

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月18日現在

機関番号：33101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009年度～2011年度

課題番号：21590721

研究課題名（和文）輸入花き類中農薬の測定手法の確立及び室内中農薬の曝露・リスク評価

研究課題名（英文）Analytical method and risk assessment of pesticide in imported flowers

研究代表者 川田 邦明 (KUNIAKI KAWATA)

新潟薬科大学・応用生命科学部・教授

研究者番号：50367413

研究成果の概要（和文）：

花卉に残留する農薬の分析前処理方法は確立された。抽出液の pH、抽出溶媒及び精製方法が評価された。研究に使用した農薬は殺菌剤 2 種、クロロタロニル及びヘキサコナゾール、殺虫剤 5 種、カルバリル、シベルメトリン、フェニトロチオン、フェンバレレート及びマラチオンを含んだ。最も良好な回収率は検討した条件の中で、pH 5.0 で抽出溶媒としてアセトニトリル及び精製方法に InertSep GC/PSA ミニカラムを使用することにより得られた。全体を通しての回収率は 75-126%、相対標準偏差の値は 2.1-16% の範囲であった。

また、花卉に散布した農薬の室内放散性の検討は行われた。散布した農薬の揮発はクロロタロニル、ヘキサコナゾール、フェニトロチオン及びマラチオンで確認された。フェニトロチオンの放散速度は、クロロタロニル、ヘキサコナゾール及びマラチオンの放散速度よりも高い 0.10 µg/(unit・h) であった。花卉 1 本分におけるフェニトロチオンの吸入曝露量は算出された。この値 (0.0082 µg/kg・day) は、ヒト許容一日経気道曝露量 7.4 µg/kg・day の 1/900 であった。したがって、日常生活における吸入曝露による影響は少ないように思える。

研究成果の概要（英文）：

A pretreatment method for residual pesticides in cut flower was developed. The pH of the extract, the extraction solvent and the cleanup method were evaluated. The investigated pesticides included two fungicides, chlorothalonil and hexaconazole, and six insecticides, carbaryl, cypermethrin, fenitrothion, fenvalerate and malathion. The most satisfactory recoveries were obtained using acetonitrile as the extraction solvent and InertSep GC/PSA for the cleanup step at pH 5.0 in these conditions. The overall recoveries were 75-126% and the relative standard deviations ranged from 2.1 to 16%. This method successfully applied to cut flower.

Moreover, the indoor diffusion of spiked pesticides on the cut flower was evaluated. The volatilization of the spiked pesticides was confirmed with chlorothalonil, Hexaconazole, fenitrothion and malathion. The emission factor of fenitrothion was 0.10 µg/(unit・h), which is higher than those of chlorothalonil Hexaconazole and malathion. The calculated inhalation exposure for fenitrothion from a cut flower (0.0082 µg/kg・day) was 1/900 of the acceptable daily airway exposure level for fenitrothion (7.4 µg/kg・day). Therefore, the effect of fenitrothion to human by emission factor appears to be low in daily life.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	500,000	150,000	650,000

年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学 公衆衛生学・健康科学

キーワード：健康管理、輸入花き、農薬、GC/MS

1. 研究開始当初の背景

平成18年5月、残留基準が設定されていない農薬などが一定量以上（人に悪影響を及ぼす）含まれる農作物の流通を原則禁止することを目的とした「ポジティブリスト制度」が施行された。しかし、食品でない農作物である花卉類は、ポジティブリストの規制の対象外である。地方の農業試験場などでは、食用花卉類の残留農薬分析が単発的に行われているものの、食用でない花卉類について、分析例が皆無である。また、海外において、花卉栽培従事者の農薬に対する健康影響について研究報告例はあるものの、消費者が花卉購入後、残留農薬によって健康影響を及ぼすかどうかといった消費者の観点からの研究報告例はない。実質的に、花卉中残留農薬のデータはほとんど皆無である。そのため、輸入花卉中の残留農薬に関する知見を得ることは、管理を行う上で極めて重要な課題である。そこで、本研究では、輸入花卉中残留農薬に着目して、花卉中残留農薬分析方法の確立ならびに花卉購入後の消費者視点からの農薬曝露・リスク評価を行う。また、花卉業界の実態調査を行ううえで、キーパーソンであるJA新潟から、輸入花卉の安全性について相談を受けて、花卉中残留農薬の分析方法の検討、また、定期的に討論を行っている背景がある。

2. 研究の目的

花卉の栽培において、花の美しさを保ち出荷するために（病害虫を防ぐ目的）、他の食用に供する農作物と同様に農薬の散布が行われている。しかし、花卉類は食品ではないことから、ポジティブリストの規制の対象外であり、残留農薬の基準値は設定されていない。また、散布量等についても食用の農作物と比較して基準が緩い場合が多く、特に輸入花卉においては過度な農薬散布が行われている危険性も高い。以上のような背景から、花卉類中に農薬が残留する可能性も考えられ、更に皮膚や呼吸からの曝露など人体の影響も懸念されている。しかし、花卉に残留する農薬については、食用花卉類の分析例は報告されているものの、食用でない花卉類の分析例は報告されていない。また、花卉を購入した消費者が揮発する残留農薬に曝露されるかどうかという観点からの研究報告例がないこともまた現状として挙げられる。そこ

で、本論文では、花卉における残留農薬の現状を把握するため、花卉における残留農薬の分析前処理法の検討及び室内放散性の検討を行ったので報告する。

3. 研究の方法

(1) 装置および試薬

GC/MSはサーモフィッシャー社製 Trace GC、及びPOLARIA-Qから構成されるシステムを使用した。GCのカラムはAgilent社製J&W DB-5MS (30 m × 0.25 mm i. d. 膜厚 0.25 μm)を用いた。超音波発生装置はアイワ医科工業社製超音波洗浄機AU-80Cを用いた。

対象農薬であるクロロタロニル (99.0%)、ヘキサコナゾール (99.0%)、シペルメトリン (96.0%)、フェニトロチオン (98.0%) 及びフェンバレレート (99.0%) の標準品は和光純薬工業から入手した。カルバリル (99.0%) 及びマラチオン (99.0%) の標準品、内標準物質として用いた1,4-ジオードベンゼン及び9-ブロモアントラセンは関東化学から入手した。

アセトニトリル、アセトン、酢酸エチル、ジクロロメタン及びトルエン（いずれも残留農薬・PCB試験用5000倍濃縮試験品）は関東化学から入手した。メタノール（残留農薬・PCB試験用5000倍濃縮試験品）、無水硫酸ナトリウム（残留農薬・PCB試験用）、無水硫酸マグネシウム（特級試薬）及び氷酢酸（ACS）は和光純薬工業から入手した。無水硫酸マグネシウムは500℃で5時間焼いたものを使用した。InertSep GC/NH₂ ミニカラム (500 mg/500 mg 6 mL) 及び InertSep GC/PSA ミニカラム (500 mg/500 mg 6 mL) はジーエルサイエンス社から入手した。PSA (粒径 40 μm) は VARIAN 社から入手した。

使用した花卉は三大花卉の一つであるキク (*Chrysanthemum morifolium*) を使用し、新潟県内の市場から購入した。また、実験に用いたキク (マレーシア産) から農薬は検出されなかった。

(2) 実験方法

① 前処理方法の検討

抽出操作を以下に示す。ある程度切断したキク試料 1 g に、アセトニトリル 4 mL 及び氷酢酸 70 μL を添加し、10 分間超音波抽出した。得られた抽出液の pH が 5.0 であることを確認後、サンプル中の水分の影響を除去

するため、無水硫酸マグネシウムで脱水を行った。

抽出液のうち 2 mL 分取し、GC/PSA ミニカラムを使用し、精製を行った。GC/PSA ミニカラムをアセトニトリル：トルエン (3:1) 10 mL でコンディショニングし、アセトニトリル抽出液を負荷し、アセトニトリル：トルエン (3:1) 30 mL でゆっくり溶出した。得られた溶出液をロータリーエバポレーターで 5 mL まで濃縮し、内標準物質 2 種をそれぞれ 1 $\mu\text{g/mL}$ になるように添加し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、1 mL 分取し GC-MS で測定した。

②室内放散性の検討

花卉に散布した農薬は市販の農薬製剤が入手できた 5 種を用いた。ST ダコニール 100、ST アンビルフロアブル及びアグロスリン乳剤は住友化学社製、スミチオン乳剤は住友化学園芸社製及びマラソン乳剤 50 はキング化学社製を用いた。

市販農薬製剤を用いて、使用方法で指定された希釈倍率で希釈混合した水溶液を作成した。この水溶液の指定使用液量を花卉試料 3 本に散布し、乾燥させ、ガラス製チャンパー内に設置した (Fig. 1)。チャンパー内の空気の採取には、ろ紙ホルダーにアセトン 20 mL でコンディショニングを行ったエムポアディスク SDB-XD を設置し、エアポンプを用いて 0.5 L/min の流量で 90 時間 (2.7 m³) 吸引し、花卉から揮発した農薬を捕集した。捕集した農薬は、通気により脱水したエムポアディスクからアセトン 5 mL で溶出し、得られた溶出液を 10 mL に定容後、その内の 1 mL を分取し内標準物質 2 種をそれぞれ 0.5 $\mu\text{g/mL}$ になるように添加し、GC-MS で測定した。また、内壁に付着した農薬は、チャンパー内壁をアセトン 30 mL で洗いこみ、上記の方法と同様に測定を行った。

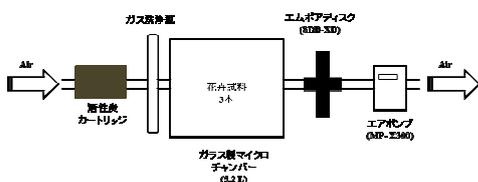


Fig. 1 曝露装置の概要

③経皮曝露特性の評価

ST ダコニール 1000、ST アンビルフロアブル、アグロスリン乳剤及びハクサップ水和剤は住友化学社製（日本、東京）、マイクロデナポン水和剤 85 は北興化学社製（日本、東京）、スミチオン乳剤は住友化学園芸社製（日本、東京）及びマラソン乳剤 50 はキング化学社製（日本、和歌山）使用方法で指定された希釈倍率で希釈した農薬希釈液を作成した。

農薬希釈液を散布量の目安（150 L/10a 及び 300 L/10a）から算出した液量をあらかじめ長さ 40 cm、葉の枚数 15 枚に揃え、農薬希釈液が均等に散布されるよう蕾を切り落とした花卉試料 1 本に散布し、乾燥させた。その後、あらかじめヘキサシアン及びアセトニトリルで超音波洗浄した綿製手袋を着用して農作業におけるわき芽取りを想定し、両手の指先で交互に一回ずつ葉を摘むように接触した。

操作後の綿製手袋一双にアセトニトリル 100 mL 加え、15 分間超音波抽出を行い抽出液を得た。残った綿製手袋をアセトニトリル 100 mL で 1 回洗い込み、得られた洗い込み溶液を抽出液と合わせた。得られた抽出液は、前述の前処理法で精製後、GC/MS による分析を行い、経皮曝露量を評価した。

4. 研究成果

(1)前処理方法の検討

超音波抽出 1 回後のキクからの農薬の脱着能力についてアセトニトリル及び酢酸エチルを抽出溶媒として検討を行った。実験方法について以下に示す。ある程度切断したキク試料 5 g に 7 種混合農薬標準品 (100 $\mu\text{g/mL}$) を 40 μg 添加し、乾燥し、各溶媒をそれぞれ 20 mL 添加し、氷酢酸を 350 μL 添加した。その後、10 分間超音波抽出を行った。アセトニトリル抽出液の pH が 5.0 であることを確認し、無水硫酸マグネシウムで脱水し、内標準物質 2 種をそれぞれ 1 $\mu\text{g/mL}$ になるように添加し、よく攪拌した。抽出液を 1 mL 分取し GC-MS で測定した。定量は標準添加法で行った。これらの結果を Table 1 に示す。抽出溶媒がアセトニトリルの時、回収率が 74–99%、相対標準偏差 (RSD) が 6.3–8.2% と最も良い結果を得た。酢酸エチルについては、ほとんどの農薬で回収率が 60% 以下あるいは 120% 以上となった。酢酸エチルはアセトニトリルに比べて狭雑物も多く抽出されることから、農薬がそれらの影響を受けたと考えられる。以上のことから、抽出溶媒としてアセトニトリルが適当であると判断された。

Table 1 抽出溶媒毎の農薬回収率 (n=3)

	アセトニトリル		酢酸エチル	
	回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)
クロロタロニル	97	6.8	56	9.9
ヘキサコナゾール	99	8.2	49	5.9
カルバリル	91	7.4	317	31
シベルメトリン	87	7.3	76	24
アニトロチオン	96	7.1	49	9.4
フェンバレート	88	7.1	93	27
マラチオン	74	6.3	42	12

抽出液の精製に GC/NH₂ ミニカラム及び GC/PSA ミニカラムを使用して、回収実験を行ったので以下に示す。また、抽出液の精製を行わないものも実施した。対象農薬の一つであるクロロタロニルは溶出溶媒によって、GC/NH₂ ミニカラム及び GC/PSA ミニカラムの

固相から溶出しきれずに残ってしまい、回収率低下に繋がるとの報告がされている。しかし、アセトニトリル：トルエン（3：1）では良好な回収率が得られるとも報告されている為本研究では上記の溶媒を使用した。

精製を行わない実験について以下に示す。切断したキク試料 5 g にアセトニトリル 20 mL 添加し、10 分間超音波抽出を行い、抽出液を得た。その後、抽出液 10 mL に氷酢酸を添加し pH を 5.0 に調整し、無水硫酸マグネシウムで脱水を行った。抽出液を 1 mL 分取し、7 種混合農薬標準品 (100 μ g/mL) を 4 μ g 添加し、内標準物質 2 種をそれぞれ 1 μ g/mL になるように添加し、よく攪拌し、100 μ L 分取し GC-MS で測定した。定量は標準添加法で行った。結果を Table 2 に示す。農薬の回収率は全般に高く、120%を超えるものが半数以上となった。これは得られた抽出液中の葉緑素等の狭雑物の増感作用によりピーク面積が増加した為と考えられる。

	回収率 (%)	RSD (%)
クロロタロニル	137	11
ヘキサコナゾール	110	11
カルバリル	139	10
シペルメトリン	173	33
フェニトロチオン	89	9.7
フェンバレレート	163	19
マラチオン	99	9.0

Table 2 未精製時の農薬の回収率 (n=3)

精製に PSA を使用した実験を行った (n=3)。実験方法は、上記の方法と同様に抽出液を作成し 7 種混合農薬標準品を添加した後に、PSA 50 mg 及び無水硫酸マグネシウム 150 mg を加え精製した。この精製した抽出液に内標準物質を添加し、以下、上記と同様の操作とした。結果を Table 3 に示す。ヘキサコナゾール及びカルバリルについて平均回収率が 125%及び 153%となりやや高い値を示した。この理由として、精製の際に PSA を使用したが、得られた溶液は未だ薄い緑色であり、共存する狭雑物により影響を受けた為と考えられる。したがって、PSA では十分な精製効果は得られないことがわかった。

Table 3 PSA 使用時の農薬の回収率 (n=3)

	回収率 (%)	RSD (%)
クロロタロニル	118	13
ヘキサコナゾール	125	6.8
カルバリル	153	14
シペルメトリン	76	15
フェニトロチオン	88	6.9
フェンバレレート	71	16
マラチオン	111	9.9

GC/NH₂ ミニカラムを使用した実験について示す (n=3)。抽出液の作成及び 7 種混合農薬

標準品添加については上記と同じ方法で行った。ただし、最適な溶出液量の検討も同時に行った為、溶出液 5 mL を 1 画分とし 6 画分に分けて溶出を行った。各溶出液 5 mL に窒素ガスを吹き付けることにより 1 mL まで濃縮し内標準物質を添加し、以下、上記と同様の操作とした。結果を Fig. 2 に示す。いずれの農薬においても回収率が 70%以上と良好な結果が得られた。

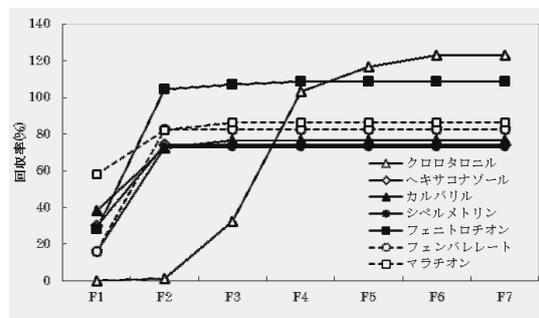


Fig. 2 GC/NH₂ ミニカラム使用時の各画分における農薬の回収率 (n=3)

GC/PSA ミニカラムを使用した実験について結果を Fig. 3 に示す (n=3)。抽出操作及び精製操作において GC/NH₂ ミニカラムと同様の操作を行い GC-MS で測定した。PSA 及び GC/NH₂ ミニカラムの結果と比較しても、いずれの農薬においても回収率が 95-111%と極めて良好な結果が得られた。以上の結果から、キク試料の精製には GC/PSA ミニカラムが適していると考えられる。

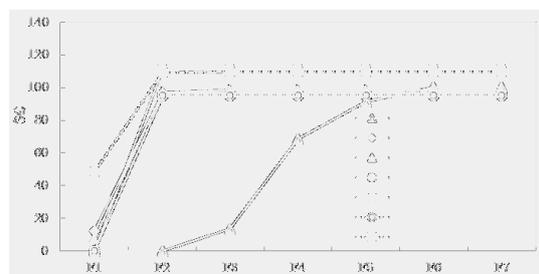


Fig. 3 GC/PSA ミニカラム使用時の各画分における農薬の回収率 (n=3)

(2) 室内放散性の検討

花卉に散布した農薬の放散量を Table 4 に示す。揮発量とチャンバー内壁沈着量を加えたものを放散量とした。クロロタロニル、ヘキサコナゾール、フェニトロチオン及びマラチオンの花卉からの放散が確認できた。シペルメトリンについては、検出限界値以下であった。放散量は 0.078-35 μ g であった。中でもフェニトロチオンの放散量が最も大きい結果となった。

Table4 花卉に散布した農薬の放散量 $D(n=3)$

	$D(\mu\text{g})$			
	平均	範囲		
クロロタロニル	2.1	1.2	-	2.8
ヘキサコナゾール	0.20	0.078	-	0.32
シベルメトリン	< 0.04	—	-	—
フェニトロチオン	26	16	-	35
マラチオン	5.3	4.4	-	6.4

個数単位当たりの放散速度 EFu ($\mu\text{g}/\text{unit}\cdot\text{h}$) の算出方法を以下に示す。ただし、 $D(\mu\text{g})$ は放散量、 $u(\text{unit})$ は試験片の個数及び $t(\text{h})$ は経過時間である。放散量については、エムポアディスクに捕集された農薬量を揮発量とし、チャンバー内壁沈着量を加えたものを放散量とし、算出した。また、経過時間は、実験開始から終了までの所要時間であり、本研究においては90時間である。

$$EFu = D / u \cdot t \dots\dots\dots (1)$$

室内空气中農薬濃度 C ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) は式(2)で表される。ただし、 $N(\text{unit})$ は室内の花弁数、 $Q(\text{m}^3/\text{h})$ は換気速度である。部屋の体積を6畳の部屋と想定して 23.8m^3 とした場合、換気速度は建築基準法の一般住宅における換気回数 $0.5(\text{回}/\text{h})$ から $11.9\text{m}^3/\text{h}$ と決定される。1本の花弁から放散する農薬量 EFu と換気に伴う農薬の排出量 CQ が等しくなる時、平衡状態に達する為以下の式が成り立つ。

$$C = EFu \cdot N / Q \dots\dots\dots (2)$$

曝露率 ER ($\mu\text{g}/\text{h}$) の算出方法を以下に示す。ただし、 AE (%) は吸入効率、 BR (m^3/h) は呼吸率である。 AE は1、 BR は2と想定し算出した。

$$ER = C \times AE \times BR \dots\dots\dots (3)$$

吸入曝露量 IE ($\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day}$) の算出方法を以下に示す。ただし、 $BW(\text{kg})$ は平均体重であり 50kg とし算出した。

$$IE = ER \times 24 (\text{h}) / BW \dots\dots\dots (4)$$

式(1)によって得られた EFu を Table 5 に示す。各農薬の EFu は $0.00029\text{--}0.13\mu\text{g}/(\text{unit}\cdot\text{h})$ の範囲であった。

Table 5 花卉1本当たりの $EFu(n=3)$

	$EFu(\mu\text{g}/\text{unit}\cdot\text{h})$			
	平均	範囲		
クロロタロニル	0.0082	0.0051	-	0.011
ヘキサコナゾール	0.00073	0.00029	-	0.0012
シベルメトリン	< 0.0015	—	-	—
フェニトロチオン	0.10	0.059	-	0.13
マラチオン	0.021	0.016	-	0.024

式(4)によって得られた各農薬の IE を Table 6 に示す。 IE は $0.000023\text{--}0.010\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day}$ の範囲であった。そのうち最も値が高かったフェニトロチオンの $IE(0.0082\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day})$ をヒト一日経気道曝露量 $7.4\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day}$ と

比較すると約 $1/900$ であり、吸入曝露による人体への影響は少ないと考えられた。

Table 6 各農薬の吸入曝露量 $(n=3)$

	$IE(\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day})$			
	平均	範囲		
クロロタロニル	0.00066	0.00041	-	0.00085
ヘキサコナゾール	0.000059	0.000023	-	0.000094
シベルメトリン	<0.00012	—	-	—
フェニトロチオン	0.0082	0.0048	-	0.010
マラチオン	0.0017	0.0013	-	0.0019

(3) 経皮曝露特性の評価

花卉に散布した農薬希釈液の付着量及び RSD (%) を Table 7 に示す。花卉1輪に対する作業後の付着量は、ST ダコニール中のクロロタロニルで $446\mu\text{g}/\text{unit}$ 、マイクロデナボン水和剤 85 中のカルバリルで $848\mu\text{g}/\text{unit}$ 、スミチオン乳剤中のフェニトロチオンで $557\mu\text{g}/\text{unit}$ と高い値であった。この理由は農薬製剤中の有効成分濃度が $2\text{--}85$ と幅広く異なる為、また花卉試料の大きさが個々で異なっていたことが原因として考えられ、RSD の高い値にも繋がると考えられる。

Table 7 花卉に散布した農薬希釈液の付着量及び RSD (%) ($n=5$)

農薬製剤名	有効成分	付着量 ($\mu\text{g}/\text{unit}$)	RSD (%)
ST ダコニール 1000	クロロタロニル	446	20
ST アンピルフロアブル	ヘキサコナゾール	18.6	5.8
マイクロデナボン水和剤 85	カルバリル	848	8.3
アグロスリン乳剤	シベルメトリン	30.2	9.5
スミチオン乳剤	フェニトロチオン	557	20
ハクサップ水和剤	フェンバレレート	63.8	23
マラソン乳剤 50	マラチオン	183	19

農薬の経皮曝露量、RSD (%) 及び接触による農薬の手袋への移行率 (%) を Table 8 に示す。経皮曝露実験において、経皮曝露量はカルバリルが最大の $16\mu\text{g}/\text{unit}$ であり、次いでクロロタロニル及びフェニトロチオンの順に高い値であった。また、すべての農薬において手袋への移行が確認でき、フェンバレレートが最も高い値を示した。これは、農薬製剤の性状が粉末であり、有効成分以外の物質の含有率が高いため、花卉表面に留まりやすく、手袋に多く移行したと考えられる。

Table 8 経皮曝露量、RSD (%) 及び接触による農薬の手袋への移行率 (%) ($n=5$)

	経皮曝露量 ($\mu\text{g}/\text{unit}$)	RSD (%)	移行率 (%)
クロロタロニル	10	13	2.3
ヘキサコナゾール	0.5	33	2.9
カルバリル	16	31	1.9
シベルメトリン	0.4	39	1.4
フェニトロチオン	5.7	19	1.0
フェンバレレート	4.0	46	6.3
マラチオン	1.3	21	0.7

本試験で得られた結果から、各農薬の一日推定曝露量の算出方法を以下に示す。経皮曝露量は 3.1 項から得られた値を使用し、皮膚

吸収率を3%、一日作業本数を1,000本及び平均体重を50kgと想定し、一日推定曝露量を算出した。

一日推定曝露量(μg/kg/day) = 経皮曝露量(μg/unit) · 皮膚吸収率(%) · 一日作業本数(unit) / 平均体重(kg)

各農薬の一日推定曝露量、ADI、MOEを算出した結果及びMOE判定基準をTable 9に示す。一日推定曝露量とADIからMOEを求めた結果、シベルメトリンにおいて191及びヘキサコナゾールにおいて145と100以上であったため、現状では情報収集などの作業は必要ないと考えられた。また、マラチオンにおいて25と10以上100未満であったため、情報収集に努める必要があると考えられた。しかし、フェンバレレートにおいて8.2、クロタロニルにおいて3.0、カルバリルにおいて2.1及びフェニトロチオンにおいて1.5と10未満であり、他の農薬より極めて低い値を示したため、さらに詳細な評価を行う必要があると考えられた。

Table 9 各農薬の一日推定曝露量、ADI、MOE及びMOE判定基準

	一日推定曝露量 (μg/kg/day)	ADI(μg/kg/day)	MOE
クロタロニル	6.1	18	3.0
ヘキサコナゾール	0.32	47	145
カルバリル	9.5	20	2.1
シベルメトリン	0.26	50	191
フェニトロチオン	3.4	5	1.5
フェンバレレート	2.4	20	8.2
マラチオン	0.80	20	25

【判定基準】		
MOE<10	10≦MOE<100	100≦MOE
詳細な評価を行う候補と考えられる	情報収集に努める必要があると考えられる	現状では作業は必要ないと考えられる

(4) 結論

キクに残留する7種農薬のGC/MS測定のための前処理方法を開発した。抽出溶媒としてpH5.0に調整したアセトニトリルを使用し、超音波抽出後、得られた抽出液をGC/PSAミニカラムで精製し、GC/MSで定量した。本法による回収率は75-126%、相対標準偏差は2.1-16%と良好であった。また、検出限界値は2-38 μg/kgであった。この方法を、市場に流通するキクに残留する農薬の定量に適用できた。

花卉に散布した5種の農薬のうち4種の農薬については放散が確認できた。フェニトロチオンの放散速度は、クロタロニル、ヘキサコナゾール及びマラチオンの放散速度よりも高い0.10 μg/(unit·h)であった。花卉1本分におけるフェニトロチオンの吸入曝露量(0.0082 μg/kg·day)は、ヒト許容一日経気道曝露量7.4 μg/kg·dayの1/900であった。したがって、日常生活における吸入曝露による影響は少ないように思える。

花卉中残留農薬実験において、市販されている花卉からフェニトロチオン、フェンバレレート及びマラチオンが検出された。試料数が少ないため、詳しい考察はできないが、今後も試料数を増やして分析を行っていく必要があると考えられる。花卉表面残留農薬実験においては、全ての花卉試料及び農薬製剤において検出下限値未満であった。

また、綿製手袋を使用した農薬の経皮曝露実験において、全ての農薬の手袋への移行を確認できた。経皮曝露量において、カルバリルが最大の16 μg/unitであり、次いでクロタロニルが10 μg/unit及びフェニトロチオンが5.7 μg/unitという順に高い値であった。MOEにおいて、フェンバレレートが8.2、クロタロニルが3.0、カルバリルが2.1及びフェニトロチオンが1.5と他の農薬より極めて低い値を示した。これらは今後さらに詳細な評価を行う必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計4件)

塩谷奈美, 大坂理人, 鈴木和将, 小瀬知洋, 川田邦明. 市場に流通する花卉に残留する農薬. 日本化学会新潟地方大会. 2009/8. 新潟

塩谷奈美, 鈴木和将, 小瀬知洋, 川田邦明. 花卉に含まれる残留農薬の分析前処理方法の検討. 第19回環境化学討論会. 2010/6. 春日井

塩谷奈美, 高井亜紗子, 小瀬知洋, 川田邦明, 鈴木和将. 花卉に残留する農薬の分析前処理方法及び室内放射性の検討. 第45回日本水環境学会年会. 2011/3. 札幌

塩谷奈美, 鈴木和将, 小瀬知洋, 川田邦明. 花卉に残留する農薬の室内放散及び経皮曝露によるリスク評価. 第46回日本水環境学会年会, 2012/3. 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川田邦明 (KUNIAKI KAWATA)

新潟薬科大学・応用生命科学部・教授

研究者番号: 50367413

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月18日現在

機関番号：33101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009年度～2011年度

課題番号：21590721

研究課題名（和文）輸入花き類中農薬の測定手法の確立及び室内中農薬の曝露・リスク評価

研究課題名（英文）Analytical method and risk assessment of pesticide in imported flowers

研究代表者 川田 邦明 (KUNIAKI KAWATA)

新潟薬科大学・応用生命科学部・教授

研究者番号：50367413

研究成果の概要（和文）：

花卉に残留する農薬の分析前処理方法は確立された。抽出液の pH、抽出溶媒及び精製方法が評価された。研究に使用した農薬は殺菌剤 2 種、クロロタロニル及びヘキサコナゾール、殺虫剤 5 種、カルバリル、シベルメトリン、フェニトロチオン、フェンバレレート及びマラチオンを含んだ。最も良好な回収率は検討した条件の中で、pH 5.0 で抽出溶媒としてアセトニトリル及び精製方法に InertSep GC/PSA ミニカラムを使用することにより得られた。全体を通しての回収率は 75-126%、相対標準偏差の値は 2.1-16% の範囲であった。

また、花卉に散布した農薬の室内放散性の検討は行われた。散布した農薬の揮発はクロロタロニル、ヘキサコナゾール、フェニトロチオン及びマラチオンで確認された。フェニトロチオンの放散速度は、クロロタロニル、ヘキサコナゾール及びマラチオンの放散速度よりも高い 0.10 µg/(unit・h) であった。花卉 1 本分におけるフェニトロチオンの吸入曝露量は算出された。この値 (0.0082 µg/kg・day) は、ヒト許容一日経気道曝露量 7.4 µg/kg・day の 1/900 であった。したがって、日常生活における吸入曝露による影響は少ないように思える。

研究成果の概要（英文）：

A pretreatment method for residual pesticides in cut flower was developed. The pH of the extract, the extraction solvent and the cleanup method were evaluated. The investigated pesticides included two fungicides, chlorothalonil and hexaconazole, and six insecticides, carbaryl, cypermethrin, fenitrothion, fenvalerate and malathion. The most satisfactory recoveries were obtained using acetonitrile as the extraction solvent and InertSep GC/PSA for the cleanup step at pH 5.0 in these conditions. The overall recoveries were 75-126% and the relative standard deviations ranged from 2.1 to 16%. This method successfully applied to cut flower.

Moreover, the indoor diffusion of spiked pesticides on the cut flower was evaluated. The volatilization of the spiked pesticides was confirmed with chlorothalonil, Hexaconazole, fenitrothion and malathion. The emission factor of fenitrothion was 0.10 µg/(unit・h), which is higher than those of chlorothalonil Hexaconazole and malathion. The calculated inhalation exposure for fenitrothion from a cut flower (0.0082 µg/kg・day) was 1/900 of the acceptable daily airway exposure level for fenitrothion (7.4 µg/kg・day). Therefore, the effect of fenitrothion to human by emission factor appears to be low in daily life.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	500,000	150,000	650,000

年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学 公衆衛生学・健康科学

キーワード：健康管理、輸入花き、農薬、GC/MS

1. 研究開始当初の背景

平成18年5月、残留基準が設定されていない農薬などが一定量以上（人に悪影響を及ぼす）含まれる農作物の流通を原則禁止することを目的とした「ポジティブリスト制度」が施行された。しかし、食品でない農作物である花卉類は、ポジティブリストの規制の対象外である。地方の農業試験場などでは、食用花卉類の残留農薬分析が単発的に行われているものの、食用でない花卉類について、分析例が皆無である。また、海外において、花卉栽培従事者の農薬に対する健康影響について研究報告例はあるものの、消費者が花卉購入後、残留農薬によって健康影響を及ぼすかどうかといった消費者の観点からの研究報告例はない。実質的に、花卉中残留農薬のデータはほとんど皆無である。そのため、輸入花卉中の残留農薬に関する知見を得ることは、管理を行う上で極めて重要な課題である。そこで、本研究では、輸入花卉中残留農薬に着目して、花卉中残留農薬分析方法の確立ならびに花卉購入後の消費者視点からの農薬曝露・リスク評価を行う。また、花卉業界の実態調査を行ううえで、キーパーソンであるJA新潟から、輸入花卉の安全性について相談を受けて、花卉中残留農薬の分析方法の検討、また、定期的に討論を行っている背景がある。

2. 研究の目的

花卉の栽培において、花の美しさを保ち出荷するために（病害虫を防ぐ目的）、他の食用に供する農作物と同様に農薬の散布が行われている。しかし、花卉類は食品ではないことから、ポジティブリストの規制の対象外であり、残留農薬の基準値は設定されていない。また、散布量等についても食用の農作物と比較して基準が緩い場合が多く、特に輸入花卉においては過度な農薬散布が行われている危険性も高い。以上のような背景から、花卉類中に農薬が残留する可能性も考えられ、更に皮膚や呼吸からの曝露など人体の影響も懸念されている。しかし、花卉に残留する農薬については、食用花卉類の分析例は報告されているものの、食用でない花卉類の分析例は報告されていない。また、花卉を購入した消費者が揮発する残留農薬に曝露されるかどうかという観点からの研究報告例がないこともまた現状として挙げられる。そこ

で、本論文では、花卉における残留農薬の現状を把握するため、花卉における残留農薬の分析前処理法の検討及び室内放散性の検討を行ったので報告する。

3. 研究の方法

(1) 装置および試薬

GC/MSはサーモフィッシャー社製 Trace GC、及びPOLARIA-Qから構成されるシステムを使用した。GCのカラムはAgilent社製 J&W DB-5MS (30 m × 0.25 mm i.d. 膜厚 0.25 μm) を用いた。超音波発生装置はアイワ医科工業社製超音波洗浄機 AU-80C を用いた。

対象農薬であるクロロタロニル (99.0%)、ヘキサコナゾール (99.0%)、シペルメトリン (96.0%)、フェニトロチオン (98.0%) 及びフェンバレレート (99.0%) の標準品は和光純薬工業から入手した。カルバリル (99.0%) 及びマラチオン (99.0%) の標準品、内標準物質として用いた1,4-ジヨードベンゼン及び9-ブロモアントラセンは関東化学から入手した。

アセトニトリル、アセトン、酢酸エチル、ジクロロメタン及びトルエン（いずれも残留農薬・PCB試験用5000倍濃縮試験品）は関東化学から入手した。メタノール（残留農薬・PCB試験用5000倍濃縮試験品）、無水硫酸ナトリウム（残留農薬・PCB試験用）、無水硫酸マグネシウム（特級試薬）及び氷酢酸（ACS）は和光純薬工業から入手した。無水硫酸マグネシウムは500℃で5時間焼いたものを使用した。InertSep GC/NH₂ ミニカラム (500 mg/500 mg 6 mL) 及び InertSep GC/PSA ミニカラム (500 mg/500 mg 6 mL) はジーエルサイエンス社から入手した。PSA (粒径 40 μm) は VARIAN 社から入手した。

使用した花卉は三大花卉の一つであるキク (*Chrysanthemum morifolium*) を使用し、新潟県内の市場から購入した。また、実験に用いたキク（マレーシア産）から農薬は検出されなかった。

(2) 実験方法

① 前処理方法の検討

抽出操作を以下に示す。ある程度切断したキク試料 1 g に、アセトニトリル 4 mL 及び氷酢酸 70 μL を添加し、10 分間超音波抽出した。得られた抽出液の pH が 5.0 であることを確認後、サンプル中の水分の影響を除去

するため、無水硫酸マグネシウムで脱水を行った。

抽出液のうち 2 mL 分取し、GC/PSA ミニカラムを使用し、精製を行った。GC/PSA ミニカラムをアセトニトリル：トルエン (3:1) 10 mL でコンディショニングし、アセトニトリル抽出液を負荷し、アセトニトリル：トルエン (3:1) 30 mL でゆっくり溶出した。得られた溶出液をロータリーエボレーターで 5 mL まで濃縮し、内標準物質 2 種をそれぞれ 1 $\mu\text{g/mL}$ になるように添加し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、1 mL 分取し GC-MS で測定した。

②室内放散性の検討

花卉に散布した農薬は市販の農薬製剤が入手できた 5 種を用いた。ST ダコニール 100、ST アンビルフロアブル及びアグロスリン乳剤は住友化学社製、スミチオン乳剤は住友化学園芸社製及びマラソン乳剤 50 はキング化学社製を用いた。

市販農薬製剤を用いて、使用方法で指定された希釈倍率で希釈混合した水溶液を作成した。この水溶液の指定使用液量を花卉試料 3 本に散布し、乾燥させ、ガラス製チャンパー内に設置した (Fig. 1)。チャンパー内の空気の採取には、ろ紙ホルダーにアセトン 20 mL でコンディショニングを行ったエムポアディスク SDB-XD を設置し、エアポンプを用いて 0.5 L/min の流量で 90 時間 (2.7 m³) 吸引し、花卉から揮発した農薬を捕集した。捕集した農薬は、通気により脱水したエムポアディスクからアセトン 5 mL で溶出し、得られた溶出液を 10 mL に定容後、その内の 1 mL を分取し内標準物質 2 種をそれぞれ 0.5 $\mu\text{g/mL}$ になるように添加し、GC-MS で測定した。また、内壁に付着した農薬は、チャンパー内壁をアセトン 30 mL で洗いこみ、上記の方法と同様に測定を行った。

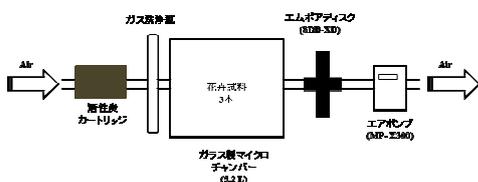


Fig. 1 曝露装置の概要

③経皮曝露特性の評価

ST ダコニール 1000、ST アンビルフロアブル、アグロスリン乳剤及びハクサップ水和剤は住友化学社製（日本、東京）、マイクロデナポン水和剤 85 は北興化学社製（日本、東京）、スミチオン乳剤は住友化学園芸社製（日本、東京）及びマラソン乳剤 50 はキング化学社製（日本、和歌山）使用方法で指定された希釈倍率で希釈した農薬希釈液を作成した。

農薬希釈液を散布量の目安（150 L/10a 及び 300 L/10a）から算出した液量をあらかじめ長さ 40 cm、葉の枚数 15 枚に揃え、農薬希釈液が均等に散布されるよう蕾を切り落とした花卉試料 1 本に散布し、乾燥させた。その後、あらかじめヘキサシアン及びアセトニトリルで超音波洗浄した綿製手袋を着用して農作業におけるわき芽取りを想定し、両手の指先で交互に一回ずつ葉を摘むように接触した。

操作後の綿製手袋一双にアセトニトリル 100 mL 加え、15 分間超音波抽出を行い抽出液を得た。残った綿製手袋をアセトニトリル 100 mL で 1 回洗い込み、得られた洗い込み溶液を抽出液と合わせた。得られた抽出液は、前述の前処理法で精製後、GC/MS による分析を行い、経皮曝露量を評価した。

4. 研究成果

(1)前処理方法の検討

超音波抽出 1 回後のキクからの農薬の脱着能力についてアセトニトリル及び酢酸エチルを抽出溶媒として検討を行った。実験方法について以下に示す。ある程度切断したキク試料 5 g に 7 種混合農薬標準品 (100 $\mu\text{g/mL}$) を 40 μg 添加し、乾燥し、各溶媒をそれぞれ 20 mL 添加し、氷酢酸を 350 μL 添加した。その後、10 分間超音波抽出を行った。アセトニトリル抽出液の pH が 5.0 であることを確認し、無水硫酸マグネシウムで脱水し、内標準物質 2 種をそれぞれ 1 $\mu\text{g/mL}$ になるように添加し、よく攪拌した。抽出液を 1 mL 分取し GC-MS で測定した。定量は標準添加法で行った。これらの結果を Table 1 に示す。抽出溶媒がアセトニトリルの時、回収率が 74–99%、相対標準偏差 (RSD) が 6.3–8.2% と最も良い結果を得た。酢酸エチルについては、ほとんどの農薬で回収率が 60% 以下あるいは 120% 以上となった。酢酸エチルはアセトニトリルに比べて狭雑物も多く抽出されることから、農薬がそれらの影響を受けたと考えられる。以上のことから、抽出溶媒としてアセトニトリルが適当であると判断された。

Table 1 抽出溶媒毎の農薬回収率 (n=3)

	アセトニトリル		酢酸エチル	
	回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)
クロロタロニル	97	6.8	56	9.9
ヘキサコナゾール	99	8.2	49	5.9
カルバシル	91	7.4	317	31
シベルメトリン	87	7.3	76	24
アニトロチオン	96	7.1	49	9.4
フェンバレート	88	7.1	93	27
マラチオン	74	6.3	42	12

抽出液の精製に GC/NH₂ ミニカラム及び GC/PSA ミニカラムを使用して、回収実験を行ったので以下に示す。また、抽出液の精製を行わないものも実施した。対象農薬の一つであるクロロタロニルは溶出溶媒によって、GC/NH₂ ミニカラム及び GC/PSA ミニカラムの

固相から溶出しきれずに残ってしまい、回収率低下に繋がるとの報告がされている。しかし、アセトニトリル：トルエン（3：1）では良好な回収率が得られるとも報告されている為本研究では上記の溶媒を使用した。

精製を行わない実験について以下に示す。切断したキク試料 5 g にアセトニトリル 20 mL 添加し、10 分間超音波抽出を行い、抽出液を得た。その後、抽出液 10 mL に氷酢酸を添加し pH を 5.0 に調整し、無水硫酸マグネシウムで脱水を行った。抽出液を 1 mL 分取し、7 種混合農薬標準品 (100 μ g/mL) を 4 μ g 添加し、内標準物質 2 種をそれぞれ 1 μ g/mL になるように添加し、よく攪拌し、100 μ L 分取し GC-MS で測定した。定量は標準添加法で行った。結果を Table 2 に示す。農薬の回収率は全般に高く、120%を超えるものが半数以上となった。これは得られた抽出液中の葉緑素等の狭雑物の増感作用によりピーク面積が増加した為と考えられる。

	回収率 (%)	RSD (%)
クロロタロニル	137	11
ヘキサコナゾール	110	11
カルバリル	139	10
シペルメトリン	173	33
フェニトロチオン	89	9.7
フェンバレレート	163	19
マラチオン	99	9.0

Table 2 未精製時の農薬の回収率 (n=3)

精製に PSA を使用した実験を行った (n=3)。実験方法は、上記の方法と同様に抽出液を作成し 7 種混合農薬標準品を添加した後に、PSA 50 mg 及び無水硫酸マグネシウム 150 mg を加え精製した。この精製した抽出液に内標準物質を添加し、以下、上記と同様の操作とした。結果を Table 3 に示す。ヘキサコナゾール及びカルバリルについて平均回収率が 125%及び 153%となりやや高い値を示した。この理由として、精製の際に PSA を使用したが、得られた溶液は未だ薄い緑色であり、共存する狭雑物により影響を受けた為と考えられる。したがって、PSA では十分な精製効果は得られないことがわかった。

Table 3 PSA 使用時の農薬の回収率 (n=3)

	回収率 (%)	RSD (%)
クロロタロニル	118	13
ヘキサコナゾール	125	6.8
カルバリル	153	14
シペルメトリン	76	15
フェニトロチオン	88	6.9
フェンバレレート	71	16
マラチオン	111	9.9

GC/NH₂ ミニカラムを使用した実験について示す (n=3)。抽出液の作成及び 7 種混合農薬

標準品添加については上記と同じ方法で行った。ただし、最適な溶出液量の検討も同時に行った為、溶出液 5 mL を 1 画分とし 6 画分に分けて溶出を行った。各溶出液 5 mL に窒素ガスを吹き付けることにより 1 mL まで濃縮し内標準物質を添加し、以下、上記と同様の操作とした。結果を Fig. 2 に示す。いずれの農薬においても回収率が 70%以上と良好な結果が得られた。

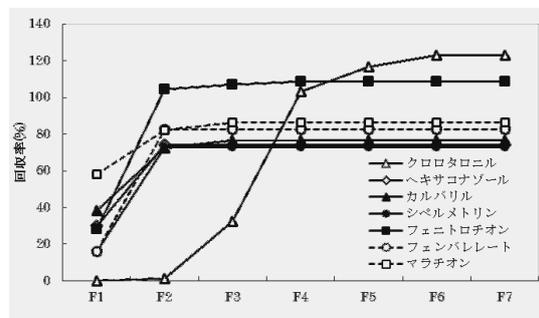


Fig. 2 GC/NH₂ ミニカラム使用時の各画分における農薬の回収率 (n=3)

GC/PSA ミニカラムを使用した実験について結果を Fig. 3 に示す (n=3)。抽出操作及び精製操作において GC/NH₂ ミニカラムと同様の操作を行い GC-MS で測定した。PSA 及び GC/NH₂ ミニカラムの結果と比較しても、いずれの農薬においても回収率が 95-111%と極めて良好な結果が得られた。以上の結果から、キク試料の精製には GC/PSA ミニカラムが適していると考えられる。

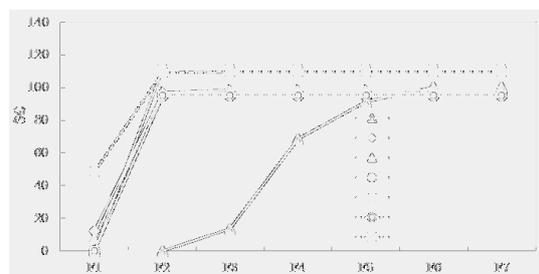


Fig. 3 GC/PSA ミニカラム使用時の各画分における農薬の回収率 (n=3)

(2) 室内放散性の検討

花卉に散布した農薬の放散量を Table 4 に示す。揮発量とチャンバー内壁沈着量を加えたものを放散量とした。クロロタロニル、ヘキサコナゾール、フェニトロチオン及びマラチオンの花卉からの放散が確認できた。シペルメトリンについては、検出限界値以下であった。放散量は 0.078-35 μ g であった。中でもフェニトロチオンの放散量が最も大きい結果となった。

Table4 花卉に散布した農薬の放散量 $D(n=3)$

	$D(\mu\text{g})$			
	平均	範囲		
クロロタロニル	2.1	1.2	-	2.8
ヘキサコナゾール	0.20	0.078	-	0.32
シベルメトリン	< 0.04	—	-	—
フェニトロチオン	26	16	-	35
マラチオン	5.3	4.4	-	6.4

個数単位当たりの放散速度 EFu ($\mu\text{g}/\text{unit}\cdot\text{h}$) の算出方法を以下に示す。ただし、 $D(\mu\text{g})$ は放散量、 $u(\text{unit})$ は試験片の個数及び $t(\text{h})$ は経過時間である。放散量については、エムポアディスクに捕集された農薬量を揮発量とし、チャンバー内壁沈着量を加えたものを放散量とし、算出した。また、経過時間は、実験開始から終了までの所要時間であり、本研究においては90時間である。

$$EFu = D / u \cdot t \dots\dots\dots (1)$$

室内空气中農薬濃度 C ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) は式(2)で表される。ただし、 $N(\text{unit})$ は室内の花弁数、 $Q(\text{m}^3/\text{h})$ は換気速度である。部屋の体積を6畳の部屋と想定して 23.8m^3 とした場合、換気速度は建築基準法の一般住宅における換気回数 $0.5(\text{回}/\text{h})$ から $11.9\text{m}^3/\text{h}$ と決定される。1本の花弁から放散する農薬量 EFu と換気に伴う農薬の排出量 CQ が等しくなる時、平衡状態に達する為以下の式が成り立つ。

$$C = EFu \cdot N / Q \dots\dots\dots (2)$$

曝露率 ER ($\mu\text{g}/\text{h}$) の算出方法を以下に示す。ただし、 AE (%) は吸入効率、 BR (m^3/h) は呼吸率である。 AE は1、 BR は2と想定し算出した。

$$ER = C \times AE \times BR \dots\dots\dots (3)$$

吸入曝露量 IE ($\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day}$) の算出方法を以下に示す。ただし、 $BW(\text{kg})$ は平均体重であり 50kg とし算出した。

$$IE = ER \times 24 (\text{h}) / BW \dots\dots\dots (4)$$

式(1)によって得られた EFu を Table 5 に示す。各農薬の EFu は $0.00029\text{--}0.13\mu\text{g}/(\text{unit}\cdot\text{h})$ の範囲であった。

Table 5 花卉1本当たりの $EFu(n=3)$

	$EFu(\mu\text{g}/\text{unit}\cdot\text{h})$			
	平均	範囲		
クロロタロニル	0.0082	0.0051	-	0.011
ヘキサコナゾール	0.00073	0.00029	-	0.0012
シベルメトリン	< 0.0015	—	-	—
フェニトロチオン	0.10	0.059	-	0.13
マラチオン	0.021	0.016	-	0.024

式(4)によって得られた各農薬の IE を Table 6 に示す。 IE は $0.000023\text{--}0.010\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day}$ の範囲であった。そのうち最も値が高かったフェニトロチオンの $IE(0.0082\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day})$ をヒト一日経気道曝露量 $7.4\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day}$ と

比較すると約 $1/900$ であり、吸入曝露による人体への影響は少ないと考えられた。

Table 6 各農薬の吸入曝露量 $(n=3)$

	$IE(\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day})$			
	平均	範囲		
クロロタロニル	0.00066	0.00041	-	0.00085
ヘキサコナゾール	0.000059	0.000023	-	0.000094
シベルメトリン	<0.00012	—	-	—
フェニトロチオン	0.0082	0.0048	-	0.010
マラチオン	0.0017	0.0013	-	0.0019

(3) 経皮曝露特性の評価

花卉に散布した農薬希釈液の付着量及び RSD (%) を Table 7 に示す。花卉1輪に対する作業後の付着量は、ST ダコニール中のクロロタロニルで $446\mu\text{g}/\text{unit}$ 、マイクロデナボン水和剤 85 中のカルバリルで $848\mu\text{g}/\text{unit}$ 、スミチオン乳剤中のフェニトロチオンで $557\mu\text{g}/\text{unit}$ と高い値であった。この理由は農薬製剤中の有効成分濃度が $2\text{--}85$ と幅広く異なる為、また花卉試料の大きさが個々で異なっていたことが原因として考えられ、RSD の高い値にも繋がると考えられる。

Table 7 花卉に散布した農薬希釈液の付着量及び RSD (%) ($n=5$)

農薬製剤名	有効成分	付着量 ($\mu\text{g}/\text{unit}$)	RSD (%)
ST ダコニール 1000	クロロタロニル	446	20
ST アンピルフロアブル	ヘキサコナゾール	18.6	5.8
マイクロデナボン水和剤 85	カルバリル	848	8.3
アグロスリン乳剤	シベルメトリン	30.2	9.5
スミチオン乳剤	フェニトロチオン	557	20
ハクサップ水和剤	フェンバレレート	63.8	23
マラソン乳剤 50	マラチオン	183	19

農薬の経皮曝露量、RSD (%) 及び接触による農薬の手袋への移行率 (%) を Table 8 に示す。経皮曝露実験において、経皮曝露量はカルバリルが最大の $16\mu\text{g}/\text{unit}$ であり、次いでクロロタロニル及びフェニトロチオンの順に高い値であった。また、すべての農薬において手袋への移行が確認でき、フェンバレレートが最も高い値を示した。これは、農薬製剤の性状が粉末であり、有効成分以外の物質の含有率が高いため、花卉表面に留まりやすく、手袋に多く移行したと考えられる。

Table 8 経皮曝露量、RSD (%) 及び接触による農薬の手袋への移行率 (%) ($n=5$)

	経皮曝露量 ($\mu\text{g}/\text{unit}$)	RSD (%)	移行率 (%)
クロロタロニル	10	13	2.3
ヘキサコナゾール	0.5	33	2.9
カルバリル	16	31	1.9
シベルメトリン	0.4	39	1.4
フェニトロチオン	5.7	19	1.0
フェンバレレート	4.0	46	6.3
マラチオン	1.3	21	0.7

本試験で得られた結果から、各農薬の一日推定曝露量の算出方法を以下に示す。経皮曝露量は 3.1 項から得られた値を使用し、皮膚

吸収率を3%、一日作業本数を1,000本及び平均体重を50kgと想定し、一日推定曝露量を算出した。

$$\text{一日推定曝露量}(\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}) = \text{経皮曝露量}(\mu\text{g}/\text{unit}) \cdot \text{皮膚吸収率}(\%) \cdot \text{一日作業本数}(\text{unit}) / \text{平均体重}(\text{kg})$$

各農薬の一日推定曝露量、ADI、MOEを算出した結果及びMOE判定基準をTable 9に示す。一日推定曝露量とADIからMOEを求めた結果、シベルメトリンにおいて191及びヘキサコナゾールにおいて145と100以上であったため、現状では情報収集などの作業は必要ないと考えられた。また、マラチオンにおいて25と10以上100未満であったため、情報収集に努める必要があると考えられた。しかし、フェンバレレートにおいて8.2、クロタロニルにおいて3.0、カルバリルにおいて2.1及びフェニトロチオンにおいて1.5と10未満であり、他の農薬より極めて低い値を示したため、さらに詳細な評価を行う必要があると考えられた。

Table 9 各農薬の一日推定曝露量、ADI、MOE及びMOE判定基準

	一日推定曝露量 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)	ADI($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)	MOE
クロタロニル	6.1	18	3.0
ヘキサコナゾール	0.32	47	145
カルバリル	9.5	20	2.1
シベルメトリン	0.26	50	191
フェニトロチオン	3.4	5	1.5
フェンバレレート	2.4	20	8.2
マラチオン	0.80	20	25

【判定基準】		
MOE<10	10≤MOE<100	100≤MOE
詳細な評価を行う候補と考えられる	情報収集に努める必要があると考えられる	現状では作業は必要ないと考えられる

(4) 結論

キクに残留する7種農薬のGC/MS測定のための前処理方法を開発した。抽出溶媒としてpH5.0に調整したアセトニトリルを使用し、超音波抽出後、得られた抽出液をGC/PSAミニカラムで精製し、GC/MSで定量した。本法による回収率は75-126%、相対標準偏差は2.1-16%と良好であった。また、検出限界値は2-38 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。この方法を、市場に流通するキクに残留する農薬の定量に適用できた。

花卉に散布した5種の農薬のうち4種の農薬については放散が確認できた。フェニトロチオンの放散速度は、クロタロニル、ヘキサコナゾール及びマラチオンの放散速度よりも高い0.10 $\mu\text{g}/(\text{unit}\cdot\text{h})$ であった。花卉1本分におけるフェニトロチオンの吸入曝露量(0.0082 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day}$)は、ヒト許容一日経気道曝露量7.4 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{day}$ の1/900であった。したがって、日常生活における吸入曝露による影響は少ないように思える。

花卉中残留農薬実験において、市販されている花卉からフェニトロチオン、フェンバレレート及びマラチオンが検出された。試料数が少ないため、詳しい考察はできないが、今後も試料数を増やして分析を行っていく必要があると考えられる。花卉表面残留農薬実験においては、全ての花卉試料及び農薬製剤において検出下限値未満であった。

また、綿製手袋を使用した農薬の経皮曝露実験において、全ての農薬の手袋への移行を確認できた。経皮曝露量において、カルバリルが最大の16 $\mu\text{g}/\text{unit}$ であり、次いでクロタロニルが10 $\mu\text{g}/\text{unit}$ 及びフェニトロチオンが5.7 $\mu\text{g}/\text{unit}$ という順に高い値であった。MOEにおいて、フェンバレレートが8.2、クロタロニルが3.0、カルバリルが2.1及びフェニトロチオンが1.5と他の農薬より極めて低い値を示した。これらは今後さらに詳細な評価を行う必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計4件)

塩谷奈美, 大坂理人, 鈴木和将, 小瀬知洋, 川田邦明. 市場に流通する花卉に残留する農薬. 日本化学会新潟地方大会. 2009/8. 新潟

塩谷奈美, 鈴木和将, 小瀬知洋, 川田邦明. 花卉に含まれる残留農薬の分析前処理方法の検討. 第19回環境化学討論会. 2010/6. 春日井

塩谷奈美, 高井亜紗子, 小瀬知洋, 川田邦明, 鈴木和将. 花卉に残留する農薬の分析前処理方法及び室内放射性の検討. 第45回日本水環境学会年会. 2011/3. 札幌

塩谷奈美, 鈴木和将, 小瀬知洋, 川田邦明. 花卉に残留する農薬の室内放散及び経皮曝露によるリスク評価. 第46回日本水環境学会年会, 2012/3. 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川田邦明 (KUNIAKI KAWATA)

新潟薬科大学・応用生命科学部・教授

研究者番号: 50367413