での残留性の変動及びそれらの程度について解析した。さらに、得られたデータから暴露量の推定を試みた。

2. 農薬残留に及ぼす栽培環境要因の影響

各8圃場で2年間の計16試料から得た平均残留濃度は、ハクサイでは0.16 mg/kg（フルフェノクスロン）～1.08 mg/kg（フルベンジアミド）、ホウレンソウでは1.86 mg/kg（テフルベンズロン）～6.77 mg/kg（ジノテフラン）であった。各農薬の最高値はいずれも我が国でのそれぞれの作物におけるMRL³³⁾（ハクサイ MRL：ジノテフラン 2 mg/kg, フルベンジアミド 5 mg/kg, フルフェノクスロン 0.5 mg/kg, ピリダリル 1 mg/kg, トルフェンピラド 2 mg/kg, ホウレンソウ MRL；ジノテフラン 15 mg/kg, フルフェノクスロン 10 mg/kg, テフルベンズロン 5 mg/kg）未満であった。

農薬毎の残留濃度についての統計量の各種パラメータ（最低値（LR）、最高値（HR）、HR/LR比、中央値（Median）、平均値（Mean）及びRSD）をTable 1に纏めた。各農薬の圃場間における変動をみ

Table 1. Analytical results of the pesticide residue data in Chinese cabbage and spinach.

Crop Pesticide	Application ^{a)}	Residue (mg/kg)					
		LR	HR	HR/LR	Median	Mean	RSD (%)
Chinese cabbage							
Dinotefuran	20%, 2000 times, 2 × 3-d	0.12	0.87	7.3	0.42	0.47	46
Flubendiamide	20%, 1000 times, 3 × 1-d	0.24	2.52	10.5	0.96	1.08	56
Flufenoxuron	10%, 2000 times, 2 × 14-d	0.06	0.36	6.0	0.13	0.16	58
Pyridalyl	10%, 2000 times, 2 × 3-d	0.20	0.90	4.5	0.39	0.47	45
Tolfenpyrad	15%, 1000 times, 2 × 14-d	0.08	0.60	7.5	0.20	0.25	65
Spinach							
Dinotefuran	20%, 3000 times, 2 × 3-d	2.15	12.2	5.7	5.87	6.77	43
Flufenoxuron	10%, 4000 times, 3 × 3-d	1.69	8.64	5.1	3.67	3.95	42
Teflubenzuron	5%, 2000 times, 2 × 7-d	0.94	3.37	3.6	1.79	1.86	34

^{a)} Direction of application; percentage of active ingredient in the pesticide formulation, dilution factors, and numbers of pesticide applications × pre-harvest interval days after the final application.

ると、RSD はハクサイでは 45%（ピリダリル）～65%（トルフェンピラド）であり、ホウレンソウでは 34%（テフルベンズロン）～43%（ジノテフラン）であった。また、HR/LR 比はハクサイでは最大で 10.5 倍（フルベンジアミド）であり、ホウレンソウでは最大で 5.7 倍（ジノテフラン）であった。いずれのパラメータでみても、圃場間の変動はホウレンソウよりもハクサイの方が大きかった。本研究では農薬の使用方法は各圃場間で同様の条件としているため、圃場間の変動には栽培環境が大きく影響していると推察され、2 種の農作物において同様の条件で栽培した時の、圃場間における残留濃度の変動を具体的な数値もって示すことができた。さらに、それぞれの農作物における残留濃度の総平均値に対する個々の残留濃度の比率を算出し、その度数分布を Figure 1 に示した。ハクサイ及びホウレンソウともに各残留濃度の中央値は平均値よりも低く、度数分布は低濃度側に歪んでいる。この傾向は農薬の一般的な残留濃度の分布状況として知られている。³⁴⁾

本研究における 2 種の農作物で共通するジノテフランとフルフ

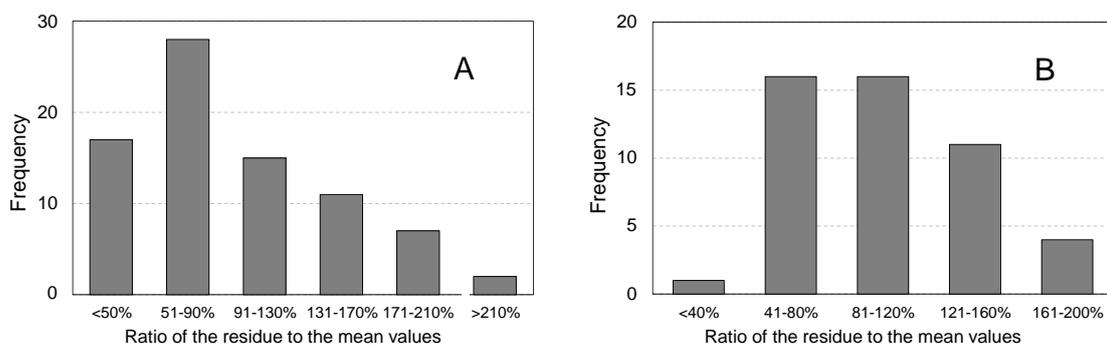


Figure 1. Frequency distribution of the ratio of pesticide residue levels to each mean value in sixteen field trials for Chinese cabbage (A: $n = 80$) and spinach (B: $n = 48$).

エノクスロンの残留濃度を比較すると、いずれもホウレンソウの方が、ハクサイよりも高濃度であった。残留濃度に影響を与える一般的な要因の一つとして PHI がある。^{35,36} ハクサイの場合、フルフェノクスロン製剤は 2 回処理した後、PHI が比較的長い 14 日後から採取可能な使用方法となっている。一方、ホウレンソウでは、フルフェノクスロン製剤は 3 回処理した後、3 日後には採取可能となる。本研究では最短の PHI を採用しており、この使用方法の違いが残留濃度での違いとなる一つの要因と考えられる。一方、ジノテフラン製剤の使用方法は両作物間で類似しており、いずれの作物に対しても 2 回まで使用でき、PHI は 3 日間で採取可能となる。唯一、希釈倍率は異なっており、ハクサイへの使用時は 2000 倍希釈、ホウレンソウへ使用時は 3000 倍希釈であり、ホウレンソウへの散布液の方が薄い濃度となっている。それにも拘わらず、ハクサイの残留濃度はホウレンソウよりも低かった。これには様々な要因が複合的に影響している。特にハクサイとホウレンソウの重量差による希釈効果も大きな影響を与える要因の一つである。その他にも、ハクサイは露地栽培であり、ホウレンソウは施設栽培であるため、太陽

光による光分解や，降雨による流亡なども影響していると推測できる。そこで，ハクサイ及びホウレンソウにおける圃場試験に関する情報を Table 10 及び Table 11（実験の部 60 及び 66 頁参照）にそれぞれ示した。ハクサイは 2009 年及び 2010 年を合わせて 9 ヶ所の圃場で，合計 10 品種を露地栽培し，その平均個体重量は 1.03 kg/個（2009 年，高知）～3.82 kg/個（2009 年，茨城）であった。各圃場における最初の散布から試料採取までの期間の平均気温は 9.2℃（2010 年，山梨）～16.1℃（2010 年，茨城）であった。ま

Table 2. Statistic analytical results by the multiple linear regression analysis between the variation in pesticide residue levels and the field experimental data.

Crop	Sample weight	Total	Mean
Pesticide		precipitation	temperature
Chinese cabbage			
Dinotefuran	**	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Flubendiamide	**	*	<i>ns</i>
Flufenoxuron	**	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Pyridalyl	*	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Tolfenpyrad	**	*	<i>ns</i>
Spinach			
Dinotefuran	*		<i>ns</i>
Flufenoxuron	*		<i>ns</i>
Teflubenzuron	*		<i>ns</i>

Statistic analytical results as 0.01 and 0.05 levels of significance indicate with “***” and “**”, respectively. No significant result indicates with “*ns*”. The statistical results indicate that the total precipitation negatively correlated with the residue levels of flubendiamide and tolfenpyrad; however, those results were not related with pre-harvest interval days after final applications (1-day and 14-day, respectively). In addition, no significant correlation was found between the pesticide residue levels of the other three pesticides and the total precipitation. From the results, we confirmed that there was no significant influence because of the weather conditions for pesticide residue levels.

た、同期間における総降水量は 29 mm (2010 年, 群馬) ~ 346 mm (2009 年, 高知) であった。残留濃度とこれら圃場試験情報間での重回帰分析による解析結果を Table 2 に示す。残留濃度は平均個体重量との間には、負の相関が認められたが、平均気温との間には相関性はなかった。他方、ハウレンソウは 2009 年及び 2010 年を合わせて 10 ヶ所の圃場で、合計 9 品種を施設栽培し、平均個体重量は 12.8 g/株 (2010 年, 福島) ~ 110 g/株 (2010 年, 長野) であった。各圃場における最初の散布から試料採取までの期間の平均気温は 4.8°C (2010 年, 福島) ~ 20.7°C (2009 年, 高知) であった。残留濃度とこれらの圃場試験情報間での重回帰分析による解析では、ハクサイと同様に残留濃度は平均個体重量との間には、負の相関が認められた。これらのことから、農作物の残留農薬濃度には風による損失や太陽光による分解等の環境要因の他、それに伴う作物の成長速度の違いが複合的に影響した。

2009 年と 2010 年で同一の圃場で栽培したハクサイ及びハウレンソウ試料の残留濃度を比較するため、それぞれプロットして Figure 2 に示す。ハウレンソウ試料では同一圃場で 2009 年と 2010 年に得た試料の残留濃度に相関関係が認められた ($R^2=0.8138$)。この結果については、同一圃場では 2 年とも同じ作業者が同型の散布機を使用していることが大きな要因として考えられた。^{37,38)} 他方、ハクサイでは同じ条件で栽培したのにも関わらず、明確な相関性は認められなかった ($R^2=0.3827$)。この作物間における結果の違いは、ハクサイとハウレンソウの栽培条件の違いによるものであると考えられる。ハウレンソウは施設での栽培であるため、日光による分解や降雨による流亡の影響を受け難い。そのため、異なる年

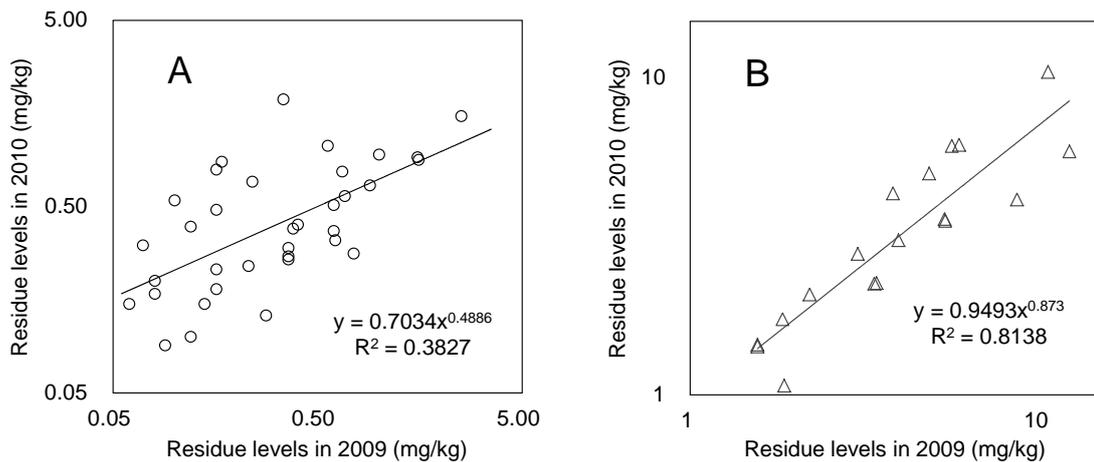


Figure 2. Scatter plots summarizing the correlation between pesticide residue levels in Chinese cabbage (A) and spinach (B) in 2009 and 2010.

での残留濃度の再現性がハウレンソウでは得られやすいと示唆された。他方、ハクサイは露地栽培であるため、日光による分解や降雨による流亡の影響を受けやすい。さらに、後述するハクサイでは縮分操作による残留濃度の影響もあり、複合的に残留濃度の再現性が低くなったと推察した。このように同一の圃場で同じ作業者が栽培しても、栽培環境要因の違いにより残留濃度が異なることが判明した。

以上のように、残留濃度の変動要因の把握に伴い、食品の安全性評価の精度向上に向けた課題が明らかとなった。

3. 農薬適正使用時の最大残留量の推定

ハクサイなどの大型果菜類の残留分析をする際、我が国では一般的に“縮分”と言われる操作が行なわれる。残留性を評価する際、全体の状況を把握するため複数の作物試料を混合して分析する必要があるが、ハクサイやスイカなどの個々が大きい作物では、全量

を均一化するのに技術的な負担も大きく、また、大型ミキサーを要するため施設の整備も必要となる。縮分操作は複数の作物試料からそれぞれの一部を取り合わせて全体を代表する試料を作製するダウンサイジングを示す。その縮分操作がハクサイの残留濃度に与える影響を評価するため、縮分試料間の残留濃度を比較した。2010年のハクサイ試料で、本研究での圃場間変動解析を目的とした第1試行の縮分試料を Sample A とし、それと垂直の関係にある対角の2つの試料を Sample B として取り分けて分析した。Sample A と Sample B の残留濃度の比 (Sample A/B%) を算出し、農薬毎に纏めて Figure 3 に示した。図中のボックスは8圃場における Sample A/B% の平均値±標準偏差を示しており、線は Sample A/B% の最低

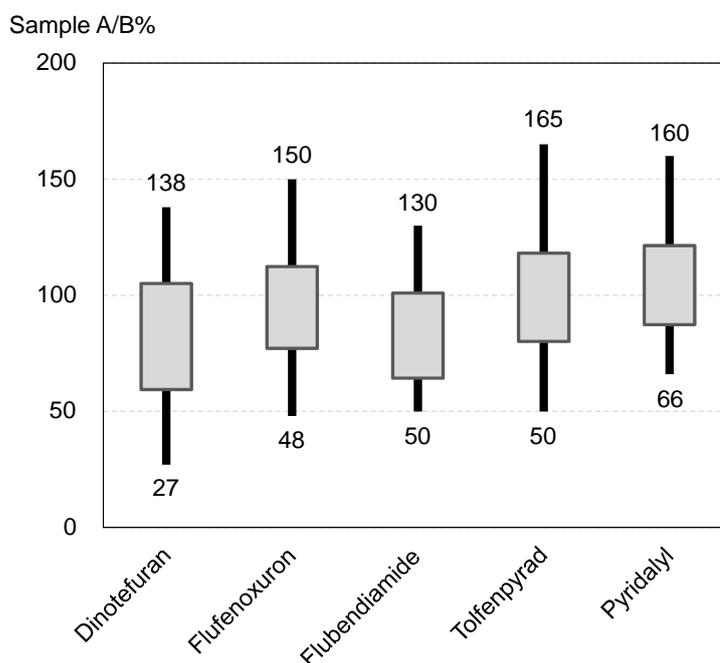


Figure 3. Boxplots of the percent difference of pesticide residue levels between size-reduced Chinese cabbage samples A and B in 2010. The lines from the bottom to the top indicate the range from minimum to maximum A/B values of each pesticide, and the band of the box indicates their standard deviations ($n = 8$).

値から最高値を示している。同一個体から取り分けた Sample A と Sample B の残留濃度には最大で 3.8 倍の濃度変動があった（ジノテフラン：Sample A；0.16 mg/kg，Sample B；0.60 mg/kg）。この変動は，我々が報告した果菜類のメロンにおける縮分間の変動（1.6 倍以下）よりも明らかに高い結果であった。¹⁹⁾ この結果は作物毎の形態の違いに起因していると説明できる。メロンのような果菜類では，形態が丸く対照的であり，散布した農薬が表面に比較的均一に存在しやすいため，縮分間差は小さい。これに対して，葉が幾重にも重なった形態を持つ葉菜類のハクサイでは，葉の巻く度合いやその重なり方によって，濃度差が生じやすい。さらに，ハクサイの場合，分析部位として外側変質葉（喫食できない程度の傷みや枯れている葉）を除去することも要因として考えられる。このように縮分操作により，残留濃度の評価に 4 倍近くの影響を及ぼすことが本研究において示されたが，この変動は，圃場間での残留濃度の変動（最大 10.5 倍）に比べると小さいものであった。縮分試料である Sample A 及び Sample B の各実測値とそれらの平均値の計 3 群で分散分析をしたところ，それらの群間に有意な差は認められなかった（ $F=0.335$ ， $p=0.716$ ）。このことから，本試験の結果に縮分間の影響はないと判断した。

次いで，本章で得たハクサイ 24 例（2010 年は縮分試料 Sample B を含む）とハウレンソウ 16 例における各農薬の残留濃度と，平成 27 年度の国民健康・栄養調査³⁹⁾による平均体重（男性：60.8 kg，女性：50.0 kg），ハクサイの平均摂食量（男性：19.2 g/day，女性：17.5 g/day）及びハウレンソウの平均摂食量（男性：13.4 g/day，女性：12.8 g/day）から体重当りの農薬推定一日摂取量を算出し，

各農薬の ADI⁴⁰⁾と比較して ADI 占有率を求め Table 3 に纏めた。本研究データから算出したハクサイ及びホウレンソウの各農薬における ADI 占有率は、各作物の平均摂取量は男性の方が多いが、平均体重が女性の方が低いため、ADI 占有率はいずれも女性の方が高い結果となった。農薬を定められた最大量で使用した本研究結果で算出した ADI 占有率はハクサイでは最大で 5.2% (女性：フルベンジアミド)、ホウレンソウでは最大で 8.6% (女性：テフルベンズロン) であり、それぞれの作物を一生涯にわたって毎日摂取したとしても健康に影響を生じる恐れはないものであった。

Table 3. Share ratio of estimated daily intake to ADI

	ADI (mg/kg BW/day)	n	Estimated daily intake/ADI (%)					
			Male			Female		
			Minimum	Maximum	Mean	Minimum	Maximum	Mean
Chinese cabbage								
Dinotefuran	0.22	24	0.0	0.2	0.1	0.0	0.2	0.1
Flubendiamide	0.017	24	0.4	4.7	2.1	0.5	5.2	2.3
Flufenoxuron	0.037	24	0.1	0.4	0.1	0.1	0.4	0.2
Pyridalyl	0.028	24	0.1	1.2	0.5	0.1	1.4	0.5
Tolfenpyrad	0.0056	24	0.5	4.1	1.5	0.5	4.5	1.6
Spinach								
Dinotefuran	0.22	16	0.2	1.2	0.7	0.3	1.4	0.8
Flufenoxuron	0.037	16	1.0	5.1	2.4	1.2	6.0	2.7
Teflubenzuron	0.01	16	2.1	7.4	4.1	2.4	8.6	4.8

4. 小括

本章では複数圃場において同一条件で農薬を使用して栽培したハクサイとホウレンソウを用いて、試料の残留濃度に影響を与える要因を解析した。栽培環境の異なるハクサイとホウレンソウでは、圃場間変動の影響の受け方が異なり、栽培環境の違いが与える影響を確認した。統計解析によって、両作物ともに残留濃度は気象条件

との間には相関性は見られなかったが、試料個体重量との間に負の相関があることを示した。また、同一圃場で2年にわたって栽培したハウレンソウ試料での残留濃度には、再現性が確認できたが、ハクサイ試料では再現性は乏しかった。残留濃度の変動要因を把握することにより、食品の安全性評価の精度向上に向けた課題が明らかとなった。次いで、同一のハクサイから、縮分操作により取り分けた2つの試料間にも残留濃度の差があることを確認したが、これは圃場間での残留濃度の変動よりも小さいものであり、縮分操作による評価が有効であることを確認できた。さらに、各農薬の使用基準での最大量を投下した実残留試料の分析結果から求めたADI占有率は、一生涯にわたって毎日摂取したとしても健康に影響を生じる恐れはないものであった。また、圃場間の栽培環境要因や縮分操作による分析値の変動を加味し、実態に即した農薬摂取量を導くことができた。

以上のように、同一条件で栽培した試料においても、残留濃度は様々な要因からの影響を受け、圃場間で差を生じる。さらには、同一個体の農作物内でも縦に割って取り分けただけの試料間で残留濃度に差が認められた。ヒトへの暴露量の精密化を考える際、これらは非常に難しい問題である。次章以降は、採取した状態と残留分析に供する部位が異なる農作物に着目し、各分析部位が農作物の残留性評価に与える影響について、詳細に解析する。

第 2 章 分析部位の取り扱いに起因する暴露量評価への影響⁴¹⁾

1. 緒言

食品中の残留農薬のリスク評価については、Codex 委員会 (Codex Alimentarius Commission) や経済協力開発機構などの国際機関を中心に、各国間の調和を図ってきている。²⁹⁻³¹⁾ 我が国における食品中の残留農薬のリスク評価では、MRL の適用部位や検査部位 (分析部位) が諸外国と異なる農作物もあることから、^{10,11,24-28)} 国際的なリスク管理上の整合性に欠ける可能性がある。具体的には、本章で取り扱うリンゴ、日本梨及び西洋梨の 3 種仁果類作物は我が国と諸外国で分析部位が異なる農産品の一つである。Codex で定められる分析部位は全果実 (果梗を除く全果実) であるのに対し、我が国の現行規定は可食部 (花落ち、芯及び果梗の基部を除去したもの) を分析部位としている。そのため、各国間での残留農薬データの相互活用に問題を生ずる可能性や、異なる分析部位の残留農薬検査により国際貿易上の問題の発生が懸念される。このような状況下で、我が国では平成 23 年 4 月 1 日に作物残留試験に関するテストガイドラインが改訂され、⁹⁾ 従前からの可食部に加えて、除去部である非可食部 (花落ち、芯及び果梗の基部) も分別分析することが望ましいとされた。欧州連合では、仁果類作物の作物残留試験において分別分析が規定されており、個別農薬についての知見も多い。⁴²⁾ しかしながら、日本独特の気象条件や栽培管理の影響が仁果類作物の分別分析に与える影響を評価するに十分な知見はなく、特に日本の主要農作物の一つである日本梨については、栽培形態や果実の形状も異なる西洋梨での残留データとの比較は困難である。我々は、リ

ンゴ中のシペルメトリンについて分析部位別の残留濃度を調査し、非可食部の残留濃度は可食部よりも高い傾向が認められるが、全果実と可食部間の残留データに有意な差は認められないとの知見を報告した。¹⁵⁾ しかしながら、既報の試験結果からは、物理化学的性状の異なる各種農薬や、リンゴ以外の仁果類作物における分別分析が残留分析結果に与える影響を推察することは困難であった。

そこで本章では、仁果類作物の部位別分析をすることにより、農薬種、作物種の違いを含めた作物中での残留農薬の分布を把握し、暴露量評価の精密化ならびに残留基準の国際調和に資する基礎的な知見を得ることを目的とした。我が国の一般的な農法に従い、各農薬製剤の使用限度の範囲内で最大残留が見込まれる条件（希釈倍率、散布量、散布回数、PHI）で複数農薬を処理したリンゴ、日本梨及び西洋梨を栽培して分析した。分析部位は同一個体から調製した縮分試料間で、現行規定に従い可食部及び非可食部に分別した場合と、国際標準に従って果実そのままを分析した場合とし、残留濃度を比較して、分析部位の違いに伴う残留量の変動について検討した。さらに、得られたデータから安全性評価を試みた。

2. 仁果類作物試料における残留農薬の分布

各農薬製剤の使用方法に従い 5 種類の農薬製剤（6 種農薬成分）をそれぞれの最大量で散布して栽培したリンゴ 4 試料と日本梨及び西洋梨各 1 試料の計 6 試料から調製した各縮分試料を分析に供した。各縮分試料を、可食部と非可食部を分別せずに果実をそのまま分析した場合の残留濃度（A：果実実測値）、可食部と非可食部をそれぞれ分別分析した残留濃度（B：可食部実測値、C：非可食部

実測値) をそれぞれ Table 4 に示した。また, 可食部と非可食部の重量比及びそれらの残留濃度 B, C から算出した果実としての計算値 (D: 全果実計算値), 可食部と非可食部の残留濃度の比率 (C/B), 可食部の残留濃度から果実の残留濃度を推察するための残留濃度比 (A/B), 縮分操作及び可食部と非可食部の分別分析の影響を評価するための果実としての実測値と計算値の比率 (A/D) ならびに残留濃度 A, B 及び D の 3 群間における有意差検定結果も合わせて記載した。

調査対象とした 3 種仁果類作物の内, 日本梨は, 西洋梨よりもリンゴに類似した形状を有することや, 西洋梨やリンゴよりも凹凸の多い果皮を有することなどの作物形態での特徴がある。本調査で採取したリンゴの平均試料重量は 306~318 g/個であり, 日本梨及び

Table 4. Pesticides residue levels in various portions of pome fruits

	Residue levels, mg/kg ^{a)}				C/B ^{b)}	A/B ^{c)}	A/D ^{d)}	Result of Kruskal-Wallis test ^{e)}
	Fresh (A)	Edible portion (B)	Inedible portion (C)	Calculated whole (D)				
Boscalid	0.36±0.04 (0.32-0.42)	0.29±0.04 (0.26-0.37)	0.69±0.38 (0.39-1.49)	0.35±0.06 (0.29-0.44)	2.38	1.24	1.03	NS (0.0345)
Flubendiamide	0.23±0.05 (0.14-0.28)	0.20±0.05 (0.12-0.28)	0.36±0.24 (0.18-0.87)	0.22±0.05 (0.13-0.29)	1.80	1.15	1.05	NS (0.5999)
Flufenoxuron	0.16±0.07 (0.08-0.26)	0.15±0.06 (0.06-0.23)	0.29±0.19 (0.15-0.66)	0.17±0.07 (0.08-0.27)	1.93	1.07	0.94	NS (0.7643)
Imidacloprid	0.16±0.11 (0.05-0.34)	0.14±0.10 (0.04-0.28)	0.22±0.11 (0.08-0.39)	0.15±0.10 (0.06-0.31)	1.57	1.14	1.07	NS (0.8145)
Pyraclostrobin	0.16±0.04 (0.12-0.23)	0.14±0.03 (0.10-0.20)	0.29±0.10 (0.20-0.47)	0.17±0.03 (0.13-0.23)	2.07	1.14	0.94	NS (0.3231)
Simeconazole	0.13±0.06 (0.05-0.20)	0.11±0.06 (0.03-0.19)	0.25±0.09 (0.11-0.38)	0.14±0.06 (0.06-0.20)	2.27	1.18	0.93	NS (0.4770)

^{a)} Overall mean of the measured residue levels in each portion from six pome fruits, and the calculated residue levels as whole fruit base from the values in the edible and inedible portions (minimum to maximum values).

^{b)} Difference between the residue levels in the edible (B) and inedible (C) portions.

^{c)} The correction factors were deduced, which can be used for estimation of residue levels expressed on the fresh portion (A) from the measured residue levels of edible portions (B).

^{d)} Difference between the measured residue levels in the flesh portions (A) and calculated residue levels as whole fruit base (D), which express the effect of sample size reduction process.

^{e)} Statistical significance in the residue values of A, B and D was estimated by the Kruskal-Wallis test, and then there is no significant difference in the result is expressed as NS.

西洋梨の平均試料重量はリンゴよりも重くそれぞれ 345 g/個及び 443 g/個であった (Table 13, 実験の部 72 頁参照)。

本調査において得られた残留濃度は、いずれも我が国における MRL³³⁾未満であった。また、PHI (1~14 日間) を含む農薬の処理条件や、試験期間中の気温や降雨などによる農薬の栽培環境中における揮散や流亡、分解などによる差異が残留データに与えた影響は認められなかった。

仁果類作物の果実では、果梗の基部の窪みに散布された薬液が蓄積しやすいため、果実実測値、可食部実測値及び非可食部実測値を比較した場合、いずれの試料においても非可食部実測値が高かった。非可食部実測値と可食部実測値の比率 (C/B) の農薬別の総平均値は、1.57 (イミダクロプリド) ~ 2.38 (ボスカリド) の変動幅であった (Table 4)。また、個別試料での非可食部実測値と可食部実測値の比率の最大値は 6.8 (2009 年山梨県産リンゴにおけるシメコナゾール) であった。

可食部及び非可食部の各農薬残留量を、全果実の実測残留量で除し、各部位における残留農薬の分布率を算出して、6 種農薬の総平均として試料ごとに取り纏めて Figure 4 に示した。試料別の総平均残留量としての非可食部への平均分布率は 18~45% の範囲であり、その内、2009 年の山梨県及び長野県産の 2 つのリンゴ試料 (Apple-2 及び Apple-4) における非可食部への平均分布率はそれぞれ 40 及び 45% と他試料よりも高かった。この 2 つのリンゴ試料においては、一部試料で果実の内部裂果が認められたことから、非可食部への分布が多くなった要因として、果梗の基部の広さ及び深さなどの形状的な違いの他に果実の内部裂果の影響も疑われた。

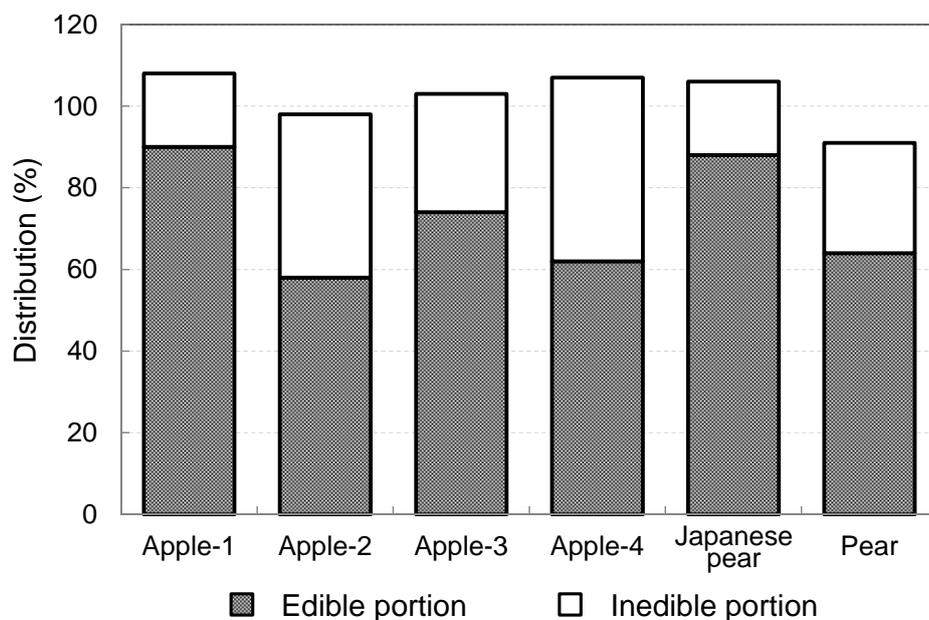


Figure 4. Distributions of the overall mean residue amounts of six kinds of pesticides in edible and inedible portions of each pome fruit.

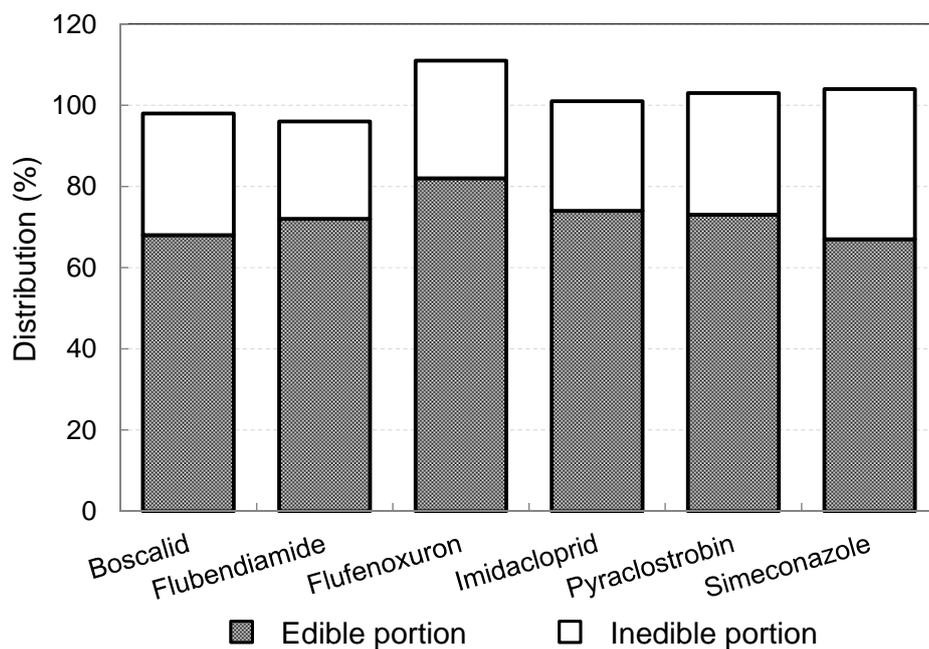


Figure 5. Distributions of the overall mean residue amounts of each pesticide in edible and inedible portions of the six pome fruits.

可食部及び非可食部での各部位における残留農薬の分布率を算出した値を、6種の農薬ごとに取り纏めて Figure 5 に示した。農

薬別の総平均残留量としての非可食部での平均分布率は 24～37% (フルベンジアミド～シメコナゾール) の範囲であり、農薬の極性や蒸気圧などの物理化学的性状との相関関係は認められなかった。

次に、日本梨を除く 5 試料の非可食部を上部 (果梗の基部) 及び下部 (花落ち及び芯) に細分して分析した結果を Table 5 に示す。西洋梨でのイミダクロプリドを除き、全ての試料で 6 種全ての農薬の残留濃度とも上部の方が下部より高い値を示した。上部/下部の比率はイミダクロプリドが 0.9～7.0, シメコナゾールが 1.6～25.3, ピラクロストロビンが 1.4～25.3, フルフェノクスロンが 1.8～29.3, フルベンジアミドが 2.1～10.9, ボスカリドが 2.4～20.9 の範囲であった。最も水溶性の高いイミダクロプリドは、その他の農薬と比較して上部/下部の比率が小さく、非可食部の下方へ移行しやすい傾向が示唆された。西洋梨の非可食部における残留濃度の上部/下部の比率は、いずれの農薬においてもリンゴよりも低い値を示した。これは、西洋梨の果梗の基部における窪みの大きさが、リンゴよりも相対的に小さいため、散布した薬液が貯留する量が少ないことが原因と考えられた。また、リンゴの非可食部の上部と下部における残留農薬の分布は試料間で大きく異なり、上部/下部の比率の低い青森県産試料では 1.1～4.4 であったが、比率が高い長野県産試料では 3.2～29.3 であった。非可食部内部での残留農薬の分布には、調製した圃場ごとに一定の傾向がみられたことから、農薬の物理化学的性状よりも、果梗基部の構造などの試料の形状や栽培環境、散布技術といった要因が与える影響が大きいものと考えられた。また、残留濃度の圃場間での変動幅が下部では小さく、上部で大きい傾向が認められたことから、上部での農薬残留量の方が前述した試料の

果梗基部の構造や，農薬散布のような試験条件の影響を受けやすいことが示唆された。

Table 5. Distributions of pesticides residues in inedible portions of pome fruits

	Pesticide	Residue levels, mg/kg		Top/Bottom
		Top ^{a)}	Bottom ^{b)}	
Apple-1 (Aomori In 2009)	Boscalid	1.05	0.32	3.3
	Flubendiamide	0.36	0.14	2.6
	Flufenoxuron	0.24	0.13	1.8
	Imidacloprid	0.13	0.12	1.1
	Pyraclostrobin	0.57	0.13	4.4
	Simeconazole	0.22	0.12	1.8
Apple-2 (Yamanashi in 2009)	Boscalid	3.62	0.40	9.1
	Flubendiamide	1.74	0.24	7.3
	Flufenoxuron	0.86	0.24	3.6
	Imidacloprid	0.21	0.14	1.5
	Pyraclostrobin	1.06	0.18	5.9
	Simeconazole	0.85	0.14	6.1
Apple-3 (Yamanashi in 2010)	Boscalid	2.78	0.24	11.6
	Flubendiamide	1.52	0.14	10.9
	Flufenoxuron	1.04	0.11	9.5
	Imidacloprid	0.70	0.10	7.0
	Pyraclostrobin	1.26	0.09	14.0
	Simeconazole	0.28	0.13	9.8
Apple-4 (Nagano in 2010)	Boscalid	2.30	0.11	20.9
	Flubendiamide	1.28	0.12	10.7
	Flufenoxuron	0.88	0.03	29.3
	Imidacloprid	0.32	0.10	3.2
	Pyraclostrobin	1.01	0.04	25.3
	Simeconazole	0.76	0.03	25.3
Pear (Yamanashi in 2011)	Boscalid	0.94	0.40	2.4
	Flubendiamide	0.44	0.21	2.1
	Flufenoxuron	0.35	0.19	1.8
	Imidacloprid	0.44	0.48	0.9
	Pyraclostrobin	0.33	0.24	1.4
	Simeconazole	0.43	0.27	1.6

^{a)} The basal portion without stem of the inedible portion.

^{b)} The core and calyx portion of the inedible portion.

3. 縮分試料の分別分析と全果実分析の残留分析結果の比較

各試料の縮分試料における可食部実測値と非可食部実測値から求めた全果実計算値と、果実実測値をそれぞれプロットして Figure 6 に示した。縮分試料における果実実測値と全果実計算値の比率 (A/D) の各農薬別の総平均値は、0.93 (シメコナゾール) ~ 1.07 (イミダクロプリド) の範囲でほぼ一致しており、特定の農薬や試料において特異な変動は認められなかった。この結果から第 1 章で示したハクサイでの結果とは異なり、比較的対照性の高い形態である仁果類作物においては、試料の縮分操作及び分別分析が農薬の残留濃度に与える影響は小さいと推察された。

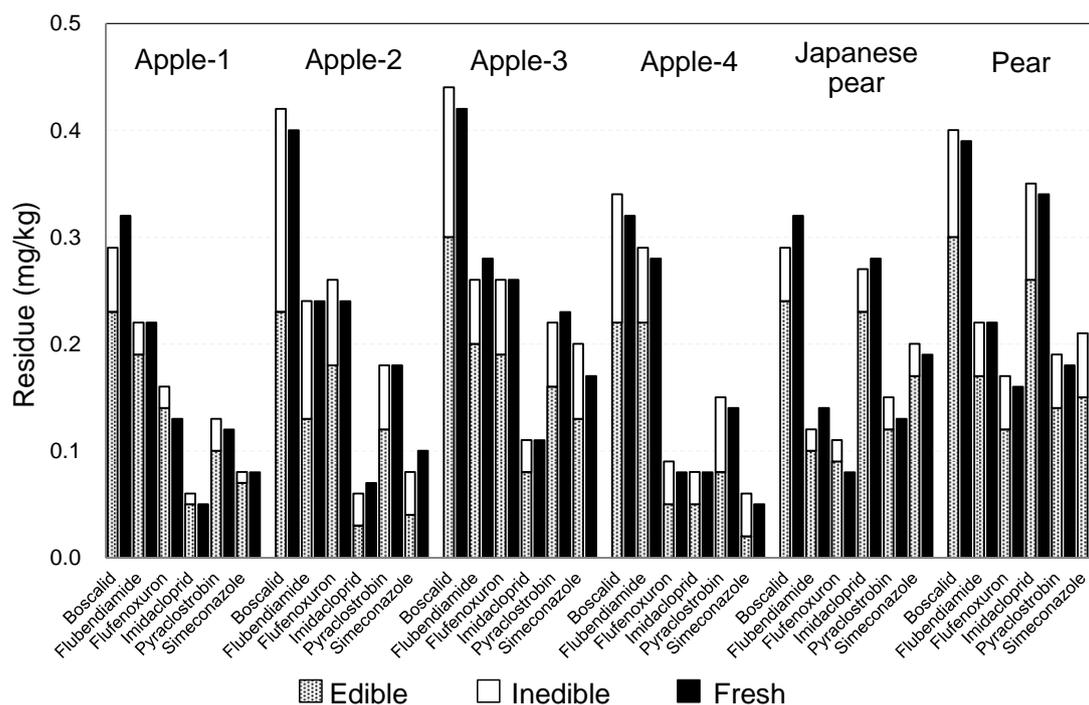


Figure 6. Pesticide residue levels in apples (1: Aomori; 2 and 3: Yamanashi in 2009 and 2010, respectively; 4: Nagano), Japanese pears and pears. The left bar expresses the calculated residue level of fresh samples by separate analyses of the edible and inedible portions, and the right bar expresses the measured residue level of the fresh portion by direct analysis.

リンゴ，日本梨及び西洋梨などの仁果類作物の分析部位は，諸外国では「果実全体」であるが，日本では「花おち，芯及び果梗の基部を除去したもの（可食部）」と規定されている。国内で規定されている可食部の残留濃度から国際標準である果実全体での残留濃度を推察するための換算係数に相当する果実実測値と可食部実測値の比率（A/B）の農薬別の総平均値は，1.07（フルフェノクスロン）～1.24（ボスカリド）の変動幅であった（Table 4）。また，個別試料での果実実測値と可食部実測値の最大変動は2.0倍であった（2009年山梨県産リンゴにおけるシメコナゾール）。全果実の残留濃度は，非可食部での残留濃度が相対的に高いため，可食部の残留濃度よりわずかに高くなる傾向であった。しかしながら，全果実重量に占める非可食部の重量比は低いため，全果実と可食部での残留濃度の差は比較的小さかった。なお，全果実計算値を算出する際に必要となる可食部と非可食部の重量比は，リンゴでは77:23～88:12の範囲で，日本梨及び西洋梨ではそれぞれ87:13及び77:23であり，それらの重量比に作物種による明らかな差異はなかった（Table 13，実験の部 72頁参照）。

2組の縮分試料における果実実測値と全果実計算値に，分別分析における可食部のみの残留濃度を加えた3群の残留データをKruskal-Wallis検定（危険率5%）で解析した結果，これらの残留濃度間に有意差は認められなかった（Table 4，検定統計量 $H=1.493$ ，臨界値 $\chi^2_{0.05}=0.5991$ ）。この結果から，現行規定に従い可食部を分析対象とする仁果類作物の残留性評価データと，果実全体を分析対象とする国際標準での残留性評価データとの間に大きな差異はないことが明らかとなった。

次いで、全果実及び可食部の各残留濃度と平成 27 年度の国民健康・栄養調査³⁹⁾による平均体重、リンゴの平均摂食量（男性：18.4 g/day, 女性：22.5 g/day）及び各農薬の ADI⁴⁰⁾から男女別に各 ADI 占有率を求め、Table 6 に纏めた。本研究データより算出した ADI 占有率は、我が国における分析部位である可食部では男性で 0.0～0.6%、女性で 0.0～0.8%であり、いずれも ADI の最も低いシメコナゾールが最も高かった。諸外国での分析部位である全果実の残留濃度から算出した ADI 占有率は男性で 0.0～0.6%、女性で 0.0～0.9%であり、可食部との差はほとんどなかった。このことから、暴露量評価に用いるデータの分析部位が、国内現行の可食部であっても、国際標準の全果実であっても、安全性評価の結果に及ぼす影響は小さいことが示唆された。

Table 6. Comparison of share ratio of estimated daily intake to ADI calculated on fresh or edible portion data

	ADI (mg/kg BW/day)	Sex	Estimated daily intake/ADI (%)					
			Fresh			Edible		
			Minimum	Maximum	Mean	Minimum	Maximum	Mean
Boscalid	0.044	Male	0.2	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2
		Female	0.3	0.4	0.4	0.3	0.4	0.3
Flubendiamide	0.017	Male	0.4	0.5	0.5	0.3	0.5	0.4
		Female	0.6	0.7	0.7	0.4	0.7	0.6
Flufenoxuron	0.037	Male	0.1	0.2	0.1	0.0	0.2	0.1
		Female	0.1	0.3	0.2	0.1	0.3	0.2
Imidacloprid	0.057	Male	0.0	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0
		Female	0.0	0.1	0.1	0.0	0.1	0.1
Pyraclostrobin	0.034	Male	0.1	0.2	0.1	0.1	0.2	0.1
		Female	0.2	0.3	0.2	0.1	0.3	0.2
Simeconazole	0.0085	Male	0.2	0.6	0.4	0.1	0.6	0.3
		Female	0.3	0.9	0.5	0.2	0.8	0.4

4. 小括

リンゴ，日本梨及び西洋梨の計 6 試料における部位別の残留農薬調査の結果から，非可食部においては可食部よりも比較的高濃度で農薬が残留することを確認した。MRL の適用部位である可食部に非可食部を合わせた果実全体としての残留濃度は，非可食部の重量が全体に占める割合が小さいため，可食部のみと比較して最大でも 2 倍程度であった。全体としては仁果類作物における農薬の残留性について，散布条件，栽培条件など各種試験条件に由来する特徴的な知見は認められなかった。これらの知見は，既報¹⁵⁾でのリンゴ中のシペルメトリンでの知見と概ね合致していた。

2 組の縮分試料における果実実測値と全果実計算値に，可食部のみの残留濃度を加えた 3 群の残留データ間に，統計的な有意差は認められなかった。従って，現行規定に準拠した可食部での残留評価を，国際標準に準拠した果実全体としての残留評価に移行した場合，非可食部の残留濃度が比較的高めな場合においても，最終的な残留評価には著しく大きな影響を与える可能性は低いと示唆された。さらに，安全性評価への影響を確認するため，得られた全果実と可食部の残留濃度から，ADI 占有率を算出したところ，両者の間に差はほとんどなかった。これらのことから，分析部位ならびに暴露量評価の対象部位が可食部であっても，果実全体であっても，安全性評価に及ぼす影響は小さいことが示された。

本章では，分別分析により仁果類作物の可食部における残留量の精密な暴露評価に資する有用な知見が得られた。また，圃場を代表する残留濃度を求めるためには可能な限り縮分操作などの変動要因は除外することが望ましいと考えられるが，本章で対象とした仁

果類作物においては，縮分操作及び分析部位の取り扱いが残留分析結果に与える明らかな影響は認められなかった。さらに，仁果類作物では国内外における分析対象部位の違いによる安全性評価への影響はほとんどないことが確認された。

第 3 章 作物形態が残留性評価に与える影響

第 1 節 仁果類作物における作物表面の形状が残留性評価に与える影響⁴¹⁾

1. 緒言

作物の分析対象となる部位に農薬が残留する要因としては、該当部位への直接的な付着と、根や葉などの植物体の他の部位で吸収後に分析部位への浸透移行によるものがある。茎葉散布による農薬の残留は、ほとんどが前者の直接的な付着によるため、残留濃度には農薬の初期付着量と作物の生長速度が大きく影響を与える。⁴³⁾ 農薬の作物への付着量は農薬の使用量の他、作物表面の形態にも左右され、残留農薬の実態調査では表面に凹凸がある作物や、毛が生えている作物、重量当たりの表面積が大きいものなどの特徴がある作物では比較的高頻度または高濃度で農薬を検出する傾向が報告されている。⁴⁴⁻⁴⁶⁾ 本章では、作物の形態が残留性評価に与える影響について纏めた。

前章で対象とした 3 種の仁果類作物も、形態にそれぞれの特徴を有する。リンゴと日本梨は概ね球体で類似した形状をしているが、西洋梨は果実の上部が突起した形状である。そのため、西洋梨では果梗の基部の窪みが小さく、リンゴ及び日本梨よりも非可食部が占める各農薬の分布割合は低かった。また、表面に着目するとリンゴはツルツルしているのに対し、日本梨はザラザラしている。本節では前章で得た残留データを基に、作物の過熟等により表面に生じる内部裂果（Figure 13, 実験の部 73 頁参照）も含めた仁果類作物

での表面の形状の違いが残留濃度に与える影響についてそれぞれ考察した。

2. 作物表面の形状の違いが及ぼす農薬残留性への影響

前章で得たリンゴ 4 試料と日本梨及び西洋梨での農薬別の残留濃度を比較したところ、リンゴにおけるイミダクロプリドの残留濃度が日本梨や西洋梨よりも低い傾向であった (Figure 6)。イミダクロプリドとフルベンジアミドは収穫の 3 及び 10 日前に混用散布され、両薬剤の有効成分含量 (50% 及び 20%) 及び希釈倍率 (5000 倍 及び 4000 倍) から計算される単位面積当たりの有効成分投下量は、イミダクロプリドの方がフルベンジアミドよりも 2 倍多い。そのため、日本梨及び西洋梨における残留濃度は、イミダクロプリドの方がフルベンジアミドよりも高く、この結果は、両農薬の有効成分投下量との関係に相応する妥当な結果と考えられた。一方、リンゴでの残留濃度はイミダクロプリドの方が、フルベンジアミドの残留濃度よりも明らかに低く、この結果は両農薬の有効成分投下量との関係と相反した。イミダクロプリド⁴⁷⁾及びフルフェノクスロン⁴⁸⁾のリンゴ中における運命試験の報告事例では、ネオニコチノイド系殺虫剤であるイミダクロプリドについては、果肉へのいわゆる浸透移行性が認められるのに対し、フルフェノクスロンにおいては果肉への浸透移行性が認められなかったと報告されている。イミダクロプリドの残留濃度が作物種により違いを生じることについては、他の調査対象農薬よりもイミダクロプリドの水溶性が高いことその他、両作物種の果実表面の構造の違いなどの影響も考えられた。さらに、リンゴの特性である”油あがり”と言われるリンゴの熟成に伴

い精製したリノール酸やオレイン酸及びそれらに溶解した脂質（ろう質物）が果実表面に出てくる現象⁴⁹⁾によるものも考えられ、水溶性が高いイミダクロプリドは、この油あがりによってリンゴ果実の表面に付着し難かったと推察した。本研究では日本梨及び西洋梨での例数が少ないため詳細な要因解析は困難であった。その他の5種農薬については、リンゴと日本梨及び西洋梨での残留傾向に有意な差異は認められなかった。

3. リンゴの果梗の基部における内部裂果が残留農薬の分布へ及ぼす影響

2010年の山梨県産リンゴにおいて目視観察により内部裂果が認められた一部試料と、内部裂果が認められない正常試料を、それぞれ「可食部」、「非可食部・上部」及び「非可食部・下部」に分別して求めた残留濃度を Figure 7 に示して比較した。非可食部における残留濃度の上部／下部の比率は、内部裂果が認められない正常試料の場合では 7.0～14.0 であったのに対し、内部裂果試料では 1.7～3.5 と明らかに低かった。また、「可食部」、「非可食部・上部」及び「非可食部・下部」の分析部位別に比較した場合、内部裂果試料の可食部での残留濃度は正常試料に対して 0.70～1.10 倍（平均 0.92 倍）と同等であったが、内部裂果試料の非可食部・上部での残留濃度は正常試料に対して 0.25～0.60 倍（平均 0.36 倍）と明らかに低く、内部裂果試料の非可食部・下部での残留濃度は正常試料に対して 1.20～1.78 倍（平均 1.39 倍）と全ての農薬で高かった。これらの結果から、内部裂果試料では果梗の基部に溜まった残留農薬が非可食部の下方に浸透しやすかったものと推察された。また、

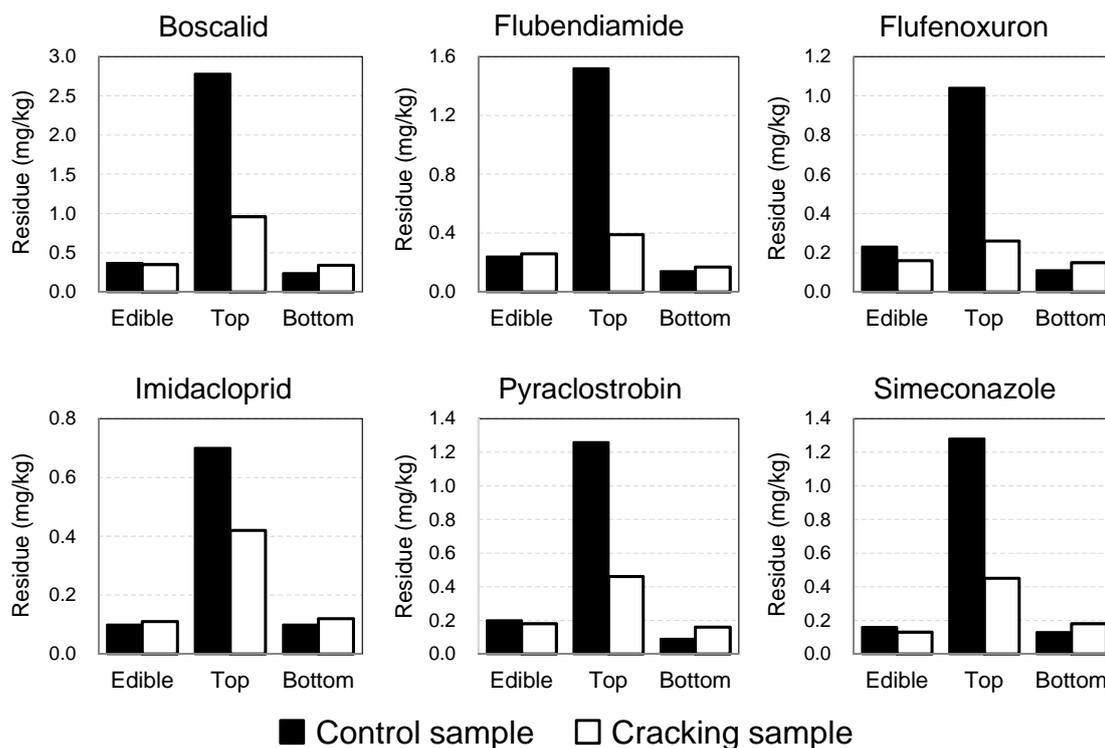


Figure 7. Pesticide residue levels in non-cracking (left side black bar) and cracking (right side white bar) apple from Yamanashi orchard in 2010. The sample was separately analyzed in three portions as edible, top of inedible (basal portion of stem) and bottom of inedible (mixture of core with calyx) portions.

内部裂果による非可食部内の分布の影響については、農薬の種類に関係なく同様の傾向であった。しかしながら、果実全体に対する残留農薬の可食部と非可食部への分布率については、内部裂果の影響は認められなかった。

4. 小括

作物表面の形状が残留濃度に与える影響について、前章で得たリンゴ、日本梨及び西洋梨の残留データから解析した。残留濃度の傾向を農薬間で比較したところ、イミダクロプリドとフルベンジアミドの間で、日本梨及び西洋梨では投下量と傾向が一致していたのに

対し、リンゴではイミダクロプリドの残留濃度が著しく低く相反するものであった。この傾向については、リンゴの熟成により生じる”油あがり”という現象で、作物表面を脂溶性の物質が覆うことにより、水溶性の高い農薬であるイミダクロプリドの付着が妨げられたものと推察した。その他の農薬では作物種の違いによる差は認められなかった。また、得られたリンゴ試料の果梗の基部に明らかな内部裂果が認められた試料があったため、その試料について「可食部」、「非可食部・上部」及び「非可食部・下部」に分別して分析した。内部裂果試料の可食部における各農薬の残留濃度は、正常試料の可食部と大きな差はなかったが、非可食部の上部及び下部ではその残留傾向に正常試料と明らかな差があった。内部裂果試料の非可食部・上部の残留濃度は正常試料に比べて平均 0.36 倍と低くなり、また、非可食部・下部では平均 1.39 倍と高くなった。これは、内部裂果した部分から農薬が下方へとより浸透しやすくなったためと考えられた。

これらのことから、リンゴと日本梨のように類似の形態をもつ作物間であっても、作物表面の構造や状態によって、残留性評価や暴露量評価に影響を与える可能性が示された。

第 2 節 未成熟トウモロコシの分析部位の違いが暴露量評価に及ぼす影響⁵⁰⁾

1. 緒言

日本は近年、トウモロコシの輸入大国の一つである。^{21,22,51)} 一般的な可食部は穀粒であるが、一般の小売店では未成熟トウモロコ

シ（茹でるあるいは焼いて食べる生食用の生鮮品）が外皮に覆われた状態や外皮を除いた状態，また，穀粒のみを冷凍や缶詰などにして販売されている。そのため，未成熟トウモロコシにおける残留農薬の検査用試料は様々な状態で検査機関に持ち込まれる。未成熟トウモロコシの分析部位は各国における試験ガイドライン毎に異なり，場合によっては，芯やヒゲを含むか否か明確ではないこともある。^{11,29,30)} 我が国における未成熟トウモロコシの MRL の適用部位は，「外皮，ヒゲ及び芯を除いた種子」となっており，つまり，可食部である穀粒のみである。一方，諸外国では，「(外皮を除いた) 穀粒及び芯」が一般的であり，我が国での指針では明記されているヒゲの取り扱いについては不明瞭な部分もある。また，芯を含むことは国際的には共通認識となっている。

未成熟トウモロコシにおける残留分析は様々な報告⁵²⁻⁵⁵⁾はあるが，穀粒，芯，ヒゲ及び外皮のそれぞれの部位についての残留性についての報告はなく，いずれか 1 つの部位のみについての報告である。そこで本研究では未成熟トウモロコシ試料を国内の 2 箇所の圃場（茨城，千葉）で，5 種類の農薬製剤を散布して栽培した。収穫した未成熟トウモロコシ試料は穀粒，芯，ヒゲ及び外皮の 4 部位に分けて，それぞれ分析して各分析部位への残留農薬の分布や，分析部位の取り扱いが残留性評価ならびに安全性評価に与える影響について解析した。

2. 未成熟トウモロコシ試料について

未成熟トウモロコシは一般的な品種であるハニーバンダム（茨城試料）及びゴールドラッシュ（千葉試料）を使用した。得られた未

成熟トウモロコシ試料の平均個体重量は茨城試料では 312 g (4.67 kg/15 本), 千葉試料では 313 g (9.38 kg/30 本) であり, 大きさにほとんど差はなかった。分別した各分析部位の重量比 (穀粒 : 芯 : ヒゲ : 外皮) も, 茨城試料では 56 : 27 : 2 : 15, 千葉試料では 56 : 25 : 3 : 17 であり, 圃場間に差は認められなかった。両圃場試料ともに小売店で販売されている未成熟トウモロコシと同じような外観であったが, 両圃場試料間ではヒゲの状態が異なっていた (Figure 8)。雌穂の先端から外皮の外に出たヒゲは茨城試料の方が千葉試料より長く, 千葉試料ではほとんど外皮に包まれている状態であった。この違いは栽培期間における圃場間の気候や栽培環境が影響していると考えられる。トウモロコシの植物体の中には雄花と雌花がともに存在する。雄花は植物体の先端に咲き, 雌花は植物体の中ほどの葉の付け根に穂のような状態で咲く。ヒゲは「絹糸(けんし)」とばれ, 雌花から伸長している雌しべであり, 全て穀粒の基となる部分に繋がっている。トウモロコシの自己の植物体での受粉を避けるように、ヒゲは雄穂形成期後の雄花が咲き終えた頃から伸長が始まり, 畑内の他の植物体から風などにより受粉する。⁵⁶⁾

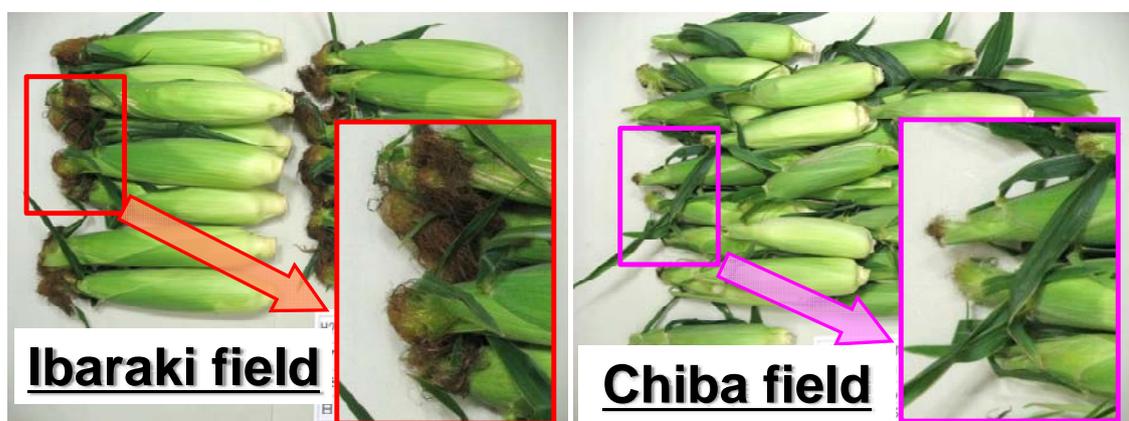


Figure 8. Photos of harvested corn ears from the Ibaraki and Chiba fields.

伸長が始まった初めの数日は1日当たり3.8 cm程度の速さで伸長する。57) ヒゲの伸長は受粉により抑制されるため、最終的なヒゲの状態は気候や栽培環境に大きく左右されることになる。そのため、トウモロコシのヒゲは様々な長さとなる。本研究で得た試料の外観上の違いは、ヒゲの長さ以外は認められなかった。

3. 未成熟トウモロコシ試料における残留農薬の分布

穀粒, 芯, ヒゲ及び外皮における残留分析結果を Table 7 に示す。可食部であり、我が国における分析部位である穀粒では、対象の5種類の農薬のうち最も水溶性の高いアセフェートのみを検出し、その残留濃度は0.02 または0.07 mg/kg でいずれも我が国におけるMRL (0.5 mg/kg) よりも低い濃度であった。33) その他の4種農薬は定量限界未満 (<0.01 mg/kg) であった。また、芯では、分析対象農薬のうちアセフェートとその次に水溶性の高いアセタミプリ

Table 7. Pesticide residue levels in the kernel, cob, silk, and husk portions of the sweet corn samples

Field location	Pesticide	Measured residue levels				Calculated residue levels ^{a)}	
		kernel (K)	cob (C)	silk (S)	husk	K+C	K+C+S
Ibaraki	Acephate	0.07	0.08	14.2	2.24	0.07	0.41
	Acetamiprid	<0.01	0.03	25.9	2.80	0.01	0.62
	Chromafenozide	<0.01	<0.01	8.96	1.08	<0.01	0.22
	Etofenprox	<0.01	<0.01	12.0	0.79	<0.01	0.29
	Tolclofos-methyl	<0.01	<0.01	0.05	<0.01	<0.01	<0.01
Chiba	Acephate	0.02	0.03	1.14	4.56	0.02	0.06
	Acetamiprid	<0.01	0.02	0.56	5.20	0.01	0.03
	Chromafenozide	<0.01	<0.01	0.15	1.76	<0.01	0.01
	Etofenprox	<0.01	<0.01	0.20	1.34	<0.01	0.01
	Tolclofos-methyl	<0.01	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01

Mean of residue levels for measurements in duplicate (mg/kg).

^{a)} Calculated residue levels in the kernel with cob (K+C) and kernel with cob and silk (K+C+S). A half-value of the limit of quantification (0.005 mg/kg) was used for the calculations, where the residue level is <0.01 mg/kg.

ドの 2 農薬のみ検出した。アセフェートの残留濃度は 0.03 または 0.08 mg/kg であり，穀粒における残留濃度とほぼ同じ濃度であった。ヒゲでは，千葉試料のトルクロホスメチルを除き，全ての農薬を検出した。茨城試料での検出濃度は 0.05～25.9 mg/kg あり，千葉試料の <0.01～1.14 mg/kg よりも明らかに高い濃度であった。外皮では，茨城試料のトルクロホスメチルを除き，全ての農薬を検出した。ヒゲとは対照的に千葉試料での残留濃度は 0.01～5.20 mg/kg あり，茨城試料の <0.01～2.80 mg/kg よりも高い濃度であった。

各部位での残留濃度と重量比から算出した未成熟トウモロコシの穂全体における残留濃度を Figure 9 に示す。茎葉散布した残留

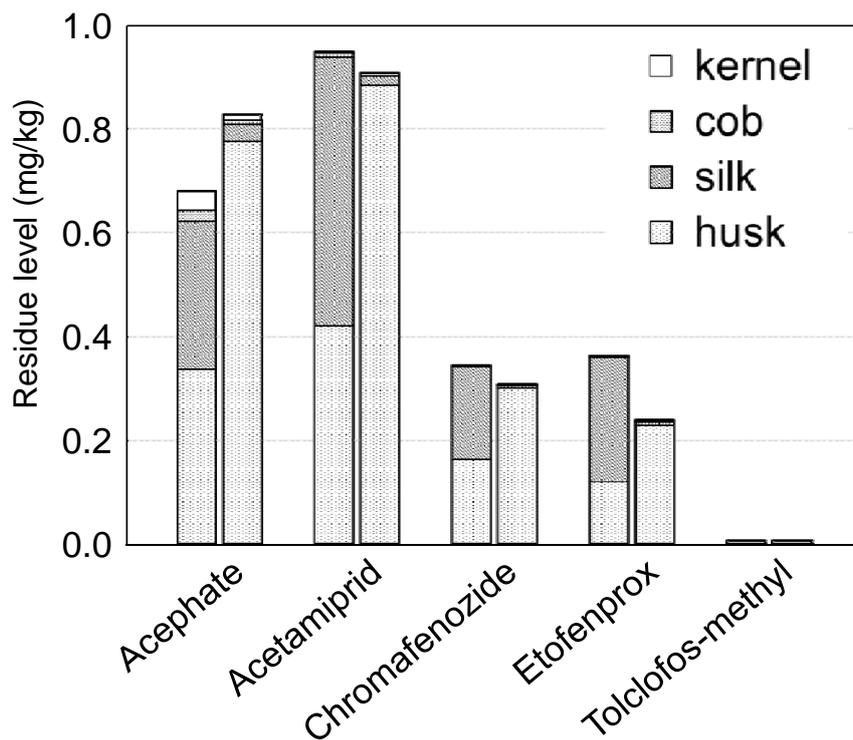


Figure 9. Total residue levels of the five pesticides in the whole corn ears from Ibaraki field (left bar for each pesticide) and Chiba field (right bar for each pesticide). The relative bar length for each analytical portion indicates the distribution of pesticide residues in the various portions.

農薬は主にヒゲと外皮に分布しており、重量ベースで全量の 91% 以上がそれら 2 部位に存在していた。穂全体としての残留濃度は茨城及び千葉試料間にいずれの農薬においても大きな差は認められず、両圃場において農薬の散布作業が同様に行なわれていたことと判断した。一方で、各農薬のヒゲと外皮への分布には圃場間で明らかに異なる傾向が見られた。茨城試料では千葉試料よりも、雌穂の先から長く伸びたヒゲに散布した農薬が多く付着したためと推察された (Figure 8)。

また、トルクロホスメチルの残留濃度は、他の農薬よりも明らかに低かった。これはトルクロホスメチルの PHI が長かったこと (14 日, Table 15, 実験の部 78 頁参照) に起因すると考えられる。一般的に PHI が長い場合、残留した農薬は分解や流亡、揮散による消失や、植物体の肥大生長に伴う希釈等によって残留濃度は減衰していく。

本項の結果より、2 圃場間の残留濃度や分布の傾向は、栽培環境の他、農薬散布時の植物の状態やそのスケジュールなどの要因が複合的に影響していることが示された。

4. 分析部位の取り扱いが安全性評価に及ぼす影響

未成熟トウモロコシの様々な部位における残留性評価をするために、各部位の残留濃度と重量比から、“穀粒+芯”及び“穀粒+芯+ヒゲ”での残留濃度をそれぞれ算出し、Table 7 に示した。その際、残留濃度が定量限界未満 (< 0.01 mg/kg) であった場合は、定量限界値の半分の値 (0.005 mg/kg) を代用して算出した。諸外国では一般的な分析部位である“穀粒+芯”としてヒゲを含まずに算出した

残留濃度は、我が国における分析部位の穀粒と概ね同じ濃度であった。一方、“穀粒+芯+ヒゲ”としてヒゲを含めた残留濃度を算出すると、残留濃度に大きく影響を与えた。“穀粒+芯+ヒゲ”の残留濃度は、穀粒のみでは定量限界未満であったデータ 8 つのうち、6 つが定量限界値を超過する濃度と算出された。千葉試料では、ヒゲへの残留濃度が低いため、影響は比較的小さく、穀粒のみの実測濃度と近い濃度であったが、茨城試料では、ヒゲでの残留濃度が高いため、穀粒の実測濃度よりも明らかに高い濃度に算出された。茨城試料のアセタミプリドでは“穀粒+芯+ヒゲ”として算出した残留濃度は、穀粒のみの残留濃度よりも 62 倍以上高かった。これらの結果から、諸外国では分析部位として明確な記載がない未成熟トウモロコシのヒゲが、農薬の残留性評価に大きな影響を及ぼす可能性があることが明らかとなった。

次いで、“穀粒”のみ、算出した“穀粒+芯”及び“穀粒+芯+ヒゲ”の各残留濃度と平成 27 年度の国民健康・栄養調査³⁹⁾による平均体重、トウモロコシの平均摂食量（男性：1.0 g/day，女性：1.2 g/day）及び各農薬の ADI⁴⁰⁾から男女別に各 ADI 占有率を求め、Table 8 に纏めた。本研究データから算出した ADI 占有率は、我が国における分析部位である“穀粒”では茨城試料のアセフェートが女性で 0.1%であり、その他は全て 0.0%であった。“穀粒+芯”も算出した残留濃度が穀粒と概ね同じであったため、ADI 占有率も同様の結果であった。さらに、ヒゲを含むか否かで残留濃度に大きな違いが見られた“穀粒+芯+ヒゲ”の ADI 占有率は、ヒゲを含むことによる影響は小さく、最高でも 0.4%（茨城試料，アセフェート，女性）であった。トウモロコシのように平均摂取量が少ない作物では、残留濃

度の大きな違いも安全性評価をする上での影響は小さい結果となった。

Table 8. Comparison of share ratio of estimated daily intake to ADI

	ADI (mg/kg BW/day)	Estimated daily intake/ADI (%)					
		kernel		kernel+cob		kernel+cob+silk	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
Ibaraki							
Acephate	0.0024	0.0	0.1	0.0	0.1	0.3	0.4
Acetamiprid	0.071	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1
Chromafenozide	0.27	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Etofenprox	0.031	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Tolclofos-methyl	0.064	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Chiba							
Acephate	0.0024	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Acetamiprid	0.071	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Chromafenozide	0.27	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Etofenprox	0.031	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Tolclofos-methyl	0.064	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

5. 小括

未成熟トウモロコシ試料中に残留している農薬の大部分はヒゲ及び外皮に分布していた。一方、未成熟トウモロコシの主な可食部であり、我が国における MRL の適用部位である穀粒への農薬の分布はわずかであった。また、諸外国における一般的な分析部位である”穀粒+芯”では、ヒゲを含めない場合、両圃場試料ともに残留濃度の計算値は、穀粒のみの実測定値と大差はなかったが、ヒゲを加えた”穀粒+芯+ヒゲ”の残留濃度を算出すると、農薬散布時のヒゲの状態によって、圃場間に大きな変動を生じる結果となった。このことから、植物の生長と農薬散布のタイミングが農薬の分布する部位に大きく影響することが明らかとなった。ヒゲは未成熟トウモロコシ全体に占める割合は少なく、あまり重要視されていなかったが、

残留性評価や暴露量評価にとって重要な部位となり得る。残留農薬の分析部位について、未成熟トウモロコシのヒゲの取り扱いを我が国では除去することが明記されているが、諸外国ではその取り扱いについて明確な記載がない。ヒゲは作物の栽培環境などによって雌穂からの生え方が変わるため、その取り扱いについても明確にすることが必要であると考えられる。しかし、安全性評価としては、得られた残留濃度から ADI 占有率を算出したところ、トウモロコシの平均摂取量が少ないため、“穀粒”のみと“穀粒+芯+ヒゲ”に大きな差みられなかった。しかし、近年の食文化の多様化により、トウモロコシのヒゲ茶などを介して、我々が一時的に多量に摂取した場合、健康影響を及ぼす恐れがあるため、各部位への分布を把握することは重要であると考えられる。

第 3 節 カブの根と葉の接合部の取り扱いによる残留試験結果への影響評価⁵⁸⁾

1. 緒言

根菜類の残留分析において、試料前処理は非常に重要な操作の一つである。我が国においては、ダイコンやカブはその根部及び葉部ともに食す文化があるため、農薬の MRL は各部位にそれぞれの値が設定されている。^{11,33)} 一方、ニンジンの葉部は一般的に食さないため、ニンジンにおける MRL の設定は根部のみとなっている。FAO マニュアル²⁹⁾においても、ニンジンの分析部位について、“Tops are carefully cut off with a knife by cutting through the bottom of the stem at the lowest point of junction of the outer

petioles. If an annulus of root tissue is thereby severed from hollow-crown roots, the material should be recombined with the roots”と葉部と根部の分割について詳細に規定されているが、ダイコンやカブでは分別分析が必要にも拘わらず、詳細な分割方法は記されていない。Figure 14（実験の部 86 頁参照）に本研究用で分割したカブの写真を示す。根部（Figure 14, R）と葉部（Figure 14, L）の分割は一見して単純な操作とも思えるが、切断点をどこにするかの判別は、時に分析作業者にとっては悩ましい作業となる。適切な切断点は、根部と葉部の接合部（Figure 14, J）のどこかにあると考えられる。一般的にダイコンやカブの葉部は根部に比べて傷みやすいため、小売店では通常、葉部をわずかに残した根部（Figure 14, R+J）の状態で売られていることが多い。一方、ダイコンやカブの作物残留試験での試料では、葉部が輸送中にバラバラにならないように根部をわずかに葉部に残した状態に分割した試料（Figure 14, L+J）で分析機関に届けられる。農薬を茎葉散布した場合、農薬は地上部の大半を占める葉部に付着するため、残留濃度は根部よりも葉部の方が高くなることが一般的である。主に土の中にある根部には、茎葉散布した農薬が直接付着することが少ないため、かなり低濃度となり、MRL も葉部に比べて根部では低く設定されている農薬が多い。このように、根部と葉部では残留濃度に大きな違いがあると考えられるため、その接合部での残留濃度やその取り扱いが、それぞれの残留性評価に影響を与えることが想定される。カブやダイコンの残留濃度に関する報告⁵⁹⁻⁶¹⁾は多々あるが、接合部の取り扱いやそれが残留濃度を与える影響に関する知見はない。そこで、本章では 2 カ所の試験圃場（茨城，宮崎）で 6 種類の農薬を散

布して栽培したカブを葉部，根部及び接合部に分割してそれぞれ分析した。得られたそれぞれの残留濃度から，“葉部+接合部”及び“根部+接合部”の残留濃度を算出し，根菜類作物における分析部位の取り扱いが残留性評価に及ぼす影響に関する知見を得た。

2. カブ試料について

カブは一般的な品種である“耐病ひかり”を両試験圃場ともに使用した。得られたカブ試料の平均個体重量は茨城試料では 269 g (6.72 kg/25 株)，宮崎試料では 1.10 kg (5.50 kg/5 株) であり，同じ品種にも拘わらず宮崎試料の方が大きかった。圃場間での試料重量に差が生じた要因としては，土性（茨城：壤土，宮崎：砂壤土）や気候の違いなどが推察された。分別した各分析部位の重量比（根部：接合部：葉部）は，茨城試料では 56：6：39，宮崎試料では 56：11：33 であり，圃場間に大きな差は認められなかった。

3. カブ試料における残留農薬の分布

根部，葉部及び接合部における残留分析結果を Table 9 に纏めた。根部の残留濃度は定量限界未満 (<0.01 mg/kg) ~ 0.07 mg/kg (ジノテフラン，茨城試料) であった。宮崎試料は茨城試料よりも全体的に濃度は低く，ジノテフランを除く 5 種の農薬はいずれも定量限界未満であった。一方，茨城試料では全ての農薬を検出した。この根部における残留濃度の違いは，試料重量の差に起因するものと推察した。また，葉部の残留濃度は根部よりも明らかに高く，0.78 mg/kg (アセタミプリド，茨城試料) ~ 6.54 mg/kg (トルフェンピラド，宮崎試料) であった。接合部の残留濃度においては，根部と

Table 9. Pesticide residue levels in the root, root-shoot junction and leaf portions of turnips

Pesticide, application ^{a)}	Field location	Measured residue levels ^{b)}			Calculated residue levels ^{c)}	
		root (R)	junction (J)	leaf (L)	root with junction (R+J)	leaf with junction (L+J)
Acetamiprid	Ibaraki	0.01 (1.8%)	0.02 (0.4%)	0.78 (98%)	0.01 (1.0)	0.69 (0.88)
2000 times×1 (21 d)	Miyazaki	<0.01	0.01 (0.4%)	0.94 (99%)	0.01	0.71 (0.76)
Azoxystrobin	Ibaraki	0.02 (0.5%)	1.29 (3.0%)	5.88 (97%)	0.13 (6.5)	5.31 (0.90)
2000 times×2 (7 d)	Miyazaki	<0.01	0.34 (1.9%)	5.86 (98%)	0.06	4.47 (0.76)
Chlorfenapyr	Ibaraki	0.02 (0.6%)	1.04 (2.9%)	4.99 (97%)	0.11 (5.5)	4.50 (0.90)
2000 times×2 (1 d)	Miyazaki	<0.01	0.22 (1.9%)	3.84 (98%)	0.04	2.93 (0.76)
Cyazofamid	Ibaraki	0.01 (0.3%)	0.87 (2.8%)	4.26 (97%)	0.09 (9.0)	3.84 (0.90)
2000 times×3 (3 d)	Miyazaki	<0.01	0.34 (2.6%)	4.24 (97%)	0.06	3.26 (0.77)
Dinotefuran	Ibaraki	0.07 (3.5%)	0.74 (3.6%)	2.70 (93%)	0.13 (1.9)	2.46 (0.91)
3000 times×2 (3 d)	Miyazaki	0.02 (0.7%)	0.40 (2.9%)	4.46 (96%)	0.08 (4.0)	3.44 (0.77)
Tolfenpyrad	Ibaraki	0.06 (1.5%)	1.57 (3.9%)	5.36 (95%)	0.20 (3.3)	4.89 (0.91)
1000 times×2 (7 d)	Miyazaki	<0.01	0.58 (2.9%)	6.54 (97%)	0.10	5.04 (0.77)

^{a)} Dilution factors of each formulation × number of application (Pre-harvest interval).

^{b)} Mean of the measured residue levels in root (R), root-shoot junction (J) and leaf (L) portions of turnips (n = 2, mg/kg). The value in the parentheses represents percentage distribution to the whole crop.

^{c)} Calculated residue levels in the root and leaf portions with the junction portion. A half-value of the limit of quantification (0.005 mg/kg) was used for the calculations, where the residue level was <0.01 mg/kg. The value in the parentheses represents ratio of the calculated residue level to the measured residue level.

葉部の中間程度であり，0.01 mg/kg（アセタミプリド，宮崎試料）～1.57 mg/kg（トルフェンピラド，茨城試料）であった。これらの残留濃度はいずれも我が国の MRL³³⁾（カブの根部 MRL：アセタミプリド 0.1 mg/kg，アゾキシストロビン 1 mg/kg，クロルフェナピル 0.2 mg/kg，シアゾファミド 0.3 mg/kg，ジノテフラン 0.5 mg/kg，トルフェンピラド 1 mg/kg，カブの葉部 MRL：アセタミプリド 5 mg/kg，アゾキシストロビン 15 mg/kg，クロルフェナピル 15 mg/kg，シアゾファミド 20 mg/kg，ジノテフラン 5 mg/kg，トルフェンピラド 25 mg/kg）よりも低い濃度であった。

さらに，残留農薬の各部位への分布を算出すると，主な残留部位は葉部であり，各農薬ともに重量ベースで全量の 93%以上が分布していた。根部及び接合部への分布は少なく，それぞれ 3.5%以下及び 3.9%以下であった。根部，葉部及び接合部の 3 部位への分布パターンは物理化学的性状の異なる 6 種類の農薬を，異なる 2 圃場で

散布したにも拘わらず，特異的な傾向は見られなかった（Figure 10）。これらの結果は我が国の適正な慣行農法に沿って得た一般的な残留データであると判断した。

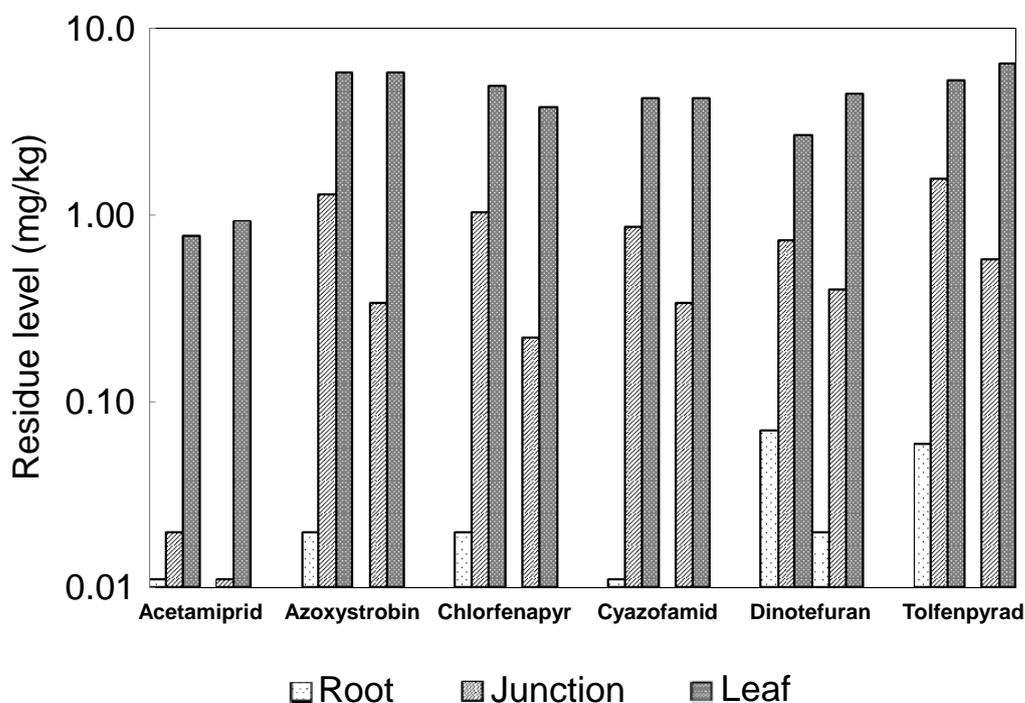


Figure 10. Residue levels of six pesticides in the root, leaf and root-shoot junctions of turnips sampled from Ibaraki (right side of each pesticide) and Miyazaki (left side of each pesticide).

4. カブの接合部の取り扱いが残留性評価に与える影響

カブの根部及び葉部にそれぞれ接合部を加えた場合の残留濃度を算出し，Table 9に纏めた。接合部を加えた残留濃度を算出する際，残留濃度が定量限界未満（ $< 0.01 \text{ mg/kg}$ ）であった場合は，定量限界値の半分の値（ 0.005 mg/kg ）を代用して算出した。根部における残留濃度（R）は，根部単独での場合と比べて，接合部を加えることにより（R+J），一様に高く算出された。宮崎試料では根部のみでは定量限界未満であった農薬も全て定量限界値を超過す

る濃度と算出された。残留濃度の変動が最も大きかったのは茨城試料のシアゾファミドで、その濃度比 $((R+J)/R)$ は 9.0 であった。一方、葉部における残留濃度 (L) は、葉部単独での場合と比べて、接合部を加えることにより (L+J)、いずれも低く算出された。葉部と葉部+接合部の濃度比 $((L+J)/L)$ は、茨城試料では 0.88~0.91、宮崎試料では 0.76~0.77 となった。同一試料内では物理化学的性状が異なる農薬間で受ける影響に差はなく、圃場間では宮崎試料の方が茨城試料よりも影響を受けやすい傾向があった。これは、全体に占める接合部の重量比が宮崎試料 (11%) の方が茨城試料 (6%) よりも高く、より影響を受け易かったためと推察した。

根部と葉部についてそれぞれ単独の場合と接合部を含めた場合の残留濃度をボックスプロットして Figure 11 及び Figure 12 に示

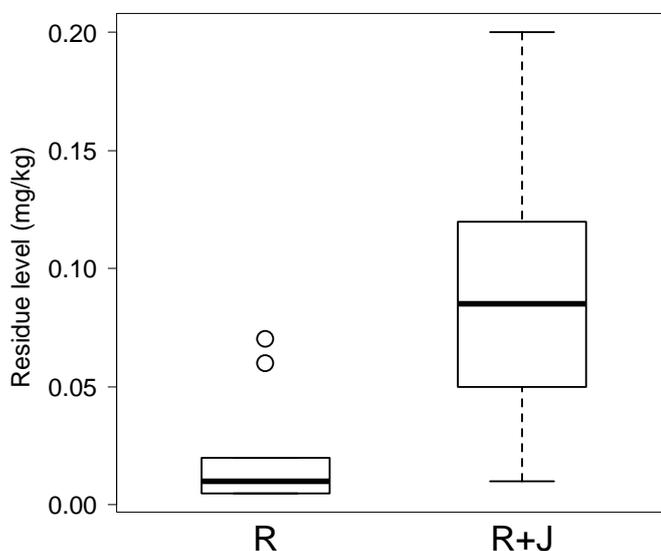


Figure 11. Box plots of variability in the measured residue levels of six pesticides in the root portions (R), and the calculated residue levels in the root portion with root-shoot junctions (R+J). Bottom and top of the box indicate the lower and the upper quartile points, respectively, and the lines from bottom to top indicate the range from the minimum to the maximum residue levels of pesticides.

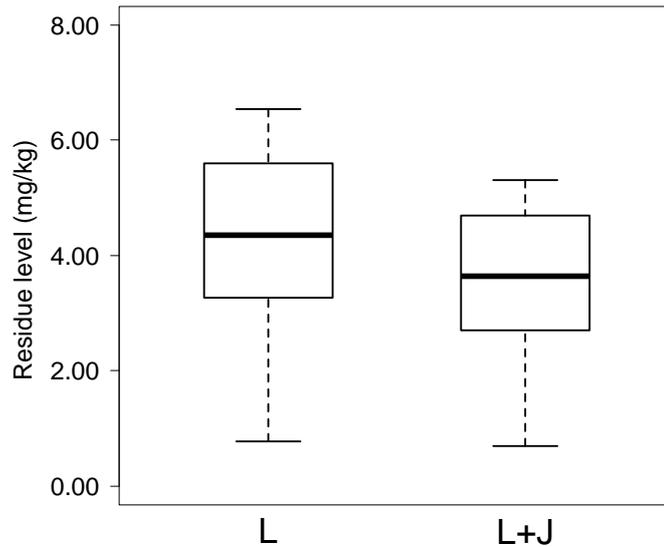


Figure 12. Box plots of variability in the measured residue levels of six pesticides in the leaf portions (L), and the calculated residue levels in the leaf portion with root-shoot junctions (L+J). Bottom and top of the box indicate the lower and the upper quartile points, respectively, and the lines from bottom to top indicate the range from the minimum to the maximum residue levels of pesticides.

した。Wilcoxon の符号順位検定で根部または葉部に接合部を加えるか否かの残留濃度について有意差検定したところ、いずれも接合部の有無で有意な差が認められた（根部： $p=0.0009766$ ，葉部： $p=0.0004884$ ）。接合部を加えることによる残留濃度の影響は、葉部よりも根部の方が明らかに大きいものであった。このことから、根部と葉部の分別をする際の切断点の選定が残留性評価に影響を与えることが明らかとなり、同じ作物試料であっても分析する人の判断によって、その分析結果に影響を及ぼす可能性を示した。残留分析結果は食品の安全性評価の根底となるものであり、ヒトへの健康影響へと繋がるものである。安全性評価の精度向上ためには、より明確な分析部位や前処理方法の規定が必要と考えられる。

5. 小括

本節では，一般的に行なわれているカブの根部と葉部のそれぞれの残留性評価において，各部位に切断する部分の選定がその結果に有意な影響を与えることを明らかにした。本節で示したように農薬を茎葉散布した根菜類では，一般的に葉部よりも根部の方が残留濃度は低くなるため，根部と葉部の切断点の選定は葉部よりも根部により大きな影響を与えることが想定される。カブなどの根菜類の残留分析において，根部と葉部を分別する最初の工程の重要性が示された。残留分析結果は食品の安全性評価の根底となるものであり，ヒトへの健康影響へと繋がるものである。安全性評価の精度向上ためには，より明確な分析部位や前処理方法の規定が必要と考えられる。

また，小売店では”根部+接合部”の状態の販売されているため，MRL が適用される分析部位の根部のみではなく，接合部も喫食されることも多く，暴露量を過小評価している可能性もある。特に根菜類では，”葉部”あるいは”接合部”を食するか否か等，各国や地域における食文化にも配慮が必要であることが示唆された。

総括

本研究は、ヒトが健康に生きる上での最も根幹となる「食」において、農作物の安定した供給に欠かすことのできない農薬の残留性に関する調査ならびに解析をし、残留農薬に起因したヒトの健康への安全性評価の精密化に関する研究を試みた。具体的には、試験的に複数の圃場において概ね同じ条件で農薬を散布して栽培して得た試料から圃場間及び栽培年間での残留濃度の変動や、農作物中における残留農薬の分布、国内外での農薬の残留性評価または安全性評価での対象部位の違いが及ぼす影響について纏めた。本研究の最大の特長は、日本国内の複数の圃場で、様々な農薬をそれぞれの使用方法に則して散布をして栽培された各種農作物を用いて、分析・解析・評価したことにあり、全てのヒトに共通する食の安心安全に資するものである。さらに、農作物中の残留農薬の分布を理解することにより、農薬のリスク評価及び暴露評価の精密化に直結する基礎的な知見を得ることができた。これらの科学的データを基にした考察から、残留農薬にかかわる食品の安全性評価の精密化に繋げた。

第 1 章では農薬の散布条件を統一して得られた実残留試料を用いて、作物の栽培条件が試験結果に与える影響及び最大残留量に関する知見を得ることを目的とした。ハクサイ及びホウレンソウを国内 8 カ所の圃場において、それぞれ同一の条件で 5 又は 3 種の農薬を散布し、2 年間にわたり残留濃度を調査した。圃場間で比較した残留濃度の変動は露地栽培したハクサイでは最大 10.5 倍、施設栽培したホウレンソウでは最大 5.7 倍あり、残留性評価をする上で、得られるデータの変動について具体的な知見が得られた。また、同

一圃場における 2 年間での残留濃度は、施設栽培をしたハウレンソウでは再現性が得られたが、降雨や日光による分解など残留性評価に影響を与える要因が増える露地で栽培したハクサイではその再現性は低かった。さらに、各残留濃度は試料個体の重量との間に負の相関を示したが、各圃場の気象条件との間には相関性は見られなかった。また、我が国の残留分析において、ハクサイなどの大型作物で行なわれている縮分操作では、同一試料内でも 4 倍近く残留濃度の評価に影響をすることを示した。ハクサイは葉が幾重にも重なる非対称な形態であるため、縮分操作により得た試料の葉の重なり具合によって残留濃度に大きく影響を与えると考えられ、残留する農薬が作物個体に均一に分布していないことが確認された。しかし、縮分操作による残留濃度の変動は、圃場間での変動よりも小さいものであった。さらに、得られた残留データを基に ADI 占有率を算出したところ、これらの残留濃度の変動による影響は小さく、生涯にわたって毎日摂取したとしても健康に影響を生じる恐れはないものであった。

第 2 章では国内外で残留性評価の対象部位が異なるリンゴ、日本梨、西洋梨の 3 種仁果類作物を複数の部位に分別して分析し、その分析部位の違いが残留性評価に及ぼす影響ならびに作物中の残留農薬の分布について調査した。6 種の農薬を散布して栽培した試料を縮分し、1 つを我が国における MRL の対象部位である”可食部”と通常は除去する”非可食部”に分け、もう 1 つを分別せずに諸外国での MRL 対象部位である”全果実”として、それぞれへの残留濃度を分析した。各部位の残留濃度は、果実上部の窪み部分を含む非可食部が最も高く、全果実と可食部ではほとんど差がなかった。非可

食部と可食部の残留濃度及び重量比から算出した全果実計算値と果実実測値を比較するとその残留濃度はほぼ一致した。このことから、分別分析により全果実の評価が可能であることを確認し、さらに、仁果類作物の果実のような対称性の高い形態の農作物では縮分操作による残留性評価への影響は小さいことを示した。可食部と果実実測値と全果実計算値の間には有意な差はなく、また、それらから算出した ADI 占有率も概ね同じであったことから、分析部位の国際調和が生じても安全性評価に及ぼす影響は小さいことが明らかとなった。

第 3 章では種々の作物を部位別に分析することにより、作物の形態が残留性評価に与える影響を調査し、それを基に安全性評価への影響も考察した。第 1 節では前章の仁果類作物における残留データを更に解析し、類似した形態の作物における作物表面の形状の違いが残留性評価に与える影響を求めた。調査対象とした農薬の中で最も水溶性の高いイミダクロプリドでは、“リンゴ”と“日本梨及び西洋梨”の間で異なる残留傾向を示した。これは、リンゴにおける“油あがり”という現象で、作物表面を脂溶性の物質が覆うことにより、イミダクロプリドの付着が妨げられたものと推察した。このことから、農作物の形態と農薬の物理化学的性状の関係が残留性に影響を及ぼす可能性があることが示唆された。さらに、果実の過熟等で生じる果実の内部裂果により、果実中の残留農薬の分布が影響を受けることを確認した。これらのように類似した形状の作物間であっても、表面の形状の違いが残留性評価や暴露量評価に影響を与える可能性を示した。第 2 節では未成熟トウモロコシを対象とし、トウモロコシの穂を穀粒、芯、ヒゲ及び外皮の 4 部位に分別して分析し、

我が国における MRL 対象部位である”穀粒”と諸外国での MRL 対象部位である”穀粒+芯”について比較し，さらに，諸外国の試験指針等で取り扱いが明記されていない”ヒゲ”が残留性評価に及ぼす影響を調査した。試料は 2 カ所の圃場で 5 種の農薬を散布して栽培したところ，農薬を散布する時の作物の生育状態が，農薬の残留濃度に大きな影響を及ぼすことが明らかとなった。試料個体の重量及び各部位の重量比に圃場間の大きな違いはなかったが，形態的にヒゲが先端から外部に出ている具合（長さ）によって，残留農薬の分布は異なった。分析部位が”穀粒”のみと”穀粒+芯”の残留濃度に差はなかったが，ヒゲを含むか否かの違いによって，残留濃度に大きく影響を与えることが明らかとなった。このことから諸外国における分析部位も，我が国における分析部位のようにヒゲを除去するなどの取り扱いについて明示する必要があると考えられた。しかし，安全性評価として，得られた残留濃度から ADI 占有率を算出したところ，トウモロコシの平均摂取量が少ないため，”穀粒”のみと”穀粒+芯+ヒゲ”に大きな差みられなかった。ヒゲについては一般には食さず，全体に占める重量も小さいため，あまり重要視されてはいなかったのかもしれないが，栽培環境などによっては伸長の具合が異なるため，残留性評価において重要な部位となり得ることが示唆された。第 3 節では 1 つの農作物中で 2 カ所の異なる MRL 対象部位を持つ根菜類を対象に，部位の分別及びその取り扱いが残留性評価に与える影響を調査した。試料は，2 カ所の圃場において 6 種類の農薬を同一条件で散布して栽培したカブを用いた。試料は”根部”及び”葉部”さらにその”接合部”の 3 部位に分けてそれぞれ分析した。農薬の処理は茎葉散布であったため，いずれの農薬も地上部である

葉部に全体の93%以上が分布していた。根部への分布はわずかであり、定量限界未満の農薬も多数あった。接合部は根部と葉部の中間程度の残留濃度であった。カブのMRL対象部位である根部と葉部を切断する場合を想定し、接合部を、葉部と根部のそれぞれに加えた場合の残留濃度を算出したところ、いずれの部位も接合部を加えるか否かで残留濃度に有意な差を生じることを確認した。特に根部では定量限界未満と評価していた農薬も検出される結果となり、残留性評価において明らかな影響があることが示された。残留分析の際の試料前処理において、根菜類の根部と葉部の分別が非常に重要な工程であることが示唆された。安全性評価の精度向上ためには、より明確な分析部位や前処理方法の規定が必要と考えられる。さらに、根菜類では、“葉部”あるいは“接合部”を食するか否か等、各国の食文化にも配慮が必要であることが示唆された。

本研究では農作物に残留する農薬の残留性評価に及ぼす種々の変動要因や傾向、作物中の残留農薬の分布を、実際の圃場で適正に農薬を散布して収穫した農作物を用いて明らかにした。その際、農薬は幅広い物理化学的性状を持つように複数を選定し、作物毎に各圃場で概ね同一の条件で使用した。これら要件の下、圃場間の栽培環境要因や縮分操作による分析値の変動を踏まえた実態に即した農薬摂取量の実態を導いた。農薬によるリスク管理をする上で、残留濃度は食に対する安全性評価に大きく影響を与える。食品の安心安全を保つためには、厳密に残留状況を把握することが肝要である。分析部位の違いが摂取量推定に影響することが明らかとなり、食文化も考慮した評価の必要性も示唆された。

残留分析の結果は食品の安全性評価の根底となるものであり、ヒ

トへの健康影響へと繋がるものである。安全性評価の精度向上のためには、より明確な分析部位や前処理方法の規定が場合によっては必要と考えられる。得られた知見は、残留データの信頼性を高めるものであり、食品の安全性評価や農薬の暴露量調査において、その精度向上に資するものである。また、現状で、MRLの適用部位が異なる我が国と諸外国において、今後想定される残留基準の国際調和・標準化に対しても有用な知見となる。以上のことから、食品の安全性評価の根底である暴露量のより精密な把握と共に、ヒトの健康影響への高度な判断へと繋がり、食の安心安全を通じたヒトの健康推進への寄与が期待される。

実験の部

1. ハクサイ試料の調製及び残留分析³²⁾

1-1. 圃場試験

ハクサイの試料栽培は、一般社団法人日本植物防疫協会に委託し、2年間で国内9ヶ所の圃場（各年8カ所ずつ）において、我が国の一般的な栽培管理及び作物残留試験ガイドライン⁹⁾に準拠して、露地栽培で5種類の農薬を散布した。選定した農薬は物理化学的性状が異なるものとした。選定した農薬は極性順にネオニコチノイド系の殺虫剤であるジノテフラン（ $\log P_{ow} -0.549$ ，水溶解度 39.8 g/L），フルフェノクスロン（ $\log P_{ow} 4.0$ ，水溶解度 1.52 $\mu\text{g/L}$ ），フルベンジアミド（ $\log P_{ow} 4.2$ ，水溶解度 29.9 $\mu\text{g/L}$ ），トルフェンピラド（ $\log P_{ow} 5.61$ ，水溶解度 87 $\mu\text{g/L}$ ），ピリダリル（ $\log P_{ow} 8.1$ ，水溶解度 0.15 $\mu\text{g/L}$ ）とした。^{62,63)} ハクサイ試料を調製した圃場及び品種，栽培期間，散布量，平均試料重量，気象情報を Table 10 に示す。農薬製剤はスタークル顆粒水和剤（ジノテフラン 20.0%，北興化学社製），カスケード乳剤（フルフェノクスロン 10.0%，BASF 社製），フェニックス顆粒水和剤（フルベンジアミド 20.0%，日本農薬社製），ハチハチ乳剤（トルフェンピラド 15.0%，大塚アグリテクノ社製）及びプレオフロアブル（ピリダリル 10.0%，住友化学社製）を用いて，それぞれの最小希釈倍率である 1000～2000 倍希釈後，背負式散布機を使用して混用で茎葉散布した。散布量は各圃場で 200～300 L/10 a であった。最終散布から収穫までの期間（PHI）は，各農薬製剤の使用方法での最短期間であり，スタークルでは 3 日間，カスケードでは 14 日間，フェニックスでは 1 日間，

ハチハチでは 14 日間，プレオでは 7 日間とし，7 日間隔で，最大使用回数（2～3 回）を散布した。試料は各圃場から 10 個ずつを無作為に採り，冷蔵便で残留農薬研究所へ発送した。

Table 10. Field experimental data for Chinese cabbage samples.

Field location	Variety	Planting date ^a	Application volume	Sample weight (kg)	Weather data ^b
Aomori	Kiou65	Aug. 23–Oct. 21, 2009	200–280 L/10a	2.71	13.8°C, 92 mm
Iwate	Kiamabou	Aug. 26–Oct. 22, 2009	300 L/10a	3.57	13.1°C, 87 mm
	Kiamabou	Aug. 28–Oct. 25, 2010	250 L/10a	3.65	14.6°C, 63 mm
Ibaraki	Kiraboshi	Sep. 12–Nov. 18, 2009	300 L/10a	3.82	12.8°C, 138 mm
	Kigokoro75	Aug. 26–Oct. 29, 2010	265–300 L/10a	3.23	16.1°C, 154 mm
Gunma	Kibohou90	Sep. 11–Dec. 1, 2009	300 L/10a	3.64	10.9°C, 67 mm
	Kachiki90	Sep. 21–Nov. 30, 2010	300 L/10a	2.39	10.5°C, 29 mm
Chiba	Kigokoro75	Sep. 7–Nov. 19, 2009	300 L/10a	3.11	13.3°C, 180 mm
	Kigokoro75	Sep. 7–Dec. 2, 2010	225–270 L/10a	1.71	10.7°C, 67 mm
Yamanashi	Kigokoro85	Sep. 19–Nov. 19, 2009	297 L/10a	2.82	11.9°C, 92 mm
	Kinsho-No.2	Sep. 23–Nov. 25, 2010	292–297 L/10a	3.31	9.2°C, 43 mm
Ishikawa	Kigokoro75	Sep. 3–Nov. 15, 2010	270 L/10a	1.76	12.2°C, 265 mm
Kochi	Kigokoro65	Sep. 25–Nov. 19, 2009	300 L/10a	1.03	15.3°C, 346 mm
	Kigokoro75	Sep.22–Dec. 2, 2010	280 L/10a	2.00	12.7°C, 134 mm
Miyazaki	Kigokoro365	Oct. 11–Dec.12, 2009	257 L/10a	1.65	13.7°C, 75 mm
	Kigokoro65	Oct. 6–Dec.11, 2010	252 L/10a	2.20	11.7°C, 65 mm

^{a)} From the date of planting nursery Chinese cabbage in the fields to the final sampling date.

^{b)} The mean temperature and total precipitation amount from the first application date to the final sampling date.

1-2. 試料前処理

受領した試料は重量をはかり，変質葉があれば除去した。縦に均等に 8～16 等分し，各個体から対極の 2 つを取り合わせて試料とした（縮分操作）。縮分したハクサイ試料は分析直前まで冷凍保存（-20°C 設定）し，ミキサー（BLIXER-5Plus，エフ・エム・アイ社製）で均一化後，分析した。

1-3. 分析操作

1-3-1. 試薬及び機器

ジノテフラン、フルベンジアミド、フルフェノクスロン、ピリダリル及びトルフェンピラドの各分析標準品は林純薬工業社製及び和光純薬工業社製を使用した。アセトン及びアセトニトリル（残留農薬試験用）、アセトニトリル（LC/MS用）、酢酸アンモニウム（試薬特級）は和光純薬工業社製を使用した。水は Milli-Q システム（Merck Millipore 社製）で精製した超純水を使用した。固相抽出のカートリッジはジーエルサイエンス社製の C₁₈ ミニカラム（InertSep C18-C, 1 g/6 mL）及び Sigma-Aldrich 社製のグラファイトカーボンミニカラム（Supelclean ENVI-Carb, 500 mg/6 mL）を使用した。

各分析標準品はアセトニトリルでそれぞれ溶解し、標準原液を調製した。それらを一部取って混合後、アセトニトリル／水混液で段階的に希釈して 0.05～2 µg/L の検量線用混合標準溶液を調製した。

1-3-2. 抽出

ピリダリルを除く農薬はいずれもアセトニトリルで試料から抽出した。均一化試料 20 g を三角フラスコに採り、アセトニトリル 100 mL を加えて 30 分間振とう抽出した後、吸引ろ過し、その残渣をアセトニトリル 50 mL で洗浄して吸引ろ過した。ろ液を採り合わせ、アセトニトリルで 200 mL に定容して抽出液とした。ピリダリルは同様の操作をアセトンで実施して、抽出液とした。

1-3-3. 精製

1) フルベンジアミド, フルフェノクスロン及びトルフェンピラド

アセトニトリル抽出液 1 mL (試料 0.1 g 相当量) に水 10 mL を加えた後, C₁₈ ミニカラム (アセトニトリル及び水で前処理) に負荷した。アセトニトリル/水 (4:6, v/v) 混液 10 mL で洗浄後, アセトニトリル 10 mL で溶出した。C₁₈ ミニカラム溶出液はアセトニトリルで定容後, LC-MS/MS に注入した。

2) ジノテフラン

アセトニトリル抽出液 1 mL (試料 0.1 g 相当量) に水 10 mL を加えた後, グラファイトカーボンミニカラム (アセトニトリル及び水で前処理) に負荷した。アセトニトリル/水 (1:9, v/v) 混液 10 mL で洗浄後, アセトニトリル/水 (4:6, v/v) 混液 5 mL で溶出した。グラファイトカーボンミニカラム溶出液は水で 10 mL に定容後, 必要に応じてアセトニトリル/水 (2:8, v/v) 混液で希釈して, LC-MS/MS に注入した。

3) ピリダリル

アセトン抽出液 1 mL (試料 0.1 g 相当量) に水 10 mL を加えた後, C₁₈ ミニカラム (アセトニトリル及び水で前処理) に負荷した。アセトニトリル/水 (6:4, v/v) 混液 10 mL で洗浄後, アセトニトリル 10 mL で溶出した。C₁₈ ミニカラム溶出液はアセトニトリルで定容後, LC-MS/MS に注入した。

1-3-4. LC-MS/MS 測定

LC-MS/MS はアジレントテクノロジー社製の 1290 infinity(LC) 及び 6460 タンデム質量分析計 (MS/MS) を使用した。イオン化法はエレクトロスプレーイオン化法を採用し、ジノテフラン、フルフェノクスロン、ピリダリル及びトルフェンピラドは positive モード、フルベンジアミドは negative モードで測定した。分析カラムにはアジレントテクノロジー社製の Zorbax Eclipse Plus C18(長さ 100 mm, 内径 2.1 mm, 粒径 1.8 μm) を使用した。測定データはアジレントテクノロジー社製の MassHunter ソフトウェアで解析した。各試料中の濃度は絶対検量線法により算出した。

1) フルベンジアミド, フルフェノクスロン及びトルフェンピラド

LC の操作条件を以下に示す。移動相はアセトニトリル及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液のグラジエント分析を採用し、流速は 0.4 mL/min とした。グラジエント条件は 50%アセトニトリルを初期条件とし、その後、6 分間かけて 95%アセトニトリルとなるようリニアグラジエントを設定した。保持時間はフルベンジアミドでは約 3.1 分、フルフェノクスロンでは約 4.7 分、トルフェンピラドでは約 4.3 分であった。MS/MS の操作条件を以下に示す。キャピラリー電圧：3500 V, ネブライザーガス：窒素 (45 psi), 乾燥ガス (320°C) 流量：5 L/min, フラグメンター電圧：フルベンジアミド及びトルフェンピラド;150 V,フルフェノクスロン;100 V, コリジョン電圧：フルベンジアミド ; 25 V, フルフェノクスロン ; 15 V, トルフェンピラド ; 20 V, モニタリングイオン (MRM モード) : フルベンジアミド ; m/z 681 \rightarrow 254, フルフェノクスロン ; m/z

489→158, トルフェンピラド ; m/z 384→197。

2) ピリダリル

LC の操作条件はグラジエント条件を除いて前項 1) と同様の条件を採用した。グラジエント条件は 80%アセトニトリルを初期条件とし、その後、3 分間かけて 90%アセトニトリルとなるようリニアグラジエントを設定した。保持時間は約 3.7 分であった。MS/MS の操作条件を以下に示す。キャピラリー電圧 : 3500 V, ネブライザーガス : 窒素 (45 psi), 乾燥ガス (320°C) 流量 : 5 L/min, フラグメンター電圧 : 150 V, コリジョン電圧 : 30 V, モニタリングイオン (MRM モード) : m/z 492→111。

3) ジノテフラン

LC の操作条件を以下に示す。移動相はアセトニトリル及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液 (8:92, v/v) 混液によるアイソクラティック分析を採用し、流速は 0.3 mL/min とした。保持時間は約 2.8 分であった。MS/MS の操作条件を以下に示す。キャピラリー電圧 : 2500 V, ネブライザーガス : 窒素 (35 psi), 乾燥ガス (300°C) 流量 : 5 L/min, フラグメンター電圧 : 100 V, コリジョン電圧 : 5 V, モニタリングイオン (MRM モード) : m/z 203→129。

1-4. 統計解析

残留濃度は 2 連分析の平均値で評価した。また、縮分操作により得た 2 組の試料をそれぞれ分析し、縮分試料間における残留濃度の変動も確認した。

一元配置分散分析または三元配置分散分析（ANOVA）及び多重回帰分析には Microsoft Excel または”The Comprehensive R Archive”サイト（<https://cran.r-project.org/>）よりダウンロードした windows 版 *R*（ver.2.15.1）を使用した。

1-5. 残留分析法の確認

本分析法の妥当性を確認するため、定量限界濃度と設定した 0.01 mg/kg 及び最高検出濃度を超える濃度を含む数段階の濃度での添加回収実験を行なった。得られた平均回収率（ $n \geq 3$ ）は 81～104% であり、それらの相対標準偏差（RSD）は 11.5%以下であった。本分析法の選択性は各圃場の無処理区試料を分析し、クロマトグラム上の各分析対象物質の保持時間に妨害となるピークがないことで確認した。

また、試料受領から分析までの期間での、凍結試料中での各分析対象物質の安定性を確認するため、均一化した無処理区試料（農薬を使用せずに栽培して得られた試料：ブランク試料）に各分析対象物質が 0.1 mg/kg となるよう添加し、分析試料と同様の条件で冷凍保存した。これら保存安定性確認用試料は実試料よりも長期間保存した後、分析した。それらの平均回収率は全て 70～120%の範囲内であり、冷凍保管での試料中の分析対象物質の安定性に問題はなかった。

これらのデータより、残留分析法及び試料管理が妥当な方法であることを確認した。

2. ホウレンソウ試料の調製及び残留分析³²⁾

2-1. 圃場試験

ホウレンソウの試料栽培は，一般社団法人日本植物防疫協会に委託し，2年間で国内10ヶ所の圃場（各年8カ所ずつ）において，我が国の一般的な栽培管理及び作物残留試験ガイドライン⁹⁾に準拠して実施した。温室による施設栽培を行ない，ジノテフラン，フルフェノクスロン及びテフルベンズロンの3種類の農薬を選定して散布した。ホウレンソウ試料を調製した圃場及び品種，栽培期間，散布量，平均試料重量，平均気温をTable 11に示す。農薬製剤はスタークル顆粒水和剤，カスケード乳剤及びノーモルト乳剤（テフルベンズロン5.0%，BASF社製）を用いて，それぞれの最小希釈倍率である2000～4000倍希釈後，背負式散布機を使用して混用で

Table 11. Field experimental data for spinach samples.

Field location	Variety	Planting date ^{a)}	Application volume	Sample weight (g)	Mean temperature ^{b)} (°C)
Fukushima	Aspire	Sep. 18–Nov. 16, 2009	200 L/10a	53.3	12.8
	Spider	Oct. 12, 2010–Feb. 4, 2011	200 L/10a	12.8	4.8
Ibaraki	Kyoryoku-ohrai	Oct. 14–Dec. 8, 2009	200 L/10a	20.1	13.5
	Kyoryoku-ohrai	Oct. 22–Dec. 20, 2010	200 L/10a	23.7	9.1
Chiba	Kyoryoku-ohrai	Oct. 12–Dec. 1, 2009	200 L/10a	16.8	11.8
	Kyoryoku-ohrai	Oct. 19–Dec. 9, 2010	156–183 L/10a	17.4	12.7
Yamanashi	Nagomi	Oct. 5–Dec. 10, 2009	200 L/10a	21.0	10.3
	Atras	Oct. 19–Dec. 20, 2010	200 L/10a	13.0	8.2
Nagano	R4	Sep. 6–Oct. 22, 2010	200 L/10a	110	16.7
Mie	Cronos	Oct. 5–Nov. 18, 2009	189.5 L/10a	14.9	14.5
Nara	Trad-7	Oct. 5–Nov. 19, 2010	200 L/10a	25.1	11.8
Tokushima	Tuxedo-7	Nov. 11, 2009–Feb. 4, 2010	200 L/10a	32.0	6.4
Kochi	Kyoryoku-ohrai	Oct. 9–Nov. 12, 2009	200 L/10a	18.5	20.7
	Kyoryoku-ohrai	Oct. 15–Nov. 15, 2010	200 L/10a	15.3	17.6
Miyazaki	Atras	Oct. 19–Dec. 4, 2009	200 L/10a	43.2	12.4
	Atras	Oct. 22–Dec. 4, 2010	200 L/10a	36.1	12.8

^{a)} From the date of seeding in fields to the final sampling date.

^{b)} The mean temperature and total precipitation amount from the first application date to the final sampling date.

茎葉散布した。散布量は各圃場で 156～200 L/10 a であった。最終散布から収穫までの期間は、各農薬製剤の使用方法での最短期間であり、スタークルでは 3 日間、カスケードでは 3 日間、ノーモルトでは 7 日間とし、7 日間隔で、最大使用回数 (2～3 回) を散布した。試料は各圃場から 2 kg 以上を無作為に採り、冷蔵便で残留農薬研究所へ発送した。

2-2. 試料前処理

受領した試料は重量をはかり、変質葉があれば除去した。試料は分析直前まで冷凍保存し、ミキサーで均一化後、分析した。

2-3. 分析操作

2-3-1. 試薬及び機器

ジノテフラン、フルフェノクスロン及びテフルベンズロンの各分析標準品は林純薬工業社製及び和光純薬工業社製を使用した。アセトン及びアセトニトリル (残留農薬試験用)、アセトニトリル (LC/MS 用)、酢酸アンモニウム (試薬特級) は和光純薬工業社製を使用した。水は Milli-Q システムで精製した超純水を使用した。固相抽出のカートリッジはジーエルサイエンス社製の C₁₈ ミニカラム (InertSep C18-C, 1 g/6 mL) 及び Sigma-Aldrich 社製のグラファイトカーボンミニカラム (Supelclean ENVI-Carb, 500 mg/6 mL) を使用した。

各分析標準品はアセトニトリルでそれぞれ溶解し、標準原液を調製した。それらを一部份取って混合後、アセトニトリル/水混液で段階的に希釈して 0.05～2 µg/L の検量線用混合標準溶液を調製した。

2-3-2. 抽出

均一化試料 20 g を三角フラスコに採り，アセトニトリル 100 mL を加えて 30 分間振とう抽出した後，吸引ろ過し，その残渣をアセトニトリル 50 mL で洗浄して吸引ろ過した。ろ液を採り合わせ，アセトニトリルで 200 mL に定容して抽出液とした。

2-3-3. 精製

1) フルフェノクスロン及びテフルベンズロン

アセトニトリル抽出液 1 mL (試料 0.1 g 相当量) に水 10 mL を加えた後，C₁₈ ミニカラム (アセトニトリル及び水で前処理) に負荷した。アセトニトリル/水 (4:6, v/v) 混液 10 mL で洗浄後，アセトニトリル 10 mL で溶出した。C₁₈ ミニカラム溶出液はアセトニトリルで定容後，LC-MS/MS に注入した。

2) ジノテフラン

1-3-3. 2) と同じ操作で精製した。

2-3-4. LC-MS/MS 測定

LC-MS/MS はアジレントテクノロジー社製の 1290 infinity(LC) 及び 6460 タンデム質量分析計 (MS/MS) を使用した。イオン化法はエレクトロスプレーイオン化法を採用し，ジノテフラン及びフルフェノクスロンは positive モード，テフルベンズロンは negative モードで測定した。分析カラムにはアジレントテクノロジー社製の Zorbax Eclipse Plus C18(長さ 100 mm, 内径 2.1 mm, 粒径 1.8 μm) を使用した。測定データはアジレントテクノロジー社製の

MassHunter ソフトウェアで解析した。各試料中の濃度は絶対検量線法により算出した。

1) フルフェノクスロン及びテフルベンズロン

LC の操作条件を以下に示す。移動相はアセトニトリル及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液のグラジエント分析を採用し、流速は 0.4 mL/min とした。グラジエント条件は 60%アセトニトリルを初期条件とし、その後、2.5 分間かけて 95%アセトニトリルとなるようリニアグラジエントを設定した。保持時間はフルフェノクスロンでは約 4.7 分、テフルベンズロンでは約 3.1 分であった。MS/MS の操作条件を以下に示す。キャピラリー電圧：フルフェノクスロン；3500 V，テフルベンズロン；5000 V，ネブライザーガス：窒素（45 psi），乾燥ガス（320℃）流量：5 L/min，フラグメンター電圧：100 V，コリジョン電圧：フルフェノクスロン；15 V，テフルベンズロン；6 V，モニタリングイオン（MRM モード）：フルフェノクスロン； m/z 489→158，テフルベンズロン； m/z 379→339。

2) ジノテフラン

1-3-4. 3) と同じ条件で測定した。

2-4. 統計解析

残留濃度は 2 連分析の平均値で評価した。

一元配置分散分析または三元配置分散分析（ANOVA）及び多重回帰分析には Microsoft Excel または windows 版 R（ver.2.15.1）を使用した。

2-5. 残留分析法の確認

本分析法の妥当性を確認するため、定量限界濃度と設定した 0.01 mg/kg 及び最高検出濃度を超える濃度を含む数段階の濃度での添加回収実験を行なった。得られた平均回収率 ($n \geq 8$) は 85~103% であり、それらの RSD は 8.1%以下であった。本分析法の選択性は各圃場の無処理区試料を分析し、クロマトグラム上の各分析対象物質の保持時間に妨害となるピークがないことで確認した。

また、試料受領から分析までの期間での、凍結試料中での各分析対象物質の安定性を確認するため、均一化した無処理区試料に各分析対象物質が 0.1 mg/kg となるよう添加し、分析試料と同様の条件で冷凍保存した。これら保存安定性確認用試料は実試料よりも長期間保存した後、分析した。それらの平均回収率は全て 70~120% の範囲内であり、冷凍保管での試料中の分析対象物質の安定性に問題はなかった。

これらのデータより、残留分析法及び試料管理が妥当な方法であることを確認した。

3. 仁果類作物試料の調製及び残留分析⁴¹⁾

3-1. 圃場試験

リンゴ、日本梨及び西洋梨の試料栽培は、一般社団法人日本植物防疫協会に委託し、国内 4ヶ所の果樹園において、我が国の一般的な栽培管理及び作物残留試験ガイドライン⁹⁾に準拠して実施した。その際、果実への袋かけは行なわなかった。供試農薬には、広範囲の物理化学的性状となるように 6種類を選択した (Table 12)。農薬製剤はアドマイヤー顆粒水和剤 (イミダクロプリド 50.0 %, バ

Table 12. Pesticide information

	PHI (dilution factor × numbers of applications) ^{a)}	log P_{ow} ^{b)}	Vapor pressure ^{b)}
Boscalid	1-d (2000 times ×3)	2.96	7.2×10^{-4}
Flubendiamide	3-d (4000 times ×2)	4.2	$< 1 \times 10^{-1}$
Flufenoxuron	14-d (2000 times ×2)	4.01	6.52×10^{-9}
Imidacloprid	3-d (5000 times ×2)	0.57	4×10^{-7}
Pyraclostrobin	1-d (2000 times ×3)	3.99	2.6×10^{-5}
Simeconazole	7-d (2000 times ×3)	3.2	5.4×10^{-2}

^{a)} PHI: pre-harvest intervals after final application (dilution factors of the formulations × numbers of applications).

^{b)} A World Compendium, The Pesticide Manual, 14th edition; Tomlin, C.D.S. ed., British Crop Production Council, Hampshire, U.K. (2006).

イエルクロップサイエンス社製), カスケード乳剤 (フルフェノクスロン 10.0%, BASF ジャパン社製), サンリット水和剤 (シメコナゾール 20.0%, 三井化学アグロ社製), ナリア水和剤 (ピラクロストロビン 6.8%, ボスカリド 13.6%, BASF ジャパン社製) 及びフェニックス顆粒水和剤 (フルベンジアミド 20.0%, 日本農薬社製) を用いて, 適宜混用してそれぞれ最小希釈倍率である 2000~5000 倍希釈後, 背負式散布機を用いて 450~500 L/10a を 7 日間隔で 2~3 回散布した (Table 12)。この薬剤処理条件は, 概ね各農薬製剤の使用範囲内で最大の残留となるように設定したが, フェニックス顆粒水和剤については収穫前日までの使用が可能であるが収穫 3 日前までの散布とした。圃場試験の概要は Table 13 に示した。リンゴは青森県, 山梨県及び長野県の 3 圃場で, 日本梨及び西洋梨は茨城県及び山梨県の各圃場でそれぞれ調製した。その内, 日本梨及

Table 13. Field experiment information

Sample (variety)	Field location, test period ^{a)}	Application ^{b)}	Sample weight (edible:inedible) ^{c)}	Weather data ^{d)}
Apple-1 (Ourin)	Aomori, Oct.11-Nov.1, 2009	450 L/10a	306 g/unit (87:13)	12.3°C, 1.8 mm
Apple-2 (Tsugaru)	Yamanashi, Oct.13-Nov.3, 2009	450 L/10a	307 g/unit (88:12)	14.0°C, 2.5 mm
Apple-3 (Fuji)	Yamanashi, Oct.5-25, 2010	473 L/10a	310 g/unit (82:18)	17.5°C, 0.8 mm
Apple-4 (Tsugaru)	Nagano, Aug.13-Sep.1, 2010	500 L/10a	318 g/unit (77:23)	27.2°C, 3.6 mm
Japanese pear (Kousui)	Ibaraki, Jul.28-Aug.18, 2009	500 L/10a	345 g/unit (87:13)	25.1°C, 6.4 mm
Pear (Silver bell)	Yamanashi, Sep.24-Oct.13, 2011	500 L/10a	443 g/unit (77:23)	16.0°C, 0.4 mm

^{a)} From the first application date to the final sampling date.

^{b)} Application ratio.

^{c)} Weight ratios of edible and inedible portions expressed in parentheses.

^{d)} Mean temperature and total precipitation amount in the test period.

び西洋梨は日本特有の栽培形態である棚仕立で栽培した。リンゴ、日本梨及び西洋梨の品種は、各地域で代表的なものを選定した（青森県産リンゴ：王林，山梨県産リンゴ：収穫年順につがる及びふじ，長野県産リンゴ：つがる，茨城県産日本梨：幸水，山梨県産西洋梨：シルバーベル）。各試料は圃場ごとに30個以上を採取し，採取当日に冷蔵便で残留農薬研究所へ発送した。

3-2. 試料前処理

採取した全ての分析試料は，到着後速やかに試料前処理した。試料は，重量をはかった後，各々を縦に6分割したのから対角の2つを取り合わせ，3組の縮分試料を作成した。縮分試料の1組は，そのまま細切して全果実試料とした。もう1組は，「果肉及び果皮」と，「花落ち，芯及び果梗の基部」の2つに分別して細切して，それぞれ可食部及び非可食部試料とした。さらに，日本梨を除く残り1組の非可食部試料については，「果梗の基部（非可食部・上部）」

と「花落ち及び芯（非可食部・下部）」に分割して試料とした。また，2010年に採取した山梨県産リンゴの内，分割時に果梗の基部に明らかな内部裂果（果梗（ツル）の基に亀裂が入り，果皮の下の果肉にヒビが発生したもの：ツル割れ）が確認された6個体については，内部裂果試料（Figure 13）として分別して可食部，非可食部・上部及び非可食部・下部の3部位に分けて分析した。それぞれの試料は，密閉容器に入れて凍結保存し，分析直前にミキサー（Russell Hobbs 3901JP，Salton Europe社製）で均一化して分析試料とした。



Figure 13. Cross-sectional photo of a cracking apple sampled from Yamanashi orchard in 2010.

3-3. 分析操作

3-3-1. 試薬及び機器

イミダクロプリド，シメコナゾール，ピラクロストロビン，フルフェノクスロン，フルベンジアミド及びボスカリドの各分析標準品は，和光純薬工業社製及び Dr.Ehrenstorfer 社製を使用した。アセトニトリルは和光純薬工業製の残留農薬試験用または LC/MS 用を

使用した。水は Milli-Q システムで精製した超純水を使用した。固相抽出のカートリッジはジューエルサイエンス社製の C₁₈ ミニカラム (InertSep C18-C, 1 g/6 mL) を使用した。フィルターユニットは Millex-LG (Merck Millipore 社製) を使用した。

各分析標準品はアセトニトリルでそれぞれ溶解し、標準原液を調製した。それらを一部取って混合後、アセトニトリル／水混液で段階的に希釈して 0.05～2 µg/L の検量線用混合標準溶液を調製した。

3-3-2. 抽出

本残留分析では 6 種の農薬を同時分析した。均一化試料 20 g を三角フラスコに採り、アセトニトリル 100 mL を加えて 30 分間振とう抽出した後、吸引ろ過し、その残渣をアセトニトリル 50 mL で洗浄して吸引ろ過した。ろ液を採り合わせ、アセトニトリルで 200 mL に定容して抽出液とした。

3-3-3. 精製

アセトニトリル抽出液 1 mL (試料 0.1 g 相当量) に水 10 mL を加えた後、C₁₈ ミニカラム (アセトニトリル及び水で前処理) に負荷した。アセトニトリル／水 (1:9, v/v) 混液 10 mL で洗浄後、アセトニトリル／水 (8:2, v/v) 混液 10 mL で溶出した。C₁₈ ミニカラム溶出液は同混液で定容後、フィルターユニットを用いてろ過した後、LC-MS/MS に注入した。

3-3-4. LC-MS/MS 測定

LC-MS/MS はアジレントテクノロジー社製の 1290 infinity(LC) 及び 6460 タンデム質量分析計 (MS/MS) を使用した。イオン化法はエレクトロスプレーイオン化法を採用し、イミダクロプリド、シメコナゾール、ピラクロストロビン、フルフェノクスロン及びボスカリドは positive モード、フルベンジアミドは negative モードで測定した。分析カラムにはアジレントテクノロジー社製の Zorbax Eclipse Plus C18 (長さ 100 mm, 内径 2.1 mm, 粒径 1.8 μm) を使用した。測定データはアジレントテクノロジー社製の MassHunter ソフトウェアで解析した。各試料中の濃度は絶対検量線法により算出した。

LC の操作条件を以下に示す。移動相はアセトニトリル及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液のグラジエント分析を採用し、流速は 0.5 mL/min とした。グラジエント条件は 10%アセトニトリルを初期条件とし、0.5 分間保持した後、1.5 分間かけて 60%アセトニトリルとし、さらに 5 分間かけて 95%アセトニトリルとなるようリニアグラジエントを設定した。MS/MS の操作条件を以下に示す。キャピラリー電圧：3500 V, ネブライザーガス：窒素 (45 psi), 乾燥ガス (320°C) 流量：5 L/min, MRM モードによるモニタリングイオン, フラグメンター電圧及びコリジョン電圧は Table 14 に纏めた。

3-4. 残留分析法の確認

分析法の妥当性を確認するため、無処理区試料の可食部、非可食部及び全果実を用いて、定量限界濃度と設定した 0.01 mg/kg 及び

Table 14. Operating conditions of LC-MS/MS analysis

	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Product ion (<i>m/z</i>)	Fragmentor volts (V)	Collision energy (eV)	Polarity
Boscalid	343.0	307.1	150	15	positive
Flubendiamide	680.9	354.1	150	25	negative
Flufenoxuron	489.0	158.1	100	15	positive
Imidacloprid	256.1	209.1	100	10	positive
Pyraclostrobin	388.2	163.1	100	23	positive
Simeconazole	294.2	70.1	100	15	positive

最高検出濃度を超える濃度を含む数段階の濃度での添加回収実験を行なった。長野県産リンゴの無処理区においてピラクロストロビンとフルベンジアミドを各部位ともに 0.02 mg/kg、ボスカリドを各部位ともに 0.03~0.04 mg/kg 検出した。その他の無処理区試料は全て定量限界未満であり、それらのクロマトグラム上に分析の妨害となる夾雑ピークは認められなかった。得られた平均回収率 ($n=3$) は 82~115%であり、それらの RSD は 13.6%以下であった。

また、試料受領から分析までの期間での、凍結試料中での各分析対象物質の安定性を確認するため、均一化した無処理区試料に各分析対象物質が 0.1 mg/kg となるよう添加し、分析試料と同様の条件で冷凍保存した。これら保存安定性確認用試料は実試料よりも長期間保存した後、分析した。それらの平均回収率は全て 70~120%の範囲内であり、冷凍保管での試料中の分析対象物質の安定性に問題はなかった。

これらのデータより、残留分析法及び試料管理が妥当な方法であることを確認した。

4. 未成熟トウモロコシ試料の調製及び残留分析⁵⁰⁾

4-1. 圃場試験

未成熟トウモロコシ試料は一般社団法人日本植物防疫協会に委託し、茨城と千葉の2ヶ所の圃場において、我が国の一般的な栽培管理及び作物残留試験ガイドライン⁹⁾に準拠して実施した。農薬は広範囲の物理化学的性状となるように5種選択した。それらのうち、最も高極性農薬は有機リン系殺虫剤のアセフェート ($\log P_{ow} - 0.89$) であり、最も低極性農薬は合成ピレスロイド系殺虫剤のエトフェンプロックス ($\log P_{ow} 6.9$) とし、それらの中間的な極性農薬として、アセタミプリド、クロマフェノジド及びトルクロホスメチルを選択した。⁶²⁾ 農薬製剤はオルトラン水和剤 (アセフェート 50.0%, アリスタライフサイエンス社製), モスピラン水溶剤 (アセタミプリド 20.0%, 日本曹達社製), マトリックフロアブル (クロマフェノジド 5.0%, 日本化薬社製), トレボン乳剤 (エトフェンプロックス 20.0%, 三井化学アグロ社製) 及びリゾレックス水和剤 (トルクロホスメチル 50.0%, 住友化学社製) を用いて、適宜混用して、それぞれの使用条件の範囲内で、残留濃度が最大となるよう最大散布回数, 最短 PHI, 最小希釈倍率で背負式散布機を用いて 190~286 L/10 a の薬液を散布した。散布スケジュールの詳細を Table 15 に纏めた。最初の散布は雄穂形成期である収穫の28日前から開始した。なお、雌穂からヒゲが出てくる絹糸抽出期は収穫の約21日前であった。試料は両圃場ともにそれぞれ15穂以上を無作為に収穫し、採取当日に冷蔵便で残留農薬研究所へ発送した。

Table 15. Information on pesticide application

Pesticides	log P _{ow}	Dilution factors	Application ^{a)}				
			1-d	7-d	14-d	21-d	28-d
Acephate	-0.89	1000 times		○	○		
Acetamiprid	0.80	2000 times	○	○	○		
Chromafenozide	2.7	2000 times	○	○	○		
Etofenprox	6.9	2000 times		○	○	○	○
Tolclofos-methyl	4.56	1500 times			○	○	

^{a)} The day refers to the time until harvest.

4-2. 試料前処理

試料は全体の重量をはかった後、それぞれ穀粒、芯、ヒゲ及び外皮の4部位に分別し、各重量をはかり、分析時まで凍結保管した。凍結試料は分析直前にミキサー（BLIXER-5Plus またはグラインドミックス GM-200、ヴァーダー・サイエンティフィック社製）で均一化して分析試料とした。

4-3. 分析操作

4-3-1. 試薬及び機器

アセフェート、メタミドホス、アセタミプリド、クロマフェノジド、エトフェンプロックス及びトルクロホスメチルの各分析標準品は、和光純薬工業社製及び関東化学社製を使用した。アセトン、アセトニトリル及びトルエンは和光純薬工業製の残留農薬試験用または LC/MS 用を使用した。酢酸アンモニウムは和光純薬工業社製の試薬特級を使用した。水は Milli-Q システムで精製した超純水を使用した。固相抽出のカートリッジはジューエルサイエンス社製のポ

リマー系ミニカラム (InertSep PLS-2, 1 g/6 mL), PSA ミニカラム (InertSep SlimJ PSA, 500 mg), グラファイトカーボンミニカラム (InertSep GC, 0.5 g/6 mL) を使用した。

各分析標準品はアセトニトリルでそれぞれ溶解し、標準原液を調製した。アセフェートはその一部を取って、アセトニトリル/水混液で段階的に希釈して 0.25~10 µg/L の検量線用標準溶液を調製した。アセタミプリド及びクロマフェノジドは標準原液の一部を取って混合後、アセトニトリル/水混液で段階的に希釈して 0.05~2 µg/L の検量線用混合標準溶液を調製した。エトフェンプロックス及びトルクロホスメチルは標準原液の一部を取って混合後、アセトンで段階的に希釈して 1~40 µg/L の検量線用混合標準溶液を調製した。

4-3-2. 抽出

穀粒、芯及び外皮は均一化試料 20 g を三角フラスコに採り、アセトン 100 mL を加えて 30 分間振とう抽出した後、吸引ろ過し、その残渣をアセトン 50 mL で洗浄して吸引ろ過した。ろ液を採り合わせ、アセトンで 200 mL に定容して抽出液とした。一方、ヒゲは均一化試料 10 g を三角フラスコに採り、アセトン 70 mL を加えてホモジナイザー (ポリトロン PT3100, Kinematica AG 社製) で磨砕し、ホモジナイザーのシャフトをアセトン 30 mL で洗浄し、磨砕した溶液と合わせた。それを 30 分間振とう抽出した後、吸引ろ過し、その残渣をアセトン 50 mL で洗浄した。ろ液を採り合わせ、アセトンで 200 mL に定容して抽出液とした。

4-3-3. 精製

1) アセフェート

穀粒，芯及び外皮の抽出液 10 mL（試料 1 g 相当量）またはヒゲの抽出液 20 mL（試料 1 g 相当量）に水 5 mL を加えて，減圧濃縮でアセトン を留去した。濃縮液をポリマー系ミニカラムの溶出口に PSA ミニカラムを連結したもの（アセトニトリル及び水で前処理）に負荷した後，アセトニトリル／水（4:6, v/v）混液 10 mL で溶出した。連結カラムの溶出液は水で 20 mL に定容後，必要に応じてアセトニトリル／水（2:8, v/v）混液で希釈して，LC-MS/MS に注入した。

2) アセタミプリド及びクロマフェノジド

穀粒，芯及び外皮の抽出液 1 mL（試料 0.1 g 相当量）またはヒゲの抽出液 2 mL（試料 0.1 g 相当量）に水 10 mL を加えた後，グラファイトカーボンミニカラム（アセトニトリル及び水で前処理）に負荷した。アセトニトリル／水（2:8, v/v）混液 10 mL で洗浄後，アセトニトリル／水（8:2, v/v）混液 10 mL で溶出した。グラファイトカーボンミニカラム溶出液は同混液で 20 mL に定容後，必要に応じて同混液で希釈して，LC-MS/MS に注入した。

3) エトフェンプロックス及びトルクロホスメチル

穀粒，芯及び外皮の抽出液 5 mL（試料 0.5 g 相当量）またはヒゲの抽出液 10 mL（試料 0.5 g 相当量）に水 5 mL を加えた後，グラファイトカーボンミニカラム（アセトニトリル及び水で前処理）に負荷した。アセトニトリル／水（8:2, v/v）混液 10 mL で洗浄後，

1 分間ミニカラムを吸引して乾燥させた。次いで、アセトニトリル／トルエン（3:1, v/v）混液 10 mL で溶出した。グラファイトカーボンミニカラム溶出液は減圧濃縮し、最後は窒素気流下で乾固した後、アセトンで溶解し、PTV-GC/MS に注入した。

4-3-4. LC-MS/MS 測定

LC-MS/MS はアジレントテクノロジー社製の 1290 infinity(LC) 及び 6460 タンデム質量分析計 (MS/MS) を使用した。イオン化法はエレクトロスプレーイオン化法を採用し、アセフェート、アセタミプリド及びクロマフェノジドを positive モードで測定した。測定データはアジレントテクノロジー社製の MassHunter ソフトウェアで解析した。各試料中の濃度は絶対検量線法により算出した。

1) アセフェート

LC の操作条件を以下に示す。分析カラムには waters 社製の Atlantis dC18（長さ 150 mm，内径 2.1 mm，粒径 3 μ m）を使用し、カラム温度は 40°C に設定した。移動相はアセトニトリル及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液のグラジエント分析を採用し、流速は 0.3 mL/min とした。グラジエント条件は 2%アセトニトリルを初期条件とし、4 分間保持した後、4 分間かけて 50%アセトニトリルとなるようリニアグラジエントを設定した。保持時間は約 5.5 分であった。MS/MS の操作条件を以下に示す。キャピラリー電圧：2000 V，ネブライザーガス：窒素（45 psi），乾燥ガス（350°C）流量：10 L/min，フラグメンター電圧：50 V，コリジョン電圧：1 V，モニタリングイオン（MRM モード）： m/z 184.0 \rightarrow 143.1。

2) アセタミプリド及びクロマフェノジド

LC の操作条件を以下に示す。分析カラムにはアジレントテクノロジー社製の Zorbax Eclipse Plus C18(長さ 100 mm, 内径 2.1 mm, 粒径 1.8 μm) を使用し, カラム温度は 40°C に設定した。移動相はアセトニトリル及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液のグラジエント分析を採用し, 流速は 0.3 mL/min とした。グラジエント条件は 20%アセトニトリルを初期条件とし, 1 分間保持した後, 4 分間かけて 90%アセトニトリルとなるようリニアグラジエントを設定した。保持時間はアセタミプリドでは約 3.2 分, クロマフェノジドでは約 5.4 分であった。MS/MS の操作条件を以下に示す。キャピラリー電圧 : 3500 V, ネブライザーガス : 窒素 (45 psi), 乾燥ガス (300°C) 流量 : 5 L/min, フラグメンター電圧 : 100 V, コリジョン電圧 : アセタミプリド ; 15 V, クロマフェノジド ; 10 V, モニタリングイオン (MRM モード) : アセタミプリド ; m/z 223.0 \rightarrow 126.1, クロマフェノジド ; m/z 395.2 \rightarrow 175.1。

4-3-5. PTV-GC/MS 測定

PTV-GC/MS は GL Sciences B.V.社製の PTV 注入装置及び多機能オートインジェクターを搭載したアジレントテクノロジー社製の 6890N (GC) 及び 5973 inert (MS) を使用した。測定データはアジレントテクノロジー社製の ChemStation ソフトウェアで解析した。イオン化法は電子イオン化法を採用し, エトフェンプロックス及びトルクロホスメチルを測定した。アトカラム法と多機能オートインジェクターを組み合わせて活用し, 各試料中の濃度はマトリックス調製標準溶液による絶対検量線法で算出した。^{64,65)}

多機能オートインジェクターは測定 1 サイクルにつき、2 回連続して注入するように設定した。標準溶液を注入する際は、無処理区試料 5 μL を注入した後に、標準溶液 5 μL を注入した。注入口温度は PTV 装置により、溶媒が気化しないよう低く設定しているため、注入口内で簡易的に試料マトリックスと標準溶液を共存させ、マトリックス標準溶液として検量線を作成した。なお、試料検液を注入する際は、アセトン 5 μL を注入した後、試料検液 5 μL を注入した。

GC の操作条件を以下に示す。分析カラムにはアジレントテクノロジー社製の HP-5ms (長さ 30 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.25 μm) を使用した。キャリアガスにはヘリウムを用いて、1.0 mL/min の定流量モードに設定した。カラムオープン温度は 70 $^{\circ}\text{C}$ を初期条件とし、20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ で 300 $^{\circ}\text{C}$ にし、3.5 分間保持するように設定した。PTV 注入口温度は 66 $^{\circ}\text{C}$ を初期条件とし、2 回の注入後に 5 $^{\circ}\text{C}/\text{sec}$ で 250 $^{\circ}\text{C}$ まで上昇させ、試料を GC カラムに導入した。保持時間はエトフェンプロックスでは約 12.9 分、トルクロホスメチルでは約 8.7 分であった。MS の操作条件を以下に示す。イオン化エネルギー：70 eV, イオン源温度：230 $^{\circ}\text{C}$, モニタリングイオン (SIM モード)：エトフェンプロックス； m/z 163 または 376, トルクロホスメチル； m/z 265。

4-4. 残留分析法の確認

分析法の妥当性を確認するため、定量限界濃度と設定した 0.01 mg/kg 及び最高検出濃度を超える濃度を含む数段階の濃度での添加回収実験を行なった。得られた各部位における平均回収率 ($n=3$

または 6) は 76～103%であり，それらの RSD は 7.4%以下であった。本分析法の選択性は両圃場の無処理区試料で確認し，クロマトグラム上の各分析対象物質の保持時間に妨害となるピークがないことで確認した。

また，試料受領から分析までの期間での，凍結試料中での各分析対象物質の安定性を確認するため，均一化した無処理区試料に各分析対象物質が 0.1 mg/kg となるよう添加し，分析試料と同様の条件で冷凍保存した。これら保存安定性確認用試料は実試料よりも長期間保存した後，分析した。それらの平均回収率は全て 70～120%の範囲内であり，冷凍保管での試料中の分析対象物質の安定性に問題はなかった。また，アセフェートの主要な代謝物であるメタミドホスについても，安定性を確認したが，各試料において平均回収率は 19～31%と低く，凍結試料中での安定性が確認できなかった。そのため，本研究においてはメタミドホスを分析対象物質から除外することとした。

これらのデータより，残留分析法及び試料管理が妥当な方法であることを確認した。

5. カブ試料の調製及び残留分析⁵⁸⁾

5-1. 圃場試験

試料栽培は，一般社団法人日本植物防疫協会に委託し，茨城と宮崎の 2ヶ所の圃場において，それぞれハウス栽培とトンネル栽培で実施し，我が国の作物残留試験ガイドライン⁹⁾に準拠して実施した。農薬は広範囲の物理化学的性状となるように 6種類を選択した。それらのうち，最も高極性農薬はネオニコチノイド系殺虫剤のジノテ

フラン ($\log P_{ow} - 0.549$, 水溶解度 39.8 g/L) であり, 最も低極性農薬は殺虫・殺ダニ剤のトルフェンピラド ($\log P_{ow} 5.61$, 水溶解度 0.087 mg/L) とし, それらの中間的な極性農薬として, アセタミプリド, アゾキシストロビン, クロルフェナピル及びシアゾファミドを選択した。⁶²⁾ 農薬製剤はモスピラン水溶剤 (アセタミプリド 20.0%, 日本曹達社製), アミスター20フロアブル (アゾキシストロビン 20.0%, シンジェンタジャパン社製), コテツフロアブル (クロルフェナピル 10.0%, 日本曹達社製), ランマンフロアブル (シアゾファミド 10.0%, 石原バイオサイエンス社製), スタークル顆粒水和剤 (ジノテフラン 20.0%, 三井化学アグロ社製) 及びハチハチ乳剤 (トルフェンピラド 15.0%, OAT アグリオ社製) を用いて, 適宜混用して, それぞれの農薬製剤における使用条件の範囲内で, 残留濃度が最大となるよう最大散布回数, 最短 PHI, 最小希釈倍率で背負式散布機を用いて 183~186 L/10 a の薬液を 4 又は 7 日間隔で散布した。両圃場ともに 5 kg 以上 (茨城 25 株, 宮崎 5 株) を無作為に収穫し, 根部に付着している泥を水で軽く洗い落とした後, 採取当日に冷蔵便で残留農薬研究所へ発送した。

5-2. 試料前処理

試料は全体の重量をはかった後, 根部, 葉部及び接合部に分別し, 各部位の重量もはかった。接合部は根と葉の付け根から, それぞれの方向に約 1~1.5 cm の部位とした (Figure 14)。各試料は分析時まで凍結保管し, 分析直前にミキサー (Russell Hobbs 3901JP, Salton Europe 社製) で均一化して分析試料とした。

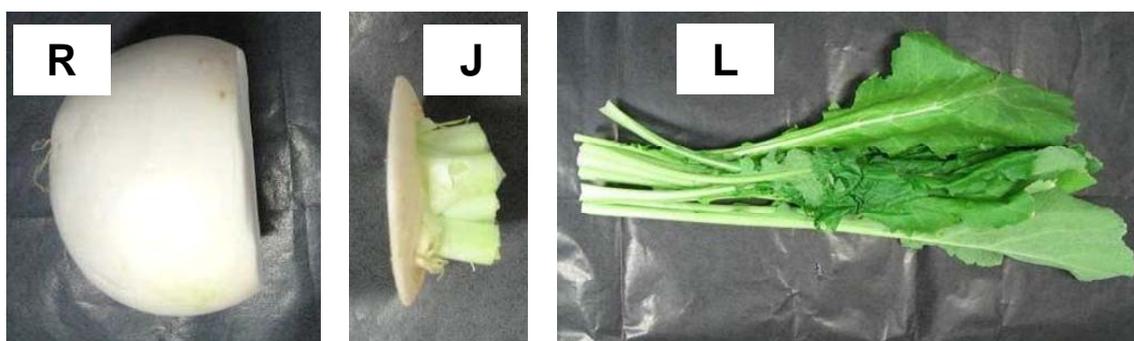


Figure 14. Separation of a Miyazaki turnip sample into root (R), root-shoot junction (J) and leaf (L) portions.

5-3. 分析操作

5-3-1. 試薬及び機器

アセタミプリド，アゾキシストロビン，クロルフェナピル，シアゾファミド，ジノテフラン及びトルフェンピラドの各分析標準品（純度 98.9%以上）は，和光純薬工業社製及び林純薬工業社製を使用した。アセトニトリル及びトルエンは和光純薬工業製の残留農薬試験用または LC/MS 用を使用した。酢酸アンモニウムは和光純薬工業社製の試薬特級を使用した。水は Milli-Q システムで精製した超純水を使用した。固相抽出のカートリッジはシグマアルドリッチ社製のグラファイトカーボンミニカラム（Supelclean ENVI-Carb, 500 mg/6 mL）を使用した。

各分析標準品はアセトニトリルでそれぞれ溶解し，標準原液を調製した。それらの一部取って混合後，アセトニトリル／水混液で段階的に希釈して 0.1～4 $\mu\text{g/L}$ の検量線用混合標準溶液を調製した。

5-3-2. 抽出

本残留分析では 6 種の農薬を同時分析した。均一化試料 20 g を三角フラスコに採り，アセトニトリル 100 mL を加えて 30 分間振

とう抽出した後，吸引ろ過し，その残渣をアセトニトリル 50 mL で洗淨して吸引ろ過した。ろ液を採り合わせ，アセトニトリルで 200 mL に定容して抽出液とした。

5-3-3. 精製

アセトニトリル抽出液 1 mL (試料 0.1 g 相当量) に水 10 mL を加えた後，グラファイトカーボンミニカラム (アセトニトリル及び水で前処理) に負荷した。アセトニトリル/水 (1:9, v/v) 混液 10 mL で洗淨後，1 分間吸引乾燥した。その後，アセトニトリル 5 mL 及びアセトニトリル/トルエン (3:1, v/v) 混液 10 mL で順次溶出した。グラファイトカーボンミニカラム溶出液は減圧濃縮し，最後は窒素を吹き付けて乾固させた。残留物をアセトニトリル/水 (5:5, v/v) 混液で適量に溶解し，LC-MS/MS に注入した。

5-3-4. LC-MS/MS 測定

LC-MS/MS はアジレントテクノロジー社製の 1290 infinity(LC) 及び 6460 タンデム質量分析計 (MS/MS) を使用した。イオン化法はエレクトロスプレーイオン化法を採用し，アセタミプリド，アゾキシストロビン，シアゾファミド，ジノテフラン及びトルフェンピラドは positive モード，クロルフェナピルは negative モードで測定した。分析カラムにはアジレントテクノロジー社製の Zorbax Eclipse Plus C18 (長さ 50 mm，内径 2.1 mm，粒径 1.8 μm) を使用した。測定データはアジレントテクノロジー社製の MassHunter ソフトウェアで解析した。各試料中の濃度は絶対検量線法により算出した。

LC の操作条件を以下に示す。移動相はアセトニトリル及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液のグラジエント分析を採用し、流速は 0.4 mL/min とした。注入量は 10 μ L とした。グラジエント条件はクロルフェナピル測定時では 50%アセトニトリルを初期条件とし、1 分間保持した後、3 分間かけて 80%アセトニトリルとなるようリニアグラジエントを設定した。クロルフェナピル以外の測定時では、5%アセトニトリルを初期条件とし、2 分間保持した後、2 分間かけて 60%アセトニトリルとし、さらに 3 分間かけて 90%アセトニトリルとなるようリニアグラジエントを設定した。MS/MS の操作条件を以下に示す。クロルフェナピル測定時はキャピラリー電圧：-2000 V, ネブライザーガス：窒素 (45 psi), 乾燥ガス (200 $^{\circ}$ C) 流量：8 L/min, シースガス (400 $^{\circ}$ C) 流量：12 L/min とした。クロルフェナピル以外の測定時はキャピラリー電圧：2500 V, ネブライザーガス：窒素 (35 psi), 乾燥ガス (300 $^{\circ}$ C) 流量：5 L/min, シースガス (400 $^{\circ}$ C) 流量：10 L/min とした。各分析対象物質の保持時間及び測定時の MRM モードによるモニタリングイオン, フラグメンター電圧, コリジョン電圧は Table 16 に纏めた。尚, クロルフェナピルのプリカーサーイオンは $[M+H]^+$ または $[M-H]^-$ イオンの検出が困難であったため, $[M-CH_2OC_2H_5]^-$ イオンを採用した。クロルフェナピル以外のプリカーサーイオンは $[M+H]^+$ イオンで良好な強度が得られた。

5-4. 残留分析法の確認

分析法の妥当性を確認するため、無処理区試料の根部、葉部及び接合部を用いて、定量限界濃度と設定した 0.01 mg/kg 及び最高検

Table 16. Pesticide information and LC-MS/MS operating conditions.

Pesticide	M.W.	log P _{ow}	Retention time (min)	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Product ion (<i>m/z</i>)	Fragmentor voltage (V)	Collision energy (eV)	Polarity
Acetamiprid	222.7	0.80	4.3	223.0	126.0	100	20	positive
Azoxystrobin	403.4	2.5	5.5	404.0	372.0	100	10	positive
Chlorfenapyr	407.6	4.83	4.8	348.7	80.9	150	40	negative
Cyazofamid	324.8	3.2	6.1	324.9	108.0	100	8	positive
Dinotefuran	202.2	-0.549	3.3	203.0	129.2	100	5	positive
Tolfenpyrad	383.9	5.61	6.9	384.1	197.1	150	20	positive

出濃度を超える濃度を含む数段階の濃度での添加回収実験を行なった。無処理区試料は全て定量限界未満であり，それらのクロマトグラム上に分析の妨害となる夾雑ピークは認められなかった。得られた平均回収率 ($n=6$) は 87~105%であり，それらの RSD は 8.1%以下であった。

また，試料受領から分析までの期間での，凍結試料中での各分析対象物質の安定性を確認するため，均一化した無処理区試料に各分析対象物質が 0.1 mg/kg となるよう添加し，分析試料と同様の条件で冷凍保存した。これら保存安定性確認用試料は実試料よりも長期間保存した後，分析した。それらの平均回収率は全て 70~120%の範囲内であり，冷凍保管での試料中の分析対象物質の安定性に問題はなかった。

これらのデータより，残留分析法及び試料管理が本研究を実施する上で，妥当な方法であると確認した。

謝辞

本論文を取り纏めるに当たり、御懇切なるご指導を賜りました明治薬科大学衛生化学教室 石井一行教授ならびに同大学基礎薬学部門／健康科学 永山敏廣教授に深く感謝致します。

また、有益な御助言とご指導を賜りました明治薬科大学生体機能分析学教室 兎川忠靖教授，同大学分析化学教室 小笠原裕樹教授に深く感謝申し上げます。

本研究を遂行するに当たり、多大なご支援を戴きました一般財団法人残留農薬研究所化学部副部長 飯島和昭博士に深く感謝致します。また、研究の機会をお与え頂き、重要な御助言を頂戴致しました同研究所顧問 加藤保博博士，同研究所前業務執行理事 佐藤清博士に感謝致します。

本研究は、厚生労働省の食品の安全確保推進研究事業「食品中残留農薬のリスク管理手法の精密化と国際化対応に関する研究」の一環として、一般財団法人残留農薬研究所で実施したものであり、本研究における圃場試験で多大なご協力を戴きました一般社団法人日本植物防疫協会ならびに関係各所の皆様にこの場を借りて御礼申し上げます。

さらに、実験実務を共に担当し、各種ご協力頂きました一般財団法人残留農薬研究所化学部残留研究室の皆様に感謝致します。

最後に、常に支えとなってくれた妻 真理子，娘 寛菜と佑華に感謝します。

引用文献

- 1) 梅津憲治, 日本農薬学会誌, **36**, 308-311 (2011).
- 2) 平沢裕子, 日本農薬学会誌, **42**, 148-152 (2017).
- 3) 宮川恒, 日本農薬学会誌, **42**, 153-158 (2017).
- 4) 巢山弘介, 日本農薬学会誌, **42**, 159-166 (2017).
- 5) 藤井建夫, 一色賢司, 熊谷進, 西島基弘, 米谷民雄, ”食品安全の事典”, 日本食品衛生学会編, 朝倉書店, 東京, 2009, pp. 83-274
- 6) Ames B. N., Profet M., Gold L. S., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **87**, 7777-7781 (1990).
- 7) “2015年農林業センサス結果の概要(確定値)”, 農林水産省大臣官房統計部 (2016).
- 8) “病虫害と雑草による農作物の損失”, 社団法人日本植物防疫協会 (2008).
- 9) “農薬の登録申請に係る試験成績について”, 12 農産第 8147 号農林水産省農産園芸局長通知 (2000).
- 10) 食品衛生法第十一条.
- 11) “食品, 添加物等の規格基準”, 昭和 34 年厚生省告示第 370 号.
- 12) Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues: “Pesticide residues in food – 2002,” Rome, Italy (2002)
- 13) Solecki R., Davies L., Dellarco V., Dewhurst I., Raaij M., Tritscher A., *Food Chem. Toxicol.* **43**, 1569-1593 (2005).

- 14) Fujita M., Yajima T., Iijima K., Sato K., *J. Agric. Food Chem.*, **60**, 1516-1521 (2012).
- 15) 藤田真弘, 矢島智成, 浜野浩子, 逆井美智子, 飯島和昭, 佐藤清, 日本農薬学会誌, **37**, 183-189 (2012).
- 16) Hamilton D., Ambrus A., Dieterle R., Felsot A., Harris C., Petersen B., Racke K., Wong S., Gonzalez R., Tanaka K., Earl M., Roberts G., Bhula R., *Pest Manage. Sci.*, **60**, 311-339 (2004).
- 17) 永山敏廣, 小林麻紀, 塩田寛子, 伊藤正子, 田村行弘, 食品衛生学雑誌, **36**, 383-392 (1995).
- 18) 永山敏廣, 日本調理科学会誌, **42**, 135-140 (2009).
- 19) Fujita M., Yajima T., Nagata T., Tomiyama N., Iijima K., Sato K., *J. Pestic. Sci.*, **39**, 36-42 (2014).
- 20) Fujita M., Yajima T., Tomiyama N., Iijima K., Sato K., *J. Pestic. Sci.*, **39**, 69-75 (2014).
- 21) “農林水産物輸出入概況 2015年(平成27年)確定値”, 農林水産省国際部国際経済課 (2016).
- 22) “海外食料需給レポート 2015”, 農林水産省 (2016), <http://www.maff.go.jp/j/zyukyu/jki/j_rep/annual/2015/2015_annual_report.html (2017年3月30日閲覧)>.
- 23) “平成27年度食料自給率について”, 農林水産省 (2016), <<http://www.maff.go.jp/j/press/kanbo/anpo/attach/pdf/160802-3.pdf> (2017年3月30日閲覧)>.
- 24) “Codex Pesticides Residues in Food Online Database”, Codex Alimentarius.: <<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/pestres/en/> (2017年3月30日閲覧)>.

- 25) “Electronic code of Federal Regulations e-CFR”, The U.S. Government Publishing Office.: <<http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=2d1f4f634c673b933cd021f23a25fe41&mc=true&node=pt40.24.180&rgn=div5> (2017年3月30日閲覧)>.
- 26) “EU - Pesticides database”, European Commission.: <<http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN> (2017年3月30日閲覧)>.
- 27) “Pesticides and Veterinary Drugs Information”, Ministry of Food and Drug Safety.: <<http://www.foodsafetykorea.go.kr/residue/main.do> (2017年3月30日閲覧)>.
- 28) “Hong Kong Pesticide MRL Database”, centre for food safety.: <<http://www.cfs.gov.hk/english/mrl/index.php> (2017年3月30日閲覧)>.
- 29) “Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed”, FAO Plant Production and Protection Paper 197, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2009.
- 30) “Test No. 509: Crop Field Trial”, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Organization for Economic Cooperation and Development, Paris, 2009
- 31) Ambrus A., *J. Agric. Food Chem.*, **64**, 21-29 (2016).
- 32) Yajima T., Fujita M., Kondo K., Iijima K., Sato K., Kato Y., *J. Pestic. Sci.*, **38**, 200-207 (2013).

- 33) 食品に残留する農薬、動物用医薬品及び飼料添加物の限量一覽表，公益財団法人 日本食品化学研究振興財団.: < <http://m5.ws001.squarestart.ne.jp/zaidan/search.html> (2017年3月30日閲覧)>
- 34) “OECD Maximum Residue Limit Calculator”, The Organization for Economic Co-operation and Development, Paris, France (2011).: <http://www.oecd.org/document/8/0,3746,en_2649_34383_47259976_1_1_1_1,00.html (2017年3月30日閲覧)>
- 35) Aguilera-del R. A., Valverde-Garcia A., Camacho-Ferre F., *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 3355-3358 (1999).
- 36) Ambrus A., Lantos J., *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 4846-4851 (2002).
- 37) Travis J. W., Skroch W. A., Sutton T. B., *Plant Dis.*, **71**, 606-612 (1987).
- 38) 谷川元一，國本佳範，日本農薬学会誌，**25**，223-227 (2000).
- 39) “平成27年 国民健康・栄養調査報告書”，厚生労働省 (2017).
- 40) 日本食品衛生学会編，“食品・食品添加物等規格基準（抄）”，食品衛生学雑誌，**54**，J-139-J-143 (2013).
- 41) 矢島 智成，藤田 眞弘，飯島 和昭，佐藤 清，加藤 保博，日本農薬学会誌，**39**，1-9 (2014).
- 42) “General recommendations for the design, preparation and realization of residue trials”, Directorate General for Agriculture VI B II-1, APPENDIX B, Commission of the European Communities, European Union, 1997.

- 43) 末永和也, 坂部亮介, 松野倫也, 池田淳一, 早川泰弘, ”農薬調査研究報告 第7号”, 独立行政法人 農林水産消費安全技術センター, 東京, 2015, pp. 62-71.
- 44) 後藤真康, 水質汚濁研究, **14**, 70-74 (1991).
- 45) 永山敏廣, 小林麻紀, 塩田寛子, 伊藤正子, 田村行弘, 食品衛生学雑誌, **35**, 652-660 (1994).
- 46) 永山敏廣, 東京都健康安全研究センター 研究年報, **54**, 16-24 (2003).
- 47) “イミダクロプリド農薬評価書 (第3版)”, 食品安全委員会 (2016), <<http://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20151117471> (2017年3月30日閲覧)>.
- 48) “フルフェノクスロン農薬評価書 (第3版)”, 食品安全委員会 (2016), <<http://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20140203022> (2017年3月30日閲覧)>.
- 49) 野呂昭司, 工藤仁郎, 橘和丘陽, 園芸学会雑誌, **54**, 116-120 (1985).
- 50) Yajima T., Fujita M., Iijima K., Sato K., Kato Y., *J. Pestic. Sci.*, **42**, 82-87 (2017).
- 51) “Grain: World Markets and Trade”, Foreign Agricultural Service, United States Department of Agriculture, August 2016, p 22, <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain.pdf> (2017年3月30日閲覧)>.
- 52) Frank R., Braun H. E., Ripley B. D. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **70**, 1081-1086 (1987).

- 53) Zhong M., Wang T., Hu J., *Environ. Monit. Assess.*, **187**, 390 (2015).
- 54) Wang P., Rashid M., Liu J., Hu M., Zhong G., *Food Chem.*, **212**, 420-426 (2016).
- 55) Lino C. M., Guarda L. M., Silveira M. I., *J. AOAC Int.*, **82**, 1206-1213 (1999).
- 56) 田中 修, "植物はすごい, 七不思議篇", 中央公倫新社, 東京, 2015, pp. 151-154.
- 57) Nielsen R. L., "Silk Development and Emergence in Corn", Corny News Network, July 2016, Purdue University Department of Agronomy, <<https://www.agry.purdue.edu/ext/corn/news/timeless/Silks.html> (2017年3月30日閲覧)>.
- 58) Yajima T., Fujita M., Iijima K., Sato K., Kato Y., *J. Pestic. Sci.*, **42**, 119-123 (2017).
- 59) George A. D., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **63**, 1109-1113 (1980).
- 60) George A. D., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **68**, 1160-1163 (1985).
- 61) 斎藤玲奈, 石原 悟, 横山武彦, 染谷 潔, 藤本明日香, 泉澤 努, 高嶺祥子, 工藤喜彦, 高梨雅美, 北村恭朗, 亀田 浩, "農薬調査研究報告 第3号", 独立行政法人 農林水産消費安全技術センター, 東京, 2011, pp. 8-13.
- 62) C. D. S. Tomlin (eds.): "The e-Pesticide Manual version 5.0.1," British Crop Protection Council, Hampshire, U.K., 2010.

63) “ピリダリル農薬抄録”, 住友化学株式会社 (2011),
<<http://www.acis.famic.go.jp/syouroku/pyridalyl/index.htm>
(2017年3月30日閲覧)>.

64) Koning S. de, Kurano M., Janssen H.-G., Brinkman U.
A. Th., *J. Chromatogr. A*, **1023**, 165-174 (2004).

65) 矢島智成, 飯島和昭, 坂 真智子, 小田中芳次, 佐藤 清, 加藤
保博, 第31回農薬残留分析研究会, 宮崎, 2008年11月 講演要
旨集, pp. 188-194.