

3) 作物農薬残留濃度推定モデルによる

ジノテフラン残留濃度推定とその検証

宇梶徳史 濱本愛 飛野敏明 松本理世 西名武士 村川弘
米澤晃子* 横田節** 原登志彦***

はじめに

農畜産物に残留しても健康被害を及ぼさない農薬濃度の上限は毒性試験の結果を基に一日摂取許容量(ADI)及び急性参照容量(ARfD)として定められており、この値を基に各農畜産物における残留限量を基準値として定めている。農薬登録を行う際には、多くの場合農薬メーカー等の事業者が基準値設定の申請を行い、事業者が実際に農作物に残留した濃度を調査、もしくは残留濃度を予測することにより、基準値設定の基礎資料としている。

農薬登録に必要なデータには、作物残留試験の試験成績に加えて、水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準や薬効・薬害試験成績があり、農薬を農業現場で使用するためには、これら必要な試験を適切に実施し、各種の基準をクリアする必要がある。このうち作物残留試験は、食品衛生法の基準値をクリアするため又は基準を設定するデータを取得するために必要な試験の1つとなっている。

オリーブは常緑性果樹類に属し、オリーブ果実から搾り取った油が料理用として用いられている。地中海沿岸では古くから栽培され、日本で消費されるオリーブ油の99.9%以上は輸入品である。しかし、近年のオリーブ油を利用した料理が注目を浴びていることを背景に、作付面積が熊本県をはじめ九州内で増加傾向となっている。しかし、オリーブで使用可能な農薬が少ないことから農薬登録への強い要望があり、熊本県では平成25年から農薬登録に向けた試験を実施している。

今回著者らはオリーブにおけるカメムシ類殺虫剤として必要なジノテフラン(商品名:スタークル)のオリーブ(葉)における農薬登録試験を行うこととした。農薬残留量調査を実施するにあたって、まず通知法のジノテフラン分析法を改良し、マトリックス成分の多いオリーブ(葉)でも分析可能な分析法を作成した。ついで、ジノテフラン残留濃度が基準値以下となるような収穫前日数を設定するに際し、作物農薬残留濃度推定モデルを用いて残留農薬濃度を推定した。さらに実際に農薬散布を行い、モデルの検証を行ったので併せて報告する。

実験方法および結果

*香川県農業試験場小豆オリーブ研究所

**熊本県天草広域本部

***北海道大学 低温科学研究所

1 試薬材料等

1.1 試料

オリーブ(葉)試料は、香川県農業試験場小豆オリーブ研究所構内(香川県小豆島町)および天草市栽培試験は場(熊本県天草市五和町)に植栽されているオリーブ成木から採取した。

1.2 標準品

標準品はジノテフラン標準品(和光純薬工業)を用いた。

1.3 その他の試薬等

- ・メタノール: 和光純薬工業製, HPLC用
- ・アセトニトリル: 和光純薬工業製, HPLC用
- ・ギ酸: 和光純薬工業製, LC/MS用
- ・酢酸アンモニウム: 和光純薬工業製, 試薬特級
- ・ろ過フィルター: GL Sciences 社製(0.2 μ m, 25N)

2 LC/MS/MS測定条件

- ・LC: Nexera X 2(島津製作所社製)
- ・注入量: 2 μ L
- ・分離カラム: GLサイエンス社製
InertsustainC18 HP (2.1 \times 150mm, 3 μ m)
- ・カラムオープン温度: 40 $^{\circ}$ C
- ・移動相: A 液(水、0.01%ギ酸、2.5mM 酢酸アンモニウム), B 液(メタノール、0.01%ギ酸、2.5mM 酢酸アンモニウム)
- ・質量分析計: TRIPLE QUAD5500(SCIEX 社製)
- ・イオン化法: ESI
- ・分析モード: MRM
- ・プレカーサーイオン: m/z 203
- ・プロダクトイオン: m/z 114

3 ジノテフラン分析法の検討

厚生労働省からジノテフラン分析法¹⁾が通知されているが、この方法は試料から農薬成分を抽出後、高速液体クロマトグラフを使用してUVで検出する方法であり、オリーブ(葉)のようにマトリックス成分が多い試料には適用が難しかった。このため、アケビの報告例²⁾を参考に分析法を改良するとともに、分析機器について

も高速液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 (LC/MS/MS) を使用する分析法とした。また、最終産物を精製水ではなくメタノールに溶解した際に回収率が20%程度向上したため、最終産物はメタノールに溶解して分析することとした。分析フローについては、図1に示す通りである。

本分析法を用いて、天草市栽培試験ほ場に植栽されているオリーブ(葉)を試料に添加回収試験(添加濃度1ppm)を行ったところ、回収率は94%であった。また同オリーブに2000倍希釈ジノテフラン水溶剤(スタークル顆粒水溶剤)を2014年12月に9日間間隔で散布し、最終散布25日後にオリーブ(葉)を採取し、ジノテフラン濃度を分析したところ、2.13ppmであった。

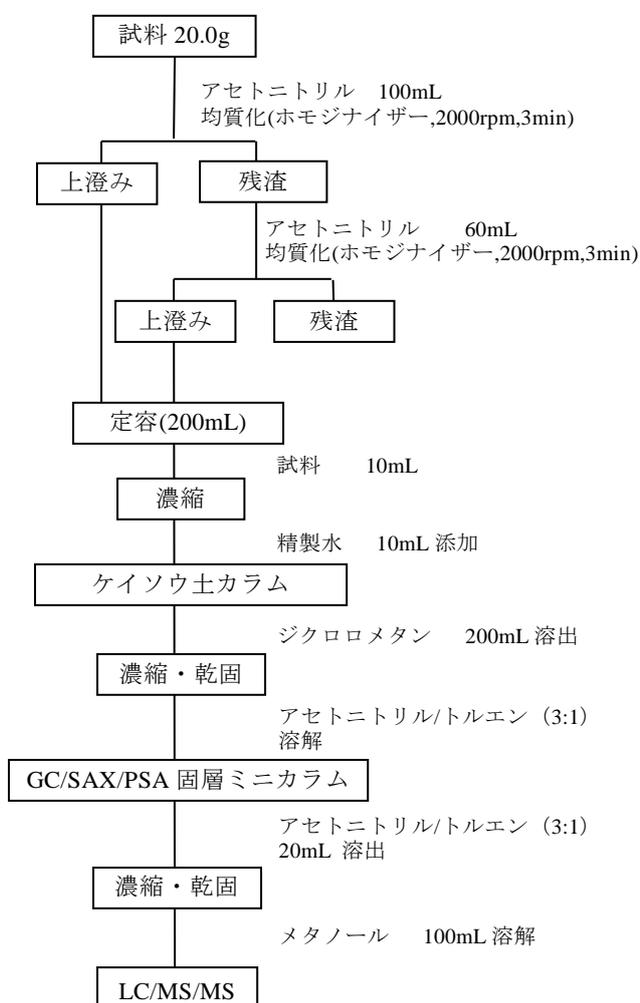


図1 ジノテフラン分析フロー

4 作物農薬残留量推定モデルによる農薬残留量の推定

オリーブ(葉)は食品衛生法における作物分類上「その他の野菜」に分類されジノテフラン基準値は25ppmであるが、農薬登録を行う上では農林水産省の内

規である20ppmより低い残留濃度である必要がある。予備試験では散布25日後における残留濃度が2.13ppmであったことから収穫30日前の登録であれば可能と推測されたが、オリーブ果実の農薬登録が「収穫前日まで」を予定しており、農薬の利便性を高めるためより早い収穫前日数で農薬登録を取得することが望ましいと考えられた。このため、作物農薬残留量推定モデルによりジノテフラン残留量を推定し、その結果を基に農薬登録試験を行うこととした。

作物残留濃度推定モデルは、数学的に作物中の農薬残留量を推定することを目指したものである。現在までに国内外の研究者により複数のモデル式が報告されている³⁾。その中でも、藤田ら⁴⁾のモデルは最大農薬残留量を推定するために構築されたモデルであり、今回農薬残留量を推定する上で有用であると思われる。藤田らの作物残留農薬濃度モデルは、果実類用と葉菜類用モデルが報告されているが、葉菜類用モデルはキャベツやハクサイなど複数の葉を有し、個々の葉に異なる残留農薬濃度を示す野菜類に適用するモデルであることから、個々の葉に均一に農薬が付着するオリーブ(葉)では、果実類モデルを適用することが望ましいと考えられた。

藤田らの果実類モデルは、農薬を3回散布することを前提に

$$C_{t3} = \frac{P \times 0.8 \{ (S_1 \times W_1 \times D^{t1} + S_2 \times W_2) D^{t2} + S_3 \times W_3 \} D^{t3}}{100 \times W_{t3}}$$

C_{t3} : t日後の残留農薬濃度、P:薬液濃度、 $S_{1,2,3}$:付着率(%)¹⁾

$D^{t1,t2,t3}$:残存係数、 $W_{1,2,3}$:果実重量

のモデル式で残留農薬濃度を示している。

今回は2回散布で農薬登録試験を行うことから、

$$C_{t2} = \frac{P \times 0.8 (S_1 \times W_1 \times D^{t1} + S_2 \times W_2) D^{t2}}{100 \times W_{t2}}$$

と上式を改変し、本モデル式を用いて残留農薬濃度を推定することとした。

モデル式に含まれるパラメーターのうち、P(薬液濃度)は、スタークル顆粒水溶剤(20%含有)を2000倍希釈して散布することから薬液濃度は100ppmであり、P=100となった。

またS(付着率)は、オリーブ(葉)を水に浸すことによる重量増加率から求められ、農薬散布期間中に葉が成長しないことから、 $S_1=S_2=31.7(\%)$ となった。

D(残存係数)は、農薬の減衰率を示す数値であり、藤田らにより残存係数を算出する計算式も報告されているが、今回は予備試験で散布25日後の残留農薬濃度が2.13ppmであったことから、この数値を利用して残存係数を算出した。この結果、 $D=0.8998$ となった。

葉の重量 (W) は平均値をとり、0.31 (g) とした。

この数値を用いて、オリーブ (葉) における残留農薬濃度推定の結果を図2に示す。

表1 残留農薬モデルによるジノテフラン推定濃度

農薬登録を行う上では、ジノテフランの農林水産省内規である20ppm以下である必要があることから、農薬

散布後 日数	1日後	7日後	14日後
濃度 (ppm)	33.72	17.90	8.547

登録に係る作物残留試験は、散布7日後もしくは散布14日後の登録を念頭に実施することが望ましいと考えられた。

5 農薬散布及び作物残留試験

オリーブに対する作物残留試験は、香川県農業試験場小豆オリーブ研究所及び天草市栽培試験ほ場で行った。2000倍希釈スタークル顆粒水溶剤の散布は、各試験地とも平成27年10月上旬に一週間間隔で2回行った。葉の採取は、散布7日後、14日後、21日後に行った。残留農薬分析は1つの試料に対して2回行い、その平均値を分析値とした。分析値を表2に示す。

表2 オリーブ (葉) におけるジノテフラン分析値
(単位 ppm)

6 モデルによる残留農薬濃度推移の解析

オリーブ (葉) におけるジノテフラン残留濃度は、

試験地	香川県小豆島町	熊本県天草市
散布7日後	38.57	6.31
散布14日後	14.32	4.18
散布21日後	12.07	2.29

香川県の試料と熊本県の試料では差が見られたことから、この要因を明らかにするため、2つの試料における残留農薬濃度の推移を、Timmeらのモデル式により数式化することとした。Timmeらは残留農薬濃度の減衰は1反応速度論的に表せるとし、残留農薬濃度を以下の式で示している。このモデル式は、島本も同様に報告している⁶⁾。

$$C=C_0\exp(-\lambda T)$$

C_0 : 初期付着濃度 λ : 定数 T : 日数

オリーブ (葉) におけるジノテフラン残留農薬濃度を図2に示すとおりTimmeらの式で近似させると、以下の式で示された。

$$\text{(香川県小豆島町)} \quad C = 63.706\exp(-0.083T)$$

$$\text{(熊本県天草市)} \quad C = 12.915\exp(-0.082T)$$

このうち、定数 (λ) に相当する数値は、香川県の試料で0.083、熊本県の試料で0.082であり、ともにほぼ同一の数値であることから、いずれの試料もジノテフランはほぼ同一曲線で減衰していることが明らかとなった。その一方で、初期付着濃度 (C_0) は香川県の試料で63.706であるのに対し、熊本県の試料では12.915と大きな開きがあった。このことから、オリーブ (葉) におけるジノテフラン残留濃度の試料間における差は、ジノテフランの初期付着濃度の差に起因することが明らかとなった。

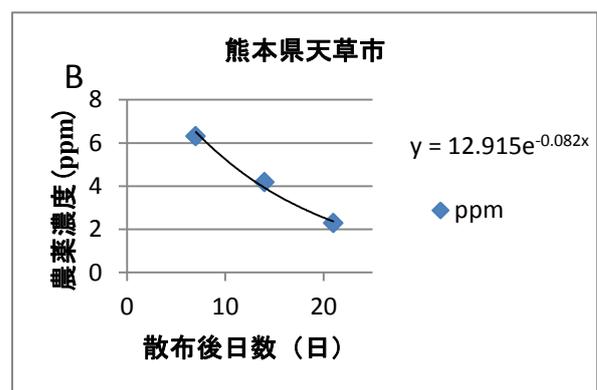
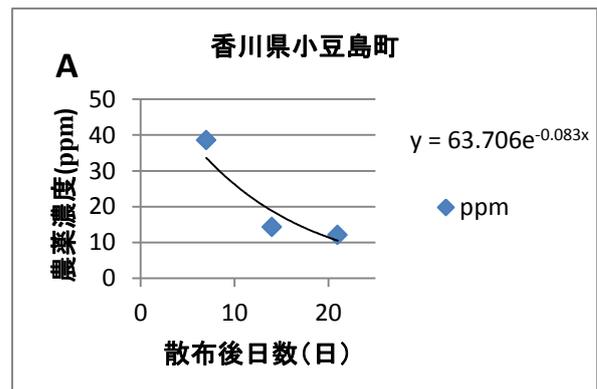


図2 オリーブ (葉) におけるジノテフラン残留濃度の計時的変化 (A)香川県小豆島町 (B) 熊本県天草市

考察

藤田らの作物残留農薬濃度推定モデルを用いて、残留農薬濃度の推定を行い、香川県小豆島町と熊本県天

草市の2か所で検証を行ったが、モデルによる推定値は2か所の試料における残留濃度値のほぼ中間値であった。また食品衛生法の残留基準値をクリアする濃度も、当初予想した散布14日後であり、モデルによる推定通りとなった。モデル検証の結果、モデルにより推定した残留農薬濃度と実際の分析結果では、明確な一致には至らなかったが、全体的には概ね良好な結果が得られた。このことから、藤田らの構築した作物農薬残留量推定モデルは、作物農薬残留濃度の推定には有用であることが示された。

実際の検証では、2つの試験地間で差が見られたが、Timmeらのモデルを用いて解析したところ、この差は初期付着濃度の差であることが示された。熊本県天草市における散布7日後の試料採取の前日に降雨（降水量10.5ミリ）があり、熊本県天草市の試料において初期付着濃度が低かったのは、この降雨が原因の1つであると思われる。

また、香川県の試料において、散布14日後の試料におけるジノテフラン残留濃度がモデル曲線から外れた値となっているが、散布14日後の試料採取日の前日に降雨にさらされている（降水量6.0ミリ）。このことから、香川県小豆島町の試料において散布14日後の値がモデル式から外れているのは、散布14日後の試料採取前日に降った雨が原因であると考えられる。

その他の要因として、試験に用いた香川県小豆島町

の品種「ネバディロブランコ」は、熊本県天草市の品種「ミッション」に比較して葉が小さく薄いため、農薬が残留しやすいことが考えられる。試験に用いた品種の違いが、2つの試験地間でジノテフラン残留濃度に違いが見られたその他の要因の一つであると推測される。

今回のモデルによる検証により、農薬残留量を推定する上では初期付着濃度を正確に推定することが重要であることが示された。初期付着濃度は作物及び農薬の種類だけでなく、栽培環境によっても異なることから、初期付着濃度を正確に推定することが、モデルを利用する上での今後の課題である。

文献

- 1) 厚生労働省, 通知法, ジノテフラン分析法.
- 2) 岡本真理, 第31回農薬残留分析研究会講演要旨集, 141-144 (2008).
- 3) 坂部亮介, 松野倫也, 塩澤明日香, 田中稔, 早川泰弘 農薬調査研究報告 6, 31-44 (2014).
- 4) 藤田俊一, 和田豊, 高橋義行 植物防疫, 67(2), 1-7 (2013).
- 5) G. Timme, H. Frehse Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 33 47-60 (1980).
- 6) 島本 文子 高知県農業技術センター研究報告, 18 9-16 (2009).