

農薬の農作物における残留濃度の個体間変動と
残留性に影響を及ぼす要因に関する研究

Study of pesticide residue variation between individual commodity units
and factors affecting pesticide residue levels

藤田 眞弘

Masahiro Fujita

2014 年

目次

第1章

「緒言」

-----	1
1-1. 緒言 -----	1
1-2. 研究の目的と構成 -----	6

第2章

「残留濃度の個体間変動」

-----	9
2-1. 第2章の緒言 -----	9
2-2. 実験方法 -----	10
2-3. 結果及び考察 -----	19
2-4. まとめ -----	23
2-5. 表 -----	25
2-6. 図 -----	28

第3章

「残留性に影響を及ぼす要因の解析」

-----	37
第1節. 第3章の緒言 -----	37
第2節. 試料量が及ぼす影響 -----	39
1. はじめに -----	39
2. 実験方法 -----	40
3. 結果及び考察 -----	40
4. まとめ -----	44
5. 表 -----	45
6. 図 -----	47

目次 (続き)

第3節. 栽培条件が及ぼす影響 -----	55
1. はじめに -----	55
2. 実験方法 -----	56
3. 結果及び考察 -----	62
4. まとめ -----	64
5. 表 -----	66
6. 図 -----	70
第4節. 試験圃場の違いが及ぼす影響 -----	79
1. はじめに -----	79
2. 実験方法 -----	79
3. 結果及び考察 -----	82
4. まとめ -----	85
5. 表 -----	87
6. 図 -----	90
第5節. 供試試料の取り扱い方法が及ぼす影響 -----	95
1. はじめに -----	95
2. 実験方法 -----	97
3. 結果及び考察 -----	102
4. まとめ -----	108
5. 表 -----	109
6. 図 -----	115
 第4章	
「総括」	
-----	123

目次（続き）

引用文献 ----- 129

摘要（和／英） ----- 135

本論文の基礎となる学術論文

謝辞

第1章 「緒言」

1-1. 緒言

2014年現在、関税障壁の除去が主眼となる環太平洋戦略的経済連携協定（TPP, trans-pacific partnership）への対応を巡る議論の中で、日本の農業の在り方に改めて注目が集まっている。輸出入関税が撤廃された場合、安価であることが想定される輸入品に国産農作物が淘汰されてしまうのか、あるいはむしろ海外輸出に拡大が可能なのか、見解は様々である。しかしながら、いずれにしても見落とせない事実が、日本の農業人口の減少である。文化の基盤とも言える農業を基幹産業として持続し、一定の食料自給率を維持していくことは不可欠であるが、日本の専業農家の戸数は減少傾向が加速しており、65歳以上の従事者が6割に迫るなど、農業労働力の脆弱化が懸念されている。人口自体も縮小に転じる国内状況であり、需要と効率的な生産規模のバランス等の考慮も必要な難しい問題であるが、一般論としては、産業、労働市場としての農業の魅力を高めて人的資源を誘導する努力が必要であろう。その上で、限られた労働力と規模において効率的な農業を行うことが、国際競争力を確保する面からも日本においては特に重要である。

「効率的な農業」を実現する為の技術的な要素はいくつか考えられるが、農薬に代表される農業資材の有効活用もそのひとつに数えられる。手除草や捕殺による害虫の駆除等にかかる多大な手間の削減といった例を挙げるまでもなく、高品質の作物を収率良く得る為に、農薬は欠かせないものとなっている。

一方で、日本の消費者の、食品の安全性への関心は高い。生産者においても、残留農薬の独自検査を行うなど、消費者の安心感を高めるニーズに応じることで商品価値の底上げを図ることが広く行われている。また、「無農薬」あるいは「減農薬」を謳う農作物（現在の農林水産省ガイドラインでは「有機栽培」や「特別栽培」等）が好まれる傾向も認められる。いずれも、農薬が健康に及ぼす影響を危惧する消費者の心理に基づいた動向である。流通する農作物に安全基準を超えた農薬が残留していることが許されないことは当然であり、また、多くの農薬は一定の生物活性を有していることから、安全

性は確認されていても進んで摂食することに利点はないことも事実である。更に、利潤の追求を極める為の過度な生産の効率化を求めた安易な農薬依存も避けるべきで、環境負荷や農薬耐性病害虫・雑草等の発生について配慮も必要である。しかしながら、農作物が、広く市場で受け入れられるコストで、一定の品質のものが安定供給され、国民の健康を支える為の基礎となるべきものだとすると、先に述べたような日本の農業環境も踏まえて、安全の確保された基準の範囲内で農薬を有効に活用し、効率的な生産を行うことが必須であろう。古くは、農薬の使用を一方向的に糾弾するような風潮も認められたが、近年ではリスクコミュニケーションの努力もあり、農薬の使用に対しては一定の理解が進んでいるといえる。これには、農薬の登録から作物への適用、流通までに亘る安全性評価、リスク管理の仕組みに対する社会からの信頼が基礎となっている。これを裏切ることなく、科学の発展や国際的な社会環境の変化に調和して農薬の安全性を確保することが、農薬を使用した作物生産を続けていく上での条件であると考えられる。

農薬の安全性を担保するためには、物質の毒性を始め数多くの情報が必要であるが、農作物中の実残留農薬濃度も重要な要素のひとつである。これを正確に把握することは、農薬の人への健康影響の評価や、それに基づく使用基準設定などに欠かせない。現在の日本における農薬の登録制度では、作物と製剤（剤型）毎に 2～6 圃場での実地試験を行い作物中農薬の最大残留量を求め、一日摂取許容量（ADI, acceptable daily intake）との比較の上、最大残留基準（MRL, maximum residue levels）が設定される。食品検査の面からは、流通する農作物中の農薬残留量を求め、基準値を超えないことが確認される。即ち、基準値による農薬のリスク管理においては、ADI が基本となっている。しかしながら、近年、それとは異なる急性参照用量（ARfD, acute reference dose）と呼ばれる指標が、整備すべき課題となっている。

2006 年から 2007 年にかけて、中国製の冷凍食品に混入した農薬による中毒事件が発生した。これは、作物に残留した農薬が原因ではなく、入手が比較的容易な毒物として農薬が悪用されたと考えられる、一般的な食品安全とは次元の異なる事件であったが、こ

れをきっかけとして、日本ではこれまであまり積極的に検討されてこなかった急性毒性に関する農薬の残留基準が話題となった。基本的に、作物に残留する農薬は、「一生涯摂取し続けても問題のない、一日当たりの量（ADI）」で規制されてきたが、「一時（一日）に摂取しても急性的な毒性影響が生じない量」に関しても、指標が必要なのではないかと、という議論である。農薬の登録段階では、急性毒性に関する情報が収集され、評価が行われるが、食品に対する残留の評価基準として示されることはなかった。農薬の急性影響の指針値としては、国際的に FAO/WHO の合同残留農薬専門家会議（JMPR, joint FAO/WHO meeting on pesticide residues）により定義された急性参照用量（ARfD）が用いられ、その内容は「ヒトが 24 時間または、それより短時間の間の経口摂取によって、健康に悪影響を示さないと推定される量」である^{1,2)}。日本においても、先の事件の際には、食品安全委員会より参考情報としてメタミドホス及びアセタミプリドについて ARfD の数値が示されたが、その後、他の農薬には拡大されていない。しかしながら、欧米を中心として世界的には ARfD の設定が積極的に進められていることから、関係機関において準備が進められている状況である。

ARfD は、「単回投与試験で得られた無毒性量の最小値について安全係数で除した数値（mg/kg 体重/日）」とされる。実残留農薬量あるいは推定残留農薬量が、設定された ARfD を越えなければ安全が確保されることになるが、農作物からの農薬摂取量の推定にはいくつかの基礎データが必要となる^{3,4)}。一般的には、作物の摂食量（消費量）、（作物毎の）残留農薬量が必要パラメータで、それぞれが整備されていなければならない。このうち、残留農薬量については、急性毒性の観点から、農作物における平均的な残留量ではなく、摂食する単位量（作物個体）あたりでの農薬の最大残留量を考慮する必要がある。農薬の登録においては、作物残留試験により最大残留量（HR, highest residue）を求めるが、これはいくつかの試験圃場毎の代表値（平均値）から求めた最大値であり、摂食する単位量（作物個体）あたりの最大量ではない。個体毎の最大残留量は、試験圃場の代表値に一定の変動係数（VF, variability factor）を乗ずることにより換算して求める

方法がとられる。変動係数 VF は、名称が表す通り、圃場（対象ロット）における個体単位での残留量の変動を示したもので、実測した個体残留濃度の最大値の 97.5 パーセントイル値を平均値で除した数値として定義される。農薬と作物毎に VF を実測することは現実的に困難であるため、過去の実施例から決定されたデフォルト値が設定されており、現在の JMPR では「3」が採用されている⁵⁾。VF 算出の実測調査実施例については世界各地での相当数の蓄積があるが⁶⁻⁸⁾、日本での検討例は極わずかであり⁹⁾、同様の値の適用が適切であるのかどうか不明であった。本研究では、試験圃場で栽培したいくつかの作物において VF を算出し、日本の気候及び農業慣習下における検証データとして示した。

以上で述べたように、ARfD に基づく農薬の規制が海外では拡充され、日本でも検討されているところであるが、従来の ADI に基づく残留基準値によるリスク管理の重要性が減少するわけではない。そして、残留基準値の設定とそれに基づく監視の両面においては、作物への農薬の残留性を精度よく把握することが不可欠である。その為には、農薬の残留性に影響を及ぼす諸要因についての情報が基礎として必要であり、その充実が食品の安全性確保に直結すると言える。

農薬の残留性に対しては、物質自体が持つ性質に加えて、栽培環境（雨除けや恒温施設の有無を含む、温度、水量、土性、日照量等）、作物の種類（品種、収穫物の形態）、生育状況（収穫物の状態、病害等の発生と防除）、農薬の処理方法（剤型、散布機、技術等の差）等が影響を及ぼす要因となる。これらは大きくは栽培単位や栽培圃場間で異なる要素であるが、同時に、同一ロット（同一圃場）の作物個体間での残留性の差異の要因ともなる。例えば、圃場内での位置的（局所的）な環境の違いや植物体の状態の差によって試料の個体毎の薬液付着量や農薬の消失速度等に差異が生じることが考えられる。これを受けて、同一ロットを代表する残留値を調査する場合等では、サンプルの数、あるいはサンプリング手法による変動が残留値に大きく影響を及ぼす。

また、作物個体内においても、部位により残留性が異なることが考えられる。作物の性質、農薬の物理化学的性質をはじめ、先に挙げた要因も関連して、残留農薬は作物個

体内で偏在しており、分析手法（供試試料の調製方法）によってはその残留性を適切に評価できない可能性もある。即ち、入手した試料について、分析対象部分（可食部等）を取り分ける操作や、試料量が多すぎる際に作業の都合に合わせて量を減らす操作（試料縮分）を行った場合には、分析に供した部分の残留性を反映したデータとはなるが、想定した分析対象の残留性を正確には反映しない可能性がある。

残留分析は、農薬の残留性と、それを適切に評価できる手段を考慮して実施することが重要であり、得られたデータは、試験条件や精度等の背景情報無くしては意味をなさない。本研究では、目的に応じた試験精度の確保に資する情報を提供するという観点から、農薬の残留性に影響を及ぼすいくつかの要因について検討した。そのうち、試験圃場及び分析対象部位の違いについての検証は、以下に示すように、現在喫緊の課題となっている日本における農薬規制の国際調和にも関連する。

経済に関するグローバリゼーションが全ての分野に及んでいる現在、食糧の輸入大国である日本は、農作物の食品としての安全性に関する規制等についても、国際標準への合流が必須となっている。これにより国際間の農産物や農業資材の取引を円滑化することができるが、日本産品の国際市場における信頼性の向上にもつながり、日本の農業の発展にも有益であると考えられる。具体的な施策として、2010年4月、日本における農薬登録の必要要件のうち、作物残留試験の試験例数（試験圃場数）と、作物の分析対象部位について見直しが行われた¹⁰⁾。試験例数については、これまで一律2例（2圃場）以上とされていたところが、作物の生産量に応じて2～6例以上となった。欧米では8例以上となっているが、日本の生産規模を考慮し、主要な作物についてはデータの統計的な取扱いが可能となる設定とされた。分析部位については、これまで分析対象としていなかったスイカやメロンの果皮、リンゴ等の非可食部位（芯、果梗の基部等）を、果肉（可食部）とは別途に分析することとされた。これらの作物については、欧米では部位を分別しない全果実分析が基本であることから、全果実当たりの残留値を分別分析結果から換算して求めることにより評価部位を欧米に一致させ、且つ、従来通りの果肉の分

析値により精密な暴露評価を行う設定とされた。本研究ではこれらの手法を実残留試料について適用した実証例を提供する。

1-2. 研究の目的と構成

農薬の安全性評価において重要な情報のひとつとなる、作物における残留農薬について、その変動と、残留性に影響を及ぼす諸要因に関する知見を得ることが本研究の目的である。

第2章では、リンゴ、キャベツ、ブドウ、ピーマン、ブロッコリーにおいて130個体以上の試料を個別分析し、残留農薬濃度の変動係数(VF)を求めた。短期暴露量推定に必要なパラメータであるこの数値の、日本国内での検討例として、海外データとの比較を行った。キャベツとブドウについては、同じ2種の農薬を各作物に混用散布し、作物と農薬の相互比較により試料個体間の変動要因を解析した。

第3章では、農薬の残留性及び残留分析値に影響を及ぼす要因として、供試試料量(試料重量/個数)、栽培方法(露地と施設の違い)、供試試料の取り扱い方法(試料縮分操作と果肉/果皮の分離分析)、試験圃場及び分析対象部位の違いについて検証した。第1節で検討の背景について述べた。第2節では、第2章で得た各作物での個体別の残留データに基づき、供試試料量(個数)と残留値の変動の関係について検討した。それにより、ロットを的確に代表するために必要な試料量を示した。第3節では、結球レタスにおいて複数農薬の作物残留性調査を露地栽培と施設栽培で実施して、農作物の栽培形態の違いが残留農薬分析結果に与える影響を比較検討した。ここでは、4種農薬を用い、そのうちのひとつを土壌処理剤、他を茎葉散布剤とすることにより、農薬の性質や処理方法の相異が残留農薬濃度の減衰等に与える要因も解析した。第4節では、リンゴ及び結球レタスにおいて試験圃場毎での残留性の違いを確認した。リンゴは1農薬を処理した8圃場試料、結球レタスは先の栽培形態の検討における試料(4農薬処理、露地及び施設各6圃場)を共用し、形状や栽培方法が異なる2作物でそれぞれの結果を得た。第

5 節では、リンゴにおいて分析部位の選択による差異、スイカ及びメロンにおいて分析部位の分離分析と試料縮分操作に起因する差異、結球レタスにおいて試料縮分操作に起因する差異を調査し、試料（個体）中における残留農薬の偏在により、実験室レベルでの試料の取り扱いが残留分析値に及ぼす影響を検証した。

第 4 章では、本研究において得られた農作物中の残留農薬量の変動と残留性に影響を及ぼす要因に関する知見を整理し、総括した。

第2章 「残留濃度の個体間変動」

2-1. 第2章の緒言

近年，FAO/WHO の合同残留農薬専門家会議（JMPR, joint FAO/WHO meeting on pesticide residues），欧州連合及び米国などでは，残留農薬のリスク評価を行う際，一日摂取許容量（ADI, acceptable daily intake）に加えて，一回（一日）単位の摂取による健康影響を評価するための急性参照用量（ARfD, acute reference dose）を設定し，短期摂取量の推定値と比較した健康リスク判定が行われている^{2,4)}。農薬の短期暴露量評価では，作物1個体（または個体の一部）を短期間に多量に摂取することを想定するため，作物1個体単位での農薬残留量の変動が重要な情報となる。その変動を推定するためのパラメータとして，個体ごとの残留量の97.5パーセンタイル値を平均値で除した商で表した変動係数（VF, variability factor）が用いられており，JMPRにおいてはVF=3がデフォルト値として採用されている⁵⁾。作物個体ごとの残留量の変動については，海外での検討事例は相当数が蓄積されており⁶⁻⁸⁾，それらが前述のJMPRにおけるVF値の根拠ともなっている。しかしながら，欧米とは気候や農業慣習の異なる日本国内における検討事例はほとんど無く，知見が不足している⁹⁾。

そこで本研究では，国内栽培によるリンゴ，キャベツ，ブドウ，ピーマン及びブロッコリーを対象とし，農薬残留濃度の個体別の変動を調査した。対象作物は，栽培形態や収穫物の形状が異なるものを選択し，特徴を捉えて解析に資することを目指した。農薬は茎葉散布で用いる水和／水溶剤とし，日本国内において幅広い作物への適用があり，国際的にも使用されている，シペルメトリン及びアセタミプリドを選択した。いずれの農薬についても，JMPRにおいてARfDの数値が設定されており，海外でのVFの調査事例との比較も可能である。そのうち，シペルメトリン（cyano (3-phenoxyphenyl)methyl 3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate）は，比較的高い分配係数（logPow=6.6），比較的低い水溶性（0.004 mg/L）を持つ合成ピレスロイド系殺虫剤である¹¹⁾。アセタミプリド（(E)-N-[(6-chloro-3-pyridyl)methyl]-N'-cyano-N-methylethanimidamide）

は、比較的低い分配係数 ($\log Pow=0.80$), 比較的高い水溶性 (4250 mg/L) を持つネオニコチノイド系殺虫剤である¹¹⁾。キャベツ及びブドウについては、これら性質の異なる農薬をタンクミックスで処理することにより、農薬の物理化学的性質が作物残留値の変動に及ぼす影響について、作物間の比較と併せて解析した。また、キャベツについては、個体の中心、中間、外側の 3 部位に分割した分析を別途行い、作物の特徴が残留値の変動に及ぼす影響に関する情報を得た。

2-2. 実験方法

2-2-1. 圃場試験

各作物の圃場における試料調製は、作物残留試験ガイドライン¹⁰⁾に準拠して行った。各農薬製剤は、ラベルレートにて最大の回数を処理し（ピーマンを除く；d)項参照）、最短の処理後経過日数（PHI, pre harvest interval）で収穫した。

a). リンゴ

リンゴ（品種：ふじ）は、一般社団法人岩手県植物防疫協会の果樹園（ 64 m^2 , 約 63 本/10 a）及び社団法人福島県植物防疫協会の果樹園（ 8 m^2 , 約 125 本/10 a）において慣行的な栽培管理を行い調製した。2008 年 10 月 15 日から 11 月 13 日（初回散布から収穫まで）に試験を行い、その際、果実への袋かけは行わなかった。薬剤処理は、アグロスリン水和剤（シペルメトリン 6% a.i., 住友化学）の 1000 倍希釈液を、コーンノズルを装着したバッテリー動力噴霧器（丸山 MSB151 他）を用いて、 $400\sim 500 \text{ L}/10 \text{ a}$ となるように 7 日間隔で 3 回散布した。

試料は、最終処理 14 日後に、出荷規格に相当する果実の 130 個体を試験樹（岩手；4 本，福島；1 本）から無作為に採取した。試料採取に際しては、試験樹の縦方向（上部，中部，下部）及び中心方向（外側及び内側）において、採取位置の偏りが生じないように、均等に選ぶように配慮した。採取した試料は分析場所に翌日到着するように冷蔵宅配便で送付した。

b). キャベツ

キャベツ（品種：金系 201）は，2010 年 8 月 26 日から 11 月 5 日にかけて，一般社団法人日本植物防疫協会茨城研究所の圃場（86.4 m²，約 3300 株/10 a，露地栽培）において試験を実施した。農薬は，モスピラン水溶剤（アセタミプリド 20% a.i.，日本曹達）とアグロスリン水和剤を，コーンノズルを装着したバッテリー動力噴霧器（丸山 MSB151）により，タンクミックスで 1000 倍に希釈し，約 7 日間隔で 5 回，最終処理は収穫の 7 日前となるように散布した（処理量は 213～292 L/10 a）。キャベツの葉球について，135 個体（うち 5 個体は部位別分析用試料）を圃場全体から無作為に採取し，採取当日に分析場所に輸送した。

c). ブドウ

ブドウ（品種：デラウェア）は，2010 年 7 月 8 日から 8 月 5 日にかけて，一般社団法人日本植物防疫協会山梨試験場の果樹園（41 m²，25 樹/10 a，11 年生，高さ約 1.5 m の棚づくり，施設栽培）において試験を実施した。アグロスリン水和剤は 1000 倍希釈液を約 7 日間隔で 5 回，モスピラン水溶剤は 2000 倍希釈液を約 7 日間隔で 3 回（モスピラン処理時はアグロスリンとタンクミックス処理），コーンノズルを装着したバッテリー動力噴霧器（丸山 MSB151）により散布した。処理量は 300 L/10 a で，最終処理はアグロスリン水和剤で収穫 7 日前，モスピラン水溶剤で収穫 14 日前となるよう設定した。ブドウの果実について，130 個体を試験樹（1 本）から無作為に採取し，分析場所に翌日到着するように冷蔵宅配便で送付した。

d). ピーマン

ピーマン（品種：トサヒメ R）は，2008 年 1 月 8 日から 16 日にかけて，一般社団法人日本植物防疫協会高知試験場の施設（109 m²，約 1200 株/10 a，ビニルハウス栽培）において試験を実施した。アグロスリン水和剤の 2000 倍希釈液を約 7 日間隔で 2 回，コーンノ

ズルを装着したバッテリー動力噴霧器（丸山 MSB111）により散布した。処理量は 250 L/10 a であった。最終処理 1 日後に、果実の 141 個体をグリーンハウス全体から無作為に採取し、分析場所に翌日到着するように冷蔵宅配便で送付した。なお、当該農薬の使用基準は、2000 倍希釈液を収穫前日以前まで 5 回以内の散布となっている。

e). ブロッコリー

ブロッコリー（品種：ハイツ）は、2009 年 10 月 22 日から 11 月 19 日にかけて、一般社団法人日本植物防疫協会茨城研究所の圃場（173 m², 約 3300 株/10 a, 露地栽培）において試験を実施した。モスピラン水溶剤の 2000 倍希釈液を約 7 日間隔で 3 回、エンジンセット動力噴霧器（丸山 MS510ENR, 30 cm ピッチ手散布 6 口ノズル）により散布した。処理量は 250 L/10 a であった。最終処理 14 日後に、花蕾の 130 個体を圃場全体から無作為に採取し、分析場所に翌日到着するように冷蔵宅配便で送付した。

2-2-2. 試薬及び機器

分析用標準品として、アセタミプリド標準品（関東化学製）とシペルメトリン標準品（Dr.Ehrenstorfer 製）を用いた。残留農薬試験用のアセトン、アセトニトリル及びメタノール、高速液体クロマトグラフィー用のテトラヒドロフラン、LC-MS 用のアセトニトリル及びメタノール、精密分析用の酢酸、特級の酢酸アンモニウムは和光純薬工業製を用いた。水は Milli-Q システム（Millipore 製）による精製水を用いた。試料均一化用のミキサーには Russell Hobbs 3901JP（Salton Europe 製）または BLIXER-5Plus（Robot Coup 製）を用いた。ホモジナイザーにはポリトロン（Kinematica 製）を用いた。抽出液のろ別にはセルロースろ紙（No.704, 日本理化学器械製）を用いた。精製用の固相抽出カラムとして、グラファイトカーボンミニカラム（GL-Pak CARBOGRAPH, 500 mg, ジーエルサイエンス製）または C18 ミニカラム（InertSep C18-C, 1 g, ジーエルサイエンス製）を用いた。測定には Agilent 製の 1200 液体クロマトグラフ/6410 トリプル四重極質量分析計 LC-

MS/MS システム, または 1290/6460LC-MS/MS システムを用いた。

アセタミプリド標準品について, 500 mg/L の標準溶液をアセトニトリルで調製した。この標準溶液の一定量を水/アセトニトリル (6:4, v/v) 混液で希釈して 0.025~1 µg/L (ブドウ及びキャベツ測定時) または 0.0125~1 µg/L (ブロッコリー測定時) の検量線作製の溶液を調製した。

シペルメトリン標準品について, 500 mg/L または 200 mg/L の標準溶液をアセトニトリルまたはアセトンで調製した。リンゴの測定においては, この標準溶液の一定量をメタノール/テトラヒドロフラン (3:1, v/v) 混液で希釈して 0.05~4 µg/L の溶液を, ブドウ及びキャベツの測定においてはアセトニトリルで希釈して 0.25~10 µg/L の溶液を, ピーマンの測定においてはメタノールで希釈して 0.25~20 µg/L の溶液を調製し, それぞれ検量線作製用とした。

2-2-3. 分析法

a). 試料調製 (前処理)

試料は1個体ずつの重量を測定するとともに個体識別番号ラベルを添付し, 作物に応じた処理 (分析対象部位以外を除去¹²⁾し, 必要に応じて再度重量を測定) の後, 個体毎に可食部の全量をミキサーで均一化した。全ての試料は, 分析場所への到着日中に分析操作の第1段階 (抽出) までを行った。

リンゴ試料は, 縦に4分割し, 非可食部である花おち, 芯及び果梗の基部を除去した後, ミキサーで磨砕均一化した。

キャベツ試料は, 外葉と芯を除去した後, ミキサーで磨砕均一化した。外葉除去においては一定の判断をするよう留意し, 除去した葉数を記録した。また, 部位別分析に供する為の5個体の試料について, それぞれ芯に近い中心部分, 中間的な層, 外側の層の3部位に, 重量を基準として分割し (Fig. 2-1), 5個体分の各部位を合わせて均一化して分析に供した。

ブドウ試料は、果梗を除去した後、ミキサーで全量を磨砕均一化した。

ピーマン試料は、へたを除去した後、1 cm角程度に細切して分析に供した（磨砕均一化は抽出溶媒と共にホモジナイザーで行った）。

ブロッコリー試料は、葉が残っていた場合には除去した後、ミキサーで磨砕均一化した。なお、軸部分の長さについては、圃場での収穫時に花蕾頂からの長さを16 cmとして調整した（葉の大部分と葉柄も圃場にて除去）。

b). 分析操作

b)-1. リンゴにおけるシペルメトリンの分析操作と定量

均一化した試料20 gを三角フラスコに量りとり、アセトン100 mlを加えて30分間振とう抽出した。抽出物をセルロースろ紙を敷いた桐山ロートで吸引ろ過し、残渣をアセトン50 mlで洗い、同様にろ過した。ろ液を合わせてアセトンで200 ml定容とし、その2 ml（試料0.2 g相当）を容器に採った。これに水18 mlを加えて混合し、あらかじめメタノール及び水各5 mlを順次流下して前処理したグラファイトカーボンミニカラムに流下した。さらにメタノール／水（8:2, v/v）混液10 mlで容器内を洗浄してカラムに流下し、これらの流出液を捨てた。カラム内の水を軽く切った後、メタノール／テトラヒドロフラン（1:1, v/v）混液10 mlを流下して溶出液を採り、同混液で20 mlに定容し、必要に応じて希釈（2～10倍）して検液とした。検液の5 µlをLC-MS/MSに注入し、検量線より試料中の残留濃度を算出した（定量限界0.01 mg/kg）。代表的なクロマトグラムをFig. 2-2及び2-3に示した。

LC条件：カラム Luna Phenyl-Hexyl（2.0 mm i.d.×100 mm, 粒径 3 µm, Phenomenex 製）。移動相 メタノール／5 mmol/l 酢酸アンモニウム（9:1, v/v）。流速 0.3 ml/min。カラム温度 40°C。保持時間 2.4 分。

MS/MS条件：イオン化法 エレクトロスプレーイオン化法（ESI），正イオンモード。乾燥ガス温度 350°C。乾燥ガス流量 12 L/min（N₂）。ネブライザ圧力 50 psi。イオン導入電圧 4000 V。フラグメンタ電圧 100 V。コリジョン電圧 10 V（N₂）。イオン検出法 MRM法。

モニタリングイオン プリカーサーイオン m/z 433.2 ($[M+NH_4]^+$), プロダクトイオン m/z 191.1。

b)-2. キャベツ及びブドウにおけるアセタミプリド及びシペルメトリンの分析操作と定量

均一化した試料 20 g を三角フラスコに量りとり、アセトン 100 ml を加えて 30 分間振とうして抽出した。これを、セルロースろ紙を敷いた桐山漏斗で吸引ろ過し、残渣をアセトン 50 ml で洗浄した。ろ液を合わせてアセトンで 200 ml に定容し、その 2 ml (試料 0.2 g 相当量) に水 8 ml を加えてあらかじめアセトニトリル及び水各 5 ml を順次流下して前処理した C18 ミニカラムに流下した。次にアセトニトリル/水 (6:4, v/v) 混液 10 ml を流下し、アセタミプリド溶出画分としてフラスコに採った。カラムを 1 分間吸引して乾燥させた後、酢酸/テトラヒドロフラン (1:1000, v/v) 混液 10 ml を流下し、シペルメトリン溶出画分としてフラスコに採った。

アセタミプリド画分は、アセトニトリル/水 (6:4, v/v) 混液を用いて適量に定容 (20 ~ 2000 ml) し、その 2 μ l を LC-MS/MS に注入した。シペルメトリン画分は減圧濃縮して窒素気流下で溶媒を留去し、適量 (2~160 ml) のアセトニトリルに溶解し、その 10 μ l を LC-MS/MS に注入した。各成分について検量線よりキャベツ及びブドウ中の各農薬濃度を算出した (定量限界 0.005 mg/kg)。代表的なクロマトグラムを Fig. 2-4~2-7 に示した。

アセタミプリド分析における LC 条件 : カラム Zorbax Eclipse Plus C18 (2.1 mm i.d.×50 mm, 粒径 1.8 μ m, Agilent 製)。移動相 アセトニトリル/5 mmol/l 酢酸アンモニウム (2:8, v/v)。流速 0.3 ml/min。カラム温度 40°C。保持時間 2.2 分。

アセタミプリド分析における MS/MS 条件 : イオン化法 エレクトロスプレーイオン化法 (ESI), 正イオンモード。乾燥ガス温度 300°C (Sheath gas; 400°C)。乾燥ガス流量 5 L/min (N₂, Sheath gas; 11 L/min)。ネブライザ圧力 45 psi。イオン導入電圧 4000 V。フラグメンタ電圧 100 V。コリジョン電圧 20 V (N₂)。イオン検出法 MRM 法。モニタリングイオン プリカーサーイオン m/z 223.0 ($[M+H]^+$), プロダクトイオン m/z 126.0。

シペルメトリン分析における LC 条件：カラム Unison UK-C18 (2.0 mm i.d.×750 mm, 粒径 3 μm, インタクト製)。移動相 アセトニトリル/5 mmol/l 酢酸アンモニウム (50:50, v/v) –2 min– (95:5, v/v) 8 min。流速 0.3 ml/min。カラム温度 40°C。保持時間 4.2 分。

シペルメトリン分析における MS/MS 条件：リンゴに同じ。

b)-3. ピーマンにおけるシペルメトリンの分析操作と定量

細切した試料の全量を三角フラスコに移し、アセトン70 mlを加えてホモジナイザーで磨砕均一化した。抽出物をセルロースろ紙を敷いた桐山ロートで吸引ろ過し、残渣をフラスコに戻してアセトン30 mlを加えた。再度ホモジナイズ及びろ過し、残渣をアセトン30 mlで洗い、同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンで分析部位重量の5または6倍量となるように定容し、そこから試料1 g相当量 (5または6 ml) をフラスコに採った。これを減圧濃縮してアセトンを留去し、水5 mlを加えて混合し、あらかじめメタノール及び水各5 mlを順次流下して前処理したC18ミニカラムに流下した。メタノール/水 (6:4, v/v) 混液10 mlで容器内を洗浄してカラムに流下し、これらの流出液を捨てた。次にメタノール10 mlを流下して溶出液を採り、メタノールで20 mlに定容し、必要に応じて希釈 (2～10倍) して検液とした。検液の5 μlをLC-MS/MSに注入し、検量線より試料中の残留濃度を算出した (定量限界0.01 mg/kg)。代表的なクロマトグラムをFig. 2-8に示した。

LC 条件：カラム Cadenza CD-C18 (2.0 mm i.d.×75 mm, 粒径 3 μm, インタクト製)。移動相 5 mmol/l 酢酸アンモニウム/メタノール (70:30, v/v) –2.5 min– (5:95, v/v) 5 min。カラム温度 40°C。保持時間 5.8 分。

MS/MS条件：リンゴに同じ。

b)-4. ブロッコリーにおけるアセタミプリドの分析操作と定量

均一化した試料 20 g を三角フラスコに量りとり、アセトン 100 ml を加えて 30 分間振とうして抽出した。これを、セルロースろ紙を敷いた桐山漏斗で吸引ろ過し、残渣をアセ

トン 50 ml で洗浄した。ろ液を合わせてアセトンで 200 ml に定容し、その 1 ml (試料 0.1 g 相当量) を取り、窒素気流下でアセトンを留去した後、水 5 ml を加え、あらかじめアセトニトリル及び水各 5 ml を順次流下して前処理した C18 ミニカラムに流下した。次いでアセトニトリル/水 (6:4, v/v) 混液 10 ml を流下して溶出液を取り、同混液を用いて適量に定容 (20~800 ml) して検液とした。その 10 μ l を LC-MS/MS に注入し、検量線より残留濃度を算出した (定量限界 0.005 mg/kg)。代表的なクロマトグラムを Fig. 2-9 に示した。

LC 条件 : カラム Unison UK-C18 (2.0 mm i.d.×75 mm, 粒径 3 μ m, インタクト製)。移動相 5 mmol/l 酢酸アンモニウム/アセトニトリル (7:3, v/v)。流速 0.2 ml/min。カラム温度 40°C。保持時間 2.5 分。

MS/MS 条件 : イオン化法 エレクトロスプレーイオン化法 (ESI), 正イオンモード。乾燥ガス温度 350°C。乾燥ガス流量 11 L/min (N₂)。ネブライザ圧力 35 psi。イオン導入電圧 4000 V。フラグメンタ電圧 110 V。コリジョン電圧 21 V (N₂)。イオン検出法 MRM 法。モニタリングイオン プリカーサーイオン m/z 223.1, プロダクトイオン m/z 126.0。

c). 分析法の妥当性

シペルメトリン及びアセタミプリドについては、それぞれの残留分析法が厚生労働省より通知されている¹³⁾。シペルメトリンの通知試験法は、他11成分とのグループ分析法で、アセトンで抽出し、ヘキサンに転溶後フロリジルカラムクロマトグラフィーで精製し、ガスクロマトグラフ (電子捕獲型検出器) で定量する方法である。アセタミプリドの通知試験法は、アセトンで抽出し、酢酸エチルに転溶後、フロリジルカラムクロマトグラフィーで精製し、ガスクロマトグラフ (アルカリ熱イオン化検出器等) で定量する方法である。これらの方法においては、多数の検体を迅速に分析することが困難であるため、本研究では、固相抽出カラムにより精製し、LC-MS/MSを用いて定量する簡便な方法を検討し、その妥当性 (回収率、精度及び選択性) について確認した。

分析法の妥当性は、均一化した各作物無処理試料にアセタミプリドまたはシペルメトリンの標準溶液を添加し、各3連以上で分析して求めた回収率及び精度と、各作物無処理試料を各2連で分析して選択性を確認することにより検証した。添加濃度は、定量限界相当、その20～50倍、及び残留基準値相当とし、必要に応じて実残留濃度相当における分析を追加した。各作物試料における添加回収率をTable 2-1にまとめた。リンゴにおけるシペルメトリンの平均回収率は88～94%の範囲で、それらの相対標準偏差（RSD）は9.9%以下であった。キャベツにおける平均回収率はアセタミプリドで103～107%（RSD 4.8%以下）、シペルメトリンで79～95%（RSD 3.8%以下）であった。ブドウにおける平均回収率はアセタミプリドで102%（各濃度同じ、RSD 3.0%以下）、シペルメトリンで74～98%（RSD 5.1%以下）であった。ピーマンにおけるシペルメトリンの平均回収率は84～107%（RSD 5.3%以下）であった。ブロッコリーにおけるアセタミプリドの平均回収率は86～91%（RSD 4.3%以下）であった。

各作物無処理試料の分析結果は、全て定量限界未満（各試料2点で実施）であり、クロマトグラム上の分析対象物質保持時間付近に妨害ピーク等は認められなかった。

回収率は各添加濃度の平均回収率が70～120%の範囲内であること、精度はその相対標準偏差が15%以下であること、選択性は、分析対象の測定に影響を及ぼす夾雑物のピーク等が認められないことを指標とし、以上の結果はこれを全て満たす良好な結果となったので、本分析方法を各試料に適用した。

なお、処理試料の分析においては厚生労働省のガイドライン¹⁴⁾に基づき精度管理を行った。20 検体毎に各 1 点の添加回収試料及び無処理試料の併行分析を行い、その結果、添加回収率が 70～120%の範囲内で、かつ無処理試料において分析対象物質の定量に影響を及ぼす妨害ピーク等が認められなかったことにより、分析精度が維持されていることを確認した。

2-3. 結果及び考察

2-3-1. 変動係数

a). 各種作物における変動係数の算出結果

本研究において得られた VF 算出結果を Table 2-2 に示す。各個体農薬残留濃度の 97.5 パーセンタイル値を平均値で除して求めた VF 値は、最小がピーマンにおけるシペルメトリンの 1.48, 最大がキャベツにおけるシペルメトリンの 2.39 であった。なお、キャベツにおけるシペルメトリンについて 1 点のみ出現した非検出 (<0.005mg/kg) のデータは、定量限界の半分の値の検出として取り扱った⁵⁾。

個体毎の残留濃度の幅（最低濃度から最大濃度）は最小で 4 倍（ピーマン）、最大で 53 倍（キャベツ／シペルメトリン）であり、VF の最小及び最大値と同じ組み合わせであった。なお、各農薬残留値の各作物における平均値は、食品衛生法第 11 条第 3 項の最大残留基準（MRL, maximum residue levels）を下回った（MRL；シペルメトリン／リンゴ 2.0 mg/kg, キャベツ 1.0 mg/kg, ブドウ 2.0 mg/kg, ピーマン 2.0 mg/kg, アセタミプリド／キャベツ 3.0 mg/kg, ブドウ 5.0 mg/kg, ブロッコリー 2.0 mg/kg）。

VF 値は、露地栽培より施設栽培のほうが、また、農薬最終処理から収穫までの経過日数（PHI）が短いほうが、それぞれ環境要因の関与が少なくなることから、数値が小さくなることが予想される。しかし、露地栽培のブロッコリーの VF 値が 1.72 であるのに対し、施設栽培のブドウの VF 値（アセタミプリド）は 1.82 とほぼ同等であり、また、PHI が同じ 7 日であっても VF 値は 2.00（キャベツ／アセタミプリド）、2.39（キャベツ／シペルメトリン）及び 1.63（ブドウ／シペルメトリン）と異なっているなど、これらの要素と VF 値の大小を関連付けることは難しく、本研究における 5 作物 2 農薬の相互的な観察においては明瞭な傾向は認められなかった。また、各作物の大きさ（重量）との関係についても、平均重量 425 g（岩手）または 416 g（福島）のリンゴと 155g のブドウにおけるシペルメトリンでの各 VF 値は、それぞれ 1.76 または 1.75 及び 1.82 であるなど、明瞭な差が確認されず、他の要因と切り分けての独立した解析は困難であった。なお、ふたつの圃

場で 2 例の調査を行ったリンゴについて、ほぼ同等の結果が得られたことは（岩手で 1.76, 福島で 1.75), 試験樹に対する薬液散布量の設定が適切であったこと, 農薬散布が同等に行われたこと, 及び気象条件等の環境要因が同等であったことを示唆している。

b). 海外データとの比較

本研究における調査結果は, WHO/FAO の報告⁵⁾における平均 VF 値 (小粒果実 2.82, 葉菜類 2.14, 大粒果実 2.45, 総平均 2.47) と比較すると, 同等もしくは小さな値であった。また, 同報告において, キャベツについての 4 種農薬 (860 個体) の平均 VF 値は 1.85, ブドウについての 15 種農薬 (2426 個体) の平均 VF 値は 2.67 となっており, 本研究における VF 値はこれらとの比較では, キャベツではやや大きく, ブドウでは小さかった。農薬に着目すると, Ámbrus の報告⁸⁾では, シペルメトリンについてレタス及びマンゴーでの VF 値は 1.73 及び 2.16~2.31, アセタミプリドについてキュウリでの VF 値は 3.21 としており, 本研究における VF 値はこれらとの比較では同等もしくは小さな値であった。リンゴについては, VF 5.3~11.4 (有機リン系農薬) との報告もあり¹⁵⁾, これとの比較においては大幅に小さな値であった。

全体的には, 本研究における VF 値は海外データに比較して低い傾向を示した。その要因として, 本研究では, 調査用試料の調製について経験豊富な試験圃場が試験を担当していることと共に, 農薬の散布方法の違いが挙げられる。海外においては, 一般的に大型フィールドスプレーヤーを用いて高濃度薬液の少量散布が行われる¹⁵⁾。これに対して本調査では, 動力噴霧器あるいは背負式バッテリー噴霧器により, 試験樹や作物全体に低濃度の薬液を“葉から滴り落ちる程度に”散布した。たとえ同一濃度の薬液を同一のスプレーヤー (噴霧器) により散布したとしても, 器具の設定や使用方法により, 作物への付着状況が変動することが知られているが^{16,17)}, これらの農薬散布方法に由来する薬液付着の均一性の相異が, 本研究の調査結果と海外データとの差異における要因のひとつと推察される。また, ブドウに関しては, 海外では, 地面に対して垂直なフェンス状

に樹を仕立てる“柵づくり”が基本であるのに対し、日本では多くの場合、地面から一定の高さで水平に枝を這わせる“柵づくり”となり、本調査でも後者手法での栽培とされている。果実が比較的明瞭に露出する柵づくり栽培においては、農薬の付着が均一となり、VF値が低減する可能性が考えられる。

2-3-2. キャベツ及びブドウにおける変動要因の解析

a). 濃度の分布

キャベツ個体毎のアセタミプリド残留濃度は 0.044~0.288 mg/kg, シペルメトリン残留濃度は<0.005~0.266 mg/kg であり、平均値 (±標準偏差) はそれぞれ 0.129±0.056 mg/kg, 0.066±0.042 mg/kg であった。ブドウ個体毎のアセタミプリド残留濃度は 0.114~3.12 mg/kg, シペルメトリン残留濃度は 0.574~3.38 mg/kg であり、平均値 (±標準偏差) はそれぞれ 1.34±0.578 mg/kg, 1.87±0.578 mg/kg であった (Table 2-2)。

キャベツ及びブドウにおけるアセタミプリド及びシペルメトリンの個体別残留濃度の度数分布を Fig. 2-10 及び 2-11 に示す。シャピローウィルクの検定によると、ブドウは各農薬とも正規分布の仮定が否定されないが (アセタミプリド; $W=0.986$, $p<0.205$, シペルメトリン; $W=0.984$, $p<0.136$) キャベツについては棄却され (アセタミプリド; $W=0.942$, $p<0.000$, シペルメトリン; $W=0.849$, $p<0.000$, χ^2 検定による判断でも同様), プロットにおいても低濃度側への歪みが認められる。また、キャベツにおけるアセタミプリド及びシペルメトリンの中央値は 0.116 mg/kg 及び 0.056 mg/kg で、いずれも平均値より低い数値となっている。ブドウについては中央値がそれぞれ 1.33 mg/kg 及び 1.86 mg/kg であり、平均値と同等であった。りんご、ブロッコリー及びピーマンにおいても分布の歪みは認められなかった (第3章2節参照)。

b). 試料重量

キャベツ 130 個体の各重量 (芯は除く) は、0.841~2.03 kg で、平均は 1.33 kg (RSD

19.6%)であった。ブドウ 130 個体の各重量（果梗を含む）は、129~180 g で、平均は 155 g (RSD 8.1%) であった。いずれも日本の市場に流通する各作物の一般的な大きさである。Fig. 2-12 に、キャベツ及びブドウ個体の重量とそれにおけるアセタミプリド及びシペルメトリン残留濃度の関係を表すプロットを示す。本検討においては、試料重量と各農薬の残留濃度についての相関性は見いだせなかった。

c). アセタミプリドとシペルメトリン残留量の相関性

キャベツ個体毎のアセタミプリドとシペルメトリン残留濃度の関係を表すプロットを Fig. 2-13 に、同様のブドウにおけるプロットを Fig. 2-14 に示す。ブドウにおいては、両物質の残留濃度について良好な相関性が認められた（相関係数 $r^2=0.8399$ ）。ブドウにおけるふたつの農薬の処理条件は異なっており、アセタミプリドは計 3 回の処理で収穫は最終処理から 14 日後、シペルメトリンは計 5 回の処理で収穫は 7 日後である。一般的に、残留農薬量は最終処理後の経過日数（PHI）に負うところが大きいとされており^{18, 19)}、個体単位での各農薬の消失状況は経過日数の違いにより変動幅が異なるとも考えられるが、ブドウ個体毎のアセタミプリドとシペルメトリン残留濃度においては、違いは認められなかった。

一方、キャベツにおいては、両成分とも共通の条件（製剤の処理回数、PHI とも同一）で処理したにもかかわらず、残留濃度について相関性が低い結果となった（相関係数 $r^2=0.4208$ ）。プロットによれば、アセタミプリドに比較してシペルメトリンの残留濃度が高めに拡散しており、対数近似の相関係数は $r^2=0.5148$ となった。

d). 残留農薬濃度の変動

キャベツにおけるアセタミプリド及びシペルメトリンの VF 値は 2.00 及び 2.39、ブドウにおいては 1.82 及び 1.63 となり、両物質とも、キャベツの数値はブドウより高い（キャベツのほうが個体毎の残留値の変動が大きい）結果となった。これは多種の要因が複合

的に影響を及ぼした結果と考えられるが、影響の大きい要因として、ブドウが施設栽培（雨除け栽培）であるのに対し、キャベツは露地栽培であったことが挙げられる。即ち、キャベツにおいては、日照や降雨による流出や分解の影響により個体間の変動が拡大した可能性が考えられる。また、噴霧器、ノズル等の散布条件によっても農薬の残留状況に差が生じることを考慮すると^{16, 17)}、本検討では、キャベツが地表面における栽培であったのに対し、ブドウは高さ約 1.5 m 位置での棚づくり栽培であったことにより、農薬の初期付着や分布に差が生じたものと考えられる。更に、作物の形態の面では、次項に示すキャベツの外葉の取り扱いが影響を及ぼしたと考えられる。

e). キャベツの分割分析

キャベツ個体内の部位における農薬の分布を調査する為、Fig. 2-1 で示すように等重量となるように 3 層に分割したキャベツを分析した。アセタミプリドの残留濃度は、中心部で 0.054 mg/kg、中間層で 0.060 mg/kg、外側層で 0.586 mg/kg であった (Table 2-3)。主な残留部位（相対残留量 84%）は外側の葉であったが、中間、中心の層にも存在した（相対残留量 8%及び 9%）。一方、シペルメトリンの残留濃度は、中心部及び中間層では定量限界未満 (<0.005 mg/kg)、外側層で 0.406 mg/L であり、残留は外側の葉に集中した。アセタミプリドのようなネオニコチノイド系殺虫剤には浸透移行性があり²⁰⁾、それが反映された結果となった。本検討結果から、外側の葉に残留が集中するシペルメトリンは、アセタミプリドに比べて外葉除去の影響を強く受ける為、サンプリングや試料調製の操作において残留値変動幅が拡大したことが示唆された。同様に、c) 項で示した、キャベツ個体における 2 農薬残留濃度の相関性の低さは、このことに起因すると考えられた。

2-4. まとめ

日本における VF 値を検証する目的において、本研究結果により、その評価を可能とする有益な情報が得られたものと考えられる。日本の気候、栽培規模、栽培品種、栽培方

法や農薬処理方法等の各種慣行を考慮した条件下で、全ての VF 値は JMPR においてデフォルトとされる VF = 3 を下回っており、日本国内において同様の数値が採用可能であることが示唆された。なお、この結果は試験圃場で得られた同一ロットの個体群に関するものであり、市場サンプル等では異なることが予想される。EFSA（欧州食品安全機関）の報告⁷⁾では、市場モニタリングに基づき求めた VF 値が、試験圃場による VF 値に比べてより大きな数値となることを示している。また、WHO/FAO の報告⁵⁾では、調査事例のうち VF 値が 3 を超えた割合は、試験圃場（15663 データ）で 1.7%、市場サンプル（7002 データ）で 4.2%であったとしており、やはり市場サンプルでは VF 値が大きくなる傾向であるが、これを考慮しても VF 値を 3 とすることが妥当であると結論づけている。日本国内における、試験圃場と実際の生産現場の差異や市場サンプルの実態等に関しては、調査による実証の必要性も含めて今後検討しなければならない課題である。

また、施設栽培のブドウと露地栽培のキャベツの比較により、栽培環境や作物形体の差が作物個体毎における残留農薬量の変動に影響を及ぼすことが示された。キャベツにおける 2 農薬の検証では、農薬の物理化学的性質の影響も示され、作物個体毎における残留農薬量の変動は、作物の種類、栽培方法、農薬処理量、化合物の性質等、様々な要因の影響を受けることが示された。本研究で得た 5 作物 2 種農薬の VF 値を総合的に検討した場合に、栽培条件や最終処理後経過日数との関係が明瞭に認められないことは、VF 値にはこれらの要因が複合的に影響を及ぼすことを示唆するものである。

2-5. 表

Table 2-1. Results of recovery test

Sample	Pesticide	Spike level, mg/kg	Recovery, % (n=24), %		
			mean	RSD	
Apple	Cypermethrin	2	88	2.1	(n=6)
		0.2	84	4.8	(n=6)
		0.01 ^a	94	9.9	(n=6)
Cabbage	Acetamiprid	5	107	1.4	(n=3)
		0.1	107	3.5	(n=3)
		0.005 ^a	103	4.8	(n=3)
Cabbage	Cypermethrin	1	95	3.8	(n=3)
		0.1	79	2.5	(n=3)
		0.005 ^a	80	3.3	(n=3)
Grape	Acetamiprid	5	102	3.0	(n=3)
		0.1	102	2.0	(n=3)
		0.005 ^a	102	2.5	(n=3)
Grape	Cypermethrin	4	98	2.1	(n=3)
		2	96	2.2	(n=3)
		0.1	74	2.1	(n=3)
		0.005 ^a	80	5.1	(n=3)
Sweet pepper	Cypermethrin	2	101	2.0	(n=5)
		0.5	107	2.2	(n=5)
		0.01 ^a	84	5.3	(n=5)
Broccoli	Acetamiprid	5	91	1.7	(n=3)
		0.2	87	4.3	(n=3)
		0.005 ^a	86	2.7	(n=3)

RSD: relative standard deviations.

^a The spike level at the limits of quantitation.

Table 2-2. Measured individual residue levels of pesticides, sample weights, and calculated variability factors.

Crop (pesticide)	Number of applications × PHI ^a (dilution factor; application vol.)	Sample weight ^b	Residue ^b , (min–max)	VF ^c (97.5 th percentile)
Apple; Iwate (cypermethrin)	3 × 14-d (1000 times; 400 L/10 a)	425 ± 61.6 g	0.21 ± 0.078 mg/kg (0.04–0.43 mg/kg)	1.76 (0.37)
Apple; Fukushima (cypermethrin)	3 × 14-d (1000 times; 500 L/10 a)	416 ± 71.2 g	0.24 ± 0.081 mg/kg (0.04–0.46 mg/kg)	1.75 (0.42)
Cabbage; Ibaraki (acetamiprid)	5 × 7-d (1000 times; 213–292 L/10 a)	1330 ± 260 g	0.129 ± 0.056 mg/kg (0.044–0.288 mg/kg)	2.00 (0.258)
Cabbage; Ibaraki (cypermethrin)	5 × 7-d (1000 times; 213–292 L/10 a)	same as above ^d	0.066 ± 0.042 mg/kg (<0.005 to 0.266 mg/kg)	2.39 (0.158)
Grape; Yamanashi (acetamiprid)	3 × 14-d (2000 times; 300 L/10 a)	155 ± 12.5 g	1.34 ± 0.578 mg/kg (0.114–3.12 mg/kg)	1.82 (2.44)
Grape; Yamanashi (cypermethrin)	5 × 7-d (1000 times; 300 L/10 a)	same as above ^d	1.87 ± 0.578 mg/kg (0.574–3.38 mg/kg)	1.63 (3.05)
Sweet pepper; Kochi (cypermethrin)	2 × 1-d (2000 times; 250 L/10 a)	31 ± 2.6 g	0.55 ± 0.135 mg/kg (0.22–0.85 mg/kg)	1.48 (0.81)
Broccoli; Ibaraki (acetamiprid)	3 × 14-d (2000 times; 250 L/10 a)	523 ± 93.3 g	0.039 ± 0.013 mg/kg (0.007–0.071 mg/kg)	1.72 (0.067)

^a Number of applications × PHI: days after final application (dilution factors of the formulations; application volumes). ^b Data are presented as mean values (± standard deviations). Minimum–maximum values are indicated in parentheses. ^c Variability factor (Coefficient of variation at the 97.5th percentile of the mean residue value). ^d The two pesticides were applied on cabbage and grape samples using a tank-mix application technique.

Table 2-3. Distribution of the residue levels of acetamiprid and cypermethrin in cabbage

Portion to be analyzed ^a	Mean residue ^b	
	Acetamiprid	Cypermethrin
Core side leaves	0.054 mg/kg (8%)	<0.005 mg/kg (<1%)
Middle leaves	0.060 mg/kg (9%)	<0.005 mg/kg (<1%)
Outer side leaves	0.586 mg/kg (84%)	0.406 mg/kg (>98%)

Mean residue levels in a homogenized sample from five heads of cabbage (n = 2).

^a Portions were divided into three equal portions on weight basis; refer to Figure 2-1.

^b Percentages relative to the total residue amount are expressed in the parentheses.

2-6. ☒

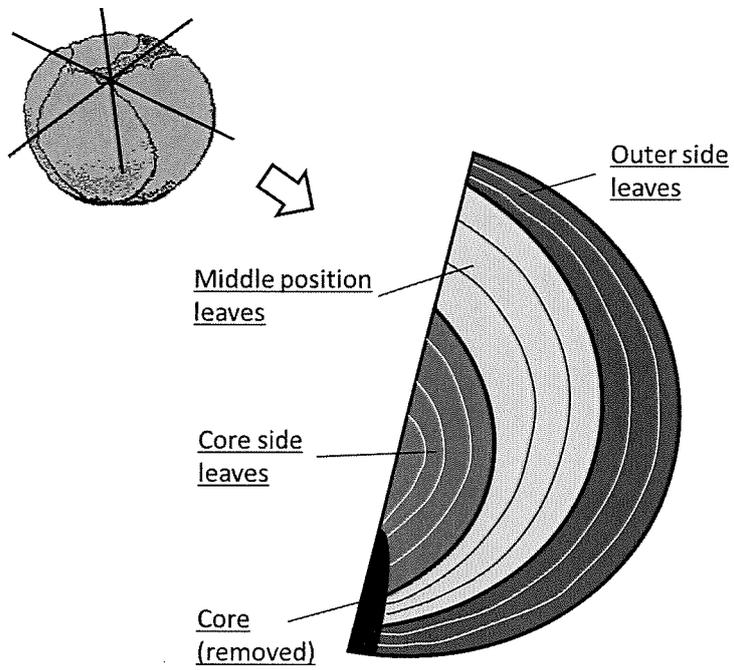


Fig. 2-1. Diagram illustrating the removal of the cabbage portions that were used for analysis (removal of core).

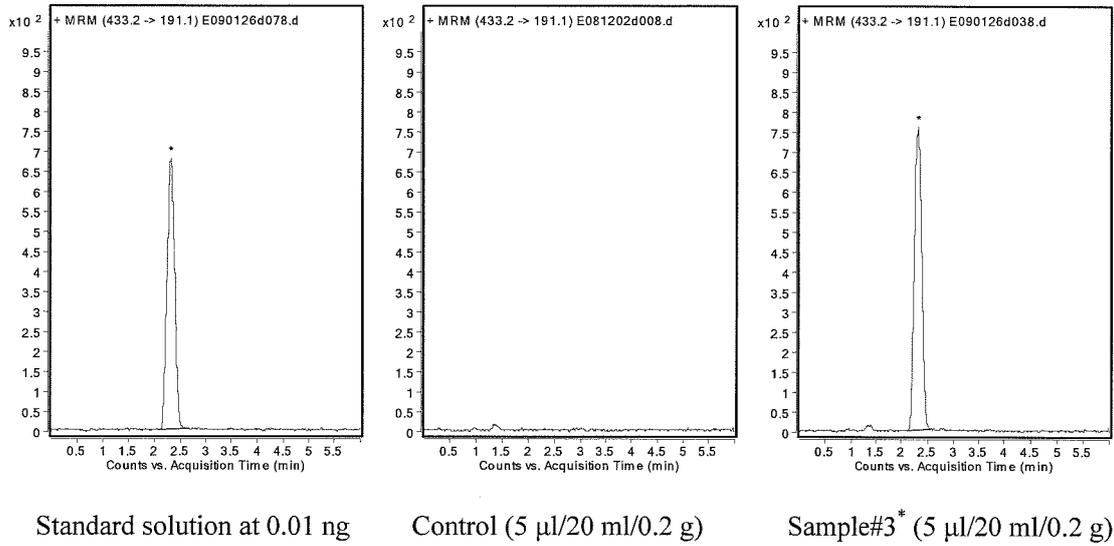


Fig. 2-2. Representative chromatograms of cypermethrin in Iwate apples.

* Representative chromatogram of the field samples close to the median residue.

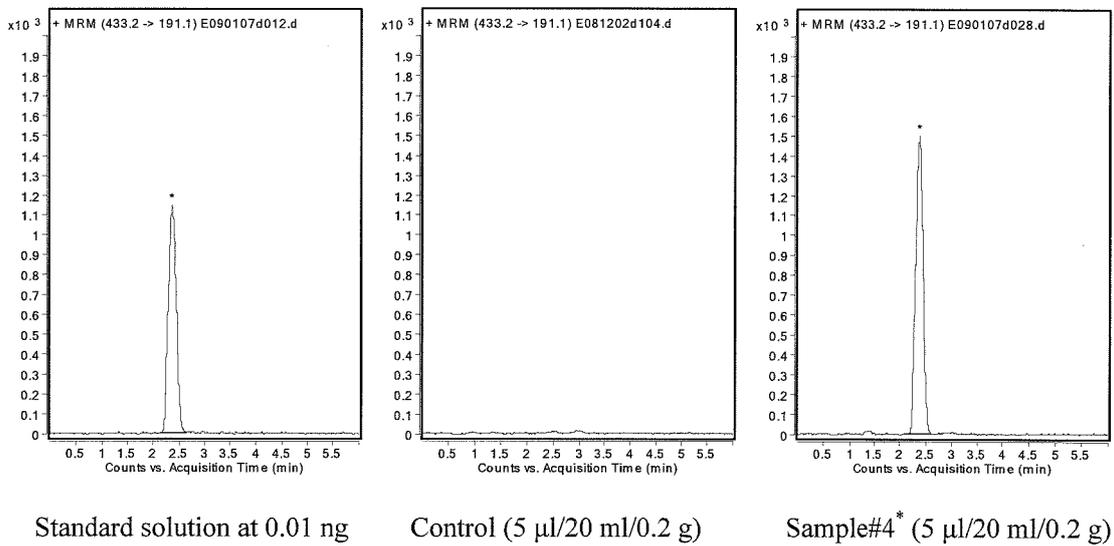


Fig. 2-3. Representative chromatograms of cypermethrin in Fukushima apples.

* Representative chromatogram of the field samples close to the median residue.

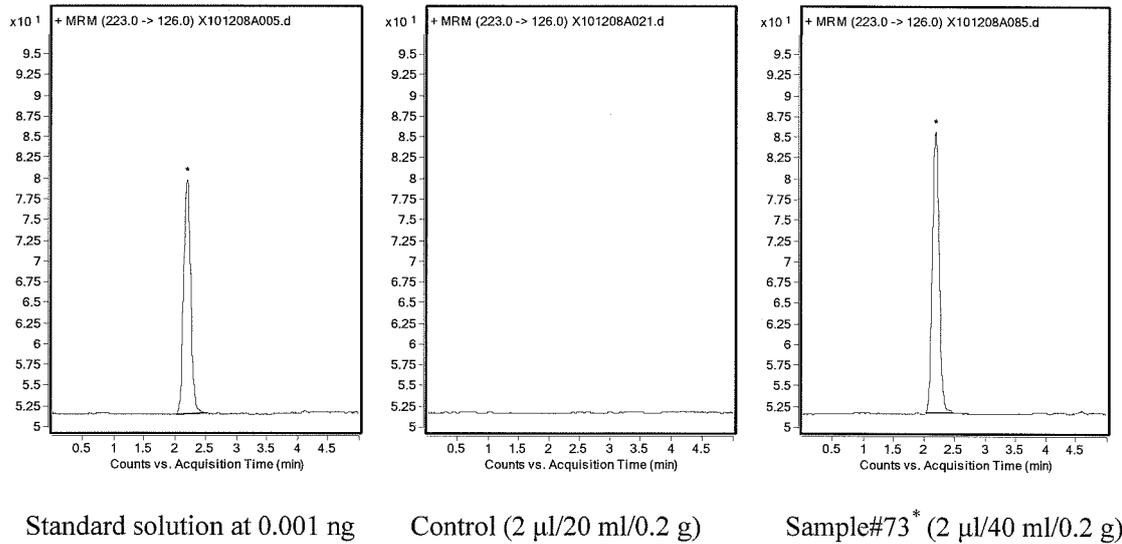


Fig. 2-4. Representative chromatograms of acetamiprid in cabbage.

* Representative chromatogram of the field samples close to the median residue.

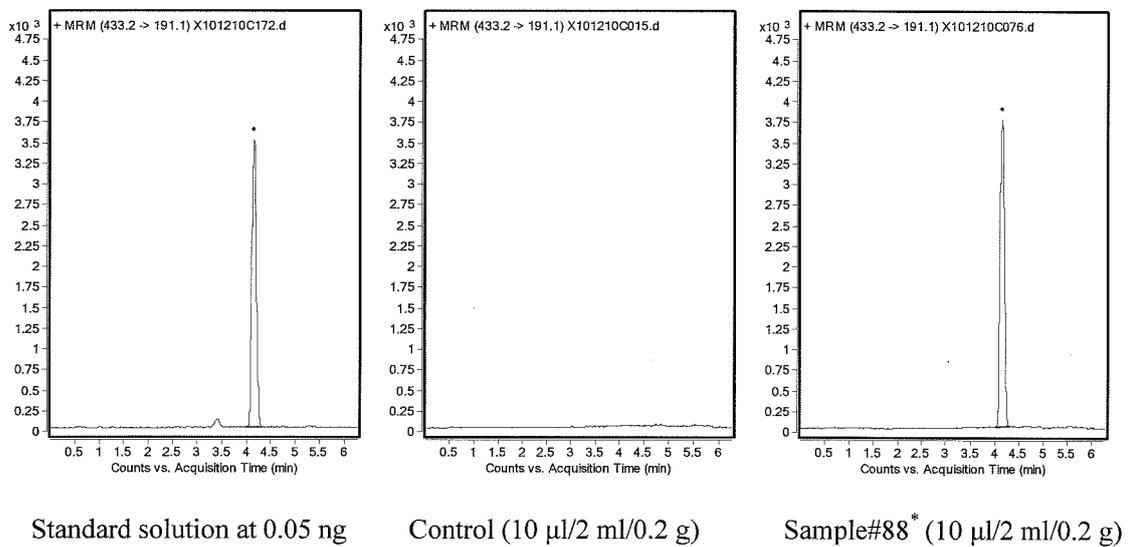


Fig. 2-5. Representative chromatograms of cypermethrin in cabbage.

* Representative chromatogram of the field samples close to the median residue.

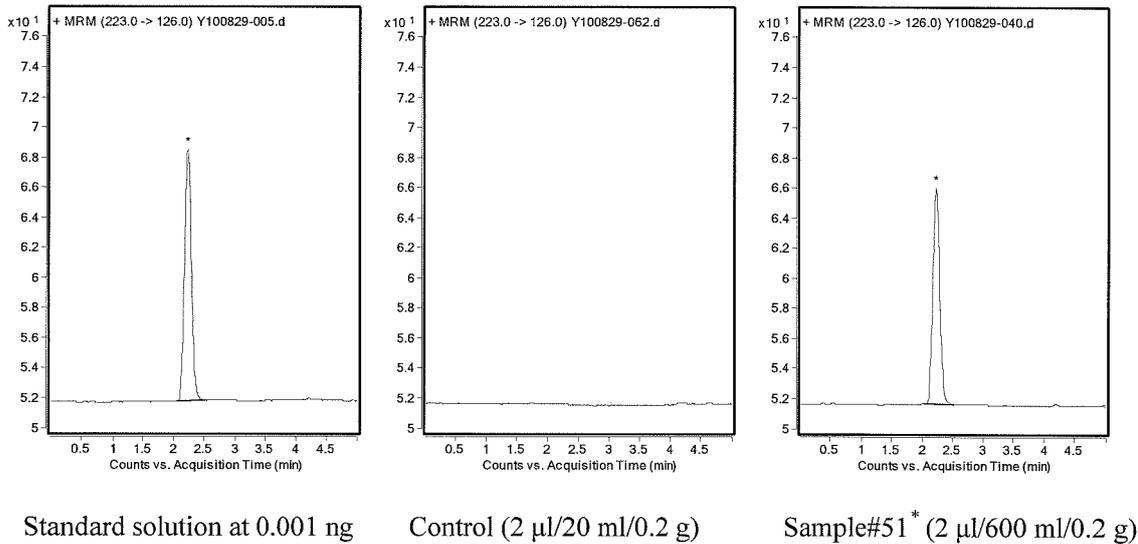


Fig. 2-6. Representative chromatograms of acetamiprid in grapes.

* Representative chromatogram of the field samples close to the median residue.

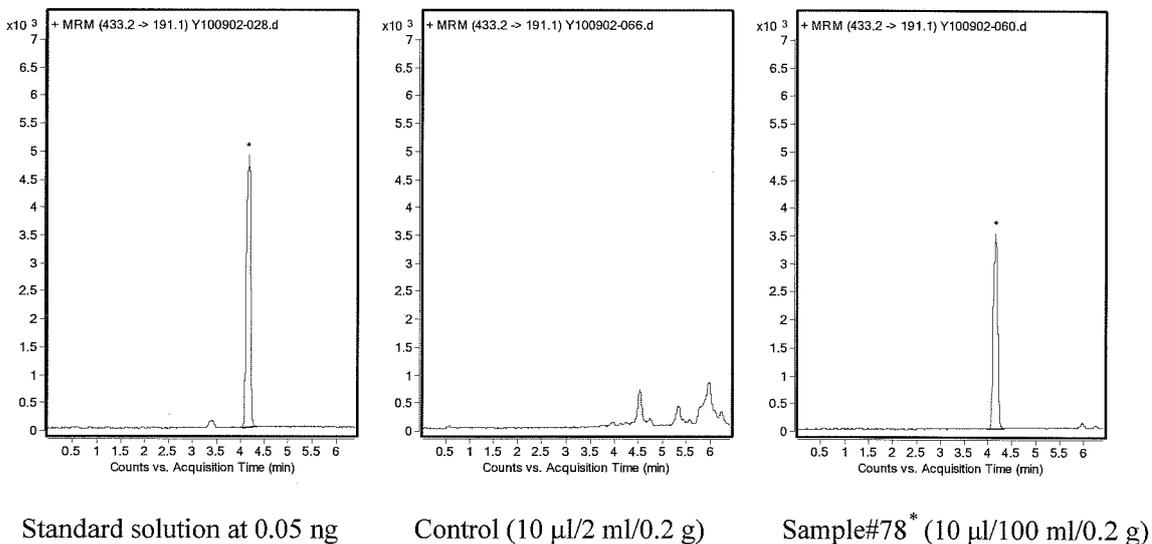
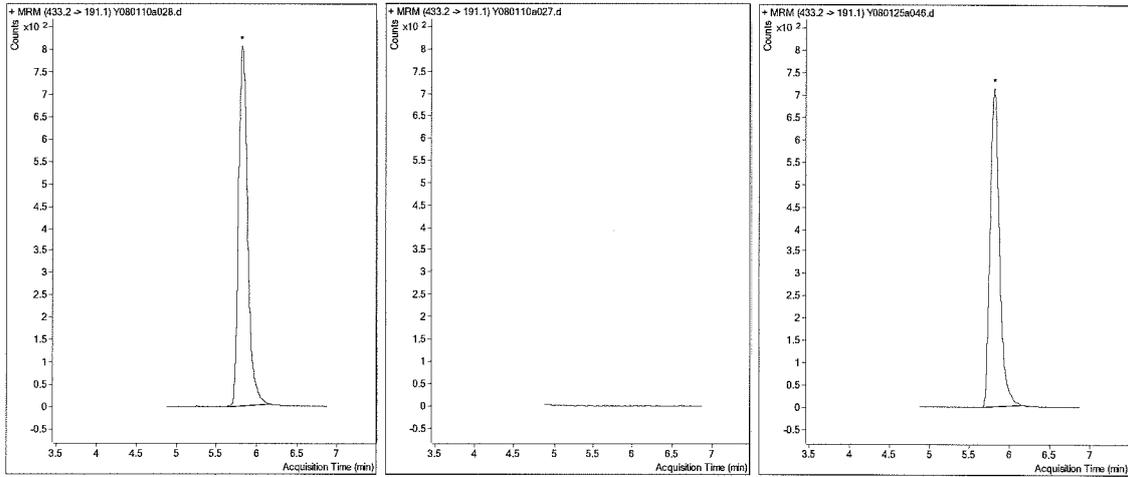


Fig. 2-7. Representative chromatograms of cypermethrin in grapes.

* Representative chromatogram of the field samples close to the median residue.



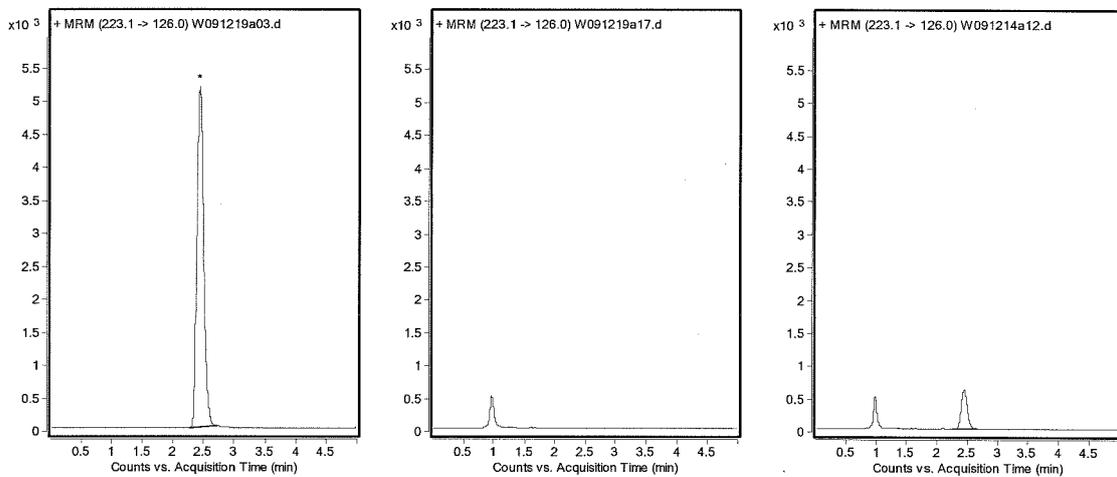
Standard solution at 0.1 ng

Control (5 µl/20 ml/1 g)

Sample#21* (5 µl/60 ml/1 g)

Fig. 2-8. Representative chromatograms of cypermethrin in sweet peppers.

* Representative chromatogram of the field samples close to the 97.5percentile of residue population.



Standard solution at 0.01 ng

Control (10 µl/20 ml/0.1 g)

Sample#74* (10 µl/20 ml/0.1 g)

Fig. 2-9. Representative chromatograms of acetamiprid in broccoli.

* Representative chromatogram of the field samples close to the median residue.

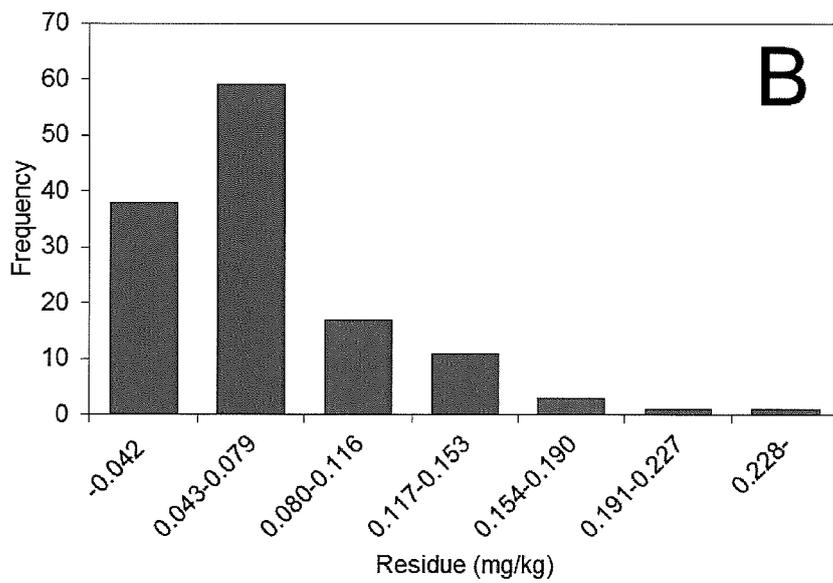
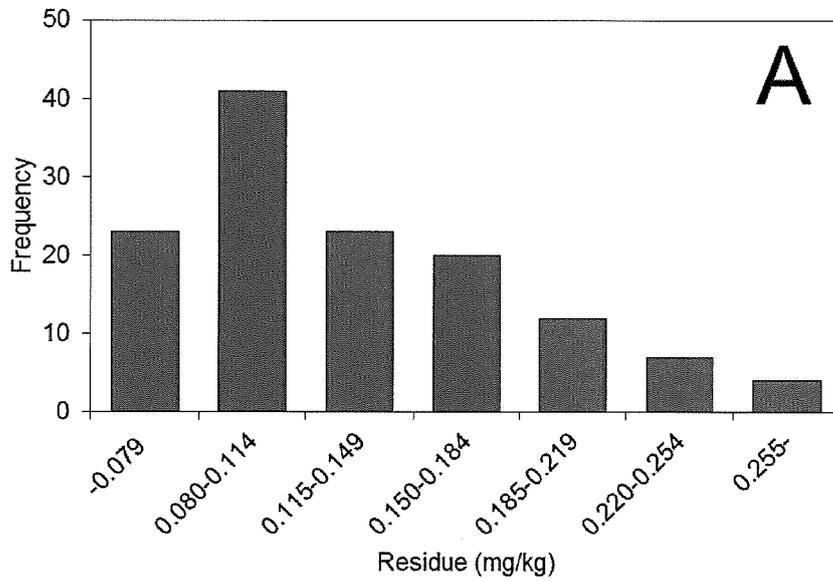


Fig. 2-10. Frequency distribution of acetamiprid (A) and cypermethrin (B) residue levels in cabbage.

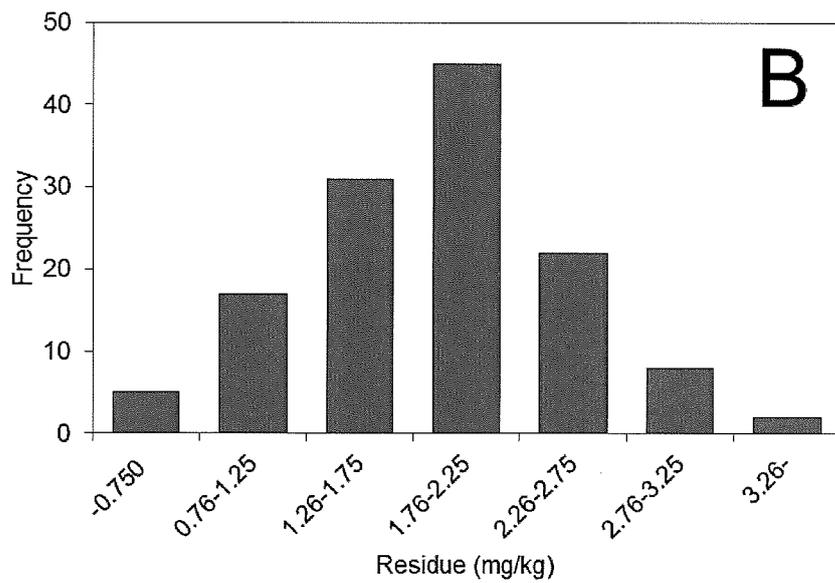
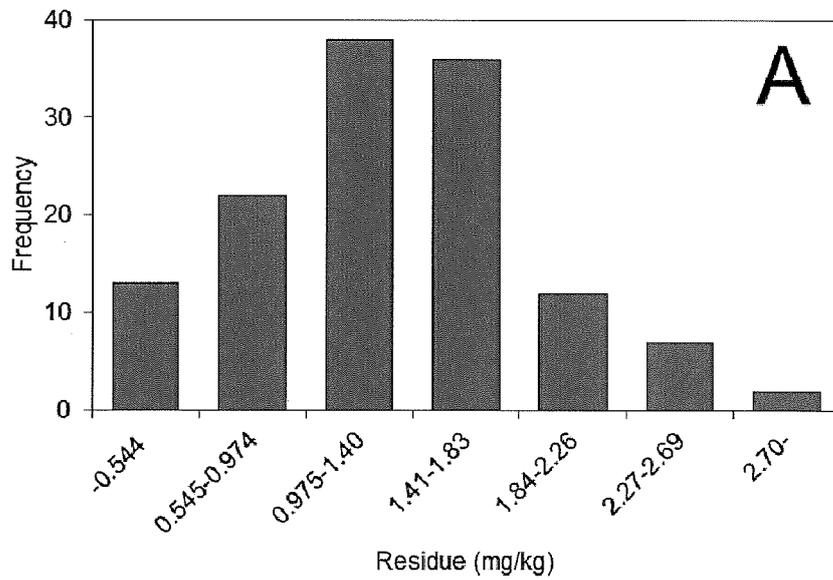


Fig. 2-11. Frequency distribution of acetamiprid (A) and cypermethrin (B) residue levels in grapes.

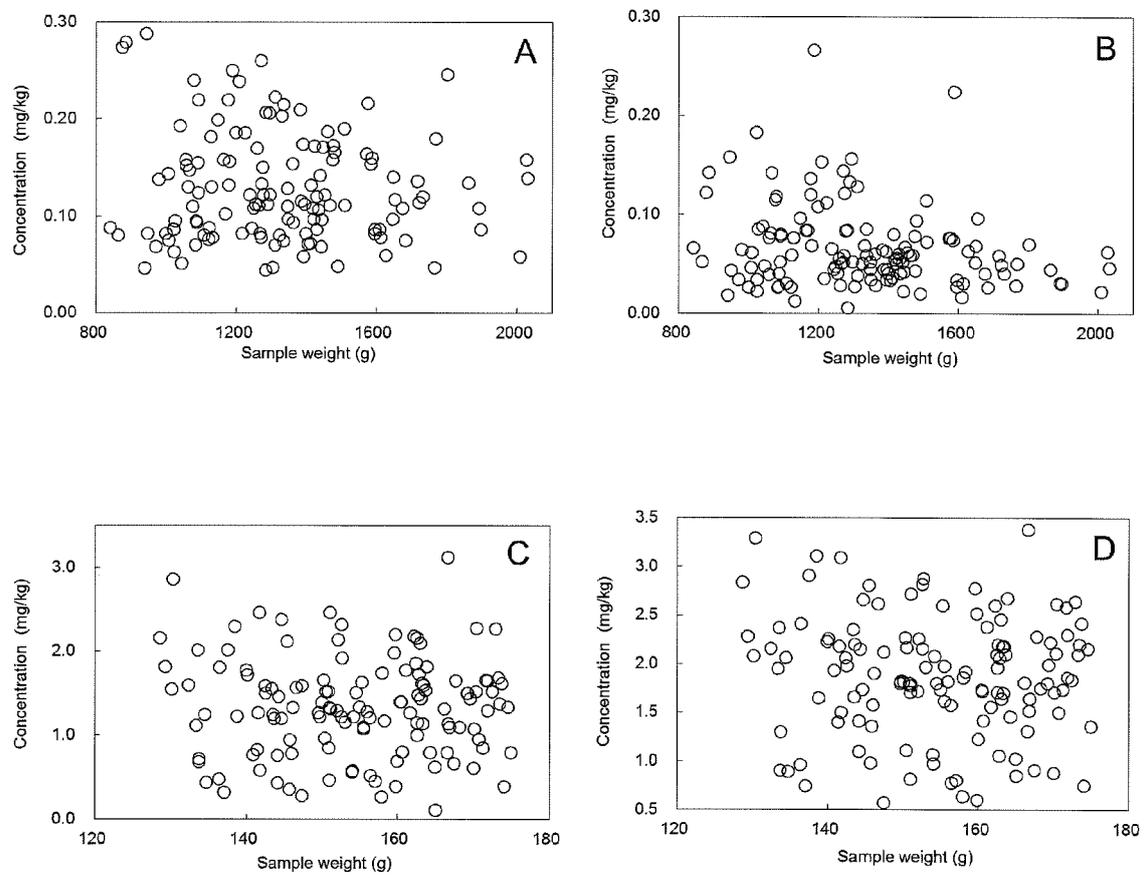


Fig. 2-12. Scatter plots of sample weight versus pesticide residues in crops.

- (A) acetamiprid in cabbage, (B) cypermethrin in cabbage,
- (C) acetamiprid in grapes, (D) cypermethrin in grapes.

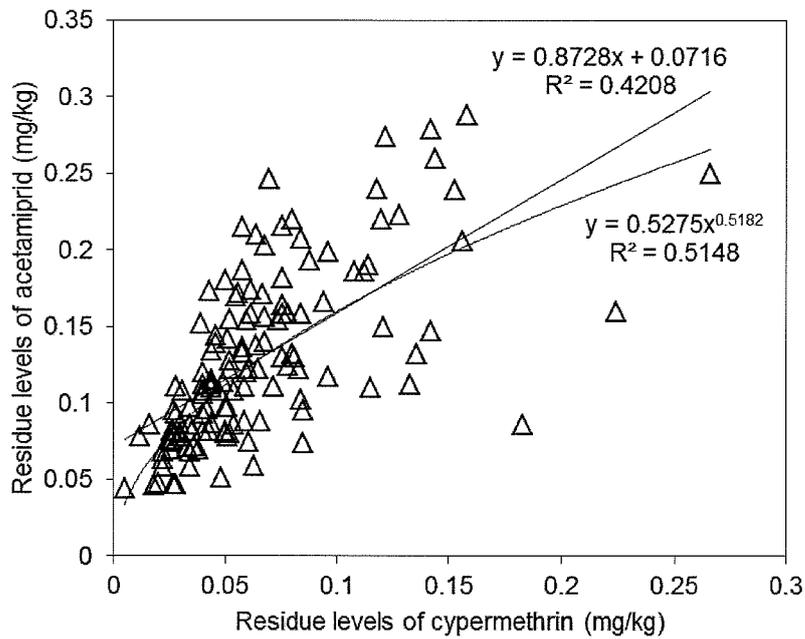


Fig. 2-13. A scatter plot summarizing the correlation between the individual residue levels of acetamiprid and cypermethrin in cabbage.

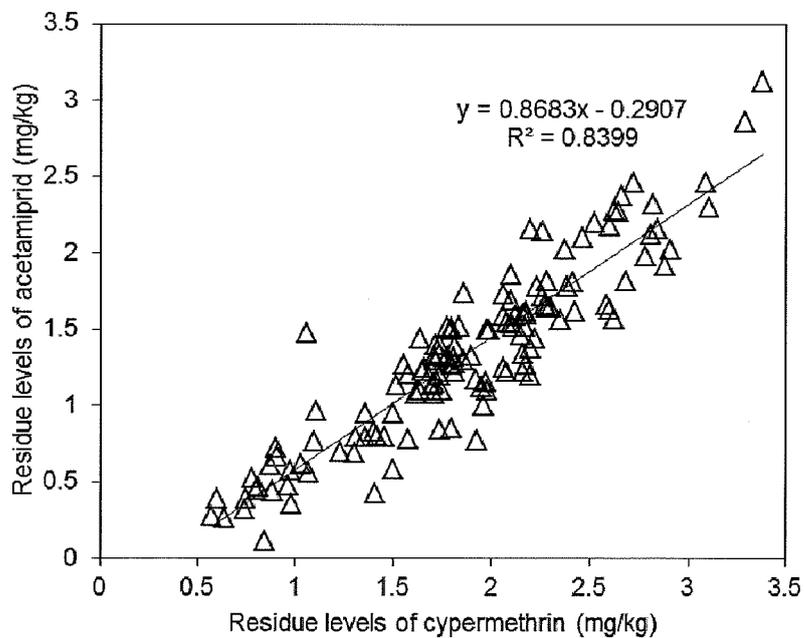


Fig. 2-14. A scatter plot summarizing the correlation between the individual residue levels of acetamiprid and cypermethrin in grapes.

第3章 「残留性に影響を及ぼす要因の解析」

第1節 第3章の緒言

第3章では、作物中の農薬残留値に影響を及ぼすいくつかの要因について検証する。これには、農薬の残留性そのものに影響を及ぼす要因と、主に供試試料の取り扱いに起因して、同じ試料についての分析値に影響を及ぼす要因が含まれる。本研究における、露地とグリーンハウス栽培での残留値の比較（結球レタスにおける検討）は前者要因の検証であり、異なる分析対象部位における残留値の比較（リンゴにおける検討）は後者要因の検証に分類できるだろう。しかしながら、これらの区別は厳密なものではない。例えば、分析部位による残留値の違いは、分析の観点からは対象部位の選択や供試試料の調製方法が影響を及ぼす要因となるが、試料自体においては個体内の農薬残留部位の偏在を示したものであり、残留性の特徴が要因と考えることができる。本研究では、供試試料量（ロットの代表とする試料重量／個数）、栽培方法（露地とグリーンハウス栽培の違い）、試験圃場（複数圃場間の差異）、供試試料の取り扱い方法（分析部位や試料縮分操作）の違いが、それぞれ残留値に及ぼす影響を調査し、作物への農薬残留性に影響を及ぼす要因の一端として捉え、検証することとした。

このうち、特に試験圃場と分析部位に関する検討は、農薬の登録や残留基準の国際調和を意図して近年実施された、日本における作物残留試験の試験例数の増強と分析部位の変更が、過去のデータとの整合性に及ぼす影響を考える上での手がかりとすることを想定している。

残留値の評価において、そのデータが内包している背景情報の把握は不可欠である。例えば、調査ロットを代表する数値が必要な場合は、供試試料数やその変動がどの程度であったのかが明らかでなければならない。そして、その評価においては適切な試料量に関する情報が必要である。また、ロット単位でなく、農薬製剤に関して全般的な残留傾向を表すことを目的とした数値であれば、同時に圃場の試験条件、地域的な環境条件等を解析する必要がある。適切な数の複数場所（複数条件）で試験を行う必要もあるだ

ろう。そして、これらの各種条件と残留性の関係についての情報があれば、評価の精度が高まる。更に、作物中における農薬の残留性は部位により異なる場合も多いことから、ある作物の残留値が提示された際には、分析に供した試料部位が明らかでなければならない。分析時の試料の扱い方によって、試料中残留農薬の偏在が分析値に影響を及ぼす可能性があるが、これについても適切な情報に基づき考慮することにより試験目的への適合性を判断できる。このように農薬の残留性に影響を及ぼす要因に関する情報は重要性が高く、実証的な知見が求められているが、不足しているのが現状である。本研究では、食品の安全性確保に貢献することを目指し、精度よく目的に合致した残留農薬分析を行うための基礎となるよう、残留性に影響を及ぼす要因についての検討を行った。

第2節－試料量が及ぼす影響

1.はじめに

第2章で確認したように、同一圃場、同一ロットの試料であっても、作物個体間における残留農薬の分布は均一ではなく、一定の変動幅を有する。その為、精度よく調査対象とする母集団を代表する残留分析値を得るためには、一定の試料量（試料数）を確保することが必要となる。しかしながら、実際の分析場面においてはそれが困難な場合も多く、そのような状況下で得られた分析値を解釈するために必要な科学的知見も少ないのが現状である。一方、試料量が多ければ問題が無いという訳でもなく、試料の前処理段階における作業効率の低下などによって、分析値の信頼性が低下する可能性もある。

残留農薬分析に供する試料量が、データの質に及ぼす多大な影響力は広く認知されており、慢性毒性評価に基づく作物毎の最大残留基準（MRL）を設定する為に行われる作物残留試験の場合、必要とされる試料量は作物毎に細かく規定されている^{10,21-24}。また、圃場や市場のモニタリング調査等でも、その目的において合理的な試料量が別途設定されている²⁵⁻²⁷。いずれにせよ、作物残留農薬に関する流通の規制は、一日摂取許容量（ADI）を基礎として全ての農薬に設定されたMRL（一律基準とされた場合も含む）により行われており、これがリスク管理の基本となっている。従って、作物の残留農薬検査においては、対象とするロットを代表する結果を得ることが目的となり、個体変動の抑制が重要である。

試料個体数（量）が増えるほど測定された農薬残留値の変動が小さくなることは予想できることであるが、試料量と残留値変動の関係、更に作物種との関係について、実残留データに基づき検証した例は少ない⁶。本検討では、第2章において得た、リンゴ、キャベツ、ブドウ、ピーマン及びブロッコリーの作物個体における残留量の変動に関するデータに基づき、試料量と残留値変動の関係を示し、作物における農薬残留濃度値の不確かさの推定を行った。それにより、作物個体単位または重量単位において、残留分析に適切な試料量を統計的に検証した。

2. 実験方法

2-1. データセットの作成

作物の農薬残留値に及ぼす試料量の影響を評価するため、試験圃場において農薬処理、栽培された 5 種作物のシペルメトリンまたはアセタミプリドの個体別残留量のデータを用いた。圃場試験及び残留分析の方法については第 2 章に示した。

2-2. 試料量の影響評価方法

各農作物の個体データ（重量と残留農薬濃度の組データ）に乱数を割付け、その番号に基づき、設定した試料数分（n=2, 4, 8, 16, 32, 64）のデータをランダムに選択し、平均残留濃度を算出した。この操作を母集団と同数（130, ピーマンのみ 141）となるよう繰り返した。算出値の相対標準偏差を各試料数における農薬残留値の不確かさ（変動）の指標として定義し、Uncertainty in Pesticide Residue Levels (UPRL) として表した。数値処理は各設定試料数において 5 回行い、その平均値を算出した。また、各試料数における総試料重量（平均個体試料重量×n）を試料量と仮定して、これと UPRL との相関性を解析した。乱数の発生も含めて、すべてのデータは Microsoft 社 Excel スプレッドシートを用いて計算した。

3. 結果及び考察

3-1. 個体毎重量と残留値

各作物に関する農薬処理情報、試料重量及び農薬残留値の概要を Table 3-2-1 にまとめた。各作物個体の重量は、ピーマンの 31 g からキャベツの 1330 g まで幅広い。各作物個体重量の度数分布を Fig.3-2-1 に示した。 χ^2 検定によると、5%有意水準でリンゴ（福島）、キャベツ、ブドウ及びブロッコリーについては正規性が認められたが、ヒストグラムにおいては判断が困難であった。ただし、全ての作物において中央値は平均値とほぼ一致した。

個体別残留値の相対標準偏差（RSD）は、最小でピーマンの 24.7%、最大でキャベツの 63.2%となった（Table 3-2-2, "Primary"の列）。リンゴ及びピーマンにおけるシペルメトリンの残留値とブロッコリーにおけるアセタミプリドの残留値の度数分布を Fig.3-2-2 に示した（キャベツ及びブドウについては第 2 章 Fig. 2-10, 2-11 参照）。残留値の分布は、 χ^2 検定による 5%有意水準の判断で、キャベツを除いて全て正規性が認められた。

Fig. 3-2-3 に、リンゴ、ピーマン及びブロッコリー個体重量と、それにおけるアセタミプリドまたはシペルメトリン残留濃度の関係を表すプロットを示した（キャベツ及びブドウについては第 2 章 Fig. 2-12 参照）。全作物について、個体毎の試料重量とその残留濃度との間に有意な相関性は認められなかった。

3-2. 農薬残留値の不確かさと試料重量

ブドウにおいて、試料個数を 1, 2, 4, 8, 16, 32 及び 64 とした場合の試料重量とシペルメトリン残留値を示す散布図を Fig.3-2-4 に示す。この散布図では、各試料量のブドウにおける農薬残留値の変動を視覚的に表している。

また、各設定試料個数における農薬残留値の不確かさ（UPRL）の算出値と、それに基づき求めた、試料重量との関係式を Table3-2-2 に示し、そのプロットを Fig.3-2-5 に示した。各作物における関係式の相関係数（ r^2 ）は 0.8667（キャベツにおけるシペルメトリン）以上であり良好な相関性を示した。この関係式によると、例えば農薬残留値の不確かさ（UPRL）を 20%以内とする為に必要な試料個体数は、2 個（ピーマンにおけるシペルメトリン）から 8 個（キャベツにおけるシペルメトリン）であることが示される。これには、本研究で得た作物個体間における農薬残留値の変動の大小がそのまま反映されている。従って、変動の小さいピーマンやリンゴの例では、わずかな試料個数でも不確かさが小さく、変動の大きいキャベツでは、不確かさの抑制にある程度の個数を要することが示されている。このように作物や農薬で違いはあるものの、いずれの場合でも不確かさは試料量の増加とともに指数関数的に減少することから、例えば、個体数 1 から

12 程度の範囲（一般的な残留分析で想定される個体数）で考えた場合、試料個体数をわずかに増やしただけでも精度は大幅に向上することが示された。逆に、それ以上の試料量になると、精度の面での改善の余地は少なくなり、実験室レベルでの試料のハンドリングが煩雑化することに起因した精度の悪化と拮抗してくる可能性が考えられる。

CODEX（コーデックス委員会、食品規格委員会）の MRL は、農薬が処理された作物複数個から構成された試料（ロットにおける平均）において、予想される最大残留量を想定して設定される²⁸⁾。OECD（経済協力開発機構）の圃場試験に関するテストガイドラインでは、作物毎に必要な試料量が規定されている²⁴⁾。この規定を先に示した関係式（Table3-2-2）に当てはめて試算した場合、農薬残留値の不確かさ（UPRL）は、最小がピーマン（24 個以上且つ 2 kg 以上）におけるシペルメトリンで 2.1%（2 kg）、最大がキャベツ（12 個）におけるシペルメトリンで 14.6%となる。このガイドラインでは、キャベツの場合を除き、試料個数を満たした上で試料重量を満たすことが求められている。本検討においては、ピーマンのみ、規定の試料個数（24 個）では規定の試料重量（2 kg）を満たすことができなかった。Table3-2-2 では、試料重量と個数による各 UPRL の試算値のうち、個数と重量の規定を双方とも満たす条件での数値を太字で示した。試算の結果から、規定の試料量において、効果的に変動が抑制されていることが確認できる。

以上は、試験圃場における調査を前提とした試料量に基づく検証であるが、一方、市場のモニタリング調査等では、広範囲な作物（加工品を含む）について多成分を対象とした調査を高頻度で行う必要があることから、試料量に関してはより柔軟な姿勢で実施されることが多い。FDA（米国食品医薬品局）の Guide and Field Actives によると、小～中サイズの作物では 1 kg 以上（同時に 10 個体以上であること）、大サイズでは 2 kg 以上の試料量が規定されている²⁵⁾。USDA（米国農務省）の 2009 年の Pesticide Data Program Annual Summary によると、試料量は一部の例外を除き 3 または 5 ポンド（1.36 または 2.27 kg）として調査を行ったことが報告されている²⁶⁾。日本において、兵庫県のモニタリング計画では、1 kg 以上（同時に 5 個体以上）であることとしている²⁷⁾。本研究にお

ける結果から、これらのモニタリングの試料量においては、先に述べた農薬登録時の条件に比較すると、農薬残留値の不確かさは明らかに増すことがわかる。しかし、コストや迅速性に対する配慮から、ある程度の精度の犠牲はやむを得ないと考えられるこのような調査においても、一定の精度は確保されていることが確認できた。

3-3. サンプルサイズと違反試料

各作物におけるアセタミプリド及びシペルメトリンの平均残留値は、食品衛生法により定められた MRL (2 mg/kg) を下回った。作物個体毎の残留値は、ブドウにおけるシペルメトリンの場合を除き、全て MRL を下回った。ブドウにおけるシペルメトリンの平均残留値は 1.87 mg/kg と MRL 値に近く、38%の個体については、MRL を超えていた (Fig.3-2-4, 左上のプロット参照)。アセタミプリドについては MRL の数値まで余裕があるが、ブドウについては両成分ともに本研究における他の作物と比べて高い残留値となった。このことには、第 2 章でも考察したように、果実が明瞭に露出し薬液が付着しやすい栽培形態であることや、施設 (雨除け) 栽培であること等、いくつかの複合的な要因によるものと考えられる。

Fig.3-2-6 に、各種の供試試料個体数においてブドウにおけるシペルメトリンの残留値が MRL を超える確率を示した (灰色の棒グラフ)。例えば、1 kg または 12 個体の試料量とした場合、31%または 24%の確率において MRL を超える結果となる。食品衛生法 (第 11 条第 3 項) によれば、残留値が MRL を超えた場合は市場流通が不可となる重い措置がとられる為、そのような場合には通常、結果の再確認 (再検査) が行われる。ブドウにおけるシペルメトリンの例で再検査を行った場合を想定し、同じ母集団から再度サンプルを得て分析した際、なおも MRL を超える残留値となる割合 (黒色の棒グラフ) は、試料量 1kg で 10%、12 個体で 6%と、かなり低減される。このことから、サブサンプルを用いた再検査が、より精度の良い残留値を求めるために有効であることが確認できる。

また、本検討で用いたデータセットは、あくまで試験圃場におけるデータであることに留意が必要である。EFSA（欧州食品安全機関）の報告によると、市場モニタリングでは、試験圃場の場合に比べてより大きな作物個体間の残留値変動が認められる⁷⁾。すなわち、市場モニタリングにおいては、残留農薬の検出値が基準を超えたとしても、それが試料ロットの代表値ではない（特異的な試料による「偽陽性」判定である）可能性が大きくなる。このような場面においてこそ、再検査手順の重要性も高いと言える。

4.まとめ

MRL の設定や、それによる規制においては、適切な試料量の確保が必要であることが実証データにより確認され、個体数であれば 10 前後を目標として可能な限り多くの試料を供することが望ましいが、無制限に増加させても精度の向上は期待できないことが示された。また、現行法において規定された試料量はロットを的確に代表しており、農薬残留値を求める為に適正であることが確認された。加えて、サブサンプルを用いた再検査の手順が、より精度良く代表値を求めるために有効であることが示された。本研究で求めた供試試料量と農薬残留値の不確かさの関係式により、少ない試料量に基づくデータが含む変動の推定を行い、より正確な残留量の評価につなげることも可能であると考えられる。但し、作物と農薬の組み合わせにおいて関係式は変化することから、検証事例を拡充し、各種作物及び農薬の特徴を把握した上で両者を併せて考察していく必要がある。

Table 3-2-1. Measured individual residue levels of pesticides, sample weights, and calculated variability factors.

Crop; Field in Japan (pesticide)	Number of applications × PHI ^a (dilution factor; application vol.)	Sample weight ^b , (min–max, median)	Results of <i>Chi-square</i> test ^c	Residue ^b , (min–max, median)	Results of <i>Chi-square</i> test ^c
Apple-I; Iwate (cypermethrin)	3 × 14-d (1000 times; 400 L/10 a)	425 ± 61.6 g (280–644, 426 g)	$\chi^2= 17.146$ (7) $P=0.0165$	0.21 ± 0.078 mg/kg (0.04–0.43, 0.21 mg/kg)	$\chi^2= 7.712$ (7) $P=0.3587$
Apple-F; Fukushima (cypermethrin)	3 × 14-d (1000 times; 500 L/10 a)	416 ± 71.2 g (245–608, 408 g)	$\chi^2= 10.715$ (7) $P=0.1515$	0.24 ± 0.081 mg/kg (0.04–0.46, 0.23 mg/kg)	$\chi^2= 9.582$ (7) $P=0.2135$
Cabbage; Ibaraki (acetamiprid)	5 × 7-d (1000 times; 213–292 L/10 a)	1330 ± 260 g (841–2032, 1308 g)	$\chi^2= 13.393$ (7) $P=0.0631$	0.129 ± 0.056 mg/kg (0.044–0.288, 0.116 mg/kg)	$\chi^2= 23.563$ (7) $P=0.0014$
Cabbage; Ibaraki (cypermethrin)	5 × 7-d (1000 times; 213–292 L/10 a)	same as above ^d		0.066 ± 0.042 mg/kg (<0.005 to 0.266, 0.056 mg/kg)	$\chi^2= 48.799$ (7) $P=0.0000$
Grape; Yamanashi (acetamiprid)	3 × 14-d (2000 times; 300 L/10 a)	155 ± 12.5 g (129–180, 155 g)	$\chi^2= 10.120$ (7) $P=0.1819$	1.34 ± 0.578 mg/kg (0.114–3.12, 1.33 mg/kg)	$\chi^2= 9.823$ (7) $P=0.1988$
Grape; Yamanashi (cypermethrin)	5 × 7-d (1000 times; 300 L/10 a)	same as above ^d		1.87 ± 0.578 mg/kg (0.574–3.38, 1.86 mg/kg)	$\chi^2= 9.022$ (7) $P=0.2511$
Sweet pepper; Kochi (cypermethrin)	2 × 1-d (2000 times; 250 L/10 a)	31 ± 2.6 g (27–39, 31 g)	$\chi^2= 15.016$ (7) $P=0.0358$	0.55 ± 0.135 mg/kg (0.22–0.85, 0.54 mg/kg)	$\chi^2= 11.618$ (7) $P=0.1138$
Broccoli; Ibaraki (acetamiprid)	3 × 14-d (2000 times; 250 L/10 a)	523 ± 93.3 g (301–786, 519 g)	$\chi^2= 9.372$ (7) $P=0.2270$	0.039 ± 0.013 mg/kg (0.007–0.071, 0.038 mg/kg)	$\chi^2= 8.103$ (7) $P=0.3236$

^a Number of applications × PHI: days after final application (dilution factors of the formulations; application volumes). ^b Data are presented as mean values (± standard deviations). Minimum–maximum values are indicated in parentheses. ^c Degrees of freedom are expressed into the parentheses. ^d The two pesticides were applied on cabbage and grape samples using a tank-mix application technique.

Table 3-2-2. Estimated residue variations based on the sampling size of analyzed samples.

Crop (pesticide)	Numbers used for the calculation							Derived equation	UPRL at the regulatory sampling size ^c	
	Primary ^a	<i>n</i> = 2 ^b	<i>n</i> = 4 ^b	<i>n</i> = 8 ^b	<i>n</i> = 16 ^b	<i>n</i> = 32 ^b	<i>n</i> = 64 ^b			
Apple-I (cypermethrin)	36.8% 0.425 kg	25.7% 0.849 kg	18.4% 1.70 kg	12.1% 3.40 kg	7.5% 6.79 kg	4.5% 13.6 kg	2.3% 27.2 kg	$y = 25.166x^{-0.681}$ $\gamma^2 = 0.9721$	15.7% (2 kg)	8.3% (12 plants)
Apple-F (cypermethrin)	34.1% 0.416 kg	25.2% 0.832 kg	18.2% 1.66 kg	12.1% 3.33 kg	7.6% 6.66 kg	4.2% 13.3 kg	2.3% 26.6 kg	$y = 24.65x^{-0.704}$ $\gamma^2 = 0.9096$	15.1% (2 kg)	7.9% (12 plants)
Broccoli (acetamiprid)	32.9% 0.52 kg	22.7% 1.04 kg	15.8% 2.09 kg	10.8% 4.18 kg	7.8% 8.36 kg	5.5% 16.7 kg	2.2% 33.4 kg	$y = 25.113x^{-0.618}$ $\gamma^2 = 0.9424$	25.1% (1 kg)	8.1% (12 plants)
Cabbage (acetamiprid)	43.4% 1.33 kg	30.4% 2.66 kg	20.9% 5.32 kg	14.0% 10.6 kg	9.7% 21.3 kg	5.8% 42.6 kg	2.0% 85.1 kg	$y = 71.925x^{-0.741}$ $\gamma^2 = 0.895$	—	9.2% (12 plants)
Cabbage (cypermethrin)	63.2% same as above	43.2% above	31.0% above	21.7% above	15.3% above	10.4% above	3.4% above	$y = 97.597x^{-0.687}$ $\gamma^2 = 0.8667$	—	14.6% (12 plants)
Grape (acetamiprid)	43.3% 0.15 kg	30.9% 0.31 kg	22.0% 0.62 kg	15.7% 1.24 kg	11.0% 2.47 kg	7.4% 4.95 kg	2.5% 9.90 kg	$y = 16.033x^{-0.678}$ $\gamma^2 = 0.8713$	16.0% (1 kg)	10.5% (12 bunches)
Grape (cypermethrin)	32.6% same as above	22.9% above	16.0% above	10.7% above	7.3% above	4.8% above	1.7% above	$y = 11.356x^{-0.696}$ $\gamma^2 = 0.9116$	11.4% (1 kg)	7.4% (12 bunches)
Sweet pepper (cypermethrin)	24.7% 0.031 kg	17.5% 0.062 kg	12.6% 0.124 kg	8.9% 0.248 kg	5.8% 0.496 kg	3.4% 0.993 kg	1.9% 1.99 kg	$y = 3.2663x^{-0.635}$ $\gamma^2 = 0.9387$	2.1% (2 kg)	3.9% (24 plants)

^a Relative standard deviations (RSDs) from 130 individual measurement values in primary units are expressed above, and their corresponding mean sample weights are expressed below. ^b RSD values calculated from the mean number (*n*) of randomly selected samples are expressed above, and their corresponding overall mean sample weights are expressed below. ^c The uncertainty in pesticide residue level (UPRL) at the regulatory sample weights and numbers listed in the left and right columns, respectively, and the lower values are expressed in boldface. The regulatory sampling size for each commodity according to the OECD Test Guideline No. 509 (19) is expressed in parenthesis.

6. 

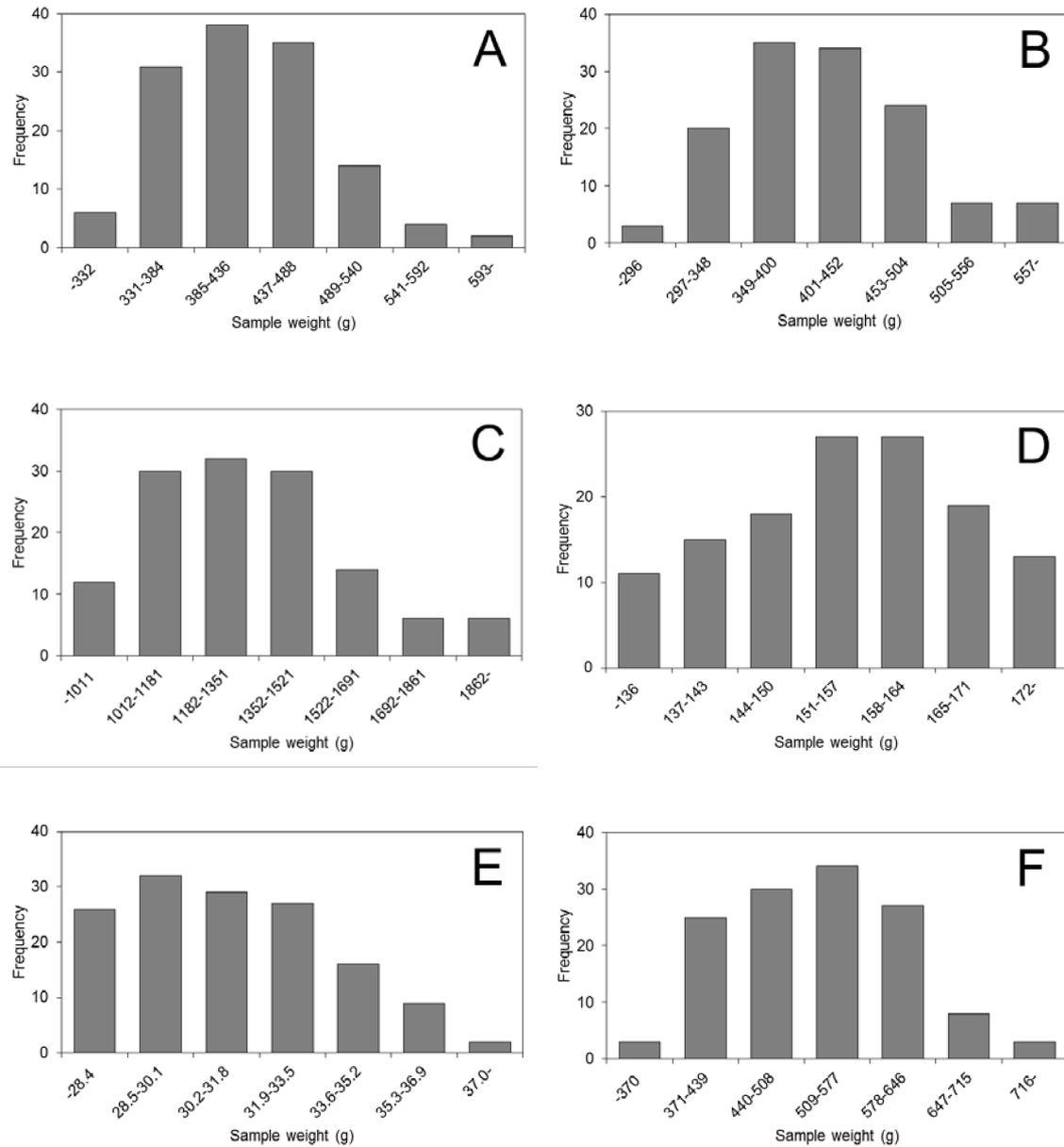


Fig. 3-2-1. Representative frequency distributions of the sample weights of Iwate-apples (A), Fukushima-apples (B), grapes (C), cabbage (D), sweet peppers (E) and broccoli (F).

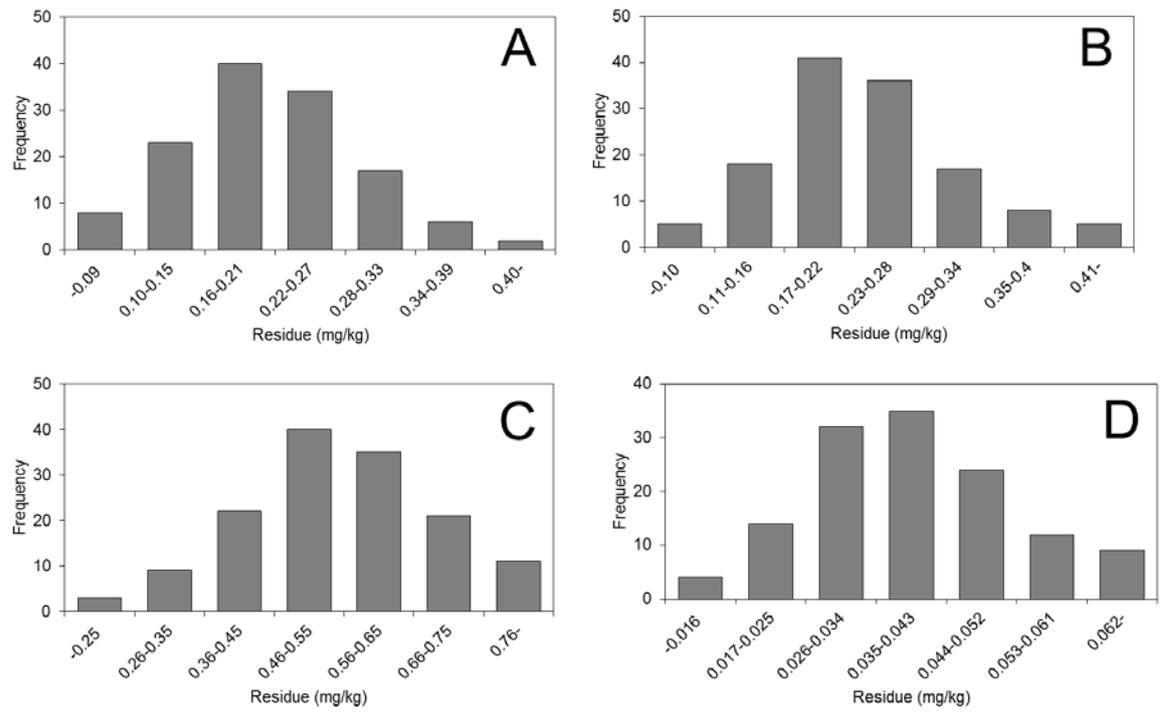


Fig. 3-2-2. Representative frequency distributions of cypermethrin residues in Iwate-apples (A), Fukushima-apples(B), sweet peppers (C) and acetamiprid residues in broccoli (D).

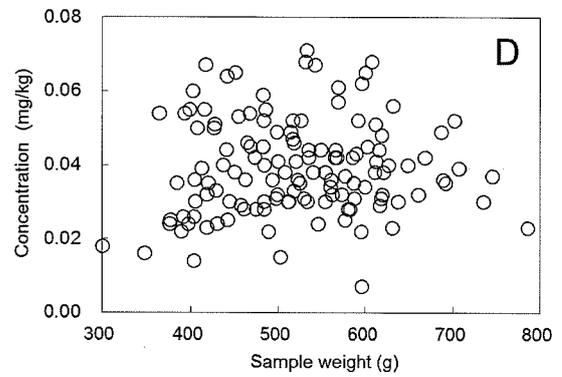
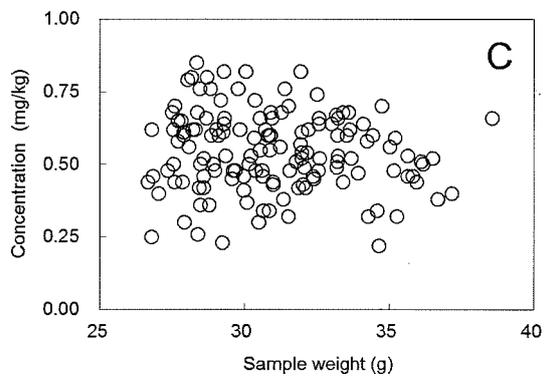
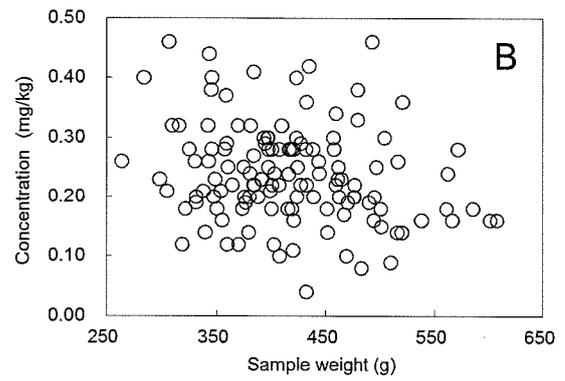
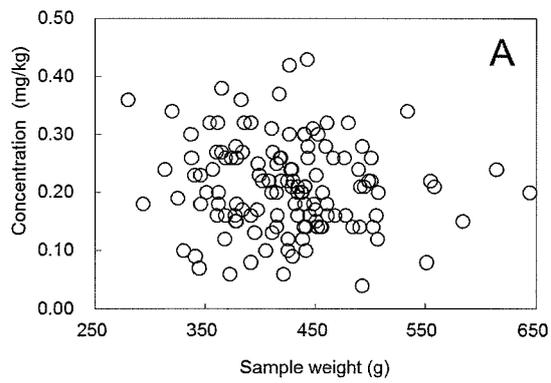


Fig. 3-2-3. Scatter plots of sample weight versus pesticide residues in crops.

- (A) cypermethrin in Iwate-apples, (B) cypermethrin in Fukushima-apples,
- (C) cypermethrin in sweet peppers, (D) acetamiprid in broccoli.

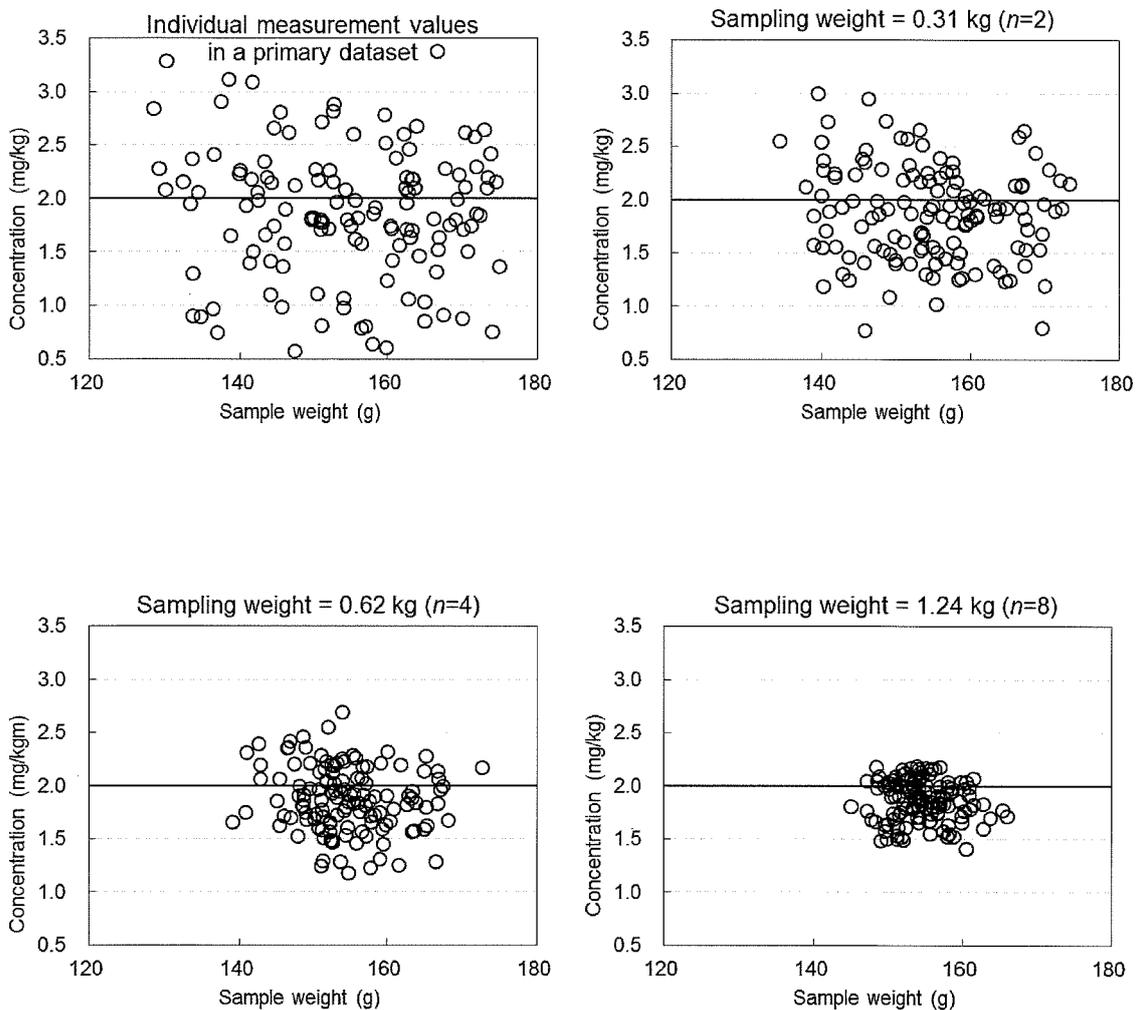


Fig. 3-2-4. Scatter plot of sample weight versus cypermethrin residue in grapes. The central line presents the MRL at 2 mg/kg in accordance with the Japanese Food Sanitation Law.

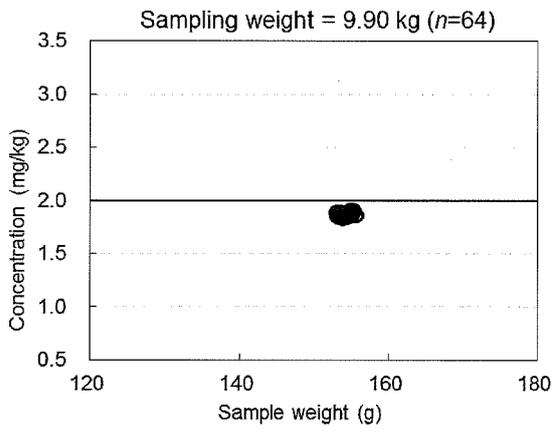
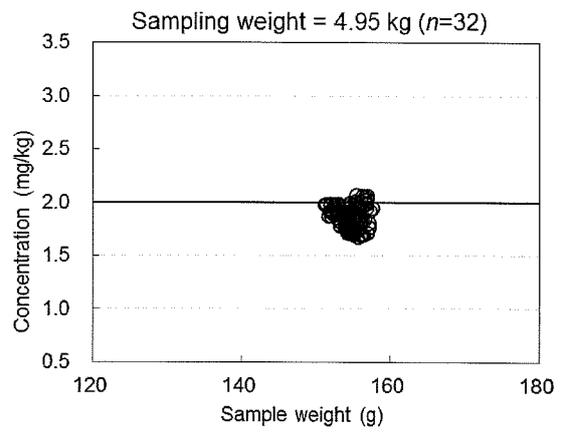
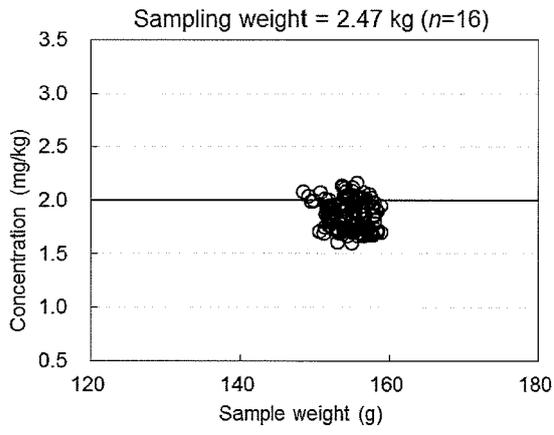


Fig. 3-2-4. Continued

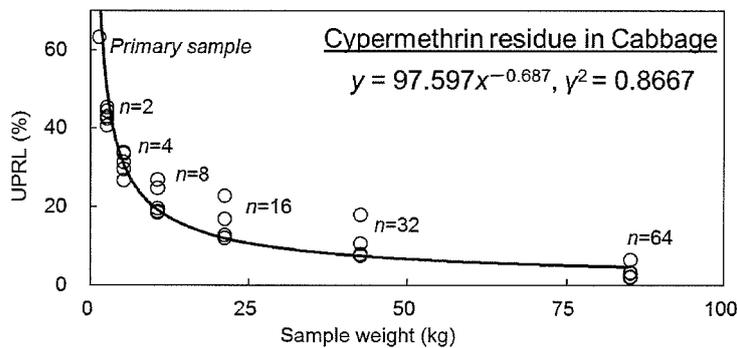
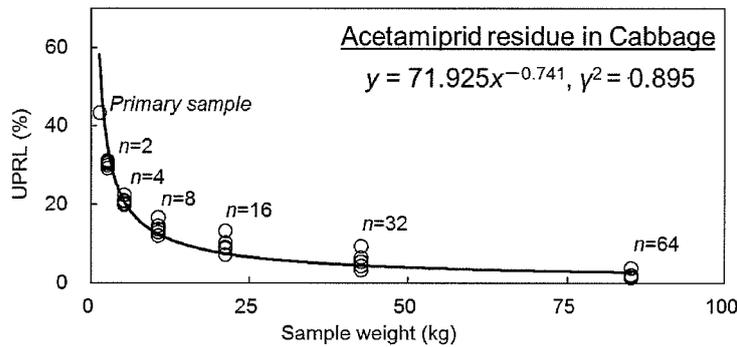
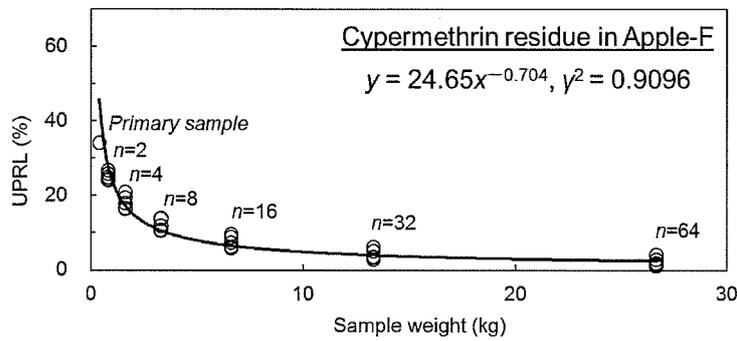
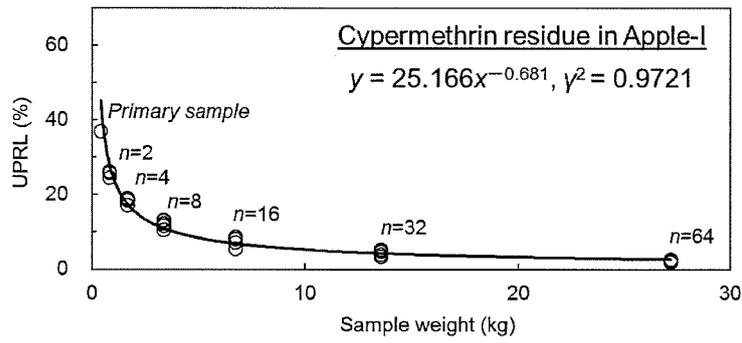


Fig. 3-2-5. Plots of the uncertainty in pesticide residue levels (UPRL) of acetamiprid and cypermethrin from 5 calculations vs. the corresponding weights of the pre-harvested apple, cabbage, grape, sweet pepper and broccoli samples. These graphs illustrate Table 3-3-2 graphically.

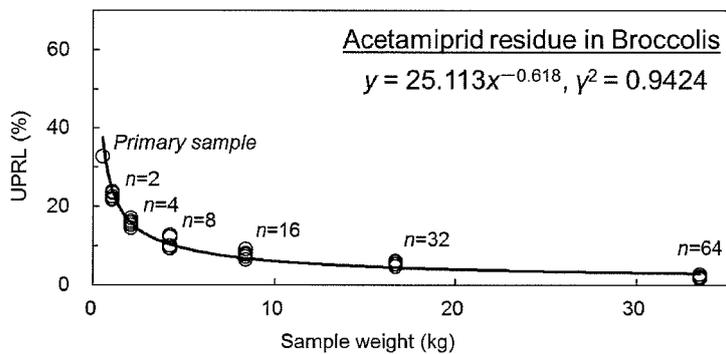
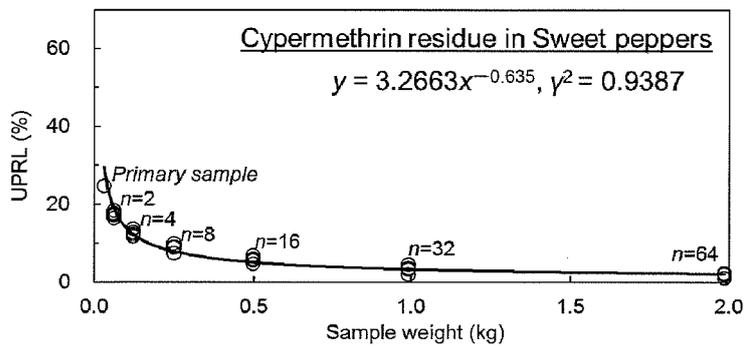
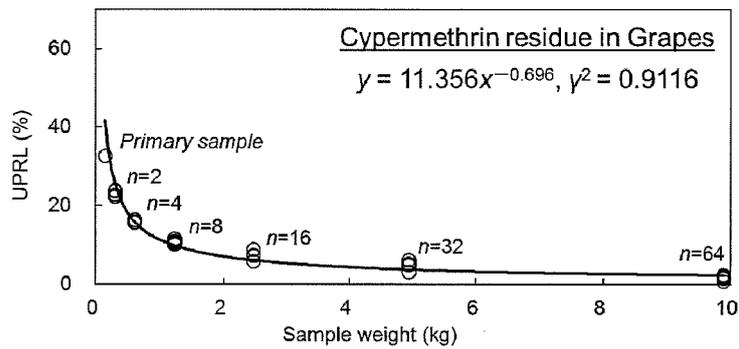
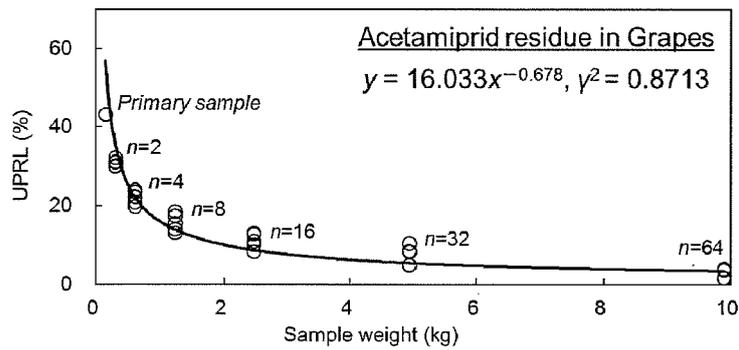


Fig. 3-2-5. Continued

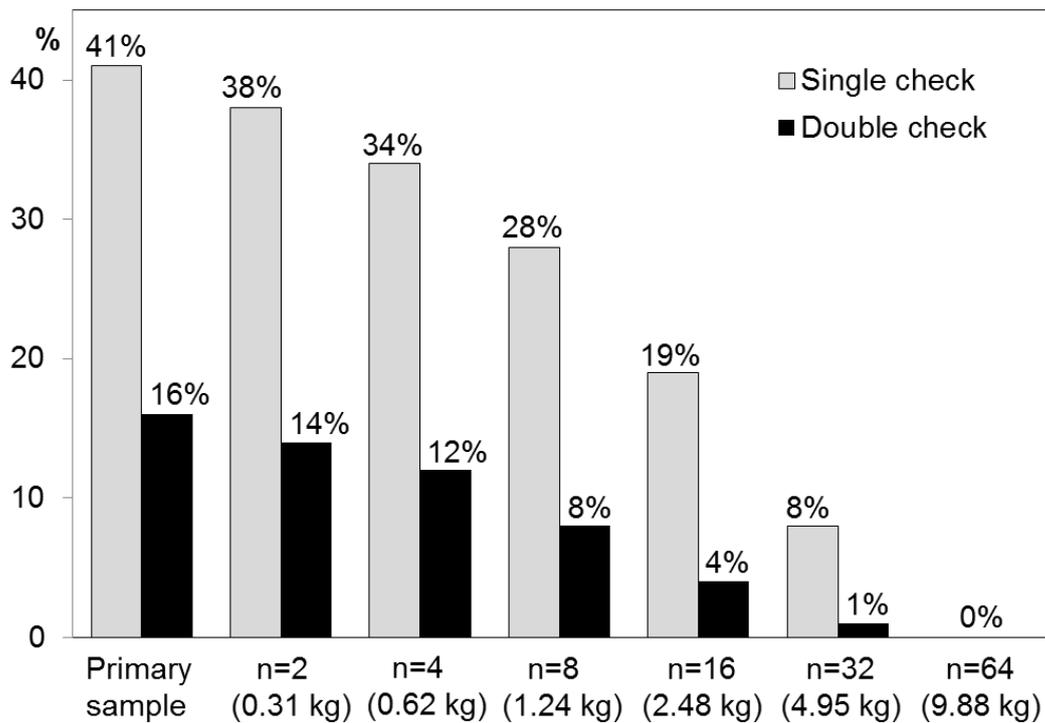


Fig. 3-2-6. Predicted percentages exceeding the MRL for cypermethrin residues in grapes based on the sampling size. The mean cypermethrin residue value in grapes was 1.87 mg/kg, and the MRL was 2 mg/kg. The gray bars show percentages of which exceeded the MRL at various sampling sizes with first trials (Single-check). The black bars show percentages of which still exceeded the MRL by the procedure of repeat sampling from the same data set (Double-check).

第3節 一 栽培条件が及ぼす影響

1. はじめに

施設（グリーンハウス）栽培は、作物を屋外環境から隔離することにより、生育を管理し、季節に関わらず新鮮な野菜を供給することを可能とする。それと同時に、降雨による農薬の洗い落としや²⁹⁾、日光による分解を防ぐ為³⁰⁾、残留農薬量の減少が抑制される。このような農薬消失の抑制作用はこれまでに多く報告されてきたが、各種試験条件における断片的な情報に留まっており、農薬を複数剤処理して比較した検討例も少ない²⁹⁻³⁴⁾。農薬の処理から収穫までの期間や物理化学的性質の影響のような、一般的な農作において考えられる各種の要素との関係についての検証は不十分である。

第2章で述べたキャベツとブドウに関する検討では、栽培条件が農薬の残留性に影響を及ぼすことが示唆された³⁵⁾。作物個体におけるシペルメトリン及びアセタミプリドの残留濃度の相関性が、ブドウでは良好であったのに対し、キャベツでは不良であった。これは、農薬の物理化学的性質と、作物としてのキャベツの特徴（外葉を取り除いて収穫物とする）に加えて、キャベツが露地栽培であったことに対しブドウが雨除け施設栽培であったことが影響を及ぼしたものと推察した。また、著者らが行った、ハウレンソウ及びハクサイを複数年次、複数圃場において栽培し、圃場間の変動を調査した検討³⁶⁾では、6ヶ所のグリーンハウスにおいて1年ずつ2回栽培したハウレンソウについては、圃場毎に同様な農薬残留傾向を示したが、露地栽培のハクサイではそのような傾向は認められなかった。これにも、栽培条件が影響を及ぼしている可能性が考えられる。

しかしながら、これらの検討は、栽培条件と農薬の残留性に直接焦点を当てて設計した試験ではないため、このことに関して十分な解析はできない。

そこで本研究では、6ヶ所の試験圃場にて結球レタスの露地及びグリーンハウス栽培を行い、3時点での残留農薬濃度を調査することにより、栽培条件が農薬の残留性に及ぼす影響を検討した。結球レタスは、日本においてグリーンハウスまたはトンネル栽培される作物の中でも代表的な野菜のひとつである。作物残留試験のガイドラインでも、結球

レタスについては施設栽培で試験を行うことが基本とされている¹⁰⁾。実際には、ガラスまたはビニルハウスの日本における普及率調査によると、各種レタスのおよそ四分の一がトンネルを含むこれら施設で栽培されている³⁷⁾。このようなことから、結球レタスは各栽培条件の比較検討に好適な作物であると考えた。

供試農薬には物理化学的性質が大きく異なる 4 剤を用いた。ジノテフランは比較的低い logPow (−0.549)、高い水溶解度 (39.8 g/L) を持つネオニコチノイド系の殺虫剤である¹¹⁾。ペルメトリンは比較的高い logPow (6.1)、低い水溶解度 (6 µg/L) を持つピレスロイド系殺虫剤である。アセタミプリドとアゾキシストロビンはそれらに比べて中間的な logPow (それぞれ 0.80 及び 2.5) と、水溶解性 (それぞれ 4250 及び 6 mg/L) を持つ殺虫剤と殺菌剤である¹¹⁾。このうち、ジノテフランは植穴処理剤とし、他の茎葉散布剤と比較することにより農薬剤型の影響を検討した。

2. 実験方法

2-1. 実験方法の概要

茨城、群馬、長野、三重、高知及び宮崎の 6 圃場の露地及びグリーンハウスにおいて栽培した結球レタスに、茎葉散布処理剤 3 種 (アセタミプリド、アゾキシストロビン及びペルメトリン) 及び植穴土壌混和処理剤 1 種 (ジノテフラン) を処理し、農薬の最終処理から収穫までの日数 (PHI) を 3 時点 (散布剤の最終処理 1, 3 及び 7 日後) 設定して収穫した試料について残留分析を行った。

2-2. 圃場試験

農林水産省テストガイドライン¹⁰⁾に基づき日本の慣行農法において国内 6 圃場で実験を行った。ジノテフランはスタークル粒剤 (1% a.i., 北興化学工業) 3 g を定植時に植穴土壌混和処理した。アセタミプリド、アゾキシストロビンとペルメトリンの製剤として、それぞれモスピラン水溶剤 (20% a.i., 日本曹達)、アミスター20 フロアブル (20% a.i.,

シンジェンタジャパン), アディオン乳剤 (20% a.i., 住友化学) を用い, タンクミックスで調製し, コーンノズルを装着したバッテリー動力噴霧器 (丸山 MSB111 他) で散布した。希釈率は 1:1000 または 1:2000 で, 200 L/10 a の液量において約 7 日間隔で 3 回の散布処理を行った。最終散布から 7 日間のうちに 3 回サンプリングして残留濃度の消長を観察する設定とした。試料は散布剤の最終処理の後, 1, 3 及び 7 日後に採取し, スタークル (ジノテフラン) の処理後経過日数 (PHI) は, 最短 48, 50 及び 54 日 (高知) から, 最長 70, 72 及び 76 日 (三重) となった。各圃場試料は, 各サンプリングにつき, 無作為に採取した 5~10 個体の葉球とした。採取後の試料は冷蔵宅配便により分析場所まで輸送した。圃場の情報を Table 3-3-1 にまとめた。

2-3. 試料調製 (前処理)

試料重量を計測後, 芯と変質葉, 枯れた葉を除去した。各個体は縦に 4 または 8 分割し, 各個体分の対角の 2 片を取り合わせて集め, 均一化用の試料とした。グリーンハウス栽培したもの (2010 年実施分) については, 別の 2 片 (先に取った 2 片から 90 度回転した位置の 2 片) を取り合わせたもうひとつの試料を作製し, それぞれ分析することにより試料縮分操作の影響評価を行った (本章第 5 節)。そのため, 栽培条件の影響評価では, 各縮分試料の分析値の総平均値を用いた。取り合わせた試料は細切して約 800 g とし, 20°C 設定の冷凍室で保管した。これを分析時にミキサー (BLIXER-5Plus, RoboCoupe 製) で均一化した。

2-4. 分析法

2-4-1. 試薬及び機器

アセタミプリド, アゾキシストロビン ((E)-2-{2-[6-(2-cyanophenoxy)pyrimidin-4-yl]oxy}phenyl}-3-methoxyacrylate), ジノテフラン ((RS)-1-methyl-2-nitro-3-(tetrahydro-3-furylmethyl)guanidine) 及びペルメトリン (3-phenoxybenzyl(1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-)

dichlorovinyl)-2,2-dimethyl cyclopropanecarboxylate) の各分析用標準品は林純薬工業または和光純薬工業より入手した。残留農薬試験用のアセトン, アセトニトリル及びメタノール, HPLC 用のテトラヒドロフラン, LC-MS 用のメタノール, 特級のギ酸アンモニウムは和光純薬工業製を用いた。水はミリ Q システム (ミリポア製) による精製水を用いた。抽出液のろ別にはセルロースろ紙 (No.704, 日本理化学機械製) を用いた。精製用の固相抽出カラムとして, C18 ミニカラム (InertSep C18-C, 1 g, ジーエルサイエンス製) またはスチレンジビニルベンゼン (SDB) ミニカラム (InertSep PLS-2, 0.5 g, ジーエルサイエンス製) を用いた。測定には Agilent 製の 1200 液体クロマトグラフ/6410 トリプル四重極質量分析計 LC-MS/MS システムを用いた。

各農薬の標準溶液 (200 mg/L) はそれぞれアセトン又はアセトニトリルで調製した。その一部をとり, アセトニトリル/水 (8:2, v/v) 混液で希釈して 0.05~2 µg/L の検量線作製の標準溶液を調製した。

2-4-2. 抽出

均一化した試料の 20 g を三角フラスコに量りとり, アセトニトリル 100 ml を加えて 30 分間振とうした。これをセルロースろ紙を敷いた桐山ロートで吸引ろ過し, 残渣を 50 ml のアセトニトリルで洗い同様にろ過してろ液を合わせ, アセトニトリルで 200 ml に定容した。

2-4-3. 精製

a). アセタミプリド, アゾキシストロビン及びペルメトリン

抽出液 2 ml (試料 0.2 g 相当) に水 8 ml を加え, 予めアセトニトリル及び水で前処理した C18 ミニカラムに負荷した。アセトニトリル/水 (6:4, v/v) 混液 10 ml を流下して溶出液を取った (アセタミプリド及びアゾキシストロビン画分)。次にカラムを 1 分間吸引して乾燥し, テトラヒドロフラン 10 ml を流下して溶出液を取った (ペルメトリン画分)。

アセタミプリド及びアゾキシストロビン画分はアセトニトリル／水（6:4, v/v）混液で適量（20～1000 ml）に定容した。ペルメトリン画分は減圧濃縮して窒素気流下で溶媒を留去し、適量（20～1000 ml）のアセトニトリルに溶解した。各検液の 5 µl を LC-MS/MS に注入し、検量線より試料中の各残留濃度を算出した（定量限界各 0.01 mg/kg）。

b). ジノテフラン

抽出液 2 ml（試料 0.2 g 相当）に水 1 ml を加え、減圧濃縮してアセトニトリルを留去した。これに水 5 ml を加え、予めメタノール及び水で前処理した SDB ミニカラムに負荷した。次いでメタノール／水（6:4, v/v）混液 10 ml を流下して溶出液を取った。これを水で適量（20～1000 ml）に定容し、その 5 µl を LC-MS/MS に注入し、検量線より試料中の残留濃度を算出した（定量限界 0.01 mg/kg）。

2-4-4. LC-MS/MS 測定

a). アセタミプリド、アゾキシストロビン及びペルメトリン

LC 操作条件：カラム Atlantis dC18（2.1mm i.d.×150mm，粒径 5µm，Waters 製）。移動相 メタノールと 5mmol/l ギ酸アンモニウム溶液をアイソクラティックモードで送液（アセタミプリドは 6:4，アゾキシストロビン，ペルメトリンは 9:1，v/v）。流速 0.2 ml/分。カラム温度 40℃。保持時間 アセタミプリド; 3.1 分，アゾキシストロビン; 9.5 分，ペルメトリン; 5.5 及び 6.5 分（2 ピーク）。

MS/MS 操作条件：イオン化法 エレクトロスプレーイオン化法（ESI），正イオンモード。乾燥ガス温度 350℃。乾燥ガス流量 11 L/分。ネブライザ圧力 35 psi。イオン導入電圧 4000V。フラグメンタ電圧 100 V。コリジョン電圧 アセタミプリド 20V，アゾキシストロビン 10V，ペルメトリン 15V（以下同順，コリジョンガスは窒素）。イオン検出法 MRM 法。モニタリングイオン プリカーサーイオン m/z 223.0（[M+H]⁺），404.1（[M+H]⁺），408.1（[M+NH₄]⁺），プロダクトイオン m/z 126.0，372.1，183.1。

代表的なクロマトグラムを Fig. 3-3-1～3-3-3 に示した。

b). ジノテフラン

LC 操作条件：カラム Atlantis dC18 (2.1mm i.d.×150mm, 粒径 5 μ m)。移動相 メタノールと 5mmol/l ギ酸アンモニウム溶液をグラジエントモード（初期条件 10%メタノールから 6分で 95%まで引き上げ）で送液。流速 0.2ml/分。カラム温度 40 $^{\circ}$ C。保持時間 5.0分。

MS/MS 操作条件：イオン化法 エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)，正イオンモード。乾燥ガス流量 11 L/分。ネブライザ圧力 35 psi。イオン導入電圧 4000V。フラグメンタ電圧 50 V。コリジョン電圧 5V (N₂)。イオン検出法 MRM 法。モニタリングイオンプリカーサーイオン m/z 203.1 ([M+H]⁺)，プロダクトイオン m/z 129.1。

代表的なクロマトグラムを Fig. 3-3-4 に示した。

2-5. 分析法の妥当性

各分析対象成分について、それぞれの残留分析法が厚生労働省より通知されている¹³⁾。アゾキシストロビンの通知試験法は、アセトンで抽出し、C18ミニカラムで精製した後、酢酸エチルとヘキサンの混液に転溶し、フロリジル及びシリカゲルの各クロマトグラフィーで順次精製して、高速液体クロマトグラフ（紫外分光光度型検出器）で定量する方法である。ジノテフランの通知試験法は、アセトニトリルで抽出し、多孔性ケイソウ土カラム、グラファイトカーボンミニカラム及び中性アルミナミニカラムで精製した後、高速液体クロマトグラフ（紫外分光光度型検出器）で定量する方法である。アセタミプリドの通知試験法は第2章で述べた。また、ペルメトリンの通知試験法も、第2章で述べたシペルメトリンの試験法と共通である。これらの単成分毎に設定された方法においては、本検討の分析対象物質を効率的に分析することが困難であるため、固相抽出カラムにより精製し、LC-MS/MSを用いて定量する簡便な方法を検討し、その妥当性（回収率、精度及び選択性）について確認した。その際、抽出溶媒については通知試験法に従い、

アセトニトリルによる抽出が指定されているジノテフランのみ独立して分析することとし、アセトン抽出の3物質は同時抽出、同時精製する方法とした。3物質の精製工程においては、極性の低いペルメトリンと他2物質（アセタミプリド及びアゾキシストロビン）を分画し、それぞれの検液を作製した。

分析法の妥当性は、均一化した各圃場の無処理試料に4成分の標準溶液を添加し、各36連（6連×6圃場）で分析して求めた回収率及び精度と、各無処理試料を各2連で分析して選択性を確認することにより検証した。添加濃度は、定量限界相当、0.25 mg/kg及び5 mg/kgとした。各成分における添加回収率をTable 3-3-2にまとめた。添加36試料の平均回収率は90～101%、それらの相対標準偏差（RSD）は9.7%以下であった。各無処理試料の分析結果は、全て定量限界未満であり、クロマトグラム上の分析対象物質保持時間付近に妨害ピーク等は認められなかった。回収率は各添加濃度の平均回収率が70～120%の範囲内であること、精度はその相対標準偏差が15%以下であること、選択性は、分析対象の測定に影響を及ぼす夾雑物のピーク等が認められないことを指標とし、測定結果は全てこれを満たしたことから、分析法について妥当性が確認された。

分析期間中の精度の維持を、20試料当たり1点ずつの無処理試料と添加回収試料（QC:0.1 mg/kgの添加試料）の分析により確認した。その結果、添加回収試料の回収率は84～104%であり、無処理試料において各分析対象物質の測定上問題となる夾雑物ピーク等は認められなかった（Table 3-3-2参照）。回収率が70～120%の範囲内であることと、無処理試料において分析対象の測定に影響を及ぼす夾雑物のピーク等が認められないことを基準とし、結果は全てこれを満たしたことから、分析実施期間中、その精度が維持されたことが確認された。

凍結試料中の各分析対象物質の安定性について確認するため、20 gの均一化試料を三角フラスコに量りとり、各分析対象物質の0.25 mg/kg相当を添加し、 -20°C で34～97日間保管した。これを分析した結果、回収率は86～104%であった（Table 3-3-2参照）。回収率が70%以上であることを基準とし、結果は全てこれを満たしたことから、試験に影響を及

ばす分析対象物質の保存中の消失はなかったことが確認された。

3. 結果及び考察

3-1. 残留分析結果の概要

各農薬、各圃場について、露地とグリーンハウスにおける結球レタスの残留値をFig. 3-3-5に示した。また、露地とグリーンハウスにおける6圃場の各農薬のデータセットを集計してTable 3-3-3に示した。農薬残留濃度の総平均値は、最低でジノテフラン（露地の全てのPHI）の0.05 mg/kg、最高でアセタミプリド（グリーンハウスのPHI-1d）の2.04 mg/kgであった。各農薬の総平均残留濃度は、各中央値と近似していた。

圃場間における残留値の相対標準偏差（RSD）は、最小でアセタミプリド（グリーンハウスのPHI-3d）の44%、最大でアゾキシストロビン（露地のPHI-1d）の98%であった。露地におけるアゾキシストロビンの最高残留値は、最低値の119倍（三重の0.02 mg/kgから高知の2.38 mg/kg、いずれもPHI-1d）であり、これが同じ栽培条件下における残留値の、最大の圃場間（field-to-field）変動幅であった。

試料の栽培条件、試料重量、気温（同期間の平均気温）及び降雨量（初回の農薬処理から最終収穫までの総雨量）を Table 3-3-1 に示した。また、Fig. 3-3-6～10 に、試料重量、気温及び各圃場の降雨量と、各農薬残留濃度の関係を示した。結球レタスは各試験圃場に適した品種を栽培し（4 品種に分かれた）、個体の平均重量は、最小で高知の 320 g、最大で宮崎の 1051 g（いずれも露地試料）であった。収穫期間の 7 日間においては、作物の肥大成長は認められなかった。農薬の初回処理日から最終試料収穫日までの平均気温は、最低が茨城の 12.4℃、最高が群馬の 23.2℃（いずれもグリーンハウス）であった。農薬の初回処理日から最終試料の収穫日までの降雨量は、最少で長野の 147 mm、最大で三重の 616 mm であった。これらの圃場毎の環境条件の差異は日本における一般的な地域や圃場間の差を示していると言える。このうち降雨量について、三重及び宮崎では 600 mL 以上と比較的多く、また、これら 2 試験圃場では露地栽培における残留値はグリーン

ハウス栽培の場合よりも総じて低い結果となっている（三重 PHI 3-d のペルメトリンを除く，Fig. 3-3-5 参照）。降雨による付着農薬の洗い落とし等による影響も考えられるが，本検討結果のみをもって結論付けることはできないと判断した。その他，本検討においては圃場毎の気象や重量等の条件と残留農薬レベルについての相関性は見いだせなかった。

圃場間の差については，本章第4節で改めて検証する。

3-2. 栽培条件が農薬の残留性に及ぼす影響

本節の最初で述べた通り，グリーンハウスは降雨による農薬の洗い落としや太陽光線による光分解を抑制することが予想されるため^{29,30}，グリーンハウスにおける栽培では農薬の残留性が高まることを予想した。Stensvand と Christiansen³²は，ノルウェー国内のグリーンハウスで栽培したイチゴにおける農薬の残留について，その特性を報告している。ここでは 8 種の殺菌剤について露地栽培を想定した推奨量を散布処理した結果，いくつかの農薬がグリーンハウス栽培で EU の定める最大残留基準（MRL）を超過し，上述の消失抑制効果が認められている。

一方，本研究の検討結果においては，露地，グリーンハウスを問わず全ての農薬について日本の食品衛生法が定める MRL（アセタミプリド，アゾキシストロビン，ジノテフラン及びペルメトリンについてそれぞれ 5, 30, 25 及び 3 mg/kg）を下回った（Table 3-3-3）³⁸。また，6 圃場分の残留値を PHI 毎にまとめ，露地とグリーンハウスにおける残留値の差異を統計処理により比較した結果，アセタミプリド，アゾキシストロビン及びペルメトリンについては，残留性に有意な差異は認められなかった（Mann-Whitney の *U* 検定において $p>0.05$ ，Table 3-3-4）。これら 3 剤はいずれも茎葉散布処理を行った農薬である。それに対して，植穴土壌混和処理を行ったジノテフランについては，Fig. 3-3-5 においても確認できる通り，高知の 1 試料のみを例外としてグリーンハウス試料が高濃度残留し，露地とグリーンハウス栽培の間に有意な違いが認められた（ $p=0.000$ ，Table 3-3-

4) 。ジノテフランは水溶性が高いことから、グリーンハウスによる降水の制御が農薬の流失を抑制し、作物への取り込みを促進したことと同時に、施用方法の特性として PHI が長かったため、その効果が顕在化したものと考えられる。

このように、本検討結果においては、水溶性の高いジノテフランの残留性がグリーンハウスで高まることが確認され、水溶性の低いペルメトリンを含むその他の農薬では栽培条件による明確な差は認められなかった。しかし、Fantke と Juraske³⁴⁾は、グリーンハウスが残留農薬の減衰に及ぼす影響は物質の水溶解性に関係しており、水溶性の高い農薬はグリーンハウスによる高温条件がその半減期を短縮し、逆に水溶性の低い農薬はグリーンハウスが作物からの洗い落としや土壌のリーチングを抑制し、半減期が延びると報告している。そこでは施用方法についての解析は行われていないため、本検討におけるジノテフランの結果にその論証を適用することはできない可能性があり、また、本検討におけるグリーンハウスでは露地の場合と比較して必ずしも温度が高かった訳ではないことに留意が必要であるが、研究間で一致しない結果となっている。このことは、異なる栽培条件下における農薬の残留性には、有効成分の物理化学的性質や環境条件が単独のパラメータとして作用するだけでなく、各種要因が複合して関係することを示唆している。

4.まとめ

本検討で明瞭に示された結果として、植穴土壌混和処理した、水溶解度が大きいジノテフランの結球レタス中における残留濃度は、露地の場合に比べてグリーンハウス栽培のほうが高かった。限定的な農薬や条件による試験結果ではあるが、このことは、グリーンハウスが降雨による農薬の流出を抑制することを示しており、栽培条件が農薬の残留性に及ぼす影響の要因として、気象条件が関与することが確認された。しかし、散布処理した3剤については、予想された栽培条件による明瞭な差異は認められず、グリーンハウスが農薬の残留性に及ぼす影響には、農薬の施用方法、物理化学的性質やPHI等の各

要素が複合して関連することが示唆された。

Table 3-3-1. Field experimental data (Head lettuce)

Field location	Planting area, Planting rate (/10 a)	Variety	Planting date ^a	Sample weight	Weather data ^b
<u>Open field</u>					
Ibaraki	15 m ² , 7400 heads	Mizusawa	Sep. 11–Nov. 10, 2009	517 g	16.9°C, 293 mm
Gunma	15 m ² , 5900 heads	Sysco	Sep. 1–Nov. 10, 2009	421 g	18.5°C, 165 mm
Nagano	34 m ² , 8300 heads	Shinano-summer	Sep.1–Oct. 26, 2009	736 g	17.3°C, 147 mm
Mie	13 m ² , 5500 heads	Sysco	Sep. 15–Nov. 30, 2009	563 g	16.4°C, 616 mm
Kochi	27 m ² , 6700 heads	Sysco	Oct. 9–Dec. 8, 2009	320 g	15.6°C, 371 mm
Miyazaki	24 m ² , 6300 heads	Sysco	Sep. 25–Nov. 23, 2009	1051 g	18.3°C, 613 mm
<u>Greenhouse</u>					
Ibaraki	19 m ² , 7400 heads	Falcon	Oct. 13–Dec. 27, 2010	652 g	12.4°C
Gunma	6 m ² , 7900 heads	Sysco	Sep. 20–Nov. 29, 2010	818 g	23.2°C
Nagano	15 m ² , 6600 heads	Shinano-summer	Aug. 30–Oct. 25, 2010	989 g	19.7°C
Mie	20 m ² , 3200 heads	Sysco	Oct. 1–Dec. 10, 2010	962 g	16.6°C
Kochi	36 m ² , 6700 heads	Sysco	Oct. 20–Dec. 13, 2010	374 g	16.7°C
Miyazaki	20 m ² , 6200 heads	Sysco	Oct. 26–Dec. 20, 2010	590 g	16.1°C

^a The range represents the period from the planting date of nursery head lettuce in the fields (the plant hole application date) to the final sampling date.

^b The numbers indicate the mean temperature and the total precipitation amount from the first application date to the final sampling date.

Table 3-3-2. Results of recovery and stability tests (Head lettuce)

Pesticide	Spike level, mg/kg	Mean recovery,% (RSD, %) ^a	QC ^b , %	Stability ^c , %
Acetamiprid	5	94 (4.0)	85–103	92–102
	0.25	97 (4.6)		
	0.01	95 (7.6)		
Azoxystrobin	5	96 (5.3)	85–104	94–104
	0.25	96 (4.7)		
	0.01	101 (7.5)		
Dinotefuran	5	96 (2.5)	85–99	90–102
	0.25	96 (3.5)		
	0.01	91 (6.4)		
Permethrin	5	96 (5.6)	84–100	86–102
	0.25	90 (5.4)		
	0.01	90 (9.7)		

^a RSD: relative standard deviations (n=36).

^b Recoveries of quality control (QC) samples spiked at 0.1 mg/kg (n=7).

^c Mean recovery range from duplicate stability samples at 0.25 mg/kg (n=12).

Table 3-3-3. Pesticide residue datasets in six of lettuce heads

Growing conditions ^a	Residue (mg/kg) ^b					RSD (%)
	LR	HR	HR/LR	Median	Mean	
Acetamiprid						
O/1-d	0.08	3.95	49.4	1.62	1.58	91
G/1-d	0.90	3.64	4.0	1.94	2.04	46
O/3-d	0.24	2.34	9.8	0.92	1.12	77
G/3-d	0.29	2.01	7.1	1.61	1.44	44
O/7-d	0.09	1.84	20.4	0.53	0.64	97
G/7-d	0.39	2.45	6.3	1.00	1.14	63
Azoxystrobin						
O/1-d	0.02	2.38	119.0	0.85	0.92	98
G/1-d	0.53	2.40	4.5	1.12	1.22	56
O/3-d	0.08	1.50	18.8	0.82	0.77	79
G/3-d	0.13	1.36	10.9	0.84	0.80	53
O/7-d	0.03	0.94	31.3	0.36	0.37	92
G/7-d	0.39	1.89	4.8	0.55	0.73	77
Dinotefuran						
O/49–70-d	0.02	0.11	5.5	0.04	0.05	69
G/48–69-d	0.12	0.74	6.2	0.40	0.44	58
O/51–72-d	0.02	0.10	5.0	0.04	0.05	59
G/50–71-d	0.09	0.64	7.5	0.54	0.42	62
O/55–76-d	0.01	0.10	10.0	0.04	0.05	75
G/54–75-d	0.08	0.64	7.9	0.41	0.39	59
Permethrin						
O/1-d	0.03	1.81	60.3	0.87	0.82	83
G/1-d	0.45	2.27	5.0	0.93	1.08	61
O/3-d	0.24	1.48	6.2	0.89	0.90	57
G/3-d	0.12	1.17	9.7	0.76	0.68	51
O/7-d	0.18	1.12	6.2	0.33	0.47	76
G/7-d	0.34	1.49	4.4	0.44	0.59	75

^a Growing conditions of lettuce heads: open fields (O) or greenhouses (G) with the days after each of final application.

^b Lowest residue (LR), highest residue (HR), median residue, mean residue, and relative standard deviation (RSD).

Table 3-3-4. Statistic analytical results between the residue data of pesticides in lettuce heads grown in greenhouses and open fields.

	Days after final application			Overall
	1 day	3 days	7 days	
acetamiprid	$U=13.0$	$U=14.0$	$U=8.0$	$U=107.0$ $P=0.082$
azoxystrobin	$U=13.0$	$U=18.0$	$U=7.5$	$U=115.5$ $P=0.141$
dinotefuran	$U=0.0^*$	$U=1.5^*$	$U=1.0^*$	$U=8.5^*$ $P=0.000^*$
permethrin	$U=14.0$	$U=15.0$	$U=12.0$	$U=143.0$ $P=0.548$

Statistic analytical results by the Mann-Whitney U -test as 0.05 levels of significance express with “*”.

6. 図

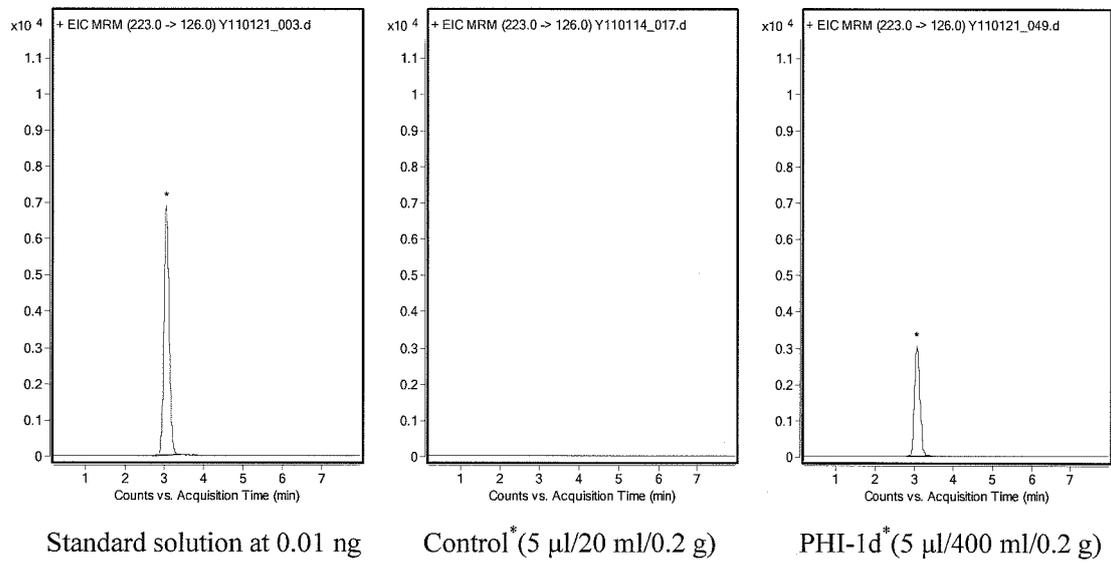


Fig. 3-3-1. Representative chromatograms of acetamiprid in lettuce heads.

* Representative chromatograms of the Miyazaki field samples.

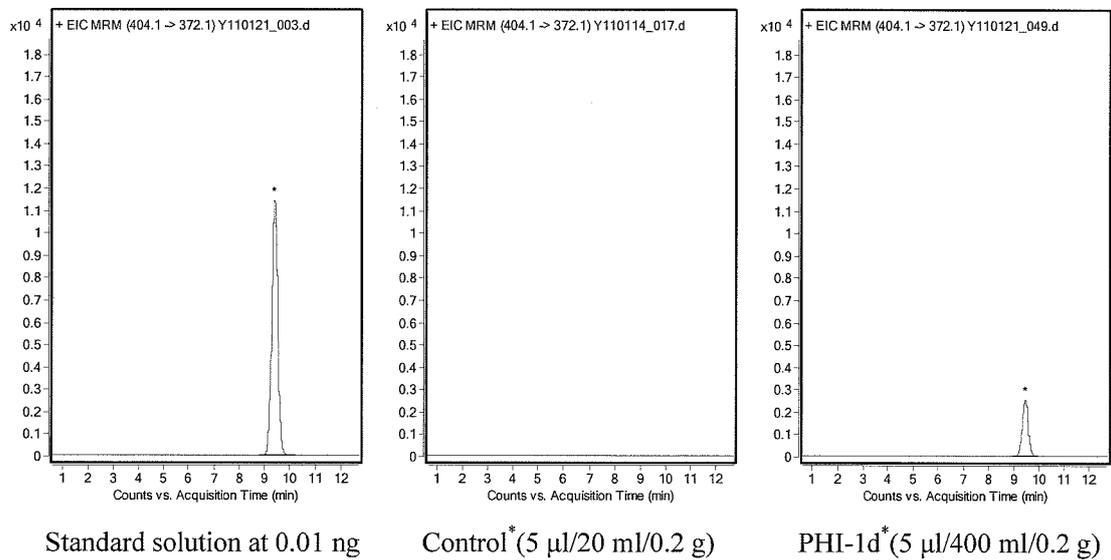


Fig. 3-3-2. Representative chromatograms of azoxystrobin in lettuce heads.

* Representative chromatograms of the Miyazaki field samples.

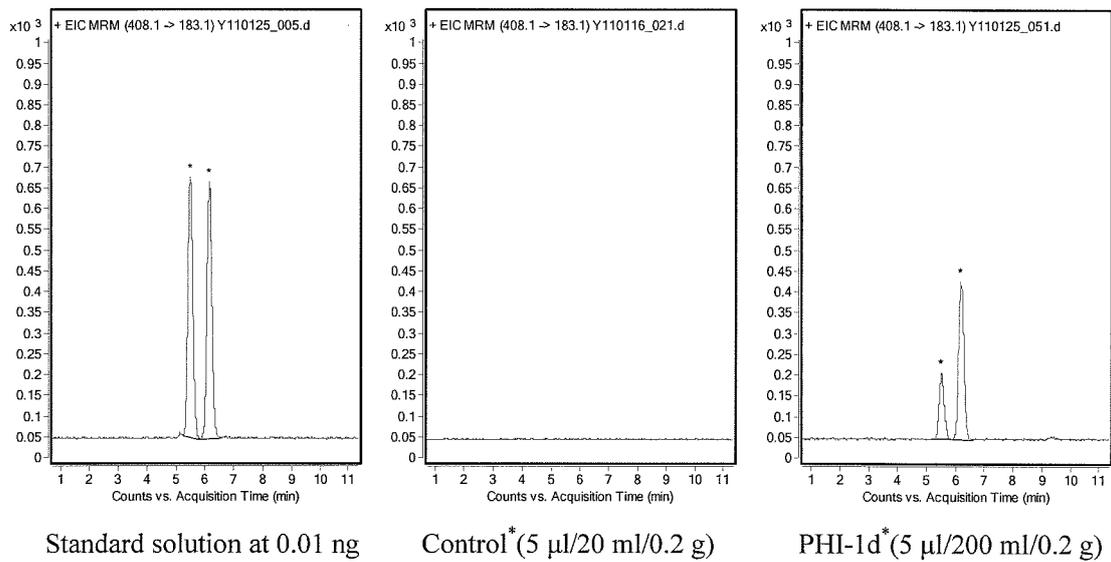


Fig. 3-3-3. Representative chromatograms of permethrin in lettuce heads.

* Representative chromatograms of the Miyazaki field samples.

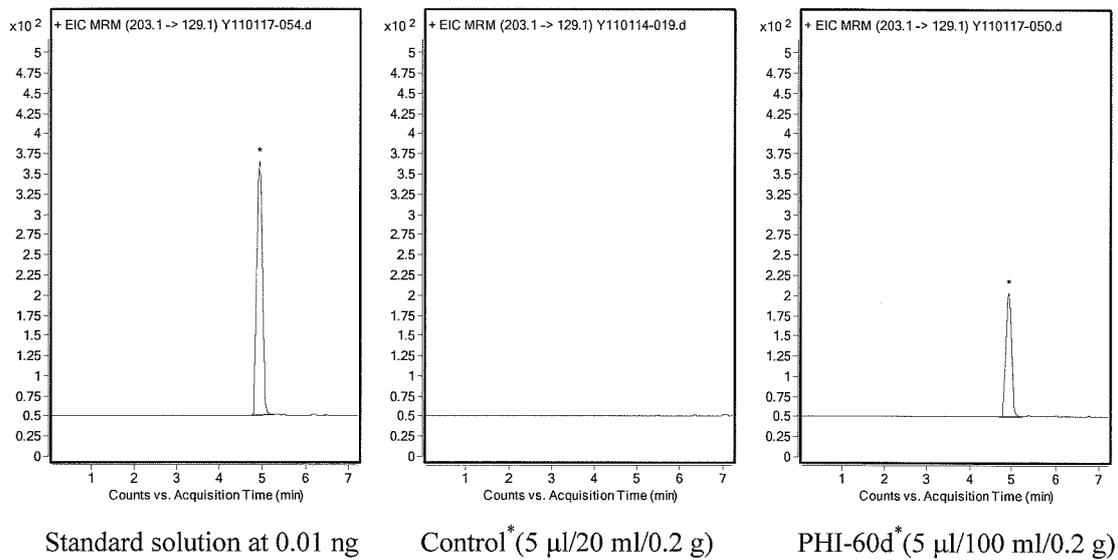


Fig. 3-3-4. Representative chromatograms of dinotefran in lettuce heads.

* Representative chromatograms of the Miyazaki field samples.

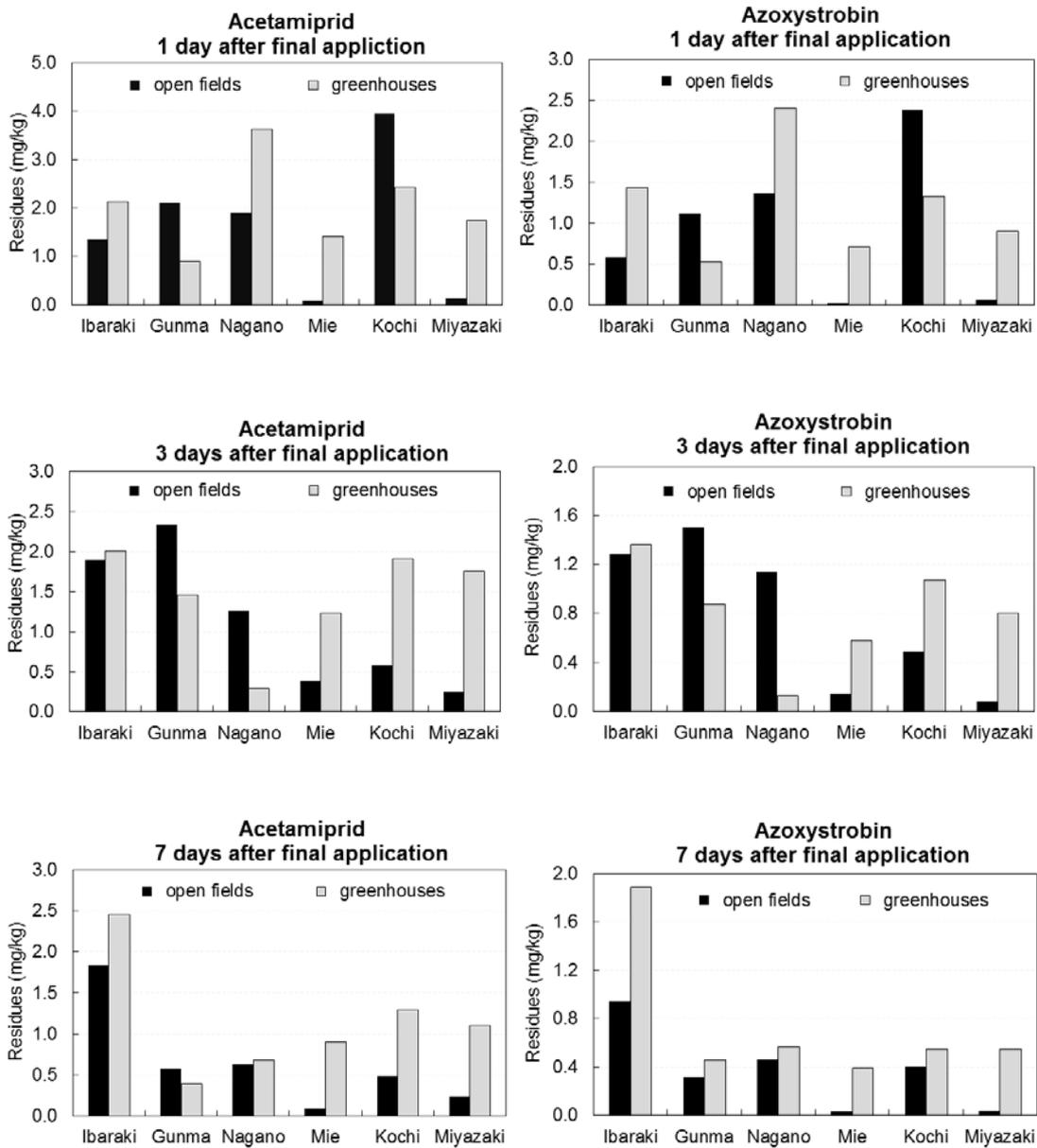


Fig. 3-3-5. Residue levels of acetamiprid, azoxystrobin, dinotefuran, and permethrin in lettuce heads grown in open fields and greenhouses.

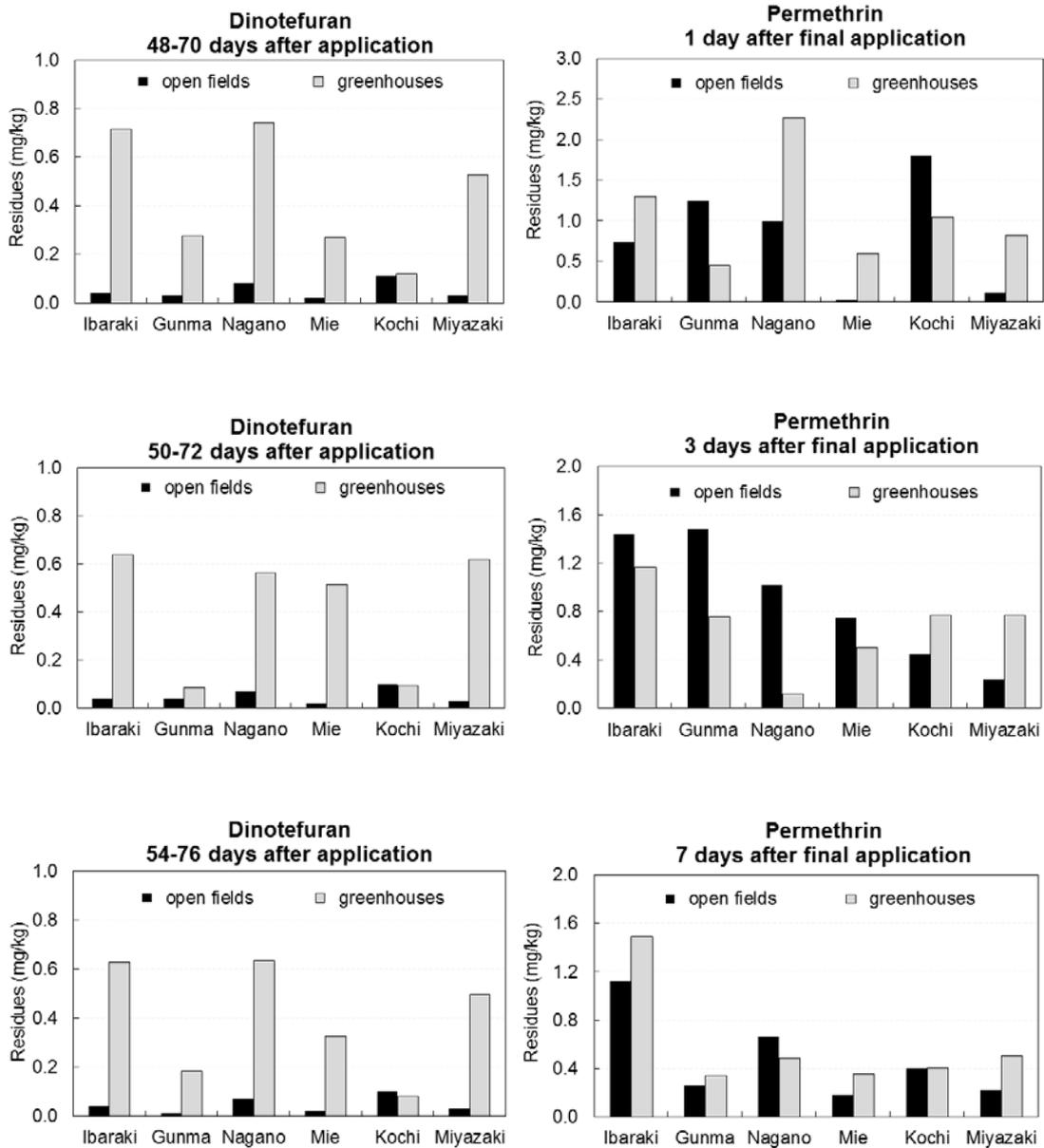


Fig. 3-3-5. Continued.

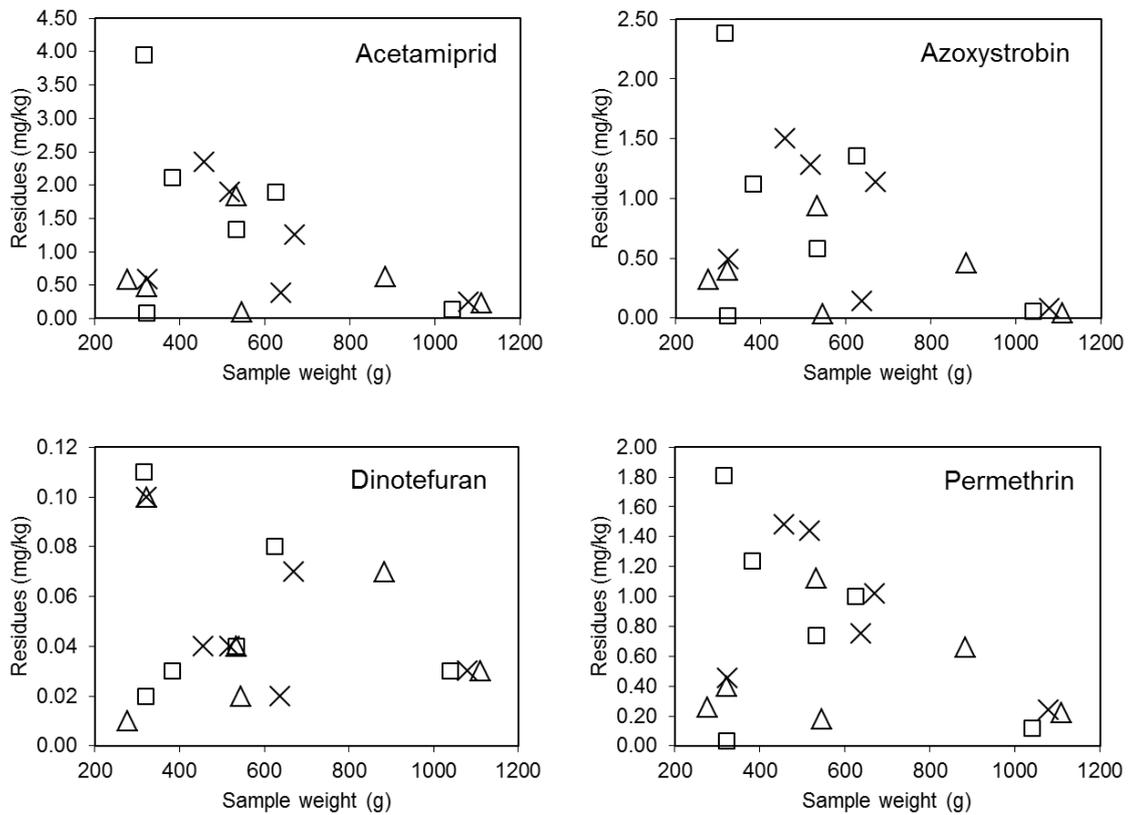


Fig. 3-3-6. Scatter plots of sample weight versus pesticide residues in lettuce heads (open field cultivation): (□) PHI 1-d(49-70-d, for dinotefuran only), (×) PHI 3-d(51-72-d), (△)PHI 7-d(55-76-d).

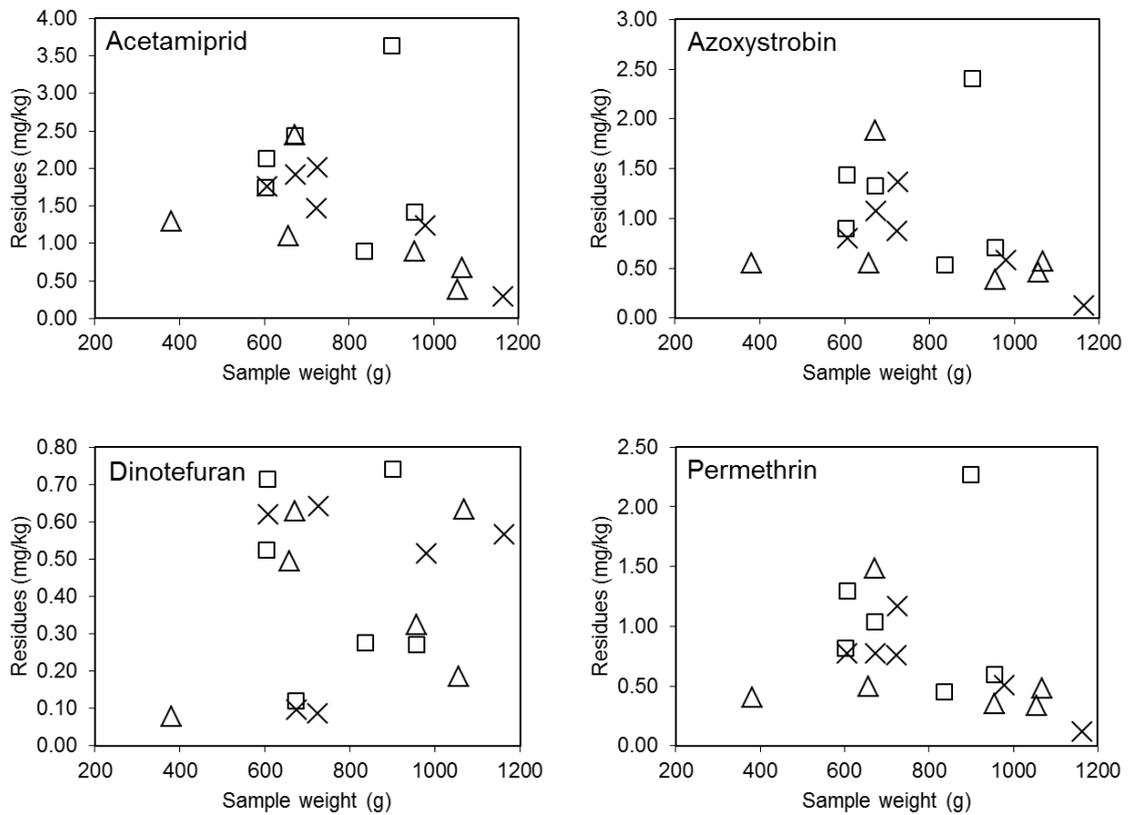


Fig. 3-3-7. Scatter plots of sample weight versus pesticide residues in lettuce heads (greenhouse cultivation): (□) PHI 1-d(48-69-d, for dinotefuran only), (×) PHI 3-d(50-71-d), (△)PHI 7-d(54-75-d).

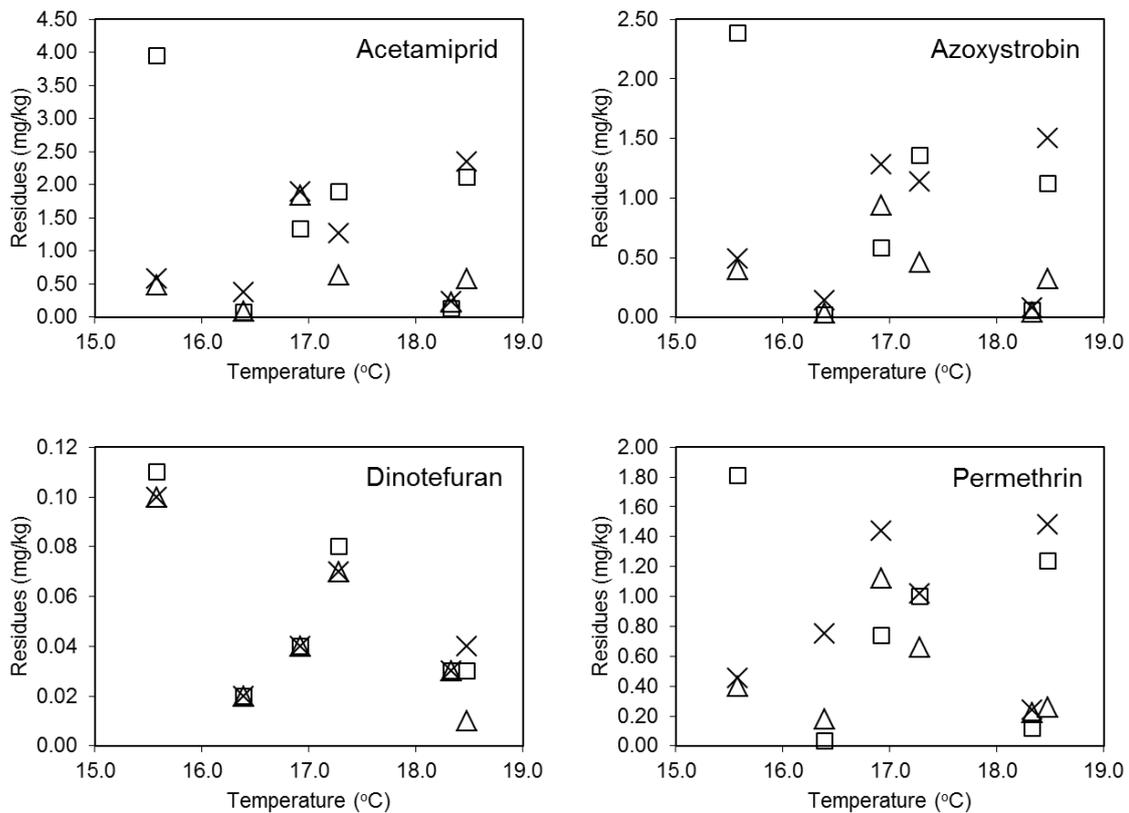


Fig. 3-3-8. Scatter plots of mean temperature versus pesticide residues in lettuce heads (open field cultivation): (□) PHI 1-d(49-70-d, for dinotefuran only), (×) PHI 3-d(51-72-d), (△)PHI 7-d(55-76-d).

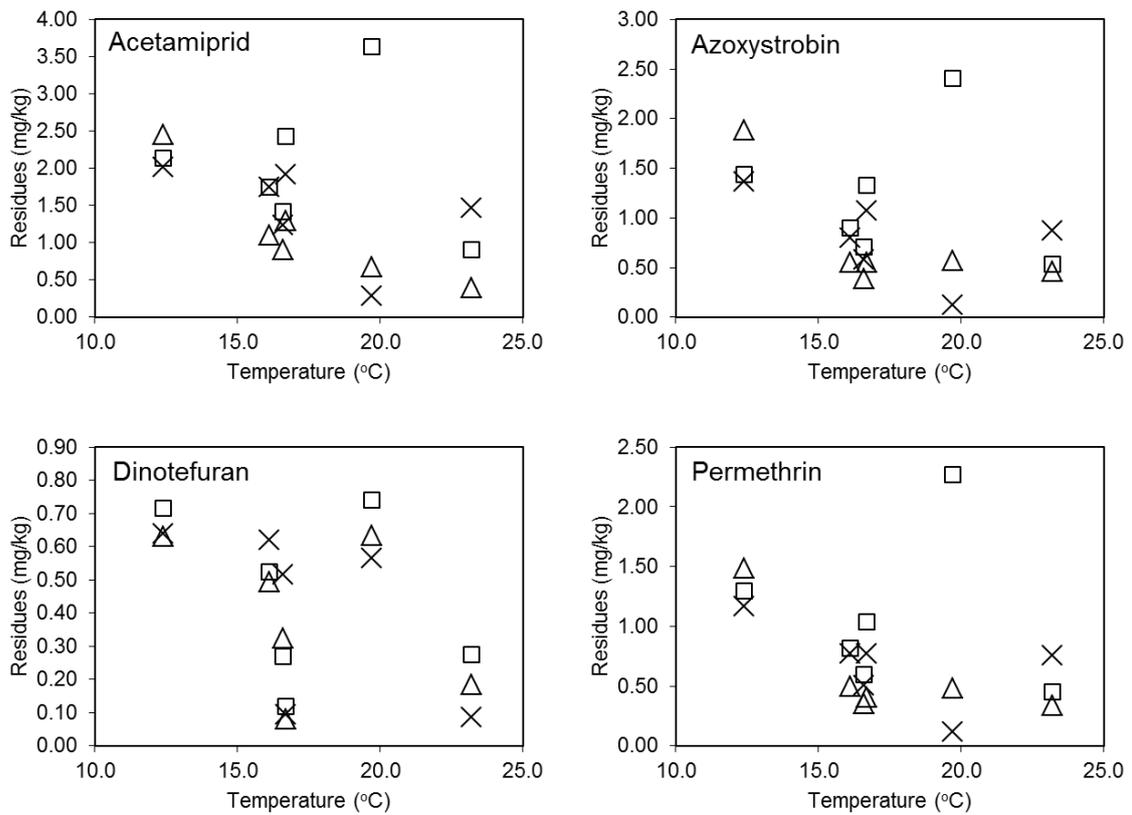


Fig. 3-3-9. Scatter plots of mean temperature versus pesticide residues in lettuce heads (greenhouse cultivation): (□) PHI 1-d(48-69-d, for dinotefuran only), (×) PHI 3-d(50-71-d), (△)PHI 7-d(54-75-d).

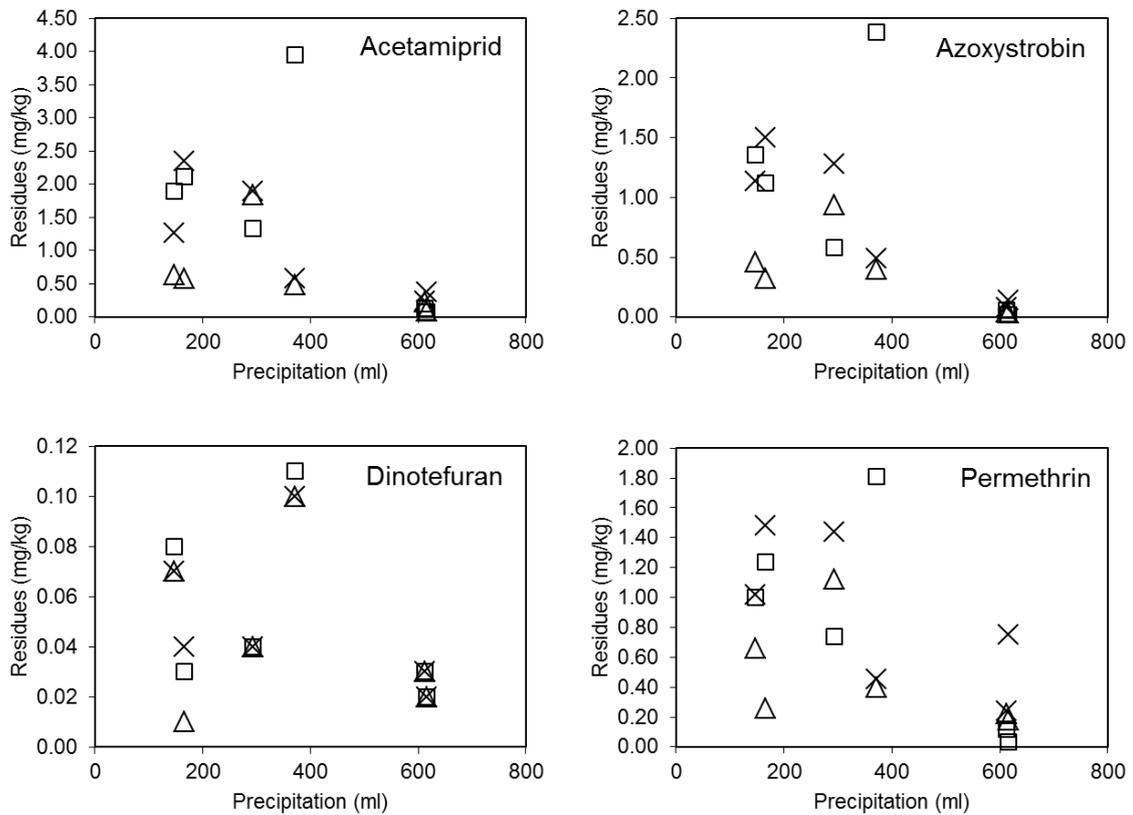


Fig. 3-3-10. Scatter plots of total precipitation amount versus pesticide residues in lettuce heads (open field cultivation) : (□) PHI 1-d(49-70-d, for dinotefuran only), (×) PHI 3-d(51-72-d), (△)PHI 7-d(55-76-d).

第4節 — 試験圃場の違いが及ぼす影響

1. はじめに

同じ農薬製剤を同じ方法で処理した場合でも、圃場が異なればその残留性は変化するものと考えられる。残留基準設定の為の作物残留試験は、製剤のラベルにより規定される部分、すなわち対象作物、処理部位、処理方法、処理量（濃度）のみを統一して行われる。従って、気候や栽培条件等は様々で、そのような変動も織り込んだ上でのデータとして収集されている。本研究では、ある程度栽培条件が限られる作物において、圃場間の差異はどの程度存在するのか、国内 8 圃場で栽培しシペルメトリンを散布処理したリンゴ果実について残留分析を行い、残留濃度の変動について調査した。加えて、本章第 3 節において得た、露地とグリーンハウス栽培による結球レタスの 6 圃場 4 農薬の残留値について、圃場間の変動の観点から考察した。

また、農薬使用基準及び残留基準値の設定に関する作物残留試験についての試験指針が先頃大幅に改正され、必要な試験例数（圃場数）が変更された¹⁰⁾。本研究で取り上げるリンゴ及び結球レタスは「主要作物」に分類され、従来は 2 例以上とされていた試験圃場数が、6 例以上を要する規定となった。この試験指針の改定は、CODEX（コーデックス委員会、食品規格委員会）や OECD テストガイドライン^{23,24)}などの国際標準への調和を意図した変更である。実際に、特に結球レタス、キャベツやハクサイ等の結球葉菜類については、その試験データにおいてしばしば予期しないような結果（一定の減衰が認められない場合や、圃場間の不整合等）が得られることも多いため、圃場数が増えれば、作物における農薬の残留性についてより正確な情報が得られることが期待できる。本研究はその影響についての実証例としても位置付けられる。

2. 実験方法

2-1. 実験方法の概要

リンゴについては、個体間変動に関する調査を行った第 2 章における 2 圃場（岩手及び

福島)に6圃場を加え(青森2ヶ所, 秋田, 山梨, 長野2ヶ所), 8ヶ所の果樹園においてシペルメトリンを散布処理し, 最終散布の14日後に収穫した試料について残留分析を行った。なお, 本検討では, 分析部位に関する検証を同時に行うため(本章第5節), 全果実と可食部及び非可食部(及びそれらから計算上で求めた全果実相当)の各残留値を求めており, 圃場毎の残留値についてもこれらのデータに基づき考察する。

結球レタスについては本章第3節の試料と共通で, 茨城, 群馬, 長野, 三重, 高知及び宮崎の6圃場の露地及びグリーンハウスにおいて栽培した結球レタスに, 茎葉散布処理剤3種(アセタミプリド, アゾキシストロビン及びペルメトリン)及び植穴土壌混和処理剤1種(ジノテフラン)を処理し, 3時点(散布剤の最終処理1, 3及び7日後)で収穫した試料について残留分析を行った(本章第3節2項参照)。

以下に, リンゴ試料の圃場試験, 分析場所での試料調製並びに分析法について示す。残留分析において使用した試薬及び機器をはじめ, 多くは第2章で示した方法と共通する為, ここでは追加事項のみを示す。

2-2. 圃場試験 (リンゴ)

個体間変動に関する調査を行った第2章における2圃場(岩手及び福島)に, 6圃場を加え(品種は全て「ふじ」), 国内8ヶ所の果樹園において同内容で試料調製を行った。試料は, 処理14日後に, 出荷規格に相当する果実を所定の数量(圃場毎残留濃度調査及び分析部位別調査用に計20個)採取した(福島及び岩手においては, 個体毎変動調査用の130個体に追加して採取)。全圃場の試料は分析場所に翌日到着するように冷蔵宅配便で送付した。圃場の情報をTable 3-4-1にまとめた。なお, 各圃場の試験樹は, 岩手のみ4本, 他は1本とした。

2-3. 試料調製 (前処理)

圃場毎残留濃度調査及び分析部位別調査用の試料(20個体)は, 可食部及び非可食部

(花おち、芯及び果梗の基部) 分析用の10個体, 全果実 (果実全体) 分析用の10個体を取り分け, それぞれの重量を測定した。可食部及び非可食部分析用の試料は, 個体ごとに縦に4分割し, 花おち, 芯及び果梗の基部を取り分けて (果梗は除去), それぞれ可食部と非可食部の分析用試料とした (Fig.3-4-1)。可食部試料は, その全量を細切した後, その中から無作為に約800 gを採り, ミキサー (Russell Hobbs 3901JP, Salton Europe製) で磨砕均一化した。非可食部は, その全量をミキサーで磨砕均一化した。また, 全果実分析用試料は, 果梗のみを除去した後に全量を細切し, その中から無作為に約800 gを採り, ミキサーで磨砕均一化した。

2-4. 分析法 (リンゴ)

試料中シペルメトリン残留濃度の分析操作は, 測定条件を含めて第2章に同じ。各部位の分析は同一の方法とし, 定量限界は0.01 mg/kgとした。

2-5. 分析法の妥当性 (リンゴ)

分析法の妥当性は, 8圃場それぞれについて, 可食部, 非可食部及び全果実の各部位別に均一化した各無処理試料にシペルメトリンの標準溶液を添加し, 各24連 (3連×8圃場) で分析して求めた回収率及び精度と, 各無処理試料を各2連で分析して選択性を確認することにより検証した。添加濃度は, 定量限界相当, 0.2 mg/kg及び2 mg/kgとした。各成分における添加回収率をTable 3-4-2にまとめた。各平均回収率は81~92%, RSDは14.8%以下であった。各無処理試料の分析結果は全て定量限界未満であり, クロマトグラム上の分析対象物質保持時間付近に妨害ピーク等は認められなかった。回収率は各添加濃度の平均回収率が70~120%の範囲内であること, 精度はその相対標準偏差が15%以下であること, 選択性は, 分析対象の測定に影響を及ぼす夾雑物のピーク等が認められないことを指標とし, 測定結果は全てこれを満たしたことから, 分析法について妥当性が確認された。

なお、リンゴについては試料の凍結保存を行わず、到着試料について即日での分析の第一段階（抽出）までを行った。

3. 結果及び考察

3-1. リンゴの圃場間における残留濃度の変動

8 圃場（各圃場当たり 10 個体を 1 試料とする）の可食部及び非可食部での部位別残留濃度と、全果実での残留濃度を Table 3-4-3 に示した。各圃場試料の可食部を比較すると、その残留濃度は 0.18 ~ 0.42 mg/kg の範囲、総平均値 ± 標準偏差（SD）は 0.28mg/kg ± 0.08mg/kg（相対標準偏差(RSD)；29%）であり、最小値から最大値の振れ幅は 2.3 倍であった。

岩手及び福島の間での残留濃度の変動調査用試料（10 個）と、個体別の残留濃度の変動調査用試料（130 個、第 2 章）は、それぞれ同じ試験区画から同時に採取されたものである。双方の調査結果を比較すると、まず、10 個試料の平均残留濃度（岩手 0.18 mg/kg、福島 0.22 mg/kg）は、130 個試料の平均残留濃度（岩手 0.21mg/kg、福島 0.24 mg/kg）と近似していた（第 2 章 Table2-2）。同様に、10 個試料の残留濃度は、いずれも各圃場の 130 個試料の度数分布（本章第 2 節 Fig. 3-2-2）における最高度数の濃度範囲（0.16~0.21 mg/kg、または 0.17~0.22 mg/kg）に含まれていた。これらのことから、圃場間での残留濃度の変動調査に供した 1 ロット 10 個試料（試料量として 2.8~4.5 kg）は、おおむね圃場の母集団を代表しているものと判断され、試料数（試料量）が適正であり、サンプリングが適切に行われたことが示された。また、この試料量は、農林水産省の試験指針¹⁰⁾及び環境省の「作物残留に係る登録保留基準試験法」³⁹⁾におけるリンゴの必要検体量に関する規定（2 kg かつ 5 個以上）を満たすものである。以上、2 圃場の試料における試料量と残留値の関係については、本章第 3 節を齟齬なく裏付ける結果を得た。

なお、8 圃場試料について、全果実を分析対象とした場合の残留濃度は 0.16~0.36 mg/kg の範囲、平均値 ± SD は 0.28 ± 0.08 mg/kg（RSD；29%）となり、最小値から最大値の

振れ幅は 2.3 倍であった。また、可食部及び非可食部の分別分析から得た各残留値と、各部位の重量比に基づき、計算値として求めた全果実の残留濃度は 0.20~0.46 mg/kg の範囲、平均値±SD は 0.31±0.10 mg/kg (RSD ; 31%) となり、最小値と最大値の振れ幅は同じく 2.3 倍であった。

以上に示したように、各圃場試料間の残留濃度の差は、対象を可食部とした場合でも全果実とした場合でも、同じく最大幅で 2.3 倍となり、比較的小さいものであった。このことは、最大残留量 (HR) の評価において、試験例数の増減が及ぼす影響は比較的小さいことを示している。圃場間の差が小さかった要因としては、調査対象としたリンゴは樹齢や栽植密度が異なるものの品種は同一であったこと (「ふじ」)、それとも関連して、リンゴの栽培地域が限定的であり、調査を同一年のほぼ同時期に実施したため、日射条件や降雨などの気象条件の変動が比較的小さかったこと (Table 3-4-1)、薬剤処理とサンプリング方法が統一されていたことが考えられる。また、分析対象としたシペルメトリンの物理化学的な特性として、比較的水溶性 (4 µg/L, pH 7, 20°C) 及び蒸気圧 (2.0×10^{-4} mPa) が低く¹¹⁾、環境中で安定な物質であることも、残留値の変動が小さかった要因と推察される。

3-2. 結球レタスの圃場間における残留濃度の変動

ここでは、本章第 3 節において得た、結球レタスの 6 圃場間における残留値について、圃場間の違いに焦点をあてて考察する。本章第 3 節の Table 3-3-3 では、各 PHI (農薬の最終処理から収穫までの日数) における 6 圃場 (各露地及びグリーンハウス) の残留値のうちの最小値 (LR)、最大値 (HR) 及びその差 (HR/LR) を示している。結球レタスではリンゴと比較して明らかに大きな振れ幅が認められ、その最大差は 119 倍 (アゾキシストロビン、露地栽培、PHI 1-d) であった。露地栽培の PHI 1-d 試料については、アセタミプリド及びシペルメトリンにおいてもそれぞれ 49.4 倍及び 60.3 倍の差があり、各農薬について最大となっている。これら 3 農薬についてグリーンハウス栽培の場合では、アセ

タミプリドで 7.1 倍、アゾキシストロビンで 10.9 倍、ペルメトリンで 9.7 倍（いずれも PHI 3-d）が最大差となっており、露地栽培に比べて変動が小さい。一方、ジノテフランは、露地栽培での最大幅が 10.0 倍、施設栽培では 7.9 倍であり、大きな違いは認められない。以上の結果は、後節の試料縮分操作の検証（本章第 5 節）において行う考察と同様、結球レタスでは散布された農薬の大部分が外側の葉に偏在し、収穫物となった段階での残留が不均一になりやすいこと^{35,40}、ジノテフランは定植時植穴土壌混和处理であるためその影響を受けにくいこと（同時に PHI が長いこと）、また、残留値の統計解析ではジノテフランを除き有意差とならなかったものの（本章第 3 節 Table 3-3-4）、施設栽培では露地栽培に比べてある程度環境要因が均等化される可能性が高く、圃場間の差異が抑制されること等によるものと考えられる。なお、散布剤 3 農薬については、登録上の収穫前使用禁止期間は 7 日となっているため、実際的な残留農薬レベルの評価は PHI 7-d のデータで行う必要がある。その場合、変動幅は PHI 1-d に比べて約 10 分の 1 から 5 分の 2 に減少した。しかし、それでもなお最大 31.3 倍（アゾキシストロビン）の差を有しており、試験圃場の違いが残留農薬レベルの評価に及ぼす影響は大きいと言える。

本章第 3 節で示した通り、圃場毎の平均気温や降水量については、日本における一般的な地域や圃場間の差として考えられる程度の差異があり、収穫物の重量にも幅があったが、圃場毎の気象や重量等の条件と残留農薬レベルについての相関性は見いだせなかった。

農薬の登録、健康影響評価のために行われる作物残留試験においては、残留量が経時的に減衰することを確認することが重要な目的である^{10,24}。Fig. 3-4-2 に、アセタミプリド、アゾキシストロビン及びペルメトリンの、PHI 3 時点における各残留濃度を圃場毎にプロットして示した。ジノテフランについては PHI が圃場毎、栽培条件毎に異なるため、Fig. 3-4-3 にまとめて示した。各農薬の 3 時点データは圃場毎に異なる推移となり、経時的な減衰が認められない場合も多い結果となった。その要因としては、検討対象とした農薬について、（散布剤の）最終処理後 1、3 及び 7 日後の採取を行う試験設計は、減衰

傾向を確認する目的においては最適ではなかった可能性が考えられる。ジノテフランについても、3 時点の試料採取間隔が適切でなかった（間隔が短すぎた）可能性が考えられる。加えて、結球レタス試料の特性として、試料量や試料調製に起因する残留値の変動が大きいことも関連することが推察される（本章第 2 節及び 5 節）。なお、タンクミックスで同時に散布処理した、アセタミプリド、アゾキシストロビン及びペルメトリンでは、各圃場、各栽培条件において 3 剤の残留値の推移傾向が類似している。このことは、本検討における農薬の消長では、各成分の特性による残留値の変化よりも、初期付着量に支配される部分が大きかったことを示唆している。

結球レタスにおける検討では、残留農薬レベルは圃場間で大きな差を有しており、圃場（あるいは栽培ロット）の違いが、残留基準値設定のための作物残留試験において求められる農薬の最大残留量（HR）の変動要因となることが示された。結球レタスに関しては、実際の作物残留試験は施設栽培により行われる¹⁰⁾。そのため、先に示したように変動がある程度は抑制される可能性が高いが、同じ結球葉菜のキャベツやハクサイ等は、主に露地栽培が行なわれており、相応の変動幅を持つことが予想される。いずれにせよ、最大残留量を求める際には変動を考慮することが不可欠であり、そのためには一定の試験例数を確保して統計的に有効な解析を行う必要がある。そのために最低限必要なデータ数は、試験指針において欧米では 8 例が目安とされ²⁴⁾、日本では農業規模等も考慮されて 6 例と設定されている¹⁰⁾。求める最大残留量について許容される不確かさ（許容される変動幅）をここで定めることはできないため、本検討で得た結果から適正な例数を考察することはできないが、無視できない程度の圃場間差が存在することが明らかとなり、試験圃場数を増やすことにより効果的に最大残留量の設定精度が向上することが示された。

4.まとめ

リンゴにおいては圃場間の差は比較的小さいものであったが、結球レタスでは明瞭な

変動が認められ、栽培条件（露地及びグリーンハウス）及び農薬処理条件（土壌混和剤及び散布剤）が影響を及ぼすことが示唆された。圃場間の差は残留基準値設定のための作物残留試験における最大残留量評価の精度に直結し、試験圃場数（試験例数）が多いほど、過小評価の可能性が減少すると言える。日本でも要求される試験例数が増加したところであるが、本研究結果からも、その意義が示された。

5. 表

Table 3-4-1. Field experimental data (apple)

Field location (planting rate, age of trees)	Application ^a	PHI ^b	Weather data ^c
Kitatsugaru, Aomori-1 (125 trees/10a, 10-y)	30 g/500 L/10 a (4 g/4 L/8m ²)	14-d (Nov. 10, 2008)	12.0°C 60 mm
Kuroishi, Aomori-2 (125 trees/10a, 8-y)	30 g/500 L/10 a (4 g/4 L/8m ²)	14-d (Nov. 10, 2008)	11.5°C 44 mm
Hanamaki, Iwate (62.5 trees/10a, 15-y)	24 g/400 L/10 a (25.6 g/25.6 L/64m ²)	14-d (Nov. 13, 2008)	9.8°C 72 mm
Yuzawa, Akita (100 trees/10a, 13-y)	30 g/500 L/10 a (10 g/10 L/20 m ²)	14-d (Nov. 10, 2008)	12.4°C 160 mm
Fukushima, Fukushima (125 trees/10a, 19-y)	30 g/500 L/10 a (4 g/4 L/8m ²)	14-d (Nov. 12, 2008)	13.3°C 37 mm
Yamanashi, Yamanashi (125 trees, 10a, 20-y)	27 g/500 L/10 a (3.6 g/3.6 L/8m ²)	14-d (Nov. 6, 2008)	15.8°C 19 mm
Suzaka, Nagano-1 (27 trees/10a, 35-y)	30 g/500 L/10 a (10 g/10 L/20 m ²)	14-d (Nov. 4, 2008)	12.8°C 8 mm
Kamitakai, Nagano-2 (27 trees/10a, 34-y)	30 g/500 L/10 a (7.5 g/7.5 L/15 m ²)	14-d (Nov. 4, 2008)	same as above

^a Application ratio (actual rate).

^b Pre-harvest intervals (sampling dates).

^c Mean temperature and total precipitation amount from the first application date to the final sampling date.

Table 3-4-2. Results of recovery test (apple)

Sample	Spike level, mg/kg	Mean Recovery, % (RSD, %)
Edible portion	2	87 (5.0)
	0.2	81 (5.6)
	0.01	87 (14.8)
Inedible portion	2	92 (3.6)
	0.2	88 (5.1)
	0.01	88 (10.1)
Whole commodity	2	88 (5.8)
	0.2	82 (6.8)
	0.01	90 (11.2)

RSD: relative standard deviations (n = 24).

Table 3-4-3. Residue levels of cypermethrin in the whole commodity, edible and inedible portions

Field	Mean residue levels and sample weights ^a				Measured/ calculated ^b
	Measured whole	Edible portion	Inedible portion	Calculated whole	
Aomori-1	0.36 mg/kg (323 g)	0.34 mg/kg (279 g)	0.74 mg/kg (44 g)	0.39 mg/kg	92%
Aomori-2	0.36 mg/kg (299 g)	0.32 mg/kg (253 g)	0.57 mg/kg (46 g)	0.36 mg/kg	100%
Iwate	0.20 mg/kg (449 g)	0.18 mg/kg (410 g)	0.45 mg/kg (39 g)	0.20 mg/kg	100%
Akita	0.32 mg/kg (333 g)	0.42 mg/kg (291 g)	0.72 mg/kg (42 g)	0.46 mg/kg	70%
Fukushima	0.20 mg/kg (388 g)	0.22 mg/kg (341 g)	0.24 mg/kg (47 g)	0.22 mg/kg	91%
Yamanashi	0.16 mg/kg (281 g)	0.24 mg/kg (247 g)	0.22 mg/kg (34 g)	0.24 mg/kg	67%
Nagano-1	0.28 mg/kg (333 g)	0.21 mg/kg (292 g)	0.57 mg/kg (41 g)	0.25 mg/kg	112%
Nagano-2	0.34 mg/kg (439 g)	0.28 mg/kg (392 g)	1.26 mg/kg (47 g)	0.38 mg/kg	89%
Overall mean value ^c	0.28 mg/kg ±0.08 mg/kg (RSD 29%)	0.28 mg/kg ±0.08 mg/kg (RSD 29%)	0.60 mg/kg ±0.33 mg/kg (RSD 56%)	0.31 mg/kg ±0.10 mg/kg (RSD 31%)	90%
HR/LR ^d	2.3	2.3	5.7	2.3	

^a Mean residue levels determined in duplicate are shown, and mean weights of 10 apples are shown in parenthesis. Edible and inedible portions were divided in accordance with Fig. 3-2-5.

^b Measured residue levels obtained from whole commodity samples / calculated whole residue levels obtained from measuring values of edible and inedible portions.

^c Overall mean value with standard deviations (relative standard deviations).

^d The lowest residue (LR) to the highest residue (HR) ratio.

6. 图

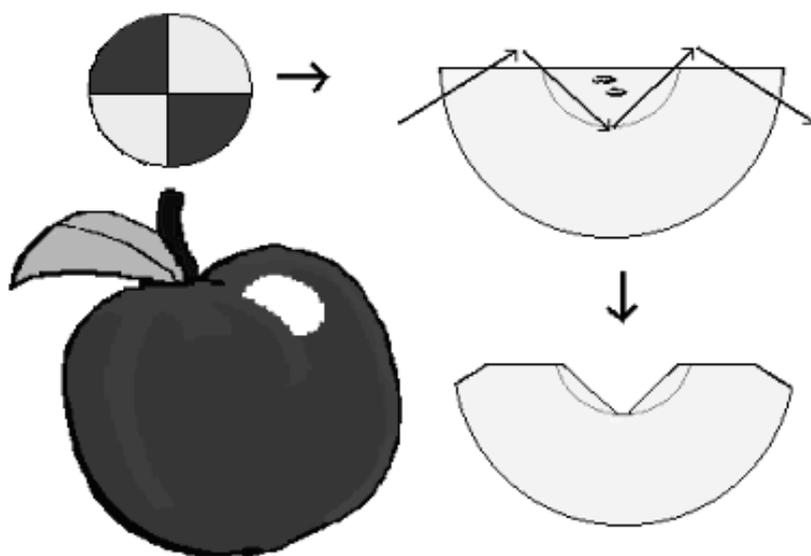


Fig. 3-4-1. Processing of apple sample to separate edible and inedible portions: each apple sample was divided in four pieces to the vertical direction (expressed in the figure of left upper side circle), then each pieces were divided in edible portions (pulps with peels, expressed in the figure of right bottom side) and inedible portions (core with calyx and basal portion of stems) for the separately analysis.

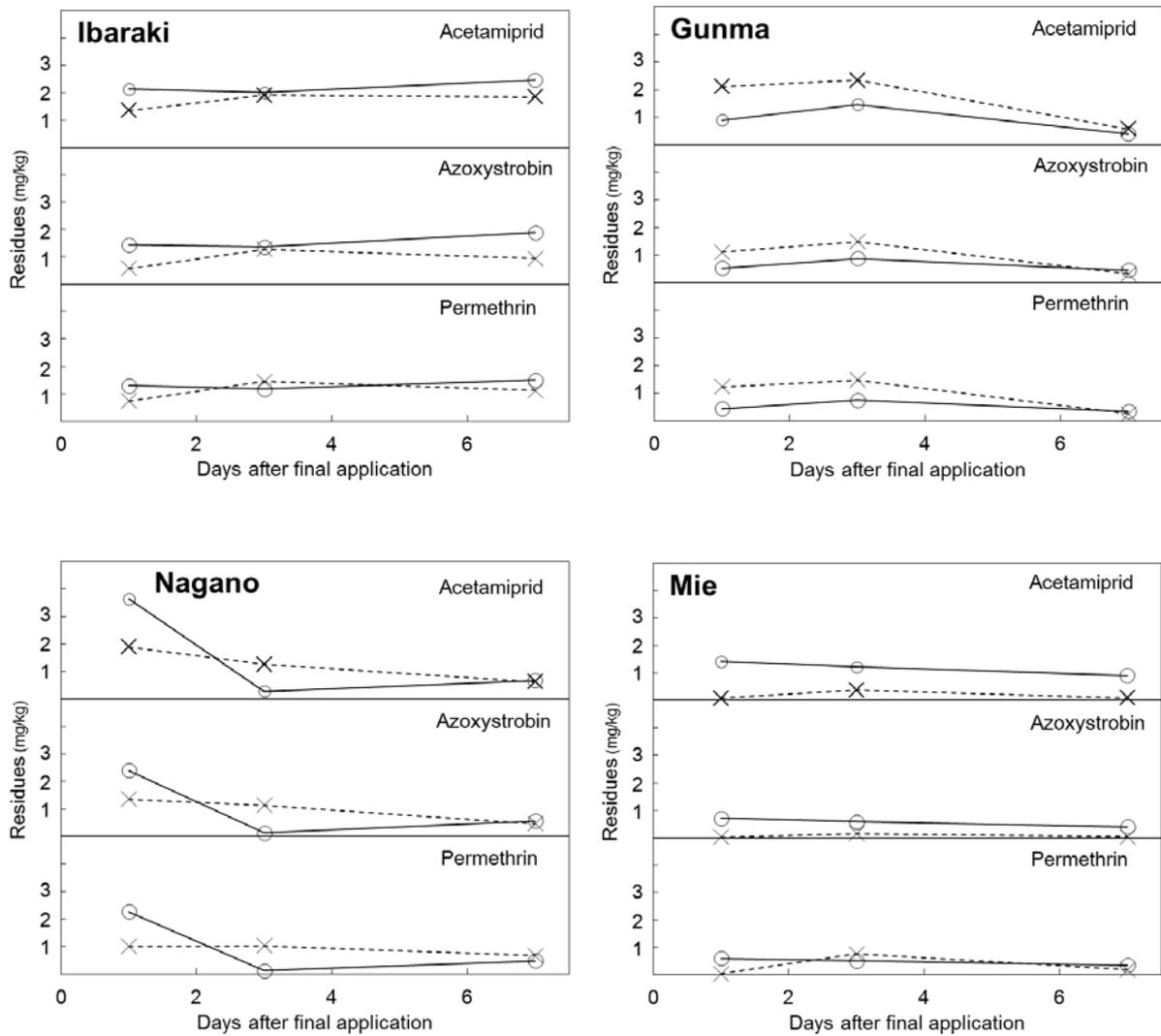


Fig. 3-4-2. Plots of residue levels of acetamiprid, azoxystrobin and permethrin in lettuce heads grown in open fields (×) and greenhouses (○).

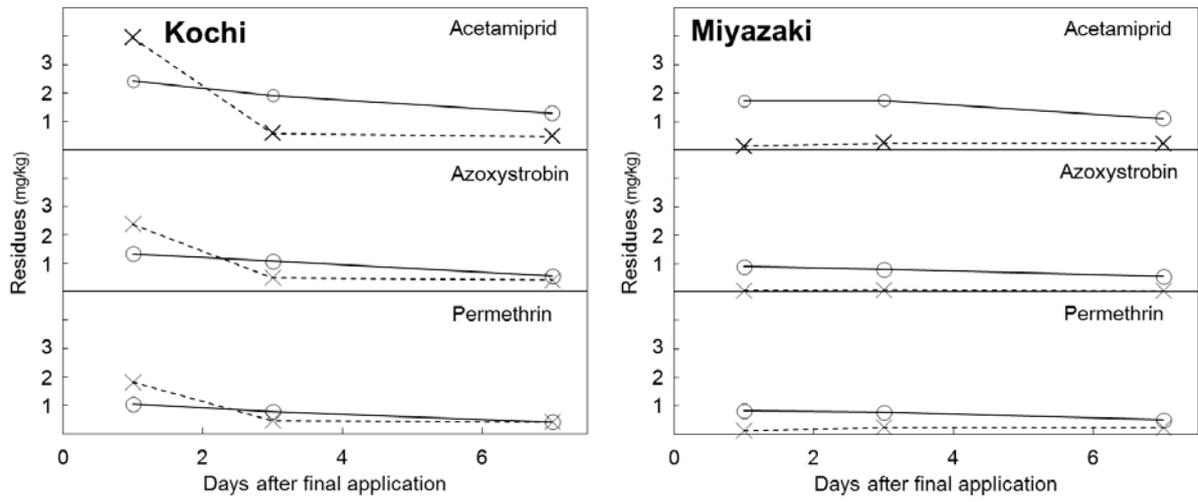


Fig. 3-4-2. Continued.

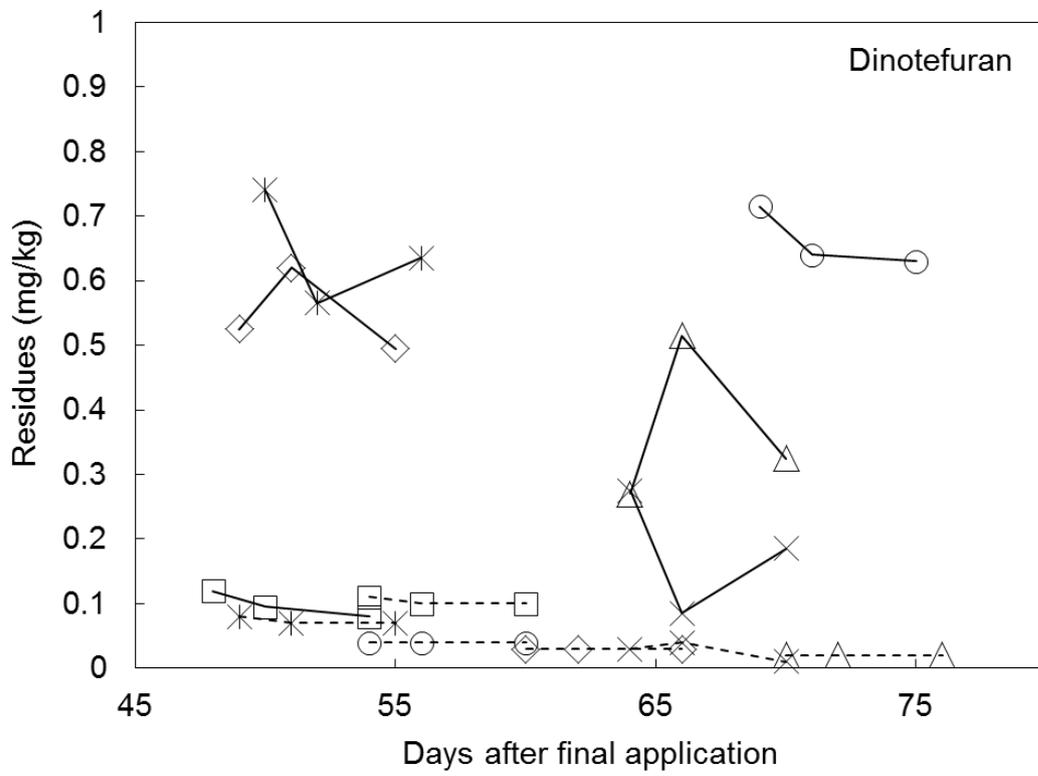


Fig. 3-4-3. Plots of residue levels of dinotefuran in lettuce heads grown in open fields (dashed lines) and greenhouses (solid lines): (○) Ibaraki, (×) Gunma, (*) Nagano, (△) Mie, (□) Kochi, (◇) Miyazaki.

第5節 ー 供試試料の取り扱い方法が及ぼす影響

1.はじめに

残留農薬分析における試料調製方法の国際間調和は、貿易上、あるいは残留データの有効活用の観点から、重要な課題となっている。日本と海外では最大残留基準（MRL）の設定部位が異なり、その為に分析対象部位も異なる作物がいくつか存在する。まず、CODEX（コーデックス委員会、食品規格委員会）の MRL は、多くの作物について作物全体を対象として規定されている。分析に関してもこれに対応しており、本研究で取り上げるリンゴの場合は「果実全体」、スイカ及びメロンの場合は「つるを取り除いた果実全体」を供することとされている（FAO マニュアル 2009 年版²³⁾。これらの農作物について日本でも試験指針が改定され、従来は可食部（スイカ及びメロンでは果肉と表記される）のみを分析対象としていたところを、可食部と非可食部（リンゴ）あるいは果肉と果皮（スイカ及びメロン）をそれぞれ分別分析することが推奨されることとなった⁴¹⁾。部位別の各分析値より果実全体の残留濃度を求めることが出来る為、これにより前出の国際標準に準拠することとなる。

これらの農作物についての現行の日本の MRL は、可食部（スイカ及びメロンでは果皮を除いた果肉）に対して与えられている⁴²⁾。従って、日本においては、全果実を直接分析するのではなく、果肉と果皮あるいは可食部と非可食部を分別分析することが必要となっている。しかしながら、果実全体を均一化して分析した場合と、各部位をそれぞれ分析し、換算値として果実全体の分析値を求めた場合に違いは無いのか、比較して確認した実証例は見当たらない。

また、CODEX の MRL を設定する為の作物残留試験の規定では、分析場所において、生鮮農産品については切断または分割すべきでない、としている⁴³⁾。更に FAO の指針では、特にメロンやキャベツのような大型果実や結球葉菜では、分析に供する際に試料を切断、分割することは認められない、としている²¹⁾。しかし、これらの作物について、試料量を減らさずにコンベンショナルなミキサーで均一化することは困難である。例え

ば、スイカやメロンの試料を、作物残留試験の規定に準拠して 6 個体用意した場合、重量はしばしば 10 kg を超える。結球レタスの場合でも同様の状況となることが多い。その場合、これら全てを一時に均一化するためには大型のミキサーが必要となり、もし 1 L 程度の容量のミキサーで処理しようとする場合、少しずつ均一化したものを別途混合するなど、大変な手間がかかることになる。

このため、分析場所では、大型の試料については、切断、分割操作によって均一化操作に適した試料量に減らす操作が一般的に行われる。その際には、作物個体中の農薬の偏在を考慮し、試料を縦方向に分割した上で対角の 2 片ずつを取り合わせる等の方法をとるが、残留分析値への影響は避けられないと考えられる。このような試料縮分操作に起因する、残留農薬分析値の不確かさに関する情報は少なく、特に日本において栽培された作物に関する知見は不足している^{44,45)}。

本研究では、残留性に影響を及ぼす要因のひとつとして、残留分析対象部位による残留値の違い、分別分析した部位毎の分析値から計算により作物全体の残留値を求める手法が残留値に影響を及ぼす可能性、そして試料縮分操作が残留値に及ぼす影響について検討した。

まず、シペルメトリンを散布処理し 8 圃場で調製したリンゴにおいて、果実の可食部、非可食部及びそれらを区別しない果実全体についてそれぞれ残留分析を行い、各部位の農薬残留性と対象部位による残留値の差を検証した。

また、スイカとメロンについて、果肉、果皮の分離分析と試料縮分操作が農薬残留値に及ぼす影響を同時に評価した。各作物は 2 圃場において栽培し、3 農薬を散布処理して実験を行った。農薬として、比較的低い $\log Pow$ (0.80)、比較的高い水溶性 (4250 mg/L) を持つネオニコチノイド系の殺虫剤であるアセタミプリド¹¹⁾、比較的高い $\log Pow$ (6.37)、比較的低い水溶性 (0.012 mg/L) を持つ殺ダニ剤であるピリダベン¹¹⁾、及び以上 2 剤の中間的な性質 ($\log Pow$ 3.20, 水溶性 7.53 mg/L) を持つピラゾールカルボキシアミド系の殺虫剤であるペンチオピラド¹¹⁾を選択し、各成分の物理化学性が残留値の変動

に及ぼす影響についても考察した。

加えて、本章第 3 節において検討した結球レタスのうち、グリーンハウス栽培を行った試料について、試料縮分操作の影響を評価した。農薬はアセタミプリド、アゾキシストロビン、ジノテフランとペルメトリンの 4 種とし、6 圃場における 3 時点の試料において数値を得た。スイカ及びメロンの場合と同様に物理化学的性質の異なる農薬を選択したことに加え、ジノテフランは植穴土壌混和处理剤（他は散布処理剤）としており、その影響を確認した。

2. 実験方法

2-1. 実験方法の概要

リンゴについては、本章第 4 節の試料と共通で、8 ヶ所の果樹園（青森 2 ヶ所、岩手、秋田、福島、山梨、長野 2 ヶ所）においてシペルメトリンを散布処理し、最終散布の 14 日後に収穫した試料について、果実の可食部、非可食部及びそれらを区別しない果実全体の残留分析を行った（本章第 4 節 2 項参照）。

スイカとメロンについては、茨城及び宮崎の圃場においてアセタミプリド、ペンチオピラド及びピリダベンを処理し、最終散布の 1, 3 及び 7 日後に採取した試料について残留分析を行った。果肉及び果皮の分離分析と試料縮分操作が残留値に及ぼす影響を解析するため、二つの縮分試料を作製し、そのうちの一つは果肉及び果皮を分離してそれぞれ分析した。

結球レタスについては、本章第 3 節の試料と共通で、茨城、群馬、長野、三重、高知及び宮崎の 6 圃場のグリーンハウスにおいて栽培した結球レタスに、茎葉散布処理剤 3 種（アセタミプリド、アゾキシストロビン及びペルメトリン）及び植穴土壌混和处理剤 1 種（ジノテフラン）を処理し、3 時点（散布剤の最終処理 1, 3 及び 7 日後）で収穫した試料について残留分析を行った。試料縮分操作が残留値に及ぼす影響を解析するため、二つの縮分試料を作製してそれぞれ分析した（本章第 3 節 2 項参照）。

以下にスイカ及びメロン試料の圃場試験、分析場所での試料調製及び分析法について示す。

2-2. 圃場試験（スイカ及びメロン）

農林水産省テストガイドライン¹⁰⁾に基づき、スイカとメロンの栽培（圃場試験）を一般社団法人日本植物防疫協会茨城研究所及び同じく宮崎試験場の各ガラスハウスで行った。各農薬はタンクミックスで散布溶液を調製し、コーンノズルを装着したバッテリー動力噴霧器（丸山 MSB111 他）を用いて散布した。

サンマイトフロアブル（ピリダベン 20%，日産化学工業）を 1000 倍，モスピラン顆粒水溶剤（アセタミプリド 20%，日本曹達）を 1000 倍，アフエットフロアブル（ペンチオピラド 20%，三井化学アグロ）を 2000 倍に希釈し，約 7 日間隔で各 220～280 L/10 a の量を 3 回散布した。試料は最終散布の 1，3 及び 7 日後に無作為に 6 個体を採取し，冷蔵宅配便で分析場所まで輸送した。圃場の情報を Table 3-5-1 にまとめた。

なお，本試験における農薬の処理量は，比較を行う実験目的を考慮し，各製剤の使用基準に従っていない。モスピラン顆粒水溶剤のメロンへの処理量は，ラベルレート（8000 倍希釈）以上であり，サンマイトフロアブルは規定の処理回数（スイカ，メロン共に 2 回）を超えている。また，アフエットフロアブルはスイカへの適用が無い。

2-3. 試料調製（スイカ及びメロン試料の前処理）

試料はつるを除去した後，各試料個体を縦に 6 分割し，対角の 2 片を 6 個体ぶん取り合わせて縮分試料 A とした。残り 4 片については果肉と果皮を分離し，6 個体分を取り合わせて縮分試料 B とした（Fig.3-5-1 参照）。果肉と果皮の分離においては，スイカでは白色－赤色の境目部分，メロンでは緑色の濃くなる境目部分でそれぞれ切り分けた。各縮分試料は冷凍保存し，分析直前にミキサー（BLIXER-5Plus, Robot Coupe 製）で均一化した。

2-4. 分析法（スイカ及びメロン）

2-4-1. 試薬及び機器

アセタミプリド，ペンチオピラド（*(RS)-N*-[2-(1,3-dimethylbutyl)-3-thienyl]-1-methyl-3-(trifluoromethyl)-1*H*-pyrazole-4-carboxamide）及びピリダベン（2-*tert*-butyl-5-(4-*tert*-butylbenzylthio)-4-chloropyridazin-3(2*H*)-one）の各分析用標準品は和光純薬工業または関東化学より入手した。残留農薬分析用のアセトン，アセトニトリル，トルエン，HPLC用のテトラヒドロフラン，LC-MS用のアセトニトリル，特級のギ酸アンモニウムは和光純薬工業製を用いた。水は Milli-Q system（Millipore 製）による精製水を用いた。抽出液のろ別にはセルロースろ紙（No.704，日本理化学機械製）を用いた。精製の固相抽出カラムとして，スチレンジビニルベンゼン（SDB）ミニカラム（InertSep PLS-2, 0.5 g, ジーエルサイエンス製）及びグラファイトカーボンミニカラム（Supelclean ENVI-Carb, 0.5 g, シグマアルドリッチジャパン製）を用いた。測定には Agilent 製の 1290 液体クロマトグラフ／6460 トリプル四重極質量分析計 LC-MS/MS システムを用いた。

各農薬の標準溶液（200 mg/L）は，それぞれアセトニトリルで調製した。その一部をアセトニトリル／水（4:2, v/v）混液で希釈し，0.1～4 µg/L の溶液を調製して検量線の作成に使用した。

2-4-2. 抽出

全果実及び果皮を除いた果肉は 20 g，果皮は 10 g を三角フラスコに量りとり，アセトニトリル 100 ml を加えて 30 分間振とうした。抽出物をセルロースろ紙を敷いた桐山ロートで吸引ろ過し，残渣をアセトニトリル 50 ml で洗って洗液を合わせ，アセトニトリルで 200 ml に定容した。

2-4-3. 精製

抽出液 2 ml（全果実及び果皮を除いた果肉では試料 0.2 g 相当，果皮では 0.1 g 相当）

に水 8 ml を加え、予めアセトニトリル及び水で前処理した SDB ミニカラムに負荷した。次いで、アセトニトリル／水 (1:4, v/v) 混液 10 ml で洗浄して流出液を捨てた。最後にテトラヒドロフラン 15 ml を流下して溶出液をとり、減圧濃縮して窒素気流下で溶媒を留去した。続いて、残留物をアセトニトリル／トルエン (3:1, v/v) 混液 10 ml に溶解し、予め同混液で前処理したグラファイトカーボンミニカラムに流下した。更に同混液 40 ml を流下し、全ての溶出液をとり、減圧濃縮して窒素気流下で溶媒を留去し、残留物を適量 (全果実及び果皮を除いた果肉では 10~400 ml, 果皮では 5~200 ml) のアセトニトリル／水 (4:1, v/v) 混液に溶解して検液とした。その 10 μ L を LC-MS/MS に注入し、検量線より試料中の各残留濃度を算出した (定量限界各 0.01 mg/kg)。

2-4-4. LC-MS/MS 測定

LC 操作条件：カラム Atlantis dC18 (2.1 mm i.d. \times 150 mm, 粒径 5 μ m)。移動相 アセトニトリルと 5 mmol/l ギ酸アンモニウム溶液をグラジエントモード (所期条件 30%アセトニトリルから 4 分で 95%に引き上げ) で送液。流速 0.2 ml/分。カラム温度 40 $^{\circ}$ C。保持時間 アセタミプリド; 4.0 分, ペンチオピラド; 6.4 分, ピリダベン; 8.0 分。

MS/MS 条件：イオン化法 エレクトロスプレーイオン化法 (ESI), 正イオンモード。乾燥ガス温度 300 $^{\circ}$ C。乾燥ガス流量 5 L/分。ネブライザ圧力 45 psi。イオン導入電圧 4000V。フラグメンタ電圧 100V。コリジョン電圧 アセタミプリド 15V, ペンチオピラド 10V, ピリダベン 20V (以下同順, コリジョンガスは窒素)。イオン検出法 MRM 法。モニタリングイオン プリカーサーイオン m/z 223.0 ([M+H]⁺), 360.1 ([M+H]⁺), 365.1 ([M+H]⁺), プロダクトイオン m/z 126.0, 276.0, 147.2。

代表的なクロマトグラムを Fig. 3-5-2~3-5-4 に示した。

2-5. 分析法の妥当性 (スイカ及びメロン)

各分析対象成分について、それぞれの残留分析法が厚生労働省より通知されている¹³⁾。

ペンチオピラドの通知試験法は、アセトンで抽出し、グラファイトカーボンミニカラム及びC18ミニカラムで精製した後、LC-MSで定量する方法である。ピリダベン¹の通知試験法は、アセトンで抽出し、ヘキサンに転溶した後、フロリジル及びシリカゲルの各クロマトグラフィーで順次精製して、ガスクロマトグラフ（アルカリ熱イオン化検出器等）で定量する方法である。アセタミプリドの通知試験法は第2章で述べた。これらの単成分毎に設定された方法においては、本検討の分析対象物質を効率的に分析することが困難であるため、3物質について同時に固相抽出カラムにより精製し、LC-MS/MSを用いて定量する簡便な方法を検討し、その妥当性（回収率、精度及び選択性）について確認した。

分析法の妥当性は、スイカとメロンのそれぞれについて、全果実、果肉及び果皮の各部位別に均一化した各無処理試料に分析対象物質の標準溶液を添加し、各5連で分析して求めた回収率及び精度と、無処理試料を各2連で分析して選択性を確認することにより検証した（宮崎試料において実施）。添加濃度は、定量限界相当、0.25 mg/kg及び5 mg/kgとした。各成分における添加回収率をTable 3-5-2にまとめた。各平均回収率は75～104%、RSDは11.0%以下であった。各無処理試料の分析結果は、全て定量限界未満であり、クロマトグラム上の分析対象物質保持時間付近に妨害ピーク等は認められなかった。回収率は各添加濃度の平均回収率が70～120%の範囲内であること、精度はその相対標準偏差が15%以下であること、選択性は、分析対象の測定に影響を及ぼす夾雑物のピーク等が認められないことを指標とし、測定結果は全てこれを満たしたことから、分析法について妥当性が確認された。

分析期間中の精度の維持を、20試料当たり1点ずつの無処理試料と添加回収試料（QC:0.1 mg/kgの添加試料）の分析により確認した。その結果、添加回収試料の回収率は72～98%であり、無処理試料において各分析対象物質の測定上問題となる夾雑物ピーク等は認められなかった（Table 3-5-3参照）。回収率が70～120%の範囲内であることと、無処理試料において分析対象の測定に影響を及ぼす夾雑物のピーク等が認められないことを基準とし、結果は全てこれを満たしたことから、分析実施期間中、その精度が維持さ

れたことが確認された。

凍結試料中の各分析対象物質の安定性について確認するため、20 gの均一化試料を三角フラスコに量りとり、各分析対象物質の0.5 mg/kg相当を添加し、 -20°C で62～127日間保管した。これを分析した結果、回収率は75～97%であった（Table 3-5-3参照）。回収率が70%以上であることを基準とし、結果は全てこれを満たしたことから、試験に影響を及ぼす分析対象物質の保存中の消失はなかったことが確認された。

2-6. 試料縮分と部位分離分析の影響評価方法

スイカ及びメロンについての実験は、以下を前提として設計した（Fig. 3-5-1参照）：縮分試料A及びBの総平均値は、試料縮分及び部位分離分析を行わない場合の理論上の分析値を表す。果肉果皮の一体分析を行う縮分試料Aにおいて試料縮分の影響が示される。果肉果皮の分離分析を行う縮分試料Bは試料縮分と部位分離分析の両影響を複合的に示す。

具体的には、試料縮分と果肉果皮の分離分析が農薬残留値に及ぼす影響を、スイカ及びメロンの縮分試料A及びB（Bは果肉果皮の各数値からから全果実あたりの残留値を求める）の各分析結果の変動比率（A/B）及び変動係数（C.V.）により評価した。A/B値は縮分試料Aの測定値を縮分試料Bの数値で割ったものとした。C.V.値は縮分試料AとBの差をそれらの平均値で割った絶対値とした。なお、果皮を除いた果肉において検出が定量限界未満(<0.01 mg/kg)であった場合、全果実換算の際には定量限界相当の残留として扱った²³⁾。

結球レタスについても、縮分試料A及びBについて同様の数値処理を行いA/B値及びC.V.値を得た。

3. 結果及び考察

3-1. リンゴの分析部位の違いによる残留濃度の比較

リンゴの8圃場（各圃場当り10個体を1試料とする）の可食部及び非可食部での部位

別残留濃度と、全果実での残留濃度は本章第 4 節 Table 3-4-3 に示した。各圃場試料の残留濃度は可食部で 0.18~0.42 mg/kg の範囲、平均値±標準偏差 (SD) は 0.28 mg/kg±0.08 mg/kg (相対標準偏差(RSD) ; 29%) , 非可食部で 0.22~1.26 mg/kg の範囲、平均値±SD は 0.60 mg/kg±0.33mg/kg (RSD ; 56%) , 全果実で 0.16~0.36 mg/kg の範囲、平均値±SD は 0.28 mg/kg±0.08 mg/kg (RSD ; 29%) であった。各圃場試料の残留濃度について、部位別の分析値及びそれらから求めた全果実当たりの計算値と、全果実の分析実測値をそれぞれプロットして Fig. 3-5-5 に示した。先にも触れた通り、リンゴの分析部位は、海外では「果実全体」であるが^{23,43)}、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)」と規定されており、同時に非可食部の分別分析が推奨されている⁴¹⁾。国際的な標準分析部位である「果実全体」と、日本における評価対象であった「可食部」では、残留濃度は異なることが予想されたが、異なる個体群を用いて果実全体と可食部の各残留濃度を比較した本調査においては、残留値に明確な差異は認められなかった。可食部及び非可食部の残留値から計算により求めた全果実あたりの残留値を含めた、Kruskal-Wallis 検定 (危険率 5%) の結果においても、これら 3 群の残留濃度間に有意差は認められなかった (検定統計量 $H=0.894$, 臨界値 $\chi^2_{0.05}=5.991$)。

しかしながら非可食部の残留濃度は、山梨及び福島試料を除いた圃場で可食部よりも高く、半数の圃場で 2 倍以上の高い濃度を示していた (最大 4.5 倍 : 長野-2 試料, 本章第 4 節 Table 3-4-3) 。その原因として、散布農薬の果梗基部の窪みへの集中や、芯のクラッキング部分への侵入により、この部位の残留性が高いことが推察された。全果実に対する非可食部の重量比は 10%程度であるため、前述したように、この部位の残留値を可食部の残留値に織り込んだとしても、統計学上の有意な差異は認められなかったが、全体としては 10%程度高い値 (8 圃場試料平均で果実全体 0.31mg/kg > 可食部 0.28mg/kg, 本章第 4 節 Table 3-4-3) となった。以上のことから、分析対象部位を果実全体とする海外の手法を採用した場合は、可食部のみを対象とする日本の手法よりも、僅かではあるが残留値が高まることが示唆された。

なお、本章第 4 節 Table 3-4-3 の最右列では、全果実の「分析実測値」に対する部位別の分析値から求めた全果実当たりの「計算値」の割合として、両者の差を示した。Fig. 3-5-5 でも認められる通り、山梨試料では 67% (33%差、実測値 0.16 mg/kg に対して計算値 0.24 mg/kg) , 秋田試料では 70% (30%差、同様に 0.32 mg/kg に対して 0.46 mg/kg) となるなど、比較的大きな違いが示されている。その要因は不明であるが、全果実を実測した個体群と、部位別分析した個体群 (各 10 個体試料) が異なることにより、実残留値が異なっているものと推察される。可食部について分析した場合、10 個体試料を均一化することにより個体間変動による残留値への影響は抑制されることを先に述べたが (本章第 4 節) , 非可食部として得られる試料量はそれらに比べてはるかに少ないことから、変動の抑制に十分ではなく、それが反映された可能性が考えられる。

3-2. スイカ及びメロンにおける部位別分析と試料縮分操作

3-2-1. スイカ及びメロン試料に関する情報

供試したスイカの重量は 1.22~1.57 kg, メロンの重量は 1.52~1.83 kg であった (Table 3-5-1)。本試験における栽培品種の選択は、なるべく残留値が高くなることを念頭に、スイカは小玉品種、メロンはネット系品種とした。全果実に対する果皮の重量比率は、スイカで 18~25%, メロンで 8~12% であった。果皮の厚さは、スイカで 4~5mm, メロンで 1~2mm であった。

3-2-2. スイカ及びメロンの残留分析値

スイカとメロンの残留分析値及び各種算出値を Table 3-5-4 と 3-5-5 に示した。スイカの果肉及び果皮の一体分析試料 (縮分試料 A) におけるアセタミプリド、ペンチオピラド及びピリダベン各残留値は、それぞれ 0.06~0.09, 0.04~0.07 及び 0.10~0.17 mg/kg であった。同様に、メロンの果肉及び果皮の一体分析試料の各残留値は、0.18~0.36, 0.12~0.28 及び 0.16~0.33 mg/kg であった。スイカ、メロン共に同様の薬剤処理を行ったにもかかわらず

ず、残留値はスイカに比べてメロンが高い。滑らかな表面構造のスイカに比べて、ざらついたメロンのネット構造が残留に関与するものと考えられる。

果肉と果皮の分離分析を行う縮分試料Bは、メロンの果皮の試料量を確保する必要性から、縮分試料Aを取り分けた残りの全試料とした（Fig.3-5-1）。果肉試料において、ペンチオピラド及びピリダベンはスイカ及びメロンの全試料で定量限界未満となった。アセタミプリドについては宮崎のメロンでは定量限界未満となったが、茨城のメロン及び両圃場のスイカにおいては検出となった。アセタミプリド等のネオニコチノイド系殺虫剤は浸透性、浸透移行性を持つが²⁰⁾、本試験においては最大でも茨城のスイカでの0.04 mg/kgの検出に留まった。加えて、ここでの処理回数あるいは処理量は、ラベルレートを超えた設定であり、市販品における状況を示すものではない。

一方、スイカ、メロン共に残留農薬の大部分は果皮に存在した。縮分試料Bの果皮から検出された3種農薬は、スイカにおいて0.19～0.78 mg/kg、メロンにおいて1.78～3.82 mg/kgであった。果肉における残留が僅かであったことから、果肉と果皮における各残留値の相関関係を確認することはできなかった。

3-2-3. スイカ及びメロンにおける試料縮分と部位分離分析の影響

果肉と果皮を分離分析した測定値より求めた縮分試料Bの全果実換算値、縮分試料A及びBに基づくA/B及びC.V.値をTable 3-5-4及び3-5-5にまとめた。縮分試料Bにおけるアセタミプリド、ペンチオピラド及びピリダベンのスイカ全果実換算残留値は、0.06～0.10, 0.05～0.07及び0.13～0.18 mg/kgであった。同じくメロン全果実換算残留値は、0.19～0.38, 0.17～0.38及び0.20～0.45 mg/kgであった。

アセタミプリド、ペンチオピラド及びピリダベンのA/B値は、スイカで70～123%、メロンで62～100%の範囲で、その平均値（±SD）は91±15%及び83±11%であった。また、各C.V.値は、<35%及び<48%であった。

3-2-4. スイカ及びメロンの分析結果についての考察

果肉と果皮を分離してそれぞれ分析することは、作物中残留農薬の暴露量評価において有用である²³⁾。本試験の結果においても、ほとんどの残留農薬は果皮に分布し (≥ 0.13 mg/kg)，果肉においては定量限界値のトレースレベル (≤ 0.04 mg/kg) であることが確認された。

農薬の最終処理から収穫までの日数 (PHI) と残留農薬の減衰の関係を確認することは、作物残留試験において最大残留量 (HR) を求める上で重要な課題のひとつである^{10,24)}。本試験において、茨城のメロンのアセタミプリド残留値は、PHIの増加 (1, 3及び7日) と共に果肉において0.01, 0.02及び0.03 mg/kg, 果皮において3.11, 3.11及び3.82 mg/kgと、増加する結果となっている。しかし、これらを全果実に換算した場合、0.38, 0.36及び0.33 mg/kgとなり、減少している (Table 3-5-5)。この逆転現象は、果肉と果皮の重量比がPHIの増加と共に88:12, 89:11及び92:8と変化したことに起因したものであった。果実において果肉と果皮を分別分析した場合、その重量比は全果実当たりの残留値を算出する際に重要な要素となることが確認された。

Fig. 3-5-6では、試料縮分について、箱グラフにより各圃場、各作物のA/B値を示した (各列において3農薬, 3PHIの数値を集計し、箱の長さでSDを、数字表記で最大/最小値を示した)。Mann-Whitney *U*-testによる統計解析の結果、スイカ、メロン共に縮分試料AとBについて有意差は認められなかった ($n_1, n_2 = 36, 36, z = 0.87441, P = 0.381895, 5\%$ 水準)。

農薬や作物、試験条件や評価方法が異なるため、直接的な比較はできないが、本試験の試料縮分についての変動係数C.V.は、スイカで最大35%、メロンで最大48%と算出されたのに対し、Omeroglu⁴⁵⁾らは、ジャックフルーツにおけるチオファネートメチルの変動係数が17%、キュウリにおけるイプロジオン及びピリミホスメチルの変動係数が17~21%と報告しており、これらとの比較では、やや大きい数値となった。

3-3. 結球レタスにおける試料縮分の影響

結球レタスの縮分試料A及びBに基づくA/B及びC.V.値をTable 3-5-6に示した。縮分試料間の変動係数 (C.V.) について、最大値は群馬のPHI=7d試料におけるアゾキシストロピンの78%で、そのA/B値は44%であった。同じ試料から作製したふたつの縮分試料におけるアゾキシストロピンの残留濃度の差異は最大2.3倍であった (最大値0.64mg/kg, 最小値0.28mg/kg)。なお、農薬毎のMann-Whitney U-testによる統計解析の結果においては、結球レタスの縮分試料AとBについて5%水準で有意差は認められなかった (各農薬 $n_1, n_2 = 18, 18$, $z = 0.918$, $P = 0.358$)。

農薬残留濃度の縮分試料間の差 (%) を箱グラフによりFig. 3-5-7に示す。ジノテフランにおけるA/Bの幅は72~120%であり、他の3農薬の44~178%と比較して明らかに小さい変動幅となっている。Table 3-5-6に示した変動係数の平均値でも、ジノテフランが14%であるのに対し、他の3農薬は28~31%であり、差が認められる。アセタミプリドは比較的低いlogPow (0.80) であり、ジノテフランのそれ (-0.549) に近い。しかしながら、アセタミプリドにおけるA/Bの幅は、他の2農薬と同等レベルであり、農薬の水溶性が直接影響を及ぼすわけではないことが示唆される。

ジノテフランについて縮分試料間の残留濃度差が小さかった理由は、定植時の植穴処理という製剤施用方法によるものと推察される。他の農薬製剤は全て作物への散布処理である。そのため、ジノテフランのPHIは、他の農薬がPHI=1~7dであるのに対し48~75dと長い期間となっている。各作物個体内における農薬の分布は、PHI、吸収経路や農薬の浸透性移行性に依存しており、土壤に処理されてかつPHIの長いジノテフランにおいては、茎葉の表面に処理 (散布) されてかつPHIの短い他の農薬に比べて、作物内でより均一に分布したと考えられる。一方、散布処理された農薬の大部分は、特に結球レタスやキャベツのような結球葉菜類においては外側の葉に偏在する^{35,40}。以上のことは、著者らが別途行ったジノテフランの顆粒水和剤を白菜に散布処理した場合の結果³⁶においても裏付けられる。その縮分試料間の残留濃度差に関する傾向は、本研究で明らかとなった他の農

薬（散布処理剤）と同等であった。即ち、製剤施用方法が試料個体内における農薬の残留部位に大きく関与し、試料縮分操作による残留分析値の変動にも影響を及ぼすことが示された。但し、本研究で設定した試験条件は、作物への吸収と分布の過程においてPHIが果たした役割を解析するためには不十分であり、製剤施用方法と同時に関与すると考えられるPHIの影響については、独立した評価は出来なかった。

4.まとめ

残留農薬分析における試料調製方法の重要性は広く認識されており、国際的なガイドラインにおいても慎重な取扱いが要求されている^{21,43)}。収穫前に散布された農薬の作物への残留については、農薬の物理的・化学的性質や処理方法、PHI、栽培方法、気象環境、生育状況、試料採取方法等、様々な要因によりその分布が不均一となることが知られている¹⁶⁻¹⁹⁾。結球レタスの検討において、試料縮分操作による変動が農薬の処理方法に大きく依存することが示されたが、結球レタス、スイカ及びメロンのいずれの場合でも、統計的には試料縮分操作は農薬残留値に有意な影響を及ぼさないことが示された。しかし、影響の大小にかかわらず、分析に携わる者は、上に列記したような要因以外の不確定要素が残留分析結果に加わることを出来る限り回避しなければならず、試料縮分操作は出来るだけ避けることが望ましいと考えられる。ただし、スイカやメロンにおいて果肉果皮の分離分析値から全果実の残留値への換算を行う手法は、分析精度に有意な影響を及ぼさないことが示され、暴露量評価に資する情報が獲得できる合理的で適切な手法であることが確認できた。また、リンゴにおいては非可食部に農薬が偏在する可能性があるため、従来日本で行われてきた可食部のみの分析に対して国際的に広くおこなわれている全果実分析とした場合には、わずかに残留値が高くなる可能性が示唆されたが、統計的な有意差は認められなかった。

5. 表

Table 3-5-1. Field experimental data (watermelon and muskmelon)

Field location (planting area, planting rate ^a)	Variety	Sample weight, min–max ^b	Planting date ^c
Watermelon			
Ibaraki (31 m ² , 830 units)	Benikodama V	1.47–1.57 kg (80:20–82:18)	Sep 27 to Oct 18, 2010
Miyazaki (27 m ² , 1300 units)	Hitorijime HM	1.22–1.39 kg (75:25–77:23)	Nov 14 to Dec 5, 2010
Muskmelon			
Ibaraki (24 m ² , 2200 units)	Quincy	1.52–1.70 kg (88:12–92:8)	Oct 17 to Nov 7, 2010
Miyazaki (15 m ² , 1600 units)	Earls seine aki-fuyu II	1.67–1.83 kg (91:9–92:8)	Nov 28 to Dec 19, 2010

^a Planting rate (/10 a).

^b Mean sample weight from 6 units in each sampling point and weight ratio of pulp and peel portions in size-reduced sample B (pulp:peel, in parentheses).

^c From the first pesticide application date to the sampling date.

Table 3-5-2. Results of recovery test (watermelon and muskmelon)

Pesticide (crop)	Spike level, mg/kg	Mean recovery,% (RSD,%)		
		pulp with peel	pulp	peel
Acetamiprid (watermelon)	5	98 (0.9)	101 (2.5)	97 (0.7)
	0.25	98 (0.6)	96 (1.9)	95 (1.7)
	0.01	98 (7.8)	82 (2.0)	87 (2.5)
Penthiopyrad (watermelon)	5	97 (0.6)	96 (2.4)	95 (0.9)
	0.25	88 (1.0)	96 (4.6)	81 (2.1)
	0.01	86 (11.0)	93 (2.9)	75 (3.5)
Pyridaben (watermelon)	5	94 (1.4)	104 (1.8)	93 (1.5)
	0.25	88 (1.0)	95 (2.5)	86 (2.9)
	0.01	82 (6.1)	83 (2.5)	88 (6.6)
Acetamiprid (muskmelon)	5	100 (1.7)	102 (0.8)	96 (1.2)
	0.25	98 (1.4)	100 (1.5)	95 (0.9)
	0.01	94 (1.6)	90 (1.6)	96 (1.5)
Penthiopyrad (muskmelon)	5	99 (2.6)	97 (1.7)	97 (0.9)
	0.25	89 (1.7)	85 (4.1)	83 (1.1)
	0.01	80 (2.9)	88 (4.3)	91 (3.2)
Pyridaben (muskmelon)	5	96 (2.9)	95 (1.4)	101 (0.7)
	0.25	91 (2.4)	87 (1.5)	95 (2.3)
	0.01	88 (2.0)	79 (2.9)	85 (1.5)

RSD: relative standard deviations (n = 5).

Table 3-5-3. Recovery range of quality control (QC) and stability test (watermelon and muskmelon)

Pesticide, portion to be analyzed	Watermelon		Muskmelon	
	QC	Stability ^a	QC	Stability ^j
Acetamiprid				
pulp with peel	93, 94, 95	93–97	93, 93, 96	89–90
pulp without peel	94, 98	91–94	96, 94	88–91
peel	95, 94	90–92	87, 86	85–88
Penthiopyrad				
pulp with peel	81, 83, 82	88–93	78, 82, 84	84–86
pulp without peel	85, 87	90–92	80, 80	86–90
peel	73, 76	78–81	74, 72	75–76
Pyridaben				
pulp with peel	87, 86, 89	91–96	86, 86, 89	81–83
pulp without peel	91, 94	92–94	90, 83	75–82
peel	86, 78	80–83	91, 84	79–82

QC: recoveries of quality control samples spiked at 0.1 mg/kg (%).

^a Recovery range of stability samples spiked at 0.5 mg/kg (%; n = 4).

Table 3-5-4. Effect of sample-size reduction and separate analyses of pulp and peel portions on pesticide residue levels in watermelon

Pesticide;	field	PHI	Sample A, ^a mg/kg	Sample B, mg/kg			A/B (C.V.), ^c %
				pulp	peel	whole ^b	
Acetamiprid;							
Ibaraki		1 day	0.07	0.02	0.29	0.07	100 (-)
		3 days	0.08	0.02	0.25	0.07	114 (13)
		7 days	0.07	0.04	0.35	0.10	70 (35)
Miyazaki		1 day	0.06	0.01	0.20	0.06	100 (-)
		3 days	0.09	0.02	0.34	0.10	90 (11)
		7 days	0.06	0.02	0.24	0.07	86 (15)
Penthiopyrad;							
Ibaraki		1 day	0.06	<0.01	0.28	0.06	100 (-)
		3 days	0.06	<0.01	0.27	0.06	100 (-)
		7 days	0.04	<0.01	0.23	0.05	80 (22)
Miyazaki		1 day	0.07	<0.01	0.24	0.07	100 (-)
		3 days	0.05	<0.01	0.23	0.07	71 (33)
		7 days	0.04	<0.01	0.19	0.05	80 (22)
Pyridaben;							
Ibaraki		1 day	0.16	<0.01	0.78	0.16	100 (-)
		3 days	0.16	<0.01	0.61	0.13	123 (21)
		7 days	0.10	<0.01	0.72	0.14	71 (33)
Miyazaki		1 day	0.17	<0.01	0.67	0.18	94 (6)
		3 days	0.14	<0.01	0.70	0.18	78 (25)
		7 days	0.12	<0.01	0.56	0.14	86 (15)

PHI: preharvest interval after the final pesticide application.

^a Mean of the measured residue levels from the size-reduced sample A (pulp with peel sample) in duplicate analysis.

^b Calculated residue levels from the mean of the measured residue levels from the size-reduced sample B in duplicate separate analyses of pulp and peel portions. Then, the non-detect value in pulp without peel portion (<0.01 mg/kg) was replaced by the limit of quantification in the calculation to express the residue level of the whole fruit.

^c The percent difference (A/B) was calculated from the residue levels in the size-reduced sample A divided by B. Coefficient of variation (C.V., in parentheses) was calculated from the absolute value of the percent difference between the size-reduced samples A and B divided by their overall mean.

Table 3-5-5. Effect of sample-size reduction and separate analysis pulp and peel portions for pesticide residue levels in muskmelon

Pesticide;	field	PHI	Sample A, ^a mg/kg	Sample B, mg/kg			A/B (C.V.), ^c %
				pulp	peel	Whole ^b	
Acetamiprid;							
Ibaraki	1 day		0.36	0.01	3.11	0.38	95 (5)
	3 days		0.36	0.02	3.11	0.36	100 (-)
	7 days		0.31	0.03	3.82	0.33	94 (6)
Miyazaki	1 day		0.22	<0.01	2.88	0.24	92 (9)
	3 days		0.18	<0.01	2.44	0.23	78 (24)
	7 days		0.19	<0.01	2.04	0.19	100 (-)
Penthiopyrad;							
Ibaraki	1 day		0.28	<0.01	3.12	0.38	74 (30)
	3 days		0.26	<0.01	2.66	0.30	87 (14)
	7 days		0.26	<0.01	3.51	0.29	90 (11)
Miyazaki	1 day		0.19	<0.01	2.68	0.22	86 (15)
	3 days		0.14	<0.01	2.29	0.22	64 (44)
	7 days		0.12	<0.01	1.78	0.17	69 (36)
Pyridaben;							
Ibaraki	1 day		0.33	<0.01	3.64	0.45	73 (31)
	3 days		0.24	<0.01	2.50	0.28	86 (15)
	7 days		0.20	<0.01	2.89	0.24	83 (18)
Miyazaki	1 day		0.22	<0.01	3.41	0.28	79 (24)
	3 days		0.16	<0.01	2.84	0.26	62 (48)
	7 days		0.16	<0.01	2.14	0.20	80 (22)

PHI: preharvest interval after final pesticide application.

^a Mean of the measured residue levels from the size-reduced sample A (pulp with peel sample) in duplicate analysis.

^b Calculated residue levels from the mean of the measured residue levels from the size-reduced sample B in duplicate separate analyses of pulp and peel portions. Then, the non-detect value in pulp without peel (<0.01 mg/kg) was replaced by the limit of quantification in the calculation to express the residue level of the whole fruit.

^c The percent difference (A/B) was calculated from the residue levels in the size-reduced sample A divided by -B. Coefficient of variation (C.V., in parentheses) was calculated from the absolute value of the percent difference between the size-reduced samples A and B divided by their overall mean.

Table 3-5-6. Effect of sample size reduction on residue levels of pesticides in lettuce heads grown in greenhouses

Sample ^a	Sampling ^b	A/B (C.V.) %			
		Acetamiprid	Azoxystrobin	Dinotefuran	Permethrin
Ibaraki	1-d (69-d)	147 (38)	143 (36)	113 (13)	138 (32)
	3-d (71-d)	68 (39)	66 (41)	78 (25)	63 (45)
	7-d (75-d)	99 (1)	102 (2)	94 (6)	91 (9)
Gunma	1-d (64-d)	165 (49)	136 (30)	120 (18)	125 (22)
	3-d (66-d)	62 (47)	67 (40)	89 (12)	64 (44)
	7-d (70-d)	70 (36)	44 (78)	85 (16)	48 (71)
Nagano	1-d (50-d)	117 (16)	109 (8)	90 (11)	97 (3)
	3-d (52-d)	159 (46)	178 (56)	95 (5)	140 (33)
	7-d (56-d)	66 (41)	54 (60)	81 (20)	55 (58)
Mie	1-d (64-d)	60 (51)	54 (59)	80 (22)	55 (59)
	3-d (66-d)	156 (44)	142 (34)	81 (21)	140 (34)
	7-d (70-d)	125 (22)	144 (34)	103 (3)	133 (29)
Kochi	1-d (48-d)	96 (4)	93 (8)	100	76 (27)
	3-d (50-d)	104 (4)	98 (2)	90 (11)	83 (18)
	7-d (54-d)	119 (17)	112 (11)	100	98 (2)
Miyazaki	1-d (49-d)	101 (1)	105 (4)	81 (21)	116 (15)
	3-d (51-d)	69 (37)	67 (40)	72 (32)	75 (29)
	7-d (55-d)	93 (7)	100	90 (10)	79 (24)
Overall mean value (C.V.)		(28)	(30)	(14)	(31)

A/B: the percentage of difference is calculated by dividing the mean residues of size-reduced sample-A by sample-B. C.V.: the coefficient of variation is calculated by dividing the absolute value of their difference (mean residues of sample-A minus sample-B) divided by their overall mean.

^a Field name with the days after final application.

^b Days after final application (Days after application of dinotefuran is expressed in parentheses).

6. ㉔

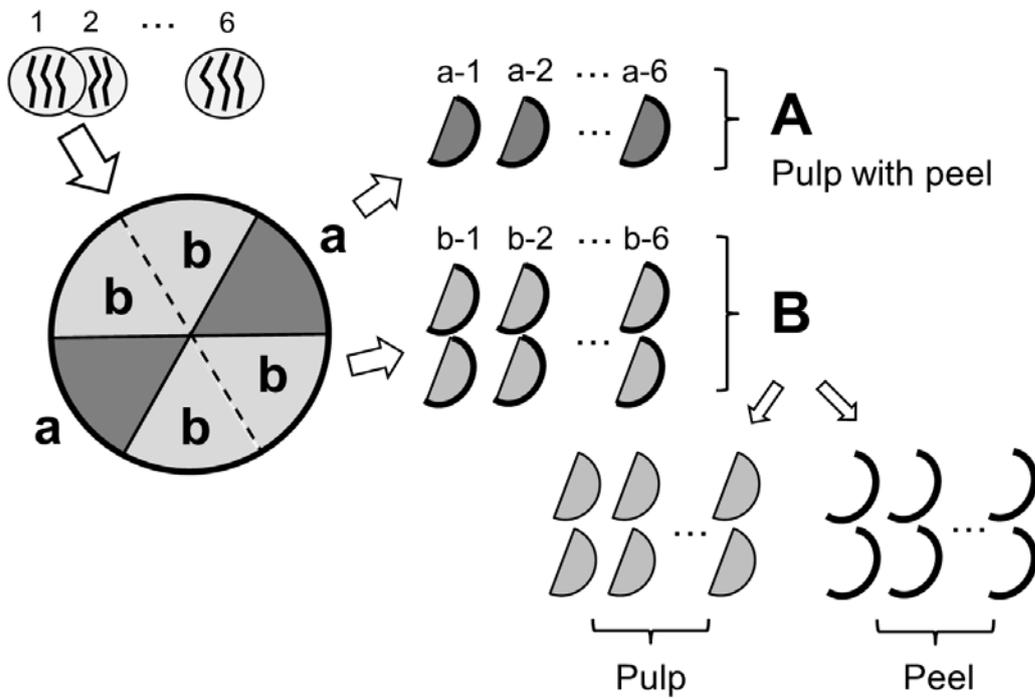


Fig. 3-5-1. Sample-size reduction procedure of the watermelon and muskmelon samples that were used for analyses after removal of the stem.

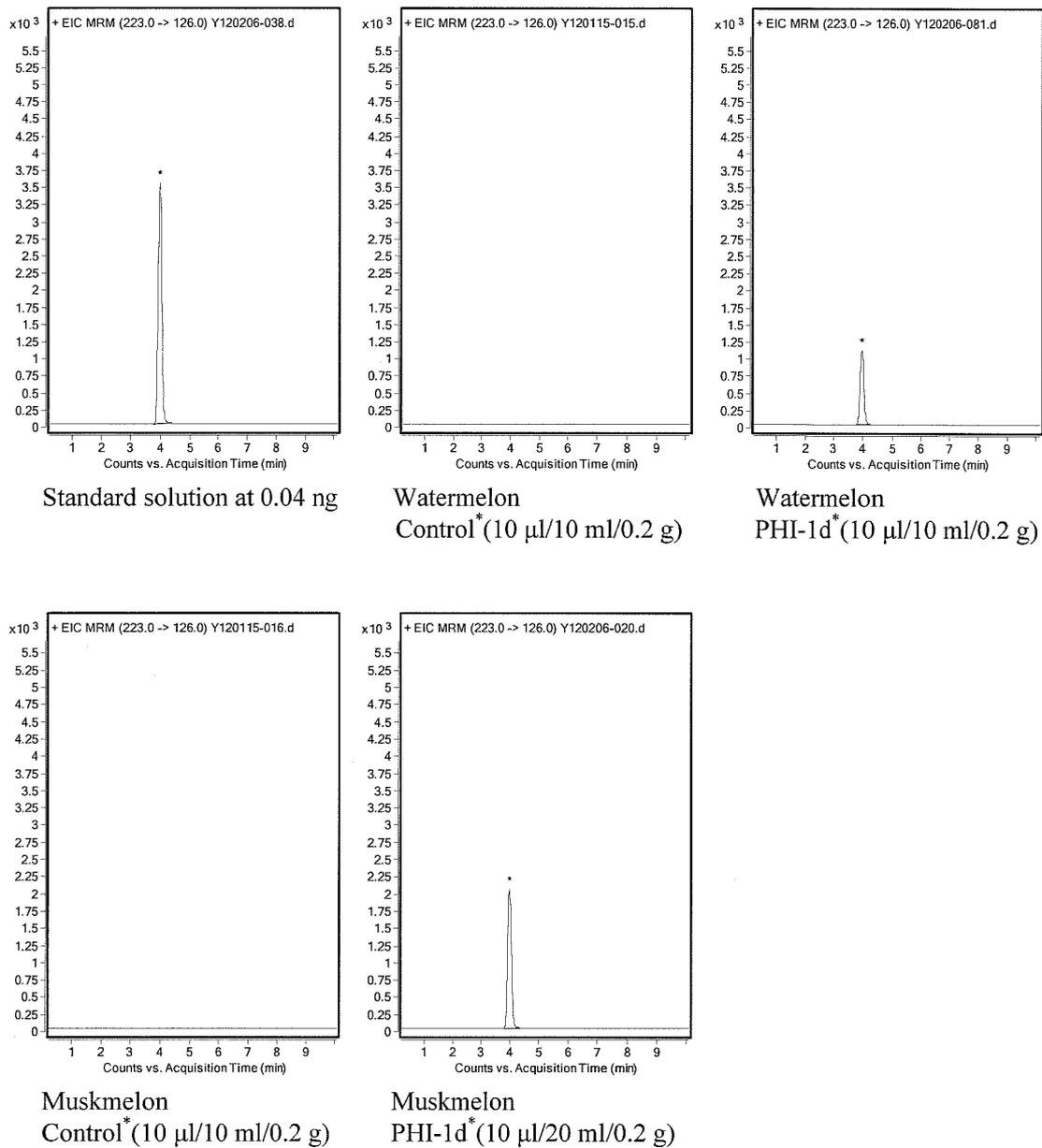


Fig. 3-5-2. Representative chromatograms of acetamidrid in watermelons and muskmelons.

* Representative chromatograms of the Miyazaki field samples (pulp with peel sample).

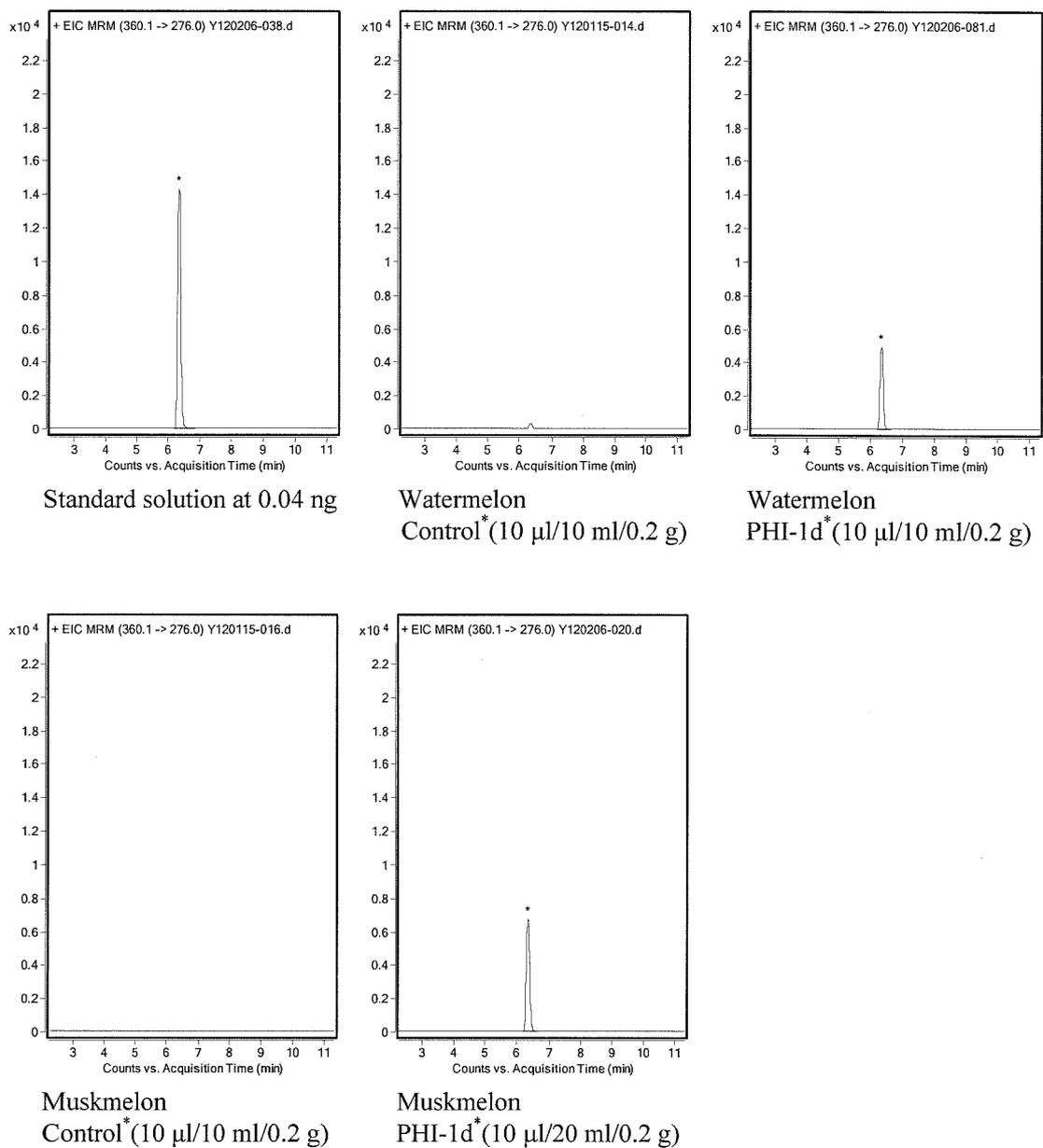


Fig. 3-5-3. Representative chromatograms of penthiopyrad in watermelons and muskmelons.

* Representative chromatograms of the Miyazaki field samples (pulp with peel sample).

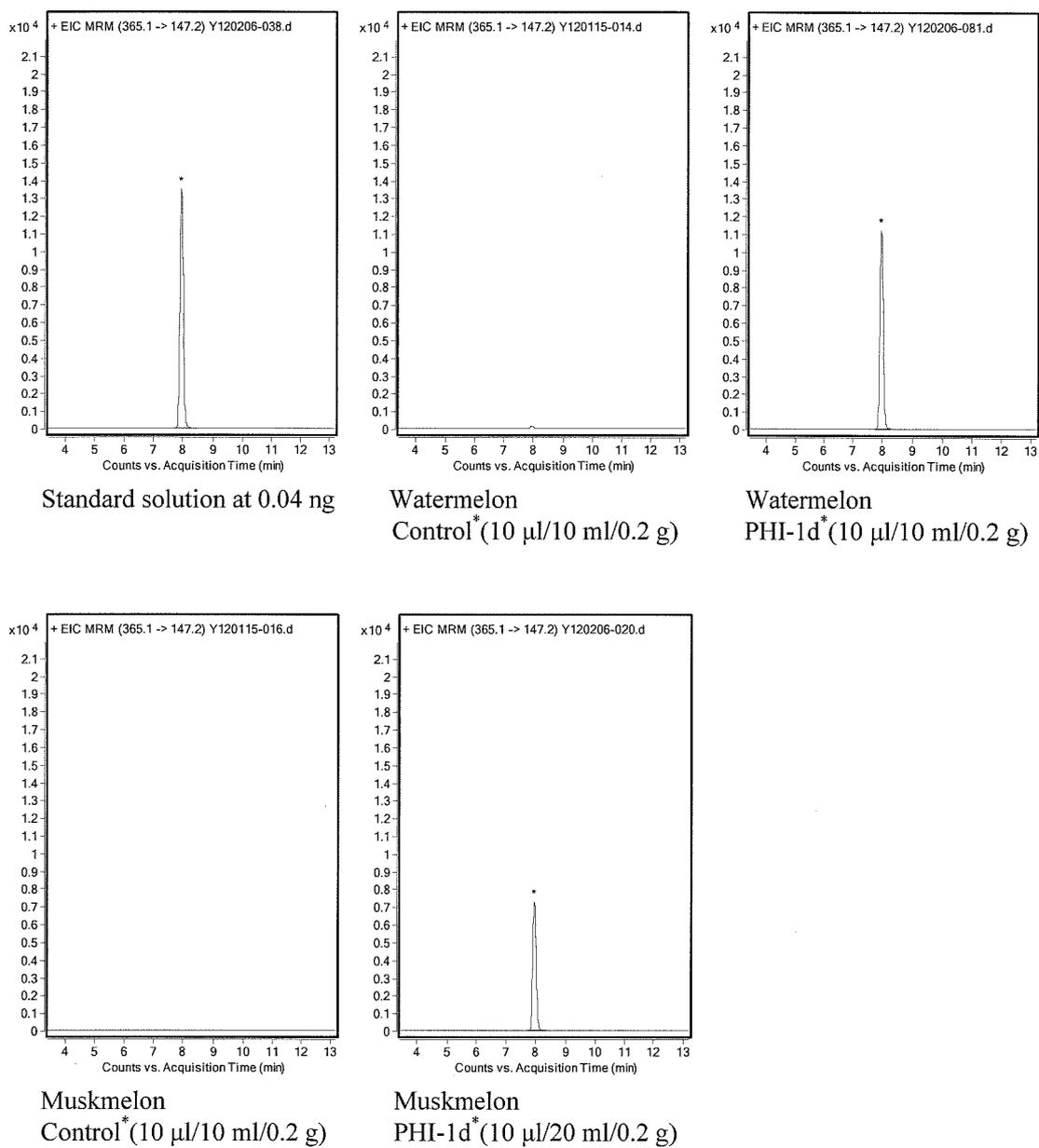


Fig. 3-5-4. Representative chromatograms of pyridaben in watermelons and muskmelons.

* Representative chromatograms of the Miyazaki field samples (pulp with peel sample).

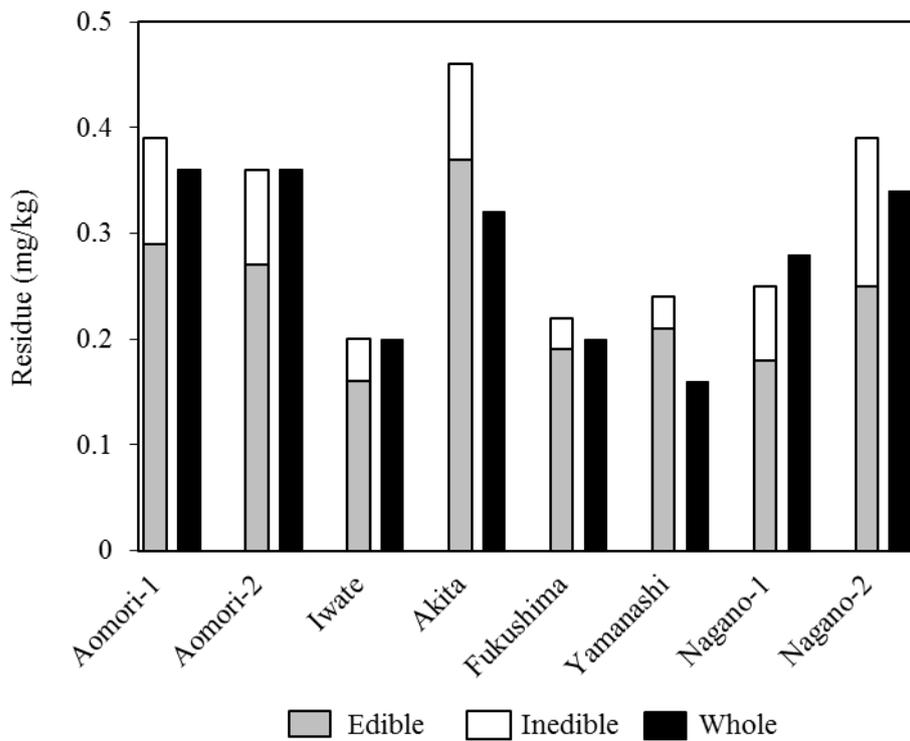


Fig.3-5-5. Residue levels of cypermethrin in the whole apple commodities sampled from eight Japanese orchards (left side bar: calculated whole residue levels obtained from measuring values of edible and inedible portions, right side bar: measured residue levels obtained from whole commodity samples).

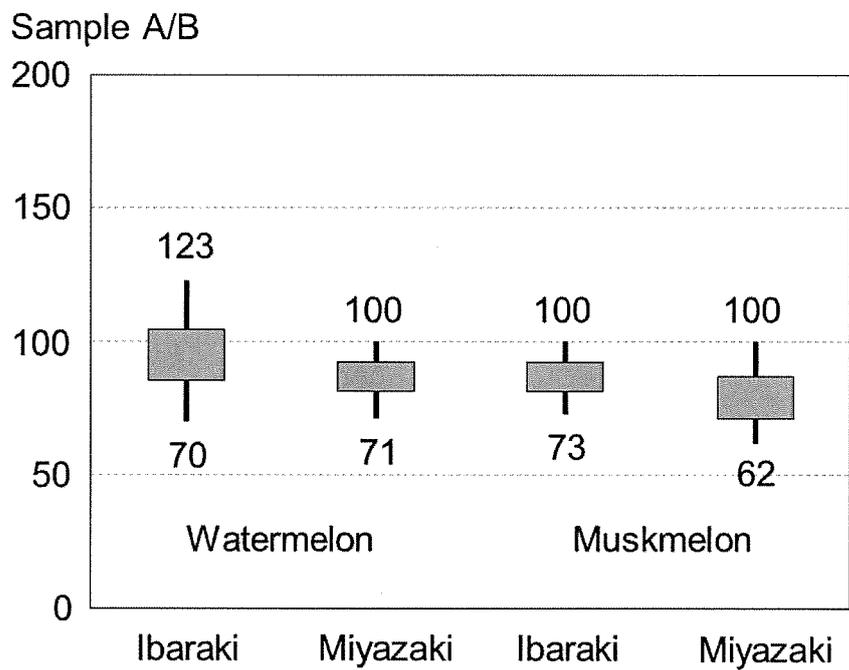


Fig. 3-5-6. Boxplots of the percent difference of the pesticide residue levels between the size-reduced samples A and B (A/B, n = 9). The lines from the bottom to the top indicate the range from minimum to maximum A/B values of each pesticide, respectively, and the band of the box indicates their standard deviations.

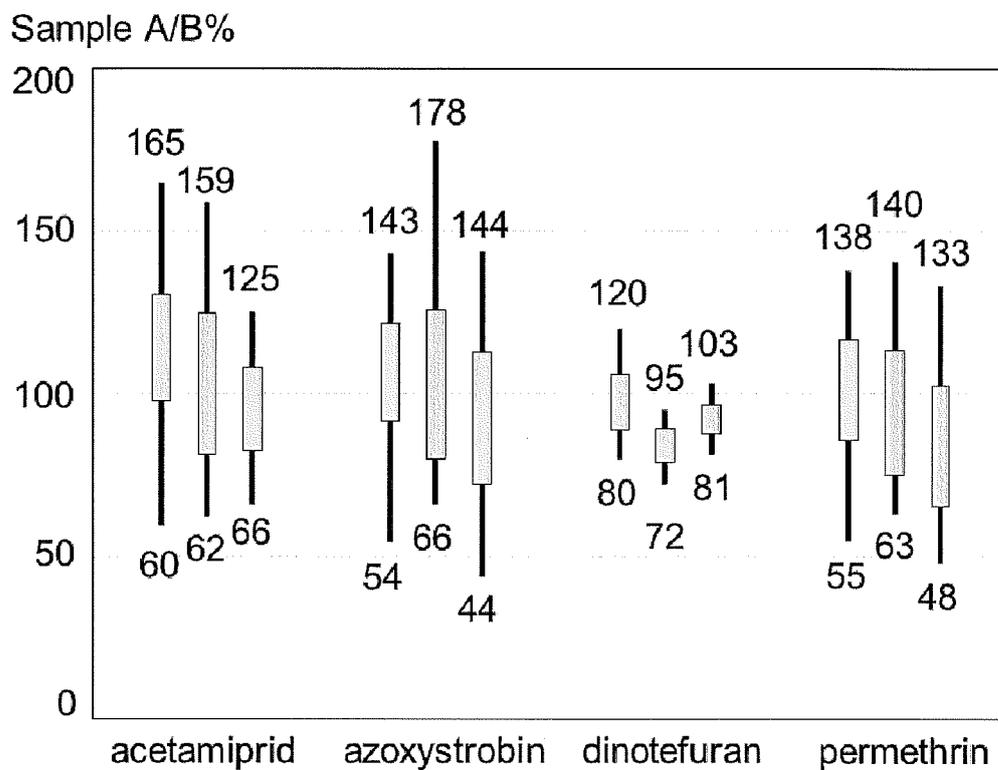


Fig. 3-5-7. Box plots of the percentages (A/B%) of difference in the residue levels of pesticides between the size-reduced lettuce head sample-A and sample-B in order of the days after final applications (dinotefuran, 48–69, 50–71, and 54–75 days; the other pesticides, 1, 3 and 7 days). The lines from bottom to top indicate the range from minimum to maximum A/B values of each pesticide, and the band of the box expresses their standard deviations.

第4章 「総括」

農産物流通の国際化や生産の効率化の進展とともに、食品の安全性に対する関心は高まっており、農薬の安全性評価についても、一層の充実が求められている。残留農薬に関する取り組みでは、従来の慢性毒性に基づく残留基準値の規制と併せて、急性参照用量の設定による規制が日本においても検討されている。本研究では、その際に必要となる情報の一つである、作物試料個体間の残留農薬の変動 (Variability factor) を調査した。また、より適切に、より精度良くリスク管理を行うために、作物への農薬の残留性に関する知見の充実が求められている。農薬の残留性に対しては、物質自体が持つ性質に加えて、栽培環境 (雨除けや恒温施設の有無を含む、温度、水量、土性、日照量等)、作物の種類 (品種、形状)、生育状況 (収穫物の状態、病害等の発生と防除)、農薬の処理方法 (剤型、散布機、技術等の差) 等が、影響を及ぼす要因となる。残留分析は、これらの要因から受ける影響を適切に評価、考察した上で行う必要があり、それが分析目的における結果数値の精度を左右する。本研究では、試料量が及ぼす影響、栽培条件が及ぼす影響、試験圃場の違いが及ぼす影響、及び供試試料の取り扱い方法が及ぼす影響について検討し、知見を得た。以下に、本研究における主な知見を章ごとに示した後、総合的に考察し今後の課題等を整理する。

第1章「緒言」では、EU や米国では慢性毒性に基づく基準、一日摂取許容量 (ADI) と同時に整備されている急性毒性に基づく基準、急性参照用量 (ARfD) について概要を示し、その際に必要となる情報の一つとして個体毎の残留農薬濃度の変動係数 (VF) があることと、日本における検討例として本研究で調査することの意義を述べた。また、日本における消費者の食品安全への関心は高く、より適切に、高い精度で農薬のリスク管理を行うことが求められており、そのためには作物への農薬の残留性に影響を及ぼす要因に関する知見の集積が必要であることを述べた。それに基づき、本研究では、供試試料量、作物の栽培条件、試験圃場の違い、供試試料の取り扱い方法について、各要因が残留性に及ぼす影響を調査することにより、その一助とすることを述べた。加えて、

これらの情報は、日本における残留農薬のリスク評価及びリスク管理の国際化を進める上での有益な情報となることを示した。

第 2 章「残留濃度の個体間変動」では、シペルメトリンまたはアセタミプリドを処理した 5 作物における VF 値を求めた。得られた VF 値は、リンゴ（シペルメトリン）で 1.76 及び 1.75、キャベツで 2.00（アセタミプリド）及び 2.39（シペルメトリン）、ブドウで 1.82（アセタミプリド）及び 1.63（シペルメトリン）、ピーマン（シペルメトリン）で 1.48、ブロッコリー（アセタミプリド）で 1.72 であった。これらは全て FAO/WHO の合同残留農薬専門家会議（JMPR）においてデフォルトとされている VF=3 を下回り、日本においてもこの数値が採用可能であることが示唆された。また、海外での検討例と比較すると、本研究で求めた数値が全体的に低い傾向が認められ、日本の特徴的な栽培方法や農薬散布方法（ブドウにおける棚づくり栽培や、低濃度多水量で動力噴霧器等を用いる処理方法）がその要因であることを考察した。水溶性の異なる 2 剤をタンクミックスで処理したブドウとキャベツの比較により、残留濃度の個体間変動は、作物の種類、栽培方法（施設または露地）、化合物の性質等、様々な要因に左右されることが示唆された。

第 3 章では、作物への農薬の残留性に影響を及ぼす要因に関して検討した。

第 3 章 1 節では、検討の概要を示した。

第 3 章 2 節「試料量が及ぼす影響」では、第 2 章において得た、5 種の作物個体における残留量の変動に関するデータに基づき、試料量と残留値変動の関係を示し、作物における農薬残留濃度の不確かさの推定を行った。その結果、不確かさは試料量の増加とともに指数関数的に低減することが明らかとなり、たとえば作物個体数 1 から 12 程度の範囲であった場合、試料個体数を増やすほど精度は大幅に向上することが示された。このことから、最大残留基準（MRL）の設定や、それによる規制に関してにおいては、個体数であれば 10 前後を目標として可能な限り多くの試料を供することが望ましいこと、同時に、無制限に増加させても精度の向上は期待できないことが示された。また、現行法に

において規定された試料量が、農薬残留値を求める為に適正であることが確認された。加えて、サブサンプルを用いて再検査を行うことが、より良い精度の残留値を求めるために有効であることも確認された。

第3章3節「栽培条件が及ぼす影響」では、6ヶ所の試験圃場にて結球レタスのグリーンハウス及び露地栽培を行い、3時点での残留農薬濃度を調査することにより、栽培条件が農薬の残留性に及ぼす影響について検討した。3種の散布処理剤（アセタミプリド、アゾキシストロビン及びペルメトリン）及び1種の植穴土壌混和処理剤（ジノテフラン）を処理して、それぞれの残留農薬を分析した結果、散布剤では明瞭に示されなかった栽培条件の影響（グリーンハウスによる農薬残留の減衰抑制）が植穴処理剤においては有意に認められた。この結果から、農薬の残留性に影響を及ぼす栽培条件としての要因には、降雨に代表される気候的要素が大きな役割を果たすが、農薬の剤型、物理化学性等の各種条件が関係することが示唆された。

第3章4節「試験圃場の違いが及ぼす影響」では、8圃場のリンゴ（シペルメトリン、1PHI(最終処理後経過日数)）と露地及びグリーンハウスの各6圃場における結球レタス（アセタミプリド、アゾキシストロビン、ジノテフラン及びペルメトリン、3種PHI）について、試験圃場間の各農薬残留値を比較した。その結果、リンゴにおいては圃場間の差は最大2.3倍であり、比較的小さかった。一方、結球レタスでは大きな変動が認められ、露地栽培では最大119倍（PHI 1-d）、グリーンハウス栽培では最大10.9倍（PHI 3-d）となった。特に露地栽培においては顕著な差が示され、農薬登録上の収穫前使用禁止期間であるPHI 7-dでも最大31.3倍の差を有していた。しかし、植穴土壌混和処理剤（ジノテフラン）では、露地栽培での最大幅が10.0倍、施設栽培では7.9倍であり、栽培条件間での大きな違いは認められなかった。これら作物間、栽培条件間、農薬間の違いには、作物の特性、農薬の物理化学的性質や処理方法等が影響を及ぼしているものと推察された。農薬の登録に際して求められる作物残留試験の圃場試験例数は、欧米で8例以上とされ、最近日本でも6例以上（主要作物の場合）と設定されたところであるが、結球レタスで

見られた大きな変動を考慮すると、試験結果の統計的解析が可能となるこれらの圃場数を確保することの有用性が確認できた。

第3章5節「供試試料の取り扱い方法が及ぼす影響」では、リンゴについて全果実、可食部、非可食部に分けて分析し、各部位のシペルメトリン残留濃度を分析した。その結果、非可食部の残留濃度は可食部よりも高い傾向（最大4.5倍）が認められたが、果実全体と可食部で有意な差は認められなかった。また、スイカとメロンについて、分析試料の縮分操作と、果肉・果皮の分別分析の影響を併せて解析した（対象農薬はアセタミプリド、ペンチオピラド及びピリダベン）。その結果、変動係数 C.V.は、スイカで最大35%、メロンで最大48%と算出されたが、各操作による分析値間に有意差は認められなかった。このことから、特に果肉果皮の分離分析値から全果実の残留値への換算を行う手法は、暴露量評価に資する情報が獲得できる、合理的で適切な手法であることが確認できた。更に結球レタス（前出の6圃場、グリーンハウス栽培試料）における検討では、縮分試料間の変動係数 C.V.が、散布処理剤で最大78%（農薬毎の平均で28~31%）であったのに対し、植穴土壌混和処理剤では最大32%（平均14%）と明らかに低く、試料縮分操作による変動が農薬の処理方法に関係することが示された。

農作物の残留農薬量を考える際には、慢性毒性的な観点と、急性毒性的な観点があり、同じひとつの数値であっても、状況に応じて評価が異なる。本研究では、5種作物について個体毎の農薬残留値を測定し、変動を示したが、同じデータを急性毒性の観点から評価して得られた指標がVF値（第2章）であるのに対し、慢性毒性の観点から解析したものが、試料の代表性を確保するために必要な試料量の検討（第3章2節）である。第3章2節では、試料量（数）を増やせば個体毎の農薬残留量の変動が抑制されることを示した。慢性毒性評価の場合、対象物質を「一生摂取し続けても問題が無い」ことが基準となる。たとえば作物1個体だけの調査では、特異的に高い残留値が得られる可能性があるが、常にそのレベルの摂取が発生することは確率として低い。特異的に低濃度であった場合も同様である。従って、慢性毒性評価の観点からは、試験によって母集団を代表す

る残留値を得る必要があり、そのためには個体間の変動を考慮して一定数個体の平均値を評価しなければならない。第3章2節で述べた、「再検査による偽陽性評価の防止」も、同様の考え方によるものであり、高残留の試料が偶然に標本となったのか、全ての試料がそうなのか、別標本の分析がその判断材料となることを示している。無論、残留値が急性影響の考慮が不要な低いレベルにあることが前提であり、急性影響が懸念されるようなARfDに近接した残留値となった際に、別の個体を改めて分析して平均値が下がったとしても意味が無い。以上に述べてきたような違いを、ARfDとADI、あるいはMRLの各数値の意味と共に、分かり易く周知することは、規制当局における今後の課題と言えるだろう。

6圃場の露地とグリーンハウスにおける結球レタスの検討（第3章3, 4, 5節）では、栽培条件の違い、圃場の違い、試料縮分操作の影響について、農薬の製剤の処理方法と物理化学性及び作物の特徴（収穫する際に外葉を除去）が複合し、残留性に影響を及ぼす要因となることが示された。その中で、試料縮分操作の影響については、スイカ及びメロンの場合も含めて統計的な有意差は認められなかった。即ち、試料縮分操作は必ずしも農薬残留値に大きな影響を及ぼすものではないことが示唆された。しかしながらこの変動は、試料個体間や圃場間、分析対象部位等における違いとは異なり、分析現場での実務的な要因によるものであり、不可避ではない。分析法上の要請により試料の縮分や特殊な均一化操作が必要な場合もあるため、原則論ではあるが、分析者としては無用な変動要因は出来る限り排除することが望ましいと考える。本研究で得られた結果は、農薬や作物の種類において限定的なデータではあるが、これまで不足していた実証例であることから、分析時の試料調製手法についての判断材料として活用されることを期待する。

また、8圃場におけるリンゴの検討（第3章4節）では、結球レタスの場合に比べて圃場間の差が小さく、作物の種類によって結果が大きく異なったことや、本研究における露地とグリーンハウス栽培の比較結果（第3章3節）が、過去の報告例に必ずしも沿うも

のではなかったことは、農薬の作物残留性に及ぼす各種要因の検証が、未だ不十分であることを示している。

本研究によって、同一圃場（ロット）の作物個体間における農薬残留濃度の変動に関しては、一定の結論を導くことができたと考えている。しかしながら、多種多様な要因が農薬の残留性に及ぼす影響の解明は道半ばであり、各種農薬及び農作物における様々な使用条件での農薬の残留性を予測するのは難しいのが現状である。今後も各種農薬及び農作物での作物残留性を調査し、農薬残留濃度の多様な変動要因を明らかにしたい。

本研究において得られた知見は、現在日本において対応が急務となっている、残留農薬の評価に関する国際標準への整合に資するものであり、同時に、食品の安全性への関心の高まりと共に求められる、より正確・精密な評価検討を行う上で有用な情報である。これらの知見が、農薬残留の適切なリスク評価や、農業現場における農薬の安全使用の推進に活用されることを期待したい。

引用文献

- 1) 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)
- 2) R. Solecki, L. Davies, V. Dellarco, I. Dewhurst, M. Raaij, A. Tritscher: “Guidance on setting of acute reference dose (ARfD) for pesticides,” *Food Chem. Toxicol.* **43**, 1569-1593 (2005).
- 3) Risk Assessment Forum, U.S. Environmental Protection Agency: “A Review of the Reference Dose and Reference Concentration Processes,” *EPA Final Report* (2002).
- 4) D. Hamilton, Á. Ámbrus, R. Dieterle, A. Felsot, C. Harris, B. Petersen, K. Racke, S. Wong, R. Gonzalez, K. Tanaka, M. Earl, G. Roberts, R. Bhula: “Pesticide residues in food—acute dietary exposure,” *Pest Manag. Sci.* **60**, 311-339 (2004).
- 5) World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations: “Estimation of variability factor for the use for calculation of short term intake, Pesticide residues in food REPORT 2005,” *FAO Plant Production and Protection Paper* **183**, Chapter 2.8, Rome, Italy (2005).
- 6) Á. Ámbrus, E. Soboleva: “Contribution of Sampling to the Variability of Pesticide Residue Data,” *J. AOAC Int.* **87**, 1368-1379 (2004).
- 7) European Food Safety Authority: “Opinion of the Scientific Panel on Plant health, Plant protection products and their residues on a request from commission related to the appropriate variability factor(s) to be used for acute dietary exposure assessment of pesticide residues in fruit and vegetables,” *EFSA Journal* **177**, 1-61 (2005).
- 8) Á. Ámbrus: “Variability of pesticide residues in crop units,” *Pest. Manag. Sci.* **62**, 693-714 (2006).
- 9) 米谷民雄: 「農薬等の一律基準と加工食品基準及び急性暴露評価に関する研究」厚生労働科学研究費補助金, 食品の安心・安全確保推進研究事業, 平成 17 年度総括・分担研究報告書 (2006).

- 10) 農林水産省農産園芸局長通知:「農薬の登録申請に係る試験成績について」12農産8147号, 2000年11月24日付け(最終改定2013年5月31日)。
- 11) Tomlin, C.D.S. (eds.): “A World Compendium, The Pesticide Manual, 14th edition,” British Crop Production Council, Hampshire, U.K., 2006.
- 12) 厚生省告示:「食品, 添加物等の規格基準」厚生省告示第370号, 1959年12月28日。
- 13) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知:「食品に残留する農薬, 飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」食安発第0124001号, 2005年1月24日。
- 14) 厚生省生活衛生局食品保健課長通知:「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」衛食第117号, 1997年4月1日。
- 15) D. Rawn, S. Quade, J. Shields, G. Conca, W. Sun, G. Lacroix, M. Smith, A. Fouquet and A. Belanger: “Organophosphate Levels in Apple Composites and Individual Apples from a Treated Canadian Orchard,” *J. Agric. Food Chem.* **54**, 1943-1948 (2006).
- 16) J. Travis, W. Skroch and T. Sutton: “Effect of Travel Speed, Application Volume, and Nozzle Arrangement on Deposition and Distribution of Pesticides in Apple Trees,” *Plant Dis.* **71**, 606-612 (1987).
- 17) 谷川元一, 國本佳範:「ナスへの農薬散布におけるノズルの動きによる散布むら」農薬誌 **25**, 223-227 (2000).
- 18) A.A. Del Real, A. Valverde-Garcia, F. Camacho-Ferre: “Behavior of Methamidophos Residues in Peppers, Cucumbers, and Cherry Tomatoes Grown in Greenhouse: Evaluation by Decline Curves,” *J. Agric. Food Chem.* **47**, 3355-3358 (1999).
- 19) Á. Ámbrus, J. Lantos: “Evaluation of the Studies on Decline of Pesticide Residues,” *J. Agric. Food Chem.* **50**, 4846-4851 (2002).
- 20) A. Buchholz, R. Nauen: “Translocation and translaminar bioavailability of two neonicotinoid insecticides after foliar application to cabbage and cotton,” *Pest Manag Sci.* **58**, 10-16 (2002).

- 21) Food and Agriculture Organization of the United Nations: "Guidelines on Pesticide Residue Trials to provide Data for the Registration of Pesticides and the Establishment of Maximum Residue Limits," Rome, Italy (1986).
- 22) U.S. Environmental Protection Agency: "Residue Chemistry Test Guidelines," OPPTS 860.1500, Crop Field Trials, EPA 712-C-96-183 (1996).
- 23) Food and Agriculture Organization of the United Nations: "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**, Rome, Italy (2009).
- 24) The Organization for Economic Co-operation and Development: "Crop Field Trial," OECD Test Guideline No. 509, Paris, France (2009).
- 25) U.S. Food and Drug Administration: "Inspection Reference, Guides & Field Activities," Updated Feb. 7, 2008, p 188, <http://www.fda.gov/ICECI/Inspections/>, (accessed Dec 15, 2011).
- 26) U. S. Department of Agriculture: "Pesticide Data Program Annual Summary, Calendar Year 2009," p 9 (2011).
- 27) Y. Akiyama, T. Matsuoka, N. Yoshioka, T. Mitsuhashi: "Pesticide residues in domestic agricultural products monitored in Hyogo Prefecture, Japan, FY 1995-2009," *J. Pestic. Sci.* **36**, 66-72 (2011).
- 28) The Codex Alimentarius Commission: "Schematic Representation of Sampling: Products Other than Meat and Poultry, Recommended Methods of Sampling for the Determination of Pesticides for Compliance with MRLs," CAC/GL 33, ANNEX II.B (1999).
- 29) K. Reddy, M. Locke and C. Bryson: "Foliar washoff and runoff losses of lactofen, norflurazon, and fluometuron under simulated rainfall," *J. Agric. Food Chem.* **42**, 2338-2343 (1994).
- 30) J. Weber, C. Halsall, J. Wargent and N. Paul: "The aqueous photodegradation of fenitrothion under various agricultural plastics: Implications for pesticide longevity in agricultural 'micro-environments'," *Chemosphere.* **76**, 147-150 (2009).

- 31) P. Cabras, L. Spanedda, F. Cabitza, M. Cubeddu, M. Gisella Martini and V. Brandolini: "Pirimicarb and its metabolite residues in lettuce. Influence of cultural environment," *J. Agric. Food Chem.* **38**, 879-882 (1990).
- 32) A. Stensvand and A. Christiansen: "Investigation on Fungicide Residues in Greenhouse-Grown Strawberries," *J. Agric. Food Chem.* **48**, 917-920 (2000).
- 33) G. Querejeta, L. Ramos, A. Flores, E. Hughes, A. Zaltz and J. Montserrat: "Environmental pesticide distribution in horticultural and floricultural periurban production units," *Chemosphere.* **87**, 566-572 (2012).
- 34) P. Fantke and R. Juraske: "Variability of Pesticide Dissipation Half-Lives in Plants," *Environ. Sci. Technol.* **47**, 3548-3562 (2013).
- 35) M. Fujita, T. Yajima, K. Iijima and K. Sato: "Comparison of the Variability in the levels of Pesticide Residue Observed in Japanese Cabbage and Grape Units," *J. Agric. Food Chem.* **60**, 1516-1521 (2012).
- 36) T. Yajima, M. Fujita, K. Kondo, K. Iijima, K. Sato and Y. Kato: "Factors affecting field-to-field variation in pesticide residue levels in Chinese cabbage and spinach," *J. Pestic. Sci* **38**, 200-207 (2013).
- 37) 農林水産省生産局: 「ガラス室・ハウス設置状況 (園芸用施設及び農業用廃プラスチックに関する調査)」 2009年3月19日,
<http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/engei/index.html> (2013年12月3日閲覧) .
- 38) 公益財団法人日本食品化学研究振興財団: 「食品に残留する農薬等の限量一覧表」
<http://www.ffcr.or.jp/Zaidan/FFCRHOME.nsf/pages/MRLs-n> (2013年12月3日閲覧) .
- 39) 環境庁: 「作物残留に係る登録保留基準試験法」 環境庁告示第46号, 1973年7月24日.
- 40) 上野英二, 奥田健司, 中島秀隆, 高倉謙蔵, 岡崎清朗, 杉山博治: 「キャベツにおける有機リン系農薬の残存性について」 *食品衛生研究* **46(12)**, 57-66 (1996).

- 41) 農林水産省生産局生産資材課長通知:「農薬の登録申請に係る試験成績についての運用について」13生産第3986号, 2001年10月10日付け(最終改定2011年4月1日)。
- 42) 厚生省告示:「食品, 添加物等の規格基準の一部を改正する件」厚生労働省告示第499号, 2005年11月29日付け。
- 43) The Codex Alimentarius Commission: “Recommended Methods of Sampling for the Determination of Pesticide Residues for Compliance with MRLs,” CAC/GL 33-1999, Rome, Italy, 1999.
- 44) Á. Ámbrus, A. Zentai, J. Sali and I. Ficzer: “Hidden contributors to uncertainty and accuracy of results of residue analysis,” *Accred Qual Assur* **16**, 3-11 (2011).
- 45) P. Y. Omeroglu, Á. Ámbrus, D. Boyacioglu and E. S. Majzik: “Uncertainty of the sample size reduction step in pesticide residue analysis of large-sized crops,” *Food Addit. Contam. Part A*, **30**, 116-126 (2013).

摘要

農産物流通の国際化や生産の効率化の進展とともに、食品の安全性に対する消費者の関心は高まっており、農薬の安全性評価についても、一層の充実が求められている。本研究では、作物中の農薬残留濃度の個体間変動と残留性に影響を及ぼす要因について検証し、知見を得た。

現在、従来の慢性毒性に基づく残留基準値の規制と併せて、急性毒性に基づく規制が日本においても検討されている。その際、農作物に処理された農薬残留レベルの個体間変動に関する情報は、急性参照用量（ARfD）評価のために必要な要素となる。試料個体毎における残留値の97.5パーセンタイル値を総平均値で除して求めた変動係数（VF）をその指標として、海外では多数の検討事例があるが、日本の気候環境における栽培条件下での知見は不足している。そこで本研究では、リンゴ、キャベツ、ブドウ、ピーマン及びブロッコリー中のシペルメトリンまたはアセタミプリドの残留値におけるVF値を求めた。その結果、VF値は最小がピーマンにおけるシペルメトリンの1.48、最大でキャベツにおけるシペルメトリンの2.39と算出された。これらの数値は、海外での検討事例と比較して概ね同等であり、全てFAO/WHOの合同残留農薬専門家会議（JMPR）によりデフォルトとされている3を下回った。また、2農薬をタンクミックスで処理したブドウとキャベツの比較において、残留濃度レベル及びその個体間変動は、作物の種類、栽培方法、化合物の性質等、様々な要因に左右されることが示唆された。

農作物における農薬の残留性に対しては、物質自体が持つ性質をはじめ、多くの要因が影響を及ぼす。しかしながら、各種要因が複合した栽培条件下での影響に関する情報は、現状十分であるとは言えない。本研究では、以下の検討により、この課題に関する知見を得た。

試料量が残留値に及ぼす影響に関する検討として、リンゴ、キャベツ、ブドウ、ピーマン及びブロッコリーの作物個体におけるアセタミプリド及びシペルメトリン残留値の変動に関するデータに基づき、試料量と残留値変動の関係を示し、作物における農薬残

留濃度の不確かさの推定を行った。設定した試料量（数）の残留値を無作為に集めて平均する操作を繰り返し、その相対標準偏差を不確かさの指標とした。その結果から、現行の各種試験指針で規定されている、最大残留基準（MRL）の設定やそれによる規制に適用される試料量は、個体間の変動を抑制し正確な農薬残留値を求めるために妥当であることが確認された。また、試料量の重要性に加えて、サブサンプルを用いた再検査の手順が、MRLによる規制において、より精度の良い残留値を求めるために有効であることも確認された。

栽培条件が及ぼす影響に関する検討として、6ヶ所の試験圃場にて結球レタスの露地及びグリーンハウス栽培を行い、処理後3時点での残留農薬濃度を調査することにより、栽培条件が農薬の残留性に及ぼす影響を検証した。明瞭な差異は、植穴処理によるジノテフランについて認められ、グリーンハウスでは露地栽培の場合よりも高い残留性を示した。この結果は、気候条件（降水）が、農薬の流失に影響を及ぼすことを示唆している。一方、茎葉散布処理を行ったアセタミプリド、アゾキシストロビン及びペルメトリンについては栽培条件間で有意な差は認められなかった。これらの結果から、結球レタスにおける農薬の残留性が、栽培条件や製剤施用方法等から複雑な影響を受けることが示唆された。

試験圃場の違いが及ぼす影響（試験圃場間の差）に関して、ふたつの検討を行った。まず、リンゴ中のシペルメトリンについて8圃場の比較を行ったところ、最も高い数値となった圃場の残留値は、最も低い圃場の2.3倍であった。次に、前出の露地とグリーンハウス栽培の結球レタスについて比較を行ったところ、同じ栽培条件（露地）の6圃場間で最大119倍もの差が認められた。グリーンハウス栽培の場合に比べて、露地栽培の場合の差は明らかに大きかった。これらの結果から、圃場の違いが農薬の残留性に及ぼす影響は、作物種、栽培条件（気候）や農薬の物理化学的性質等が複合した要因となることが示唆された。また、試験結果の統計的解析が可能となる圃場数を確保することにより農薬の残留性についてより精度の高い情報が得られることが確認された。

供試試料の取り扱い方法が及ぼす影響に関して、分析対象部位と試料縮分操作についての検討を、リンゴ、スイカとメロン、及びレタスにおいて行った。まず、リンゴのシペルメトリンについて可食部と非可食部における各残留性を確認し、可食部のみを測定対象とした場合と果実全体を対象とした場合の違いを検証した。その結果、非可食部を含めて分析する果実全体の残留値は可食部よりもわずかに高かったが、有意な差は認められなかった。次に、スイカとメロンについて、分析試料の縮分操作と、果肉・果皮の分別分析の影響を併せて調査した。対象農薬はアセタミプリド、ペンチオピラド及びピリダベンとし、各作物試料から試料縮分操作により2種類の試料を調製して比較した。ひとつは、全果実（果肉及び果皮）の一体試料、もうひとつは果肉と果皮を分離してそれぞれ分析し、全果実相当の残留値は計算して求めた。残留農薬の大部分は果皮に存在した。各縮分試料の分析値間に有意差は認められず、大型果菜についての縮分操作及び果肉・果皮の分別分析は農薬残留値に影響を及ぼさないことが示唆された。更に、結球レタスにおいて、異なる物理化学的性質を持ち製剤施用方法が異なる4農薬を処理し、試料縮分操作の影響を検証した。その結果、植穴処理のジノテフランについては、散布処理した他の3剤に比べて縮分試料間の変動幅が小さいことが観察された。この結果においては、試料縮分操作による変動が、農薬の処理方法に依存することが示された。

本研究で得た残留農薬評価に資する知見が、食品のリスク管理強化のために有効活用されることを期待したい。

Summary

Along with advances in the globalization of food distribution and improvements in the production efficiencies of agricultural products, consumers are becoming increasingly concerned about food safety. As a result, further expansion of pesticide risk assessment and management systems are needed. This study was conducted to provide information about unit-to-unit variation of pesticide residues and the factors affecting their levels. This information can contribute to improvements in the accuracy of safety evaluations for pesticide residue in crops.

In addition to the regulation of chronic dietary exposures of consumers to pesticides, Japanese regulatory authorities are considering the introduction of new regulations based on acute dietary exposure assessments. The variation in pesticide residue levels is an important factor in the risk assessment of consumers for acute dietary exposure to pesticides applied to a given Raw Agricultural Commodities (RACs). Many reports have focused on the various levels of pesticide residue found in RACs, with the aim of predicting the Acute Reference Dose for human health. These reports evaluated the individual pesticide residue variations for an index of the variability factor (VF), which is calculated as the 97.5th percentile of the residue population divided by the average residue levels in the lot. However, information on certain local agricultural practices based on geographical conditions in Japan is sparse. To help address this issue, acetamiprid and cypermethrin residues in apple, cabbage, grape, sweet pepper, and broccoli samples were studied to estimate the variations in pesticide residue levels in Japanese RACs. The VF values ranged from 1.48 for cypermethrin in sweet peppers to 2.39 for cypermethrin in cabbage samples. The observed VF values in this study were within the same range as data reported elsewhere in the literature, and were lower than the default VF value of 3, proposed by the World Health Organization. In addition, a tank-mix application technique with two different pesticides was applied to cabbage and grapes to provide comparative information. The results indicated that pesticide residue levels and their

variations are influenced by a number of complex factors, such as differences in crop species, plant cultivation methods, and physicochemical pesticide properties.

The above factors and many other considerations influence the residue behavior of pesticides in agricultural products. However, there is insufficient data for clarifying the influence of these factors on pesticide residues derived from common agricultural practices. In this study, the following investigations were conducted to address this issue.

To evaluate the influence of sample quantity on pesticide residues, uncertainties in pesticide residue levels associated with sampling size were estimated using individual acetamiprid and cypermethrin residue data from apple, cabbage, grape, sweet pepper, and broccoli samples. The relative standard deviation from the mean of each sampling size of randomly selected samples was defined as the uncertainty in pesticide residue levels for each sampling size. The results of this study indicate that the sampling sizes used by regulatory monitoring programs are adequate for enforcing Maximum Residue Limits (MRLs). The estimated uncertainties have confirmed that sampling weights and numbers are important factors in analysis and/or re-examination of subsamples for providing accurate values of pesticide residue levels for MRL enforcement..

To evaluate the influence of growing conditions on pesticide residues, decline trials for head lettuce in six open fields and six greenhouses were conducted. A clear difference between the two growing conditions was observed for dinotefuran applied to the planting hole, although residue levels in the lettuce heads from the greenhouses were almost as high as those measured in field samples. This finding indicates that weather conditions may affect pesticide residue through rainfall runoff. In contrast, no clear difference between the two growing conditions was observed for the other three pesticide types (acetamiprid, azoxystrobin, and permethrin) that were applied to the foliage. These results provide an indication of some of the complex factors that affect pesticide

residue levels in lettuce heads grown under differing conditions and subjected to different types of pesticide application.

To evaluate the influence of field-to-field variation in pesticide residues, trials with apple and headed lettuce were conducted. According to the obtained eight field datasets of cypermethrin residues in apples, the highest mean residue level from the eight orchards was approximately 2.3 times that of the lowest value. Additionally, according to the obtained 12 datasets of lettuce heads grown in each open field and greenhouse, the greatest field-to-field variation in pesticide residue levels under the same test conditions (open fields) was 119 times that of the lowest value. The variations in the open fields were significantly higher than those observed from the greenhouse data. These results suggest that field-to-field variation was influenced by an interplay of complex factors, such as crop type, growing conditions (i.e., local weather), and physicochemical properties of the applied pesticides. In addition, a sufficient number of field trials for use in statistical analyses will help the estimation of more accurate residue levels.

To evaluate the influence of test sample handling methods, trials with apples, watermelons, muskmelons, and headed lettuce were conducted. First, cypermethrin residues in apples were evaluated to consider edible-to-inedible portions. The pesticide residue level determined for an entire fruit was slightly higher than that for the edible portions, and there was no significant statistical difference between the two. Second, to evaluate the effects of sample-size reduction and separate analyses of fruit pulp and peel, residual levels of three pesticides (acetamiprid, penthiopyrad, and pyridaben) in watermelons and muskmelons were determined. The pesticide residue levels in two types of size-reduced sample groups were compared. In one size-reduced sample group, the pesticide residues in the pulp with the peel were analyzed. In the other size-reduced sample group, residues in the pulp and peel were analyzed separately. Pesticide residue levels were then calculated for the whole fruit. The majority of the pesticide residues were found to be present in the peel, and there were no significant difference in estimated residue levels of whole

fruit between the two types of samples. No significant effects of sample-size reduction and separate analyses of pulp and peel were found in the determinations of pesticide residues in large-sized fruiting vegetables. Third, the residue levels of four pesticides with differing chemical properties and applied by two application methods onto lettuce heads were evaluated to consider the effects of sample-size reduction. The size reduction process for sample preparation affected the variation in this residue dataset; the ranges between two size-reduced samples of dinotefuran applied to the planting hole were narrower than those of the other three pesticide types. This result clarifies some of the factors that affect pesticide residue levels in lettuce heads subjected to different types of pesticide application.

The results of this study provide valuable information on the evaluation of pesticide residues. It is hoped that this information will be utilized effectively in improving food risk management.

本論文の基礎となる学術論文

日本産りんごにおけるシペルメトリン残留濃度の変動に関する検討

藤田 眞弘, 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(2), 183-189 (2012)

．．．．． 第2章及び第3章2, 4, 5節

Comparison of the Variability in the Levels of Pesticide Residue

Observed in Japanese Cabbage and Grape Units

Masahiro Fujita, Tomonari Yajima, Kazuaki Iijima, and Kiyoshi Sato

Journal of Agricultural and Food Chemistry 60(6), 1516-1521 (2012)

．．．．． 第2章及び第3章2節

Effect of Sampling Size on the Determination of Accurate Pesticide

Residue Levels in Japanese Agricultural Commodities

Masahiro Fujita, Tomonari Yajima, Kazuaki Iijima, and Kiyoshi Sato

Journal of Agricultural and Food Chemistry 60(18), 4457-4464 (2012)

．．．．． 第2章及び第3章2節

Effects of separate analyses of pulp and peel on pesticide residues in
watermelons and muskmelons

Masahiro FUJITA, Tomonari YAJIMA, Takuya NAGATA, Naruto

TOMIYAMA, Kazuaki IJIMA and Kiyoshi SATO

Journal of Pesticide Science 39(1), 36-42(2014)

．．．．． 第3章5節

Comparison of pesticide residue levels in headed lettuce growing in open
fields and greenhouses

Masahiro FUJITA, Tomonari YAJIMA, Naruto TOMIYAMA, Kazuaki
Iijima and Kiyoshi SATO

Journal of Pesticide Science 39(2), 69-75(2014)

．．．．． 第3章3, 4, 5節

謝辞

本論文の取りまとめにあたり，懇切なご助言，ご教示並びにご校閲を賜った島根大学生物資源科学部農林生産学科教授 井藤和人博士に深く感謝いたします。

研究を遂行するにあたり，多大なご支援をいただい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いたします。また，重要な助言を頂戴した同研究所前業務執行理事 佐藤清博士，研究の機会をお与えいただき，助言くださった同研究所前理事長 加藤保博博士，同研究所理事長 原田孝則博士に感謝いたします。加えて，実験実務を共に担当し，各種ご協力をいただいた，同研究所化学部残留第1研究室の皆様には感謝いたします。

島根大学在籍時にはご指導をいただき，その後も懇切な助言を賜った独立行政法人大学入試センター理事長 山本廣基博士にこの場を借りて御礼申し上げます。

本研究は，農林水産省からの受託研究事業「農薬的資材安全性評価情報整備事業」及び「農薬等安全性確保強化実態調査事業」の一環として，一般財団法人残留農薬研究所において実施したものです。本研究にご協力いただいた関係行政機関の皆様には感謝いたします。また，圃場試験をご担当いただいた一般社団法人日本植物防疫協会ならびに関係圃場の皆様，事業の開始にあたり，その実現にご尽力くださった小田中芳次博士，専門委員として多くの助言を賜った石井康雄博士，上路雅子博士ならびに中村幸二博士に厚く御礼申し上げます。

