

農薬調査研究報告

第7号

平成27年

Research Report of Agricultural Chemicals

Vol. 7
2015



独立行政法人 農林水産消費安全技術センター
Food and Agricultural Materials Inspection Center
(Incorporated Administrative Agency)

Kodaira, Japan

はじめに

農林水産消費安全技術センター（FAMIC）は、農林水産省所管の独立行政法人であり、主な業務部門として、食品部門、肥料・飼料部門、農薬部門の３つの部門を有し、JAS法、肥料取締法、飼料安全法、農薬取締法等の法律に基づく食品、飼料、肥料等の品質の検査および農薬の登録検査等の業務を行っています。

農薬の製造者または輸入者は、農林水産大臣の登録を受けなければ、農薬の製造、加工、輸入等を行うことができないことになっていますが、FAMIC農薬検査部は、この農薬管理の要である農薬登録検査を主たる業務としています。また、農林水産省と連携し、全国から計画的に収集した農産物中の農薬の残留状況についても分析調査を行っています。

今般、平成２６年度の農薬検査部における調査研究成果を収録した農薬調査研究報告第７号を発行しました。一昨年度から農薬検査部では、調査研究の対象を実験を伴うもののみならず、農薬のリスク評価・管理、諸外国の農薬登録制度等に関する文献や現地調査等により収集した情報を分析・考察する調査や論考についても対象に位置付け、より多くの職員が調査研究に取り組める仕組みにしました。今号は、その新たな取り組み開始から３号目の報告書となります。内容も実験を伴うものと調査や論考等の割合が安定しつつあり、新たな取り組みが定着してきたものと自負しております。

本報告書が関係者の皆様の業務において参考になれば幸いです。なお、各方面からのご意見等も我々の調査研究の充実のためには不可欠ですので、お気づきの点がありましたら、ご連絡いただきたくお願い申し上げます。

平成２８年２月

独立行政法人 農林水産消費安全技術センター
理事長 木村 真人

目 次

欧米および国際機関における農薬の有効成分（原体）の規格設定方法に関する調査 荒巻敦史	1
FT-IR を用いた集取農薬と農薬見本の同等性の確認 渡辺高志，塚田勇輝，岡安弘之	1 7
カナダおよびオーストラリアにおける薬効および薬害に関する要求事項ならびにマイナー 使用対策の状況 佐々木千潮，佐々木詩織	5 4
農薬の作物残留濃度に大きな影響を与える初期付着量および作物生長に関する研究の状況 について 末永和也，坂部亮介，松野倫也，池田淳一，早川泰弘	6 2
農薬の水産動植物に対する生態リスク評価のための高次試験法に関する文献調査 石原悟	7 2
農薬ラベルの記載内容等に関する日本，米国およびEU の比較 中野渡高之，荻野知美，上野敬規	8 2
検量線に関わる理論と評価方法について 北村恭朗	1 0 1
Effects of organic carbon quality on the sorption behavior of pesticides in Japanese soils (Journal of Pesticide Science, 2014, 39(2), pp 105-114) Yutaka Motoki, Takashi Iwafune, Nobuyasu Seike, Takashi Otani and Maki Asano	1 0 7

平成26年度学会等での発表実績一覧	1 1 7
-------------------	-------

【技術レポート】

残留農薬分析業務における分析法の検討 1

ペンチオピラド試験法の導入のための妥当性検証

加藤直樹，守山智章，鈴木徹也，山田篤司，青山吉一，臼井裕一 1 2 0

残留農薬分析業務における分析法の検討 2

一斉試験法（米穀）における調査対象農薬追加のための妥当性検証

青山吉一，臼井裕一，加藤直樹，守山智章，鈴木徹也，山田篤司 1 2 5

欧米および国際機関における農薬の有効成分（原体）の 規格設定方法に関する調査

荒巻 敦史

独）農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

欧州および米国では、農薬登録の審査の過程で、毒性試験に用いた原体の組成と試験的に小規模で製造した原体の組成の同等性および今後工業的に製造する原体の組成を考慮して、農薬原体に規格を設定している。FAO/WHO では、規格設定のために必要な情報は、有効成分の素性、原体の製造方法、有効成分・不純物・添加剤の規格値案および根拠、5 バッチ以上の組成分析、人畜毒性・生態毒性に関する情報、分析方法に関する情報であり、いずれの機関でも同様な情報を要求している。

Keywords：原体，規格（specifications），農薬に係る FAO 規格，有効成分原体の規格，

緒 言

農薬は国際的に流通する商品であることから、その規制に関して、国際的な枠組みで各種の検討が進められている。

我が国における農薬の登録制度においても、欧米および国際機関で策定される基準や要求試験項目に関する動向を注視しつつ、農薬登録に必要なデータの整備が進められている。

そこで、欧米および国際機関では既に導入されている農薬原体の規格の設定方法に関して調査した。

1. FAO/WHO（国際連合世界食糧農業機関／世界保健機構）

FAO/WHO では、農薬の購入および使用の際の信用を高め、人体や環境への安全性およびより持続可能な農業生産と公衆衛生の向上に貢献することを目的として、農薬の原体および製剤に係る規格を設定している。

農薬原体（technical grade active ingredients）および製剤の規格（specifications）は、「農薬に係る FAO および WHO 規格の設定および使用のための手引書¹⁾」に基づき設定される。当該手引書は、2002 年に初版が発行され、2010 年に初版の第二回改訂版（以下「FAO/WHO 規格設定手引書」という。）が発行され、これが最新となっている。

1. 1. 設定の手順

FAO および WHO は規格の提案者を募集し、提案者が申請する。提案のあった規格設定が JMPS

（農薬規格に係る FAO/WHO 合同会合）における今後 3 年間の議題に決定されると、提案者により規格案および支持情報が提出される。FAO および WHO により指名された評価者は、必要に応じて提案者と協議し、規格案および支持情報に基づいて規格原案、評価書案および査定（appraisal）を作成する。査読者（peer reviewer）は、作成された規格原案、評価書案および査定に対する意見・提案を評価者に連絡する。また、規格原案、評価書案および査定は提案者にも送られ、提案者は必要に応じて、評価者に追加情報を提供する。JMPS において、評価者による規格原案等の説明、専門家による議論がなされ、規格および評価書が確定される。規格とそれに付随する評価書は、FAO あるいは WHO のサイトで公表されている。

(<http://www.fao.org/agriculture/crops/thematic-sitemap/theme/pests/jmps/ps-new/en/>)

または、

(<http://www.who.int/whopes/quality/newspecif/en/>)

表 1. FAO/WHO における原体規格設定の手順

当事者	作 業	期 限
JMPS 提案者	提案に係る募集 提案の申請	1 月 随時
JMPS 提案者	作業の 3 年間プログラムの公表 規格案と支持情報	6 月 30 日 9 月 30 日
FAO/WHO 評価者	評価者と査読者の指名	10 月 14 日
提案者	必要ならば、更なる情報の要求	12 月 31 日
評価者	要求された追加情報の提供	2 月 28 日
提案者	あらゆる問題に関する討議	4 月 30 日
評価者	提案者、FAO/WHO、査読者に規格原案、評価と査定を送付	4 月 30 日
査読者	FAO と WHO に意見と提案	5 月 15 日
提案者	評価における論点を FAO/WHO に連絡し、FAO/WHO は、直ちに 評価者へ概要を送付	JMPS の 3 週前
JMPS 提案者	申請に関する議論と決定；提案者への更なる情報の最終要請	6 月の第 1 週
評価者	追加情報の提供 同等性決定のための比較表の完成	JMPS
FAO/WHO	規格の公表	12 月 31 日

1. 2. 要求事項

「FAO/WHO 規格設定手引書」に記載されている化学農薬に係る有効成分の原体および製剤の参照規格を支持するために必要な最小データは、表 2, 3, 4 のとおりである。

なお、「FAO/WHO 規格設定手引書」では、原体を TC (technical material) と TK (technical concentrate) の 2 つに区別しているが、本稿では区別せず、原体として記載した。TC および TK は、「FAO/WHO 規格設定手引書」で次のように定義されている。

TC : technical material (工業用原体)

有効成分を作るための製造工程からの結果としての 1 つの材料であり、その際、不純物も一緒に作られる。この材料には、必要な添加物を少量含むことがある。有効成分の下限を設定する。

TK : technical concentrate (工業用濃厚体＝原液、原末)

有効成分を作るための製造工程からの結果としての 1 つの材料であり、その際、不純物も一緒に作られる。この材料には、必要な添加物および適切な溶媒を少量含むことがある。有効成分の下限と上限を設定する。

表 2. 純品および原体 (TC/TK) のデータ

1. 有効成分の素性 (identity)

1. 1. ISO 英名または INCI 名、類義語
1. 2. 化学名 (IUPAC 名と CA 名)
1. 3. CAS 番号
1. 4. CIPAC 番号
1. 5. 構造式
1. 6. 異性体組成 (該当する場合)
1. 7. 分子式
1. 8. 分子量

2. 有効成分*の物理的・化学的性質

※純品 (分析用標準品と同等の純度を有する有効成分)

2. 1. 蒸気圧
2. 2. 融点
2. 3. 分解温度
2. 4. 水溶解度
2. 5. オクタノール/水分配係数
2. 6. 解離定数 (該当する場合)
2. 7. 加水分解・光分解等の分解特性
2. 8. 融点 (0 °C 以上で固体の場合、原体使用)
2. 9. 有機溶媒溶解度 (室温下、純品または原体を用いる)

3. 製造方法の概要
4. 有効成分含有量の下限
5. バッチ分析データから支持される 1 g/kg 以上含有する不純物の最大許容量 - 申請者は製造上の許容量の設定の根拠（例えば、実際に製造した場合の最大値、実際に製造した場合の平均値 + (3×標準偏差) 等）を述べなければならない。 - バッチ分析データは、少なくとも代表的な 5 バッチについて必要であり、もし、1 つより多い場所で製造されている場合、5 バッチ分析データは、不純物組成が極端に異なる 2 場所以上で実施しなければならない。 - 提案された 1 g/kg 以上含有する懸念される不純物は、同定されていなければならない。 - 未同定および/または説明できない画分は 20 g/kg を超えてはならない。
6. 1 g/kg 未満含有され、有害性が懸念される不純物の最大許容量 - 製造上の許容量の根拠 - バッチ（少なくとも代表的な 5 バッチ）分析データ
7. 懸念される不純物についての情報 認められた影響（例；毒性影響または有効成分の安定性に対する影響）の説明
8. 原体に意図的に添加する化合物の素性と名目上の量 (g/kg)
9. 毒性の概要
9. 1. 急性経口、経皮、吸入の毒性、皮膚および眼刺激性、皮膚感作性に基づく原体 (TC/TK) の毒性の概要 9. 2. 反復投与（亜急性から慢性）および繁殖性・催奇形性、遺伝毒性、発がん性等の試験に基づく原体 (TC/TK) の毒性の概要 9. 3. 使用方法に従って使用した場合の水生および陸生生物（例、魚類、ミジンコ、藻類、鳥類、ミツバチ）に対する原体 (TC/TK) の生態毒性の概要および残留性の情報
10. その他の情報
10. 1. 有害性による WHO 分類

10. 2. 毒性、環境動態、生態毒性に係る JMPR（残留農薬に係る FAO / WHO 合同会合）評価があるならば、参照として提出すべきである。JMPR に提出された毒性および生態毒性データは、これらの試験に用いられた原体のバッチ分析データと相互参照されていなければならない。
10. 3. 登録データへのアクセスを許可する承認書
10. 4. 原体の成分組成と有害性情報・リスク評価を関連付けるための陳述書

表 3. 製剤のデータ

1. 公衆衛生用途、農業用途、両方の用途の特定
2. 公衆衛生用薬剤の場合、WHOPES によって有効性が評価された薬剤と、成分組成と製造方法が同等なものであることの確証
3. 主要な剤型を列挙し、規格設定を申請している剤型を特定
4. 製剤が登録および販売されている主要な国
5. 製剤の物理的・化学的性状

表 4. 分析方法および試験方法のデータ

1. 有効成分を識別する試験方法（2 つ以上）、必要に応じ、対イオンまたはその他誘導体を識別する試験方法（1 つ）
2. 有効成分の含有量測定方法 ・共同分析により有効性が確認された方法
3. 懸念不純物の詳細な分析方法 ・公表されていない場合、有効性確認試験も提出する
4. 原体 (TC/TK) 中の非懸念不純物の分析に使用した分析法の原理
5. 物理的・化学的性状のために参照した試験方法
6. 上記 2, 3, 4 の分析法の評価状況（完了、進行中、計画中）

1. 3. 不純物の有害性に係る評価基準
 - (1) 不純物に有害性が懸念されるまたは懸念されないかの決定
不純物の有害性は、ケースバイケースにより科学的に判定される。以下の手順に従い、

不純物毎に判定される。

ア．有害性についての利用可能な情報

(ア) 不純物が、有効成分の有害性と同じ性質を持つことが知られている場合（追加的な毒性もある）は、「イ」へ。

(イ) 不純物が、有効成分の有害性とは異なる性質を持つことが知られている場合は、「イ」へ。

(ウ) 化学構造やその他の事項から強い毒性があり、不純物がカテゴリー（ア）または（イ）に分類される場合は、「イ」へ。

(エ) 不純物の有害性が知られていない場合、不純物がカテゴリー（ア）または（イ）に分類されることを疑う理由がない場合は、懸念がない不純物とする。

イ．不純物の存在

(ア) 貯蔵の前または後において、原体（TC/TK）の製造バッチ中に検出できるレベル*で一度でも存在したことのある不純物の場合は、「ウ」へ。

*デフォルトの要求は 1 g/kg の検出限界であるが、既知あるいは予想される不純物の毒性に依存して、より低い検出限界が要求される可能性がある。

(イ) 貯蔵の後にのみ、原体（TC/TK）の製造バッチ中に定量できるレベルで一度でも存在したことのある不純物の場合は、「ウ」へ。

(ウ) 貯蔵の前または後において、製剤中にのみ、一度でも存在したことのある不純物の場合は、原体（TC/TK）は問題なしとする。製剤は「ウ」へ。

(エ) 原体（TC/TK）または製剤中に定量できるレベルで存在しない不純物は「エ」へ。

ウ．有害性の寄与の評価

以下のことに該当する場合、有効成分の毒性的有害性に対する不純物のワーストケース寄与が計算され、有害性が懸念されるかどうか判断される。

・有効成分および不純物によって認められた有害性が類似していると考えられる。

・影響は、相加的であると考えられる。

・不純物の毒性が既知である、または、類似化合物のデータから予想できる。

(ア) 有害性に対して計算*で得られた最悪のケースの寄与が無視できる寄与の閾値を超える（不純物に起因する有害性の理論的最大増加量が 10 %を超える）場合は、懸念される不純物とする。（計算式参照）

*計算は、不純物そのものから得られたデータに基づくか、類似化合物からの外挿が使用されることもある。

(イ) 有害性に対する最悪のケースの寄与が計算できない場合*は、懸念される不純物とする。

*計算が不可能な理由としては、例えば、必要なデータが得られない、問題となる有害性が寄与の計算に適さない、無視できる閾値が推定できない場合がある。有効成分の毒性と質的に異なる毒性を不純物が有する場合は該当する。

(ウ) 有害性に対して計算で得られた最悪のケースの寄与は、無視できる寄与の閾値を超えない場合は、懸念がない不純物とする。

エ．定量できないレベルの評価

(ア) 不純物が原体（TC/TK）の製造バッチ中に時々存在するが、バッチの混合により定量できないレベルとなる場合は、「ウ」へ。（計算には混合前の許容量を使用）

(イ) 証拠あるいは経験により不純物が有効成分の原体中に存在することを示すが、評価対象の製品中では検出できるレベルで存在したことがない、もしくは、用いた製造工程で生成したものではない、または、不純物が出発原料から生成する

が、評価対象となっているデータの製造者が用いている原料では生成していない場合は、懸念がない不純物とするが、規格*には注意書きを追記する。

*注意書きには、不純物と定量限界を記載し、規格には不純物を含める必要がないと考えられるものの他の製造者の製品中には定量可能なレベルで不純物が存在することを記載する。

(2) 有害不純物の許容量の割り当て

許容量は、ケースバイケースで科学的に判定されるが、WHO または他の当局からの専門的助言を考慮して決定される。

ア. 最大許容基準

(ア) JMPS は、懸念される不純物について GHS ガイドライン値²⁾ を許容できる限界のデフォルト最大値として通常

受け入れている。

(イ) JMPS が必要なデータを利用できるとき、有害性全体にわたって無視できる寄与に対応した最大許容限界が JMPS により推定され、GHS 許容量に優先して使用される。

(ウ) 有効成分の毒性と同様な種類の有害性がある不純物 (相加効果) について、最大許容基準は、通常、有効成分により示される有害性全体の計算上 10 % の増加を導く濃度とする。

(エ) 例示した計算例は、相加効果のある有害性のみに適用できる。相加的な影響でない場合は、ケースバイケースで計算される。

イ. 有害性が懸念される不純物の規格基準最大許容基準を下回る限界が通常の製造で実際に示される場合、JMPS は通常この値を優先して採択する。

【計算式】

- (1) 不純物の有害性データ (Hazimp) および有効成分の有害性データ (Hazai) から不純物の相対有害性 (RelHazimp) を計算する。

$$\text{RelHazimp} = \text{Hazai} / \text{Hazimp} \quad (\text{式 1})$$

有効成分の相対有害性 (RelHazai) は、従って、1 となる。

- (2) 原体 (TC) 中の最小有効成分含有量 (% a_{imin}) および対応する理論的最大不純物含有量 (% imp_{max}) から、有効成分の有害性 (Hazai) の比率として、有効成分と不純物からなる混合物の有害性の理論的最大増加量 (MTIHaz) を計算する。

$$\text{MTIHaz} = ((\% \text{ a}_{\text{imin}} \times \text{RelHazai}) + (\% \text{ imp}_{\text{max}} \times \text{RelHazimp})) / (\% \text{ a}_{\text{imin}} \times \text{RelHazai}) \quad (\text{式 2})$$

- (3) (式 2) に、MTIHaz として上限の 1.1 (すなわち、10 % の増加) および % imp_{max} として % imp_{max}accept を代入することによって、不純物の最大許容基準 (% imp_{max}accept) を計算する。

$$1.1 = ((\% \text{ a}_{\text{imin}} \times \text{RelHazai}) + (\% \text{ imp}_{\text{max}} \text{accept} \times \text{RelHazimp})) / (\% \text{ a}_{\text{imin}} \times \text{RelHazai})$$

式を整理すると次式のとおりになる。

$$\% \text{ imp}_{\text{max}} \text{accept} = ((1.1 \times \% \text{ a}_{\text{imin}} \times \text{RelHazai}) - (\% \text{ a}_{\text{imin}} \times \text{RelHazai})) / \text{RelHazimp} \quad (\text{式 3})$$

Hazai = 有効成分の有害性の値

Hazimp = 不純物の有害性の値
 RelHazimp = 有効成分と比較した不純物の相対有害性
 RelHazai = 有効成分の相対有害性 (=1)
 % aimin = 申請された最小有効成分含有量
 % impmax = 理論的最大不純物含有量
 MTIHaz = 不純物に起因する有害性の理論的最大増加量
 % impmaxaccept = 不純物の最大許容限界

(計算例 1)

不純物の急性経口 LD₅₀ 値は 100 mg/kg (体重)、有効成分は 1,000 mg/kg (体重) である。原体 (TC) 中の最低有効成分含有量は 92 % とする。

$$\text{RelHazimp} = 1,000 / 100 = 10$$

$$\text{MTIHaz} = ((92 \times 1) + (8 \times 10)) / (92 \times 1) = 1.87 \text{ (87\% の増加 (10\% を超える増加) が推定されるので、不純物には有害性の懸念がある)}$$

$$\% \text{ impmaxaccept} = ((1.1 \times 92 \times 1) - (92 \times 1)) / 10 = 0.92 \%$$
 有効数字を 1 桁に丸め、懸念がある不純物の最大許容基準は、原体 (TC) 中で 1% である。

(計算例 2)

ある生物農薬の原体 (TK) は最低有効成分含有量が 20 % である。不純物の急性経口 LD₅₀ 値が 2,000 mg/kg (体重)、有効成分は 1,000 mg/kg (体重) である。

$$\text{RelHazimp} = 1,000 / 2,000 = 0.5$$

$$\text{MTIHaz} = ((20 \times 1) + (80 \times 0.5)) / (20 \times 1) = 3.0 \text{ (200\% の増加 (10\% を超える増加) が推定されるので、不純物には有害性の懸念がある)}$$

$$\% \text{ impmaxaccept} = ((1.1 \times 20 \times 1) - (20 \times 1)) / 0.5 = 4 \%$$
 懸念がある不純物の最大許容基準は、原体 (TK) 中で 4 % である。

(計算例 3)

不純物の急性経口 LD₅₀ 値が 400 mg/kg (体重)、有効成分は 600 mg/kg (体重) である。原体 (TC) 中の最低有効成分含有量は 98 % とする。

$$\text{RelHazimp} = 600 / 400 = 1.5$$

$$\text{MTIHaz} = ((98 \times 1) + (2 \times 1.5)) / (98 \times 1) = 1.03 \text{ (3\% の増加 (10\% を超えない) が推定され、不純物には有害性の懸念がない)}$$

2. EU (欧州連合)

欧州における農薬の流通・使用の規制は、「植物防疫剤の販売並びに理事会指令 79/117/EEC および 91/414/EEC の廃止に関する欧州議会および理事会規則 (EC) No 1107/2009 (2009 年 10 月 21 日付け)」³⁾ に基づいて行われており、農薬登録において、有効成分の申請、評価、承認は EU レベルで行われており、植物防疫剤の申請、評価、認可は加盟国毎に行われている (図 1 参照)。

2. 1. 設定の概略

有効成分の評価においては、製造者から申請を受けた加盟国 (ラポター国) が、次項 2.2 に挙げた資料に基づいて評価報告書案 (DAR) を作成し、それを受けた欧州食品安全機関 (EFSA) が DAR の公表とパブリックコメントを実施する。欧州委員会は、EFSA での評価結果を踏まえて審査報告書を作成し、「フードチェーンおよび動物衛生に

係る常任委員会」に諮問した後、承認された有効成分のリストを掲載している「承認された有効成分のリストに関する委員会実施規則（EU）No 540/2011（2011年5月25日付け）」⁴⁾の改正という形で有効成分を承認する。

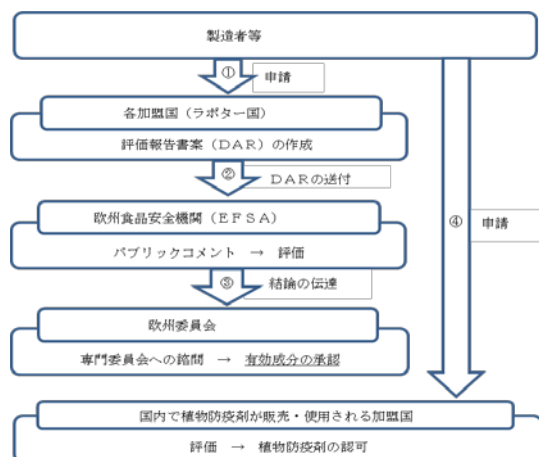


図1. 農薬登録の基本的な流れ⁵⁾

2. 2. 要求事項

有効成分に係るデータ要求は、「Commission Regulation（EU）No 283/2013 of 1 March 2013」⁶⁾に記載されており、試験方法およびガイダンスの一覧は「Commission Communication in the Framework of the implementation of Commission Regulation（EU）No 283/2013 of 1 March 2013 setting out the data requirement for active substances, in accordance with Regulation（EC）No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market（2013/C 95/01）」⁷⁾に記載されている。

原体規格の設定に必要な資料の概要は以下のとおりである。

表5. 原体規格の設定に必要なデータ

1. 有効成分の素性（identity）

1. 1. 申請者（名称、住所等）
1. 2. 製造者（名称、工場の住所）
1. 3. 提案中または合意された ISO 一般名、類義語
1. 4. 化学名（IUPAC および CA 名）
1. 5. 製造者による開発コード番号
1. 6. CAS, EC（EINECS または ELINCS）,

CIPAC 番号

1. 7. 分子式、構造式、分子量
1. 8. 有効成分の製造方法（合成過程）
1. 9. 有効成分の純度規格（g/kg）
 - ・原体中の有効成分の下限
 - ・申請する下限の妥当性（5 以上の代表的バッチ分析の統計学的解析を含む）
 - ・パイロットプラント用いて製造された原体の情報の場合、安定した工業規模での製造方法と手順により製造された原体の情報を再提出する必要がある。
 - ・TK の場合、理論的な乾燥原体中の純粋な有効成分の下限および上限含有量
 - ・有効成分が異性体混合物の場合、異性体比または範囲、効果および毒性に関して各異性体の相対的生物活性
1. 10. 不純物、添加剤（例、安定剤）の識別および含有量（g/kg）
 - ・不純物および添加剤の化学名（IUPAC および CA 名）、ISO 一般名、CAS 番号、EC（EINECS または ELINCS）番号、分子式と構造式、分子量、添加剤は更に、商品名と機能
 - ・添加物の下限および上限
 - ・有意とされる不純物（significant impurity）、1 g/kg 以上存在する不純物の上限。
 - ・懸念される不純物（relevant impurity）、毒性的、生態毒性的または環境中での性から特に望ましくない不純物の上限
1. 11. バッチの組成分析
 - ・最近（5 年以内）および現在の実製造規模で製造された有効成分原体の代表的 5 バッチ以上の含有量分析結果（有効成分、不純物、添加物他）
 - ・1 g/kg 以上存在する全ての成分の含有量（g/kg）、少なくとも 980g/kg は定量されていること。
 - ・提案した規格（含有量）の統計学的根拠（例、実製造の上限、実製造の平均値 + （3×標準偏差）等）
 - ・懸念される不純物は、1 g/kg 以下であっても定量し、実製造における下限、上限、平均含有量
 - ・異なる製造場で製造される場合、分析は製造場ごとに実施

2. 原体の分析方法

3. 毒性試験および代謝試験（試験項目は省略）

- ・各試験の供試物質について、「1. 11. バッチの組成分析」で要求される有効成分、不純物、添加物等の含有量分析結果が要求される。
- ・試験は、製剤の製造に用いる規格内の有効成分原体を用いて実施する。

3. ドイツ

ドイツはEU加盟国であり、農薬の登録は、2.に記載した制度で行われているが、原体規格に関する考え方、（植物保護製品に係る認可手続きにおける有効成分原体の規格「Specification of technical active substances in the authorization procedure for plant protection products : 2008 年」⁸⁾）が、ドイツ連邦消費者保護食品安全庁（BVL）より公表されていたので、概要を記載する。

3. 1. 評価基準

(1) 有効成分および不純物組成の評価

申請に係る主評価に先行して、初期評価として BVL において完全性確認が実施される。その際、有効成分原体の組成分析試験の妥当性が確認されるとともに、規格案が評価される。必要な全ての資料が揃うと、更なる検討のために、申請資料はドイツ連邦リスク評価研究所（BfR）およびドイツ連邦環境庁（UBA）に回付される。

有効成分および不純物等の規格は、次のいずれかに基づき推論される。

- ・「バッチの組成分析」として提出される製造バッチ（5 バッチ分析）の分析結果
- ・毒性試験に用いられたバッチの分析結果
- ・申請者による正当性の根拠（例、現在製造中の品質管理データ）

例えば、5 バッチ分析結果を用いて各不純物含有量の平均値を計算し、これに標準偏差の3倍を加え、各不純物の最大含有量を「平均値+（3×標準偏差）」とする。または、5 バッチ分析における最大含有量を当該不純物の最大含有量とする、もしくは品質管理データから最大含有量を推論する。5 バッチ分析結果を用いて各不純物含有量の平均値を計算

し、これに標準偏差の3倍を加え、各不純物の最大含有量を「平均値+（3×標準偏差）」とする。または、5 バッチ分析における最大含有量を当該不純物の最大含有量とする、もしくは品質管理データから最大含有量を推論する。

ア. 不純物

BVL は、「平均値+（3×標準偏差）」を不純物等の最大含有量の理論値として用い、申請のあった不純物等の規格と比較する。規格が理論値をはるかに超える場合、相応の不純物含有量を有するバッチが、懸念される毒性試験の供試物質として使用されているか確認する。いずれかに基づいて推論できなければ、更なる説明を求める。懸念される毒性試験とは、発がん性、変異原性および繁殖毒性試験、高感受性種（例、魚類、ミジンコ類、藻類）を用いた生態毒性試験が該当する。

イ. 有効成分

原体中の純粋な有効成分の最小含有量を確認するため、バッチ分析の最小含有量がFAO規格または承認された有効成分のリスト「Commission implementing Regulation (EU) No 540/2011 of 25 May 2011 implementing Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council as regards the list of approved active substances」⁴⁾の規格と比較する。最小含有量は現行の規格以下でないことを確認する。公式な規格がない場合、BVLは、「平均値-（5×標準偏差）」を理論値とし、申請のあった規格と比較する。当該手順の例を以下に示す（表6, 7）。

表 6. バッチ分析結果

(単位: g/kg)

	バッチ分析結果					最低含有量	平均値	最高含有量
	1	2	3	4	5			
有効成分	965	962	958	971	948	948	960.8	971
不純物 A	17	22	20	20	25	17	20.8	25
不純物 B	8	8	8	7	8	7	7.8	8
不純物 C	2	3	1	0	4	0	2.0	4

表 7. 理論値および規格値案

(単位: g/kg)

	平均値 (X)	標準偏差 (σ)	理論値		申請された規格値
有効成分	960.8	8.6	X - 5σ	918	920
不純物 A	20.8	3.0	X + 3σ	30	30
不純物 B	7.8	0.5		9	10
不純物 C	2.0	1.6		7	20

- ・有効成分、不純物 A および B について申請された規格値は、ほぼ理論値の範囲内と考えられるが、不純物 C は理論値の範囲を超えている。
- ・不純物 C について、不純物 C を約 20 g/kg 含む原体を用いて、懸念される毒性試験が実施されていれば、初期評価としては問題ない。
- ・申請者された規格値が 5 バッチ分析結果あるいは毒性および生態毒性試験の供試物質の含有量のいずれかに基づいて推論できなければ、更に説明が求められる。例えば、理論値から乖離した規格値が必要となる証拠または情報を示したうえで、毒性および生態毒性試験における供試濃度からの逸脱についての毒性および生態毒性的な懸念に関して安全性の説明が必要である。

(2) 毒性が懸念される不純物の評価

ア. BfR において、1 g/kg 以上含有量される不純物、全添加剤および毒性学的に懸念ありと分類される不純物が評価される。

評価は、第一に、有効成分原体中の不純物および添加物が、純粋な有効成分より大きな毒性を示す懸念があるかどうかを確認する。第二に、有効成分原体の毒性試験に用いられたバッチ中に、不純物が申請された規格と同程度含まれていたかを確認する。評価対象の不純物または添加剤が毒性試験に用いた 1 つまたは数種のバッチ中に含まれていたならば、不純物等について当該毒性試験がなされたものとして扱われる。毒性試験への供試物質中の含有量に関して、6 g/kg 以下で含有される毒性学的に懸念のない不純物については最大 3 g/kg の変動が、6 g/kg 以上含有される不純物については最大 50 % の変動が許容される。不純物または添加剤に関して、基本的

(fundamental) な毒性学的エンドポイントが網羅されていれば、原則として更なるデータは要求されない。

なお、「基本的な毒性」とは、発がん性、変異原性、繁殖毒性を意味する。

イ. 追加データの代わりに、作業曝露が毒性学的懸念の閾値 (TTC: Threshold Toxicological Concern) 以下であることを示す資料を提出することができる。作業保護のために計算される有効成分の閾値 (AOELs) に、有効成分原体中での評価対象不純物または添加剤の質量画分 (重量比) を乗じ、不純物あるいは添加剤の 1 日当たりの最大摂取量 (mg/kg 体重/日) を計算する。作業者の体重は 70 kg とし、予想される一日摂取量が 1.5 μg/人/日の毒性学的懸念の閾値以下である場合、更なる毒性データを提出する必要はない。ただし、毒性学的懸念の閾値に従った推論は、毒性学

的および生態毒性学的に意義のない不純物および添加物ならびに遺伝毒性の懸念がない不純物および添加物にのみ適用される。計算例を以下に示す。

(計算例)

有効成分 A として計算された AOELs は、0.01 mg/kg 体重/日である。評価対象の不純物 B の原体中の含有量には、2 g/kg (質量画分：0.002) が適用される。

有効成分 A の AOELs と不純物 B の質量画分を用いて、不純物 B の一日摂取量は、 $0.002 \times 0.01 \text{ mg/kg 体重/日} = 2 \times 10^{-5} \text{ mg/kg 体重/日}$ または $0.02 \text{ } \mu\text{g/kg 体重/日}$ となる、体重に 70 kg を適用すると、予想される一日最大摂取量は、 $1.4 \text{ } \mu\text{g/人/日}$ である。

これは、毒性学的懸念の閾値である $1.5 \text{ } \mu\text{g/人/日}$ を超えないので毒性学的懸念はない。

ウ. 毒性学的懸念がないことを示すために、科学的文献に加えて、類似化合物の情報、構造活性相関もデータとすることができ

エ. 毒性試験供試物質の組成、毒性学的懸念の閾値、または他の試験が懸念する化合物の毒性に関する情報を提供できない場合、不純物および添加物の原体中含有量に応じて、追加データを要求する。追加試験は表 8 のとおりである。

申請者は、純粋な化合物として、不純物および添加物を用いた実験を行うかまたは、規格を設定しようとする有効成分原体を用いて実験を行うかどうかを決定することができるが、原則、規格を設定しようとする有効成分原体を用いることが望ましい。

表 8. 含有量および追加試験

含有量	追加試験
10 g/kg まで	・ Ames 試験
10 ～ 50 g/kg	・ <i>in vitro</i> 遺伝毒性試験一式 (細菌を用いた変異原性、ほ乳類細胞を用いた変異原性および染色体異常試験) ・ 個別なケースにおいて、評価当局の裁量で、より詳細な試験 (急性経口、皮膚感作性、発達毒性) を要求することがある。
50 g/kg 以上	・ 遺伝毒性試験一式 ・ 必要ならば反復毒性 (28 日間または 90 日間)

(3) 不純物の生態毒性学的懸念の評価

UBA による有効成分原体の生態毒性学的懸念の評価の基本は、設定しようとする不純物が、生態毒性学的評価に用いたバッチに含まれているか、また、規格はバッチにおける当該不純物の含有量の範囲内であるかどうかを確認することである。生態毒性学的評価に用いたバッチの含有量から、規格の妥当性が評価できない場合、追加資料が要求されることになるが、橋渡し試験に加えて、構造活性相関を使用することができる。不純物に生態毒性学的に意義があるかどうかは、種々の基準に基づいて判断される。

4. 米国

米国では、連邦殺虫剤殺菌剤殺そ剤法に基づき、環境保護庁が登録に係る審査を行っている。

4. 1. 要求事項

具体的な要求は、「40 CFR Part 158 Pesticides; Data Requirements for Conventional Chemicals (Federal Register, Vol. 72, No. 207, October 26, 2007)」⁹⁾ に規定されており、原体規格に関連する資料は表 9 のとおりである。なお、原体は TGAI (technical grade active ingredients) として記載されている。

表 9. 原体規格に関連する資料

§158.320 製品の素性と組成

- (1) 有効成分
 - ・ 化学名, CAS 登録番号, 一般名, 分子式, 構造式, 分子量
 - ・ 名目上濃度
 - ・ OPPTS 830.1750 に従った製品中の有効成分の保証値の上限と下限
- (2) 有効成分に関連した毒性が懸念される (EPA の毒性学的専門家によって毒性が有意と決定された) 不純物
 - ・ 不純物の識別, 化学名
 - ・ 最終製品中の不純物の名目上濃度
 - ・ OPPTS 830.1750 に従った保証範囲の上限
- (3) 有効成分に関連したその他の不純物 (有効成分原体中に重量比で 0.1 % 以上存在する (2) 以外の不純物)
 - ・ 不純物の識別, 化学名
 - ・ 最終製品中における不純物の名目上濃度
- (4) 特徴付けできない成分

§158.325 製品の製造に用いられる原料に関する概要

- (1) 製造者の名称と住所 (申請者と異なる場合)
- (2) 有効成分の製造に用いられる出発原料
 - ・ 商品名, 一般名, CAS 登録番号, その他市販称号, 製造者の名称と住所, 申請者が知っている全情報 (工業規格, 製品安全データシート (MSDS) 等)

§158.330 製品の製造方法に関する概要

- (1) 製造者の名称と住所 (申請者と異なる場合)
- (2) 全体的特徴 (バッチまたは連続) および理論的なバッチあたりの製造量
- (3) 各段階における化学反応および主な操作単位 (分離工程を含む) のフローチャート
- (4) 製造に用いられる反応物質, 溶媒, 触媒の名称, その重量, 添加する順序
- (5) 装置の概要
 - 製造された物質の回収・再使用を含む)
- (6) 各段階における管理条件 (温度, 圧力, pH, 湿度) と管理限界の概要
- (7) 精製工程の概要 (出発原料, 中間体または製造された物質の回収・再使用を含む)
- (8) 成分組成の一貫性を保証するための手順の

概要 (例, 装置の調整, 分析方法, その他品質管理法)

§158.340 不純物の生成に関する考察

- (1) 原体中に存在する可能性のある不純物について考察を提出する.
 - ア. 原体の分析において存在した有効成分関連の各不純物
 - イ. 各段階で有効成分原体中に 0.1 % (1000ppm) 以上で存在すると思われる各不純物

【注】OPPTS 830. 1670 の (c) Technical grade active ingredients and products produced by an integrated system. の (2) では「 $\ll$ 0.1 percent」となっているが, Federal Register, Vol. 72, No. 207, p. 60972 (2007) では「 ≥ 0.1 percent」となっていることから, 本稿では「以上」を採用した.

- ・ 各出発物質の組成 (または組成範囲)
 - ・ 出発物質中の既知 (または推定) 不純物と既知あるいは推定濃度
 - ・ 原体製造における主反応と副反応, 副生成物の相対的な量
 - ・ 原体中の成分の分解の可能性
 - ・ 製造後の原体中の成分間における反応
 - ・ 包装資材の成分の製剤への移行の可能性
 - ・ 他の農薬や製造設備からの持ち越しによる汚染の可能性
 - ・ 原体の製造に用いられる製造管理, 精製, 品質管理方法
- (2) 拡張考察

次のような場合, EPA は不純物に係る拡張考察を要求することがある.

 - ・ 他に可能性のある化学反応があるとき
 - ・ 他の成分の関与があるとき
 - ・ 製造または製剤化の過程における追加事項があるとき

§158.345 初期分析 (preliminary analysis)

- (1) 原体 (TGAI) に 0.1 % 以上で存在する全ての不純物を同定するため, 5 バッチ (バッチ製造の場合) または 5 サンプル (連続製造の場合) を用いて初期分析を実施する (生物農薬には適切でないかもしれない).

- (2) 初期分析に基づき、有効成分原体の組成に係る陳述を提出する。

§158.350 保証範囲 (certified limits)

- (1) 製品中の成分に対して保証範囲を提案する必要がある。
- (2) 保証範囲が要求される成分
- ア. 各有効成分の上限と下限
 - イ. 各補助成分 (inert ingredient) の上限と下限
 - ウ. 有効成分原体だけで構成される製品、統合システムにより製造される製品は製品中の存在することが既知の有効成分に関連する毒性学的に意義のある混在物の上限
 - エ. ケースバイケースで、EPA により特定されたその他の成分あるいは不純物に係る保証範囲
- (3) 有効成分と補助成分に係る標準的な保証範囲
- 有効成分と補助成分に係る保証範囲の上限および下限は、次表に従い製品中の当該成分の名目濃度に基づき決定される。

表 10. 標準的な保証範囲

当該成分の名目濃度 (N)	上限	下限
$N < 1.0 \%$	$N + 10 \% N$	$N - 10 \% N$
$1.0 \% < N < 20.0 \%$	$N + 5 \% N$	$N - 5 \% N$
$20.0 \% < N < 100.0 \%$	$N + 3 \% N$	$N - 3 \% N$

- (4) 申請者が提案する保証範囲
- ア. 申請者は標準的な保証範囲とは異なる保証範囲を提案できる。
 - イ. 不純物に保証範囲が要求される場合、上限を提案する。
 - ウ. 保証範囲は、以下でなければならない。
 - (ア) 優良製造規範 (Good Manufacturing Practices) と通常の品質管理手順が用いられている製品中の成分の濃度変動の考察に基づくこと。
 - (イ) 製造工程でよくみられる変動の全てを考慮すること
 - (ウ) 製品中の当該成分の安定性および製造と販売・流通の間における不純物の生成の可能性を考慮すること。

- エ. 提案した保証範囲の根拠 (例、試料の分析、製造工程に基づく定量的な推定およびその精度・精確度など) を説明する必要がある。

(5) 特別な例

保証範囲 (標準的または申請者提案のいずれも) を受入できないとした場合、EPA は、申請者に理由を提示し、代替的な保証範囲の勧告を行う。

EPA は、ケースバイケースで以下のことを要求する。

- ・より合理的な保証範囲
- ・保証範囲の根拠についての更に充実した説明
- ・提案された保証範囲より狭い範囲の保証範囲。

(6) 保証の陳述

情報を保証するため、会社の正式代表者が署名した陳述書を提出する。

§158.355 分析方法

製品中の各有効成分、補助成分または毒性学的に意義があると決定されている不純物に係る分析方法を提出する。

5. 要求事項のまとめ

FAO/WHO、EU および米国における要求事項を表 11 にまとめた。

有効成分の同定、製造方法に関する要求内容は、各機関とも同様であった。有効成分の含有量の下限に関して、EU の資料では具体的な記述を見つけないことができなかったが、ドイツの資料において「平均値 - (5×標準偏差)」を理論値としていることが確認できた。米国では、含有量に応じて 10% から 3% の変動を標準的な下限としつつ、製造上の変動を考慮した下限も認めている。

不純物含有量の上限については各機関とも提案する含有量の根拠を要求しているが、FAO/WHO および EU においては、実製造の上限あるいは「平均値 + (3×標準偏差)」が例示として挙げられており、ドイツの資料において「平均値 + (3×標準偏差)」を理論値としていることが確認できた。米国では製造工程等から定量的に推定しているものの具体的な基準は見つけることができなかった。バッチ分析に関しては、各機関とも 5 バッチ以上に

ついて、0.1%以上含有する不純物を明らかにすることを求めており、更に EU では実製造規模で製造された原体に関する分析結果を要求していた。毒性試験および代謝試験について、EU では毒性試験供試原体についてバッチの組成分析と同一の情報を要求しており、米国においても毒性試験供試原体について有効成分の他に不純物についても報告することとしていた。

おわりに

欧米および国際機関では、毒性試験供試原体の組成も考慮しつつ有効成分および不純物の含有率を原体の規格として設定し、実際に製造される原体の成分組成を管理している。また、製造方法の相違にかかわらず、成分組成に基づき規格を設定していることから、規格内であれば製造方法の変更が可能であり、より効率的な製造方法の導入を容易にしている。本稿が、我が国へ原体規格を導入する際の検討において参考となることを期待する。

表 11. 要求事項の比較

	FAO/WHO	EU	米国
有効成分の素性	・ 一般名，化学名，構造式，分子式，分子量など	・ 一般名，化学名，構造式，分子式，分子量など	・ 一般名，化学名，構造式，分子式，分子量など
有効成分の製造方法	・ 製造方法（合成反応）	・ 化学反応 ・ 操作の流れ図 ・ 原料など	・ 化学反応 ・ 操作の流れ図 ・ 原料など
有効成分の含有量 (g/kg)	・ 下限	・ 下限 ・ 妥当性（バッチ分析の統計学的解析）	・ 上限と下限 ・ 標準的な保証範囲または申請者が提案する保証範囲 ・ 申請者提案の場合，その妥当性
不純物の同定および含有量 (g/kg)	・ バッチ分析データから支持される 1 g/kg 以上含有する不純物の最大許容量 ・ 1 g/kg 未満含有され，有害性が懸念される不純物の最大許容量 ・ 許容量の根拠（例えば，実際に製造した場合の最大値，実際に製造した場合の平均値＋（3×標準偏差）等）を述べなければならない。	・ 1 g/kg 以上存在する不純物の上限 ・ 毒性学的，生態毒性学的または環境中での性質から特に望ましくない不純物の上限 ・ 提案した規格（含有量）の統計学的根拠（例，実製造の上限，実製造の平均値＋（3×標準偏差）等） ・ 不純物の供給源に関する詳細な情報	・ 0.1%以上存在する毒性が懸念される不純物以外の不純物の名目上の濃度 ・ 毒性が懸念される（EPA の毒性学の専門家により毒性が有意と決定された）不純物の保証範囲の上限 ・ 提案した保証範囲の根拠（例，試料の分析，製造工程に基づく定量的な推定）やその精度・精確度 ・ 不純物の生成に関する考察
添加剤の同定含有量 (g/kg)	・ 添加剤の名目上の量	・ 添加物の下限および上限	・ 補助成分（inert ingredient）の保証値の上限と下限

表 11. 要求事項の比較 (つづき)

バッチの組成分析	・代表的 5 バッチ以上 ・1 g/kg 以上含有する不純物を同定 ・未同定および/または説明できない画分は 20 g/kg を超えないこと. ・複数の場所で製造する場合, 不純物組成が極端に異なる 2 場所以上で実施.	・最近 (5 年以内) の実製造規模で製造された代表的 5 バッチ以上 ・1 g/kg 以上存在する全ての成分の含有量 (g/kg) ・少なくとも 980g/kg は定量されていること. ・毒性学的, 生態毒性学的または環境中での性質から特に望ましくない不純物は 1 g/kg 以下でも定量 ・製造場ごとに実施	・5 バッチ以上 ・0.1 %以上で存在する全ての不純物を同定 ・製造場ごとに実施
毒性試験および代謝試験	・人畜毒性, 生態毒性の概要および残留性の情報	・人畜毒性, 生態毒性試験および代謝試験 (項目省略) ・試験成績ごとに, 「バッチの組成分析」で要求される詳細な記述を提出. ・規格内の有効成分原体を用いる.	人畜毒性, 生態毒性試験および代謝試験 (項目省略)

引用 (参照) 文献および URL

(全 URL のリンクについての確認は, 2015 年 7 月 30 日に実施.)

- 1) Manual on development and use of FAO and WHO specifications for pesticides November 2010 - second revision of the First Edition
<http://www.fao.org/3/a-y4353e.pdf>
- 2) Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals, Fourth revised edition, United Nations, New York and Geneva, 2011
http://www.unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev04/English/ST-SG-AC10-30-Rev4e.pdf
- 3) REGULATION (EC) No 1107/2009 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC
<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009R1107&from=EN>

- 4) COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) No 540/2011 of 25 May 2011 implementing Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council as regards the list of approved active substances
<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1438147578711&uri=CELEX:32011R0540>
- 5) 白戸洋章他：農薬登録に関する欧州連合の法制度, 農薬調査研究報告 6, 45-52 (2014)
- 6) COMMISSION REGULATION (EU) No 283/2013 of 1 March 2013 setting out the data requirements for active substances, in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market
http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv:OJ.L_.2013.093.01.0001.01.ENG
- 7) Commission Communication in the framework of the implementation of Commission Regulation (EU) No 283/2013 of 1 March 2013 setting out the data requirements for active substances,

in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market (2013/C 95/01)

<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=OJ:C:2013:095:FULL&from=EN>

- 8) Specification of technical active substances in the authorization procedure for plant protection products, Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 2008
http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/04_Pflanzenschutzmittel/zul_dok_wirkstoffspezifikation-En.pdf?__blob=publicationFile&v=3
- 9) 40 CFR Part 158 Pesticides; Data Requirements for Conventional Chemicals (Federal Register /Vol. 72, No. 207 / Friday, October 26, 2007 /Rules and Regulations)
<http://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-2007-10-26/pdf/E7-20826.pdf>

略語一覧

AOAC	AOAC	AOAC インターナショナル, (以前は公認分析化学者協会と呼称していた)
AOELs	Acceptable Operator Exposure Levels	作業者曝露許容量
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung	連邦リスク評価研究所 (ドイツ)
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit	連邦消費者保護食品安全庁 (ドイツ)
CA	Chemical Abstracts	ケミカルアブストラクト (米国化学会の情報部門)
CAS	Chemical Abstracts Service	ケミカルアブストラクトサービス
CIPAC	Collaborative International Pesticides Analytical Council	国際農薬分析法協議会
DAR	Draft Assessment Report	評価報告書案
EC	European Community	欧州共同体
EFSA	European Food Safety Authority	欧州食品安全機関
EINECS	European INventory of Existing Commercial chemical Substances	欧州における既存の市販化学物質リスト
ELINCS	European LIst of Notified Chemical Substances	欧州における届け出物質リスト (新規化学物質)
EPA	United States Environmental Protection Agency	米国環境保護庁
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
FIFRA	Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act	連邦殺虫剤殺菌剤殺鼠剤法 (米国)
GHS	The Globally Harmonized System of	化学品の分類および表示に関する世界調和シ

	Classification and Labelling of Chemicals	システム
INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients .	化粧品原料の国際命名法
ISO	International Organization for Standardization	国際標準化機構
IUPAC	The International Union of Pure and Applied Chemistry	国際純正・応用化学連合
JMPR	FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues	残留農薬に係る FAO / WHO 合同会合
JMPS	FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Specifications	農薬規格に係る FAO / WHO 合同会合
MSDS	Material Safety Data Sheet	化学物質等安全データシート ※現在の安全データシート (Safety Data Sheet : SDS)
OPPTS	the Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances	予防・農薬・毒物局 (米国)
TTC	Threshold Toxicological Concern	毒性学的懸念の閾値
UBA	Umweltbundesamt	連邦環境庁 (ドイツ)
WHO	World Health Organization	世界保健機関
WHOPES	WHO Pesticide Evaluation Scheme	WHO 農薬評価スキーム

FT-IR を用いた集取農薬と農薬見本の同等性の確認

渡辺高志^{*}，塚田勇輝^{*}，岡安弘之^{**}

^{*}：独）農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

^{**}：独）農林水産消費安全技術センター 業務監査室

農薬登録申請時に提出された見本と立入検査で集取した集取品の同等性を確認する方法として，FT-IR/ATR を用いて測定した IR スペクトルを比較する方法が検討され，実用的との結果が出された．この方法を用いて，見本どおりの処方で製造された農薬と，見本とは異なる処方で製造された農薬を用いて IR スペクトルを測定し，開発された方法が利用可能かどうかを検証した．さらに，補助成分の含有率を変えた試料を用いた感度分析の結果から，両者を分離するためには，各成分に十分な濃度差が必要となるが，今回の供試農薬は，この条件を満たしていなかったため，PCA で分離することはできなかった．しかし，立入検査で集取した集取品と当該農薬の登録申請時に提出され保管していた見本の IR スペクトルを PCA で解析したところ，一部の農薬において，見本と集取品の組成が異なることが示唆され，当該農薬の登録申請者に確認した結果，見本と異なる処方で製造されていたことが確認された．したがって，FT-IR/ATR を用いて IR スペクトルを測定し PCA で解析する方法は，集取品と見本の同等性を確認するためのスクリーニングに利用可能と判断された．

Keywords ; 農薬，製剤，補助成分，感度分析，FT-IR，ATR (Attenuated Total Reflection)，PCA (Principal Component Analysis)

緒 言

農薬取締法（以下，「法」という．）¹⁾では，国内で農薬（製剤）を製造，輸入，販売，使用するためには，予め農林水産大臣（以下，「大臣」という．）の登録を受ける必要があると規定されている．この登録を受けるためには，当該農薬の登録申請者（以下，「申請者」という．）は，農薬登録申請書（以下，「申請書」という．），農薬の薬効，薬害，毒性および残留性に関する試験成績を記載した書類ならびに農薬の見本を添えて農林水産消費安全技術センター（以下，「FAMIC」という．）を経由して大臣に提出しなければならない．大臣は，これらの見本等を FAMIC に検査をさせ，法第 3 条第 1 項各号（農薬登録保留基準）に該当する場合以外，当該農薬は登録され，申請者に対して農薬登録票が交付される．

申請者は，登録申請時に提出した「農薬（製剤）および原体の成分組成，製造方法等に関する資料（以下，「成分資料」という．）」に記載した製剤の処方（見本の処方）および製造方法に基づき，見本と同等に製剤を製造する必要がある．登録後に製造される製剤が申請内容どおりに製造されているかを確認するため，FAMIC は，法第 13 条の 2 に基づき大臣の命を受けて，製造者に対する立入検査を行い，必要に応じて申請者が製造・輸

入した製剤を集取している．集取された製剤は，成分資料記載内容との整合性を確認するため，FAMIC 業務方法書²⁾に基づき，当該農薬等の種類を勘案の上，有効成分の検査，その他の成分の検査，物理的・化学的性状の検査，量目検査，容器包装の検査および表示検査が行われる．有効成分は「農薬登録申請見本検査書」に記載された方法等で分析を行い，その種類と含有率を確認，物理的・化学的性状は「物理性検定法」（法第 14 条第 2 項に基づく検査方法；農林省告示による公定検査法）^{3,4)}や「「農薬の登録申請書等に添付する資料等について」の運用について⁵⁾」に基づく方法（生産資材課長通知法）で確認，量目は重量を測定して確認，容器包装は申請書記載内容との比較により確認，表示はラベル記載内容と申請書記載内容との整合性を確認している．その他の成分（以下，「補助成分」という．）の検査では，各成分を個別に定性・定量することが望ましいが，多大な労力と分析コストが必要となるため，申請時に提出された処方と立入検査時に集取した処方を比較することにより確認している．

このため，FAMIC 農薬検査部では，補助成分を簡易かつ科学的に検査する方法として，核磁気共鳴装置（NMR）を用いた検査方法を検討し，一部の農薬について処方検査への実用性が示された⁶⁻⁸⁾．しかし，NMR は機器単価・維持管理が高

額であり、分析コストが高くなる等の問題点があるため、簡易かつ分析コストが低く、科学的な検査方法の開発が急務であった。

諸外国では、FT-IR（フーリエ変換赤外分光）と液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーを併用して、模造品や並行輸入品と疑われる製品と正規製品のスペクトルやクロマトグラム等を比較することにより適正な製品かどうかの判定に用いている^{9, 10)}。さらに、FT-IR は、農薬の異同を識別する方法として「医薬品の有効成分の異同識別法¹¹⁾」として利用されていることから、FT-IR/ATR（全反射；Attenuated Total Reflection）を用いた農薬製剤の PCA（主成分分析；Principal Component Analysis）による異同識別法が検討され、集取品中の補助成分の検査への実用性が示唆された¹²⁾。

そこで、立入検査で集取した製剤、すなわち、農薬登録を受けた後に見本どおりに製造されるべき製剤における補助成分の検査に FT-IR/ATR が利用できるかどうかを確認するため、立入検査で集取した製剤の処方が成分資料に記載されている処方と異なっていた製剤と、当該資料に記載どおりの処方、すなわち、届出どおりに製造された製剤を用いて検証を行った。

材料および調査方法

1. 供試製剤等

供試製剤の一覧を表 1 に示す。これらのうち、SC1_{mnf1}、RB_{mnf1}、GR_{mnf1} は、届出とは異なる処方

で製造されていた。

1.1. 供試製剤と処方

1.1.1. SC1（フロアブル）

SC1_{mnf1} は立入検査で集取した製剤で、溶剤の含有率が見本の製造に用いられた処方と異なっていた。また、増粘剤には見本と異なる成分が使用されたが、これは見本で使用された製品と物理的に同等な成分であった。

SC1_{mnf2} は当該農薬製造会社より入手した製剤で、見本どおりの処方で製造されたものである。

これらの処方の抜粋を表 2 に示す。なお、含有率は有効数字を 2 桁で表記し、今回の検討に用いなかった成分の名称・含有率および見本の処方

表 2. SC1 の処方

種類	成 分 名	含有率 (%)	
		SC1 _{mnf1}	SC1 _{mnf2}
有効成分		略	
補助成分	溶剤	0.20	0.50
	増粘剤 A	—	0.12
	増粘剤 B	0.18	—
	その他・水	略	
合計		100	100

表 1. 調査研究に用いた製剤と略号

種類／農薬名	GR	RB	SC1	SC2	SC3
見本	—	—	—	SC2 _{ref}	SC3 _{ref}
				開封: SC2 _{ref1} 未開封: SC2 _{ref2}	
集取品等	GR _{mnf1} ^{*1}	RB _{mnf1} ^{*1}	SC1 _{mnf1} ^{*1}	SC2 _{mnf}	SC3 _{mnf}
	GR _{mnf2} ^{*3}	RB _{mnf2} ^{*2}	SC1 _{mnf2} ^{*2}		
	GR _{mnf3} ^{*4}				

*1: 届出とは異なる処方で製造された製剤。*2: 届出と同じ処方で製造された製剤。

*3: 届出と同じ処方で、A 工場で製造された製剤。*4: 届出と同じ処方で、B 工場で製造された製剤。

GR: Granule, RB: Bait (ready for use), SC: Suspension concentrate.

は、企業秘密保護のため記載を省略し、製剤の記号は、International Code of Pesticide Formulation Type by CropLife International Technical Monograph¹³⁾より引用した（以下同じ）。

1.1.2. RB（ペイト粒剤）

RB_{mnf1}は立入検査で集取した製剤で、見本にない補助成分が使用され、さらに、一部の補助成分の含有率が見本の製造に用いられた処方と異なっていた。

RB_{mnf2}は当該農薬製造会社より入手した製剤で、見本どおりの処方で製造されたものである。

これらの処方の抜粋を表3に示す。RB_{mnf1}とRB_{mnf2}では、色素の含有率が異なっていたため、RB_{mnf1}の方が色調は濃かった（図1）。

表3. RBの処方

種類	成分名	含有率(%)	
		RB _{mnf1}	RB _{mnf2}
有効成分		略	
補助成分	植物粉 A	57	61
	植物粉 B	11	—
	植物粉 C	2.9	3.0
	植物粉 D	23	35
	植物油	2.9	—
	色素	0.029	0.020
	その他	略	
合計		100	100



図1. RB_{mnf1}とRB_{mnf2}の外観（すりつぶした状態）

1.1.3. GR（粒剤）

GRの製造場は複数あり、GR_{mnf1}とGR_{mnf2}は、それぞれ、A工場、GR_{mnf3}はB工場で製造された製剤である。

GR_{mnf1}は立入検査で集取した製剤で、界面活性剤、ベントナイトおよびクレーには見本と異なる製品が使用され、含有率も見本と異なっていた。しかし、GR_{mnf1}で使用されたベントナイトとクレーは、見本で使用された製品と物理的に同等な成分であった。

GR_{mnf2}は当該農薬製造会社より入手した製剤で、ベントナイトおよびクレーには見本と異なる製品が使用されたが、GR_{mnf1}と同様、GR_{mnf2}で使用されたベントナイトとクレーは、見本で使用された製品と物理的に同等な成分であった。

GR_{mnf3}は当該農薬製造会社より入手した製剤で、見本どおりの処方で製造されたものである。

なお、GR_{mnf1}、GR_{mnf2}およびGR_{mnf3}において、ベントナイトおよびクレーの製品名が異なるのは、それぞれの工場における入手先の違いによるものである。

これらの処方の抜粋を表4に示す。

1.1.4. 見本と集取品

立入検査で集取した水和剤2種（いずれも、フロアブルであり、それぞれSC2とSC3と表記する。）と、当該農薬の登録申請時に提出された見本2種を使用した。

SC2のうち、集取品をSC2_{mnf}、当該農薬の見本をSC2_{ref}、SC3のうち、集取品をSC3_{mnf}、当該農薬の見本をSC3_{ref}と表記する。

1.2. 補助成分等

SC1の補助成分である溶剤、増粘剤Aおよび増粘剤Bは、それぞれの製造会社より入手した。

RBの補助成分である植物粉A、植物粉Bおよび植物粉Dは、それぞれ当該農薬製造会社より入手、植物粉Cおよび植物油は、それぞれ市販品を使用した。また、ベントナイトA、ベントナイトB、クレーAおよびクレーBは、平成21年度調査研究で使用したものをを使用した。

GRの補助成分である界面活性剤Aおよび界面活性剤Bは、それぞれの製造会社より入手した。界面活性剤AとBの主成分は同じであるが、主成分以外の組成が異なっている。

水は、水道水をMilli-Q Advantage Elix UV3で精製したものを用い、エタノールは関東化学㈱製高速液体クマトグラフィー用、ポリスチレン・フィル

表 4. GR の処方

種類	成 分 名	含有率(%)		
		GR _{mnf1}	GR _{mnf2} ^{*1}	GR _{mnf3} ^{*2}
有効成分		略		
補助成分	界面活性剤 A	—	0.21	0.21
	界面活性剤 B	0.30	—	—
	ベントナイト A	—	—	24
	ベントナイト B	22	24	—
	クレーA	—	—	61
	クレーB	62	60	—
	その他	略		
合計		100	100	100

ムは島津製作所製波数確認用をそれぞれ用いた。

2. IR スペクトルの測定

2.1. 装置

FT-IR の測定は、赤外分光光度計には島津製作所製 IRPrestige-21, ATR ユニットには SensIR Technologies 製 DuraSamIR II を用い、測定モードを Absorbance, アポダイズ関数を Happ-Genzel, 測定範囲を 4000~650 cm⁻¹ (中赤外領域), 積算回数を 40 回, 分解能を 4.0 cm⁻¹ に設定して測定を行った。

2.2. 試料のスペクトルの測定

2.2.1. SC1, SC2, SC3 (SC)

ATR ユニットの赤外分光光度計に取り付けた後, ATR ユニットのダイヤモンド ATR エlement 中央部にアルミニウム製スぺーサーを置き, スぺーサー内にスポイトを用いて試料を滴下し, IR スペクトルを測定した。なお, 測定時のバックグラウンドは, エlement に何も添加しない状態 (すなわち, 空気) で測定し, 測定は同一試料について 3~5 回繰り返した (以下同じ)。SC のスペクトルは, 水のスペクトルを差し引いて求めた。

また, スペクトル測定時の環境条件 (気温, 湿度, 気圧) は, 株式会社 ティアンドディ Thermo Recorder TR-73U を用いて, 30 秒毎に測定・記録し, スペクトル測定期間中の平均値を求めた (以下同じ)。

2.2.2. RB および GR

RB は粒状, GR は細粒の製剤であり, そのままの状態では ATR ユニット上で IR スペクトルを測定

できないので, 乳鉢でよくすりつぶした。すりつぶした試料は, 測定までの間, 吸湿を防ぐためシリカゲル・デシケーター内で保存した。

これを ATR ユニットのダイヤモンド ATR エlement 中央部に添加し, 固体試料プレスを用いて圧力を加え, その後は 2.2.1. と同様に操作して IR スペクトルを測定した。

2.2.3. ポリスチレン・フィルム

ポリスチレン・フィルムを赤外分光光度計の透過室カセットに差し込み, IR スペクトルを測定した。

3. PCA

PCA は, Infometrix Inc. 製 Pirouette Ver. 3.11 を用い, Preprocessing を平均化, Maximum Factor (説明変数に相当) を 2, Validation Method をなし, Rotation をノーマル, 変換を Baseline Correct (Linear Fit) に設定して行った。

4. 補助成分含有率の異なる試料の調製

4.1. SC1

SC1_{mnf1} と SC1_{mnf2} の処方では, 溶剤の含有率において, SC1_{mnf1} が 0.20% と SC1_{mnf2} が 0.50%, 増粘剤の種類と含有率において, SC1_{mnf1} が増粘剤 B の 0.18% と SC1_{mnf2} が増粘剤 A の 0.12% という点が異なっていた (表 2)。

この違いを PCA で分離できるかどうかを確認するため, 基材 (主成分である水) に補助成分を添加して濃度の異なる溶液を作成した。

(1) 0.5%添加



(2) 1%添加



(3) 2%添加



(4) 10%添加



図 2. SC1_{mnf2}に増粘剤 A を添加した試料

(1) 0.5%添加



(2) 1%添加



(3) 2%添加



(4) 10%添加



図 3. SC1_{mnf1}に増粘剤 B を添加した試料

4. 1. 1. 溶剤

溶剤は水に不溶であったので、濃度 0.1～10%のエタノール溶液を作成した。

また、SC1 に溶剤を添加して、濃度 3～35%の溶液を作成した。

4. 1. 2. 増粘剤

水に増粘剤を添加して、濃度 0.1～20%の水溶液を作成した。

また、SC1_{mnf1}に増粘剤 A、または SC1_{mnf1}に増粘剤 B を添加して、濃度 0.5～10%の溶液を作成した。

SC1_{mnf2}に増粘剤 A を添加した試料の外観を図 2、SC1_{mnf1}に増粘剤 B を添加した試料の外観を図 3 に示す。いずれの試料も、増粘剤の含有率が 2%以上になると塊状となった。

4. 2. RB

RB_{mnf1}と RB_{mnf2}の処方は、植物粉 A と植物粉 D の含有率は異なっていたが、両者の IR スペクトルはほとんど同じであったので (図 21 参照)、植物粉 A と植物粉 D の合計の含有率に違いはないとみなした。

これら以外の違いは、植物粉 B の含有率において、RB_{mnf1}が 11%と RB_{mnf2}が 35%、植物粉 C の含有率において、RB_{mnf1}が 2.9%と RB_{mnf2}が 3.0%、植物油の含有率において、RB_{mnf1}が 2.9%と RB_{mnf2}が 0.0%であった (表 2)。

両者を PCA で分離できるかどうかを確認するため、RB_{mnf1}の処方を基に、植物粉 A (64%)・植物粉 D (36%)の混合物 (以下、「混合植物粉」という。)を基材とし、これにその他の補助成分を添加して濃度の異なる試料の作成を行った。

4. 2. 1. 植物粉 C

混合植物粉に植物粉 C を添加して、濃度 5～30%の試料を作成した。

4. 2. 2. 植物粉 B

混合植物粉に植物粉 B を添加して、濃度 5～40%の試料を作成した。

4. 2. 3. 植物油

混合植物粉に植物油のアセトン溶液を添加し、アセトンは風乾により除去して、濃度 2～30%の試料を作成した。

4. 3. GR

GR_{mnf1}と GR_{mnf2}の処方、GR_{mnf1}が界面活性剤 A の 0.30%と GR_{mnf2}が界面活性剤 B の 0.21%という点が異なっていた (表 4)。この違いを PCA で分離できるかどうかを確認するため、GR に界面活性剤を添加した濃度の異なる試料として、GR_{mnf1}に界面活性剤 B、または GR_{mnf2}に界面活性剤 A を添加して、0.5～99%のおよび 100% (界面活性剤のみ)の試料を作成した。その際、界面活性剤を GR 中で均一に分散させるため、水を加えて攪拌し、熱による変質を防ぐため室温で風乾させた。

結果および考察

1. IR スペクトルの変動要因の調査

1. 1. SC1

1. 1. 1. 試料の乾燥

ATR ユニットに SC1_{mnf2} を 1 滴添加して IR スペクトルを測定したところ、吸光度は経時的に大きくなった。最大強度を示した 1042 cm⁻¹ のピークの吸光度の変化を図 4 に示す。なお、SC1 の IR スペクトルは図 20 参照。その際、滴下した SC1 の色調が濃くなる現象が認められたため (図 5)、ビーカー内に SC1 を 5 滴添加し、精密天秤 (メトラー・トレード(株) AG245) を用いて重量の変化を測定し、添加直後を 100 として変化率を求めた (図 6)。その結果、SC1 の重量は経時的に減少し、5 分後は 5.7% が減少、10 分後は 10.5% が減少した。これらの結果から、吸光度の変化は、試料成分の揮発が原因と考えられた。SC1 の処方において、揮発する成分を含む補助成分は、溶剤の他は界面活性剤が該当する。しかし、界面活性剤は入手できなかったため、溶剤を用いた揮発による重量変化を調べた。その結果、5 分後は 0.6%、10 分後には 0.9% が減少したことから、SC1 の揮発の主要因は溶剤ではなく、他の成分が主要因と考えられたが、揮発成分の特定はできなかった。

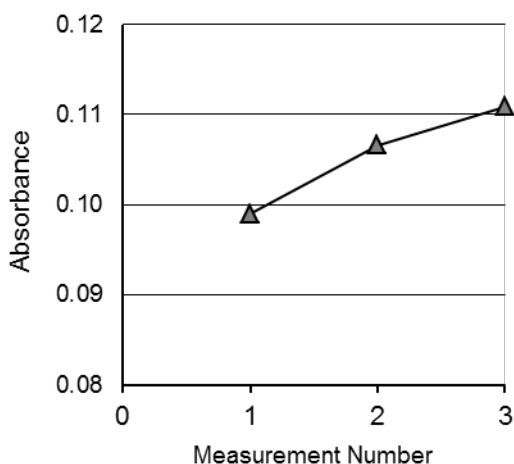


図 4. SC1_{mnf2} の 1042 cm⁻¹ におけるピークのスペクトル強度の変化

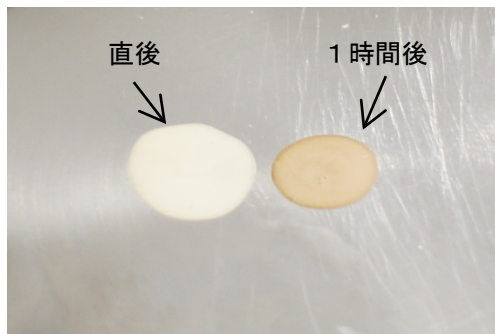


図 5. SC1 試料の乾燥の様子

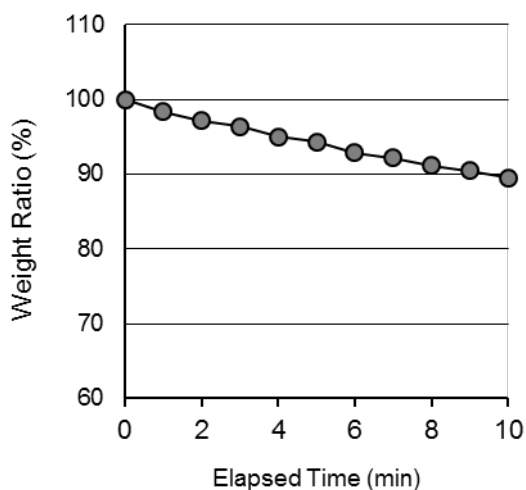


図 6. SC1 重量の経時変化

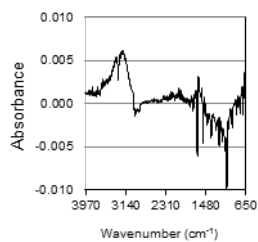
1. 1. 2. 試料の厚み

ATR エレメント中央部に SC1_{mnf2} を滴下したときの試料の乾燥を防ぐため、SC1 の滴下量を増やしたところ、SC1 は広がるのみで、乾燥は防げなかった。

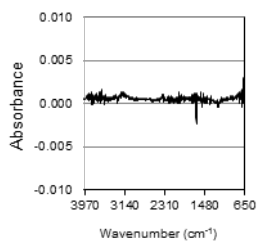
そこで、ATR 上にアルミニウム製スぺーサーを置き、その中に試料を添加して試料層の厚みを確保する方法を検討した。SC1 の滴下数を変えてスペクトルを測定し、n+1 回目と n 回目の差スペクトルを求めた (図 7)。その結果、滴下数が 5 滴以上となると差スペクトルはほぼ 0 となり、スペクトル形状に変化が認められなくなった。試料をスぺーサー内に滴下する様子を図 8 に示す。

次に、スぺーサー内への SC1 の添加量と 1042 cm⁻¹ のピークの吸光度の変動を調べた。その結果、試料を 4 滴以上添加すると強度の変動は少なくなった (図 9)。

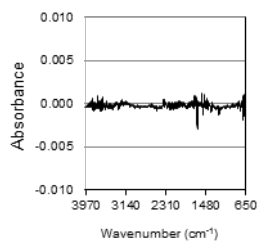
(1) 2 滴－1 滴



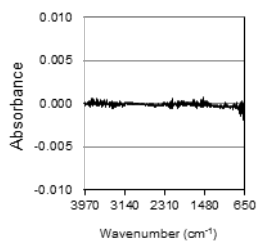
(2) 3 滴－2 滴



(3) 4 滴－3 滴



(4) 5 滴－4 滴



(5) 6 滴－5 滴

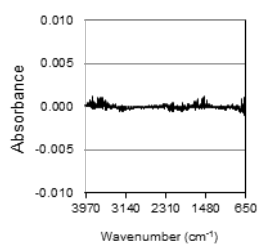


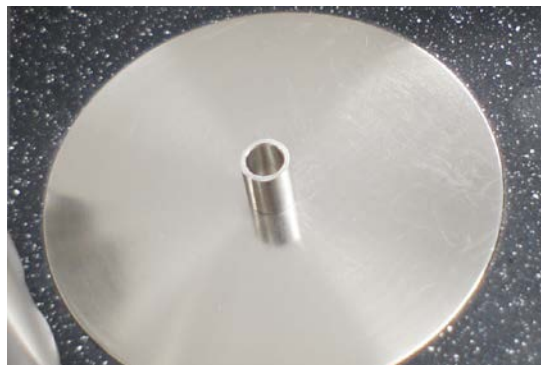
図 7. SC1_{mnf2} の滴下数を変えた場合の n+1 回目と n 回目の差スペクトル

(1) ATR ユニット



図 8. SC1 の ATR ユニットへの滴下

(2) スペーサーを置いたところ



(3) スペーサー内への SC1 の滴下



図 8. SC1 の ATR ユニットへの滴下 (続き)

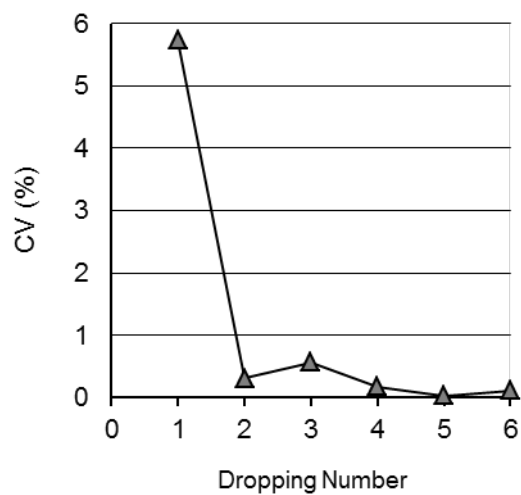


図 9. ATR ユニットへの SC1_{mnf2} の滴下数を変えた場合の吸光度の変動

以上のことから、ATR ユニットに添加した SC1 試料の乾燥によるスペクトル形状の変化を防ぐためには、ユニット中央部にスペーサーを置き、SC1 を 5 滴以上添加する必要があると考えられた。

1. 1. 3. 環境条件

FT-IR/ATR で IR スペクトルを測定した場合のピークの吸光度のばらつきを把握するため、品質が一定であり、試料中に水分を含まないポリスチレン・フィルムを用いて IR スペクトルを 30 分ごとに 14 回測定した。なお、ポリスチレン・フィルムは、取り付け位置の変動によるばらつきを防ぐため、ATR ユニットに取り付けたままとした (図 10)。ポリスチレン・フィルムの IR スペクトルを図 11 に示す。中程度のピークの吸光度である 1491 , 1450 , 748 cm^{-1} のピークについての変動係数は $1.4\sim 2.8\%$ であった (図 12)。

次に、SC1_{mnf2} の IR スペクトル強度に対して環境条件 (気温、湿度、気圧) が及ぼす影響を調べるため、気温を $20\sim 26^{\circ}\text{C}$ に調整してスペクトル測定を 8 回行い、同時に湿度と気圧も観測した。

最大値を示す 1042 cm^{-1} のピークの吸光度の変動を気温、湿度、気圧の要因毎に調べたところ、いずれの要因について相関は認められず、変動係数は $0.6\sim 1.4\%$ であり (図 13)、ポリスチレン・フィルムのピークの吸光度の変動係数と同等であった。なお、スペクトル形状は、環境条件が変わっても変化は認められなかった。



図 10. ATR ユニットへのポリスチレン・フィルムの取り付け

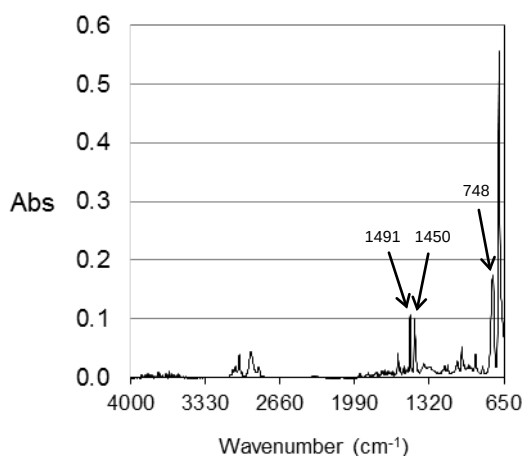


図 11. ポリスチレン・フィルムの IR スペクトル (ATR 法)

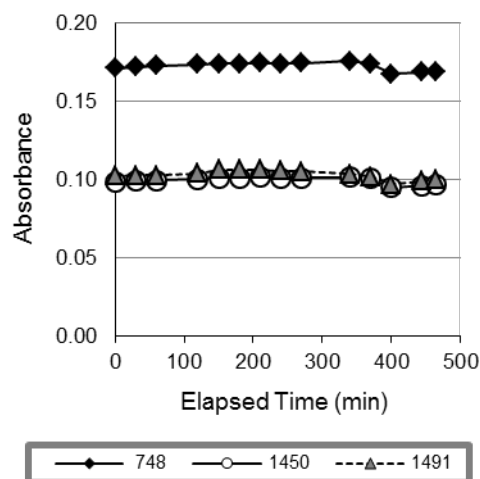
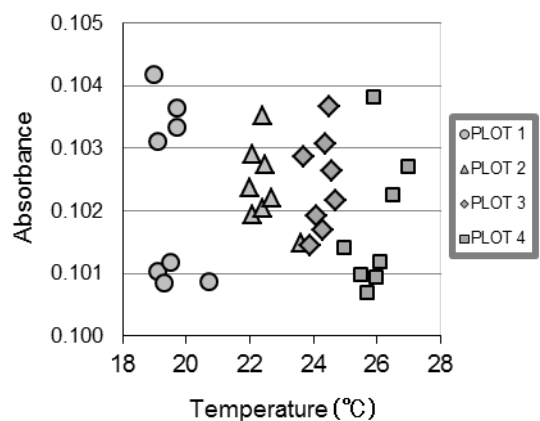


図 12. ポリスチレン・フィルムを用いた場合の吸光度の変動

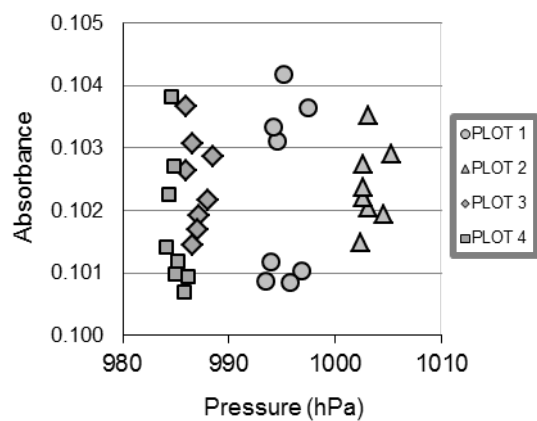
1. 2. RB

すりつぶした試料を ATR ユニットに添加した後、固体試料プレスを用いて圧力を加えてエレメントに密着させて IR スペクトルを測定した。このときの圧力とスペクトル強度の関係を調べた。固体試料プレスを用いた加圧の様子を図 14 に示す。加える圧力が大きくなるにつれて、最大値を示す 995 cm^{-1} のピークの吸光度は大きくなった (図 14)。RB の IR スペクトルは図 21 参照。

(1) 気温の違いによる変動



(3) 気圧の違いによる変動



(2) 湿度の違いによる変動

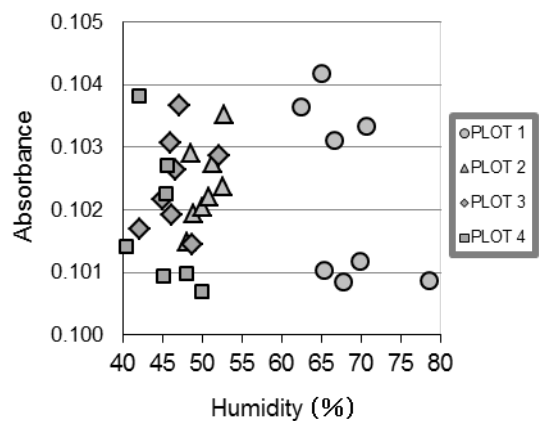


図 13. 異なる環境条件における SC1_{mnf2} の 1042 cm⁻¹ のピークの吸光度の変動 (続き)

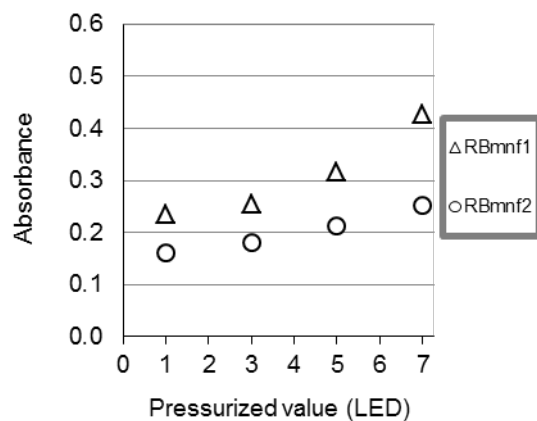


図 13. 異なる環境条件における SC1_{mnf2} の 1042 cm⁻¹ のピークの吸光度の変動

PLOT 1~4 は、気温を 20~26°C に調整した各測定を示す。

図 15. 加えた圧力の違いによる RB の 995 cm⁻¹ のピークの吸光度の変化

(1) 加圧なし



(2) 圧力表示 3



(3) 圧力表示 7



図 14. 固体試料プレスを用いた加圧の様子

すりつぶした RB を ATR ユニットに添加後、経時的に IR スペクトルを測定し、吸光度の変化を調べた。その結果、 995 cm^{-1} のピークの吸光度は、ATR ユニット添加後、徐々に大きくなり、420 分(7 時間)以降は一定となった(図 16)。

この変化が RB 固有のものかどうかを調べるため、SC1 と同様にポリスチレン・フィルムを用いて経時的な変化を調べた。1.1.3. と同様に、 1491 , 1450 , 748 cm^{-1} のピークの吸光度を調べたところ、スペクトル強度は徐々に大きくなった。しかし、一定となるまでの時間は約 16 分であり、RB よりも早かった(図 17)。すりつぶした粒剤を ATR ユニットに添加した場合、固体試料プレスとダイヤモンド ATR エレメントの間にわずかな間隔があるため、圧力を加えることにより密着が行われるものの、密着が安定するまでに時間を要するためと考えられた。

次に、ATR ユニットに試料を添加し、一定の圧力を加えてから 1 時間後に IR スペクトルを測定した。ATR エレメント中央部への圧力(密着度)が高いほど、ピークは強くなった。圧力を変えて測定したときの IR スペクトルを図 18 に示す。試料に加える圧力が大きくなるにつれてスペクトル強度は強くなったが、相対的強度には変化がなかった。

また、圧力を変えて測定したスペクトルを用いて PCA を行った。その結果、圧力表示 1 と圧力表示 7 は分離した(図 19)。従って、試料に加える圧力を一定にしないと、同じ試料であっても分離してしまうこととなり、誤った結果を導くこととなる。圧力を加えてから 7~8 時間後にスペクトルを測定すれば吸光度は一定となるが、PCA で分離可能かどうかを判断するにはたくさんのデータが必要となることから効率的ではないと考えられた。

以上のことから、試料に加える圧力によるスペクトル強度の変動を防ぐため、圧力は限界値となる 7 と一定にし、ATR ユニットに試料を添加後、すぐにスペクトルを測定することとした。

1.3. 測定条件のまとめ

スペクトル強度の変動要因の調査から、吸光度の変動の少ない条件として、次の条件が選定された。

- SC1 のような微揮発性の液体試料の場合は、試料の厚みを確保するため、スペーサーを用いて試料を添加し、滴下数は 5 滴以上とする。

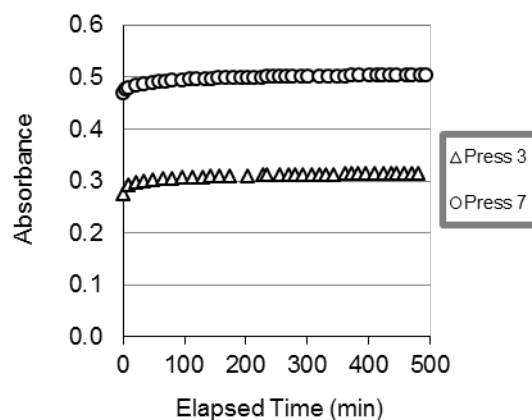


図 16. RB_{mnf1} の 995 cm^{-1} ピークの吸光度の経時変化

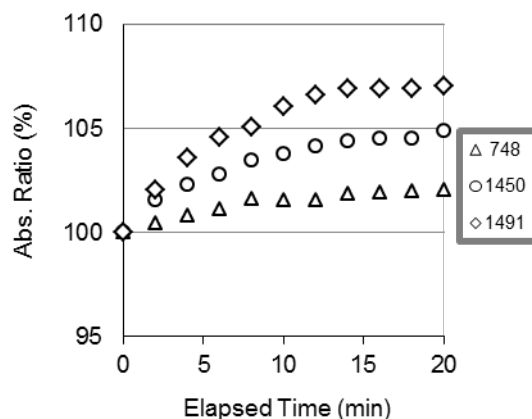
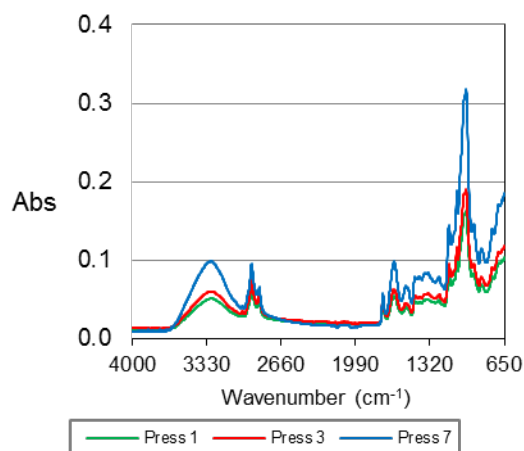


図 17. ポリスチレン・フィルムを ATR 法で測定測定したときの吸光度の経時変化

- 粒剤のような固体試料(よくすりつぶす)の場合は、固体試料プレスで加える圧力は、限界値となる 7 と一定の値とし、圧力を加えてから測定までの時間を一定とする。

(1) RB_{mnf1}



(2) RB_{mnf2}

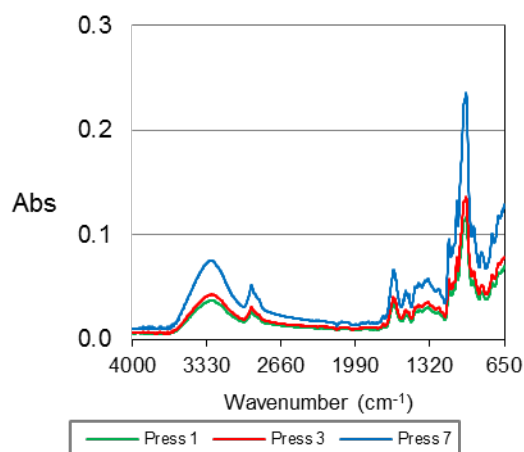


図 18. 圧力を変えて測定したときの RB の IR スペクトル

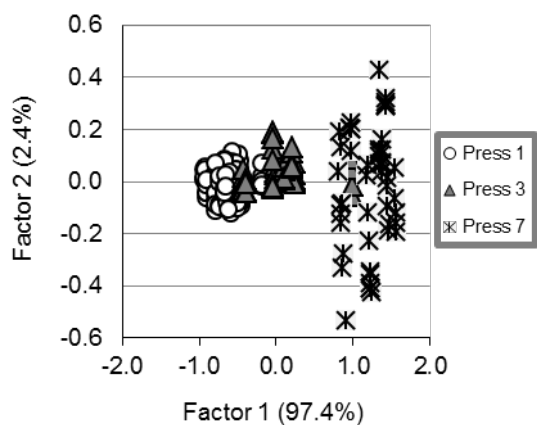


図 19. RB_{mnf2} の圧力を変えて測定したときの PCA

括弧内の数値は、各変数の寄与率を示す（以下同じ）。

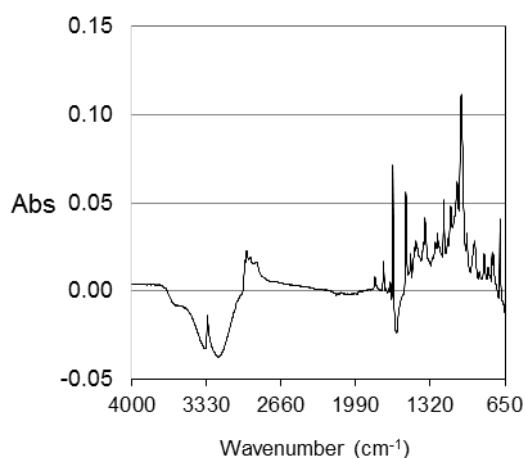
1. 4. 試料の IR スペクトル

1. 4. 1. SC1

SC1_{mnf1}, SC1_{mnf2}, 補助成分である溶剤と増粘剤の IR スペクトルを図 20 に示す. SC1 のスペクトルは水を差し引いて求めた.

その結果, SC1_{mnf1} と SC1_{mnf2} の IR スペクトルに違いは認められなかった.

(1) SC1_{mnf2} (見本と同じ処方で製造された製剤)



(2) SC1_{mnf1} (見本とは異なる処方で製造された製剤)

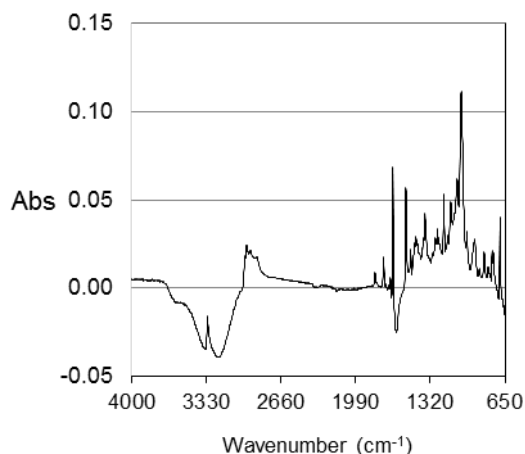
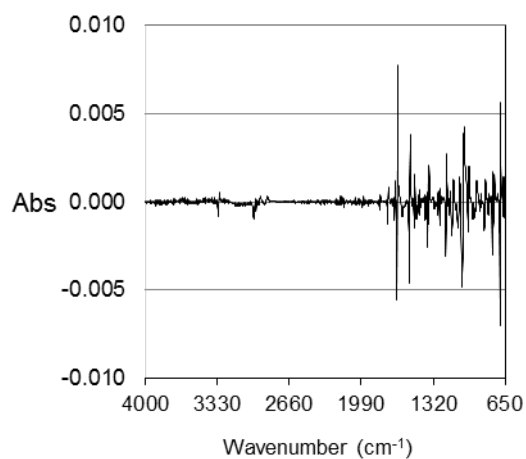
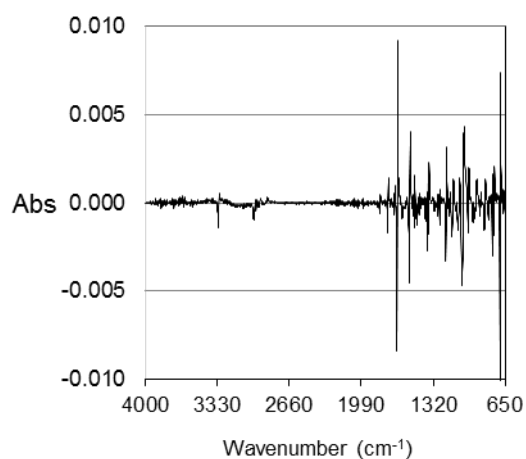


図 20. SC1 および補助成分の IR スペクトル

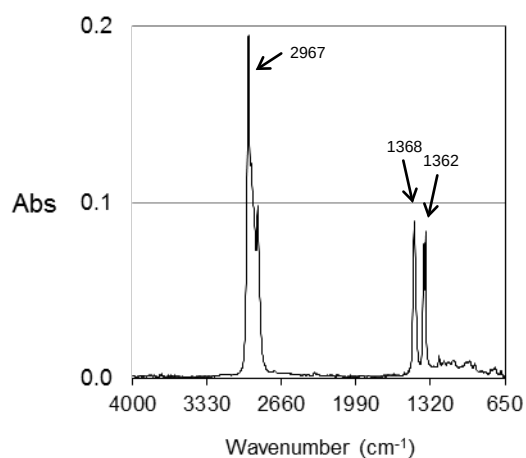
(3) SC1_{mnf2}の微分スペクトル



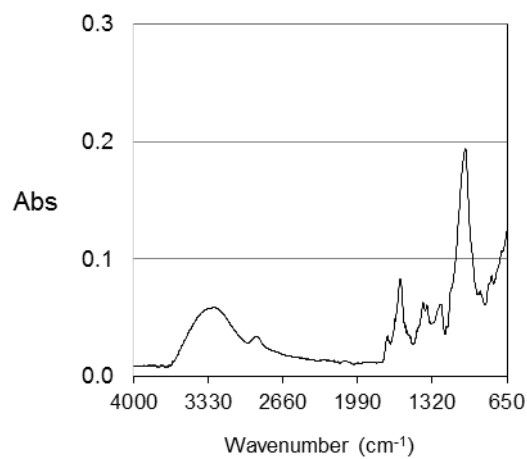
(4) SC1_{mnf1}の微分スペクトル



(5) 溶剤 (SC1_{mnf1}・SC1_{mnf2}で使用)



(6) 増粘剤 A (SC1_{mnf2}で使用)



(7) 増粘剤 B (SC1_{mnf1}で使用)

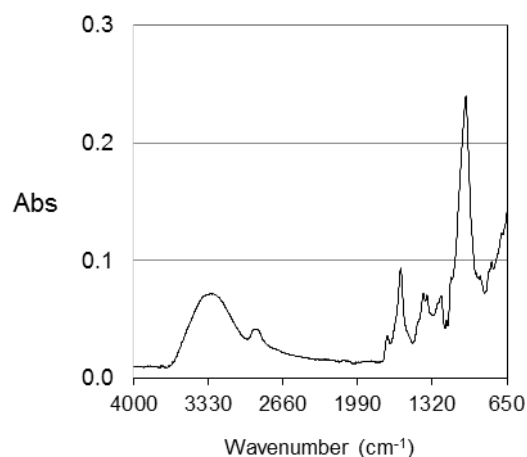


図 20. SC1 および補助成分の IR スペクトル (続き)

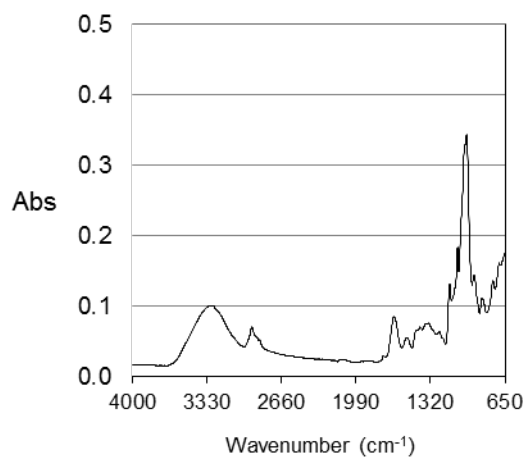
1. 4. 2. RB

RB_{mnf1}, RB_{mnf2}, 補助成分である植物粉と植物油の IR スペクトルを図 21 に示す.

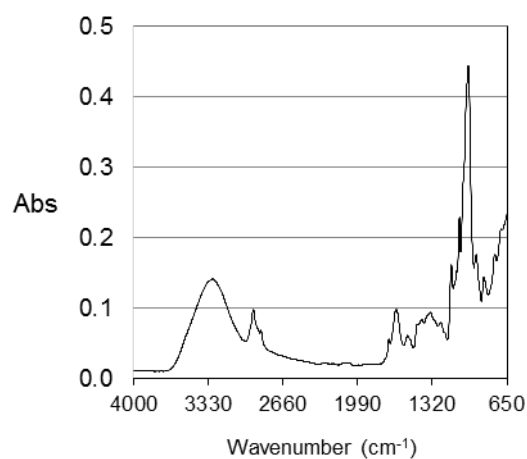
RB_{mnf1} と RB_{mnf2} の IR スペクトルを比較すると, RB_{mnf1} では○を付けた部分に違いがみられた. この違いは, 表 2 に示した処方のとおり, 図 21 (6) の植物粉 B と図 21 (7) の植物油に由来すると推定された.

図 20. SC1 および補助成分の IR スペクトル (続き)

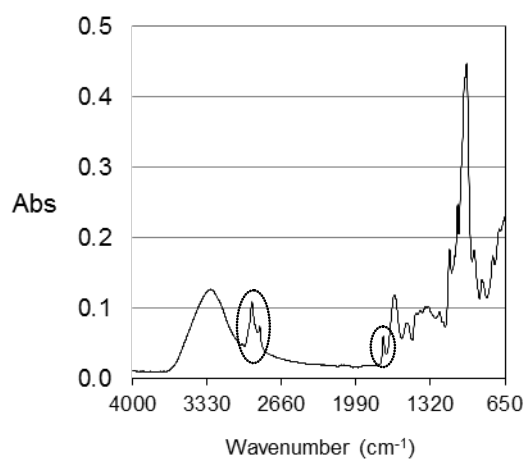
(1) RB_{mnf2} (見本と同じ処方で製造された製剤)



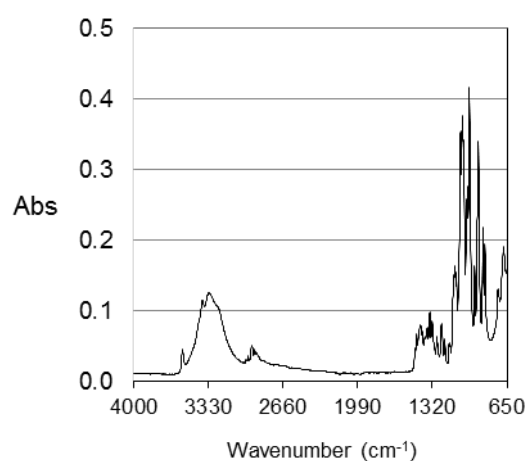
(4) 植物粉 D



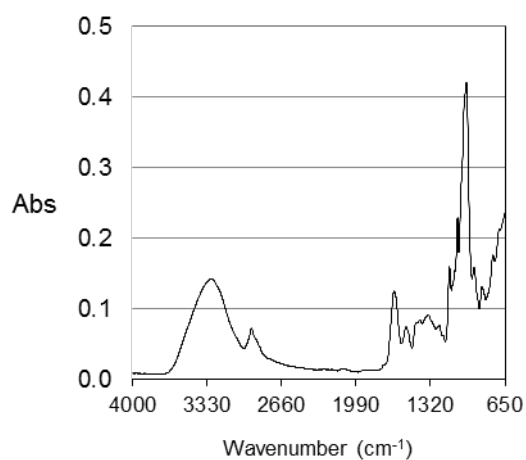
(2) RB_{mnf1} (見本とは異なる処方で製造された製剤)



(5) 植物粉 C (RB_{mnf1}・RB_{mnf2}で使用)



(3) 植物粉 A



(6) 植物粉 B (RB_{mnf1}で使用)

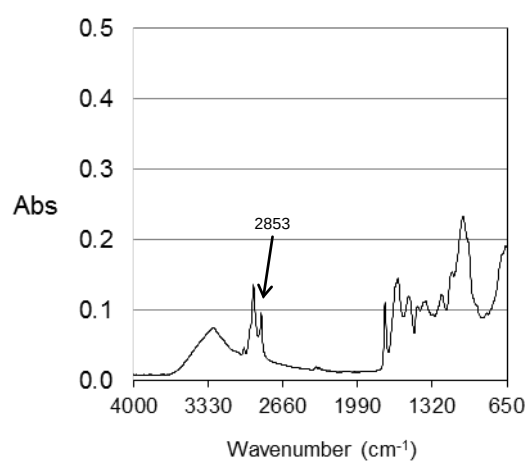


図 21. RB の IR スペクトル

(7) 植物油 (RB_{mnf1} 使用)

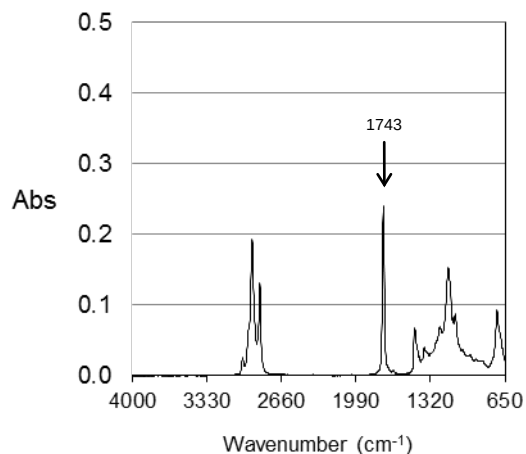
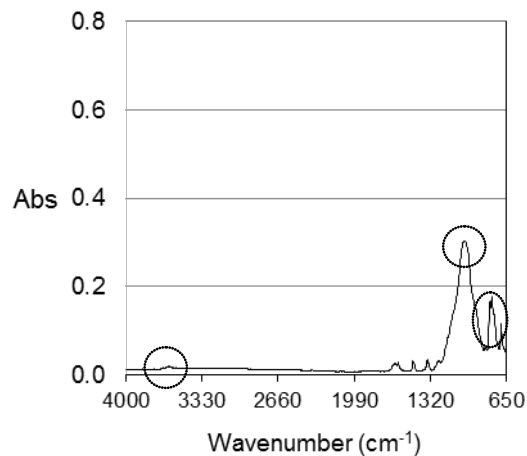
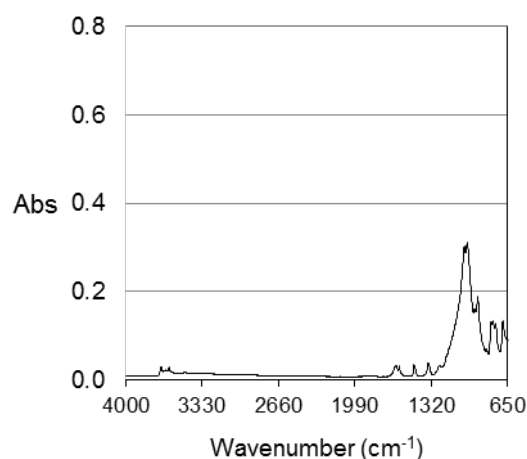


図 21. RB の IR スペクトル (続き)

(2) GR_{mnf1} (見本と異なる処方で製造された製剤)



(3) GR_{mnf3} (見本と同じ処方で製造された製剤)

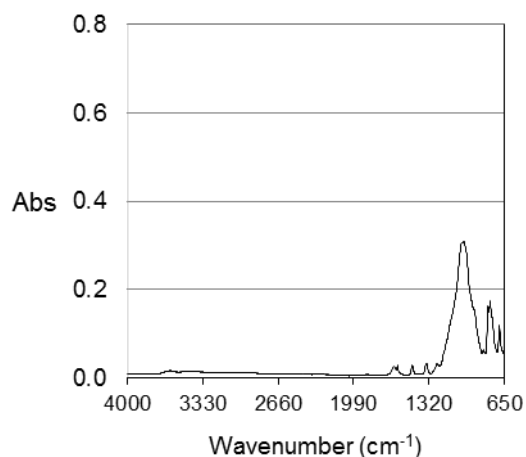


1. 4. 3. GR

GR_{mnf1}, GR_{mnf2}, GR_{mnf3} および補助成分である界面活性剤, ベントナイト, クレーの IR スペクトルを図 22 に示す.

製剤は, 加水して造粒し, 乾燥させて製造していること, さらに, ベントナイトは加水により膨潤することが知られていることから¹⁴⁾, 界面活性剤およびベントナイトの IR スペクトルは, そのままの状態のものと加水・乾燥させたものを用いて測定した. なお, 界面活性剤は, 熱による成分の変性を防いだ

(1) GR_{mnf2} (見本と同じ処方で製造されたもの)



(4) 界面活性剤 A (そのまま測定)

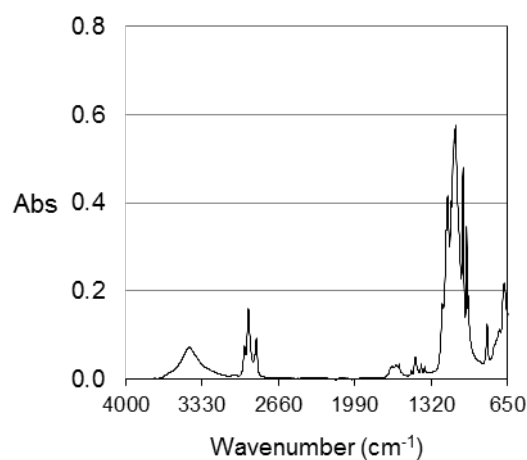
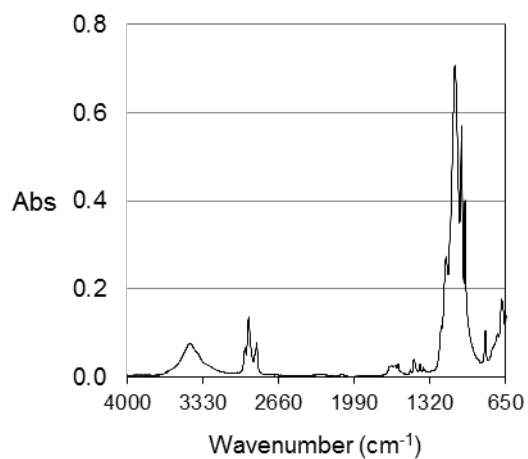
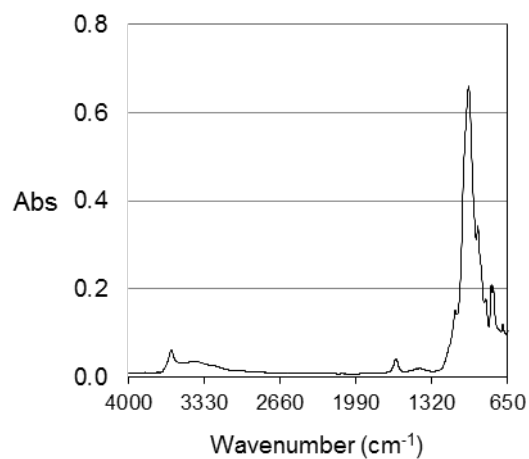


図 22. GR の IR スペクトル

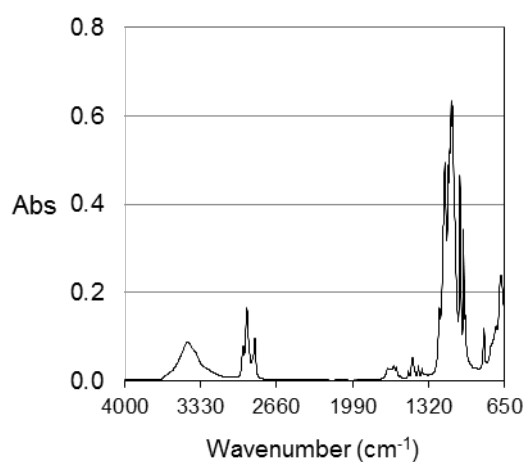
(5) 界面活性剤 A (加水・乾燥させた試料)



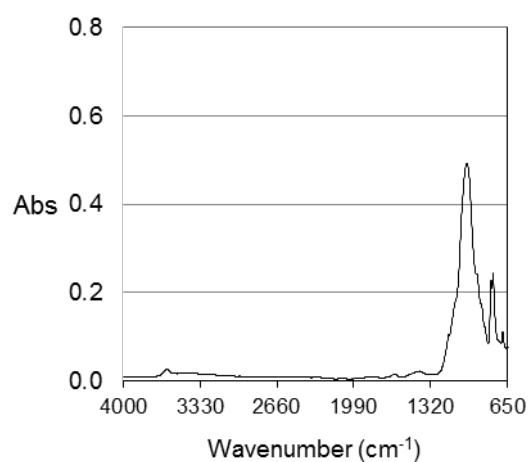
(8) ベントナイト A



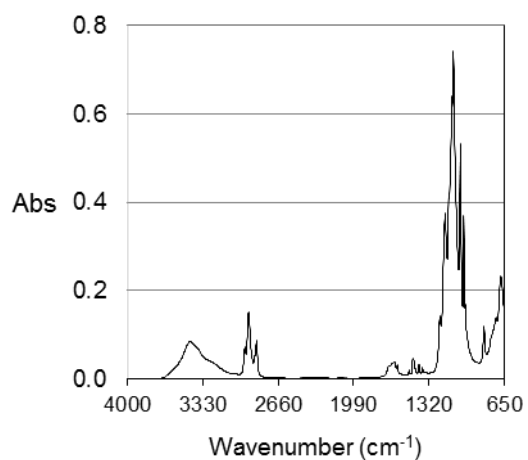
(6) 界面活性剤 B (そのまま測定)



(9) ベントナイト A (加水・乾燥させた試料)



(7) 界面活性剤 B (加水・乾燥させた試料)



(10) ベントナイト B

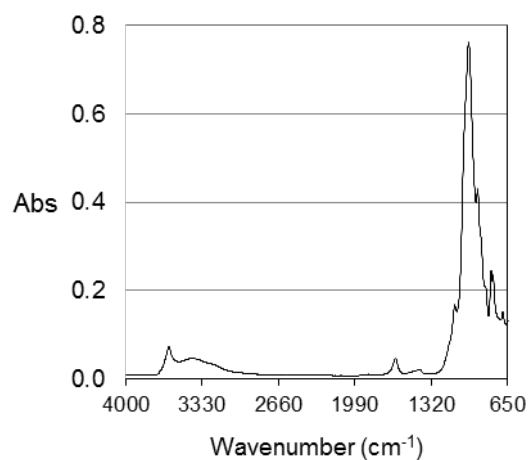
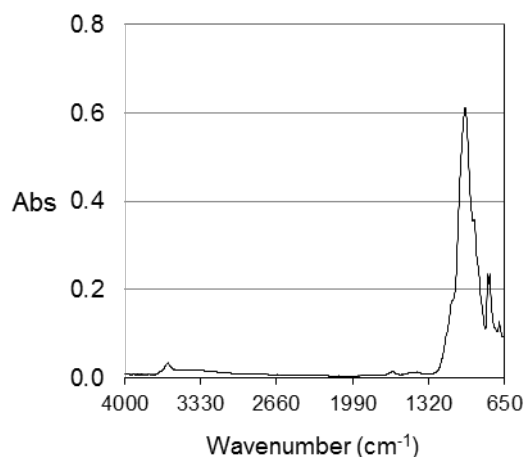
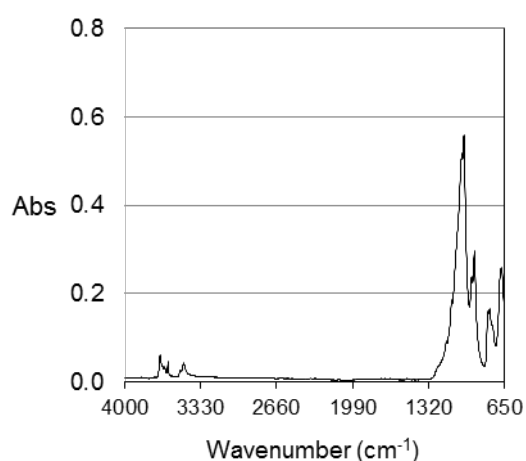


図 22. GR の IR スペクトル (続き)

(11) ベントナイト B (加水・乾燥させた試料)



(12) クレー A



(13) クレー B

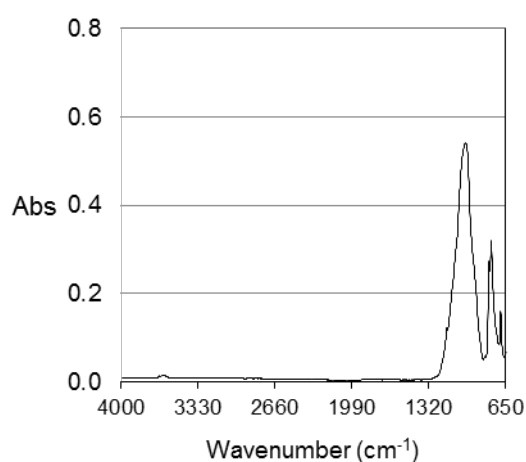


図 22. GR の IR スペクトル (続き)

め室温で乾燥させた後、シリカゲル・デシケーター内で十分に乾燥させ、乳鉢ですりつぶした。加水したベントナイトは 80℃で乾燥させた後、乳鉢ですりつぶした。クレーは加水により膨潤しないので、加水・乾燥した試料は作成しなかった。GR_{mnf1}と GR_{mnf2}の IR スペクトルはほぼ同じであったが、GR_{mnf1}では○を付けた部分に違いがみられた。この違いは、表 4 に示した処方のとおり、図 22 (12)のクレー A に由来すると推定された。

界面活性剤 A に水を加え、室温で乾燥させた前後のスペクトルを比較すると、最大ピークである 1106 cm⁻¹のピークの吸光度は強くなり、1170 cm⁻¹付近のピークは弱くなった。界面活性剤 B も、同様な傾向を示した。なお、界面活性剤 A と界面活性剤 B のスペクトルには違いは認められなかった。

ベントナイト A および B とも、加水・乾燥させる前のスペクトルと比べて加水・乾燥後は、795 と 777-773 cm⁻¹のピークが強くなり、1115, 993, 914-912 cm⁻¹のピークが弱くなった。

2. PCA

2.1. SC1

SC1_{mnf1}と SC1_{mnf2}の IR スペクトルの測定結果を用いて PCA を行った。

また、微少なピークの検出や重なったピークの検出には微分したスペクトルが有効であることから、微分スペクトルを用いた PCA も行った。

その結果、いずれの場合も、SC1_{mnf1}と SC1_{mnf2}を分離することはできず、微分スペクトルを用いた場合でも分離の傾向に変化はなかった (図 23)。

ここで、ローディングベクトルにおける Factor 1 および Factor 2 は、それぞれ、第 1 説明変数と第 2 説明変数、括弧内の数値は各変数の寄与率であり、合計が 100%となれば、PCA に用いた変数で事象が説明できることを示している。

(1) 通常のスペクトル

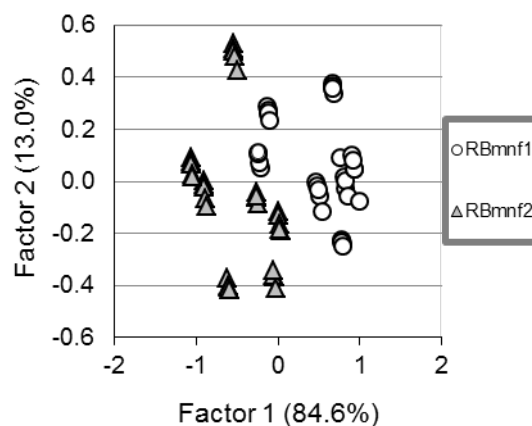
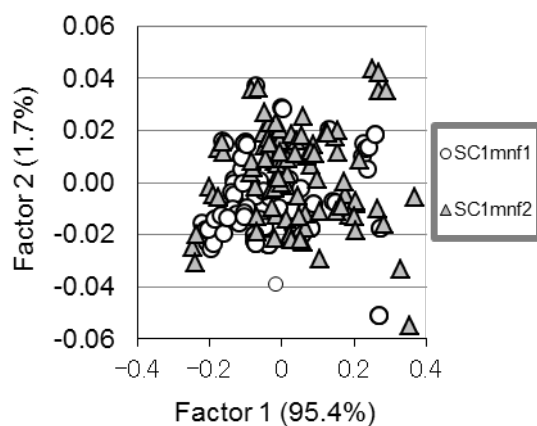


図 24. RB_{mnf1} と RB_{mnf2} を用いた PCA の結果

(2) 微分スペクトル

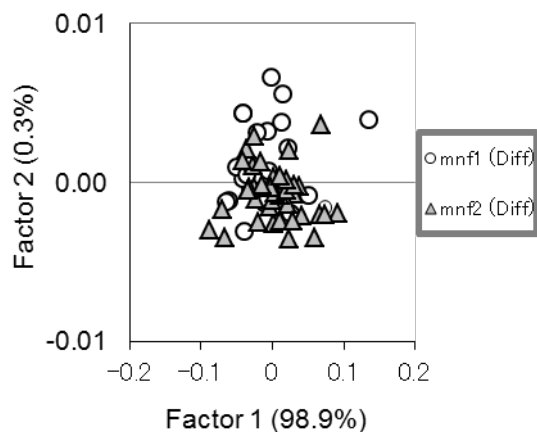


図 23. $SC1_{mnf1}$ と $SC1_{mnf2}$ を用いた PCA の結果

$mnf1(Dif)$: $SC1_{mnf1}$ (微分スペクトル)
 $mnf2(Dif)$: $SC1_{mnf2}$ (微分スペクトル)

2. 2. RB

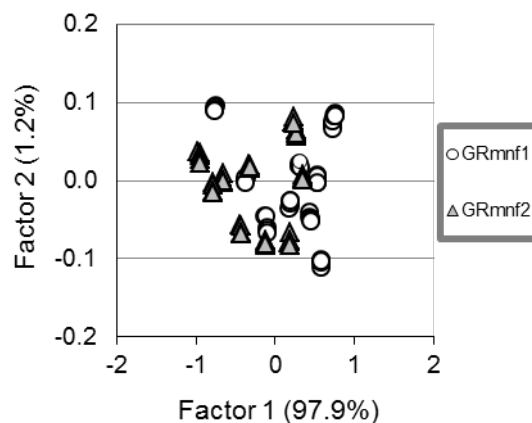
RB_{mnf1} と RB_{mnf2} の IR スペクトルの測定結果を用いて PCA を行った。その結果、両者を分離することはできなかった (図 24)。

2. 3. GR

GR_{mnf1} , GR_{mnf2} および GR_{mnf3} の IR スペクトルの測定結果を用いて PCA を行った。

その結果、図 25 に示したように、 GR_{mnf1} と GR_{mnf2} は分離しなかったが、 GR_{mnf1} と GR_{mnf3} または GR_{mnf2} と GR_{mnf3} は分離した。

(1) GR_{mnf1} と GR_{mnf2}



(2) GR_{mnf1} と GR_{mnf3}

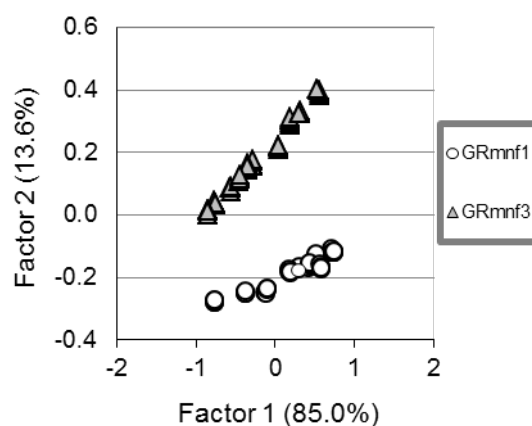


図 25. GR を用いた PCA の結果

(3) GR_{mnf2} と GR_{mnf3}

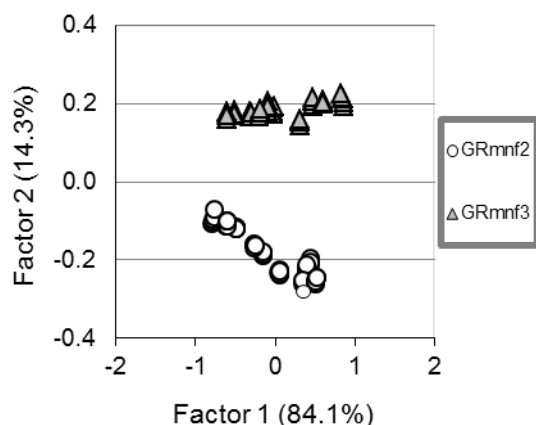


図 25. GR を用いた PCA の結果 (続き)

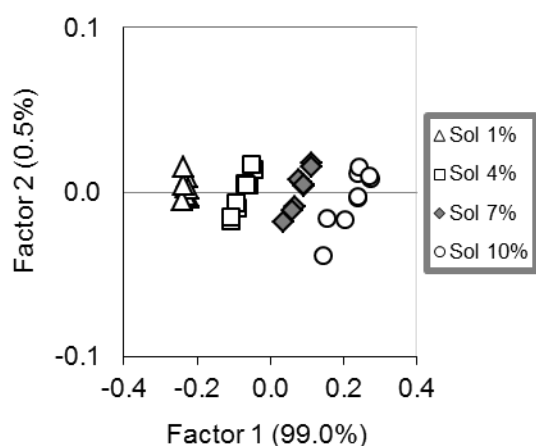


図 26. 溶剤のエタノール溶液を用いた PCA の結果

3. 補助成分の感度分析

3. 1. SC1

3. 1. 1. 溶剤

1, 4, 7, 10%の濃度の溶剤のエタノール溶液を作成して IR スペクトルを測定し, PCA を行った. その結果, 1, 4, 7, 10%の濃度の溶液は, それぞれ分離することができた. すなわち, エタノール溶液の場合, 3%の濃度差があれば, PCA での分離が可能であった (図 26).

そこで, 実試料における分離の可否を確認するため, SC1_{mnf2}に溶剤を添加した試料を用いて PCA での分離を検討した. その結果, SC1 に溶剤を添加した場合, 無添加と 30%添加した試料および無添加と 35%添加した試料について PCA で分離できた (表 5). すなわち, 35%以上の濃度差があれば PCA で分離可能であった. なお, 溶剤を 40%添加すると製剤中で SC1 と溶剤が分離したので, 35%を上限とした.

SC1 に溶剤を添加した試料を用いた PCA において, 分離しない例として 10%添加した試料と 35%添加した試料, 分離した例として添加していない試料と 30%添加した試料におけるスコア・プロットの例を図 27 に示す. SC1_{mnf2}と 35%添加した試料におけるローディングベクトルを図 28 に示す.

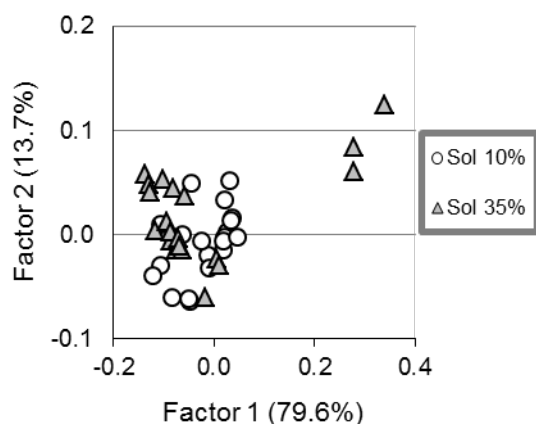
ローディングは, 各主成分に対してどの変数が最も重要であるかを示すものであるから, ローディングベクトルにおいてピークを示している変数 (図 28 (1) および図 28 (2)) が, 溶剤の IR スペクトル (図 20 (5)) におけるピーク (2967, 1368, 1362cm⁻¹ 付近) と同じ場所に認められていることから, 溶剤が分離に影響したと考えられた.

表 5. SC1 に溶剤を添加した試料における PCA の結果 (抜粋)

	0%	3%	4%	5%	6%	7%	8%	9%	10%	分離	
										可能	不能
25%	×	×	×	×	×	×	×	×	×	—	≤25
30%	○	×	×	×	×	×	×	×	×	≥30	≤27
35%	○	×	×	×	×	×	×	×	×	≥35	≤32

○ : 分離する. × : 分離しない.

(1) 10%添加と 35%添加（分離しない例）



(2) SC1_{mnf2}と 30%添加（分離した例）

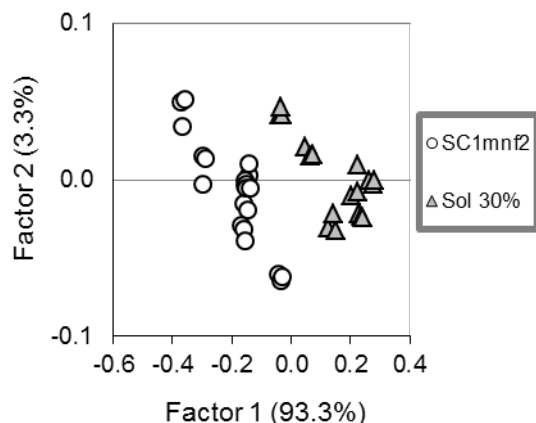


図 27. SC1_{mnf2}に溶剤を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロット

3.1.2. 増粘剤

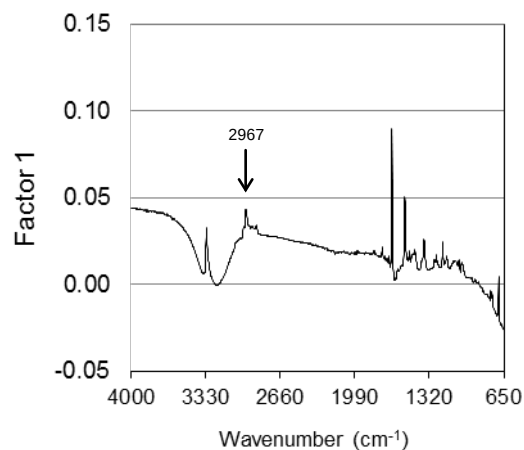
①種類の影響

増粘剤の種類の違いが PCA での分離に影響を及ぼすかどうかを調べるため、増粘剤 A と増粘剤 B について、そのままの状態に測定した IR スペクトルを用いて PCA を行った。その結果、両者は PCA で分離しなかった（図 29）。

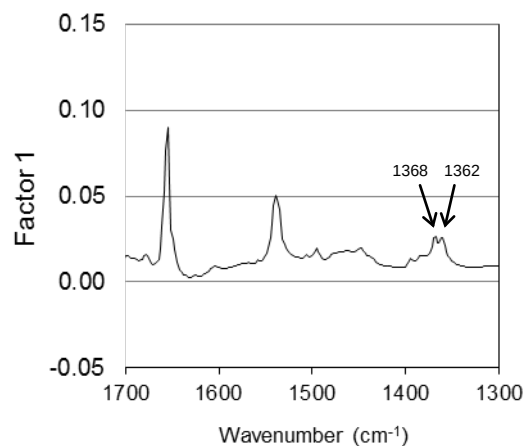
従って、補助成分として使用される増粘剤の種類が異なっても、PCA で区別することは困難と考えられた。

そこで、実試料における分離への適用を確認するため、SC1_{mnf1}に増粘剤 B を添加、または SC1_{mnf2}に増粘剤 A を添加した試料を用いて PCA での分離

(1) Factor 1



(2) Factor 1（拡大図）



(3) Factor 2

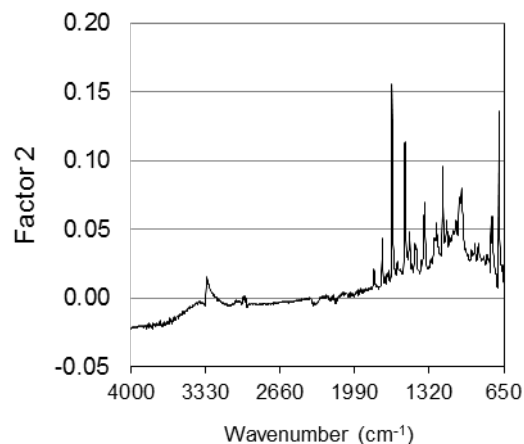


図 28. SC1_{mnf2}と 35%添加した試料を用いた PCA におけるローディングベクトル

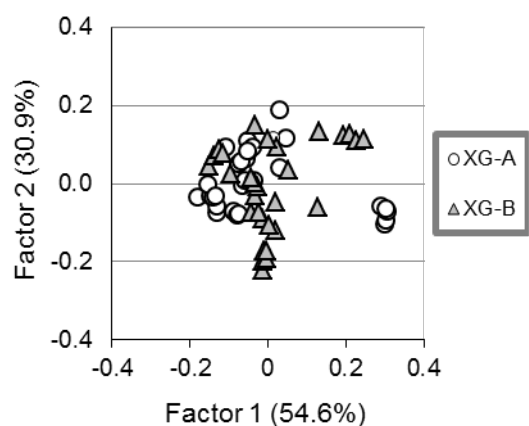


図 29. 増粘剤 A と増粘剤 B を用いた PCA におけるスコア・プロット（固体のまま測定）

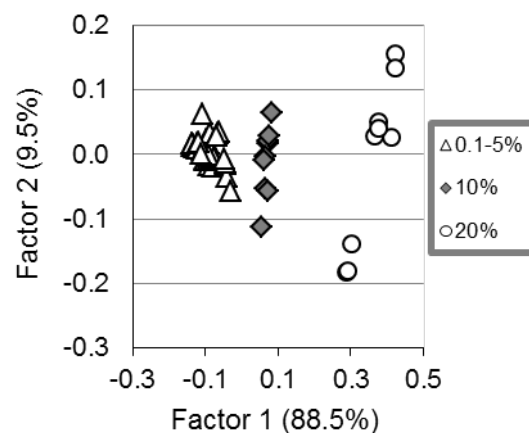


図 30. 増粘剤 A の水溶液を用いた PCA の結果

表 6. SC1_{mnf2} に増粘剤 A を添加した試料における PCA の結果

	0.5%	1%	2%	5%	10%	分離	
						可能	不能
0%	×	×	×	×	○	≥ 10	≤ 5
0.5%		×	×	×	○	≥ 9.5	≤ 4.5
1%			×	×	×	—	≤ 9
2%				×	×	—	≤ 8
5%					×	—	≤ 5

○：分離する．×：分離しない．

表 7. SC1_{mnf1} に増粘剤 B を添加した試料における PCA の結果

	0.5%	1%	2%	5%	10%	分離	
						可能	不能
0%	×	×	○	○	○	≥ 2	≤ 1
0.5%		×	×	×	○	≥ 9.5	≤ 4.5
1%			×	×	○	≥ 9	≤ 4
2%				×	○	≥ 8	≤ 3
5%					○	≥ 5	—

○：分離する．×：分離しない．

を確認した。SC1 に増粘剤を添加した場合、10%以上の濃度差があれば分離可能であった（表 6, 7）。

②含有率の影響

増粘剤の濃度の違いによる PCA での分離の可否を調べた。増粘剤 A の水溶液の場合、5%以上の濃度差があれば、PCA での分離が可能であった（図 30）。

3.1.2.1. 増粘剤 A

SC1_{mnf2} に増粘剤 A を添加した試料を用いた PCA において、分離しない例として 5%添加した試料と 10%添加した試料、分離した例として添加していない試料と 10%添加した試料におけるスコア・プロット（図 31）の例、SC1_{mnf2} と 10%添加した試料におけるローディングベクトルを図 32 に示す。ローディングベクトルにおける変量のピークは、増粘剤 A のスペクトルのピーク（図 20(6)）と一致しており、増粘剤 A の含有率が分離に影響したと考えられた。

3.1.2.2. 増粘剤 B

SC1_{mnf1} に増粘剤 B を添加した試料を用いた PCA において、分離しない例として 1%添加した試料と 5%添加した試料、分離した例として添加していない試料と 10%添加した試料におけるスコア・プロット（図 32）の例、SC1_{mnf1} と 10%添加試料におけるローディングベクトルを図 32 に示す。

ローディングベクトルにおける変量のピークは、増粘剤 B のスペクトルのピーク（図 20(7)）と一致しており、増粘剤 B の含有率が分離に影響したと考えられた。

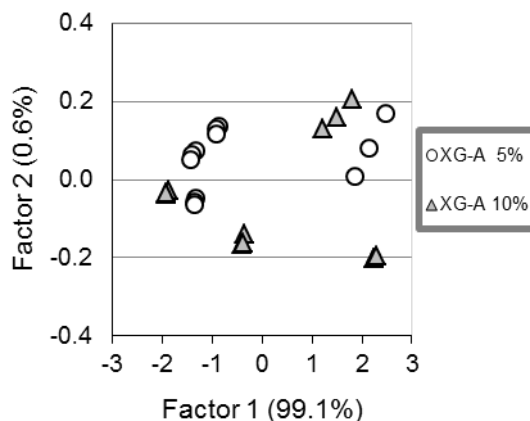
3.1.3. SC1 まとめ

補助成分の感度分析の結果から、PCA で分離する場合、SC1 に溶剤を添加したときは 35%以上の濃度差、SC1 に増粘剤を添加したときは 10%以上の濃度差が必要であった。

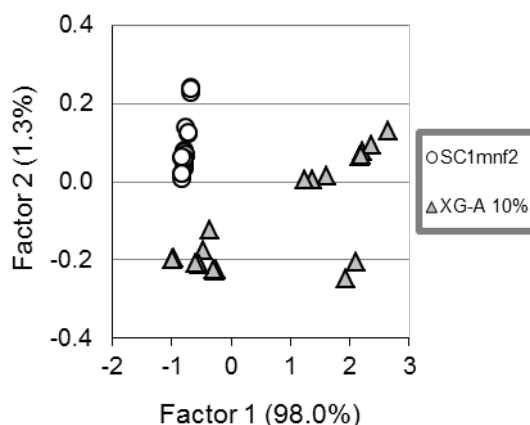
見本と集取品における溶剤の含有率は見本が 0.50%、集取品が 0.20%であり、濃度差は 0.30%であったこと、増粘剤の含有率は見本が 0.12%、集取品が 0.18%であり、濃度差は 0.06%であったことから、PCA で分離する条件を満たしていなかった。

従って、FT-IR/ATR で測定した IR スペクトルを用いた PCA では、今回供試した SC1 における処方の違いを確認できないと判断された。

(1) 5%添加と 10%添加（分離しない例）



(2) SC1_{mnf2} と 10%添加（分離した例）



(3) SC1_{mnf2} と 10%添加の Factor 1 のローディングベクトル

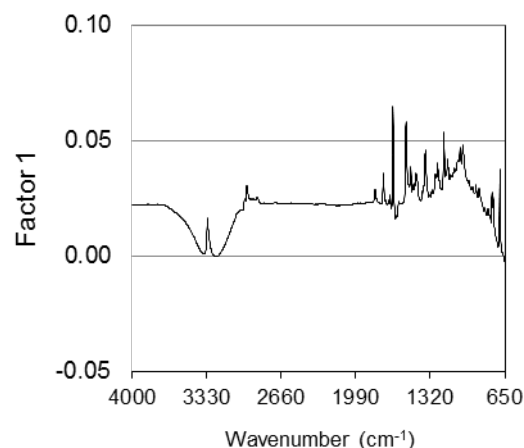


図 31. SC1_{mnf2} に増粘剤 A を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロットとローディングベクトル

(4) SC1_{mnf2}と10%添加のFactor 2のローディングベクトル

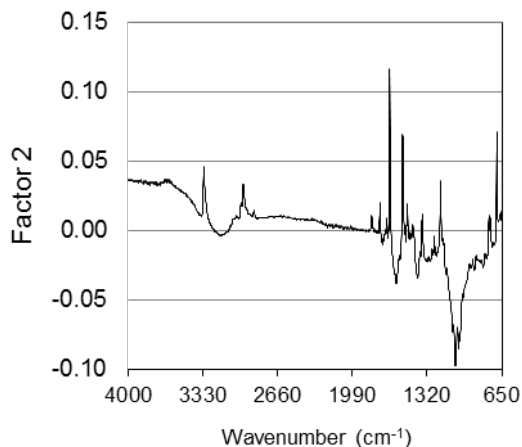
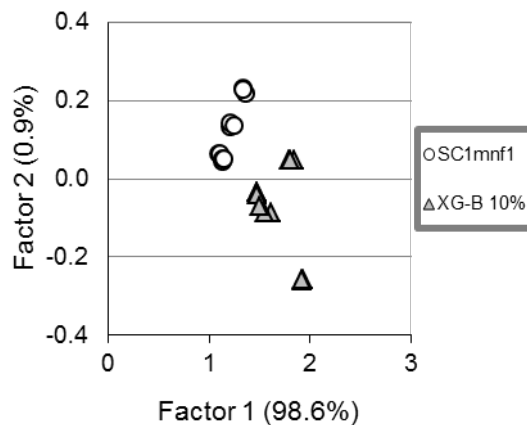
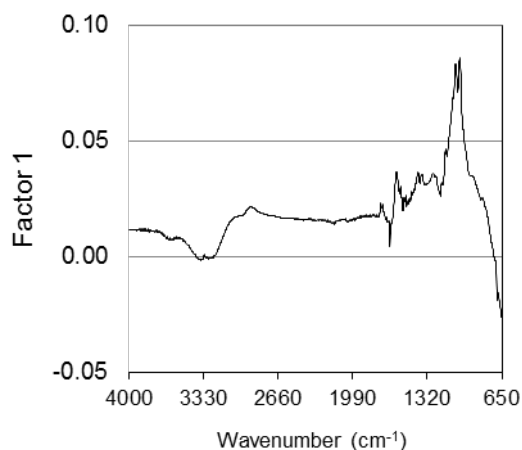


図 31. SC1_{mnf2}に増粘剤 A を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロットとローディングベクトル)

(2) SC1_{mnf1}と10%添加 (分離した例)



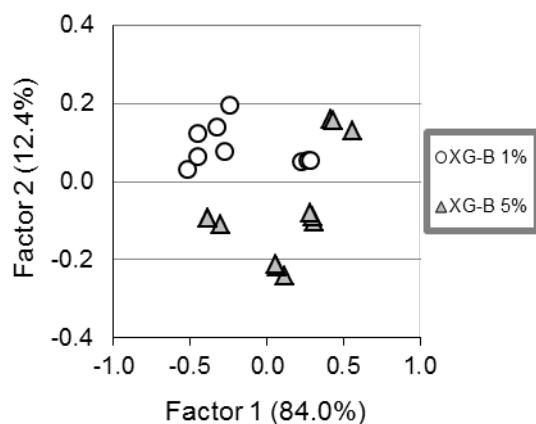
(3) SC1_{mnf1}と10%添加のFactor 1のローディングベクトル



3.2. RB

RB の補助成分のうち、処方が大きく異なるのは、植物粉 A, B, C, D と植物油である (表 3). このうち、植物粉 A と植物粉 D のスペクトルはほとんど同じであったため (図 21), RB_{mnf1}とRB_{mnf2}中の含有率には違いがないとみなした. 感度分析は、植物粉 A と植物粉 D の混合植物粉を基材として、植物粉 B, 植物粉 C および植物油の添加量を変えて実施した.

(1) 1%添加と5%添加 (分離しない例)



(4) SC1_{mnf1}と10%添加のFactor 2のローディングベクトル

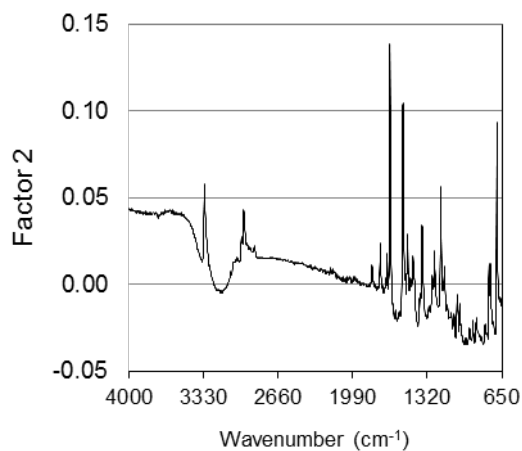


図 32. SC1_{mnf1}に増粘剤 B を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロットとローディングベクトル

表 8. 混合植物粉に植物粉 C を添加した試料における PCA の結果

		5%	6%	7%	8%	9%	10%	15%	20%	22%	23%	25%	30%	分離	
														可能	不能
0%	×	×	×	×	×	○	○	○	○	○	○	○	○	≥ 10	≤ 9
	5%	×	×	×	×	×	×	○	○	○	○	○	○	≥ 15	≤ 5
		6%	×	×	×	×	×	×	×	×	×	○	○	≥ 19	≤ 17
			7%	×	×	×	×	×	×	×	×	○	○	≥ 18	≤ 16
				8%	×	×	×	×	×	×	×	○	○	≥ 17	≤ 15
					9%	×	×	×	×	×	×	○	○	≥ 16	≤ 14
						10%	×	×	×	×	×	○	○	≥ 15	≤ 13
							15%	×	×	×	×	×	○	≥ 15	≤ 10
								20%	×	×	×	×	×	—	≤ 10
									22%	×	×	×	×	—	≤ 8
										23%	×	×	×	—	≤ 7
											25%	×	×	—	≤ 5

○：分離する．×：分離しない．

3. 2. 1. 植物粉 C

基材に植物粉 C を添加した試料の場合，19%以上の濃度差があれば，PCA で分離が可能であった（表 8）．

従って，RB_{mnf1}中の 2.9%と RB_{mnf2}中の 3.1%含まれる植物粉 C の濃度の違いを PCA で区別することは不可能といえる．

混合植物粉に植物粉 C を添加した試料を用いた PCA において，分離しない例として 15%添加した試料と 25%添加した試料，分離した例として 6%添加した試料と 25%添加した試料におけるスコア・プロットの例，無添加の試料と 30%添加した試料におけるローディングベクトルを図 33 に示す．ローディングベクトルにおける変量のピークは，植物粉 C のスペクトルのピーク（図 21 (5)）と一致しており，植物粉 C の含有率が PCA での分離に影響したと考えられた．

(1) 15%添加と 25%添加（分離しない例）

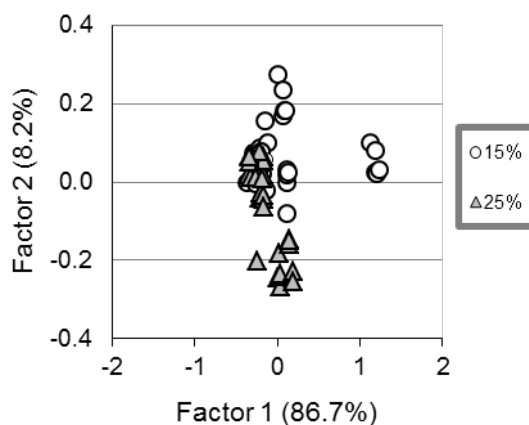
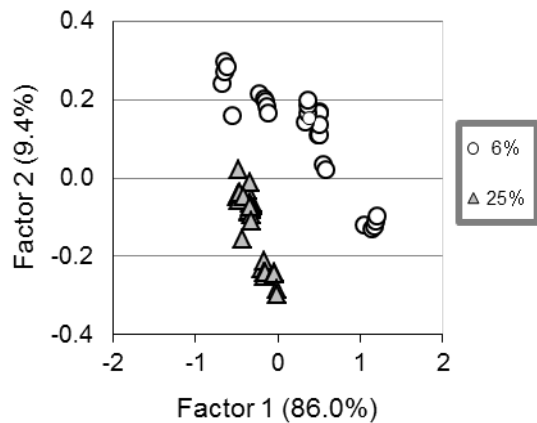
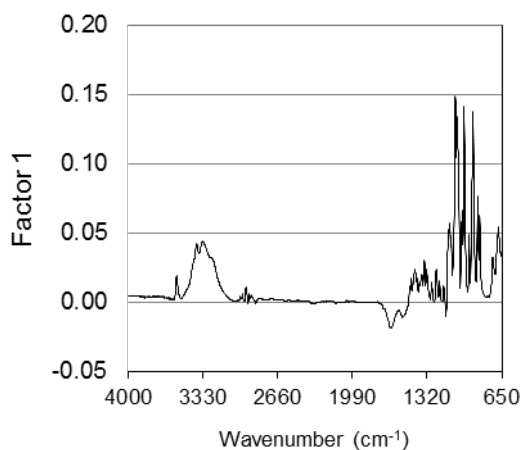


図 33. 混合植物粉に植物粉 C を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロットとローディングベクトル

(2) 6%添加と 25%添加 (分離した例)



(3) 無添加と 30%添加の Factor 1 のローディングベクトル



(4) 無添加と 30%添加の Factor 2 のローディングベクトル

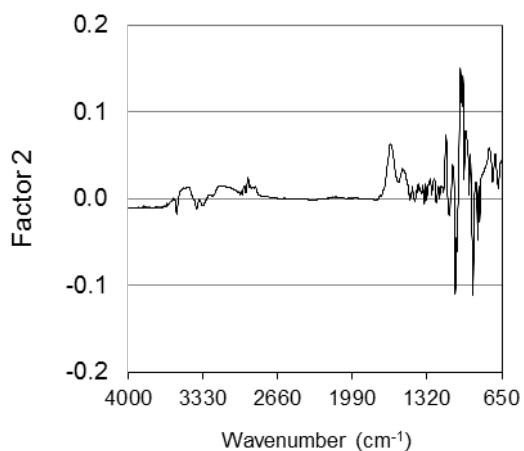
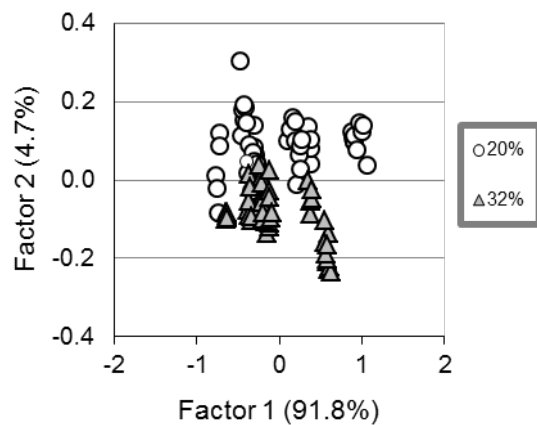
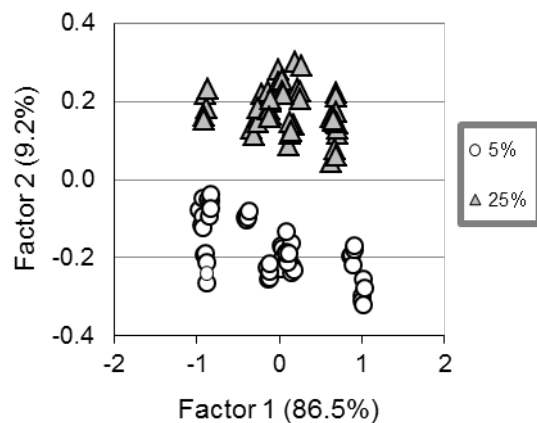


図 33 混合植物粉に植物粉 C を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロットとローディングベクトル (続き)

(1) 20%添加と 32%添加 (分離しない例)



(2) 5%添加と 25%添加 (分離した例)



(3) 無添加 と 40%添加の Factor 1 のローディングベクトル

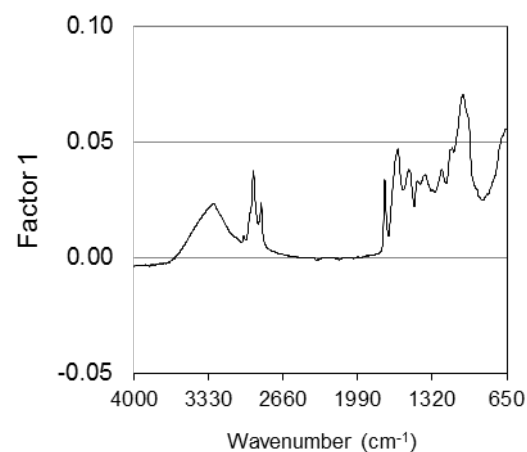


図 34. 混合植物粉に植物粉 B を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロットとローディングベクトル

(4) 無添加と 40%添加の Factor 2 のローディングベクトル

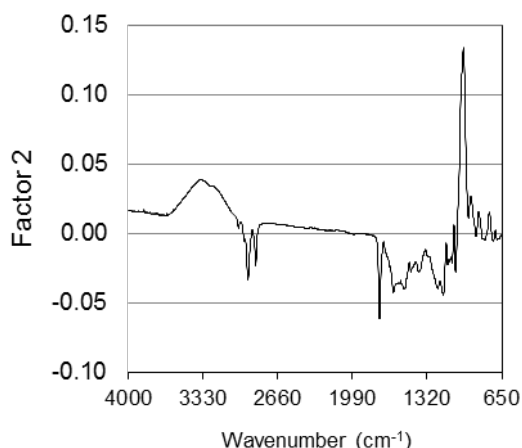


図 34. 混合植物粉に植物粉 B を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロットとローディングベクトル

3. 2. 2. 植物粉 B

基材に植物粉 B を添加した試料の場合, 20%以上の濃度差があれば, PCA で分離が可能であった (表 9).

従って, RB_{mnf1} 中の 11%と RB_{mnf2} 中の 0.0%含まれる植物粉 B の濃度の違いを PCA で区別することは不可能といえる.

混合植物粉に植物粉 B を添加した試料を用いた

PCA において, 分離しない例として 20%添加した試料と 32%添加した試料, 分離した例として 5%添加した試料と 25%添加した試料におけるスコア・プロットの例, 無添加の試料と 40%添加した試料におけるローディングベクトルを図 34 に示す. ローディングベクトルにおける変数のピークは, 植物粉 B のスペクトルのピーク (図 21 (6)) と一致しており, 植物粉 B の含有率が PCA での分離に影響したと考えられた.

3. 2. 3. 植物油

基材に植物油を添加した試料の場合, 20%以上の濃度差があれば, PCA で分離が可能であった (表 10).

従って, RB_{mnf1} 中の 2.9%と RB_{mnf2} 中の 0.0%含まれる植物油の濃度の違いを PCA で区別することは不可能といえる.

混合植物粉に植物油を添加した試料を用いた PCA において, 分離しない例として 10%添加した試料と 25%添加した試料, 分離した例として無添加の試料と 20%添加した試料のスコア・プロットの例, 無添加の試料と 30%添加した試料におけるローディングベクトルを図 35 に示す. ローディングベクトルにおける変数のピークは, 植物油のスペクトルのピーク (図 20 (7)) と一致しており, 植物油の含有率が PCA での分離に影響したと考えられた.

表 9. 混合植物粉に植物粉 B を添加した試料における PCA の結果

	5%	8%	10%	12%	15%	20%	25%	30%	32%	40%	分離	
											可能	不能
0%	×	×	×	×	×	○	○	○	○	○	≥ 20	≤ 15
5%		×	×	×	×	×	○	○	○	○	≥ 20	≤ 15
8%			×	×	×	×	○	○	○	○	≥ 17	≤ 12
10%				×	×	×	○	○	○	○	≥ 15	≤ 10
12%					×	×	×	○	○	○	≥ 18	≤ 13
15%						×	×	○	○	○	≥ 15	≤ 10
20%							×	×	×	○	≥ 20	≤ 12
25%								×	×	×	—	≤ 15
30%									×	×	—	≤ 10
32%										×	—	≤ 8

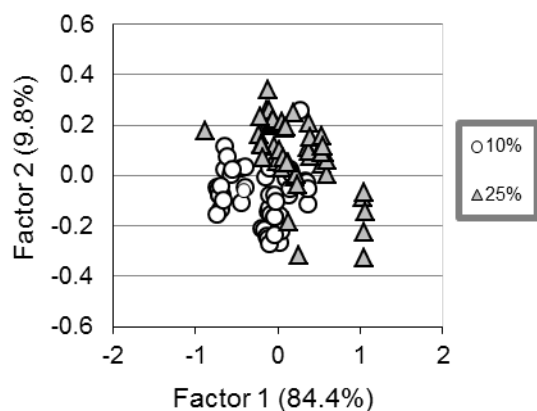
○ : 分離する. × : 分離しない.

表 10. 混合植物粉に植物油を添加した試料における PCA の結果

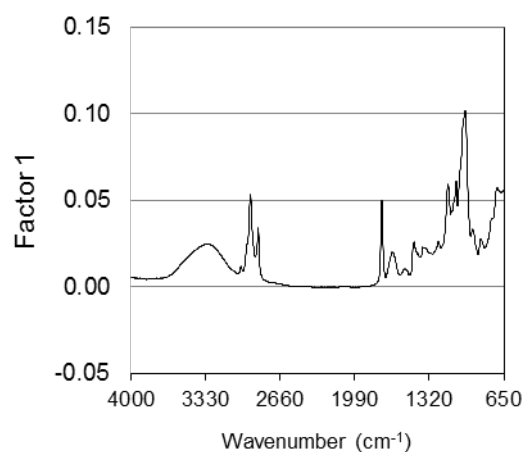
		2%	5%	10%	15%	20%	25%	30%	分離	
									可能	不能
0%	2%	×	×	×	○	○	○	○	≥ 15	≤ 10
	5%	×	×	×	○	○	○	○	≥ 18	≤ 13
	10%	×	×	×	○	○	○	○	≥ 15	≤ 10
	15%	×	×	×	○	○	○	○	≥ 20	≤ 15
	20%	×	×	×	○	○	○	○	—	≤ 15
	25%	×	×	×	○	○	○	○	—	≤ 10
	30%	×	×	×	○	○	○	○	—	≤ 5
	35%	×	×	×	○	○	○	○	—	≤ 5

○ : 分離する. × : 分離しない.

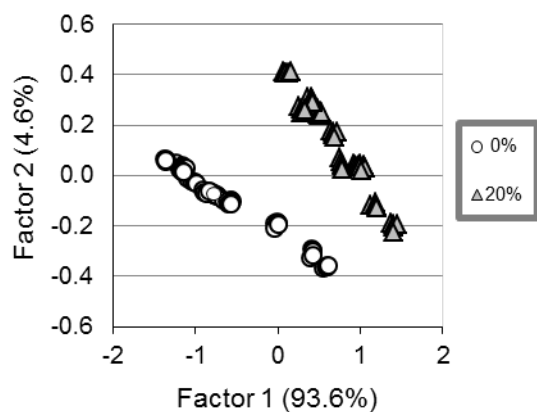
(1) 10%添加と 25%添加 (分離しない例)



(3) 無添加と 30%添加の Factor 1 のローディングベクトル



(2) 無添加と 20%添加 (分離した例)



(4) 無添加と 30%添加の Factor 2 のローディングベクトル

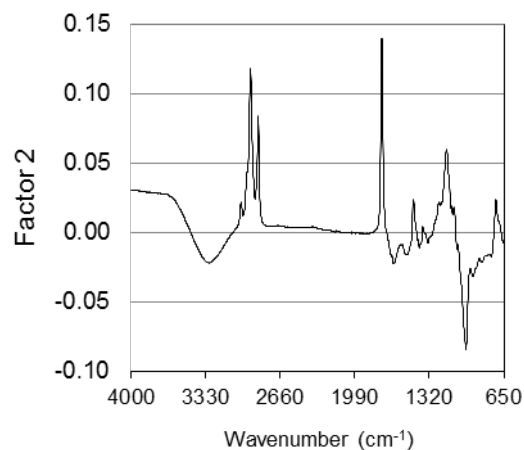


図 35. 混合植物粉に植物油を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロットとローディングベクトル

3.2.4. RB まとめ

補助成分の感度分析の結果から、PCA で分離する場合、基材である混合植物粉に植物粉 C を添加したときは 19%以上の濃度差、混合植物粉に植物粉 B を添加したときは 20%以上の濃度差、混合植物粉に植物油を添加したときは 20%以上の濃度差が必要であった。

見本と集取品における植物粉 C の濃度差は 0.1%、植物粉 B の濃度差は 11.4%、植物油の濃度差は 2.9% であったことから、PCA で分離する条件を満たしていなかった。

従って、FT-IR/ATR で測定した IR スペクトルを用いた PCA では、今回供試した RB における処方の違いを確認できないと判断された。

3.3. GR

GR_{mnf1}, GR_{mnf2}, GR_{mnf3} における補助成分には、表 4 にまとめたとおり、界面活性剤とベントナイトおよびクレーの種類と含有率に違いがみられた。

3.3.1. 界面活性剤

界面活性剤の種類・含有率の違いと PCA での分離状況は、GR_{mnf1} と GR_{mnf2} を比較すると、種類と含有率も異なっていたが PCA では分離しない、GR_{mnf1} と GR_{mnf3} を比較すると、種類と含有率が異なっており PCA でも分離する、GR_{mnf2} と GR_{mnf3} を比較すると、種類と含有率が同じであるが PCA では分離するという結果となり、一貫性は確認できなかった(表 11)。従って、界面活性剤の種類の違いは PCA における分離に影響しないことが示唆された。

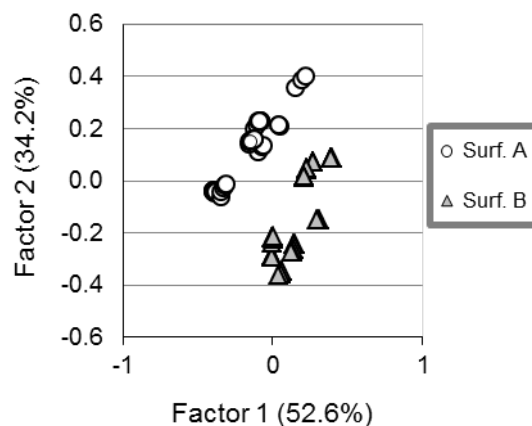
① 種類の影響

界面活性剤の種類の違いが PCA での分離に影響を及ぼすかどうかを調べた。

その結果、界面活性剤 A と界面活性剤 B は、そのままの状態の試料、加水・乾燥した試料とも PCA で分離した(図 36)。従って、界面活性剤 A と界面活性剤 B は PCA で分離することは可能である。

界面活性剤 A と界面活性剤 B について、そのままの状態で測定した IR スペクトルと加水・乾燥させた試料の IR スペクトルを用いて、PCA での分離を確認したところ、界面活性剤 A と界面活性剤 B とも、そのままの状態の試料と加水乾燥させた試料は分離した(図 37~38)。同一試料であっても、PCA で分離されたのは、加水・乾燥により結晶構造が変

(1) 加水・乾燥していない試料



(2) 加水・乾燥した試料

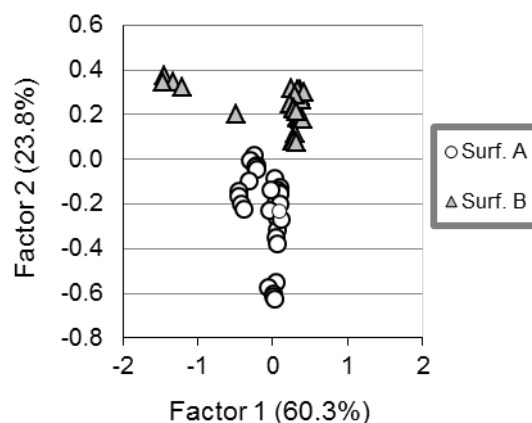


図 36. 界面活性剤 A と界面活性剤 B を用いた PCA におけるスコア・プロット

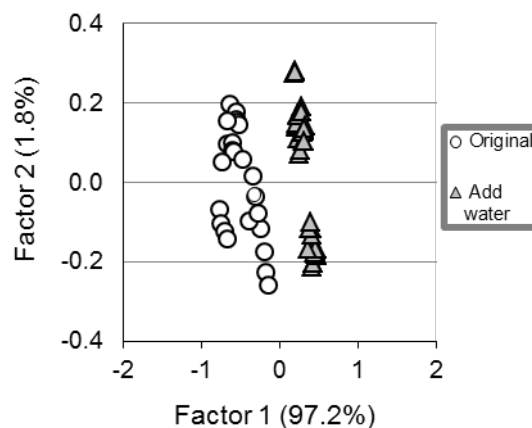


図 37. 界面活性剤 A を加水乾燥させた試料と乾燥させない試料を用いた PCA におけるスコア・プロット

表 11. GR における製造処方 比較

	界面活性剤		ベントナイト		クレー		PCA
	種類	量	種類	量	種類	量	
GR _{mnf1} と GR _{mnf2}	×	×	○	○	○	○	分離しない
GR _{mnf1} と GR _{mnf3}	×	×	△	○	△	○	分離する
GR _{mnf2} と GR _{mnf3}	○	○	△	○	△	○	分離する

○：種類または含有率が同等とみなせる。

×

△：種類は物理的に同等とみなせる。

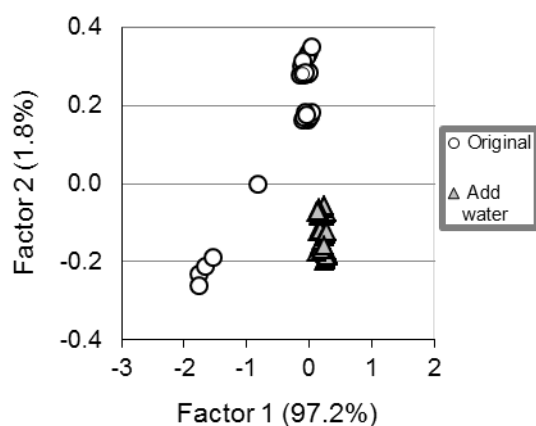


図 38. 界面活性剤 B を加水乾燥させた試料とさせない試料を用いた PCA におけるスコア・プロット

化してスペクトルが変わったためと推定された (図 22 参照)。

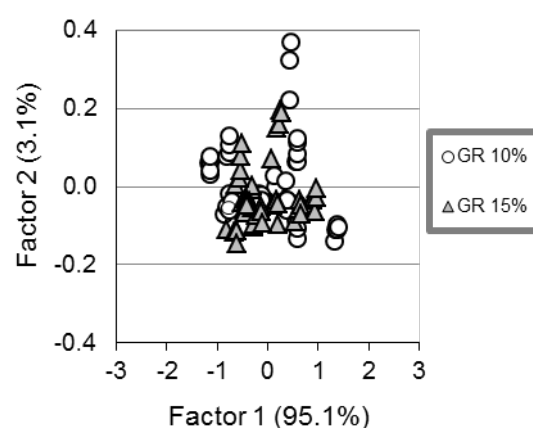
② 含有率の影響

界面活性剤の含有率の違いが PCA での分離に影響を及ぼすかどうかを調べるため、GR_{mnf2} に界面活性剤 A、または GR_{mnf1} に界面活性剤 B を添加した試料を用いて感度分析を行った。

GR_{mnf2} に界面活性剤 A、または GR_{mnf1} に界面活性剤 B を添加した試料を用いて PCA を行った場合、いずれも、15% の濃度差があれば、PCA で分離が可能であった (表 12～13)。

GR_{mnf2} に界面活性剤 A を添加した試料を用いた PCA において、分離しない例として 10% 添加した試料と 15% 添加した試料、分離した例として 1% 添

(1) 10% 添加と 15% 添加 (分離しない例)



(2) 1% 添加と 15% 添加 (分離した例)

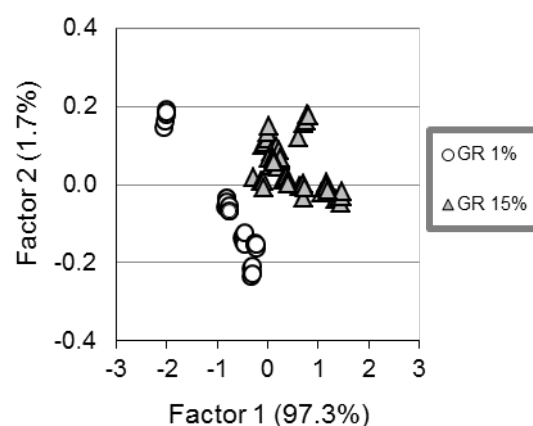


図 39. GR_{mnf2} に界面活性剤 A を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロット

表 12. GR_{mnf1} に界面活性剤 B を添加した試料における PCA の結果

		0.5%	1.0%	2.0%	5.0%	10%	15%	20%	分離	
									可能	不能
0.3%		×	×	×	×	○	○	○	≥9.7	≤4.7
	0.5%		×	×	×	×	○	○	≥14.5	≤9.5
			1.0%	×	×	×	○	○	≥14	≤9
				2.0%	×	×	○	○	≥13	≤8
					5.0%	×	○	○	≥10	≤5
						10%	×	○	≥10	≤5
							15%	×	—	≤5

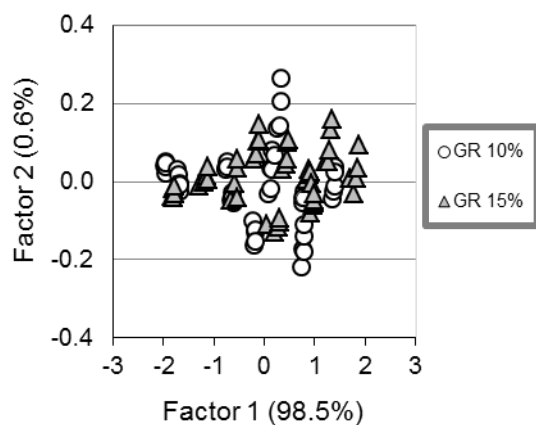
○ : 分離する. × : 分離しない.

表 13. GR_{mnf2} に界面活性剤 A を添加した試料における PCA の結果

		0.5%	1.0%	2.0%	5.0%	10%	15%	20%	分離	
									可能	不能
0.2%		×	×	×	×	×	○	○	≥14.8	≤9.8
	0.5%		×	×	×	×	○	○	≥14.5	≤9.5
			1.0%	×	×	×	○	○	≥14	≤9
				2.0%	×	×	○	○	≥13	≤8
					5.0%	×	○	○	≥10	≤5
						10%	×	○	≥10	≤5
							15%	×	—	≤5

○ : 分離する. × : 分離しない.

(1) 10%添加と 15%添加 (分離しない例)



(2) 1%添加と 15%添加 (分離した例)

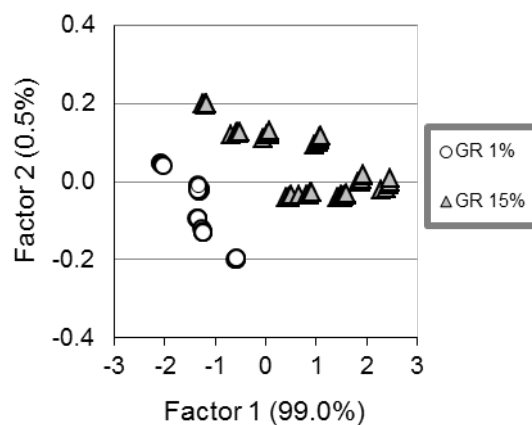


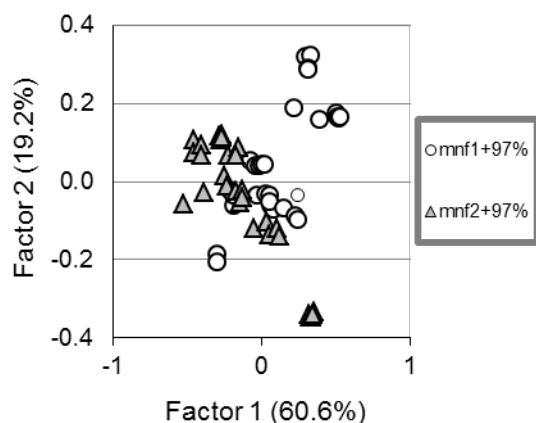
図 40. GR_{mnf2} に界面活性剤 B を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロット

加した試料と 15%添加した試料のスコア・プロットの例を図 39 に示す。

また、GR_{mnf1}に界面活性剤 B を添加した試料を用いた PCA において、分離しない例として 10%添加した試料と 15%添加した試料、分離した例として 1%添加した試料と 15%添加した試料のスコア・プロットの例を図 40 に示す。

次に、GR_{mnf2}に界面活性剤 A を添加した試料と GR_{mnf1}に界面活性剤 B を添加した試料を用いて PCA を行ったところ、界面活性剤を 97%以下で添加した試料の場合は分離せず、99%以上添加した試料で分離した。このときのスコア・プロットの例を図 41 に示す。

(1) 97%添加（分離しない例）



(2) 99%添加（分離した例）

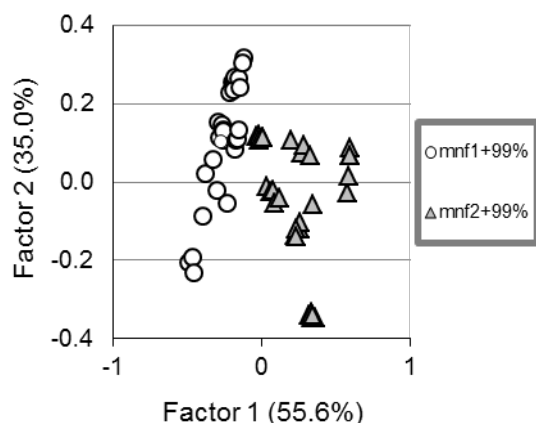
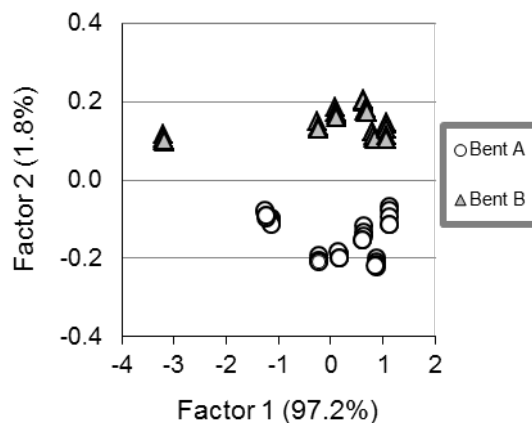


図 41. GR_{mnf1}に界面活性剤 B および GR_{mnf2}に界面活性剤 A を添加した試料を用いた PCA におけるスコア・プロット

(1) 加水・乾燥していない試料



(2) 加水・乾燥した試料

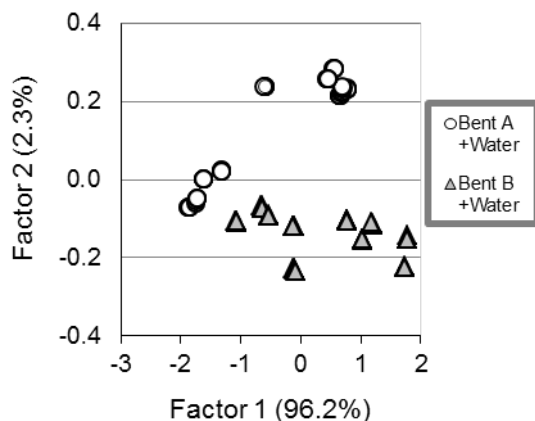


図 42. ベントナイト A とベントナイト B を用いた PCA におけるスコア・プロット

(1) 加水・乾燥していない試料, Factor 1

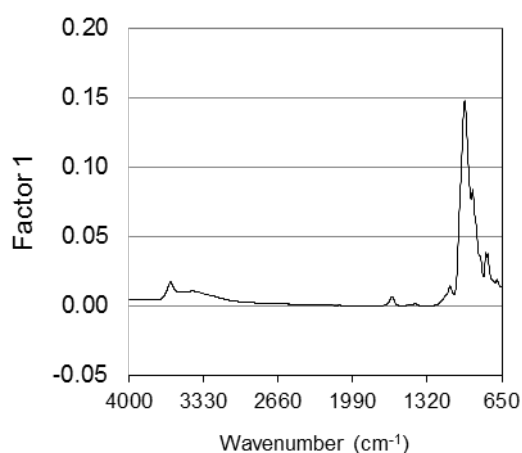
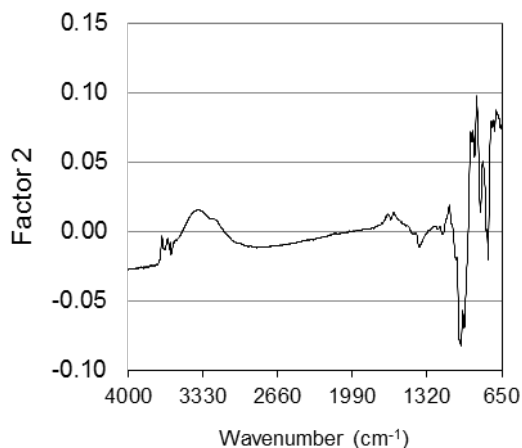
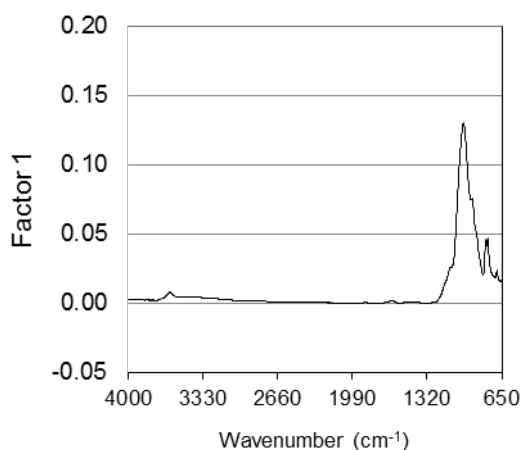


図 43. ベントナイトを用いた PCA におけるローディングベクトル

(2) 加水・乾燥していない試料, Factor 2



(3) 加水・乾燥した試料, Factor 1



(4) 加水・乾燥した試料, Factor 2

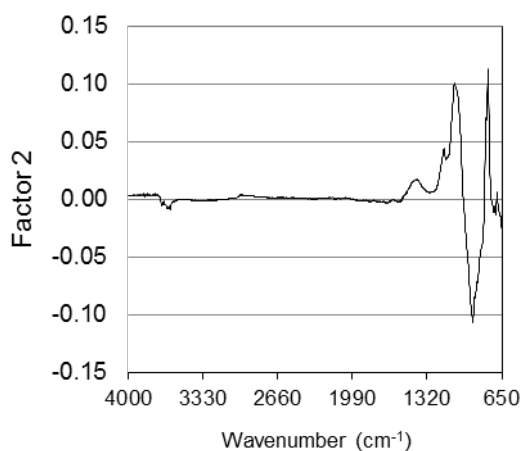


図 43. ベントナイトを用いた PCA におけるローディングベクトル (続き)

従って, 界面活性剤 A と界面活性剤 B 自体は PCA で分離できるものの, 製剤に添加した場合は分離できなくなった. これは, 界面活性剤以外の成分が大きく影響したためと考えられた.

以上のことから, GR_{mnf1} 中の界面活性剤 B の 0.30% と GR_{mnf2} 中の界面活性剤 A の 0.21% を PCA で区別することは不可能といえる.

3.3.2. ベントナイト

ベントナイトの種類・含有率の違いと PCA での分離状況について GR_{mnf1} と GR_{mnf2} を比較すると, 種類と含有率は同じであり PCA でも分離しない, GR_{mnf1} と GR_{mnf3} を比較すると, 種類は異なるものの物理的には同等で含有率も同じであるが PCA では分離する, GR_{mnf2} と GR_{mnf3} を比較すると, 種類は異なるものの物理的には同等で含有率も同じであるが PCA では分離するという結果となった (表 11).

ベントナイトの種類の違いが PCA における分離に影響していることが示唆されたので, ベントナイト A とベントナイト B を用いた PCA を実施した.

前述のとおり, ベントナイトは加水により膨潤するので, 加水・乾燥した試料についても PCA で解析した. その結果, そのままの状態の試料も, 加水・乾燥した試料も, ベントナイト A とベントナイト B は PCA で分離した (図 42). ベントナイトおよび加水・乾燥させた試料を用いた PCA におけるローディングベクトルを図 43 に示す. ローディングベクトルにおける変数のピークは, ベントナイト A (図 22(9)) および B (図 22(11)) のスペクトルのピークと一致しており, この違いが PCA での分離に影響したと考えられた.

しかし, 製剤の物理的・化学的性状に対する影響という観点からみた場合, ベントナイト A とベントナイト B は物理的に同等と考えられるにもかかわらず, PCA では同等ではないと結論されたことから, 製剤の同等性の判断に PCA を利用することは困難と考えられた.

3.3.3 クレー

クレーの種類・含有率の違いと PCA での分離状況について GR_{mnf1} と GR_{mnf2} を比較すると, クレーの種類と含有率は同じであり PCA でも分離しない, GR_{mnf1} と GR_{mnf2} を比較すると, 種類は異なるもの

の物理的には同等で含有率も同じであるが PCA では分離する, GR_{mnf1} と GR_{mnf2} を比較すると, 種類は異なるものの物理的には同等で含有率も同じであるが PCA では分離するという結果となった (表 11).

クレーの種類の違いが PCA における分離に影響していることが示唆されたので, クレーA とクレーB を用いた PCA を実施した.

その結果, クレーA とクレーB は PCA で分離した (図 44). クレーを用いた PCA におけるローディングベクトルを図 45 に示す. ローディングベクトルにおける変数のピークは, クレーA のスペクトルのピーク (図 22 (12)) と一致しており, クレーの種類の違いが分離に影響したと考えられた. 農薬製剤の製造会社から入手したクレーの IR スペクトルから, クレーは珪石系とろう石系の 2 種類に分類できると報告されている¹⁵⁾. 同報告によれば, クレーA はろう石系, クレーB は珪石系であり, この 2 種は PCA で分離可能となる場合があることが示されている.

しかし, ベントナイトと同様, 製剤の物理的・化学的性状に対する影響という観点からみた場合, クレーA とクレーB は物理的に同等と考えられるにもかかわらず, PCA では同等ではないと結論されたことから, 製剤の同等性の判断に PCA を利用することは困難と考えられた.

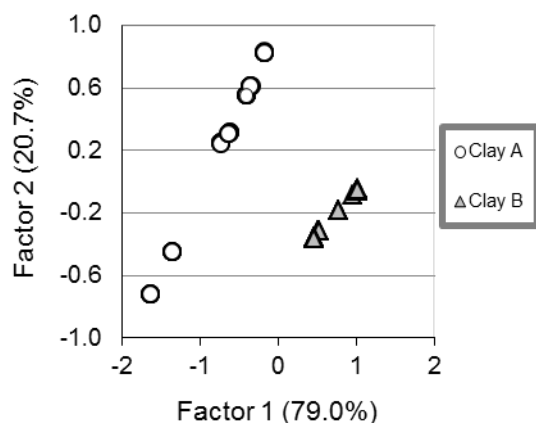
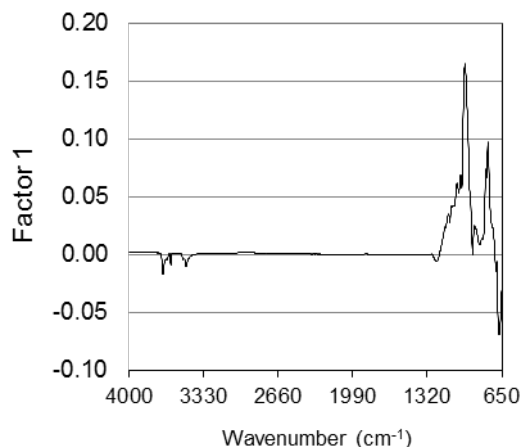


図 44. クレーA とクレーB を用いた PCA におけるスコア・プロット

(1) Factor 1



(2) Factor 2

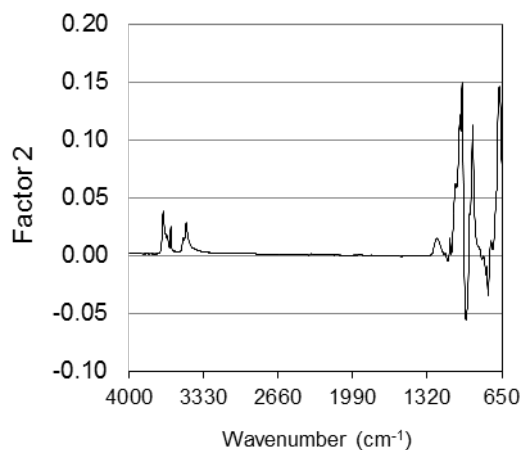


図 45. クレーを用いた PCA におけるローディングベクトル

4. 集取品と見本の同等性の確認

FT-IR/ATR が集取品と見本との同等性の検査に利用できるかどうかを確認するため, 両者を用いた確認を行った.

4.1. 供試農薬

SC2 および SC3 は, いずれも立入検査で集取した製剤 (フロアブル) である. これら 2 剤とも, 立入検査において製造方法が入手できなかったことから, 補助成分に係る検査は省略された.

なお、見本は当該農薬の登録検査時に開封している。SC2_{ref}のうち、登録検査時に開封した見本をSC2_{ref1}、当部において常温で保管してあった見本を新たに開封したものをSC2_{ref2}と表記する。

4.2. IR スペクトル測定

ダイヤモンド ATR エlement 中央部にアルミニウム製スぺーサーを置き、スポイトを用いてスぺーサー内に試料 6 滴を滴下し、IR スペクトルを測定した。測定は、1 試料につき、3 回連続して測定した。これを 10 回繰り返した。バックグラウンドは空気で測定した。SC2 および SC3 の基材は水であることから、SC2 または SC3 のスペクトルから水のスペクトルを差し引いて試料のスペクトルとした。

4.3. 結果

4.3.1. IR スペクトル

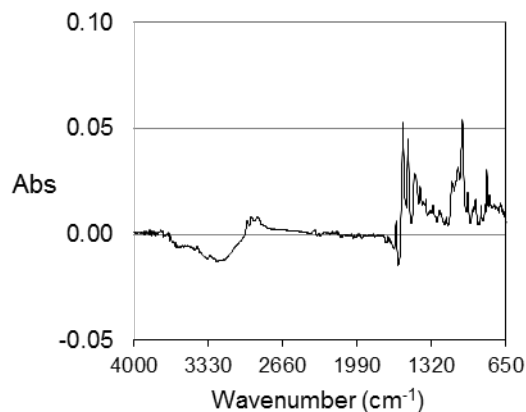
SC2 の見本と集取品の IR スペクトルを図 46 に、SC3 の見本と集取品の IR スペクトルを図 47 にそれぞれ示す。

その結果、SC2_{ref1} と SC2_{ref2} のスペクトルはほとんど同じであり、SC2_{ref2} と SC2_{ref1} の差スペクトルには主要なピークは認められなかった (図 46 (4))。

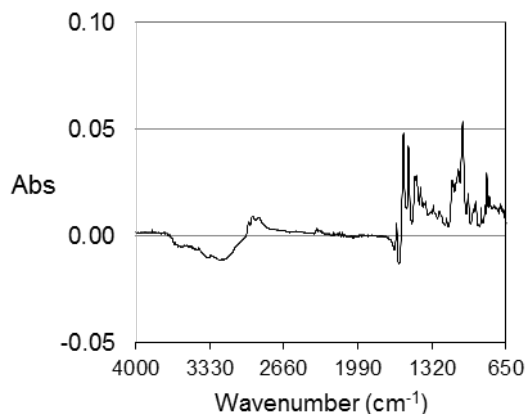
一方、SC2_{mnf} と SC2_{ref1} の差スペクトルには明確なピークが認められたことから、集取品には見本に含まれていない成分が含まれていることが示唆された (図 46 (5))。

また、SC3_{ref} と SC3_{mnf} のスペクトルはほとんど同じであり、SC3_{ref} と SC3_{mnf} の差スペクトルには主要なピークは認められなかった (図 47 (3))。

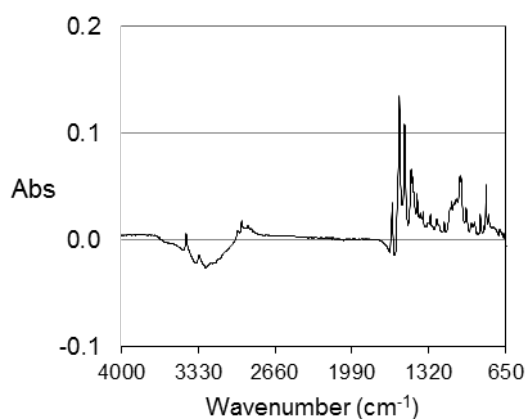
(1) SC2_{ref1} の IR スペクトル



(2) SC2_{ref2} の IR スペクトル



(3) SC2_{mnf} の IR スペクトル



(4) SC2_{ref2} の IR スペクトルから SC2_{ref1} の IR スペクトルを引いた差スペクトル

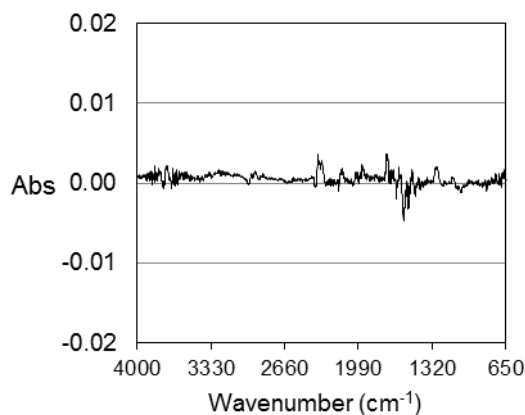


図 46. SC2 の見本と集取品の IR スペクトル

(5) SC2_{mnf}のIRスペクトルからSC2_{ref1}のIRスペクトルを引いた差スペクトル

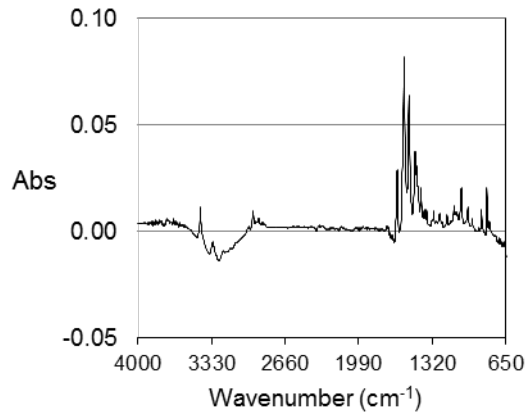


図 46. SC2 の見本と集取品の IR スペクトル (続き)

(3) SC3_{mnf}のIRスペクトルからSC3_{ref}のIRスペクトルを引いた差スペクトル

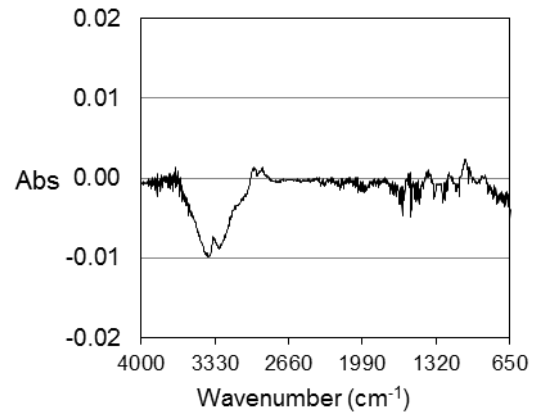
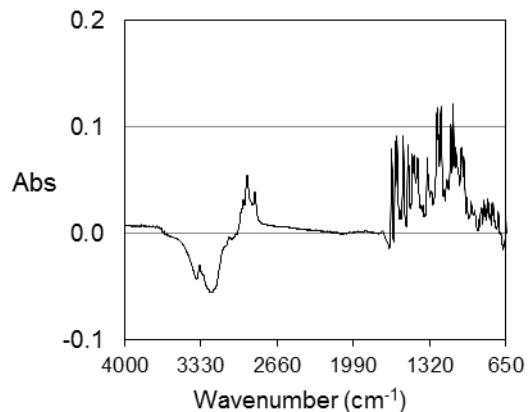


図 47. SC3 の見本と集取品の IR スペクトル (続き)

(1) SC3_{ref}のIRスペクトル



(2) SC3_{mnf}のIRスペクトル

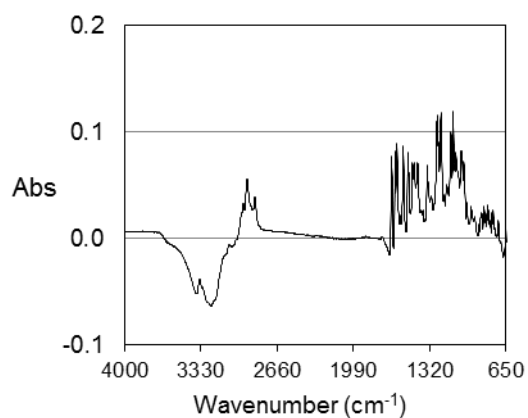


図 47. SC3 の見本と集取品の IR スペクトル

4. 3. 2. 物理的性状

SC2 の物理的性状の測定結果を表 14 に示す。粘度、平均粒径、粒径 50%タイル値は、見本である SC2_{ref1} を 1 とした相対値。

集取品である SC2_{mnf} の物理性は、SC2_{ref1} と異なっていた。

表 14. SC2 の物理的性状の測定結果

	SC2 _{ref1}	SC2 _{mnf}
色調	2.5Y	6.0GY
粘度*	1.00	0.55
平均粒径*	1.00	0.57
粒径 50%タイル値*	1.00	0.42

*:SC2_{ref1} を 1 とした相対値。

4. 3. 3. PCA

4. 3. 3. 1. SC2

SC2 の見本と集取品を用いた PCA を図 48 に示す。

SC2_{ref1} は登録検査に用いるために開封してあったので、経時変化の可能性が考えられたため、開封品の SC2_{ref1} と未開封品の SC2_{ref2} を用いた PCA を行った。その結果、両者は分離しなかったことおよび 4. 3. 1 で述べたように両者の IR スペクトルはほとんど同じであったことから、開封の有無による経時変化の違いは確認されなかった。

(1) 見本と集取品

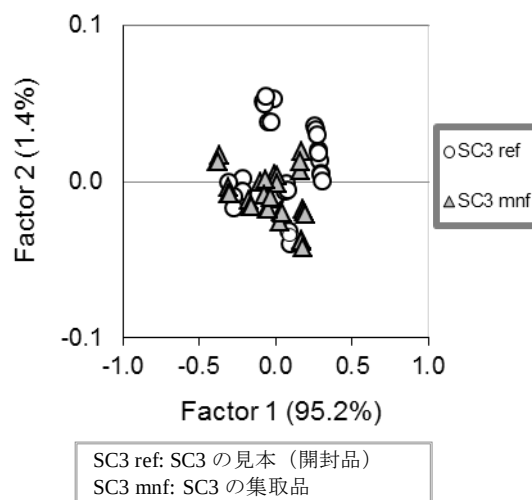
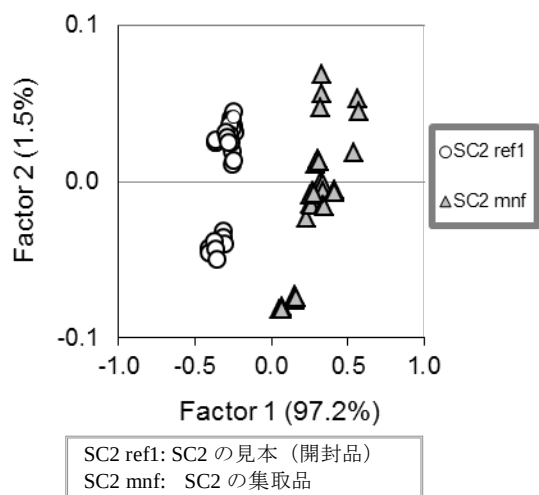


図 49. SC3 の見本と集取品を用いた PCA におけるスコア・プロット

(2) 見本の開封品と未開封品

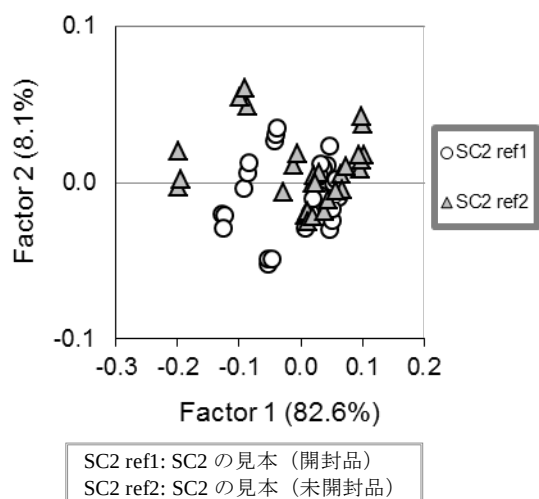


図 48. SC2 の見本と集取品を用いた PCA におけるスコア・プロット

4. 3. 1, 4. 3. 2 および 4. 3. 3. 1. の結果から、見本 SC2_{ref1} と集取品 SC2_{mnf} の組成が異なることが示唆された。

そこで、当該農薬登録申請者に SC2_{mnf} の処方を確認したところ、一部の補助成分の種類および含有率が見本の製造に用いられた処方と異なっていたことが確認された。

4. 3. 3. 2. SC3

SC3 の見本と集取品を用いた PCA を図 49 に示す。その結果、見本 SC3_{ref} と集取品 SC3_{mnf} は PCA で分離しなかったことから、両者は同等であることが示唆された。

4. 3. 4. PCA に必要な測定回数

PCA において分離しなかった試料(SC2_{ref1} と SC2_{ref2} および SC3_{ref} と SC3_{mnf}) を用いて、同等であることを確認するために必要な試料の IR スペクトルの測定回数を検討した。

試料の積算回数ごとのスコア・プロットについて、SC2 を図 50, SC3 を図 51 に示す。

その結果、SC2 および SC3 とも、2 回目の測定までは PCA で分離したが、3 回目よりも多い測定回数では分離しなくなった。なお、それぞれの測定の間隔は 1 時間以上空けている。

従って、IR スペクトルを用いて PCA で分離できるかどうかを確認するためには、同一試料について少なくとも 3 回は測定する必要があると考えられた。

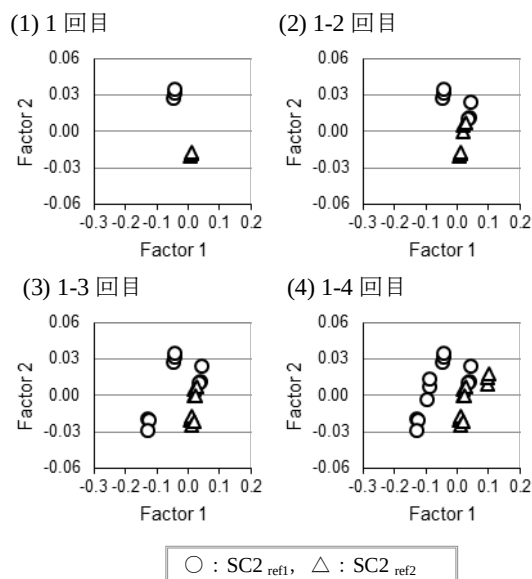


図 50. SC2 を用いた積算回数ごとのスコア・プロット

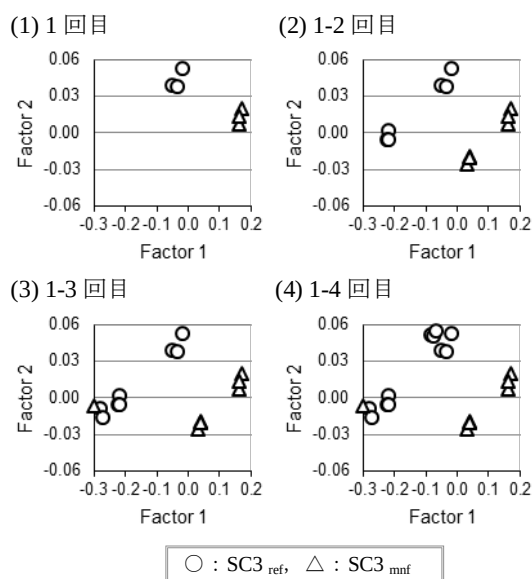


図 51. SC3 を用いた積算回数ごとのスコア・プロット

5. まとめ

IR スペクトル強度の変動要因の調査から、変動が最も少なくなる条件を選定し、見本どおりの処方

で製造された製剤と見本とは異なる処方

で製造された製剤と見本とは異なる処方で製造されたことが確認された。さらに、物理的に同等であるが異なる成分が使用されている場合 PCA で分離したことから、同等性の判断には使えないが、集取品中の補助成分の検査のためのスクリーニングには利用可能と考えられた。

謝 辞

本研究の実施にあたり、農薬の製剤あるいは補助成分の試料は、当該製造会社よりご提供いただきましたので、この場を借りてお礼申し上げます。

なお、試料名および会社名についての個別名称は、企業秘密保護のため、記載を省略させて頂きました。

参考文献

ホームページのアドレスの確認は、2015 年 8 月 3 日に行った。

- 1) 農薬取締法（昭和 23 年 7 月 1 日法律第 82 号），<http://www.acis.famic.go.jp/hourei/hou.pdf>.
- 2) 農林水産消費安全技術センター業務方法書（変更認可：平成 27 年 4 月 1 日付け農林水産省指令 26 消安第 6232 号），http://www.famic.go.jp/public_information/tsusoku/270401gyoumuhouhouyo.pdf.
- 3) 物理性検定法：昭和 35 年 2 月 3 日農林省告示第 71 号
- 4) 農薬取締法第 14 条第 2 項の規定に基づく農薬の検査方法：昭和 50 年 7 月 25 日農林省告示第 750 号
- 5) 「農薬の登録申請書等に添付する資料等について」の運用について（平成 14 年 1 月 10 日付け 13 生産第 3988 号農林水産省生産局生産資材課長通知），<http://www.acis.famic.go.jp/shinsei/3988/3988.pdf>.
- 6) 西澤幸夫，小倉一雄，百弘：農薬検査所報告 29，

- 17-22 (1989), <http://www.acis.famic.go.jp/acis/syohou/syohou29.pdf>
- 7) 西澤幸夫, 廣瀬欣也, 鈴木修: 農薬検査所報告 **31**, 135-140 (1991), <http://www.acis.famic.go.jp/acis/syohou/syohou31.pdf>
- 8) 西澤幸夫: 農薬検査所報告 **32**, 21-25 (1992), <http://www.acis.famic.go.jp/acis/syohou/syohou32.pdf>
- 9) O. Nováková: Work carried out in the Czech Republic, Presentation and posters from the CIPAC-Symposium in Liège, Belgium 2014, http://www.cipac.org/document/presentation_poster/2014/Work%20carried%20out%20in%20the%20CZ%20for%20website-Olga%20Nováková.pdf.
- 10) A. Santilio, Analysis of plant protection product for monitoring programme, Presentation and posters from the CIPAC-Symposium in Liège, Belgium 2014, http://www.cipac.org/document/presentation_poster/2014/CIPAC%20SYMPOSIUM%20SANTILIO%202014.pdf.
- 11) 日本薬局方, 厚生労働省告示第 111 号 (平成 13 年 3 月 30 日)
- 12) 石原悟, 豊留夏紀: 日本農薬学会誌 **37**, 190-195 (2012), https://www.jstage.jst.go.jp/article/jpestics/37/2/37_W12-06/_pdf
- 13) CropLife International (2008): Technical Monograph n°2, 6th Edition, Catalogue of pesticide formulation types and international coding system, <http://croplife.org/wp-content/uploads/2014/05/Technical-Monograph-2-Revised-May-2008.pdf>.
- 14) 株式会社ホーゲン: ベントナイトの膨潤, http://www.hojun.co.jp/54_bou_bentonite.html.
- 15) 石原悟, 豊留夏紀: 農薬調査研究報告 **2**, 19-23 (2011), http://www.acis.famic.go.jp/acis/chouken/chouken/chouken2009_03.pdf

カナダおよびオーストラリアにおける薬効および薬害に関する 要求事項ならびにマイナー使用対策の状況

佐々木千潮, 佐々木詩織

独) 農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

我が国は、農薬取締法（昭和 23 年法律第 82 号）に基づき、農薬登録申請時に当該農薬の薬効および薬害に関する試験成績を求めている。薬効は防除対象となる病害虫が同一であっても、また同じ作物であっても使用する気象条件や栽培環境が異なればその程度が異なる。これは薬害についても同様である。このため、薬効および薬害試験は、農薬の登録申請を行う国で試験が実施され、各国により要求事項が異なっているところである。本稿は、昨年度報告した米国および EU に続き、カナダおよびオーストラリアにおける薬効および薬害の要求事項の確認を行うとともに、マイナー使用対策の動向を把握し、我が国の要求事項の見直しに資する参考情報の提供を目的の一つとして整理を行ったものである。

Keywords：薬効、薬害、例数、マイナー使用、読替

緒 言

農薬の薬効および薬害に関する要求事項は国により異なるものの、農薬のマイナー使用（マイナー作物に対する使用、マイナー病害虫に対する使用）に係る農薬の登録については、使用可能な農薬が少ないことから、多くの国で共通の課題となっている。我が国においてもマイナー使用への対策は重要な課題であり、これまでも現場の要望を踏まえ対応を行ってきたところである。しかし、現場の要望に十分に対応できていない現状に鑑み、今後、対策を検討する上で参考とするために、海外の薬効および薬害に関する要求事項ならびにマイナー使用対策の状況を調査した。調査は、カナダおよびオーストラリアを対象に行った。

1. 薬効・薬害に関する要求事項

1.1. カナダ

1.1.1. 薬効および薬害に関する要求

カナダでは、Pest Control Products Act(PCPA：病害虫管理製品法)に基づき、The Pest Management Regulatory Agency(PMRA：カナダ保健省病害虫管理規制局)が登録に係る審査を行っている。

薬効・薬害試験は規制指令「Efficacy Guidelines for Plant Protection Products」に基づき、農薬の用途毎に以下の試験が要求される（表 1, 表 2）。

表 1. 薬効試験(Efficacy)

農薬の用途	必要例数
殺虫剤	作物と害虫ごとに3例以上 農業、林業用途は2か年にわたり実施
殺菌剤	作物と病害ごとに3例以上
除草剤	草種ごとに2か年にわたり10例以上

表 2. 薬害試験(Crop tolerance)

農薬の用途	必要例数
殺虫剤	規定なし
殺菌剤	規定なし
除草剤	新規有効成分または新たな使用方法 に関して最低2か年にわたり申請薬量 およびその2倍量で10例以上で実施

1.1.2. 読替 (Extrapolation)

規制指令「Efficacy Guidelines for Plant Protection Products」において一部の試験成績の読替を認めている。読替とは、作物、対象病害虫・雑草、使用場面の類似性から、ある作物の試験を利用して他の作物種の薬効、薬害を評価する方法であり、以下は読替の 1 例である（表 3, 表 4）。

表 3. 殺虫剤の事例

害虫種	読替		備考
	From	To	
シンクイガ類	リンゴ	他の仁果類	害虫の生態、被害の種類、宿主の形態、散布方法が大部分の仁果類で類似 リンゴでの当該害虫のデータは全ての仁果類へ読替が可能
コロラドハムシ	バレイショ	他のナス科野菜	ナス科野菜の3作物全てで害虫の生態、被害の種類、宿主の形態、散布方法が類似 バレイショの当該害虫のデータはトマト、ピーマン、ナスなどへ読替が可能

表 4. 殺菌剤の事例

病害種	読替		備考
	From	To	
ほとんどの病害	冬小麦	春小麦	・両方に共通の病害 ・冬穀類はより多くの病害の影響を受ける傾向がある(春穀類から冬穀類への読替の場合は何らかの根拠が必要)
特殊な土壌病害:ピシウム属,フザリウム属,リゾクトニア属,ペニシリウム属	作物グループ(例;穀類,マメ科作物)の代表作物1種	同様の圃場条件で栽培される同じグループの他作物	・種子処理のみの適用 ・属および種間で病原体に対し類似の反応を持つ作物
一般の黒穂病/堅黒穂病	小麦(冬・春)	大麦(冬・春)	・類似した病原体,種子表面への孢子制御
ボトリティス属の病害	代表的な温室の観賞植物	温室の観賞植物	・代表的な作物間で,薬効に一貫性がある場合
褐色腐敗病	代表的な核果類	核果類	・代表的な作物間で,薬効に一貫性がある場合
ある特定の病害	ナタネ	カラシナ	・病害への作物反応が両方で似ている場合.

1.2. オーストラリア

1.2.1. 薬効および薬害に関する要求

オーストラリアでは, Agricultural and Veterinary Chemicals Code Act 1994 (農薬および動物用医薬品規程法)に基づき, Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority (APVMA: オーストラリア農薬・動物用医薬品局)が登録に係る審査を行っている。

薬効・薬害試験は「Pesticides efficacy and crop safety general guideline (Part 8)」に基づき, 農薬の用途毎に以下の試験が要求される。2014年7月より European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO: ヨーロッパ地中海地域植物防疫機関)のガイドラインに準拠する内容に変更された。

薬効試験については新規化合物, 新たなメジャー作物に使用する農薬では少なくとも2か年または2作期にわたり実施された10例以上, 既登録化合物の新製剤, マイナー作物またはマイナー病害虫に適用拡大する農薬では少なくとも3例提出することとされている。薬害試験については新規化合物, 除草剤, 植物成長調節剤, 土壌消毒剤以外は薬効試験において確認することとされている。

2. マイナー使用対策

2.1. カナダ

2.1.1. マイナー使用の定義

販売量がさほど見込めない農薬の使用をマイナー使用と位置づけ, 以下の条件を満たすことが条件となっている。

- ①カナダ国内で登録のある有効成分または製剤であること。
- ②製剤のラベルに登録内容を反映すること。
- ③安全性, 使用方法の有用性を評価できるだけの情報があること。

2.1.2. 使用者によるマイナー使用に関するラベルへの表示要求制度 (User Requested Minor Use Label Expansion (URMULE))

マイナー使用対策の一つとして, 使用者によるマイナー使用に関するラベルへの表示を要求できる制度がある。

本制度は規制指令「User Requested Minor Use Label Expansion (URMULE)」に基づき, カナダ国内に登録のある農薬においてマイナー使用の登録

を行う制度であり、登録手数料は免除されている。

本制度を利用して登録するには該当する農薬の使用を希望する生産者が、使用方法に関する試験成績を添付して州のマイナー使用コーディネーターに申請を行う。申請内容は、PMRA(Pest Management Regulatory Agency)に送られる。また、農薬の製造業者は補助ラベル(Supplemental Label)を作成しPMRAに提出する。審査の結果問題がなければ、補助ラベルに基づいた登録が行われ、当該ラベルの写しがコーディネーター、使用を希望した生産者に送られる。但し、農薬の製造業者の免責事項として、当該登録内容が URMULE により行われたこと、薬効・薬害については保証しない旨を補助ラベルに記載することとなっている。

さらに農薬の製造業者は農薬のラベルにも補助ラベルの内容を記載することとなっている。

具体的には以下の内容がラベルに記載される。

The Directions for use for this product for the use(s) described on this Supplemental Label were developed by persons other than (Company name) and accepted for registration by Health Canada under the User Requested Minor Use Label Expansion program. (Company name) itself makes no representation or warranty with respect to performance (efficacy) or crop tolerance (phytotoxicity) claims for this product when used on the crop(s) listed on this Supplemental Label.

Accordingly, the Buyer and User assume all risks related to performance and crop tolerance arising, and agree to hold (Company name) harmless from any claims based on efficacy or phytotoxicity in connection with the use(s) described on this Supplemental Label.

また、URMULE による薬効試験、薬害試験（表 5）において、カナダの MRL 設定に用いられている作物残留に関するグループ（22 グループ）内の作物については、読替が認められる場合がある（表 6）。

表 5. 要求される薬効試験

農薬の用途	必要例数
殺虫剤、殺菌剤	最低 1 例 (効果が十分でない場合には追加要求)
除草剤	規定なし

表 6. カナダの作物グループ

	グループ名	代表作物
1	根菜類	ニンジン、パレイショ、ダイコン、サトウキビ
2	根菜類の葉	カブ、テンサイ
3	鱗茎類 (Allium 属)	タマネギ
4	葉菜類	レタス、非結球レタス、ホウレンソウ、カラシナ
5	結球アブラナ科 葉菜類	ブロッコリー、カリフラワー、キャベツ
6	豆類	インゲン、エンドウ、ダイズ
7	豆類の葉(家畜用)	豆類に同じ
8	果菜類(ウリ科除く)	トマト、ピーマン
9	果菜類 (ウリ科)	キュウリ、メロン、カボチャ
10	カンキツ類	オレンジ、レモン、グレープフルーツ
11	仁果類	リンゴ、ナシ
12	核果類	オウトウ、モモ、プラム、ブルーベリー
13	小果実、ベリー類	ブラックベリー、ラズベリー、ブルーベリー
14	ナッツ類	アーモンド、ペカン
15	穀類	トウモロコシ、オオムギ、コムギ
16	穀類の茎葉	穀類に同じ
17	飼料用イネ科	バーミューダグラス、ブルーグラス、プロモグラス、フェスク
18	飼料用(イネ科以外)	アルファルファ、クローバ
19	ハーブ、香辛料	バジル、ブラックペッパー、チャイブ、セルリ(種子)、ディル(種子)
20	油糧種子類	ナタネ、ヒマワリ

21	キノコ類	マッシュルーム, シイタケ
22	茎菜類	アスパラガス, セルリー

2.1.3. 使用者によるマイナー使用に関する登録要求制度 (User Requested Minor Use Registration (URMUR))

更なるマイナー使用対策の一つとして、使用者によりマイナー使用に関する登録を要求できる制度もある。

本制度は規制指令「User Requested Minor Use Registration (URMUR)」に基づき、カナダ国内に登録のない農薬においてマイナー使用の登録を行う制度である。

本制度を利用して登録するには以下の条件を満たすことが条件となっている。

- ①生産者に必要とされていること。
- ②カナダ国内で登録はされていないが、OECD 加盟国で登録されている有効成分または農薬で、登録後5年未満のもの。
- ③過去にカナダ国内の審査で登録が保留されたものではないこと。
- ④農薬の製造業者により申請され、OECD 加盟国の評価結果を提供できること。
- ⑤使用する場所や量が特定できること。

該当する農薬の使用を希望する生産者が、必要性を記載した文書にて農薬製造業者に登録を要請する。製造業者は要請の内容が URMUR に適合しているかを確認し、PMRA に申請する。その後、海外の評価および提出された試験成績に基づき審査され、マイナー利用に限定した登録が行われる。ただし、農薬の製造業者の免責事項として、当該登録内容が URMUR により行われたこと、薬効・薬害については保証しない旨をラベルに記載することとなっている。

具体的には以下の内容がラベルに記載される。

The DIRECTIONS FOR USE for this product for the use(s) described on the label were developed by persons other than (Company Name) and accepted for registration by Health Canada under the User Requested Minor Use Registration program. (Company Name) itself makes no representation or warranty with respect to performance (efficacy) and/or crop tolerance (phytotoxicity) claims for this product when used in accordance with this label.

Accordingly, the user assumes risk of damage or loss resulting from such use(s), and agrees to hold (Company Name) harmless from any claims based on efficacy and/or phytotoxicity in connection with the use(s) described on this supplementary label.

2.2. オーストラリア

2.2.1. マイナー使用の定義

経済的に重要度が低い作物またはメジャー作物に発生する重要でない病虫害防除のための農薬使用とされ、下の基準を満たすものが該当する。

①マイナー作物である場合

生産量、栽培面積、消費量、重要性、輸出量を考慮して決められる。

②メジャー作物であるが使用が限定的である場合

申請者は当該作物での使用が以下の基準に適合することを立証しなければならない。

「当該作物の年間の国内栽培面積 10%または10,000ha を超えない範囲での使用でどちらか少ない方」

③登録に要する費用に見合うだけの収入が得られない場合

申請者は、データを作成、解析する費用、ラベルを変更する費用、申請費用等の登録に要する費用と生産費用、利益、販売見込み量等の収益に関するデータにより、採算がとれないことを証明しなければならない。また、マイナー作物は、メジャー作物以外と定義されている。具体的なメジャー作物は以下のとおり（表7）。

表7. オーストラリアにおけるメジャー作物

穀類	大麦, トウモロコシ, エン麦, 稲, ソルガム, 小麦, サトウキビ
カンキツ	オレンジ, マンダリン
仁果類	リンゴ, ナシ
核果類	アプリコット, プラム, モモ, ネクタリン, オウトウ
ベリー類その他の小粒果実	ブドウ, イチゴ
熱帯系果実	アボガド, バナナ, マンゴー, パイナップル
鱗茎野菜	タマネギ

アブラナ科野菜	ブロッコリー、キャベツ、カリフラワ ー
果菜類(ウリ科)	メロン、カボチャ
果菜類(ウリ科 以外)	トウガラシ、トマト、マッシュルーム
葉菜類	レタス
マメ類	インゲン、ヒヨコマメ、エンドウ、グ リンピース、ルピナス
塊茎類	ニンジン、パレイショ
茎野菜	アスパラガス
ナッツ類	アーモンド、マカダミアナッツ
油糧種子類	ワタ、ナタネ、ヒマワリ

2.2.2. マイナー使用許可 (Minor Use Permit)

マイナー使用の場合は通常の農薬登録の手続きを経ずに使用できる制度「マイナー使用許可 (Minor use permit)」があり、その情報は製剤のラベルには記載されず、APVMA のホームページ (The APVMA Permits Search) に掲載される。

マイナー使用許可の申請にあたっては通常の登録申請に必要な情報 (製品の名称、有効成分、適用作物、適用病害虫名、使用方法、使用回数等) の他、マイナー使用許可の必要性、使用期間、使用地域について提出しなければならない。

① 既登録農薬の場合

上記の情報に加えて、既登録の使用法と類似しているか否か (類似していなければ申請の使用法による人や環境へのリスクへの説明)、薬効試験・薬害試験の詳細、他国での登録状況等を提出する。

② 未登録農薬の場合

上記の情報に加えて、他国での登録状況、輸入される場合はその詳細、製品の販売者・製造者の情報、製品の容器に関する情報、製品の有効期限、製品の保管条件等を提出する。

2.3. マイナー使用における読替 (Extrapolation for Minor Use)

昨年度の調査研究において制度の概要について調査し、本年度においては読替事例を調査した。EPPO のガイドライン (PP1/257(1) Efficacy and crop safety extrapolations for minor uses) では対象病害虫・雑草の読替※および作物の読替※が定められて

いる。読替が認められるのは同一の EPPO 地域内、あるいは、地域が異なる場合でも、気象条件などが同等とみなせる場合で、使用方法 (薬量や使用時期等) が同等である場合である。ある作物を読替により登録する場合、当該作物が含まれるグループの代表作物 (Indicator Crop) で実施した試験が利用できる。ただし、グループ内のいくつかの作物で試験を行うことが望ましいとされている。さらに、同一病害虫・雑草に対する他作物の試験成績を根拠に代表作物で必要とされる試験例数は軽減することができる。現在、読替が適用される作物グループは以下のとおり定められている。

アブラナ科野菜、ナス科野菜、ウリ科野菜、Allium 属、葉菜類、仁果類、核果類、ナッツ類、花き球根類、ベリー類、セリ科、エンドウ属、ソラマメ属、インゲン属、春穀類、冬穀類

※：読替 (extrapolation)

作物、対象病害虫・雑草、使用場面の類似性からある作物の試験を利用して他の作物の薬効・薬害を評価。

2.3.1. 薬効試験

以下は薬効試験の読替事例の一部であり、メジャー作物である代表作物の試験成績によりマイナー作物の試験成績を読み替える (表 8, 9, 10)。

表 8. 殺虫剤の事例

適用害虫種	代表作物	読替作物
ダイコンアブラムシ	チリメンキャベツ、芽キャベツ	アブラナ科野菜 (非結球、花蕾、結球、根)
モモアカアブラムシ		
ニセダイコンアブラムシ		
コナガ	アブラナ科野菜	アブラナ科野菜 (非結球、花蕾、結球、根)
ヨトウガ		
オオモンシロチョウ、モンシロチョウ		
モモアカアブラムシ	トマト	ナス、ピーマン
オオタバコガ	トマト	ナス、ピーマン
タバココナジラミ	メロンまたはキュウリ	ウリ科野菜
ネギアザミウマ	タマネギまたはリーキ	ニンニク、エシヤロット、リーキ、タマネギ
ネギアザミウマ、ミカンキイロアザ	レタス	キク科葉菜類、アブラナ科葉菜類、アカザ科

ミウマ		葉菜類（特にエンダイブ、チコリ、ルッコラ）、イタリアンコーンサラダ
リンゴハダニ	リンゴ	核果類および仁果類
ナミハダニ		
ニセククロパー ビラハダニ		
リンゴハダニ	モモ	核果類および仁果類
ナミハダニ		
ニセククロパー ビラハダニ		
チューリップサビ ダニ	チューリップ	全ての花き類 (球根、塊茎)

表 9. 殺菌剤の事例

適用病害種	代表作物	読替作物
べと病（ハクサイ・カブ・キャベツ・ブロッコリー・ダイコン）(<i>Peronospora parasitica</i>)	アブラナ科野菜（結球）	アブラナ科野菜（非結球）
根こぶ病（ハクサイ・キャベツ・カリフラワー・ダイコン）(<i>Plasmodiophora brassicae</i>)	アブラナ科野菜（結球）またはアブラナ科野菜（非結球）	アブラナ科野菜（非結球、花蕾）
灰色かび病（トマト・ナス・ピーマン・トウガラシ）(<i>Botrytis cinerea</i>)	トマト	ナス、ピーマン、トウガラシ
疫病（トマト・ナス）(<i>Phytophthora infestans</i>)	トマト	ナス
べと病（メロン・キュウリ）(<i>Pseudoperonospora cubensis</i>)	キュウリまたはメロン	ウリ科野菜
タマネギ黒斑病 (<i>Alternaria porri</i>)	リーキまたはタマネギ	ニンニク、エシヤロット、チャイブ
リンゴ黒星病 (<i>Venturia inaequalis</i>) (<i>Venturia pyrina</i>)	リンゴ	仁果類
<i>Taphrina</i> 属(主として モモ縮葉病 (<i>T. deformans</i>))	モモまたはネクタリンまたはスモモ	近縁の核果類

表 10. 除草剤の事例

代表作物	読替作物
堅果類	堅果類
セリ科作物	セリ科作物
エンドウマメ属 または	エンドウマメ属、インゲ

ソラマメ属(ソラマメを除く)	ソラマメ属 ソラマメ属
インゲンマメ属	インゲンマメ属、ソラマメ
穀類（春播栽培）	穀類（春播栽培）
湛水直播水稻	乾田直播水稻
穀類（秋播栽培）	穀類（秋播栽培）

2.3.2 薬害試験

以下は薬害試験の読替事例の一部であり、メジャー作物である代表作物の試験成績によりマイナー作物の試験成績を読み替える（表 11, 12）。

表 11. 殺虫剤・殺菌剤の事例

使用方法	代表作物	読替作物
葉面処理	リンゴおよびナシ	全ての仁果類
葉面処理	モモ、スモモ、オウトウ	全ての核果類
種子処理	カリフラワー	アブラナ科野菜（非結球、花蕾、結球、根）
土壌処理	全てのアブラナ科野菜	
葉面処理（結球前）	ハクサイ	
葉面処理（結球後）	ハクサイおよびブロッコリーまたはカリフラワー	

表 12. 除草剤の事例

分類	代表作物	読替作物
広域スペクトル除草剤	仁果類、リンゴまたは西洋ナシが望ましい	他の仁果類
イネ科雑草用除草剤	仁果類	他の仁果類
イネ科雑草用除草剤	核果類	他の核果類
広域スペクトル除草剤	カリフラワーまたはブロッコリーまたはハクサイ	アブラナ科野菜（非結球、花蕾、結球）
	アブラナ科野菜（根）	アブラナ科野菜（根）
イネ科雑草用除草剤	アブラナ科野菜	アブラナ科野菜（非結球、花蕾、結球、根）
広葉雑草用除草剤	ソラマメ	ソラマメ属
イネ科雑草用除草剤	豆類	豆類
広葉雑草用除草剤	パースニップまたはコリアンダー	セリ科作物

イネ科雑草用除草剤	セリ科作物	セリ科作物
-----------	-------	-------

3. 各国要求事項のまとめ

カナダでは、薬効試験については、2か年にわたり実施された試験が要求され、要求される試験例数は除草剤の方が殺虫剤、殺菌剤より多くなっている。薬害試験については、殺虫剤、殺菌剤では、原則要求していない。除草剤については、2か年にわたり実施した試験を要求している。

オーストラリアでは、薬効試験については新規化合物、新たなメジャー作物に使用する農薬では少なくとも2か年または2作期にわたり実施された10例以上、既登録化合物の新製剤、マイナー作物またはマイナー病害虫に適用拡大する農薬では少なくとも3例提出することとされている。薬害試験については新規化合物、除草剤、植物成長調節剤、土壌消毒剤以外は薬効試験において確認することとされている。

また、マイナー使用に関して、いずれの国も何らかの対策を講じている。

カナダでは URMULE や URMUR といった制度によってマイナー使用を農薬登録に反映させる仕組みが用意されている。薬効および薬害の保証はなくラベルにその旨を記載することや申請手数料の免除により、農薬メーカーや使用者への負担軽減が図られている。

オーストラリアでは、通常の登録とは異なる手続き「Minor Use Permit」で使用が承認される仕組みがある。これらは国内の登録農薬だけでなく国外の登録農薬にも適用されており、農薬のラベルに表示しなくても使用できるが、薬効および薬害の保証はなく使用者の責任で使用されることとなる。

これら各国の状況に加え、昨年度報告した米国、EU およびわが国の状況も含めた要求事項の比較表を以下に掲載する（表13）。

表 13. 米国、EU（EPPO）、カナダ、オーストラリア、日本における薬効と薬害に関する要求事項の比較

		米国	EU（EPPO）	カナダ	オーストラリア	日本
薬効	メジャー作物	要求なし※ a	10 例（2 か年）	殺虫剤・殺菌剤：3 例 除草剤：10 例	10 例(2 か年)	6 例（2 か年）
	マイナー使用		3 例	殺虫剤・殺菌剤：最低 1 例 除草剤：－	3 例	殺虫剤・殺菌剤：2 例 除草剤：3 例
薬害	－	要求なし※ a	殺虫剤・殺菌剤：－※ 除草剤：8 例（申請薬量※b、2 倍薬量、2 か年）	殺虫剤・殺菌剤：－ 除草剤：10 例	新規化合物、除草剤、植物成長調節剤、土壌消毒剤以外は薬効試験において確認	2 例（申請薬量※b、2 倍薬量）
マイナー使用対策※c		IR-4	Off-Label, 読替	URMULE, URMUR, 読替	Minor Use Permit	作物のグループ化

※a：農薬ラベル作成のために申請者の責任において実施。

※b：薬効試験実施時に薬害を確認。※c：EU では加盟国により異なる。

おわりに

我が国では、平成 15 年の農薬取締法改正により、農薬を使用する者が遵守すべき基準を定める省令（平成 15 年農林水産省・環境省令第 5 号）（農薬使用基準）が制定され、登録内容を守って使用することが義務付けられた。これにより、マイナー使用できる農薬の増加が一段と現場から求められるようになった。現状でも使用できる作物をグループ化して登録を行う仕組みは存在するが、十分とは言えない。

い。

本稿は、今後のマイナー使用対策の検討に資することを目的として、昨年度報告した米国、EU に加え、カナダおよびオーストラリアにおける薬効および薬害に関する要求事項ならびにマイナー使用対策について調査を行い、その概要を取りまとめたものである。本稿が、今後の我が国におけるマイナー使用対策の検討に少しでも貢献することを期待する。

参考文献

カナダ

- 1) Pest Control Products Act (PCPA)
- 2) Pesticide Residue Compensation Act (PRCA)
- 3) Food and Drugs Act (FDA)
- 4) Regulatory Directive DIR2003-04 : Efficacy Guideline for Plant Protection Products
- 5) Regulatory Directive DIR2001-01 : User Requested Minor Use Label Expansion
- 6) Regulatory Directive DIR99-05 : User Requested Minor Use Registration

オーストラリア

- 1) Agricultural and Veterinary Chemicals (Administration) Act 1992
- 2) Agricultural and Veterinary Chemicals Act 1994
- 3) Agricultural and Veterinary Chemicals Code Act 1994
- 4) Agricultural and Veterinary Chemicals (Administration) Regulations 1995
- 5) Agricultural and Veterinary Chemicals Regulations 1999
- 6) Agricultural and Veterinary Chemicals Code Regulations 1995
- 7) Pesticides efficacy and crop safety general guideline(Part8)
- 8) Agricultural Manual of Requirements and Guideline
- 9) Guide for Determining Minor Uses
- 10) Agricultural and Veterinary Chemicals Code (Efficacy Criteria) Determination 2014
- 11) Agricultural and Veterinary Chemicals Code (Application Requirements) Instrument 2014

EU

- 1) EC Regulation 1107/2009 (EC, 2009)
- 2) Guideline on comparability, extrapolation, group tolerance and data requirement for setting MRLs
- 3) Guidance Document on Voluntary Mutual Recognition of Minor Use Authorizations
- 4) PP1/241 Guidance on comparable climates
- 5) PP1/224(1) Principles of efficacy evaluation for minor uses
- 6) PP1/257(1) Efficacy and crop safety extrapolations for minor uses
- 7) PP1/226(2) Number of efficacy trials

農薬の作物残留濃度に大きな影響を与える初期付着量および作物生長に関する研究の状況について

末永和也¹，坂部亮介²，松野倫也¹，池田淳一¹，早川泰弘³

¹独）農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

²農林水産省横浜植物防疫所業務部

³元 独）農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

消費者は、作物に散布された農薬を作物中の残留農薬という形で摂取している。消費者が消費する農作物にどの程度の農薬が残留しているのかを知ることは、残留農薬によるヒトへのリスクを管理する上で非常に重要である。平成 25 年度に実施した文献調査から、散布された農薬の作物への初期付着量および作物の生長速度の 2 つが作物における農薬残留濃度に大きな影響をおよぼすことが分かった。そこで平成 26 年度は、これら 2 つの事項について文献調査を実施した。関連する 14 文献（作物における農薬の初期付着量に関する国内文献 1 報、海外文献 3 報、作物生長に関する国内文献 10 報）を収集し、調査対象項目に関する研究の進展状況を取りまとめた。一部の農薬と作物の組み合わせでは、この 2 つの情報から作物中の残留濃度の経時変化をある程度予測できる事例が報告されており、今後の研究に期待されるところであるが、作物における農薬の残留濃度は、個別農薬の特性、作物の種類・品種、気候、施設・露地等の生育環境等に大きく影響を受けることから、現時点における残留農薬濃度の予測可能範囲は限定的なものに留まると理解された。

Keywords：作物残留濃度，初期付着量，作物生長

緒 言

収穫時に作物に残留している農薬の濃度の把握は、ヒトへの農薬のリスク管理のために非常に重要である。そのため、農薬の登録申請時には、作物残留試験成績の提出が必須となっており、その結果を基に作物中の残留農薬基準とともに農薬の使用方法が定められる。作物における農薬の残留程度やその経時変化をある程度予測

できれば、効率的な作物残留試験の実施等に資することができる。

平成 25 年度の調査研究として、農薬の作物残留濃度推定モデルに関する文献 17 報（海外文献 11 報、国内文献 6 報）を収集し調査したところ、多くの文献にお

いて、農薬の作物残留濃度に大きな影響を与えるのは作物における農薬の初期付着量と作物の生長速度との結論になっていた。

平成 26 年度の調査研究として、初期付着量および作物生長に関する文献を収集し内容を調査したので報告する。

調査内容

作物への農薬の初期付着量の推定・測定に関係する 4 報（国内文献 1 報、海外文献 3 報）および作物生長、重量変化の推定・測定に関係する国内文献 10 報を収集し（表 1）、それらの内容について、研究の目的、推定方法、推定式の特徴等について分類・整理を行った。

表 1. 調査対象文献一覧

文献番号	著者	タイトル	雑誌名等	区分	分類*
1	藤田俊一ら	農薬残留推定モデルによるマイナー作物の残留性評価	植物防疫	初期付着量 (国内)	実測データ
2	Maclachlan ら	A new tool for the evaluation of crop residue trial data (day-zero-plus decline)	Food Additives and Contaminants	初期付着量 (海外)	
3	Holland ら	Modelling of pesticide residues on fruit II: persimmon	Plant Protec. Conf.		実際の試験 を行わずに 得られるデ ータ
4	Linders ら	Foliar interception and retention values after pesticide application. A proposal for standardized values for environmental risk assessment	IUPAC, Pure Appl. Chem.		

5	田中修作ら	果径測定によるハウスメロンの果実肥大生長予測	熊本県農業研究センター研究報告	作物生長 (国内)	果実成長率
6	大矢武志ら	カラーピーマン（パプリカ）の品種と生理生態的特性	神奈川県農業総合研究所研究報告		重量
7	長崎県	施設軟弱野菜	諫早湾干拓初期営農技術対策の指針		
8	小林雅昭	秋作メロン後作ミズナの生育・収量予測と作付計画及び経営規模決定プログラムへの応用	(研究成果報告) 長崎県農林技術開発センター		
9	武田悟ら	気温から予測するキャベツの収穫重量	東北農業研究		体積
10	杉浦俊彦	ニホンナシの気象生態反応の解析と生育予測モデルの開発	京大学学位論文		
11	田中実ら	長崎県におけるニホンナシ‘辛水’および‘豊水’の生育予測	長崎果樹試研報		
12	大谷義夫	気象生態反応に基づくニホンナシの収穫期、果実肥大、果実生理障害予測	栃木農研報		
13	田附明夫ら	着果状態におけるキュウリ果実の体積推定と生長解析	園学雑		生長曲線
14	森下昌三	イチゴの基礎知識	誠文堂新光社		

* 初期付着量に関する文献は推定方法による分類，作物生長に関する文献は推定対象による分類

調査結果

1. 初期付着量の推定に関する文献（文献1-4）

各文献を調査した結果、実際の試験により得られた個別データを基礎とする推定法が2種類（文献1,2）、実際の試験による個別データを用いずに経験則等を基礎とする推定法が2種類（文献2,3）という結果であった。実測データを基礎とした推定法としては、付着試験を用いる推定法（文献1）もしくは作物残留試験結果を用いた推定法（文献2）があり、実際の試験による個別データを用いずに推定する方法としては、可食部への付着率による推定法（文献2）もしくは作物の単位表面積当たりの付着量による推定法（文献2,3）を用いていた。なお、文献1-3については平成25年度の調査研究において調査した文献と同じものであるが、初期付着量の推定方法に関する観点から内容を再度詳しく調査を行っている。

1.1. 実測データを用いる推定（文献1,2）

1.1.1. 付着試験による推定法（文献1）

本文献では、実際の作物に水を付着させる試験を行って得た、作物への水の付着量の実測データを基に作物への農薬散布液の初期付着量を推定している。果実類（果菜類を含む）と葉菜類とは異なる試験方法を用いている。

果実類では果実を水に浸漬し、浸漬前後の重量差を求め、その結果を農薬散布液の付着量と仮定し、さらにその推定付着量の果実重量に対する割合から初期付着率を求めている。果実類（果樹29作物、果菜11作物）について実施した付着試験の結果、同一作物であ

っても品種によって付着率が異なり、同一品種の果実であっても肥大生長の程度によって付着率が変化する場合も見られたが、作物間の付着率の序列は経験的に認識されている残留傾向とおおむね一致しており、ある程度の推定が可能と考えられた。また、実際の農薬散布では浸漬試験で得られる付着率よりも低い付着率に留まると仮定し、補正係数0.8を用いて補正している。

一方、葉菜類においては繁茂形状が複雑であるため、茎葉ごとのばらつきが大きく、果実類で用いた浸漬法は適用できなかった。このため、葉菜類では円形ろ紙への付着量を基本として、各葉菜類への付着量を相対化する方法を考案し、各葉菜での残留濃度を推定している。具体的には、葉菜類25作物を供試し、円形ろ紙および各作物からそれと同型に切り出した作物葉片に対して同一条件で水を噴霧し、噴霧前後の重量差からろ紙および作物葉片への付着量を求め、ろ紙への付着量を1としたときの作物葉片への付着量の比率を百分率として求めた。本文献では、この作物毎に求めた付着量の比率をパラメーターの一つとして用いる残留濃度推定モデル式を構築している。

葉菜類25作物について実施した付着試験の結果は、農薬散布が想定される生育中期から後期において、品種間の比率の差は果実類の場合よりも小さいことを示していた。

1.1.2. 作物残留試験を用いた推定法（文献2）

本文献では、実際の作物残留試験データから導いた散布量と残留量の関係から初期付着量を初期付着濃度 C_0 として算出している。

具体的な推定方法として、1993～2007年までに JMPR で評価された残留試験データから、残留性の観点から同等とみなせる剤型、収穫前日数が14日以内（ほとんどの作物が該当）または7日以内（成育の早い作物）で、散布後0日(day-zero)のデータ C_0 を約2,600例求め、それらのデータについて、有効成分投下量が異なるためによって生ずる初期付着濃度の差を標準化するために、散布後0日のデータを有効成分投下量として1 kg/ha の濃度 $C_{0,norm}$ に標準化し、作物ごとに $C_{0,norm}$ の中央値、90 パーセンタイル値および95 パーセンタイル値を算出している。

1.2. 実測データを直接用いない推定（文献2,3）

1.2.1. 作物体への付着割合を用いた推定法（文献2）

本文献では、十分な作物残留試験データがない作物について、初期付着濃度 C_0 を計算によって推定する方法を紹介している。

散布された農薬散布液のうち作物の可食部表面に付着する割合から付着量を推定しており、パラメータとして散布量、作物の収量、可食部の表面積、付着割合などを用いている。

$$C_0 = \frac{D \times 1000 \times f_{int} \times f_{commodity}}{Y_{commodity}}$$

D : 有効成分投下量(kg/ha)

f_{int} : 作物体への付着割合

$f_{commodity}$: 作物体に占める可食部の
表面積の割合

$Y_{commodity}$: 可食部の単位面積当たり
の収量(t/ha)

f_{int} は作物の品種、作物密度および生育段階による関数であり、 $f_{int} + f_{drift} + f_{soil} = 1$ (f_{drift} : 農薬散布における飛散割合、 f_{soil} : 土壌への付着割合) で表される。リンゴについては表2のとおり、2000年にLindersらによって具体的な数値が報告されている（文献4）。

$f_{commodity}$ は、可食部の表面積／作物全体の表面積で表され、オレンジ等の果樹の場合は樹木に占める果実の表面積の割合、葉菜類の場合は作物全体が可食部であるため $f_{commodity} = 1$ となる。

表2. リンゴの f_{int} , f_{drift} , f_{soil} の数値例

生育段階	f_{int}	f_{drift}	f_{soil}
春	0.4	0.1	0.5
茎葉展開期	0.7	0.1	0.2

1.2.2. 作物の単位表面積当たりの付着量を用いた推定法（文献2,3）

文献3では、果実であるかきに有効成分投下量1 kg a.i./ha の農薬を散布した際の、果実の単位表面積当たりの付着量（Constant deposit）を経験則から $2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ と推定し、以下の推定式から農薬散布時の農薬付着量 $D(t_1)$ を算出している。

$$D(t_1) = 2 \times W \times A(t_1)$$

t_1 : 農薬散布日

W : 有効成分投下量[kg a.i./ha]

$A(t_1)$: 散布日 t_1 における果実の表面積[cm^2]

【実測値】

文献2では、文献3で用いられた付着量の推定式を他の果実へ外挿するため、かき果実の単位表面積当たりの付着量から、他作物の果実における単位表面積当たりの付着量を以下の推定式から算出している。

Constant deposit =

$$2 \mu\text{g cm}^{-2} \times \frac{f_{int,x}}{f_{int,persimmon}} \times \frac{\text{LAI}_x}{\text{LAI}_{persimmon}}$$

$f_{int,x}$: 作物 x における付着割合

$f_{int,persimmon}$: かきにおける付着割合

（文献では0.8）

LAI (Leaf Area Index) :

地表面積に占める作物の葉の上側の表面積
の割合（ほ場被覆割合）

LAI_x : 作物 x のほ場被覆割合

$\text{LAI}_{persimmon}$: かきのほ場被覆割合

（文献では2.5）

文献1の推定法により導き出された散布後0日における残留濃度および実測値からの乖離度（推定値/実測値）を表3に、文献2に示されている作物ごとの実測値および各推定法によって導き出された初期付着濃度の一部を表4に示した。

1.3. まとめ

初期付着量の推定に関する文献を調査した結果、付着試験による初期付着率の推定法、既存の作物残留試験を用いた初期付着濃度の推定法、作物体への付着割合もしくは作物の単位表面積当たりの付着量を用いた推定法があり、これらの知見等からある程度の推定が可能であることが示されていた。しかしながら、表3および表4のとおり各推定法によって導き出される散布後0日における推定残留濃度や初期付着濃度にはそ

れなりの差があり，残留試験の実測値に近似する

ための推定法も作物によって異なっていた．

表 3. 文献 1 の推定法により導出される散布後 0 日における残留濃度

作物名	例数	散布後 0 日における残留濃度(mg/kg)		
		実測残留濃度	推定残留濃度* (1.1.1 項)	乖離度 (推定残留濃度 / 実測残留濃度)
うめ	1	6.86	8.66	1.4
	1	1.97	1.28	0.8
	1	9.78	6.96	0.5
りんご	1	1.16	0.76	0.7
	1	0.22	0.19	0.9
	1	1.34	0.88	0.6
こまつな	1	20.4	24.6	1.2
	1	4.04	4.63	1.0
しゅんぎく	1	12.9	17.4	1.4
	1	2.52	3.70	1.5

*：付着率を基に散布 0 日後の残留濃度を推定

表 4. 文献 2 の各推定法により導出される初期付着濃度

作物名	例数	JMPR で評価された散布後 0 日における残留試験データ (実測値, mg/kg)		作物における初期付着濃度(mg/kg)		
		最小値－最大値	平均値	作物残留試験データを用いた推定法 (90%タイル値) (1.1.2 項)	作物体への付着割合を用いた推定法 (1.2.1 項)	単位表面積当たりの付着量による推定法 (1.2.2 項)
レモン	31	0.1－4.67	0.85	1.1	1.3	1.4
オレンジ	130	0.02－8.2	0.86	1.6	0.84	0.89
リンゴ	184	0.07－8.8	1.28	2.6	1.9	2.0
モモ	91	0.19－8.33	1.98	4.0	1.6	1.6
イチゴ	59	0.12－56.7	4.79	6.0	4.2	2.8
キュウリ	41	0.02－6.01	0.74	0.98	1.0	1.3
メロン	35	0.04－1.38	0.59	0.75	0.79	0.8
トマト	104	0.01－10.5	0.78	1.4	2.0	1.4
ハウレンソウ	13	3.8－173	52.9	89	90	82

2. 作物の生長に関する文献 (文献5-14)

各文献を調査した結果、収穫時の作物重量を推定するにあたり、文献毎に数式化するための観点やパラメーターが異なっていた。そのため、収穫時の作物重量を直接推定していないが、密度等の値が分かれば推定が可能となり得る文献についても調査・整理を行った。数式化するための観点で各文献を整理したところ、交配後の生長指標の測定回数と果実成長率の関係に着目したもの (文献5)、温度等から作物重量を推定したもの (文献6,7,8,9)、日射量・体積の初期値等から日本なしの収穫時の体積を推定したもの (文献10,11,12) もしくは果菜類の周囲長等を経時的に測定した値を用いて作物重量を推定したもの (文献13,14) があった。それぞれの推定式および用いられたパラメーターの概要について取りまとめた。

2.1. 交配後の生長指標の測定回数と果実成長率の関係に着目したもの (文献5)

本文献では、アンデスメロンの交配日 (開花日) から収穫までの果高・果径の推移を調査し数式化したところ、交配27日後以降は一定の傾きを持つ直線になることが明らかにしている。そして、果実成長率についてより客観的に評価するために、交配後25日または30日を起点とした果高・果径の収穫時の長さとの比 (肥大率) の推移を数式化している。

推定のために実施した試験の概要および求められた推定式は以下のとおり。

試験概要

作物名：メロン (n=30) 品種：アンデス
試験場所：熊本県 調査実施年：2000～2003年
露地/施設：施設

推定式

・交配後25日～収穫時

果高 $y = -0.0111x + 1.0757$ ($R^2 = 0.9846$)

果径 $y = -0.0125x + 1.0857$ ($R^2 = 0.9570$)

・交配後30日～収穫時

果高 $y = -0.0100x + 1.060$ ($R^2 = 1.0000$)

果径 $y = -0.0111x + 1.0673$ ($R^2 = 0.9516$)

独立変数 x (回) : 交配後25日または30日からの
果高・果径の測定回数

(5日ごとに測定)

従属変数 y : 果高・果径の収穫時の長さとの比 (肥大率)

($1 \leq x \leq 9$) の調査時の長さとの比 (肥大率)

R^2 : 決定係数

求められた推定式から、アンデスメロンは交配後25日以降に肥大は殆ど起こらないことが示されている。そのため、本文献では収穫1ヶ月前以降にアンデスメ

ロンに農薬を散布した場合、アンデスメロンは果実の生長による残留濃度の希釈が殆どないことを明らかにしている。

しかしながら、上記の推定式は独立変数が測定回数、従属変数が果高または果径の増加率であるため、作物重量の変化については考慮できないため、濃度を直接予測することはできない。また、交配後25日以降の生長についてのみ数式化されており、それよりも早い時期の果実の生長については推定の対象とはなっていない。

2.2. 温度等から作物重量を推定したもの (文献6,7,8,9)

2.2.1. 日数を独立変数、作物重量を従属変数として、作物の収量を予測したもの (文献6)

本文献では、47品種のカラーピーマンについて、開花から完熟までの日数、積算温度、果実重量等を調査し、開花から完熟までの日数と果実重量の関係式を導いている。

推定のために実施した試験の概要および導き出された推定式は以下のとおり。

試験概要

作物名：カラーピーマン (n=10)
品種：ワンダーベル、スピリット、他 (計47種)
試験場所：神奈川県 調査実施年：1998～2000年
露地/施設：施設 (トンネル被覆)

推定式

$$y = 7.560x - 269.579 \quad (r^2 = 0.957)$$

独立変数 x (日) : 開花から完熟までの日数

従属変数 y (g) : 収穫したピーマンの果重

r^2 : 決定係数

本文献では作物重量を計算式で求めるため、農薬残留濃度の推定に利用できる可能性はあるが、独立変数が日数のみであり、気象条件等の環境条件により本式は大きく変化すると考えられる。そのため、本結果はあくまでも本試験を行った際の環境条件に依存した結果である。

2.2.2. は種後日数またはは種後積算温度を独立変数、株当たりの重量またはは m^2 当たりの収量を従属変数として、作物の生長を予測したもの (文献7)

長崎県の収穫期間・作付規模等の予測プログラムに関する研究であり、本文献では、ハウレンソウ・コマツナ・チョウホウナ・チンゲンサイの4作物について、作物収量とは種後日数・積算温度との関係を調査している。

推定のために実施した試験の概要および提案された推定式は以下のとおり。株当たりの重量と m^2 当たり

の収量について、は種後日数またはは種後積算温度との関係式を $2 \times 2 = 4$ 通りの組み合わせとして、それぞれ導き出している。

試験概要

①ホウレンソウ

品種：オーライ 調査実施年：2004～2005年

②コマツナ

品種：楽天 調査実施年：2004～2005年

③チョウホウナ

品種：記載なし 調査実施年：2005～2006年

④チンゲンサイ

品種：長陽 調査実施年：2006～2007年

4作物とも、試験場所：長崎県 露地/施設：施設

推定式

①ホウレンソウ

$$y_1 = -0.0003x_1^2 + 0.4968 \quad (r^2 = 0.7059)$$

$$y_1 = -9 \times 10^{-7}x_2^2 + 0.0409x_2 \quad (r^2 = 0.7050)$$

$$y_2 = -5.4797x_1^2 + 875.76x_1 - 31411 \quad (r^2 = 0.5572)$$

$$y_2 = -0.0453x_2^2 + 85.059x_2 - 36363 \quad (r^2 = 0.5488)$$

②コマツナ

$$y_1 = -0.0012x_1^2 + 0.6885x_1 \quad (r^2 = 0.8611)$$

$$y_1 = -2 \times 10^{-6}x_2^2 + 0.0519x_2 \quad (r^2 = 0.8668)$$

$$y_2 = -0.2598x_1^2 + 78.097x_1 + 6.7741 \quad (r^2 = 0.9338)$$

$$y_2 = -0.0015x_2^2 + 6.2651x_2 + 7.4099 \quad (r^2 = 0.9364)$$

③チョウホウナ

$$y_1 = -0.0154x_1^2 + 2.949x_1 - 79.216 \quad (r^2 = 0.8441)$$

$$y_1 = -8 \times 10^{-5}x_2^2 + 0.2154x_2 - 88.154 \quad (r^2 = 0.8489)$$

$$y_2 = -5.5012x_1^2 + 824.03x_1 - 26454 \quad (r^2 = 0.9276)$$

$$y_2 = -0.0235x_2^2 + 53.472x_2 - 26029 \quad (r^2 = 0.9485)$$

④チンゲンサイ

$$y_1 = -0.0534x_1^2 + 9.7668x_1 - 345.54 \quad (r^2 = 0.9894)$$

$$y_1 = -0.0002x_2^2 + 0.4855x_2 - 257.97 \quad (r^2 = 0.9827)$$

$$y_2 = -1.1059x_1^2 + 247.3x_1 - 9763.9 \quad (r^2 = 0.7596)$$

$$y_2 = -0.0028x_2^2 + 11.475x_2 - 6979.6 \quad (r^2 = 0.7348)$$

独立変数：は種後日数 x_1 (日)

は種後積算温度 x_2 (°C)

従属変数：収穫した作物の株当たりの重量 y_1 (g)

収穫した作物の m^2 当たりの収量 y_2 (g)

r^2 ：決定係数

本文献では独立変数に積算気温のような一般化された変数を用いて作物重量を直接予測しており、農薬残留濃度推定に応用できる可能性がある。

2.2.3. 生育積算温度を独立変数、株当たりの重量を従属変数として、作物の成長を数式化し、作物の生育・収量特性を予測したもの（文献8）

2.2.2.項で紹介した生育・収量予測プログラムに関する研究を、ミズナの生育・収量予測プログラムへ応用

したものである。本文献では、ミズナの生育のは種後日数・積算温度との関係を調査し、株重量と積算温度の関係式を導いている。

推定のために実施した試験の概要および提案された推定式は以下のとおり。

試験概要

作物名：ミズナ 品種：京みぞれ

試験場所：長崎県 調査実施年：2008年

露地/施設：施設（ハウス）

推定式

$$y = 0.001x^2 - 1.4213x + 585.68 \quad (R^2 = 0.9517)$$

独立変数 x (°C)：は種後の積算温度

従属変数 y (g)：収穫したミズナの株重

R^2 ：寄与率

本文献では、2.2.2.項と同様に作物重量を直接予測している。そのため農薬残留濃度推定に応用可能と考えられる。

2.2.4. 平均気温を独立変数、株当たりの重量を従属変数として、作物の成長を数式化し、作物の生育・収量特性を予測したもの（文献9）

入手が容易な気象要素である気温を用いたキャベツの収穫時作物重量の予測に関する研究であり、本文献では、生育期間を4つに区切り、収穫時の重量と各期間の平均気温との関係式を導いている。

推定のために実施した試験の概要および求められた推定式は以下のとおり。

試験概要

作物名：キャベツ ($n = 17$) 品種：YR 青春2号

試験場所：秋田県 調査実施年：1996～1997年

露地/施設：露地

推定式

$$Y = 220.4X_1 - 223.0X_2 - 29.8X_3 + 124.6X_4 + 1578 \quad (R^2 = 0.72)$$

独立変数 X (°C)：

X_1 【定植（3.5葉）～結球期（50%の株の結球部がテニスボール大になった時期）における平均気温】

X_2 【結球前20日間における平均気温】

X_3 【収穫（50%の株が収穫できた時期）前10日間における平均気温】

X_4 【 X_2 一定植後10日間における平均気温】

従属変数 Y (g)：キャベツの球重

R^2 ：決定係数

導き出された推定式は作物重量を直接予測することができるため、農薬残留濃度推定に応用可能と考えられる。複数の期間について平均気温を算出する必要はあるが、キャベツは主に露地で栽培される作物であるため、アメダスデータ等の利用により作物の重量を簡便に推定できる方法である。

2.3. 日射量・体積の初期値等から日本なしの収穫時の体積を推定したもの（文献 10,11,12）

京都大学における研究（文献 10）では、日本なし果実の初期体積および日射量と果実の体積変化の関係式を導きだし、関係式から得られるパラメーターを用いた満開後体積の推定式を提示している。長崎県または栃木県における研究（文献 11,12）では、文献 10 で提案された推定式をそれぞれの現場で用いる品種にも適用できるように、改良も試みられている。

2.3.1. 京都大学における研究（文献 10）

本文献では、日本なし（幸水）について、果実体積および日射量を調査し、果実体積の推定式を導き出した。

推定のために実施した試験の概要は以下のとおり。

試験概要

品種：幸水（n = 45） 試験場所：茨城県
調査実施年：1989～1990 年 露地/施設：露地

n 回目と n+1 回目の測定（測定間隔：m 日間）における果実体積の増加量【 $V_{n+1} - V_n$ (cm³)】を従属変数、満開 33 日後の果実体積【 V_{33} (cm³)】および日射量【 S_n (MJ/m²)】を独立変数として、式(1)を得ている（b, p：定数）。

$$V_{n+1} - V_n = A_n \cdot S_n^b \cdot V_{33}^p \quad (1)$$

式(1)に V_{n+1} , V_n , V_{33} , S_n の測定値を代入することで係数 A_n を算出している。1 日ごとの日射量【 S_d (MJ/(m²・day))】の総和および A_n を式(2)に代入し、係数 k_n を求めている。

$$k_n = A_n \cdot (S_n^b / \sum_{d=1}^m S_d^b) \quad (2)$$

式(1), (2)より、満開 x 日後の体積【 V_x (cm³)】は式(3)で推定できるとしている。

$$V_x = V_{33} + \sum_{d=33}^{x-1} k_n \cdot S_d^b \cdot V_{33}^p \quad (3)$$

収穫した果実の新鮮重【FW (g)】と体積【V (cm³)】との関係は概ね直線的であり、関係式として式(4)が得られている。式(4)を用いることで、式(3)で得られた体積から重量へ変換することができる。

$$FW = 1.088V + 18.93 \quad (4)$$

2.3.2. 長崎県における研究（文献 11）

本文献では、2.3.1.項で紹介した推定式を長崎県の現場において適合させるために改良している。式(3)をベースとして、幸水および豊水の満開 x 日後の体積【 V_x (cm³)】の推定式を導き出しており、豊水については体積の初期値として満開 33 日後の果実体積【 V_{33} (cm³)】ではなく、細胞分裂停止期の果実体積【 V_0 (cm³)】を用いている。

推定のために実施した試験の概要および求められた推定式は以下のとおり。

試験概要

品種：幸水、豊水 試験場所：長崎県
調査実施年：1985～2004 年 露地/施設：露地

推定式

$$\text{幸水： } V_x = V_{33} + \sum_{d=33}^{x-1} k_n \cdot S_d^b \cdot V_{33}^p \quad (\text{式(3)と同一})$$

$$\text{豊水： } V_x = V_0 + \sum_{d=33}^{x-1} k_n \cdot S_d^b \cdot V_0^p \quad (5)$$

本文献では、各品種における定数（b, p）として表 5 の値を用いている。本文献では重量の推定は行っていないが、2.3.1.項の式（4）を用いることで果実重量を推定可能なことから、農薬残留濃度の推定への応用が可能と考えられる。

表 5. 各品種における定数例（文献 11）

品種	p	b
幸水	0.5842	0.4842
豊水	0.5808	～満開 92 日後：0.1614 満開 93 日後～：0

2.3.3. 栃木県における研究（文献 12）

本文献では、2.3.1.項で紹介した推定式を栃木県の現場において適合させるために改良している。式(3)をベースとして、果実体積の初期値【 V_{33} (cm³)】を細胞分裂停止期の果実体積【 V_0 (cm³)】、満開後の日数を細胞分裂停止後の日数【 x (日)】に変更して、幸水、豊水およびにっこのり体積【 V_x (cm³)】の推定式を導き出している。また、得られた体積から、新鮮重【FW (g)】および横径【w (cm)】を導いている。

推定のために実施した試験の概要および求められた推定式は以下のとおり。

試験概要

品種：幸水、豊水、にっこり 試験場所：栃木県
調査実施年：1984～2003 年 露地/施設：露地

推定式

$$V_x = V_0 + \sum_{d=0}^{x-1} k_n \cdot S_d^b \cdot V_0^p \quad (6)$$

本文献では、各品種における定数 (b, p), 横径および新鮮重の推定式は表 6 に示したものを利用している。

表 6. 各品種における定数例 (文献 12)

品種	P	b	横径 【w (cm)】	新鮮重 【FW (g)】
幸水	0.3390	0.4687	$(5.968V/\pi)^{0.346}$	$0.8979V^{1.0469}$
豊水	0.6475	満開 30~70 日後 : 0.1219 満開 71 日後 ~ : 0	$(5.6232V/\pi)^{0.3449}$	$124.54w - 748.17$
にっこり	0.4042	0	$(5.6232V/\pi)^{0.3449}$	$106.24w - 417.44$

2.4. 果菜類の周囲長等の経時的な測定値を用いた、作物重量の推定 (文献 13,14)

本文献では、キュウリ果実の果実長および周囲長 (文献 13) もしくはイチゴ果実の縦径および横径 (文献 14) を非破壊的かつ経時的に測定し、得られた結果を各種関数 (ゴンペルツ曲線, ロジスティック曲線および指数曲線) にフィッティングさせている。

2.4.1. 果実の果実長と周囲長から果実の体積指数および果実体積ならびに果実重量を推定したもの (文献 13)

本文献では、キュウリ果実を円柱形とみなし、着果したままの状態でも果実長および周囲長 (3ヶ所) を測定し、体積を表すパラメーターとして果実の体積指数 FVI (mm³) を推定している。

推定のために実施した試験の概要および提案された推定式は以下のとおり。

試験概要

作物名 : キュウリ (n = 59)

品種 : フクダ交配ときわ光 3 号 A 型

試験場所 : 東京大学農学部実験ほ場

調査実施年 : 1981 年 露地/施設 : 露地

推定式

$$FVI = 1 \cdot (a_1^2 + a_2^2 + a_3^2) \cdot 10^{-6} \quad (7)$$

独立変数 : 果実長 l (mm)

3ヶ所の周囲長 : a₁, a₂, a₃ (mm)

従属変数 : 体積指数 FVI (mm³)

式(7)で得られた体積指数 【FVI (mm³)】 と体積 【V (cm³)】, 新鮮重 【FW (g)】 および乾重量 【DW (g)】 の相関性についても着目し、それぞれの値を以下の式に

表 5 の推定式を用いることで各品種の果実重量を推定でき、農薬残留濃度の推定に応用可能と考えられる。しかしながら、推定に必要な係数である k_n や定数を求めるには日射量と体積変化の実測値が必要であることから利用可能な範囲は大きくない。

より推定できるとしている。これらの推定式は、高い相関 (相関係数 : r > 0.99) を示している。

$$V = 22.61 \cdot FVI \quad (r=0.9992)$$

$$FW = 22.42 \cdot FVI \quad (r=0.9993)$$

$$DW = 0.9075 \cdot FVI + 0.4150 \quad (r=0.9924)$$

作物生長を表す曲線として、ゴンペルツ曲線 ($y = Kb e^{-cx}$) およびロジスティック曲線 ($y = K/(1 + be^{-cx})$) を選定している。両曲線のグラフ例を図 1 に示す。

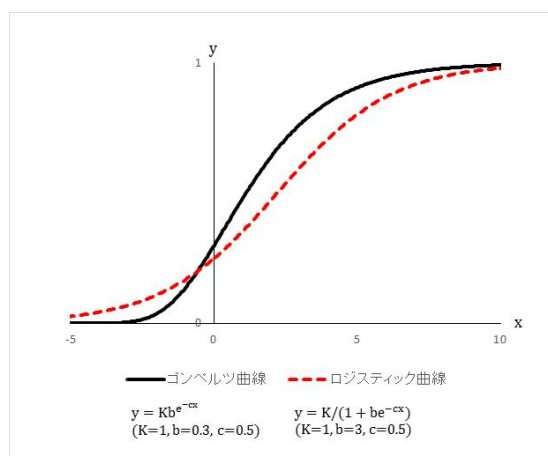


図 1. ゴンペルツ曲線およびロジスティック曲線

体積指数 【FVI (mm³)】 を従属変数、日数 【T (日)】 を独立変数としゴンペルツ曲線およびロジスティック曲線へフィッティングを行っている。その結果、両曲線の近似式は、以下のよう求められる (a, b : 果実間で異なる定数, c : 同一品種ではほぼ同じ値)。

$$\text{ゴンペルツ曲線近似 : } FVI = ae^{-be^{-cT}}$$

$$\text{ロジスティック曲線近似 : } FVI = a/(1 + be^{-cT})$$

両成長曲線の適合度を比較したところ、ゴンペルツ曲線近似式の方が適合度が高い結果であった。

本文献で提案された手法は、作物を収穫することなく作物重量を精緻に予測することができ、農薬残留濃度の推定に応用可能と考えられるが、近似式を求めるために多数の果実についてデータを取得する必要がある。

2.4.2. 各果実の縦径と横径から果重を推定したもの (文献 14)

本文献では、イチゴ果実について、果高（縦径）および果径（横径）を測定し、果実重量を推定している。

推定のために実施した試験の概要および求められた推定式は以下のとおり。推定式の相関係数は $r = 0.996$ であり、高い相関を示した。

試験概要

作物名：イチゴ (n = 160) 品種：はるのか
試験場所：記載なし 調査実施年：1980～1981 年
露地/施設：露地

推定式

$$\text{果重} = 0.2637 \times (\text{縦径} \times \text{横径})^{1.5127}$$

独立変数：縦径・横径 (cm)

従属変数：果重 (g)

さらに、果実重量【y (g)】を従属変数、縦径×横径【x (cm²)】を独立変数とした近似式を推定し、指数曲線およびゴンペルツ曲線への適合度を検証した。両曲線への近似式は、以下のとおり推定された。定数 a, b, A, B および極限值 K についても、成熟日数【t (日)】および収穫時果重【W (g)】から以下のとおり求めることができる。とされている。

指数曲線近似： $y = a \cdot b^x$

$$a = W/b^t \quad b = A \cdot t^B$$

$$A = -6.884B + 0.9536$$

$$B = -0.00153W - 0.07685$$

ゴンペルツ曲線近似： $y = K \cdot a^{b^x}$

$$K = W/a^{b^t} \quad a = A \cdot t^B$$

$$b = 0.69307 \cdot t^{0.085826}$$

$$A = -0.000273874W + 1.00638$$

$$B = -0.0138431W - 2.33845$$

両成長曲線の適合度を比較したところ、成長前期においては指数曲線近似式、成長後期においてはゴンペルツ曲線近似式に対して適合度が高い結果を示している。

本文献で示された推定式は、2.4.1.項と同様作物重量を精緻に予測することができるため、農薬残留濃度の推定に応用可能と考えられるが、気象条件が考慮されておらず一般化されたものではない。

2.5. まとめ

作物生長の推定に関する文献を調査した結果、気温等の生育環境から容易に推定可能な推定方法が見られ、収穫時の果実重量の推定に有用である方法が報告されていることが確認された。また、果実の周囲長を計測する等非破壊的な測定でより精度の高い推定を行っている例も見られた。しかしながら、作物の生長は品種や栽培条件によって異なるため、実際に活用するためには、可能な限り各地域・各品種の情報を収集し作物重量を推定する必要があることがわかった。

おわりに

今回の調査により、作物残留濃度推定の重要なパラメーターである初期付着量および作物生長の推定について、海外および国内での研究の概要について把握することができた。初期付着量の推定方法には実測データを基礎とするものと、実際の試験を行わずに経験則等を基礎とするものがあり、これらの手法からある程度の予測が可能であることが確認された。推定方法は単一では無く、結果も算出方法によって大きく異なる事例が見られ、より精度の高い推定を行うためには実測値との更なる比較・検証が必要な研究分野であることが明確になった。

また、作物生長については、気温等の生育環境から容易に推定可能な推定方法のほか、果実の周囲長を計測する等非破壊的な測定でより精度の高い推定を行っている例も見られた。調査した文献によっては、収穫日予測プログラム等の開発に伴う作物生長に関する研究として行われているものもあり、そうした知見と組み合わせることで容易な推定が可能になると考えられる。しかしながら、作物の生長は品種や栽培条件によって異なるため、より精度の高い推定を行うためには地域・品種ごとの情報の収集が必要である。

参考文献

- 1) 藤田俊一, 和田豊, 高橋義行: 植物防疫 67, 55-61 (2013)
- 2) D. J. Maclachlan and D. Hamilton: *Food Additives and Contaminants* 27, 347-364 (2010)
- 3) P. T. Holland, C. P. Malcolm, A. D. Mowat, B. H. Rohitha and R. E. Gaskin: *Plant Protection Conf* 49, 192-197 (1996)
- 4) J. Linders, H. Mensink, G. Stephenson, D. Wauchope and K. Racke: *IUPAC, Pure Applied Chemistry* 72,

- 2199-2218 (2000)
- 5) 田中修作, 石田豊明: 熊本県農業研究センター研究報告 14, 49-60 (2007)
 - 6) 大矢武志: 神奈川県農業総合研究所研究報告 142, 49-55 (2001)
 - 7) 長崎県: 諫早湾干拓初期営農技術対策の指針 (2007)
 - 8) 小林雅昭: (研究成果報告) 長崎県農林技術開発センター (2008)
 - 9) 武田悟, 加賀屋博行: 東北農業研究 52, 195-196 (1999)
 - 10) 杉浦俊彦: 京都大学学位論文 (1997)
 - 11) 田中実, 林田誠剛: 長崎果樹試研報 11, 29-42 (2008)
 - 12) 大谷義夫: 栃木農試研報 58, 17-29 (2006)
 - 13) 田附明夫, 崎山亮三: 園学雑 53, 30-37 (1984);
 - 14) 森下昌三: イチゴの基礎知識, 誠文堂新光社, 62-72 (1983)

農薬の水産動植物に対する生態リスク評価のための 高次試験法に関する文献調査

石原 悟

独) 農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

農薬の生態リスク評価の高次リスク評価への利用が期待される毒性試験や野外試験等について、国内における実施状況に関する文献調査を行った。収集した文献を5つの項目（A-1;室内単一生物試験-水生植物, A-2;室内単一生物試験-水生植物以外, B;室内多生物試験, C;野外試験, D;バイオモニタリング）に分類し取りまとめた。

調査の結果 101 件の文献を収集した。試験生物に焦点をおき情報を整理し、国内で毒性試験や野外試験等を行う際に扱いやすいと考えられる生物種を確認した。

Keywords : 生態リスク評価, 高次評価, 室内多生物種試験, 野外試験, 種の感受性分布

緒 言

農薬の生態リスク評価は、初期的な評価（ワーストケースを想定した保守的な評価）からはじまり、リスクの可能性が認められた場合に高次のリスク評価（より現実的な評価）を実施することが一般的である^{1,2)}。初期リスク評価では、主として室内で実施される単一種の生物を用いた毒性試験の結果（以下、必須データという。）が活用されている。高次のリスク評価では、以下に示す手法が有効であるとされている³⁾

- 1) 必須データに関する精査,
- 2) さらなる単一生物種試験の実施,
- 3) 室内多生物種試験の実施,
- 4) 野外試験の実施.

我が国の水産動植物登録保留基準の設定時には、魚類、甲殻類および藻類の3生物群の試験を必須データとして評価を行っている⁴⁾。現行のリスク評価スキームでは、高次リスク評価に相当する評価は限定的であり、一部の試験生物種（コイ以外の魚種、ユスリカやヨコエビ等）について、試験結果の不確実係数の設定や急性影響濃度の補正への利用、環境中予測濃度の推定で第二段階の予測値（物質の分解性等を考慮した、より精緻な計算方法）を活用するにとどまっている。

現在、室内多生物種試験や野外試験の結果は評価に利用されておらず、農薬の水生毒性評価のための高次リスク評価手法の開発は、喫緊の課題となっている⁵⁾。

農薬の高次生態リスク評価は、生態系の構成要素や文化が異なる欧米諸国の手法をそのまま取

り入れることはできない。実行可能かつより現実的な評価には、地域の特性を考慮することが極めて重要である。

農薬等化学物質の生態リスク評価に関する研究分野は、我が国において盛んな分野とはいえない。そのため、我が国における農薬の水生毒性評価のための高次リスク評価に関する科学的知見は限定的である。また、国内で検討された、さらなる単一生物種試験、室内多生物種試験および野外試験（以下、高次試験という。）について、試験設計や試験結果を縦覧できる資料は認められない。

そこで本調査は、水産動植物に対する農薬の高次リスク評価への利用が期待される高次試験の国内における実施状況および試験内容について、情報収集・整理を行い、高次試験に係る現状と課題を俯瞰できるよう資料にまとめることを目的とした。

なお、本調査では収集する文献を学術論文に限定せず、都道府県の報告書、各種講演要旨等も文献として位置づけ、幅広く情報収集を行った。

調査方法

文献調査を実施する分野を以下の4項目（A-1, A-2, B, C および D）に分類した。

- A-1 さらなる単一生物試験種（水生植物）
- A-2 さらなる単一生物試験種（水生植物以外）
- B 室内多生物試験
- C 野外試験
- D バイオモニタリング

Google scholar, AGROPEDIA, J-STAGE 等インターネット上でのキーワード検索を中心に情報の収集を行った。収集した文献を読み込み、同様の研究内容であるものは適宜とりまとめ、本稿では代表的な文献を紹介したい。また、項目毎に試験生物に焦点をおき情報を整理すると共に、水産動植物に対する農薬の高次リスク評価への活用という観点から考察した。

調査結果

調査の結果、延べ 101 件の文献を収集した。項目別の内訳を表 1 に示す。以下、項目別に調査結果の概要を示す。

表 1. 収集した文献数

分野		文献数 (件)
A-1	さらなる単一生物試験種 (水生植物)	22
A-2	さらなる単一生物試験種 (水生植物以外)	26
B	室内多生物試験	22
C	野外試験	27
D	バイオモニタリング	4

1. さらなる単一生物試験種

1.1. 水生植物

収集した 22 件のうち 14 件が藻類 (淡水藻類 7 件, 海産藻類 7 件), 8 件が高等水生植物に関する文献であった。

OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development, 経済協力開発機構) における藻類生長阻害試験のテストガイドライン (以下 TG201 という.) では 2 種の淡水緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata* および *Desmodesmus subspicatus*), 1 種の淡水珪藻 (*Navicula pelliculosa*) および 2 種の淡水藍藻 (*Anabaena flos-aquae* および *Synechococcus leopoliensis*) が供試生物として推奨されている。文献調査の結果, OECD 推奨種以外で表 2 に示す生物が TG201 に準じた試験の実施が可能であると考えられた。また, TG201 に準じた試験の実施はできないが, 海産のノリ類や大型藻類の配偶体を供試生物とした毒性試験法について報告が認められた¹⁷⁻¹⁹⁾。

表 2. 試験生物として報告のあった微細藻類

生物名			文献番号
淡水	緑藻	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	6,7
	珪藻	<i>Achnanthes minutissimum</i>	8,9,10,11
		<i>Craticula molestiformis</i>	8,10
		<i>Eolimna minima</i>	8,10
		<i>Eolimna subminuscula</i>	8,10
		<i>Fistulifera saprophila</i>	8,10
		<i>Mayamaea atomus</i>	8,10
		<i>Nitzschia palea</i>	8,10,11
		<i>Planorhynchium frequentissimum</i>	8,10
		<i>Planorhynchium lanceolatum</i>	8,10
		<i>Sellaphora seminulum</i>	8,10
	藍藻	<i>Merismopedia tenuissima</i>	9,10
		<i>Pseudanabaena galeata</i>	11
		<i>Spirulina platensis</i>	12
海産	緑藻	<i>Dunaliella</i> sp.	13,14
	珪藻	<i>Chaetoceros gracilis</i>	15
		<i>Nitzschia</i> sp.	16
	ハプト藻	<i>Pavlova lutheri</i>	15

高等水生植物に関して, OECD には現在 *Lemna* 属ウキクサの生長阻害試験 (以下 TG221 という.) およびフサモの毒性試験 (TG238 および TG239) のガイドラインがある。いずれも被子植物 (*Lemna* 属ウキクサ; 単子葉, フサモ; 双子葉) であり, 供試生物としては, TG221 では, 2 種の *Lemna* 属ウキクサ (*Lemna gibba* (イボウキクサ), *Lemna minor* (コウキクサ)), TG238 および TG239 では, ホザキノフサモ (*Myriophyllum Spicatum*) が推奨種とされている。

文献調査の結果, 被子植物としては, 日本に生息する *Lemna* 属ウキクサ 4 種, *Spirodela* 属ウキクサ 1 種, *Wolffia* 属ウキクサ, エビモ, ジュンサイについての報告が認められた (表 3)。供試生物の多くは単子葉の植物であった。

被子植物以外では, シダ植物についての報告が多く (表 3), 文献で使用されていた各種浮遊植物については, TG221 に準じた試験が実施できると考えられた。

表 3. 試験生物として報告のあった高等水生植物

生物名				文献 番号
被子植物	単子葉	浮遊	アオウキクサ (<i>L. aoukikusa</i> Beppu et Murata)	20
			ホクリクアオウキクサ (<i>L. aoukikusa</i> Beppu et Murata subsp. <i>hokurikuensis</i> Beppu et Murata)	20
			ナンゴクアオウキクサ (<i>L. aequinoctialis</i> Welw)	20
			ムラサキコウキクサ (<i>L. japonica</i> Landolt)	20
			ウキクサ (<i>Spirodela polyrhiza</i>)	21
			ミジンコウキクサ (<i>Wolffia globosa</i>)	22
	双子葉	浮葉	エビモ (<i>Potamogeton crispus</i>)	23
		沈水	ジュンサイ (<i>Brasenia schreberi</i>)	24
シダ植物		浮遊	オオアカウキクサ (<i>Azolla japonica</i>)	21,25,26
			サンショウモ (<i>Salvinia natans</i>)	21,26,27
		浮葉/抽水	デンジソウ (<i>Marsilea quadrifolia</i>)	25
		抽水	ミズニラ (<i>Isoetes japonica</i>)	25

これらの知見は今後検討が進められると考えられる SSD (種の感受性分布) 法による評価⁵⁾での活用が期待される。

1.2. 水生植物以外の生物

水生植物以外の生物の毒性試験に関する文献として、26 件 (日本環境毒性学会編集の生態毒性試験ハンドブック²⁸⁾を除く) 収集した。そのうち 20 件が水生昆虫に関する文献であった。本稿では、1) 水生昆虫、2) 両生類、3) その他に分類して紹介したい (表 4)。

表 4. 収集した文献数 (水生植物以外の生物)

分野	文献数 (件)
1) 水生昆虫	20
2) 両生類	3
3) その他	3

1.2.1. 水生昆虫

水生節足動物の急性毒性試験に関しては、OECD では現在ユスリカ (*Chironomus* sp.) の遊泳阻害試験 (TG218 および TG219) のガイドラインが採択されている。収集した文献 20 件のうち多くが卵や幼虫期のみ水中で過ごす生活史の生物 (トビケラ、トンボ等) を扱ったものであった (表 5)。

我が国における農薬の高次リスク評価への活用という観点では、現行の評価法の評価地点であ

る河川中にも生息する生物であるトビケラ幼虫、カゲロウ幼虫、トンボ幼虫、ホタル幼虫などを用いた手法の活用が期待される。特にコガタシマトビケラを用いた毒性試験は、飼育法³⁵⁾および 1 齢幼虫を用いた毒性試験法のマニュアル³⁶⁾が整備されていることなどから、実用性の高い手法であると考えられた。また、リスクコミュニケーションを円滑に進める (世間一般に理解されやすい) という観点では、トンボやホタルを用いた評価も有効であると考えられた。

1.2.2. 両生類

両生類については、カエルを用いた試験に関する文献およびサンショウウオを用いた試験が認められた。試験に使用されていたカエルの種類は、アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*)⁴⁹⁾、エゾアカガエル (*Rana chensinensis*)⁵⁰⁾、ニホンアマガエル (*Hyla japonica*)⁵¹⁾であった。サンショウウオについては、エゾサンショウウオ (*Hynobius retardatus*)⁵⁰⁾が使用されている文献が認められた。

1.2.3. その他

貝類では、カワニナ (*Semisulcospira libertina*)⁵¹⁾、サカマキガイ (*Physa acuta*)^{51,52)}、マルタニシ (*Cipangopaludina chinensis*)⁵¹⁾を用いた毒性試験の報告が認められた。その他、甲殻類のミズムシ (*Asellus hilgendorffii*)⁵²⁾や淡水性のヒドラ (*Hydra*

表 5. 試験生物として報告のあった水生昆虫

分類	文献数 (件) *	生物名
トビケラ目	10	ウルマーシマトビケラ (<i>Hydropsyche orientalis</i>) ²⁸⁾ コガタシマトビケラ (<i>Cheumatopsyche brevilineata</i>) ²⁸⁻³⁶⁾ ホタルトビケラ (<i>Nothopsyche ruficollis</i>) ^{28, 37, 38)}
トンボ目	5	アオイトトンボ (<i>Lestes sponsa</i>) ³⁹⁾ アオモンイトトンボ (<i>Ischnura senegalensis</i>) ²⁸⁾ アキアカネ (<i>Sympetrum frequens</i>) ^{40, 41)} アジアイトンボ (<i>Ischnura asiatica</i>) ²⁸⁾ オニヤンマ (<i>Anotogaster sieboldii</i>) ³⁹⁾ キイトトンボ (<i>Ceriagrion melanurum</i>) ³⁹⁾ クロイトトンボ (<i>Cercion calamorum</i>) ³⁹⁾ タカネトンボ (<i>Somatochlora uchidai</i>) ³⁹⁾ チョウトンボ (<i>Rhyothemis fuliginosa</i>) ³⁹⁾ ナツアカネ (<i>Sympetrum darwinianum</i>) ⁴²⁾ マユタテアカネ (<i>Sympetrum eroticum</i>) ³⁹⁾ モノサシトンボ (<i>Copera annulata</i>) ³⁹⁾
カメムシ目	4	アサヒナコミズムシ (<i>Sigara maikoensis</i>) ^{28, 43, 44)} オオコオイムシ (<i>Diplonychus major</i>) ^{28, 45)} タガメ (<i>Lethocerus deyrollei</i>) ²⁸⁾ ヒメアメンボ (<i>Gerris latiaabdominis</i>) ^{28, 46)} ナベブタムシ (<i>Aphelocheirus vittatus</i>) ^{28, 43)} マルミズムシ (<i>Paraplea japonica</i>) ^{28, 43)} マルヒメツヤドロムシ (<i>Zaitzeviaria ovata</i>) ⁴³⁾ ミゾツヤドロムシ (<i>Zaitzevia rivalis</i>) ⁴³⁾
ハエ目	1	チカイエカ (<i>Culex pipens molestus</i>) ^{28, 47)}
カゲロウ目	-	エルモンヒラタカゲロウ (<i>Epeorus latifolium</i>) ²⁸⁾ シロタニガワカゲロウ (<i>Ecdyonurus yoshidae</i>) ²⁸⁾ シロハラコカゲロウ (<i>Baetis thermicas</i>) ²⁸⁾
コウチュウ目	1	ゲンジボタル (<i>Luciola cruciata</i>) ²⁸⁾ ヘイケボタル (<i>Luciola lateralis</i>) ^{28, 48)}

*日本環境毒性学会編集の生態毒性試験ハンドブック²⁸⁾を除く

attenuata)⁵³⁾を試験生物とした毒性試験の報告が認められた。

その他、水産庁では漁場環境の保全と持続的な水産魚介類の利用を目的に、各種海産生物に関する毒性試験指針を取りまとめている。また、環境省ではマダイ (*Pagrus major*) およびクルマエビ (*Penaeus japonicus*) を用いた急性毒性試験法の開発が進んでいる⁵⁴⁾。海産生物を用いた毒性試験法については、眞道による総説⁵⁵⁾に詳しく記載されているので、それを参照にされたい。

2. 室内多生物試験

単一種の生物を用いた試験では、その種に対する影響しか明らかにできない。そこで、生態系へ及ぼす化学物質の影響評価に関し、多生物試験の重要性が指摘されている。しかし、多生物試験は試験手法の標準化が困難であること、結果の評価法が確立されていない等の理由から、化学物質の評価や規制への活用は進んでいない。

本項では、比較的規模の小さい試験系である室内多生物試験について、国内における検討事例 (表 6) を紹介したい。

フラスコサイズで形成される微生物生態系（マイクロコズム）はその群集構成の違いにより、Gnotobiotic 型，Stress-selected 型および Naturally-derived 型に分類される⁵⁶⁾。このうち単独培養で培養した生物種を組み合わせた、種構成既知で個体数計測が可能な Gnotobiotic 型のマイクロコズムは、再現性が良く安定した試験系が確立できるとされている。我が国における研究事例を調査したところ、生産者、分解者、捕食者で構築された Gnotobiotic 型のマイクロコズム（表 7）の研究事例が多く認められた⁵⁶⁻⁶⁸⁾。また、マイクロコズムと類似した手法として、既知の複数種微生物から構成された河川モデル生物膜（藻類、細菌など微生物の集合体）を用いた評価手法が島根大学のグループにより検討されていた⁶⁹⁻⁷³⁾。本研究では、河川における生物膜の生態学的重要性に着目し、珪藻と細菌で河川モデル生物膜を人工的に構成し試験に用いていた（表 7）。

その他、室内で多生物に対する影響を評価する手法としては、野外より採取した底質（底泥に含まれる休眠卵から孵化した動物プランクトン種から構築）から発生した生物を用いる試験⁷⁴⁻⁷⁶⁾、室内流水式水路で野外より採集した底生動物を飼育し、被験物質を曝露する試験⁷⁷⁾などが認めら

れた。

我が国における農薬の高次リスク評価への活用という観点では、河川モデル生物膜を用いた試験は、藻類に対する影響が懸念される農薬の高次評価への活用が期待される手法であると考えられた。

3. 野外試験

化学物質の評価において、室内毒性試験だけを用いた評価には様々な限界点があり、欧米では農薬の生態リスク評価において、メソコスム（野外モデル生態系試験）の活用が進んでいる。

これまで我が国においても事例は少ないものの農薬の影響評価に関する野外試験について検討されている。本調査では、実際の水田を試験区として調査した試験も野外試験と位置づけ情報を収集した。国内で取り組まれた主な野外試験について、試験区の構造別に分類し表 8 にまとめた。

農薬の高次リスク評価への活用という観点では、対照区の設定が可能なメソコスムおよび流水型野外水系モデルが有用な手法であると考えられた。

国内で実施された野外試験のうち、国立環境研究所で近年検討が進んでいるメソコスム試験、

表 6. 国内における室内多生物試験についての検討事例

研究事例	試験の概要
Gnotobiotic 型マイクロコズム	6-11 種の生物（生産者、分解者、捕食者）を使用した試験 ⁵⁶⁻⁶⁸⁾
河川モデル生物膜	5-6 種の生物（生産者、分解者）を使用した試験 ⁶⁹⁻⁷³⁾
その他	- 底質（底泥に含まれる休眠卵から孵化した動物プランクトン種から構築）から発生した生物を用いる試験⁷⁴⁻⁷⁶⁾ - 室内流水式水路で野外より採集した底生動物を飼育し、被験物質を曝露する試験⁷⁷⁾

表 7. 室内多生物試験で試験生物として報告のあった微生物

研究事例	栄養段階	生物名
Gnotobiotic 型マイクロコズム ⁵⁶⁾	生産者	緑藻類 <i>Chlorella</i> sp., <i>Scenedesmus</i> sp. 藍藻類 <i>Tolypothrix</i> sp.
	分解者	細菌類 <i>Bacillus cereus</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Coryneform bacteria</i>
	捕食者	繊毛虫類 <i>Cyclidium glaucoma</i> 輪虫類 <i>Lecane</i> sp., <i>Philodina erythrophthalma</i> 貧毛類 <i>Aeolosoma hemprichi</i>
河川モデル生物膜 ⁷³⁾	生産者	珪藻類 <i>Achnanthes minutissima</i> , <i>Nitzschia palea</i>
	分解者	細菌類 <i>Pedobacter</i> sp., <i>Stenotrophomonas</i> sp., <i>Aquaspirillum</i> sp.

表 8. 国内における野外試験についての検討事例

試験区の構造	1 区の大きさ	試験期間	調査項目（生物）
メソコスム(水田式) ⁷⁸⁻⁸⁴⁾	水田型(人工水田, 流水) 8.32 m ² (1.6 m×5.2 m)	約 4 ヶ月	動物プランクトン, 底生生物, 水生昆虫類, 試験生物の試験区内への導入(ヒメダカ)
メソコスム(止水式) ^{79, 85)}	タンク型(止水) 直径 1.015 m(0.81 m ²)	約 5 ヶ月	動物プランクトン, 底生生物, 付着生物, 水生動物(ホウネンエビや水生昆虫), 試験生物の試験区内への導入(ヒメダカ)
流水型水系モデル 1 ⁸⁶⁻⁸⁹⁾	60 m ² (3 m×20 m) (河川を想定)	約 2 ヶ月	プランクトン, 付着藻類, 水生昆虫の個体数, 試験生物の試験区内への導入(ミジンコ類, ヒメダカ)
流水型水系モデル 2 ⁸⁹⁻⁹⁵⁾	10 m ² (1 m×10 m) (河川を想定)	約 2 ヶ月	付着藻類, 大型藻類(アオミドロ類), ウキクサ類, 水生植物(ヒルムシロ), ミジンコ類などの個体数
隔離水界(湖) ⁹⁶⁾	4.8 m×4.8 m×0.7 m	約 3 ヶ月	クロロフィル, 植物プランクトンの個体数, 動物プランクトンの個体数など
隔離水界(人工池) ^{97, 98)}	直径 1 m×3.8 m(円柱)	1~2 ヶ月	クロロフィル, 植物プランクトン, バクテリア, 動物プランクトン, 底生動物
野外水田 1 ⁹⁹⁾	167 m ² (1.67 a)	約 2 ヶ月	ミジンコ目, 昆虫類の個体数
野外水田 2 ¹⁰⁰⁾	不明	約 5 ヶ月	水生昆虫の個体数
野外水田 3 ¹⁰¹⁾	不明	約 3 ヶ月	水生昆虫, クモ類, カエル幼生等の個体数
野外水田 4 ¹⁰²⁾	50.4 m ² (4.2 m×12 m)	約 1 ヶ月	ユスリカ類幼虫, 水生昆虫の密度, 試験生物の試験区内への導入(コオイムシ幼虫)
野外水田 5 ¹⁰³⁾	水田 51 または 72 枚	約 1 ヶ月	赤トンボ羽化殻数
野外人工水路 ^{97, 104)}	長さ 100 m, 幅 23 cm	1~2 ヶ月	クロロフィル, 底生動物(残存数および流下数)

表 9. 野外試験（メソコスムおよび流水型野外水系モデル）の試験条件の比較

試験条件/試験の種類		メソコスム ⁸³⁾ (国立環境研究所, 水田式)	メソコスム ⁸⁵⁾ (国立環境研究所, 止水式)	流水型水系モデル ⁸⁷⁾ (日本植物防疫協会)	流水型水系モデル ⁹²⁾ (日本植物調節剤研究協会)
1 区の規模		8.32 m ² (1.6 m×5.2 m)	0.81 m ² (直径 1.015 m)	60 m ² (3 m×20 m)	10 m ² (1 m×10 m)
調査期間		約 4 ヶ月	約 5 ヶ月	約 2 ヶ月	約 2 ヶ月
生物調査の回数または頻度		13 回	1 回/2 週間	25 回	9 回
被験物質		殺虫剤 (系内施用)	殺虫剤 (系内施用)	除草剤および殺虫剤 (系外施用)	除草剤 (系外施用)
調査 生物	植物プランクトン	×	×	○	○
	動物プランクトン	○	○	○ミジンコ類の導入あり	○(ミジンコ類のみ)
	水生昆虫類	○	○	○	×
	底生生物	○	○	×	×
	付着生物	×	○(動物)	○(藻類)	○(藻類)
	水生植物	○	×	×	○
	魚類	○試験区内へ導入(ヒメダカ)	○試験区内へ導入(ヒメダカ)	○試験区内へ導入(ヒメダカ)	×
農薬残留濃度分析		あり	あり	あり	あり
水質調査		濁度, pH, DO	濁度, pH, DO	pH, DO, クロロフィル a	濁度, pH, 全窒素, 全リン

日本植物防疫協会および日本植物調節剤研究会で行われた流水型野外水系モデルについて、試験規模、調査期間、調査生物等の試験条件について比較した結果を表9に示す。

4. バイオモニタリング

バイオモニタリングは、リアルタイムで生物反応を監視し、環境リスクをモニタリングする手法である。調査方法としては、細菌、細胞、酵素等を用いた簡易検定法^{105, 106)}や生物個体を用いた方法^{107, 108)}等様々な手法が示されている。

我が国の河川における実施例では、試験生物として、単細胞緑藻、ウキクサ等の水草、小型の淡水エビ（ヌカエビ、*Paratya compressa improvisa*）、カゲロウ幼虫を利用した報告が認められた^{107, 108)}。

バイオモニタリングは、農薬の登録前におけるリスク評価への活用という観点では期待できる手法ではないが、登録後の規制効果の評価などに活用できる成果であることから本調査で情報収集を行った。

おわりに

本調査では、水産動植物に対する農薬の高次リスク評価への利用が期待される高次試験の国内における実施状況について情報収集を行った。試験生物に焦点をおき調査結果をまとめ、国内での検討で扱いやすいと考えられる生物種について確認した。本資料の情報がより合理的な評価システムの確立につながれば幸いである。

参考文献

- 1) http://ec.europa.eu/food/fs/sfp/ph_ps/pro/wrkdoc/wrkdoc10_en.pdf (Accessed 11 Aug., 2015)
- 2) http://www.epa.gov/oppefed1/ecorisk_ders/toe-ra_analysis_eco.htm (Accessed 11 Aug., 2015)
- 3) P.J. Campbell, D.J.S Arnold, T.C.M Brock, N.J. Grandy, W. Heger, F. Heimbach, S.J. Maund & M. Streloke: "Guidance Document on Higher-Tier Aquatic Risk Assessment of Pesticides (HARAP)," SETAC-Europe Publication, Brussels, 1999.
- 4) <http://www.env.go.jp/hourei/06/000039.html> (Accessed 29 July, 2015)
- 5) <http://www.env.go.jp/council/10dojo/y104-26/ref13.pdf> (Accessed 29 July, 2015)

- 6) 木下典子, 神谷 律, 細谷夏実: 大妻女子大学紀要, 社会情報学研究 13, 2004.
- 7) 田中仁志: 東北大学学位論文, 甲第 10367 号, 2005.
- 8) 石原 悟: 環境毒性学会誌 9(2), 101-113(2006).
- 9) 石原 悟: 農環研ニュース 66, 5-6, (2005).
- 10) 石原 悟: 農環研報 25, 1-92, (2008).
- 11) <http://www.niaes.affrc.go.jp/techdoc/algae/> (Accessed 29 July, 2015)
- 12) 勝又政和, 小池隆, 西川正隆, 土屋広司: 水環境学会誌 28(1), 23-28(2005).
- 13) 堀家直哉, 西川 淳, 田中仁志, 中村省吾: 水環境学会誌 25(8), 485-490(2002).
- 14) 三尋木全子, 菊地幹夫, 澤井 淳: 環境毒性学会誌 15(1), 11-16(2002).
- 15) 眞道幸司, 岸田智穂, 吉川貴志, 伊藤康男: 日本マリンエンジニアリング学会誌 47(5), 30-35(2012).
- 16) 山本民次, 浅岡 聡, 原口浩一: 広島大学大学院生物圏科学研究科紀要 47, 53-59, 2008.
- 17) 丸山俊朗, 三浦昭雄: 水環境学会誌 16(5), 327-338(1993).
- 18) 高見徹, 丸山俊朗, 鈴木祥広, 三浦昭雄: 土木学会論文集 566, 71-80(1997).
- 19) 高見徹, 丸山俊朗, 鈴木祥広, 三浦昭雄: 水環境学会誌 22(1), 29-34(1999).
- 20) 石原 悟, 佃 美和, 清野義人: 環境毒性学会誌 13(2), 131-139(2010).
- 21) 相田美喜, 池田浩明, 石坂眞澄, 伊藤一幸, 臼井健二: 日本雑草学会第43回講演会講演要旨集, p.196, 2004.
- 22) 石原 悟, 近藤美和: 農薬調査研究報告 4, 1-4, (2012).
- 23) 細木大輔, 池田浩明: 日本生態学会第57回全国大会講演要旨, (2010).
<http://www.esj.ne.jp/meeting/abst/57/P3-164.html> (Accessed 30 July, 2015)
- 24) 伊藤一幸, 西村誠一, 石坂眞澄, 高木和広: 日本雑草学会第 38 回講演会講演要旨集, p.312-313, 1999.
- 25) 相田美喜, 伊藤一幸, 池田浩明, 原田直國, 石井康雄, 臼井健二: 日本雑草学会第 42 回講演会講演要旨集, p.46-47, 2003.
- 26) 相田美喜: 筑波大学学位論文, 博甲第 4023 号,

- 2006.
- 27) 石原 悟: 農薬調査研究報告 5, 1-4, (2013).
- 28) 日本環境毒性学会編: 生態影響試験ハンドブック, 朝倉書店, 2003.
- 29) 多田満: 環境毒性学会誌 5(1), 13-19(2002).
- 30) 農林水産省: プロジェクト研究成果シリーズ 471, 355-362, 2009.
- 31) 堀尾剛, 横山淳史, 岩船敬, 永井孝志: 日本陸水学会講演要旨集, 講演番号 1K06, 2008.
- 32) 横山淳史: 農薬バイオサイエンス研究会講演要旨集, p13-16, 2008.
- 33) A. Yokoyama, K. Ohtsu, T. Iwafune, T. Nagai, S. Ishihara, Y. Kobara, T. Horio and S. Endo: J. Pestic. Sci. 34(1), 13-20 (2009).
- 34) A. Yokoyama: J. Pestic. Sci. 36(3), 434-439 (2011)(in Japanese).
- 35) [http://www.niaes.affrc.go.jp/techdoc/caddisfly/monitoring\(2\)_2400.pdf](http://www.niaes.affrc.go.jp/techdoc/caddisfly/monitoring(2)_2400.pdf) (Accessed 24 Aug, 2015)
- 36) [http://www.niaes.affrc.go.jp/techdoc/caddisfly/monitoring\(1\)_2400.pdf](http://www.niaes.affrc.go.jp/techdoc/caddisfly/monitoring(1)_2400.pdf) (Accessed 24 Aug, 2015)
- 37) 島田武憲, 野崎隆夫: 環境毒性学会誌 3(2), 39-46(2000).
- 38) 野崎隆夫, 島田武憲: 全国公害研会誌 21(2), 91-95, (1996).
- 39) 石田勝義, 村田道雄: 農学部学術報告 28, 1-12, 1992.
- 40) 嶋田知英, 小川和雄, 三輪誠, 斎藤茂雄: 関東東山病害虫研究会報 51, 167-170, 2004.
- 41) 神宮字寛, 上田哲行, 五箇公一, 日鷹一雅, 松良俊明: 農業農村工学会論文集 259, 35-41, 2009.
- 42) 酒井裕史, Dang Quoc THUYET, 渡邊裕純, 神宮字寛: 農業農村工学会全国大会講演要旨集, 2010
- <http://soil.en.a.u-tokyo.ac.jp/jsidre/search/PDFs/10/10P08-15.pdf> (Accessed 24 Aug, 2015)
- 43) 緒方健: 環境毒性学会誌 3(2), 83-86(2000).
- 44) 緒方健: 環境毒性学会誌 4(1), 29-34(2001).
- 45) 昆野安彦: 環境毒性学会誌 3(2), 87-90(2000).
- 46) 昆野安彦: 日本応用動物昆虫学会誌 43(3), 137-138(1999).
- 47) 多田満, 畠山成久, 小神野豊: 環境毒性学会誌 2(1), 53-63(1999).
- 48) 環境庁委託業務報告書: 平成 6 年度農薬生態影響調査-農薬のホタルに対する毒性影響評価試験-, 1995.
- 49) 山藤憲明: 日本農薬学会誌 31(4), 461-464(2006).
- 50) 服部畦作: 北海道立衛生研究所報 24, 152-453, (1974).
- 51) 昆野安彦: 環境毒性学会誌 3(1), 11-14(2000).
- 52) 菊池哲志, 亀井正治, 大久保新也, 安野正之: 衛生動物 43(2), 65-70(1992).
- 53) 楠井隆史, 佐藤美和子, C. Blaise: 環境技術 26(4), 260-263(1996).
- 54) <https://www.nies.go.jp/risk/seminar/h171129/text3-2.pdf> (Accessed 16 Sep., 2015)
- 55) 眞道幸司: 海生研報 15, 41-62, (2012).
- 56) 賀数邦彦: 福島大学学位論文, 2013.
- 57) <https://kaken.nii.ac.jp/d/p/04650505/1993/3/ja.ja.html> (Accessed 9 Sep., 2015)
- 58) 高木博夫, 橋本真理子, 高松良江, 稲森悠平: 水環境学会誌 17(10), 650-660(1994).
- 59) 稲森悠平, 高松良江, 須藤隆一: 廃棄物学会誌 9(5), 368-378, 1998.
- 60) 稲森悠平, 小松央子, 竹田絵里子, 石立律: 日本水処理生物学会講演要旨, p99, 2000.
- 61) 魏晟旭, 国安祐子, 稲森悠平: 日本水処理生物学会講演要旨, p28, 2001.
- 62) 魏晟旭, 国安祐子, 稲森悠平: 日本水環境学会年会講演集, p445, 2002.
- 63) 魏晟旭, 稲森悠平: 日本水処理生物学会講演要旨, p149, 2002.
- 64) https://www.env.go.jp/policy/kenkyu/suishin/kadai/syuryo_report/pdf/S2-09.pdf (Accessed 10 Sep., 2015)
- 65) 賀数邦彦, 稲森隆平, 徐開欽, 熊田純, 稲森悠平: 水環境学会誌 37(6), 251-257(2014).
- 66) 村上和仁, 林秀明: 環境情報科学論文集, 25, 221-226, 2011.
- 67) 林秀明, 村上和仁, 小濱暁子: 土木学会論文集 G, 68(7), 635-640, 2012.
- 68) 柴田賢一: 横浜国立大学学位論文, 博乙第 393 号, 2014.
- 69) 井藤和人, 林昌平, 巢山弘介, 山本広基: 日本農薬学会講演要旨集, p47, 2006.
- 70) 林昌平, 井藤和人, 巢山弘介: 日本リスク研究学会第 20 回研究発表会講演論文集, Vol. 20, 2007.
- 71) 林昌平, 井藤和人, 巢山弘介: 日本農薬学会講演要旨集, p57, 2007.

- 72) 林昌平, 井藤和人, 巢山弘介: 日本農薬学会講演要旨集, p71, 2008.
- 73) 林昌平, 井藤和人, 巢山弘介: 日本農薬学会誌 36(2), 243-247(2011).
- 74) 坂本正樹, 田中嘉成: 日本陸水学会講演要旨集, 講演番号 P12, 2009.
- 75) 張光玄, 坂本正樹, 花里孝幸: 日本陸水学会講演要旨集, 69, p45, 2005.
- 76) 花里孝幸: 環境毒性学会誌 9(2), 43-50(2006).
- 77) 多田満: 環境毒性学会誌 1(2), 65-73(1998).
- 78) 早坂大亮, 鈴木一隆, 是永知子, 諸岡 (斎藤) 歩希, 野村拓志, 深澤圭太, Francisco Sanchez-Bayo, 五箇公一: 日本農薬学会誌 38(2), 101-107(2013).
- 79) 早坂大亮, 永井孝志, 五箇公一: 日本生態学会誌 63, 193-206(2013).
- 80) D. Hayasaka: J. Pestic. Sci. 39(3), 172-173 (2014).
- 81) D. Hayasaka, T. Korenaga, F. S. Bayo, K. Goka: Ecotoxicology 21, 191-201(2012).
- 82) 国立環境研究所: 平成 22 年度農薬による生物多様性への影響調査業務報告書, 2011.
- 83) 国立環境研究所: 平成 23 年度農薬による生物多様性への影響調査業務報告書, 2012.
- 84) 国立環境研究所: 平成 24 年度農薬による生物多様性への影響調査業務報告書, 2013.
- 85) 国立環境研究所: 平成 25 年度農薬による生物多様性への影響調査業務報告書, 2014.
- 86) 藤田俊一: 第 3 回有機化学物質研究会要旨集, 2003.
- 87) 日本植物防疫協会: 平成 14 年度農薬生態影響野外調査 (メソコズム試験) 結果報告書, 2003.
- 88) 日本農薬学会編: 農薬の環境科学最前線, p198-211, ソフトサイエンス社, 2004.
- 89) 畠山成久編: 化学物質の生態リスク評価と規制-農薬編-, p198-207, アイピーシー, 2006.
- 90) 日本植物調節剤研究協会研究所: 平成 13 年度農薬生態影響野外調査 (モデル圃場試験) 報告書, 2002.
- 91) 日本植物調節剤研究協会研究所: 平成 14 年度農薬生態影響野外調査 (モデル水系試験) 報告書, 2003.
- 92) 日本植物調節剤研究協会研究所: 平成 15 年度農薬生態影響野外調査 (モデル水系試験) 報告書, 2004.
- 93) 村岡哲郎: 農薬バイオサイエンス研究会講演要旨集(野外水系モデルを用いた水田系外に流出した除草剤による藻類等への影響評価), 6, p25-28, 2008.
- 94) 村岡哲郎: 第 26 回農薬環境動態研究会要旨 (除草剤の生態系影響評価のためのメソコズム試験), 2009.
- 95) 村岡哲郎, 大津和久, 中村直紀: 雑草研究 56, 49(2011).
- 96) 西條八束, 坂本充編: メソコズム 湖沼生態系の解析, 名古屋大学出版会, 1993.
- 97) 国立公害研究所研究報告第 99 号: 有害汚染物質による水界生態系のかく乱と回復過程に関する研究, 1986.
- 98) 国立公害研究所特別研究報告 SR-4-90: 野外の実験生態系を用いた農薬の影響解析, p42-50, 1990.
- 99) 昆野安彦: 環境毒性学会誌 3(1), 33-37(2000).
- 100) 小山淳, 城所隆, 小野亨, 宮城県古川農業試験場研究報告, 5, 31-42(2005).
- 101) T.P. Yan, 日鷹一雅: 日本生態学会第 48 回全国大会講演要旨, p296, (2001).
- 102) 本林隆, 源河正明, T. K. Phong, 渡邊裕純: 日本応用動物昆虫学会誌, 56(4), 169-172(2012).
- 103) 栗生田忠雄, 片野海, 遠山和成, 神宮字寛: 新潟大学農学部研究報告, 65(2), 131-135, (2013).
- 104) 国立公害研究所研究報告第 62 号: 野外水路による殺虫剤の生態影響の実験的研究, p19-28, 1984.
- 105) 岡村秀雄, 青山勲: 日本農薬学会誌 23(2), 166-173(1998).
- 106) 西甲介, 大川秀郎: 日本農薬学会誌 27(2), 157-165(2002).
- 107) 畠山成久, 菅谷芳雄, 春日清一: 環境科学会誌 13(2), 271-276(2000).
- 108) 菅谷芳雄: 環境毒性学会誌 9(2), 61-68(2006).

農薬ラベルの記載内容等に関する日本、米国および EU の比較

中野渡高之¹，荻野知美¹，上野敬規²

¹独) 農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

²農林水産省横浜植物防疫所東京支所

日本では農薬取締法 第 7 条に基づき、農薬の製造者または輸入者に対して農薬の容器に表示する事項が定められている。この表示事項は農薬登録申請で提出した試験成績等に基づく登録検査の結果を反映したものであり、農薬使用者がその内容を遵守することにより、農薬の使用に伴う薬効や安全性が確保されることになる。

本稿では、米国および EU の農薬の容器の表示事項等を調査し、日本の表示事項および内容との相違点を整理した。

Keywords : 農薬ラベル，農薬取締法，農薬取締法施行規則，連邦殺虫剤・殺菌剤・殺そ剤法，連邦規則集 第 40 条，指令 67/548EEC および 199/45/EC の改正および廃止並びに規則 (EC) 1907/2006 の改正のための化学物質とその混合物の分類，表示および包装に関する欧州議会および理事会規則 (EC) No 1272/2008，植物防疫剤に関するラベル表示事項のための欧州議会および理事会規則 (EC) No 1107/2009 を遂行する規則 (EU) No 547/2011

緒 言

農薬ラベルは登録保持者にとって登録内容を反映したものであり、使用者にとっては取扱説明書である。また、表示されている事項は規制当局の登録検査結果を反映したものとなっている。

このような農薬ラベルの表示事項は、農薬の品質および薬効を確保するものだけでなく、使用者が遵守すべき事項として、その登録に係る適用病害虫の範囲およびその使用方法、人畜に有害な農薬についてはその旨および解毒方法、水産動植物に有害な農薬についてはその旨を記載しており、これら表示事項はリスク管理措置のひとつに位置づけられるものである。

各国における農薬ラベルの記載事項は、自国の法律に基づいており、また、使用にあたっての注意事項も、その申請内容および提出された試験成績による評価の結果に基づくものであり、そのため、同じ農薬であっても国により農薬ラベルに記載される内容は異なる。

そこで、本調査では農薬ラベルの表示事項および内容について、日本との違いを確認するため、米国および EU での現状について調査した。

調査対象および調査方法

1. 調査対象

1.1. 農薬ラベル表示に関する法律および規則

日本：

- ・ 農薬取締法¹⁾
- ・ 農薬取締法施行規則²⁾
- ・ 農薬を販売する際の表示要領³⁾

米国：

- ・ 連邦殺虫剤・殺菌剤・殺そ剤法 (Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act (以下「FIFRA」という。))⁴⁾
- ・ 連邦規則集 第 40 条 (Title 40, Code of Federal Regulations (以下「40 CFR」という。))⁵⁾
- ・ 農薬登録通知 (Pesticide Registration Notice (以下「PR notice」という。))⁶⁾
- ・ Label Review Manual⁷⁾

EU：

- ・ 指令 67/548EEC および 199/45/EC の改正および廃止並びに規則 (EC) 1907/2006 の改正のための化学物質とその混合物の分類，表示および包装に関する欧州議会および理事会規則 (EC) No 1272/2008 (REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16

December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006) (以下「CLP 規則」という.)⁸⁾ 植物防疫剤に関するラベル表示事項のための欧州議会および理事会規則 (EC) No 1107/2009 を遂行する規則 (EU) No 547/2011 (COMMISSION REGULATION (EU) No 547/2011 of 8 June 2011 implementing Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council as regards labelling requirements for plant protection products) (以下「植物防疫剤ラベル表示規則」という.)⁸⁾

2. 調査方法

1.1.の法律および規則で規定されている表示事項および農薬ラベルの表示内容について比較を行う。

調査結果

1. 農薬ラベルに関する規定の根拠と法律および規則

1.1. 日本

日本における農薬ラベルの表示事項は農薬取締法第7条により12項目が規定されている(表1)。

また、農薬取締法施行規則第7条および農薬を販売する際の表示要領(15生産第2306号農林水産省生産局長通知)により表示方法等が規定されている。

その他に、日本における農薬ラベルには、毒物及び劇物取締法および消防法に基づく表示がなされている。

表 1. 日本の農薬ラベル表示事項(農薬取締法第7条)

一	登録番号
二	公定規格に適合する農薬にあつては、「公定規格」という文字
三	登録に係る農薬の種類、名称、物理的・化学的性状並びに有効成分とその他の成分との別にその各成分の種類及び含有量
四	内容量
五	登録に係る適用病害虫の範囲及び使用方法
六	第十二条の二第一項の水質汚濁性農薬に該当する農薬にあつては、「水質汚濁性農薬」という文字

七	人畜に有毒な農薬については、その旨及び解毒方法
八	水産動植物に有毒な農薬については、その旨
九	引火し、爆発し、又は皮膚を害する等の危険のある農薬については、その旨
十	貯蔵上または使用上の注意事項
十一	製造場の名称及び所在地
十二	最終有効年月

1.2. 米国

米国における農薬ラベルは、FIFRA 第2条(p)(1)により「農薬ラベル(Label)は農薬、装置、容器または包装に文字で記述、印刷または図表で示すか添付するもの。」と定義されている。

農薬ラベルについては40 CFR part 156 (Labeling Requirements for Pesticides and Devices, 以下「40 CFR 156」という.)に定められており、表示事項は40 CFR 156.10 Labeling requirements (a) General - (1) Contents of the labelにより9項目が規定されている(表2)。

また、これらの法律および規則を所管する米国環境保護庁(United States Environmental Protection Agency, 以下「EPA」という.)の農薬プログラム部(The Office of Pesticide Programs)は農薬規制の運用として、PR noticeによって農薬ラベル表示に関する情報も公表している。

表 2. 米国の農薬ラベル表示事項(40 CFR part 156.10(a)(1))

i	The name, brand, or trademark under which the product is sold 販売時における名称、ブランドまたは商標
ii	The name and address of the producer, registrant, or person for whom produced 製造者または、登録保持者の名称および所在地
iii	The net contents 内容量
iv	The product registration number 登録番号
v	The producing establishment number 製造場番号
vi	An ingredient statement 成分に関する事項
vii	Hazard and precautionary statements 危険有害性および使用上の注意
viii	The directions for use 使用方法
ix	The use classification(s) 使用分類

1.3. EU

EU では、植物防疫剤を含む化学製品全般の表示に関する原則事項が CLP 規則により規定されており、植物防疫剤固有の表示事項については、植物防疫剤ラベル表示規則により規定されている。

EU における植物防疫剤のラベル表示に関する事項は、植物防疫剤ラベル表示規則の付属書 I (1) において植物防疫剤の容器包装に記載すべき事項が規定されている（表 3）。

表 3. EU の植物防疫剤ラベル表示事項
(植物防疫剤ラベル表示規則 付属書 I (1))

a	the trade name or designation of the plant protection product 植物防疫剤の商標または商品名 (以下「商標または商品名」)
b	the name and address of the holder of the authorisation and the authorisation number of the plant protection product and, if different, the name and address of the person responsible for the final packaging and labelling or for the final labelling of the plant protection product on the market 登録保持者の名称および所在地ならびに登録番号。異なる場合は、最終包装およびラベル表示に責任を持つ者の名称および所在地、または、市場に流通する植物防疫剤の最終ラベルに責任を持つ者の名称および所在地 (以下「登録番号」および「登録保持者の名称および所在地」)
c	the name of each active substance expressed as provided for in Article 10 (2.3) of Directive 1999/45/EC of the European Parliament and of the Council with clear indication of the chemical form. The name must be as given in the list contained in Annex VI to Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council or, if not included therein, its ISO common name. If the latter is not available, the active substance shall be designated by its chemical designation according to IUPAC rules 化学式が明らかであるものについては欧州議会および理事会指令 1999/45/EC の第 10 条(2.3)で規定されている各有効成分の名称。名称は欧州議会および理事会規則 (EC) 1272/2008 の Annex VI の表に示すもの、または、その中にない場合は、ISO 名としなければならない。ISO 名がない場合は、IUPAC 基準に従った化学式を命名する。 (以下「有効成分の名称」)

d	the concentration of each active substance expressed as follows: (i) for solids, aerosols, volatile liquids (maximum boiling point 50 °C) or viscous liquids (lower limit 1 Pa s at 20 °C), as % w/w and g/kg, (ii) for other liquids/gel formulations, as % w/w and g/l, (iii) for gases, as % v/v and % w/w. If the active substance is a micro-organism, its content shall be expressed as the number of active units per volume or weight or any other matter that is relevant to the micro-organism, e.g. colony forming units per gram (cfu/g); 各有効成分の含有量は以下のとおり表示する。 (i) 固体、エアゾル、揮発性液体（最高沸点 50℃）または粘着性液体（20℃、1 Pa）は % w/w または g/kg (ii) その他の液体またはゲルは % w/w または g/l (iii) 気体は % v/v または % w/w 有効成分が微生物の場合は、体積または重量あたりの活性単位数あるいは 1 g あたりのコロニー形成単位 (cfu/g) のような微生物に関係するその他の単位を表示する。 (以下「有効成分の含有量」)
e	the net quantity of plant protection product given in: g or kg for solid formulations, g, kg, ml or l for gases and ml or l for liquid formulations 固体製剤であれば g または kg、気体であれば g、kg、ml または l および液体製剤であれば ml または l として表示する植物防疫剤の含量 (以下「含量」)
f	the formulation batch number and production date バッチ番号および製造日
g	information on first aid; 応急処置
h	the nature of any special risks to human or animal health or to the environment, by means of standard phrases selected by the competent authority, as appropriate, from those set out in Annex II Annex II に提示された定型文で所管官庁によって指示された人畜および環境の特別なリスクに基づく定型文 (以下「人畜および環境の特別なリスクの情報」)
i	safety precautions for the protection of human or animal health or of the environment, in the form of standard phrases selected by the competent authority, as appropriate, from those set out in Annex III Annex III に提示された定型文で所管官庁によって指示された人畜および環境を保護するための使用上の注意 (以下「人畜および環境を保護するための使用上の注意」)
j	the type of action of the plant protection product (e.g. insecticide, growth regulator, herbicide, fungicide, etc.) and the mode of action 農薬の用途別分類（例えば、殺虫剤、植物成長調整剤、除草剤、殺菌剤等）および作用機作
k	the type of preparation (e.g. wettable powder, emulsifiable concentrate, etc.) 農薬の剤型（例えば、水和剤、乳剤等）

l	the uses for which the plant protection product has been authorised and any specific agricultural, plant health and environmental conditions under which the product may be used or shall not be used 植物防疫剤の使用について、使用できる、または使用できない具体的な作物、病害および環境条件
m	directions for and conditions of use and the dose rate including where appropriate the maximum dose per hectare per application and the maximum number of applications per year. The dose rate is expressed in metric units, for each use provided for under the terms of the authorisation 使用方法、使用条件および使用量。これらは必要に応じて、1回の散布における1ha当たりの最大使用量および年間最高使用回数を表示する。使用量は登録の条件下で規定する各使用についてメートル法で表示する。 (以下「使用方法、使用条件および使用量」)
n	where appropriate, the safety interval for each use between the last application: (i) sowing or planting of the crop to be protected, (ii) sowing or planting of succeeding crops, (iii) access by humans or animals, (iv) harvesting, (v) use or consumption 必要に応じて、以下の安全な期間 (i) 植物防疫剤の処理から保護される作物のは種、定植までの期間 (ii) 植物防疫剤の処理から後作物のは種、定植までの期間 (iii) 処理から人畜による立入までの期間 (iv) 処理から収穫までの期間 (v) 処理から使用または加工までの期間 (以下「処理後の安全期間」)
o	particulars of possible phytotoxicity, varietal susceptibility, and any other direct or indirect adverse side effects on plants or products of plant origin together with the intervals to be observed between application and sowing or planting of: - the crop in question, or - subsequent and adjacent crops; 植物毒性、品種間の感受性および処理と以下の作物のは種または定植の間の植物または植物由来の製品に対する直接的または間接的悪影響 - 該当作物または - 後作物および隣接して栽培する作物 (以下「薬害等に関する情報」)
p	if accompanied by a leaflet, the sentence 'Read accompanying instructions before use'; 冊子を添付する場合、(2)に示した事項を表示し、「使用前に添付している取扱説明書を読むこと」を記載する。 (以下「使用前に添付している取扱説明書を読む旨」)
q	directions for appropriate conditions of storage, safe disposal of the plant protection product and of the packaging; 保管条件、植物防疫剤およびその容器の廃棄方法 (以下「保管条件および容器の廃棄方法」)

r	where necessary, the expiry date for normal conditions of storage; 必要に応じて、通常の条件下での保管期限 (以下「保管期限」)
s	a prohibition concerning the re-use of packaging, except by the authorisation holder and on condition that packaging has been specifically designed in order to allow re-use by the authorisation holder; 登録保持者によって再利用を可能にするために特別な設計をしている容器以外は、容器の再利用に関する禁止 (以下、「容器の再利用の禁止」)
t	any information required by the authorisation in accordance with Articles 31, 36(3), 51(5) or 54 of Regulation (EC) No 1107/2009; 規則(EC) 1107/2009 第31条(認可の内容)、36条(3)(認可のための審査)、51条(5)(マイナー使用への認可の拡大)、54条(研究および開発)に従い認可を必要とする情報
u	the categories of users allowed to use the plant protection product, where use is limited to certain categories. 使用がある分類に制限される場合、植物防疫剤の使用を認められた使用者の分類。 (以下、「使用者分類」)

1.4. 日本、米国およびEUの記載事項比較

日本、米国およびEUでの法律および規則で農薬としてラベルに記載を要求している事項を比較した結果を表4に示す。なお、記載事項は便宜的に「基本情報」、「使用方法に関する情報」および「その他」の3つの分野に分類した。

基本情報は農薬の品質および製造に関する事項をまとめたもので、各地域によって表示事項が異なっている。例えば、物理的・化学的性状の記載は日本のみで表示されている。また、その他成分の記載は、日本では種類まで表示するものの、米国では OTHER INGREDIENTS xx.x% または INERT INGREDIENTS xx.x% と表示し、その他成分の具体的な種類まで表示しない。EUではその他成分の情報は表示しない。さらに、日本では製造場の名称および所在地を表示するが、米国は製造場番号で表示し、EUでは製造場に関する情報を表示しない。

使用および管理に関する情報は、農薬の使用方法やリスク管理措置に関する事項をまとめたもので、記載ぶりは異なるものの、各地域ともほぼ同様の内容であった。

表 4. 日本、米国および EU での法律および規則で農薬としてラベルへの記載が要求されている事項の比較

	日本 農薬取締法第 7 条	米国 40 CFR 156.10	EU 規則 (EU) No 547/2011 Annex I (1)
基本情報	・ 登録番号	・ 登録番号	・ 登録番号
	—	・ 製造業者、登録保持者または製造者の 名称および所在地	・ 登録保持者の名称および所在地
	・ 農薬の名称	・ 販売時における名称、ブランドまたは 商標	・ 商標または商品名
	・ 農薬の種類	—	・ 農薬の剤型
	—	—	・ 農薬の用途別分類および作用機作
	・ 物理的・化学的性状	—	—
	・ 内容量	・ 内容量	・ 内容量
	・ 有効成分とその他の成分の種類および 含有量	・ 成分に関する事項	・ 有効成分の種類 ・ 有効成分の含有量
	・ 製造場の名称および所在地	・ 製造場番号	—
	—	—	・ バッチ番号および製造日
	・ 最終有効年月	—	・ 保管期限
使用方法に関する情報	・ 適用病害虫および使用方法	・ 使用方法	・ 植物防疫剤の使用について、使用できる、または使用できない具体的な作物、病害および環境条件 ・ 使用方法、使用条件および使用量 ・ 処理後の安全期間
	・ 人畜に有害な農薬については、その旨および解毒方法 ・ 水産動植物に有毒な農薬については、その旨 ・ 引火し、爆発し、または皮膚を害する等の危険のある農薬については、その旨 ・ 貯蔵上または使用上の注意事項	・ 危険有害性および使用上の注意	・ 応急措置 ・ 人畜および環境の特別なリスクの情報 ・ 人畜および環境を保護するための使用上の注意 ・ 薬害等に関する情報
その他		・ 使用分類	・ 使用者分類 ・ 使用前に添付している取扱説明書を読む旨 ・ 容器の再利用の禁止 ・ 保管条件および容器の廃棄方法 ・ 規則(EC) 1107/2009 第 31 条（認可の内容）、36 条(3)（認可のための審査）、51 条(5)（マイナー使用への認可の拡大）、54 条（研究および開発）に従い認可を必要とする情報

2. 米国ラベルの表示

2.1. ラベル形態および表示方法

米国ラベルは、日本のように容器にラベルが取り外されないよう貼付して表示する形式以外に、容器から取り外しができるブックレット形式（以下「booklet ラベル」という。）またはその他の取り外し形式（以下「pull-off ラベル」という。）のラベルも認められている。

これら booklet ラベルおよび pull-off ラベルは容器表面に見える表示と容器から見えない表示になってしまう。そこで、40 CFR 156.10 では booklet ラベルおよび pull-off ラベルであっても容器表面に表示しなければならない事項を定めている（表 5）。また、booklet ラベルおよび pull-off ラベルであってもラベル中表示しなければならない事項を定めている（表 6）。

表 5. booklet ラベルおよび pull-off ラベルの容器表面に表示しなければならない事項

i	Name and address of the producer, registrant, or person for whom produced 製造業者、登録保持者または製造者の名称および所在地
ii	Restricted Use Statement (if required) 該当する場合は、使用制限事項
iii	Product Name, Brand or Trademark 名称、銘柄または登録商標
iv	Ingredient Statement 成分に関する事項
v	Signal Word, including Skull & Crossbones, if either are required 注意喚起、ドクロマークを含む注意喚起のいずれかが要求された場合
vi	“Keep Out of Reach Of Children” (KOROC) 小児の手の届くところに置かない旨の表示
vii	Precautionary Statements, including Hazards to Humans and Domestic Animals 人および家畜等飼育動物に対する危険有害性を含む注意事項
viii	EPA Registration Number and EPA Establishment Number 登録番号および製造場番号
ix	Storage and Disposal Statements 保管および廃棄事項
x	Referral Statement to Directions for Use in booklet, if any 小冊子中の使用方法に対する照会事項
xi	Net weight or measure of contents 内容量

表 6. booklet ラベルおよび pull-off ラベル内側に表示してよい事項

i	Name and address of the producer, registrant, or person for whom produced 製造業者、登録保持者または製造者の名称および所在地
ii	Restricted Use Statement (if required) 該当する場合は、使用制限事項
iii	Product Name, Brand or Trademark 名称、銘柄または登録商標
iv	Ingredient Statement 成分に関する事項
v	Signal Word, including Skull & Crossbones, if either are required 注意喚起、ドクロマークを含む注意喚起のいずれかが要求された場合
vi	“Keep Out of Reach Of Children” (KOROC) 「小児の手の届くところに置かない」の表示
vii	Precautionary Statements, including Hazards to Humans and Domestic Animals 人および家畜等飼育動物に対する危険有害性を含む注意事項
viii	EPA Registration Number and EPA Establishment Number 登録番号および製造場番号
ix	Direction for use 使用方法

2.2. 容器における表示位置

容器における表示位置は、ラベル形式のいかんにかかわらず 40 CFR 156.10 (a) (4) (i)および(ii)で定めている（表 7）。

表示事項は、容器表面の見える位置の正面（Front panel）に表示しなければならない事項、容器表面の正面または背面（Front or Back panel）に表示しなければならない事項およびブックレット形式等のラベル内（Back panel）に表示してよい事項が定められている。

表 7. 容器の表示位置と表示事項

表示位置	表示事項
正面	Restricted Use Pesticide Statement 該当する場合は、使用制限事項
	Product Name, Brand or Trademark 名称、銘柄または登録商標
	Ingredient Statement 成分に関する事項
	“Keep Out of Reach of Children” (KOROC) Statement 小児の手の届くところに置かない旨の表示
	Signal Word 注意喚起

表示位置	表示事項
	First Aid 応急処置
	“Skull & Crossbones” Symbol and the word “POISON” 該当する場合、ドクロマークと「POISON」の表示
	Net Contents/Net Weight 内容量
正面 または 背面	EPA Registration Number & Establishment Number 登録番号および製造場番号
	Company Name & Address 会社名および所在地
	Mode of Action Numerical Classification Symbol 作用機作分類の記号
背面	Precautionary Statements 使用上の注意
	Directions for Use 使用方法
	Storage and Disposal 保管および廃棄方法
	Warranty Statement 保証の免責事項
	Worker Protection Labeling 作業保護に関する表示

2.3. 使用上の注意事項

使用上の注意事項は 40 CFR 156.10 (h) で規定されている事項であるが、具体的な記載内容は 40 CFR 156 subpart D, E および K (40 CFR 156.60 から 156.85 および 156.200 から 156.212) で定められている。

ラベル表示にあたり、頭書きに「Precautionary statements」と表示する。

使用上の注意事項を構成するものは、日本の農薬ラベルと同様に「応急処置」、「人に対する注意事項」、「使用者に対する注意事項」および「環境に対する注意事項」があり、日本ラベルにないものとしては「小児の手の届くところに置かない旨の表示 (Keep Out of Reach Of Children)」がある。

2.3.1. 毒性分類と Signal Word

Signal Word は使用者へ取扱いの注意喚起として、製剤の毒性を一語で表すもので、40 CFR 156.64 で定められている。

Signal Word の表示位置はラベル正面に「DANGER」、「WARNING」または「CAUTION」と表示する。

Signal Word の分類方法の概要は以下のように

なる。

はじめに、Signal Word の分類に先立ち、「急性経口毒性」、「急性経皮毒性」、「急性吸入毒性」、「眼刺激性」および「皮膚刺激性」の 5 つ毒性試験結果から、毒性の高い順に毒性分類 I から IV に分類する (表 8)。なお、これは 40 CFR 156.60 で定められている。

次に、もっとも高い毒性分類に応じて製剤全体の毒性を決定し、「Danger」、「Warning」および「Caution」を表示する。例えば、もっとも高い毒性分類 I である場合は「Danger」、毒性分類 II である場合は「Caution」、毒性分類 III である場合は「Warning」を表示する。なお、すべて毒性分類 IV である場合は Signal Word を表示は求められない。

その他に、急性経口毒性、急性経皮毒性および急性吸入毒性が毒性分類 I に該当する場合または特定物質が含まれる (例えば、メタノールが 4% 以上) 場合は「Danger」、「Poison」およびドクロマークを表示する。毒性分類と Signal Word の表示例を表 9 に示す。

表 8. 米国における毒性分類

	毒性分類 I	毒性分類 II	毒性分類 III	毒性分類 IV
急性経口毒性 (LD ₅₀)	50 mg/kg 以上	> 50～500 mg/kg 以下	> 500～5000 mg/kg 以下	> 5000 mg/kg
急性経皮毒性 (LD ₅₀)	200 mg/kg 以上	> 200～2000 mg/kg 以下	> 2000～5000 mg/kg 以下	> 5000 mg/kg
急性吸入毒性 (LC ₅₀)	0.2 mg/L 以上	> 0.2～2 mg/kg 以下	> 2～20 mg/kg 以下	> 20 mg/kg
眼刺激性	腐食性 あり	腐食性 なし	腐食性 なし	腐食性 なし
	角膜混濁 未回復 (7 日間)	角膜混濁 回復 (7 日間)	角膜混濁 なし	角膜混濁 なし
		炎症 7 日間以上継続	炎症 7 日以内に回復	炎症 なし
皮膚刺激性	腐食性あり	重度の炎症	中程度の炎症	軽度の炎症

表 9. 米国における毒性分類および Signal Word の分類例

	例 1	例 2	例 3	例 4	例 5	例 6	例 7
急性経口毒性 (LD ₅₀)	IV	IV	III	II	IV	IV	III
急性経皮毒性 (LD ₅₀)	IV	III	IV	III	III	IV	IV
急性吸入毒性 (LC ₅₀)	IV	IV	IV	I	III	III	IV
眼刺激性	IV	III	II	II	I	I	III
皮膚刺激性	4	III	III	IV	III	II	II
特定物質 ^{※1} の含有	IV	×	×	×	×	<u>Q</u>	<u>Q</u>
Signal Word	— ^{※2}	Caution	Warning	Danger Poison 	Danger	Danger Poison 	Danger Poison 

表中の時計数字は毒性分類

太字部分が Signal Word を決定する毒性分類、下線部分が Signal Word で「Danger」、「Poison」およびドクロマークを示す根拠を示す。

※1 特定物質とは例えばメタノールを 4%以上含有する場合

※2 表示する必要はない。登録保持者が任意で表示する場合は「Caution」と表示する。

2.3.2. KOROC 表示

KOROC とは、「Keep Out of Reach of Children」(小児の手の届くところに置かない)の略でその表示は 40 CFR 156.60 に定められている。

表示位置は「Keep Out of Reach of Children」として Signal Word の上に表示しなければならない。

ただし、農薬が小児に直接曝露するおそれがないと認められる場合は、KOROC はラベルに表示しない。

2.3.3. 応急処置

応急処置 (First Aid) は 40 CFR 156.68 で定められている。

頭書きは「First Aid」または「Statements of

Practical Treatment」と表示する。なお、EPA 当局は「First Aid」と表示することを推奨している。

表示位置は、いずれかの毒性分類 I である場合はラベル正面に記載するが、それができない場合はラベル正面に「See first aid/statement of practical treatment on back panel」を表示し、ラベル背面に応急処置を記載する。毒性分類 II または III である場合は、ラベルの見える位置に表示する。なお、すべて毒性分類 IV である場合は表示する必要はないが、登録保持者が任意で記載することを認めている。

応急処置に関する事項は、2.3.1 項で述べた各毒性分類に応じ、PR notice 2001-1 (First Aid Statements on Pesticide Product Labels) で定められてい

る。例として、急性吸入毒性に関する注意事項を表 10 に示す。

2.3.4. 人に対する注意事項

人に対する注意事項は 40 CFR 156.70 で表示方法が規定されている。

頭書きは「Precautionary statements」と表示した章の中に「Hazards to Humans and Domestic Animals」と表示する。ただし、家畜等飼育動物（Domestic Animal）に曝露するおそれがない場合は「Hazards to Humans」と表示する。

表示位置は容器の見える位置でなければならない。

注意事項は 2.3.1 項で述べた各毒性分類に応じ、定型文を定めている。例として、急性吸入毒性に関する注意事項を表 10 に示す。

なお、メタノールを 4 %以上含有する製品は「Methanol may cause blindness (メタノールによって失明するおそれがあるので注意すること)」を表示する。

表 10. 米国における人に対する注意事項および毒性分類の記載例（急性経口毒性）

毒性分類	応急処置	人に対する注意事項
I	If swallowed: - Call a poison control center or doctor immediately for treatment advice. - Have person sip a glass of water if able to swallow.	Fatal if swallowed. Wash thoroughly with soap and water after handling and before eating, drinking, chewing gum, using tobacco or using the toilet. ・ 飲み込んだ場合、死亡する。農薬使用後および飲食前、喫煙前またはトイレを使用する前に石けんでよく洗う。
II	- Do not induce vomiting unless told to by a poison control center or doctor. - Do not give anything to an unconscious person. ・ 飲み込んだ場合：	May be fatal if swallowed. Wash thoroughly with soap and water after handling and before eating, drinking, chewing gum, using tobacco or using the toilet. ・ 飲み込んだ場合、死亡するおそれがある。農薬使用後および飲食前、喫煙前またはトイレを使用する前に石けんでよく洗う。
III	・ 中毒情報センターまたは医師へ直ちに処置の助言を受ける。 ・ 飲み込むことができる場合は、コップ一杯の水を少しずつ飲ませる。 ・ 中毒情報センターまたは医師が助言しない限り、吐き出させない。 ・ 意識のない人は何もしない。	Harmful if swallowed. Wash thoroughly with soap and water after handling and before eating, drinking, chewing gum, using tobacco or using the toilet. ・ 飲み込んだ場合、害を及ぼす。農薬使用後および飲食前、喫煙前またはトイレを使用する前に石けんでよく洗う。
IV	表示しなくてよい。表示する場合は毒性分類 I から III の応急措置を登録保持者が選択して記載する。	表示しなくてよい。表示する場合は毒性分類 III の注意事項を記載する。

2.3.5. 使用者に対する注意事項

使用者に対する注意事項は 40 CFR 170 (Worker Protection Standard) で使用者の防護措置について規定され、そのラベル表示を 40 CFR 156 subpart K (40 CFR 156.200 から 156.212) で定めている。

使用者に関する注意事項は「防護装備 (Personal Protective Equipment (以下「PPE」))」、「防護装備の洗浄 (Statements for Contaminated PPE)」、「使用時の注意 (Engineering Control)」および「使用に

あたったの推奨事項 (User Safety Recommendation)」の 4 事項で構成されている。

頭書きは「Precautionary statements」と表示した章の「Hazards to Humans and Domestic Animals」と表示した節の中に表示する。

注意事項は 40 CFR 170 に基づき表示するが、40 CFR 156 で規定されている「防護装備に関する注意事項 (Personal Protective Equipment)」を表 11 に示す。

表 11. 米国における防護装備に関する注意事項および毒性分類

各毒性分類に応じて、防護装備を決定し、注意事項とする。

	毒性分類 I	毒性分類 II	毒性分類 III	毒性分類 IV
急性経皮毒性 および 皮膚刺激性※ ¹	Coveralls worn over long-sleeved shirt and long pants ・ 作業服 ・ 長袖シャツおよび長ズボン	Coveralls worn over short-sleeved shirt and short pants ・ 作業服 ・ 長袖シャツおよび半ズボン	Long-sleeved shirt and long pants ・ 長袖シャツおよび長ズボン	Long-sleeved shirt and long pants ・ 長袖シャツおよび長ズボン
	Socks ・ くつ下	Socks ・ くつ下	Socks ・ くつ下	Socks ・ くつ下
	Chemical-resistant footwear ・ 化学防護靴	Chemical-resistant footwear ・ 化学防護靴	Shoes ・ 靴	Shoes ・ 靴
	Waterproof or Chemical-resistant Gloves ・ 耐水または化学防護手袋	Waterproof or Chemical-resistant Gloves ・ 耐水または化学防護手袋	Waterproof or Chemical-resistant Gloves ・ 耐水または化学防護手袋	No minimum ^{※2} ・ なし
急性吸入毒性	Respiratory protection device ・ 呼吸器保護装置	Respiratory protection device ・ 呼吸器保護装置	No minimum ^{※2} ・ なし	No minimum ^{※2} ・ なし
眼刺激性	Protective eyewear ・ 保護メガネ	Protective eyewear ・ 保護メガネ	No minimum ^{※2} ・ なし	No minimum ^{※2} ・ なし

※¹ 急性経皮毒性および皮膚刺激性が異なる毒性分類の場合、毒性が高い（毒性分類の番号の小さい）防護装備を表示する。

※² 毒性および暴露経路から最低限の防護装備の表示をしないものの、農薬によっては当局が表示を要求する場合がある。

2.3.6. 環境に対する注意事項

環境に対する注意事項は 40 CFR 156 subpart E (40 CFR 156.80 および 156.85) で定めている。

頭書きは「Precautionary statements」と表示した章の中に「Environmental Hazards」と表示する。

表示位置は容器の見える位置に表示しなければ

ならない。

注意事項は環境毒性および環境影響に関する試験結果より定型文が定められている。例として、標的外生物（non-target organisms）の注意事項を表 12 に示す。

表 12. 米国における標的外生物に対する注意事項の例

基準	注意事項
鳥類およびほ乳類	
急性経口毒性（ほ乳類） LD ₅₀ ≤ 100mg/kg	This pesticide is toxic to mammals. ・ ほ乳類に対して毒性あり。
急性経口毒性（鳥類） LD ₅₀ ≤ 100mg/kg 亜急性経口投与毒性（鳥類） LC ₅₀ ≤ 500 ppm	This pesticide is toxic to birds. ・ 鳥類に対して毒性あり。

水産動植物		
魚類急性毒性	LC ₅₀ ≤ 1 ppm	This pesticide is toxic to fish and aquatic invertebrates.
その他水生生物	EC ₅₀ ≤ 1 ppm	・ 魚類および水生無脊椎動物に毒性あり.
カキまたはエビ	EC ₅₀ ≤ 1 ppm	This pesticide is toxic to oysters and shrimp. ・ カキまたはエビに毒性あり.

2.3.7. 物理的・化学的性状に関する注意事項

物理的・化学的性状に関する注意事項は引火性または可燃性のおそれのある農薬（例えば、エアゾル剤または乳剤等）に表示するもので、40 CFR 156.78 で定めている。

頭書きは「Precautionary statements」と表示した章の中に「Physical or Chemical Hazards」と表示する。

表示位置は「Hazards to Humans and Domestic Animals」および「Environmental Hazards」後でなければならない。

注意事項は物理的・化学的性状に関する試験結果より定型文が定められている。注意事項を表 13 に示す。

表 13. 米国における物理的・化学的性状に関する注意事項

基準	注意事項
エアゾル製品	
発火点が 20 °F (-7 °C) 未満の場合	Extremely flammable. Contents under pressure. Keep away from fire, sparks, and heated surfaces. Do not puncture or incinerate container. Exposure to temperatures above 130 °F may cause bursting. ・ 極めて高い引火性あり。内部に圧力がかかっているので取扱注意。火気厳禁。容器を焼却しないまたは穴を開けない。130°F (55°C) 以上で爆発するおそれあり。
発火点が 20°F (-7 °C) 以上 80°F (27 °C) の場合 または 噴炎口から 6 インチ (約 15 cm) 離れた位置から、火炎長がさらに 18 インチ (約 47 cm) 以上となる場合	Flammable. Contents under pressure. Keep away from heat, sparks, and open flame. Do not puncture or incinerate container. Exposure to temperatures above 130 °F may cause bursting. ・ 引火性あり。内部に圧力がかかっているので取扱注意。火気厳禁。容器を焼却しないまたは穴を開けない。130°F (55°C) 以上で爆発するおそれあり。
上記以外の場合	Contents under pressure. Do not use or store near heat or open flame. Do not puncture or incinerate container. Exposure to temperatures above 130 °F may cause bursting. ・ 内部に圧力がかかっているので取扱注意。火気の近くで使用または保管しない。容器を焼却しないまたは穴を開けない。130°F (55°C) 以上で爆発するおそれあり。
エアゾル製品以外の農薬	
発火点が 20°F (-7 °C) 未満	Extremely flammable. Keep away from fire, sparks, and heated surfaces. ・ 極めて高い引火性あり。火気厳禁。
発火点が 20 °F (-7 °C) 以上 80 °F (27 °C) 未満の場合	Flammable. Keep away from heat and open flame. ・ 引火性あり。火気厳禁。
発火点が 80 °F (27 °C) 以上 150 °F (66 °C) 未満の場合	Combustible. Do not use or store near heat or open flame. ・ 可燃性あり。火気の近くで使用または保管しない。

2.4. 使用方法

使用法は 40 CFR 156.10 (i) で表示事項が定められている。

頭書きは「Direction For Use」と表示する。

使用法を構成するものは、日本ラベルと同様に「適用内容」を示したものがあり、日本ラベルにないものとしては「使用分類 (use classification)」、「薬剤抵抗性病害虫の発生防止に関する表示」、「薬剤の調製手順」、「灌注および散布の表示」、「絶滅危惧種法に関する表示」等がある。

2.4.1. 適用内容および処理方法に関する表示

適用内容および処理方法に関する表示は 40 CFR 156.10 (i) の(2) (iii) から(vii) に定められている適用作物、適用病害虫、使用量、使用方法および使用時期等を表示するものである。しかし、具体的な記載内容は定められておらず、使用者に必要な情報を表示するようになっている。

表示形式は、日本と同様に表形式での表示以外に、箇条書き形式および文章形式があり、登録保持者が当局に申請をし、登録されたものがラベルに表示される。

2.4.2. 使用分類

使用分類に関する表示は、40 CFR 156.10 (i) の(2) (ii) および(j) で定められている。

40 CFR 156.10 (i) では主に農薬の使用目的以外で使用することを禁止する旨の表示を定めている。

40 CFR 156.10 (j) では広く一般に使用できる農薬 (General Use Pesticide) および使用を制限する農薬 (Restricted Use Pesticide (以下「RUP」という。)) の表示について定めている。

これら農薬の分類は 40 CFR 152 (Pesticide Registration and Classification Procedures) subpart I で定められており、RUP は EPA のホームページ⁹⁾ で閲覧することができる。なお、RUP を流通、販売および使用するには免許が必要であり、流通および販売は州当局へ登録した後に、また使用は州当局の講習を受けた後に資格が付与される。

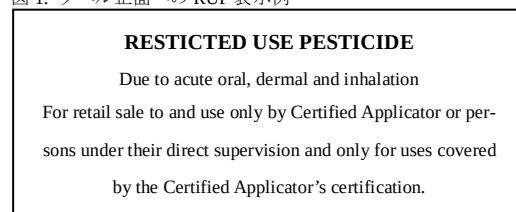
使用を制限する農薬の表示は、40 CFR 156.10 (j) (2) および PR notice 93-1 (Statement of Restricted Use Classification) で定められている。

表示位置はラベル表面の一番上および頭書き「Direction for use」の下に 2 か所に表示する。

ラベル表面の表示内容は、「Restricted Use Pesticide」および使用を制限する理由を表示し、使用を制限する農薬の取扱いを認めた使用者にのみ販売・使用できない旨を四角囲みにして表示をする (図 1)。

また、頭書き「Direction for use」の下にも「Restricted Use Pesticide」と表示する。

図 1. ラベル正面への RUP 表示例



2.4.3. 薬剤抵抗性病害虫の発生防止に関する表示

薬剤抵抗性病害虫の管理に関する表示は、40 CFR 156.10 に定められておらず、任意の表示事項としており、ラベル表示については PR notice 2001-5 (Guidance for Pesticide Registrants on Pesticide Resistance Management Labeling) で定められている。

ラベルには、農薬の作用機作別に分類したコードおよび薬剤抵抗性病害虫の発生防止に関する助言事項を表示する。

農薬の作用機作別に分類したコードは、殺菌剤、殺虫剤および除草剤ごとに、薬剤の交叉耐性のあるグループに分類したもので、薬剤の体系防除および同じ分類の薬剤を連続使用したことによる薬剤抵抗病害虫の発生を防ぐ目的で作用機作分類コードをラベル表示している。なお、作用機作分類コードは農薬企業の国際団体である CropLife International の対策委員会において取りまとめられている。

作用機作分類コードの表示位置は、ラベル正面に表示されている (図 2)。

日本ラベルでは米国ラベルのように有効成分を作用機作ごとに分類はしていないものの、作用性の異なる薬剤を輪番で使用する旨の注意事項を表示している。

図 2. 作用機作分類の表示例

作用機作分類が 1 つの場合

GROUP	2	FUNGICIDE
-------	---	-----------

作用機作分類が異なる混合剤の場合

GROUP	2	1	HERBICIDE
-------	---	---	-----------

殺虫殺菌剤の場合

GROUP	1	FUNGICIDE
GROUP	2	INSECTICIDE

また、薬剤抵抗性病害虫の発生防止に関する助言事項は、頭書きに「Direction for use」とある章の中に「Resistance Management Recommendation」と表示する。なお、一般的な表示事項の例が PR notice 2001-5 に示されている。

2.4.4. 散水機または散布機処理に関する表示

米国では灌漑同時処理 (Chemigation) に関する使用方法について表示するよう PR notice 87-1 (Label Improvement Program for Pesticides Applied through Irrigation Systems (Chemigation)) で定められている。

表示内容は灌漑同時処理をしてはいけない場合はその旨を表示し、灌漑同時処理ができる場合は使用可能な灌漑設備、不適切な灌漑同時処理を行った場合の影響、灌漑同時処理の器具を誤って公共用水設備に接続した場合の危害、毒性分類 I に該当する農薬の灌漑同時処理で取り扱う場合の注意事項等が表示される。

PR notice で灌漑同時処理以外に使用方法に関する表示は定められていないものの、EPA 農薬プログラム部は、散布機でのドリフトの軽減策について表示するよう求めているため、ドリフト軽減に関する表示がなされている。

2.4.5. 絶滅危惧種法に関する表示

米国では絶滅危惧種法 (Endangered Species Act) に基づき、絶滅危惧種に影響を及ぼすおそれのある農薬について必要な表示が定められている。

表示位置は「Direction for use」章のはじめに「Endangered Species Protection Requirements」と表示し、絶滅危惧種に影響を及ぼす農薬であり、使

用に際しては EPA 当局に照会する旨の表示が定められている。また、農薬を使用してはならない州および該当地域が明示されている。

3. EU ラベルの表示

3.1. ラベル形態

EU の農薬ラベルは容器からラベルがはがれないよう貼付して表示する形式以外に、折りたたみ式のリーフレット形式 (fold-out leaflet) および取り外し可能なリーフレット形式 (separate or detachable leaflet) が認められている。

これらリーフレット形式は容器表面から見ることはできない部分があり、そのため、リーフレットに表示してよい事項が植物防疫剤ラベル表示規則 Annex I (2) で定められている (表 3 の m, n, o, q, r および t)。

3.2. 使用者分類

植物防疫剤ラベル表示規則 Annex I (2) u において使用者分類 (The categories of users) の表示を規定しているが、使用者分類は農業者 (Professional uses) および家庭園芸使用者 (Amateur uses) を分類している。

3.3. 使用上の注意

使用上の注意は CLP 規則および植物防疫剤ラベル表示規則で定められている。

化学物質全般に共通する注意事項は CLP 規則で定められ、植物防疫剤固有の注意事項は植物防疫剤ラベル表示規則で定められている。

3.3.1. 毒性分類, Signal Word および GHS 表示

米国と同じく EU においても毒性分類および Signal Word が CLP 規則 Annex I で定められている。

EU の CLP 規則は国連が定めた「化学品の分類および表示に関する世界調和システム (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (以下「GHS」という。))」の図表示に基づいている。

なお、EU における毒性分類および Signal Word は米国とは異なる。例えば、米国では急性毒性、眼刺激性および皮膚刺激性から最も毒性の高い毒性を総合的な毒性としていたが、EU は急性毒性、眼刺激性および皮膚刺激性それぞれについて

評価している。

EU の急性毒性に応じた毒性分類と Signal Word
および GHS 表示を表 14 および 15 に示す。

表 14. EU における毒性分類

	毒性分類 1	毒性分類 2	毒性分類 3	毒性分類 4
急性経口毒性 (LD ₅₀)	5 mg/kg 以下	> 5～50 mg/kg 以下	> 50～300 mg/kg 以下	> 300～2,000 mg/kg 以下
急性経皮毒性 (LD ₅₀)	5 mg/kg 以下	> 5～200 mg/kg 以下	> 200～1,000 mg/kg 以下	> 1000～2,000 mg/kg 以下
急性吸入毒性 (LC ₅₀)：暴露経路に応じて基準値が異なる				
ガス※ ¹	100 ppmV 以下	> 100～500 ppmV 以下	> 500～2,500 ppmV 以下	> 2,500～20,000 ppmV 以下
ガスおよび蒸気の混合気体※ ²	0.5 mg/L 以下	> 0.5～2 mg/L 以下	> 2～10 mg/L 以下	> 10～20 mg/L 以下
蒸気または粉じん※ ²	0.05 mg/L 以下	> 0.05～0.5 mg/L 以下	> 0.5～1 mg/L 以下	> 1～5 mg/L 以下

※¹ 体積濃度 (ppmV)

※² 体積あたりの化学物質の吸入量 (mg/L)

表 15. EU における急性毒性の毒性分類に応じた Signal Word, GHS 表示

Signal Word および GHS 表示は植物防疫剤の各急性毒性から総合的に評価をして、毒性分類を決定する。

	毒性分類 1	毒性分類 2	毒性分類 3	毒性分類 4
Signal Word	Danger	Danger	Danger	Warning
GHS 表示				

3.3.2. 人に対する注意事項

人に対する注意事項は CLP 規則 Annex I の 3 および植物防疫剤ラベル表示規則 Annex II および III で定められている。

表示内容は化学物質全般に共通する事項は CLP 規則、植物防疫剤固有のものは植物防疫剤ラベル表示規則によって定められている。

CLP 規則では急性毒性、皮膚刺激性、眼刺激性、

皮膚感作性、変異原性、発がん性、催奇形性等の毒性に応じて毒性分類、Signal Word, GHS 表示および注意事項を定めている。たとえば、急性吸入毒性に応じた注意事項を表 16 に示す。

一方、植物防疫剤ラベル規則では加盟国ごとに使用者に対する適切な防護装備を表示する旨定められているほか、作業状況に応じた注意事項を定められている (表 17)。

表 16. EU における急性吸入毒性の毒性分類に応じた、人に対する注意事項

EU の注意事項は人に対する危険有害性、予防措置および応急処置の注意事項に大別されている。

	毒性分類 1	毒性分類 2	毒性分類 3	毒性分類 4
注意事項	Fatal if inhaled ・ 吸入すると死亡するおそれあり。		Toxic if inhaled ・ 吸入すると中毒を引き起こすおそれあり。	Harmful if inhaled ・ 吸入すると害を及ぼすおそれあり。
予防措置	Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapours/spray. ・ 有害なダスト/ガス/蒸気等を吸入しないこと。 Use only outdoors or in a well-ventilated area. ・ 屋外で使用する。または、十分に換気した場所で使用する。 Wear respiratory protection. ・ 防護マスクを着用すること。		Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/spray. ・ 有害なダスト/ガス/蒸気等の吸入を避けること。 Use only outdoors or in a well-ventilated area. ・ 屋外で使用する。または、十分に換気した場所で使用する。	
応急処置	IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing. ・ 吸入した場合: 空気の神聖な場所に移動し、呼吸しやすい姿勢で安静にさせること。 Immediately call a POISON CENTER or doctor. ・ 直ちに中毒センターまたは医師に連絡すること。		IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing. Call a POISON CENTER or doctor if you feel unwell. ・ 吸入した場合: 気分が悪くなったら中毒センターまたは医師に連絡すること。	

表 17. EU における植物防疫剤ラベル特有の使用者に対する注意事項

注意事項	条件
After contact with skin, first remove product with a dry cloth and then wash the skin with plenty of water. ・ 皮膚に付着したら、最初に乾いた布で拭き取り、大量の水で洗い流すこと。	水と激しく化学反応する有効成分（例えば、シアナミドまたはリン化アルミニウムのような）有効成分を含む植物防疫剤の場合。
Wash all protective clothing after use. ・ 使用後は全ての防護衣を洗浄すること。	表示推奨事項。ただし、人畜毒性の高い植物防疫剤は表示しなければならない。
After igniting the product, do not inhale smoke and leave the treated area immediately. ・ 着火後、煙を吸い込まないようにすぐに適切な場所に待避すること。	防護マスクの使用が必要でないくん蒸剤を使用する場合。
The container must be opened outdoors and in dry conditions. ・ 容器は屋外で空けること、乾燥条件で取り扱うこと。	水または湿度の高い空気と激しく化学反応する有効成分（例えば、リン化アルミニウムまたはアルキレンビス化合物、ジチオカルバマート化合物のように自然発火する化合物）を含む植物防疫剤の場合。
Ventilate treated areas/greenhouses thoroughly/time to be specified/until spray has dried before re-entry. ・ 植物防疫剤の処理区域へ立ち入る前に十分換気すること。	植物防疫剤が温室または施設等で使用する場合。

3.3.3. 環境に対する注意事項

環境に対する注意事項は CLP 規則 Annex III の 4 および植物防疫剤ラベル表示規則 Annex III で定められている。

環境に対する注意事項は「水産動植物」および「鳥類等の野生動物、地上水および土壌」に大きく分類されている。

水産動植物に関する事項は CLP 規則および植物防疫剤ラベル表示規則で定め、鳥類等の野生生物、自然水および土壌に関する事項については植物防疫剤ラベル表示規則で定められている。

3.3.3.1. 水産動植物に関する注意事項

CLP 規則では、化学製品でも混合剤は、構成成分毎に水産動植物の魚類、甲殻類および藻類ならびにその他水産植物の急性毒性および慢性毒性を総合評価して環境毒性を分類し表示する。

水産動植物に対する影響および予防措置の注

意事項について、表 18 に示す。

一方、植物防疫剤ラベル表示規則では水産動植物に対する注意事項として、すべての植物防疫剤ラベルに「Do not contaminate water with the product or its container (Do not clean application equipment near surface water/Avoid contamination via drains from farmyards and roads). (植物防疫剤またはその容器で水を汚染しないこと (散布器具を水系付近で洗浄しないこと/農地および道路を經由した汚染を避けること).)」を表示するよう定めている。

3.3.3.2. 鳥類等の野生生物、地上水および土壌に関する注意事項

植物防疫剤ラベル規則では鳥類等の野生生物、地上水および土壌に関する事項を定めている（表 19）。

表 18. EU における水産動植物に対する Signal Word, GHS 表示および注意事項

	急性毒性	慢性毒性			
	分類 1	分類 1	分類 2	分類 3	分類 4
Signal Word	Warning	Warning	—	—	—
GHS 表示				—	—
注意事項	Very toxic to aquatic life ・水産動植物に対して猛毒	Very toxic to aquatic life with long lasting effects ・水産動植物に対して猛毒の長期影響を与える	Toxic to aquatic life with long lasting effects ・水産動植物に対して有毒の長期影響を与える	Harmful to aquatic life with long lasting effects ・水産動植物に対して長期影響を与える	May cause long lasting harmful effects to aquatic life ・水産動植物に長期影響を与えるおそれがある

表 19. EU における植物防疫剤ラベル特有の環境に対する注意事項

注意事項	条件
To protect groundwater/soil organisms do not apply this or any other product containing (identify active substance or class of substances, as appropriate) more than (time period or frequency to be specified). ・ 地下水または土壌生物を保護するため、(指定された期間または回数)以上に(同一有効成分または同様の物質)を含む植物防疫剤を処理しないこと。	環境影響評価の結果、土壌への蓄積、地下水の汚染または土壌生物の影響が懸念される場合
To protect groundwater/aquatic organisms do not apply to (soil type or situation to be specified) soils. ・ 地下水または水産動植物を保護するため、(指定された土壌種類または土壌条件)土壌に処理しないこと。	環境影響評価の結果、地下水の汚染および水産動植物に影響する可能性がある場合
To protect aquatic organisms/non-target plants/non-target arthropods/insects respect an unsprayed buffer zone of (distance to be specified) to non-agricultural land/surface water bodies. -水系生物、標的外植物、標的外節足動物または昆虫を保護するため、非農耕地または表層水に対し植物防疫剤を処理しない(指定された距離をとった)緩衝地帯を遵守すること。	環境影響評価の結果、非標的生物に影響が懸念される場合
To protect aquatic organisms/non-target plants do not apply on impermeable surfaces such as asphalt, concrete, cobblestones, railway tracks and other situations with a high risk of run-off. ・ 水系生物/標的外植物を保護するため、流出のリスクが高い不透水性地面(例えばアスファルト、コンクリート、石畳および線路等)には散布しないこと。	植物防疫剤の使用方法によるが、EU加盟国が独自に定める場合
To protect birds/wild mammals the product must be entirely incorporated in the soil; ensure that the product is also fully incorporated at the end of rows. ・ 鳥類/野生ほ乳類を保護するため、植物防疫剤を土壌中に完全に混和すること。植物防疫剤が畝の末端ですべて確実に混和させること。	粒剤および顆粒状製剤の場合
To protect birds/wild mammals remove spillages ・ 鳥類/野生ほ乳類を保護するため、漏出液をふき取ること。	液体に溶かして使用する粒剤および顆粒状製剤の場合
Do not apply during the bird breeding period. ・ 鳥類の繁殖期間に処理しないこと。	環境影響評価の結果、必要と認められた場合
Dangerous to bees. ・ 蜜蜂に対して有害 To protect bees and other pollinating insects do not apply to crop plants when in flower. ・ 蜜蜂および花粉媒介昆虫を保護するため、開花期に処理しないこと。 Do not use where bees are actively foraging. ・ 蜜蜂の採蜜時期に使用しないこと。 Remove or cover beehives during application and for (state time) after treatment. ・ 処理中および処理後(処理時)に巣箱を移動または覆うこと。 Do not apply when flowering weeds are present. ・ 開花している雑草がある場合は処理しないこと Remove weeds before flowering. ・ 雑草が開花する前に除草すること。 Do not apply before (state time). ・ ~前(間)に処理しないこと。	環境影響評価の結果、必要と認められた場合

3.3.4. 物理的・化学的性状に関する注意事項

物理的・化学的性状に関する注意事項は、CLP 規則 Annex I の 2 により「爆発性を有する物質」、「引火性ガス」、「加圧ガス製品」、「引火性液体」等の化学製品に表示する内容について定めている。

一般的な植物防疫剤の場合、乳剤および油剤で

あれば「引火性液体」、エアゾル剤であれば「加圧ガス製品」の注意事項が表示される。

表示内容は Signal Word、GHS 表示および注意事項が表示される。引火性液体の表示を表 20 に示す。

表 20. EU における物理的・化学的性状に関する基準、Signal Word、GHS 表示および注意事項（引火性液体）

		分類 1	分類 2	分類 3
基準	引火点	23 °C 未満	23 °C 未満	23 °C 以上 60 °C 以下
	初留点 ^{*1}	35 °C 以下	35 °C より高い	—
Signal Word		Danger	Danger	Warning
GHS 表示				
注意事項		Extremely flammable liquid and vapour. ・ 極度に引火しやすい液体および蒸気	Highly flammable liquid and vapour ・ 引火しやすい液体および蒸気	Flammable liquid and vapour ・ 引火性液体および蒸気
予防措置		Keep away from heat/sparks/open flames/hot surfaces. — No smoking. ・ 火気厳禁。禁煙。 Keep container tightly closed. ・ 容器は密栓すること。 Ground/bond container and receiving equipment. Use explosion-proof electrical/ventilating/lighting/.../equipment. Use only non-sparking tools. ・ 取扱いにあたっては、耐火容器および装置を使用すること。 Take precautionary measures against static discharge. ・ 静電気に対する予防措置を講じること。 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. ・ 防護手袋、防護衣、防護マスクを着用すること。		
応急処置		IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower. ・ 皮膚（または頭髮）に付着した場合： 直ちに衣類を脱ぎ、よく洗い流すこと。 In case of fire: Use ... for extinction. ・ ...を使用して消火すること。		

*1 ある液体の蒸気圧が標準気圧（101.3kPa）に等しくなる、すなわち最初にガスの泡が発生する時点での液体の温度をいう。

厚生労働省 有害性・GHS 関係用語（http://anzeninfo.mhlw.go.jp/user/anzen/kag/kag_yogo02.html）

3.4. 使用方法

使用方法是植物防疫剤ラベル表示規則 Annex I

(1) (I), (m)および(n)（表 3）に定められており、その内容は適用作物、適用病害虫、使用時期、1ha 当たりの最大使用量および 1 作期当たりの最高使用回数ならびに使用量、使用方法等である。

おわりに

農薬のラベル表示は緒言でも述べたように、国毎に異なるが、農薬を安全に使用する上で重要な情報である。今回、米国および EU における農薬ラベル表示について、記載される事項およびその

内容について調査を行ったが、各国の法律により記載すべき事項が同一であるもの、または、異なるものが大まかであるが整理できた。しかし、今回の調査は、細かな記載ぶり等についてまで行わず、必ずしも十分な整理・比較ができたわけではないが、関係者の今後の業務に少しで参考になればと期待するものである。

謝 辞

本調査にあたり、貴重な情報、助言等をいただいた関係者の皆様に深謝申し上げます。

参考文献

- 1) 昭和 23 年 7 月 1 日付け法律第 82 号 (1948) : 農薬取締法
- 2) 昭和 26 年 4 月 20 日付け農林省令第 21 号 (1951) : 農薬取締法施行規則
- 3) 平成 15 年 6 月 25 日付け 15 生産第 2306 号 農林水産省生産局長通知 (2003) : 農薬を販売する際の表示要領
- 4) United States Environmental Protection Agency : The Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act (FIFRA)
<http://www2.epa.gov/laws-regulations/summary-federal-insecticide-fungicide-and-rodenticide-act> (2015 年 6 月 3 日閲覧)
- 5) The U.S. Government Publishing Office : 40 CFR part 156 -Labeling Requirements for Pesticides and Devices-
<http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=bb67ec16de7dd4af28f4113ac4fb2410&mc=true&node=pt40.24.156&rgn=div5> (2015 年 6 月 3 日閲覧)
- 6) United States Environmental Protection Agency : Pesticide Registration Notices
<http://www2.epa.gov/pesticide-registration/pesticide-registration-notices-year> (2015 年 6 月 3 日閲覧)
- 7) Label Review Manual
<http://www2.epa.gov/pesticide-registration/label-review-manual> (2015 年 6 月 3 日閲覧)
- 8) EUR-Lex :
<http://eur-lex.europa.eu/homepage.html> (2015 年 6 月 3 日閲覧)
- 9) Restricted Use Products (RUP) Report
<http://www2.epa.gov/pesticide-worker-safety/restricted-use-products-rup-report> (2015 年 6 月 3 日閲覧)

検量線に関わる理論と評価方法について

北村 恭朗

独) 農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

我々が業務で行っている農薬の定量分析（製剤中の有効成分含有量，作物や環境試料中の残留農薬量等の測定）には，通常検量線の利用が不可欠である．現在では，GC や HPLC 等の測定機器を制御するワークステーションが検量線の作成も半自動的にしてくれるため，我々分析技術者が，検量線を電卓で計算するような機会はない．しかし，検量線を用いる「相対定量法」には，しっかりとした理論の裏付けが有り，それらの理論を理解せずにワークステーションが算出する検量線を闇雲に信じたり，Excel 等のソフトで自己流の計算を行うと，思わぬ大失敗に繋がる可能性がある（間違った計算方法で求めた検量線を用いて，定量値を求めその値を外部に報告してしまうと取り返しがつかない）．検量線に関わる理論は分析技術者にとっては，基礎中の基礎であるが，近年，しっかりと教わる機会が少なくなっていることを反映して，理解不足の分析技術者も少なくない．

本稿では，検量線を間違いなく使うための理論と知識の獲得を目的とした解説と，さらに深く理解するために必要な項目の紹介を行った．

Keywords：定量分析，検量線，最小自乗法，独立変数，従属変数

緒 言

定量分析には，「絶対定量法」と「相対定量法」の2つがある．絶対定量法は，検量線も比較標準も必要としない精確で絶対的な定量法であり，重量分析や容量分析が代表的なものである．相対定量法は，一般的に標準試料を用いて検量線を作成し，得られた検量線から逆推定といわれる手法を使って，未知試料中の測定対象物質の濃度を推定する定量法を指す．GC や HPLC 等を用いた機器分析は，基本的に相対定量法に基づいており，農薬の残留分析も，ほとんどのものが相対定量法に依っている．残留農薬分析化学者にとって，検量線は日々当たり前のように取り扱っているツールであることから，特に復習する必要性を感じていないかもしれない．しかし，検量線は，相対定量法の理論的支柱であり，正しく使うために知っておくべき基礎理論は少なくない．本稿は，検量線に関わる基本的な理論と評価法を確認することを目的としている．

1. 検量線とは

検量線とは，簡単に言えば“物質の量，濃度等と光学的・電気的信号等の測定値との関係を表した線”のことである．英語では，一般的に”

Calibration curve”あるいは，“Standard curve”と呼ばれる．この言葉から分かるように，検量線の”線”は直線のみではなく”Curve”との認識を持つておく必要がある．また，“Dose response curve”あるいは，“Dose response relationship”という表現も使われる．これらの表現は，検量線の性格を的確に表している．やや詳しく表現すれば，検量線とは，“検出器へ導入する測定対象物質の用量とその量に応じて出力されるセンサーの信号量（吸光度やピーク面積等）の関係を連続的に結びつけたもの（いわゆる応答関数）”と言える．定量結果の精度と正確さの観点から，検量線は直線であることが好ましい．なぜならば検量線が直線ではない（曲線あるいは途中で傾きが変わる）ということは，検量線のレンジにより誤差の伝搬度合いが異なってしまうことを意味し，一連の定量分析でこのようなことが生ずることはできるならば避けるべきであるからである．さらに，直線は数学的に取り扱い易いという大きな利点を持っている．この利点は非常に重要であり，定量計算を行う際の大きなアドバンテージとなる．しかし，理論的に応答関数が曲線となる検出器や ELISA 等抗原抗体反応を利用する測定系の場合には必然的に検量線は曲線となる．この場合，定量値の精度は測定濃度域により大きく変化することになる．検量線の形状によりなぜ，定量値の

精度が変化してしまうのか、検量線の評価には、どのような方法が有り、どのように使用するか、そもそも x 軸と y 軸の取り方は等々、検量線を使用する際には、その基礎理論の理解が欠かせない。

2. 検量線に関する知識の確認

以下に検量線に関する基礎理論を理解する上で重要な用語を選抜して列記した。これらの用語のうち良く理解しているものはどのくらいあるか。また、良く知らないあるいは聞いたことがないというものはどのくらいあるか。まずは、確認して頂きたい。

- ・ 回帰直線とは？
- ・ 最小自乗法（最小二乗法）とは？
- ・ 測定法間比較に用いる回帰直線の主な求め方の種類は？
- ・ 独立変数、従属変数、説明変数、目的変数とは？
- ・ 逆推定とは？
- ・ 相関係数とは？
- ・ 決定係数とは？
- ・ 寄与率とは？
- ・ 残差とは？
- ・ 残差プロットとは？
- ・ x から y への回帰とは？
- ・ y から x への回帰とは？
- ・ 重み付き最小自乗法の「重み」とは？

- ・ 検出限界とは？
- ・ 定量限界とは？
- ・ Precision Profile (P.P.)とは？
- ・ Response Error Relationship (RER)とは？
- ・ 非線形回帰とは？

検量線に関する理論を一通り理解するまで勉強すれば、上述した用語についての知識も自然と身につけているはずである。

3. 検量線と回帰直線

一般的に検量線には、回帰直線が用いられる。測定対象物質の標準液の濃度とセンサーの出力値をプロットすると、たいていの場合、プロットは直線に乗る。以前は、方眼紙にデータをプロットし、定規を用いて全てのプロットに最もフィットする直線を引き回帰直線とし、この直線を検量線とした。このやり方では、検量線の理論を知らないと理論に従った回帰直線を求めることはできない。その後、電卓が一般的になると最小自乗法を用い、理論に忠実な回帰直線を計算で求めることができるようになった。

ところで、2つの測定値の関係を表す回帰直線を求める方法は、大きく分けて5種類ある。検量線からは少し脱線する部分もあるが、線形回帰への理解を深め、今後の説明を容易にするため、その特徴を簡単に紹介する（表1）。

表1. 5種類の回帰直線の比較¹⁾

方法	目的	計算基準
① x → y の回帰	x → y の関係・予測	$[\sum \Delta y^2]$ を最小にする
② y → x の回帰	y → x の関係・予測	$[\sum \Delta x^2]$ を最小にする
③ 標準主軸回帰	x と y の関係	$\sum \Delta x * \Delta y$ を最小にする
④ 主成分回帰	x と y の関係	$[\sum \Delta h^2]$ を最小にする
⑤ Deming 回帰	x と y の関係	S_d を最小にする

Δy は、各点から回帰直線までの垂直距離

Δx は、各点から回帰直線までの水平距離

Δh は、各点から回帰直線までの距離（④は直交回帰とも呼ばれる）

S_d は、測定機器等に由来するデータそのもののバラツキを加味して求める指標値

①～⑤は、いずれもデータを回帰式 $y=a+bx$ （②は、 $x=a+by$ ）に当てはめる。①と②は、その目的が、一方の測定値を他方に関係づける、または

一方の測定値から他方の測定値を予測することにあるが、③～⑤は、両測定値の間の平等な関係を求めることにある。③～⑤は、関数電卓で計算

することも可能ではあるが、コンピューターを用いなければ、実用に用いるのは難しい。パーソナルコンピューターの登場以来、これらの計算は年々簡易に行えるようになってきている状況にあり、既に指導的立場にある残留農薬分析化学者には、目的に応じてこれらを的確に使い分ける力が必要とされる時代である。

さて、本稿のテーマである検量線である。検量線は、測定値（センサーの出力値）である y にはバラツキがあり、標準品の濃度である x にはバラツキがないとして、測定値 y のバラツキが最も小さくなる回帰直線を最小自乗法で求める。これは、本稿の**最重要確認事項**である。このことを理解するために、 x から y への回帰である①と、 y から x への回帰である②の回帰直線がどのように異なるのか理解することが必須である。①と②の回帰直線をそれぞれ図1と図2に示す。

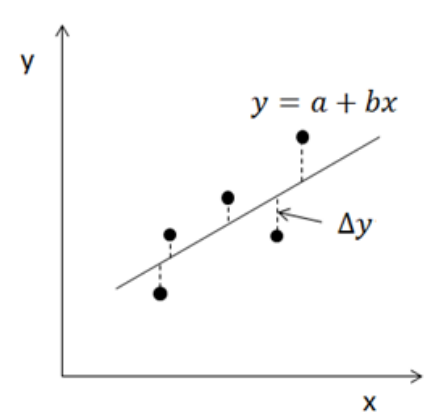


図1. x から y への回帰

Δy は、各点から回帰直線までの垂直距離である。 x から y への回帰では、 $\sum \Delta y^2$ を最小とする a と b を求める。繰り返になるが、検量線を作成する場合では、個々のデータに関して、 x 軸方向のバラツキはないが、 y 軸方向にはバラツキがある（センサーの出力値にはバラツキがある）と考え、 x 軸は固定し y 軸方向のバラツキを最小とする直線を求める。それが、 x から y への回帰直線である（図1）。

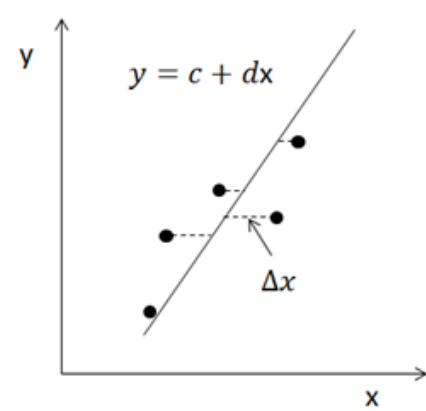


図2. y から x への回帰

一方、図2は y から x への回帰を示しているが、この場合は、各点から回帰直線までの水平距離である Δx に着目し、 $\sum \Delta x^2$ を最小とする c と d を求める。同じデータを用い、最小自乗法という手法を使いバラツキが最小となる回帰直線を求めるのであるから、両者は同じ結果になるはずだと考えるかもしれない。しかし、図1と図2を見れば一目瞭然であるように、 x から y への回帰で求めた回帰直線と y から x への回帰で求めた回帰直線は全く別物である。ちなみに、 Δx や Δy のことを残差と呼ぶ。

4. 独立変数，従属変数，説明変数，目的変数

検量線を作成するということは、 x （濃度）と y （出力値）の因果関係进行分析しているということである。因果関係では、原因となるものを「独立変数（説明変数ともいう）」といい、その要因に応じて現れるものを「従属変数（目的変数ともいう）」という。検量線の作成において x がどちらの変数で、 y がどちらの変数であるかについて理解しておく必要がある。

5. 逆推定

「相対定量法」では、すべからく検量線を作成し、その検量線を用いて従属変数 y から独立変数 x を推定し定量値を得る。この、従属変数 y から独立変数 x を推定することを逆推定と呼ぶ。方眼紙に定規を使って検量線を書いていた時代では、目視で数値を読み取るしか無かったが、直線回帰

によって検量線を得ていれば、以下のように一次式を変換するだけで、従属変数 y から独立変数 x を計算することができる。

$$y=a+bx \quad \rightarrow \quad x=(y-a) \div b \quad (1)式$$

(1)式にセンサーの出力値である従属変数 y を代入することにより濃度 x が推定できる。一次式を変換しなければならないので面倒に思えるかもしれないが、これ以外の方法はない。

マイクロソフト社の Excel という表計算ソフトに”Forecast”という関数がある（対応バージョン：2007, 2010, 2013）。これは、 y のデータと x のデータから回帰直線を求め、予測に使う x に対応する y の値を求める関数である。この関数を使用すれば、わざわざ一次式を変換し逆推定の計算などしなくて良い（関数のコピーのみで使い回し OK）と考えている方がいるかもしれないが、今までの説明を理解すればわかるように、これは絶対にしてはいけない（本稿で 2 番目に重要な事項）。もし、少しでも疑問が残る場合には、今一度、独立変数と従属変数の意味を考えて頂きたい。

6. 相関係数、決定係数、寄与率

回帰直線を計算する際に、相関係数（一般的に” r ”と表記する）を計算しデータの直線性の目安にする。 r は、 $-1 \leq r \leq 1$ の範囲の数値になり、1 または -1 の場合、全データが直線上に並び（完全一致）、0 ならば全く相関がないことを示す。では、決定係数とはなにか。概念的な説明をすると、「決定係数とは、 x の値で y の値が決定できる割合を示しているもの」といえる。この値は、回帰平方和を全平方和で除すことにより求まる。この数値は、 r の自乗と同じなので r^2 と表記される。また、 r^2 が 0.98 の時、0.98 に 100 を乗ずると % になり、98% という数字が得られ、この場合、寄与率は 98% であるという。この寄与率は、分散分析を勉強されている方にはおなじみのものである。

解析の対象が、相関関係の場合には r を、回帰式の適合度の場合には r^2 を使用する。

7. 残差プロット

横軸に濃度、縦軸に残差（ Δy ）をプロットしたものが、残差プロットである。検量線の評価に

は必須のものといえる。決定係数で回帰直線の適合性はある程度判断できるが、残差の分布により、データが真に直線性を示しているかどうか、例えば検量線の直線性がある濃度から低下し始めていないか、検量線からずれている特定の濃度領域がないかどうか等を残差プロットで確認する必要がある。残差プロットを見て、残差がプラスとマイナスにランダムに上下していれば、直線による回帰は正当といえる。また、残差をヒストグラムにして観察することも有効である。残差の分布が正規分布を示せば、直線での回帰の適合性を支持している。

8. Precision Profile (P.P.) , Response Error Relationship (RER)

測定結果の精度は、濃度によって異なるのが普通である。横軸を濃度、縦軸を測定値の標準偏差（SD）あるいは変動係数（CV）とし、データをプロットしたものが、Precision Profile (P.P., 精度プロフィール)である（図 3）。P.P.を作成することにより、全測定濃度領域での定量値の精度を知ることができる。Response Error Relationship (RER) の作成では、横軸に同一試料の測定値（Response）の平均値を取り、縦軸にその試料の測定値の標準偏差をプロットする（図 4）。当然、同一試料を多重測定していることが前提となる。このプロットを用いて、最小自乗法により原点を通る回帰直線（ $y=mx$ ）を求める。RER における傾き m が小さい程、この測定における精度が良いことになる。

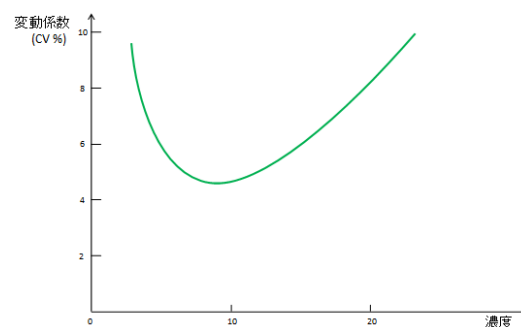


図 3. Precision Profile (P.P.)

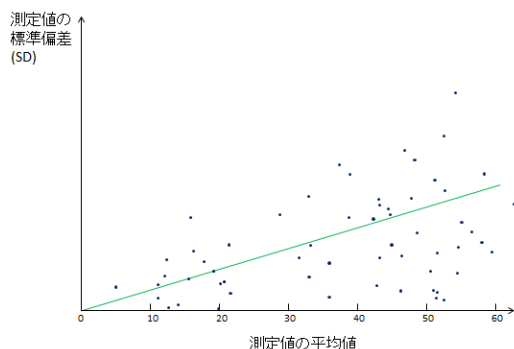


図 4. Response Error Relationship (RER)

RER から得られる測定値に対応した SD を、当該測定値における検量線の勾配 (Slope) で除すことにより、定量値の SD を連続的に求めることができる。このようにして得た定量値の SD を利用して P.P.を作成する。

9. 検出限界，定量限界

検出限界の求め方は、S/N 比を利用する等多くの考え方があるが、検量線から理論的に考えることもできる。ブランク試料における測定値 (Response) は、一般的には電気的なノイズ等が加味され正の値となる。そこから、測定対象物質の濃度を少しずつ増やしていくと、初めのうち検出器は反応しないが、ある濃度から徐々に反応し測定値が上昇していく。つまり、検量線は、ダイナミックレンジを外れた低濃度では勾配が穏やかになり、ブランク付近ではほぼ傾きがゼロになる (図 5)。

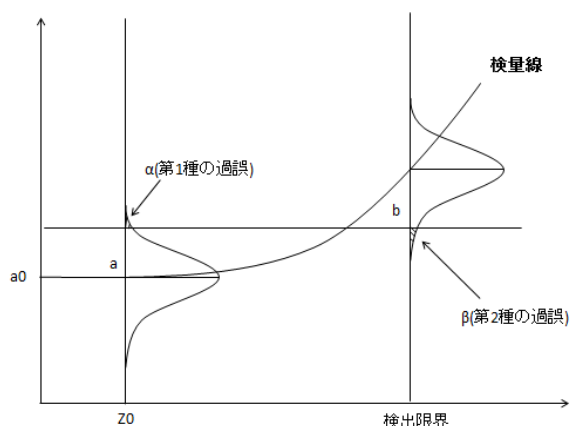


図 5. 検量線から理論的に考える検出限界

測定値 (Response) は誤差を持ち、その誤差は正規分布をすると仮定できることから、図 5 に示すようにブランクなのに検出と過誤 (第 1 種の過誤) をしてしまうことがない値 (判定限界と呼ぶことがある) と、測定対象物質が含まれているにもかかわらずブランクと判定してしまう過誤 (第 2 種の過誤) を犯すことがないと判断できる値を統計的に求めることができる。第 2 種の過誤を犯さない最小値が、理論的な検出限界値である。

定量限界とは、用いる測定方法で測定対象物質の定量が可能な最小量あるいは最小濃度であり、定量結果の信頼性 (通常はバラツキの程度) が証明されていない限りではない。

10. 重み付き最小自乗法

最小自乗法では回帰式による残差が等分散性 (誤差の母分散は全て等しい) を持つことが前提となっている。等分散性が満たされていない測定系では、データに重みをつけることにより等分散性を確保し、最小自乗法を適用する必要がある。

現在のところ、残留農薬分析の世界では、検量線を作成する際に重み付き最小自乗法を用いている例はほとんど見られないが、LC-MS/MS を利用した場合に、特に低濃度領域での残差の等分散性が満たされていない事例が多く見られるようになってきている。近い将来には、そのような場合の検量線作成には、重み付き最小自乗法の利用が一般的になると思われる。誤用しないために、当該理論に関する知識の獲得が必須である。

11. 非線形回帰

競合法に基づいた ELISA 等では、原理的に応答関数は 3 パラメーターロジスティック曲線や 4 パラメーターロジスティック曲線になる。また、ガスクロマトグラフの代表的検出器の一つである、炎光光度検出器 (Flame Photometric Detector : FPD) では、硫黄、りん、およびすずを含有する化合物を検出することができるが、硫黄の場合、炎光量は S_2 量に比例するため、検量線は二次曲線となる。このような場合に、曲線にデータ変換を経ずに直接回帰させ、曲線の回帰式を求めることを非線形回帰という。

12. まとめ

本稿では、検量線に関わる基本的な理論と評価法を解説した。検量線は残留農薬分析化学者にとって、日常的に使用しているものであり、また、単に使うだけならば全く難しいものではない。しかし、基本的な理論を知るだけで、同じ検量線を用いても定量結果への理解の仕方が全く異なるものとなる。この機会に、x 軸と y 軸の取り方、検量線では x から y への回帰が絶対であることなどについて、理論に基づき再確認していただければ幸いである。

また、当然のことであるが、「相対定量法」では、検量線が正確でなければ、測定対象物質の正確な定量はできない。正確な定量値を得るためには正確な検量線を作成することが第一歩となる。いうまでもないが、検量線で保証されている絶対量の範囲内で定量を行うことは必ず守るべきルールで、たとえ 1 %でも検量線の範囲を超えたところで定量してはいけない。

「相対定量法」において必須である検量線に関する理解が本稿で少しでも深まれば幸いである。しかし、本内容はあくまでも基本的な理論にしか触れていない。指導的立場にある残留農薬分析化学者の方々にとって、より正確なデータハンドリングを行うための理論学習のきっかけになることを期待する。

(本稿は、第 37 回農薬残留分析研究会(平成 26 年 10 月 16 日～10 月 17 日)で筆者が講演した内容に加筆したものである。)

参考文献

- 1) 臨床化学 27:21-49,1998
- 2) ガスクロマトグラフィー通則 日本工業規格 0114 : 2012
- 3) 統計学集中講座 日本卒後教育センター 1986
- 4) 応用回帰分析 森北出版株式会社 1983
- 5) 現場技術者のためのデータ解析の基礎知識 秋山功 2009

[他誌掲載論文]

Journal of Pesticide Science, 2014, 39(2), 105～114. より転載

Effects of organic carbon quality on the sorption behavior of pesticides in Japanese soils

Yutaka Motoki¹, Takashi Iwafune², Nobuyasu Seike¹,
Takashi Otani¹ and Maki Asano¹

¹ National Institute for Agro-Environmental Sciences,
3-1-3 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8604, Japan

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Agricultural Chemicals Inspection Station,
2-772 Suzuki-cho, Kodaira, Tokyo 187-0011, Japan

- 本論文の著作権は、日本農薬学会が所有していますが、日本農薬学会の転載許可を得て転載しています。

Original Article

Effects of organic carbon quality on the sorption behavior of pesticides in Japanese soils

Yutaka MOTOKI,^{1,*} Takashi IWAFUNE,² Nobuyasu SEIKE,¹
Takashi OTANI¹ and Maki ASANO¹

¹ National Institute for Agro-Environmental Sciences,
3-1-3 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8604, Japan

² Food and Agricultural Materials Inspection Center, Agricultural Chemicals Inspection Station,
2-772 Suzuki-cho, Kodaira, Tokyo 187-0011, Japan

(Received September 24, 2013; Accepted March 18, 2014)

We analyzed the factors influencing pesticide sorption to soils by testing 17 pesticides with different polarity and chemical structures in 8 soils, including major types in Japan. The soil–water distribution coefficients (K_d) were significantly positively correlated with organic carbon (OC) content. However, the OC-normalized sorption coefficients (K_{oc}) of many pesticides exhibited high variability among soils. Solid-state ^{13}C nuclear magnetic resonance (NMR) was performed to elucidate the effect of OC quality on K_{oc} variability. The NMR results indicated that the aromatic carbon content in soil was positively correlated with the K_{oc} values of pesticides. The sorption pattern of pesticides to soils containing abundant aromatic carbon was influenced by the differences in the molecular structures of pesticides, similar to that to activated carbon and graphite. The results indicate the aromatic carbon in soils, particularly black carbon, is an important factor influencing the sorption of pesticides to soils. © Pesticide Science Society of Japan

Keywords: pesticides, soil sorption, soil properties, organic carbon quality.

Electronic supplementary materials: The online version of this article contains supplementary materials (Supplemental Figures S1–S3 and Supplemental Tables S1–S8), which are available at <http://www.jstage.jst.go.jp/browse/jpestics/>.

Introduction

Soil sorption is one of the important processes in the fate and behavior of pesticides in the environment. The soil–water distribution coefficient, K_d , and the organic carbon (OC)-normalized sorption coefficient, K_{oc} , are widely used to predict pesticide contamination of groundwater^{1,2)} and run-off properties from paddy fields into rivers.^{3,4)} Furthermore, sorption behavior affects the phyto- and bio-availability of pesticides in soils.^{5–7)} The pesticide regulatory system in Japan requires sorption studies prior to the registration of newly developed pesticides. However, most data in registration dossiers are not disclosed in detail.

Japan is a typical volcanic country. Although volcanic ash soils are widely distributed throughout Japan and cover approximately half of all upland fields,⁸⁾ there is little available information on the sorption behavior of pesticides in Japanese volcanic ash soils.

Nonionic pesticides generally sorb to soil particles *via* hydro-

phobic interactions. Hence, soil sorption is strongly influenced by OC content in soil. However, the K_{oc} values of a pesticide are highly variable, depending on the soil type.^{9–13)} Soil OC is considered to comprise polysaccharides, lignin, tannins, amino acids, and lipids as well as modified substances arising from the abiotic and biotic degradation of plant, microbial, and animal remains in soils.^{14–16)} Recent studies^{11–13)} suggest that the variable physicochemical nature of soil OC is one reason for the variability of K_{oc} values. These studies investigated the relationship between K_{oc} values and the chemical composition of OC by solid-state ^{13}C cross-polarization magic angle spinning nuclear magnetic resonance (CPMAS NMR) spectroscopy, which provides the basic structural information of OC.¹⁷⁾ The results of these studies demonstrate that K_{oc} variability can be explained by the difference in the OC quality of soils, *i.e.*, the proportions of aryl carbon, alkyl carbon, *O*-alkyl carbon, and carboxyl carbon in soil OC. Japanese arable land has a wide range of organic carbon (up to 15%) because volcanic ash soil (*i.e.*, Andosol) contains a large amount of organic carbon.¹⁸⁾ Therefore, the variety of OC quality and variability of K_{oc} values may be higher in Japanese soils than in non-Japanese soils.

In addition, recent studies report OC in soils includes black carbon (BC) such as char and soot, which are products of the

* To whom correspondence should be addressed.

E-mail: ymotoki@affrc.go.jp

Published online April 27, 2014

© Pesticide Science Society of Japan

incomplete combustion of vegetation by wildfires or human activity.^{19–22} BC strongly sorbs organic chemicals, including pesticides. Yang *et al.*²³ investigated the sorption of diuron on soils amended with ash from the burning of crop residues; they found that diuron sorption increases with increasing soil wheat ash content and is dominated by ash in soil with at least 0.05% ash content. Likewise, Loganathan *et al.*²⁴ show that the presence of 1% wheat char applied to soils controls the overall sorption of atrazine on soils. Although no quantification methods for BC in soils have been established,²⁵ Shindo *et al.*²¹ isolated the charred plant fragments from Japanese Andosols by a specific gravity method and reported the percentage of OC content of charred plant fragments in whole soil ranges from 3.4–33%. However, there are no reports about the effect of BC-like materials present in Japanese Andosol on the sorption properties of pesticides.

The objectives of this study are as follows: (i) to measure the K_d values of 17 pesticides in 8 typical Japanese soils; (ii) to assess the relationships between K_d values and soil properties, particularly the contribution of OC to sorption properties and the extent of K_{oc} variability in Japanese soils; and (iii) to investigate the effects of the molecular nature of OC on K_{oc} variability.

Materials and Methods

1. Pesticides

Seventeen pesticides with varying hydrophobicity were used in sorption tests (Table 1). The chemical structures and dissociation constants (pK_a) of the test pesticides are shown in Supplemental Table S1. The predicted octanol–water partition coefficients

($\log K_{ow}$), pK_a , and octanol–water distribution coefficients ($\log D$) between pH 4.5 and 7.5 were calculated using ACD/ChemSketch 10.0 (ACD/Labs, Toronto, Canada) with ACD/logP DB 10.0, ACD/pKa 10.0, and ACD/logD 10.0, respectively. The $\log D$ values of all pesticides except imidacloprid and clothianidin calculated within the pH range showed the same predicted $\log K_{ow}$ value. Thus, it appears that almost all pesticides exist in a neutral form within the above-mentioned pH range. All analytical standards (purity >97%) were purchased from Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Osaka, Japan), Kanto Chemicals (Tokyo, Japan), and Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany). The pesticides were divided into 3 analytical groups on the basis of the analytical methods described in section 4 below. Stock solutions (100 $\mu\text{g/mL}$) of the pesticides were prepared in acetone for each group.

2. Soils

Eight Japanese soils with various physicochemical properties were used (Table 2). Soil samples were air-dried and passed through a 2.0-mm sieve. The pH and electrical conductivity (EC) of soils were measured in a soil/water (1:5 w/v) mixture by a multifunction water quality meter (MM-60R; DKK-TOA, Tokyo, Japan). The OC content was determined by the dry combustion method with a CN coder (MT-700; Yanaco, Kyoto, Japan). The cation exchange capacity (CEC) was determined by a shaking extraction method.²⁹ The particle size distribution was analyzed by the pipette method with a pipette apparatus (DIK-2020; Daiki Rika, Saitama, Japan).³⁰ Meanwhile, soil texture was determined according to the standards developed by

Table 1. Octanol–water partition coefficient ($\log K_{ow}$) and analytical groups of test compounds

Compound	$\log K_{ow}^a$	$\log K_{ow}^b$	$\log K_{ow}^c$	$\log K_{ow}^d$	Analytical group
Imidacloprid	0.57	0.57	0.57	−0.43, 0.20	A
Dimethoate	0.70	0.70	0.98	0.48	A
Clothianidin	0.91	0.70	0.70	−0.15, 0.40, 0.40	A
Thiacloprid	1.26	0.74	1.26	0.55	A
Metalaxyl	1.65	1.75	1.75	2.15	A
Fosthiazate	1.68	1.68	1.68	0.94	A
Methidathion	2.57	2.20	2.20	2.03	A
Fenobucarb	2.78	2.67	2.67	3.04	B
Flutolanil	3.17	3.17	3.77	3.70	B
Procymidone	3.30	3.14	3.30	2.67	B
Fenitrothion	3.32	3.43	3.43	3.24	C
Tetraconazole	3.56	3.56	3.53	3.19	C
Chloroneb	3.58	— ^e	1.90	3.58	B
Diazinon	3.69	3.30	3.42	3.81	C
Cadusafos	3.85	3.90	4.08	4.28	B
Tolclofos-methyl	4.56	4.56	4.56	4.03	C
Tetradifon	4.61	4.61	3.95	5.52	C

^a) $\log K_{ow}$ values were obtained from the Footprint Pesticide Properties Database of IUPAC.²⁶ ^b) $\log K_{ow}$ values were obtained from The Pesticide Manual (16th ed.).²⁷ ^c) $\log K_{ow}$ values were obtained from The 2011 Pesticide Handbook.²⁸ ^d) Predicted $\log K_{ow}$ values using ACD/ChemSketch 10.0 with ACD/logP DB 10.0. The chemical structures of imidacloprid and clothianidin have 2 and 3 possible tautomeric forms, respectively. ^e) No data.

Table 2. Properties of test soils

Soil	Classification	Texture	OC ^{a)} (%)	CEC ^{b)} (cmol(+)/kg)	Clay (%)	pH (H ₂ O)	EC ^{c)} (mS/cm)
S1	Sand-dune Regosol	sand	0.06	3.4	2.4	7.5	0.04
S2	Gray lowland soil	sandy loam	0.85	12.2	14.6	4.8	0.26
S3	Yellow soil	light clay	1.02	11.4	39.0	5.3	0.09
S4	Brown forest soil	light clay	1.15	17.2	35.5	4.7	0.09
S5	Gray lowland soil	silty clay	1.46	18.2	25.3	5.8	0.17
S6	Andosol	loam	4.32	26.3	11.3	6.4	0.28
S7	Andosol	loam	5.21	33.8	10.8	5.5	0.15
S8	Andosol	silty loam	8.65	35.4	1.8	5.8	0.05

^{a)} Organic carbon content. ^{b)} Cation exchange capacity. ^{c)} Electrical conductivity.

the International Society of Soil Science³¹⁾; soils were classified according to the criteria adopted by the Cultivated Soil Classification Committee.³²⁾

3. Sorption experiment for soils

Sorption experiments were carried out using a batch equilibration technique.³³⁾ CaCl₂ (25 mL, 0.01 M) in distilled water was added to 5 g of soil in a 50-mL glass centrifuge tube. The openings of the tubes were covered with Teflon sheets and closed with screw-caps. The tubes were agitated on a thermostat shaker (Taitec, Saitama, Japan) in the dark for 24 hr at 25 ± 2°C. After shaking, 25 µL of acetone stock solution was added to the tubes. The final concentration of each pesticide in the aqueous phase was 0.1 µg/mL. The soil–solution mixtures were shaken again for 24 hr under the same conditions. After equilibration, the mixtures were centrifuged at 1,200×*g* for 30 min. A 15-mL aliquot of the supernatant was taken and used to analyze the concentrations of pesticides to determine *K_d* values. In addition, the masses of pesticides in the remaining samples were analyzed to calculate mass balance. All sorption experiments were performed in duplicate except for experiments involving group B pesticides on soil S7, which were performed in triplicate.

The mass fraction of pesticides sorbed on the soil phase at equilibrium, *x/m* (µg/g), was calculated by subtracting the mass concentration of pesticides in the aqueous phase at equilibrium, *C_e* (µg/mL), from the initial mass concentration of pesticides in aqueous phase, *C_i* (µg/mL), as follows:

$$x/m = (C_i - C_e) \cdot V / M \quad (1)$$

where *V* is the solution volume (mL) and *M* is the soil mass (g). The soil–water distribution coefficient, *K_d* (mL/g), was calculated using the following equation:

$$K_d = (x/m) / C_e \quad (2)$$

The OC-normalized sorption coefficient, *K_{oc}* (mL/g), was determined by dividing the *K_d* values by OC content in soil as follows:

$$K_{oc} = K_d \cdot (100 / \%OC) \quad (3)$$

where %OC is the percentage of OC in the soil sample (g/g).

The mass balance (MB, %) was calculated as follows:

$$MB = 100 \cdot (C_e \cdot V_{\text{aliquot}} + m_E) / C_i \cdot V \quad (4)$$

where *V_{aliquot}* is the volume of the aliquot taken from the supernatant (mL) and *m_E* is the mass of pesticides extracted from the remaining sample after removal of the aliquot of supernatant (µg).

4. Pesticide analysis

An aliquot of approximately 15 mL taken from the supernatant was analyzed to quantify pesticides using 3 different methods for each analytical group (Supplemental Figures S1–S3). The aliquots were cleaned with a diatomite column (Inertsolv K-solute 20 mL; GL Sciences, Tokyo, Japan) followed by the following mini-columns: a PSA column (500 mg; Supelco, Bellefonte, USA), an Accell CM column (500 mg; Waters, Milford, USA), and an ENVI-Carb II/PSA column (500 mg/500 mg; Supelco) for groups A, B, and C, respectively. The cleaned samples were analyzed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for group A (Supplemental Tables S2 and S3) and gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) for groups B and C (Supplemental Tables S4 and S5).

The pesticides in the remaining sample were extracted by acetone after the supernatant was removed, and acetone (30 mL) was added to the remaining sample. The tubes were shaken in a thermostat shaker for 20 min at 25 ± 2°C and subsequently centrifuged at 1,200×*g* for 10 min. The supernatant was carefully removed. This extraction procedure was repeated twice. The collected supernatant was evaporated to approximately 10 mL with a rotary evaporator and analyzed using the same corresponding method as mentioned in the above methods for each analytical group.

A recovery test of the pesticides was performed with deionized water and test soils. Deionized water (15 mL) spiked at 1 ng/mL for all group pesticides and each soil (5 g) spiked at 5 and 3 ng/g for group A and groups B and C, respectively, were analyzed using the above-mentioned methods; however, 10 mL of deionized water was added to soil samples prior to acetone extraction. The mean recovery from the 4 replicates for group A and 5 replicates for groups B and C ranged from 71.1 to 117.0% for all compounds; the coefficients of variation (CVs)

were below 16.7% for all compounds (Supplemental Tables S6 and S7). The limits of quantification (LOQs) for pesticide analysis were calculated according to Japanese Industrial Standard (JIS) K 0312.³⁴⁾ The LOQs for all compounds in deionized water and all soil samples ranged from 0.27 to 0.87 ng/mL and 0.19 to 5.48 ng/g, respectively (Supplemental Tables S6 and S7).

5. Sorption experiment for carbonaceous materials

In order to investigate the effect of the chemical structure of pesticides on activated carbon (AC) and graphite (GP) sorption, which was employed as a model substance for BC,^{35,36)} the AC-acetone and GP-acetone distribution coefficients (K_{AC} and K_{GP} , respectively) of cadusafos, chloroneb, and procymidone, which have different chemical structures, were measured by a batch equilibration technique. Acetone solutions (5 mL, 1 μ g/mL) of each pesticide were added to 50 mg of AC (SS1; Ajinomoto Fine-Techno Company, Kanagawa, Japan) and 0.5 g of GP (ENVI-Carb; Supelco) in a 10-mL glass centrifuge tube. The tubes were agitated on a thermostat shaker in the dark for 24 hr at 25 $\pm$ 2°C. After shaking, the mixtures were centrifuged at 1,200 $\times g$ for 30 min. Aliquots of the supernatant (500 μ L) were spiked with 200 μ L of acetone solution (2.5 μ g/mL) of the internal standard (¹³C₆-labeled fenthion), filtered through a 0.45- μ m PTFE filter, and analyzed by GC-MS (Supplemental Tables S4 and S5). K_{AC} and K_{GP} were calculated from formulas (1) and (2) in the same way as K_d . All sorption experiments were performed in triplicate.

6. Solid-state ¹³C NMR analysis

In order to perform solid-state ¹³C NMR analysis, 7 test soils (except soil S1, for which it seemed difficult to characterize OC because of low OC content) were passed through a 0.2-mm sieve and treated with hydrofluoric acid (HF) to concentrate the OC and remove paramagnetic minerals. Although HF is a strong agent, Rumbel *et al.*³⁷⁾ report that the chemical composition of soil organic matter does not change after 10% HF treatment. Thirty milliliters of 8% (w/w) aqueous HF solution was added to 10 g of soil in a polyethylene tube. The tubes were shaken for 2 hr at room temperature and centrifuged at 3,800 $\times g$ for 15 min, and the supernatant was discarded. The treatment was repeated 7 times using different shaking times (5 $\times$ 2 hr and 2 $\times$ 16 hr). After the final treatment, 30 mL of deionized water was added to the residues. The tubes were shaken for 30 min at room temperature and centrifuged at 3,800 $\times g$ for 15 min, and the supernatant was discarded. The residues were washed an additional 7 times and dried at 50°C for 2 days. The dried samples were subsequently powdered using a mortar and pestle.

The solid-state ¹³C NMR spectra of the powdered samples were collected using the CPMAS technique by an FT NMR system (Alpha 300; JEOL, Tokyo, Japan); the analytical conditions of NMR have been described previously.³⁸⁾ The powdered samples were transferred into a zirconia rotor (6 mm i.d.) with a KEL-F cap (JEOL, Tokyo, Japan), and the ¹³C NMR signals were measured at 75.45 MHz with magic angle spinning of 6 kHz, a

contact time of 1 msec, and a 3-sec pulse interval. Fourier transformation was conducted using a broadening factor of 100 Hz. The ¹³C chemical shift scale was referenced to that of tetramethylsilane (0 ppm) calibrated using adamantane (29.5 ppm). The ¹³C NMR spectra were integrated into 4 chemical shift regions: 0–45 ppm, alkyl carbon; 45–110 ppm, O-alkyl carbon; 110–160 ppm, aromatic carbon; and 160–190 ppm, carboxyl carbon.³⁹⁾ The relative proportions of each carbon type were calculated on the basis of the total carbon signal between 0 and 190 ppm.

7. Molecular modeling

The molecular structures of pesticides were geometrically optimized using the PM7 semi-empirical Hamiltonian function (keywords: EF, PRECISE, GNORM=0.05, GRAPHF, MMOK) in the MOPAC 2012 package⁴⁰⁾ using the Winmostar program (X-Ability, Tokyo, Japan).

Results and Discussion

1. Relationships between soil–water distribution coefficients (K_d) and soil properties

The K_d and MB values of the 17 pesticides with 8 soils are shown in Supplemental Table S8. The MB of the sorption test ranged from 70.0 to 114.6% for all experiments. The MB of some sorption tests, particularly methidathion, was less than 80%. Similarly, the mean recovery of methidathion on 4 soil samples was less than 80%. Therefore, it is possible that the extraction of methidathion from the soil samples was insufficient. However, K_d values were calculated using quantitative values in the aqueous phase, and the mean recovery of methidathion from deionized water was 88.8%; therefore, there is no effect of extraction efficacy from soil samples on the variability of K_d values. The K_d values varied considerably with respect to the soil type for a given pesticide, ranging from 1.41 to 582 mL/g for tolclorofos-methyl, which had the highest ratio between minimum and maximum values.

In order to determine which soil properties influence the variability of K_d values, linear regression analysis between K_d values and soil properties was performed (Table 3). The K_d values of almost all pesticides were more strongly correlated with OC content or CEC than other soil properties such as pH, clay content, and EC. Hydrophobic interactions are generally known to play an important role in the sorption of nonionic pesticides in soils; furthermore, OC content is positively correlated with the K_d values of nonionic pesticides.¹⁰⁾ On the other hand, little is known about the relationship between CEC and the K_d values of nonionic pesticides. Although the strength of CEC in soils is closely associated with negatively charged sites of OC and clay minerals, several studies show that the contribution of OC to CEC in soils is greater than that in clay minerals.^{41,42)} Indeed, the OC content of test soils in the present study was positively correlated with CEC ($r=0.93$, $p<0.001$); therefore, K_d values appear to be positively correlated with CEC.

Table 3. Correlation coefficients (r) between the K_d values of pesticides and soil properties

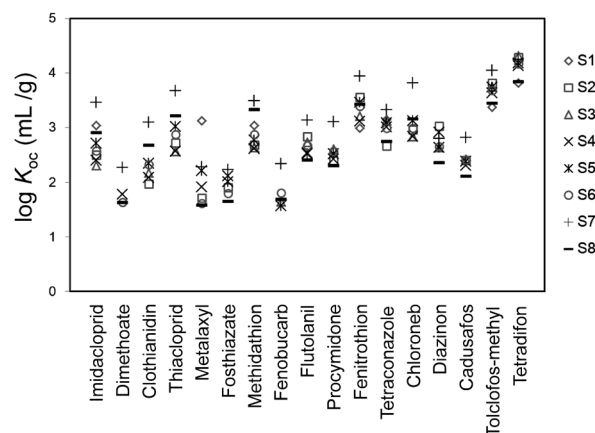
Compound	No. soils	r				
		OC	CEC	Clay	pH	EC
Imidacloprid	8	0.69	0.77*	−0.39	−0.06	−0.10
Dimethoate	4	0.39	0.70	−0.46	0.11	−0.05
Clothianidin	7	0.77*	0.87*	−0.63	0.27	−0.29
Thiacloprid	7	0.73	0.85*	−0.61	0.26	−0.26
Metalaxyl	7	0.53	0.68	−0.20	−0.08	−0.08
Fosthiazate	6	0.59	0.80	−0.46	0.26	−0.26
Methidathion	8	0.92**	0.87**	−0.52	−0.02	−0.24
Fenobucarb	5	0.52	0.75	−0.57	−0.14	−0.05
Flutolanil	7	0.56	0.74	−0.52	0.27	−0.04
Procymidone	7	0.52	0.72	−0.47	0.25	−0.05
Fenitrothion	8	0.73*	0.82*	−0.41	−0.06	−0.01
Tetraconazole	8	0.69	0.83*	−0.32	−0.05	0.07
Chloroneb	7	0.60	0.77*	−0.52	0.21	−0.17
Diazinon	7	0.72	0.88*	−0.70	0.38	0.02
Cadusafos	7	0.57	0.76*	−0.52	0.31	−0.03
Tolclofos-methyl	8	0.68	0.81*	−0.35	−0.07	0.11
Tetradifon	8	0.81*	0.91**	−0.36	−0.06	0.23

* Significant at $p < 0.05$; ** significant at $p < 0.01$.

2. Variability of OC-normalized sorption coefficient (K_{oc})

Figure 1 shows the variability of the $\log K_{oc}$ values of all experiments; numerical values of K_{oc} are shown in Supplemental Table S8. As mentioned above, the sorption process of test pesticides in soils was clearly dominated by OC. However, the K_{oc} values of a given pesticide exhibited high variability among soils. The CVs of K_{oc} values of a pesticide ranged from 36.6% for tetradifon to 173% for metalaxyl. Gerstl *et al.*^{9,43)} show that the K_{oc} values of pesticides on soils with low organic matter content ($<0.5\%$) are appreciably high because of the contribution of the mineral fraction to the sorption process. In particular, the K_{oc} value of soil S1 (OC content = 0.06%) for metalaxyl tended to be higher than those of other soils. Nevertheless, the reason for the variability in K_{oc} values remains unknown even though the K_{oc} value of soil S1 was excluded; this is because the CVs of the K_{oc} values of a pesticide ranged from 29.5% for tetradifon to 125% for imidacloprid. Wauchope *et al.*¹⁰⁾ reviewed the variability of K_{oc} values in the literature and report the typical CV of the K_{oc} values of a given pesticide ranges from 40 to 60%. In the present study, even though the K_{oc} value of soil S1 was excluded, the CVs of the K_{oc} values for 11 pesticides exceeded 60%. The K_{oc} values of soil S7 for almost all pesticides were higher than those of other test soils. Hence, it is clear that the contribution of soil S7 to K_{oc} variability is high.

On the other hand, when K_{oc} properties were analyzed with respect to the type of pesticide, the K_{oc} values of tolclofos-methyl and tetradifon, which are highly lipophilic ($\log K_{ow} = 4.03$ – 4.56 and 3.95 – 5.52 , respectively), were higher than those of other pesticides. These results suggest that $\log K_{oc}$ values increase with the increasing $\log K_{ow}$ of pesticides.^{43–45)} However, cadusafos

**Fig. 1.** Variability of the $\log K_{oc}$ values of test soils.

($\log K_{ow} = 3.83$ – 4.28) had low K_{oc} values for lipophilicity. Cadusafos is aliphatic, *i.e.*, it has non-aromatic rings. Similarly, the K_{oc} values of dimethoate and fosthiazate, which have non-aromatic rings, were relatively low. These results imply that the interactions involving aromatic rings are important in the soil sorption of pesticides.

3. Molecular nature of soil OC

The ^{13}C NMR spectra and relative proportions of each carbon type for 7 test soils are shown Figure 2 and Table 4, respectively. O-Alkyl carbons (45–110 ppm), which include various polar components (*e.g.*, polysaccharides, amino acids, lipids, *etc.*), were the most prevalent carbon type in all soil samples except soils S7 and S8, which is concordant with previous studies.^{12,13,46)}

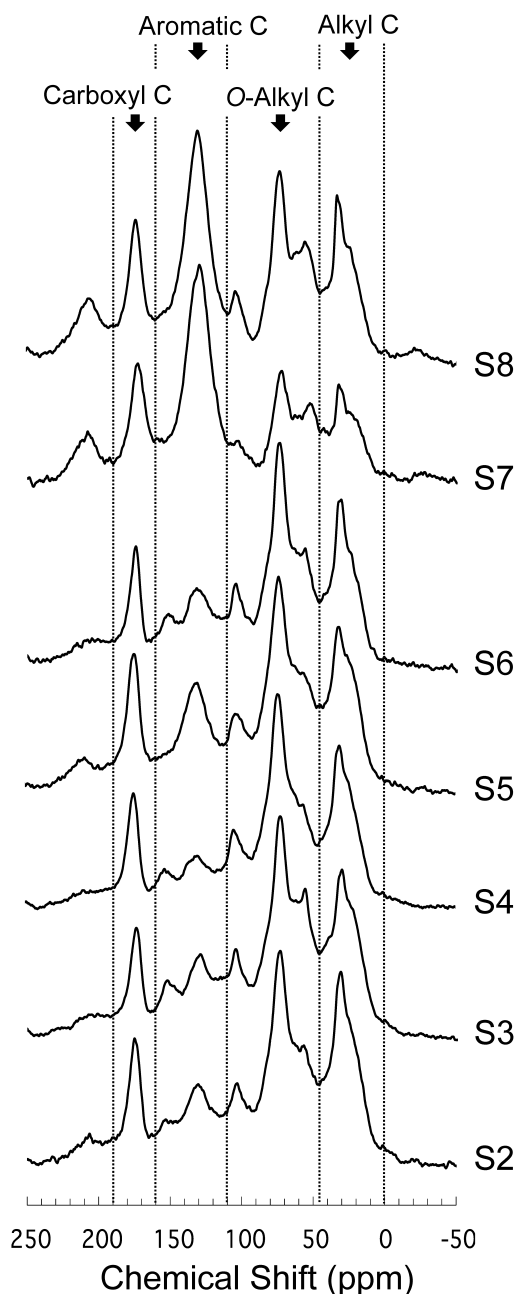


Fig. 2. Solid-state ^{13}C NMR spectra of the soils.

Table 4. Proportions of each carbon region in NMR spectra (%)

Soil	Alkyl (0–45 ppm)	O-Alkyl (45–110 ppm)	Aromatic (110–160 ppm)	Carboxyl (160–190 ppm)
S2	28.7	46.0	15.2	10.1
S3	26.0	48.0	17.3	8.7
S4	27.4	49.8	12.6	10.2
S5	24.8	44.7	18.6	11.8
S6	23.8	47.4	18.2	10.5
S7	16.9	27.3	41.3	14.5
S8	19.7	33.7	33.9	12.7

On the other hand, aromatic carbons (110–160 ppm), which correspond to lignin, tannin, and aromatic amino acids, were the carbon type exhibiting the greatest variability among test soils, ranging from 12.6 to 41.3%. Two test Andosols (soils S7 and S8) particularly exhibited greater proportions of aromatic carbon than other soils. Mahieu *et al.*⁴⁶⁾ collected ^{13}C CPMAS NMR data on 311 soils from the literature and reported that the mean, maximum, and minimum proportions of aromatic carbon were $20.0 \pm 6.0\%$, 44.5%, and 6.8%, respectively. Therefore, the proportions of aromatic carbon in soils S7 and S8 (41.3% and 33.9%, respectively) are considerably higher than those of soils in the literature.

Aromatic carbon content is generally considered to increase as a result of the decomposition of OC. Inber *et al.*⁴⁷⁾ investigated changes in the OC structure of cattle manure during the composting process and found that the proportions of aromatic, alkyl, and carboxyl carbon increase, whereas that of O-alkyl carbon decreases. Similarly, the proportions of carboxyl carbon in soils S7 and S8, which contained abundant aromatic carbon, were higher than those in other soils, whereas the proportion of O-alkyl carbon was lower. However, the proportions of alkyl carbon in soils S7 and S8 were lower than those in other soils. These results imply that the degree of decomposition of OC alone is insufficient to explain the difference in OC quality among test soils.

Golchin *et al.*¹⁹⁾ investigated the effects of artificial burning on the chemical nature of OC in soils; they found that a grassland site with a long history of annual burning had lower alkyl and O-alkyl carbon contents but higher aromatic and carboxyl carbon contents than forest sites that had no burning for many decades. In addition, Sultana *et al.*⁴⁸⁾ report that the ^{13}C NMR spectra of charred plant materials isolated from Japanese Andosols using a specific gravity method exhibited a dominant peak of aromatic carbon with the proportion of aromatic carbon ranging from 61 to 74%. There is no record that the present test soils have been burned in the last several decades. However, grasslands containing Japanese Andosol, in which the dominant vegetation is Japanese pampas grass, which was necessary for traditional daily life, are thought to have been maintained by burning activity.^{19,21,49,50)} These studies suggest that BC arising from the burning of vegetation may be partly responsible for the high proportion of aromatic carbon in soils S7 and S8 in the present study.

4. Effect of organic carbon quality on K_{oc} variability of pesticides

The correlation coefficients between the $\log K_{oc}$ values of pesticides and the proportions of each carbon type are shown in Table 5. The $\log K_{oc}$ values for almost all pesticides were positively correlated with aromatic and carboxyl carbon contents and negatively correlated with O-alkyl and alkyl carbon contents. The absolute values of r increased with increasing CVs (%) of K_{oc} values for a given pesticide. The correlation coefficients between the r values and CVs (%) for alkyl, O-alkyl, aromatic, and carboxyl carbon were -0.88 ($p < 0.001$), -0.90 ($p < 0.001$), 0.89

Table 5. Coefficients of variation (CV) of K_{oc} values and correlation coefficients (r) between the log K_{oc} values of pesticides and proportions of each carbon type

Compound	No. soils	CV (%) of K_{oc} values	r			
			Alkyl	O-Alkyl	Aromatic	Carboxyl
Imidacloprid	7	124.9	−0.91**	−0.95**	0.93**	0.97**
Dimethoate	4	82.4	−0.57	−0.63	0.60	0.73
Clothianidin	7	113.8	−0.99**	−0.94**	0.97**	0.91**
Thiacloprid	7	115.4	−0.92**	−0.95**	0.94**	0.97**
Metaxyl	6	70.2	−0.28	−0.32	0.28	0.54
Fosthiazate	6	46.9	−0.05	−0.12	0.07	0.27
Methidathion	7	93.8	−0.97**	−0.97**	0.98**	0.91**
Fenobucarb	5	92.2	−0.80	−0.73	0.76	0.67
Flutolanil	7	65.9	−0.30	−0.41	0.39	0.29
Procymidone	7	84.9	−0.58	−0.55	0.57	0.52
Fenitrothion	7	76.3	−0.66	−0.80*	0.75	0.78*
Tetraconazole	7	50.2	−0.42	−0.25	0.30	0.30
Chloroneb	7	117.0	−0.86*	−0.91**	0.89**	0.92**
Diazinon	7	48.7	0.51	0.31	−0.40	−0.23
Cadusafos	7	59.9	−0.38	−0.41	0.40	0.40
Tolclofos-methyl	7	45.8	−0.19	−0.30	0.26	0.28
Tetradifon	7	29.5	0.40	0.34	−0.36	−0.37

* Significant at $p < 0.05$; ** significant at $p < 0.01$.

($p < 0.001$), and 0.90 ($p < 0.001$), respectively.

Similar to the present results, several reports demonstrate negative correlations between O-alkyl carbon content, which includes many polar components, and the K_{oc} values of some pesticides such as atrazine,¹¹⁾ carbaryl,¹²⁾ diuron,^{11,13)} and phosalone.¹²⁾ In addition, Mitchell *et al.*¹¹⁾ show that the K_{oc} values of atrazine and diuron in soils from which the O-alkyl carbon components were removed by acid-hydrolysis are higher than those in untreated soils. They suggest that the hydrolyzable O-alkyl carbon component in soil might block affinity sorption sites such as aromatic and/or alkyl domains.

In contrast to O-alkyl carbon, these previous studies also show that aromatic carbon content is positively correlated with the K_{oc} values of these pesticides, which is concordant with the present results. As discussed above, the aromatic carbon contents of test soils exhibited the greatest variability among carbon types, and the high aromatic carbon contents in soils S7 and S8 were involved in the presence of BC. Because the K_{oc} values of almost all pesticides on soil S7, which had the greatest aromatic carbon content, were substantially higher than those on other soils, it is possible the BC contained in soil S7 greatly affects the sorption behavior of pesticides. The sorption of organic chemicals on BC is influenced by hydrophobicity, the presence of aromatic rings, and the planarity of the molecular structure.^{51–53)} In other words, given the same log K_{ow} value, the sorption of planar aromatics on BC is higher than that of aliphatics.⁵²⁾ In addition, even if a compound has aromatic rings, non-planar aromatics such as *ortho*-substituted polychlorinated biphenyls (PCBs) with

a torsional structure between the 2 ring planes exhibit lower sorption than planar aromatics such as non-*ortho* PCBs.^{51,52)} This is because planar aromatics can strongly adsorb to planar graphene surfaces of BC *via* π – π interactions. Focusing on the molecular structures of the test compounds (Fig. 3), the K_d values of chloroneb (a planar aromatic) on soil S7 were higher than those of cadusafos (aliphatic) and procymidone (non-planar aromatic with a torsional structure); this is in spite of the fact that the K_{ow} value of chloroneb (log K_{ow} = 1.90–3.58) is of the same order of magnitude as that of procymidone (log K_{ow} = 2.67–3.30) and lower than that of cadusafos (log K_{ow} = 3.83–4.28) (Fig. 4). Figure 4 also shows the K_{AC} and the K_{GP} of chloroneb, cadusafos, and procymidone, verifying the effects of the chemical structures of the pesticides on BC sorption. Similar to the results for soil S7, the sorption of chloroneb to AC and GP was significantly greater than that of the other 2 compounds. Although AC and GP differ with respect to surface area, porosity, and the presence of an acid functional group, they have common structure—a graphene layer—from a molecular perspective.³⁶⁾ Sultana *et al.*⁴⁸⁾ also report that charred plant materials isolated from Japanese Andosols by a specific gravity method have 14- to 52-ring condensed aromatic structures. This implies that the graphene layer of carbonaceous materials is involved in the different sorption properties of the 3 compounds. Although the K_{AC} and K_{GP} values were measured using acetone as a liquid phase, the results of the sorption test of PCBs using activated carbon and acetone⁵²⁾ exhibited a similar trend to those using soot and water.⁵¹⁾ In other words, the sorption strength of pla-

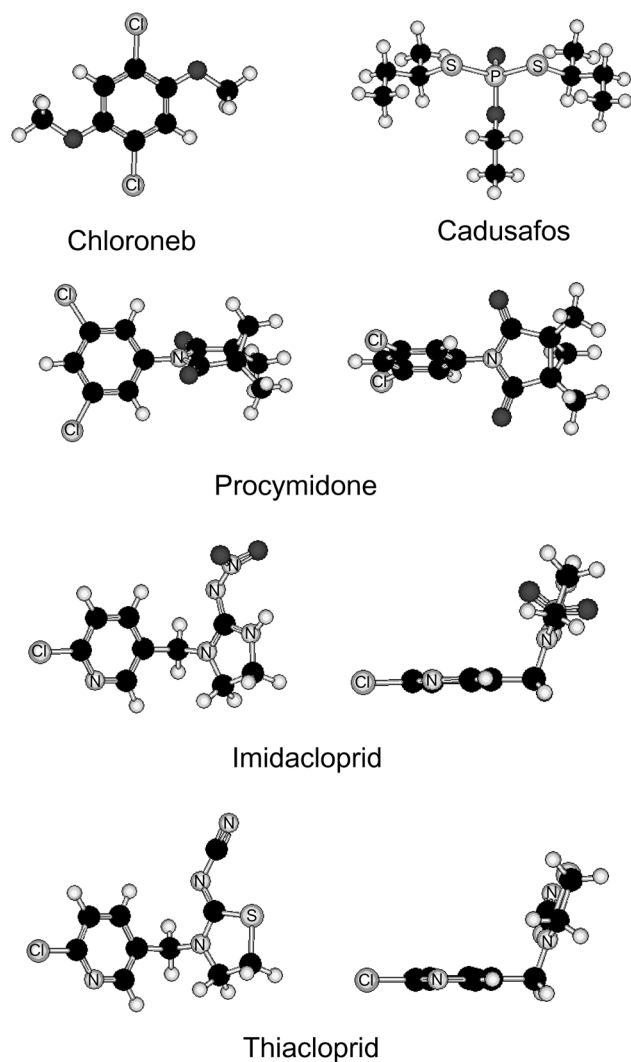


Fig. 3. Molecular structures of pesticides optimized according to the PM7 semi-empirical Hamiltonian method. ○: hydrogen atom, ●: oxygen atom, ●: carbon atom, ⊕: phosphorus atom, ⊖: chlorine atom, ⊖: nitrogen atom, ⊖: sulfur atom.

nar PCBs is higher than that of non-planar PCBs. On the other hand, although the overall structures of some pesticides such as imidacloprid and thiachloprid are non-planar, these pesticides exhibited relatively high K_{oc} values (Fig. 1). This is probably because these pesticides can take on a planar conformation on the surface of one part of their molecular structures (as shown in Fig. 3) that can sorb to the planar graphene layer of BC via π - π interaction with parallel-displaced orientation.⁵⁴⁻⁵⁶ These results support the hypothesis that BC in soil strongly contributes to the K_{oc} variability of pesticides on soil S7 if the conformation of the pesticide can be planar.

5. Conclusion

The present study suggests that the K_{oc} values of Japanese soils are highly variable, because aromatic carbon content differed greatly among soils, especially Andosols. The log K_{oc} values of

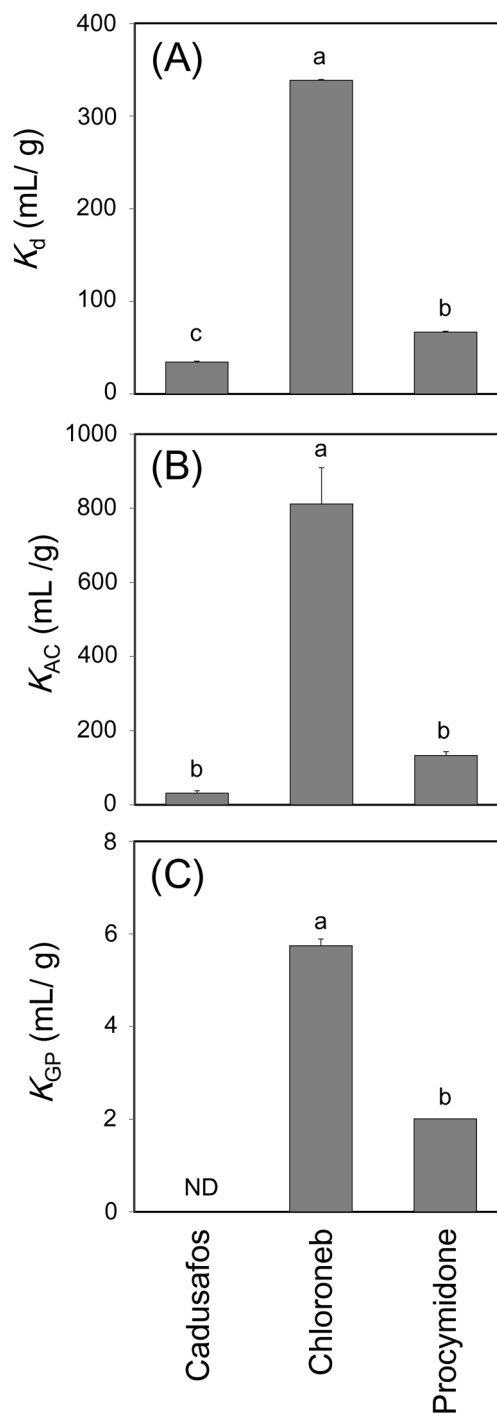


Fig. 4. (A) Soil-water distribution coefficients (K_d) for soil S7, (B) activated carbon (AC)-acetone distribution coefficients (K_{AC}), (C) graphite (GP)-acetone distribution coefficients (K_{GP}). Columns with the same letter are not significantly different at $p < 0.05$ by ANOVA with Tukey's multiple range test for (A) and (B) and unpaired 2-sided t -tests for (C). Error bars indicate standard deviations ($n=3$). ND: not detectable.

some pesticides were positively correlated with aromatic carbon content measured by solid-state ^{13}C NMR. However, because ^{13}C NMR is a qualitative technique, the prediction of log K_{oc} on the basis of aromatic carbon contents is inadequate. On the other

hand, because the sorption properties of pesticides in Andosols with the greatest aromatic carbon contents exhibited trends similar to those in AC and GP, it is possible that BC in soil affects the sorption properties of pesticides. Several studies report that quantifying soot content in sediments and determining soot–water distribution coefficients accurately predicts the sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on sediments.^{35,57–59)} These results imply that the sorption of pesticides on soils can also be predicted if it is possible to quantify BC in soils and assess the sorption of isolated BC. Unfortunately, no methods for quantifying BC in soils have been established.²⁵⁾ Therefore, further studies are required to isolate and precisely quantify BC in soil contributing to the sorption behavior of pesticides.

Acknowledgements

The authors thank Dr. S. Hiradate of the National Institute for Agro-Environmental Sciences for technical support in NMR analysis. The test soils were kindly supplied by Aichi Agricultural Research Center, Fukushima Agricultural Technology Centre, Tochigi Prefectural Agricultural Experiment Station, and NARO Agricultural Research Center. This study was financially supported by a Grant-in-Aid from the Ministry of the Environment (MOE), Japan. The opinions expressed in this paper are solely those of the authors and do not necessarily reflect the views of MOE.

References

- 1) J. J. Boesten: *Pest Manag. Sci.* **60**, 971–980 (2004).
- 2) R. P. Scorza Júnior and J. J. Boesten: *Pest Manag. Sci.* **61**, 432–448 (2005).
- 3) K. Inao and Y. Kitamura: *Pestic. Sci.* **55**, 38–46 (1999).
- 4) H. Watanabe and K. Takagi: *Environ. Technol.* **21**, 1379–1391 (2000).
- 5) J. W. Kelsey, B. D. Kottler and M. Alexander: *Environ. Sci. Technol.* **31**, 214–217 (1997).
- 6) H. J. Pedersen, P. Kudsk and A. Helweg: *Pestic. Sci.* **44**, 131–136 (1995).
- 7) C. T. Chiou, G. Sheng and M. Manes: *Environ. Sci. Technol.* **35**, 1437–1444 (2001).
- 8) Ministry of Agriculture, Fishery and Forestry and Japanese Society of Soil Science and Plant Nutrient: “Current Status and Countermeasures of Arable Soils,” Hakuyuusha, Tokyo, 1991 (in Japanese).
- 9) Z. Gerstl: *J. Contam. Hydrol.* **6**, 357–375 (1990).
- 10) R. D. Wauchope, S. Yeh, J. B. Linders, R. Kloskowski, K. Tanaka, B. Rubin, A. Katayama, W. Kördel, Z. Gerstl, M. Lane and J. B. Unsworth: *Pest Manag. Sci.* **58**, 419–445 (2002).
- 11) P. J. Mitchell and M. J. Simpson: *Environ. Sci. Technol.* **47**, 412–419 (2013).
- 12) R. Ahmad, R. S. Kookana, A. M. Alston and J. O. Skjemstad: *Environ. Sci. Technol.* **35**, 878–884 (2001).
- 13) A. G. Ahangara, R. J. Smernika, R. S. Kookana and D. J. Chittleborough: *Chemosphere* **70**, 1153–1160 (2008).
- 14) I. Kögel-Knabner: *Soil Biol. Biochem.* **34**, 139–162 (2002).
- 15) P. N. Nelson and J. A. Baldock: *Biochemistry* **72**, 1–34 (2005).
- 16) M. J. Simpson and A. J. Simpson: *J. Chem. Ecol.* **38**, 768–784 (2012).
- 17) C. M. Preston: *Soil Sci.* **161**, 144–166 (1996).
- 18) H. Obara: *Pedologist* **44**, 134–142 (2000) (in Japanese).
- 19) A. Golchin, P. Clarke, J. A. Baldock, T. Higashi, J. O. Skjemstad and J. M. Oades: *Geoderma* **76**, 155–174 (1997).
- 20) J. A. González-Pérez, F. J. González-Vila, G. Almendros and H. Knicker: *Environ. Int.* **30**, 855–870 (2004).
- 21) H. Shindo, T. Honma, S. Yamamoto and H. Honma: *Org. Geochem.* **35**, 235–241 (2004).
- 22) M. J. Simpson and P. G. Hatcher: *Org. Geochem.* **35**, 923–935 (2004).
- 23) Y. Yang and G. Sheng: *Environ. Sci. Technol.* **37**, 3635–3639 (2003).
- 24) V. A. Loganathan, Y. Feng, G. D. Sheng and T. P. Clement: *Soil Sci. Soc. Am. J.* **73**, 967–974 (2008).
- 25) K. Hammes, M. W. I. Schmidt, R. J. Smernik, L. A. Currie, W. P. Ball, T. H. Nguyen, P. Louchouart, S. Houel, Ö. Gustafsson, M. Elmquist, et al.: *Global Biogeochem. Cycles* **21**(GB3016), 1–18 (2007).
- 26) <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/> (Accessed 6 Aug., 2013)
- 27) C. MacBean: “The Pesticide Manual,” 16th Ed., British Crop Protection Council, Surrey, 2012.
- 28) The 2011 Pesticide Handbook Editorial Committee: “The 2011 Pesticide Handbook,” Japan Plant Protection Association, Tokyo, 2011 (in Japanese).
- 29) J. Muramoto, I. Goto and M. Ninaki: *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.* **63**, 210–215 (1992) (in Japanese with English summary).
- 30) Methods of Soil Analysis (Dojou Kankyou Bunsekihou) Editorial Committee: “Methods of Soil Analysis (Dojou Kankyou Bunsekihou),” Hakuyuusha, Tokyo, pp. 24–29, 1997 (in Japanese).
- 31) A Glossary of Pesticide Editorial Committee: “A Glossary of Pesticide,” Japan Plant Protection Association, Tokyo, pp. 128–129, 2009 (in Japanese).
- 32) Cultivated Soil Classification Committee: *Misc. Publ. Natl. Inst. Agro-Environ. Sci.* **17**, 31–55 (1995) (in Japanese).
- 33) OECD: “Guidelines for Testing of Chemicals,” Section 1 (106), OECD, Paris, 2000.
- 34) Japanese Standards Association: JIS K 0312, Tokyo, Japan (2005) (in Japanese).
- 35) Ö. Gustafsson, F. Haghseta, C. Chan, J. MacFarlane and P. M. Gschwend: *Environ. Sci. Technol.* **31**, 203–209 (1997).
- 36) Y. Sanada, M. Suzuki and K. Fujimoto: “Activated Carbon. New Edition,” Kodansha Scientific, Tokyo, 1992 (in Japanese).
- 37) C. Rumpel, N. Rabia, S. Derenne, K. Quenea, K. Eusterhues, I. Kögel-Knabner and A. Mariotti: *Org. Geochem.* **37**, 1437–1451 (2006).
- 38) S. Hiradate, T. Yonezawa and H. Takesako: *Geoderma* **132**, 196–205 (2006).
- 39) K. Ono, K. Hirai, S. Morita, K. Ohse and S. Hiradate: *Geoderma* **151**, 351–356 (2009).
- 40) <http://openmopac.net/> (Accessed 6 Aug., 2013)
- 41) J. K. Syers, A. S. Campbell and T. W. Walker: *Plant Soil* **33**, 104–112 (1970).
- 42) R. L. Parfitt, D. J. Giltrap and J. S. Whitton: *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **26**, 1343–1355 (1995).
- 43) Z. Gerstl and U. Mingelgrin: *J. Environ. Sci. Health B* **19**, 297–312 (1984).
- 44) A. Sabljic, H. Güsten, H. Verhaar and J. Hermens: *Chemosphere* **31**, 4489–4514 (1995).
- 45) L. Nemeth-Konda, G. Fülek, G. Morovjan and P. Csokan: *Chemosphere* **48**, 545–552 (2002).
- 46) N. Mahieu, E. W. Randall and D. S. Powlson: *Soil Sci. Soc. Am. J.* **63**, 307–319 (1999).
- 47) Y. Inbar, Y. Chen and Y. Hadar: *Soil Sci. Soc. Am. J.* **53**, 1695–1701 (1989).
- 48) N. Sultana, K. Ikeya, H. Shindo, S. Nishimura and A. Watanabe: *Soil Sci. Plant Nutr.* **56**, 793–799 (2010).

-
- 49) S. Hiradate, T. Nakadai, H. Shindo and T. Yoneyama: *Geoderma* **119**, 133–141 (2004).
- 50) I. Yamane: *Pedologist* **17**, 84–94 (1973) (in Japanese with English summary).
- 51) T. D. Bucheli and O. V. Gustafsson: *Chemosphere* **53**, 515–522 (2003).
- 52) A. Kawashima, M. Katayama and K. Honda: *J. Environ. Chem.* **19**, 519–525 (2009) (in Japanese with English summary).
- 53) A. Sobek, N. Stamm and T. D. Bucheli: *Environ. Sci. Technol.* **43**, 8147–8152 (2009).
- 54) G. B. McGaughey, M. Gagné and A. K. Rappé: *J. Biol. Chem.* **273**, 15458–15463 (1998).
- 55) F. Ortmann, W. G. Schmidt and F. Bechstedt: *Phys. Rev. Lett.* **95**, 186101-1–186101 (2005).
- 56) S. Grimme: *Angew. Chem. Int. Ed.* **47**, 3430–3434 (2008).
- 57) T. D. Bucheli and Ö. Gustafsson: *Environ. Sci. Technol.* **34**, 5144–5151 (2000).
- 58) A. Accardi-Dey and P. M. Gschwend: *Environ. Sci. Technol.* **37**, 99–106 (2003).
- 59) R. Lohmann, J. K. MacFarlane and P. M. Gschwend: *Environ. Sci. Technol.* **39**, 141–148 (2005).

平成 26 年度学会等での発表実績一覧

1. 誌面発表

	誌名	題目	発表者名
1	Journal of Pesticide Science (2014, 39 (2), pp. 105-114)	Effect of organic carbon quality on adsorption behavior of pesticides in Japanese soils	Yutaka Motoki, <u>Takashi Iwafune</u> , Nobuyasu Seike, Takashi Otani, Maki Asano

2. 口頭・ポスター発表

	学会名	題目	発表者名
1	13th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry (2014.8.10～14)	Water-based extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry analysis of neonicotinoid insecticides and their metabolites in green pepper/tomato samples (ポスター)	<u>Takashi Iwafune, Tomomi Ogino</u> , Eiki Watanabe
2	13th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry (2014.8.10～14)	Effect of aging time on water–extractability of pesticide residues from Japanese soils (口頭)	Yutaka Motoki, <u>Takashi Iwafune</u> , Nobuyasu Seike, Takashi Otani
3	13th IUPAC International Congress of Pesticide Chemistry (2014.8.10～14)	Pesticide fate and transport in volcanic ash agricultural soil: Monitoring and modeling (口頭)	Dang Quoc Thuyet, Hirozumi Watanabe, Piyanuch Jaikaew, Julien bulange, Hirotaka Saito, <u>Satoru Ishihara, Takashi Iwafune, Yasuo Kitamura</u>

4	水草研究会第36回全国集会 (2014.8.23～24)	カワデシヤ <i>Veronica undulata</i> の室内培養法の検討 (ポスター)	<u>加藤貴央</u> 、 <u>石原悟</u>
5	第34回農薬製剤・施用法シンポジウム (2014.9.11～12)	2014年CIPAC関連会合の報告 (口頭)	<u>渡辺高志</u> 、 <u>塚田勇輝</u>
6	第20回日本環境毒性学会研究発表会 (2014.9.10～11)	水生植物に対する化学物質の影響評価へのクロロフィル遅延発光の利用 (口頭)	<u>加藤貴央</u> 、 <u>石原悟</u> 、勝又政和、竹内彩乃、小林祐子
7	第32回農薬環境科学研究会 (2014.11.20)	QuEChERS-LC-MS/MSによるミツバチ中の残留農薬一斉分析法の妥当性確認 (ポスター)	<u>大石桂輔</u> 、 <u>石原悟</u>
8	第108回日本食品衛生学会学術講演会 (2014.12.3～5)	省溶媒化試料調製－HPLC-DADによる農作物中ネオニコチノイド系殺虫剤の同時分析法 (口頭)	渡邊栄喜、 <u>岩船敬</u> 、馬場浩司、小原裕三
9	日本農薬学会第40回記念大会 (2015.3.18～20)	農薬の後作物残留リスク評価に関する研究 第5報 コマツナ中農薬濃度と水抽出された土壌中農薬濃度の関係 (口頭)	元木裕、 <u>岩船敬</u> 、清家伸康、大谷卓、 <u>秋山嘉大</u>
10	日本農薬学会第40回記念大会	キャリアーガスの違いによるキャピラリーGC分析結果への影響 (口頭)	<u>渡辺高志</u> 、 <u>塚田勇輝</u>

	(2015.3.18 ～20)		
1 1	日本農薬 学会第40 回記念大 会 (2015.3.18 ～20)	Improvements on predicting soil water content and dissipation of atrazine and metolachlor in Japanese agricultural soils by SPEC model (口頭)	Julien bulange, Dang Quoc Thuyet, Piyanuch Jaikaew, Hirozumi Watanabe, <u>Satoru Ishihara</u> , <u>Takashi Iwafune</u> , <u>Yasuo Kitamura</u>
1 2	日本農薬 学会第40 回記念大 会 (2015.3.18 ～20)	Seasonal variation of environmetal conditions and residues of atrazine and metolachlor in Japanese agricultural soil (口頭)	Piyanuch Jaikaew, Julien bulange, Hirozumi Watanabe, <u>Satoru Ishihara</u> , <u>Takashi Iwafune</u> , <u>Yasuo Kitamura</u>

アンダーラインが FAMIC 農薬検査部職員

【技術レポート】

残留農薬分析業務における分析法の検討 1 1 2 0

残留農薬分析業務における分析法の検討 2 1 2 5

残留農薬分析業務における分析法の検討1

ペンチオピラド試験法の導入のための妥当性検証

加藤直樹^{*1}，守山智章^{*1}，鈴木徹也^{*2}，山田篤司^{*2}，青山吉一^{*3}，白井裕一^{*3}

^{*1}独) 農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

^{*2}独) 農林水産消費安全技術センター 本部横浜事務所

^{*3}独) 農林水産消費安全技術センター 神戸センター

ペンチオピラド試験法（農産物）について，レタス，ピーマン，なすおよび日本なしを供試作物とし，厚生労働省の「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に基づき，3試験室において単一試験室による妥当性確認（シングルラボバリデーション）を行った結果，すべての試験室において，妥当性評価の分析性能パラメータが，ガイドラインに示されたそれぞれの目標値に適合していることを確認した。

Keywords：ペンチオピラド，妥当性評価ガイドライン，液体クロマトグラフタンデム型質量分析計

緒 言

ペンチオピラドは，三井化学アグロが開発した野菜，果樹，芝などの作物病害を対象とした殺菌剤であり，平成20年7月に国内登録がされている。ペンチオピラド試験法は，「食品中に残留する農薬，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」第3章個別試験法ペンチオピラド試験法（農産物）（以下，通知法）にLC/MSによる測定方法が示されているが，LC/MS/MSによる測定方法の検証を実施した。検証は，「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」（平成22年12月24日付け食安発1224第1号。（以下，ガイドライン））に基づき，3試験室において単一試験室による妥当性確認（シングルラボバリデーション）を行った。

材料および方法

1. 検証を行った試験室

以下の3試験室で検証を行った。

- ・ 農薬検査部農薬実態調査課（以下，小平）
- ・ 本部横浜事務所農薬実態調査課（以下，横浜）
- ・ 神戸センター農薬実態調査課（以下，神戸）

2. 試料および添加濃度

2.1. 試料

試料は，レタス，ピーマン，なすおよび日本なしの4種とし，平成25年度に残留農薬調査試料として各試験室において受領したものとした。

2.2. 添加濃度

添加濃度は，通知法で示された定量限界濃度である0.01 ppm（以下，低濃度）およびその10倍にあたる0.1 ppm（以下，高濃度）の2濃度とした。添加回収試験は，試料に農薬標準溶液を添加した後，30分程度放置し試験操作を行った。

3. 試薬等

3.1. ペンチオピラド標準液

ペンチオピラド標準品（関東化学製，純度99.0%）12.5 mgを正確に量って25 mLの全量フラスコに入れ，標線までアセトニトリルを加えて溶かし，500 µg/mLのペンチオピラド標準原液を調製した。

検量線作成用標準液は，ペンチオピラド標準原液1 mLを25 mLの全量フラスコに正確に入れ，標線まで同溶媒を加え20 µg/mLのペンチオピラド標準液を作成した。この溶液1 mLを20 mLの全量フラスコに正確にとり，窒素を送って乾固した後にアセトニトリル：水（7：3）で正確に希釈し，1 µg/mLのペンチオピラド標準液を作成した。これを適宜，アセトニトリル：水（7：3）で希釈し検量線作成用標準液とした。

添加回収試験標準液は，ペンチオピラド標準原液1 mLを25 mLの全量フラスコに正確に入れ，

窒素を送って乾固した後にアセトンを加え 20 µg/mL のペンチオピラド標準液を作成した。これを適宜、アセトンで希釈し添加回収試験標準液とした。

3.2. ケイソウ土

関東化学製セライト 545 を使用した。

3.3. アセトン

残留農薬試験用を使用した。

3.4. アセトニトリル

精製は、残留農薬試験用を使用した。

LC/MS/MS 移動相は、HPLC 用（小平）、LC/MS/MS 用（横浜、神戸）を使用した。

3.5. 水

超純水製造装置（ミリポア製）を使用した。

3.6. 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計

LC 部：Waters 製 ACQUITY UPLC System（小平、神戸）

LC 部：Waters 製 Alliance2795（横浜）

MS 部：Waters 製 Premier XE（小平、横浜、神戸）、TQD（小平）

3.7. ロータリーエバポレーター

BÜCHI 製 R-200

3.8. グラファイトカーボンミニカラム

SUPELCO 製 Envi-Carb 500 mg

3.9. オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム

Waters 製 Sep-Pak Vac 6cc C18

4. 前処理方法

4.1. 抽出

図 1 のフローのとおり、通知法に従いアセトンで抽出し正確に 200 mL とした。

4.2. 精製

このうちの 5 mL を予めアセトン 5 mL でコンディショニングしたグラファイトカーボンミニカラム（500 mg）に負荷し、アセトン 15 mL で溶出

させ溶出液に水 10 mL を加えて、40℃以下で約 10 mL まで濃縮した。

アセトニトリルおよび水各 5 mL でコンディショニングしたオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）に先の濃縮液を注入した後、アセトニトリルおよび水（2:3）混液 10 mL を注入し流出液は捨てる。次いで、アセトニトリルおよび水（7:3）混液 10 mL を注入し、アセトニトリルおよび水（7:3）混液で正確に 10 mL としたものを試験溶液とした。

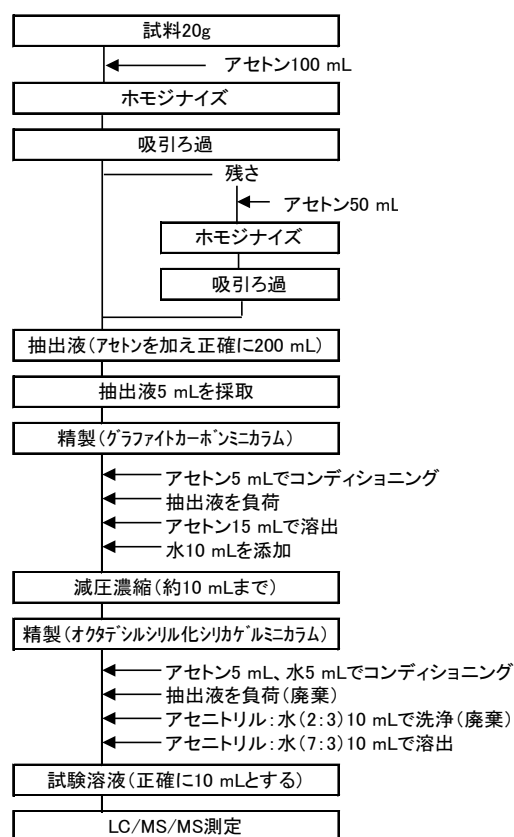


図 1. ペンチオピラド試験法（農産物）の試験方法フロー

5. 測定条件

LC/MS/MS による測定条件は、下表 1.および下
表 2.のとおりとした。

表 1.

カラム	: Waters 製 UPLC HSS T3 2.1×30 mm, 1.8 μm (小平)
	: Waters 製 Atlantis T3 2.1×100 mm, 3 μm (横浜)
	: Waters 製 UPLC HSS T3 2.1×50 mm, 1.8 μm (神戸)
流量	: 0.4 mL/min (小平, 神戸), 0.2 mL/min (横浜)
カラム温度	: 40℃
注入量	: 2 μL (小平, 神戸), 10 μL (横浜)
移動相	: 2 mmol 酢酸アンモニウム水溶液 : アセトニ トリル (40:60)
イオン化法	: エレクトロスプレーイオン化法 (ESI+, ESI-)
測定法	: 多重反応モニタリング法 (MRM)
イオン源温度	: 120℃
脱溶媒ガス温度	: 400℃ (小平, 神戸), 350℃ (横浜)
脱溶媒ガス流量	: 800 L/hr (小平, 神戸), 600 L/hr (横浜)

表 2.

ポジティブモード (ESI+)

試験 室名	プリカーサー (<i>m/z</i>)	プリクアーク (定量) (<i>m/z</i>)	プリクアーク (定性) (<i>m/z</i>)	Cone (V)	Collision (eV)
小平	360	177	—	27	36
		—	276	27	14
横浜	360	177	—	31	35
		—	236	31	35
神戸	360	177	—	27	36
		—	256	27	20

ネガティブモード (ESI-) ※

試験 室名	プリカーサー (<i>m/z</i>)	プリクアーク (定量) (<i>m/z</i>)	プリクアーク (定性) (<i>m/z</i>)	Cone (V)	Collision (eV)
小平	358	149	—	39	24
		—	109	39	44
横浜	358	149	—	40	25
		—	109	40	30
神戸	358	149	—	39	24
		—	208	39	24

※ ネガティブモードも同時測定した。

6. 試験法の妥当性評価方法

6.1. 枝分かれ試験

ガイドラインに示された実験例に基づき、各試験室において低濃度および高濃度の添加回収試験をそれぞれ 2 併行で実施し、実施日を変える又は異なる実施者による 5 回の繰り返し試験を行う。

6.2. 選択性の確認

あらかじめペンチオピラドを含まないことを確認した試料（以下、ブランク試料）の試験溶液を作製し、LC/MS/MS で測定して定量を妨害するピークの有無を確認する。

6.3. 検量線の直線性の確認

検量線作成用標準液 1 μg/mL を希釈し、0.0002, 0.0005, 0.001, 0.002, 0.005 および 0.01 μg/mL の溶液を作製する。これらの溶液を LC/MS/MS に注入し、得られたクロマトグラムのピーク面積から検量線を作成し、0.0002 μg/mL から順次、測定濃度を大きくして、0.01 μg/mL まで相関係数 *r* が 0.995 以上を維持していることを確認する。

6.4. 検出限界および定量限界の確認

定量限界はペンチオピラド試験法に示された 0.01 mg/kg を目標値とし、検出限界は 0.003 mg/kg を目標値とする。測定はクロマトグラムから当該農薬ピークの高さとピークの近傍（ピークの半値幅の 10 倍程度の範囲）のノイズの高さから S/N 比 3 相当の濃度を求めて検出限界の実測値とし、同様に S/N 比 10 相当の濃度を求めて定量限界の実測値とする。いずれも有効数字一桁に丸めた値を検出限界および定量限界とする。

- ・検出限界 = 3 × (ノイズの最大と最小の幅 × 1/2)
× 標準液濃度 / 標準液ピーク高さ × 1 / 試験法における濃縮倍率
- ・定量限界 = 10 × (ノイズの最大と最小の幅 × 1/2)
× 標準液濃度 / 標準液ピーク高さ × 1 / 試験法における濃縮倍率

6.5. 真度および精度の確認

ガイドラインに従い、低濃度は真度（回収率）が 70～120%，併行精度が 25%未満，室内精度が 30%未満，高濃度は真度（回収率）が 70～120%，併行精度が 15%未満，室内精度が 20%未満を目標値とし評価を行う。

表 3. ガイドラインに示された真度および精度の目標値

濃度 (ppm)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
≤0.001	70～120	30 >	35 >
0.001 < ~ ≤0.01	70～120	25 >	30 >
0.01 < ~ ≤0.1	70～120	15 >	20 >
0.1 <	70～120	10 >	15 >

7. 結果および考察

7.1. 妥当性評価の結果

7.1.1. 選択性

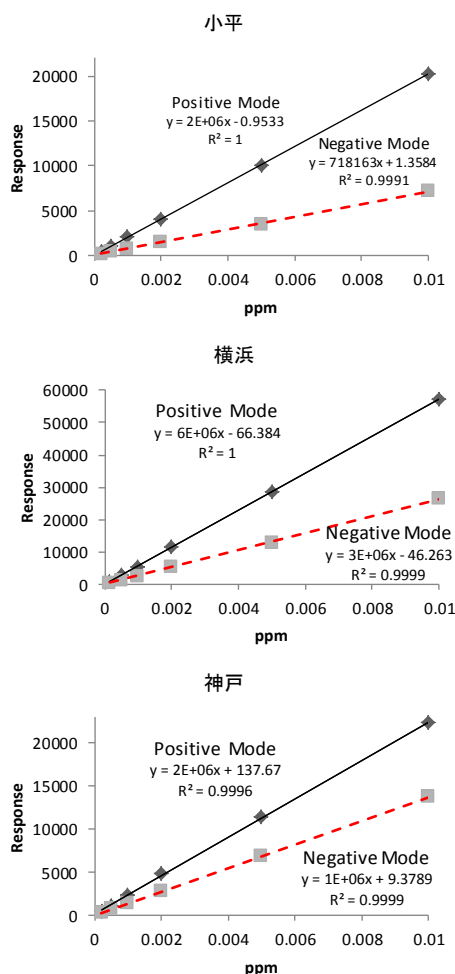
ブランク試料について分析を行ったところ、いずれの作物においてもペンチオピラドの定量の妨害となるピークは認められず、選択性に問題がないことを確認した。

7.1.2. 検量線の直線性

3 試験室の検量線の直線性の結果を表 4 に示した。いずれも 0.0002~0.01 ppm の範囲で、高い直線性（相関係数 $r=0.999$ 以上）を有していることを確認した。

表 4. 直線性の範囲と相関係数

農薬名 (測定モード)	直線性の範囲 (ppm)	相関係数 (r)		
		小平	横浜	神戸
ペンチオピラド (ポジティブモード)	0.0002~0.01	1.0000	1.0000	0.9998
ペンチオピラド (ネガティブモード)	0.0002~0.01	0.9996	0.9999	1.0000



7.1.3. 検出限界および定量限界

3 試験室の検出限界および定量限界の結果を表 5 に示した。いずれも目標値より低い値を示した。

この結果から定量限界を一律基準である 0.01 mg/kg とし、検出限界をその 3 分の 1 の 0.003 mg/kg とした。

表 5. 検出限界および定量限界

試験室名	検出限界 (mg/kg)		定量限界 (mg/kg)	
	測定値	目標値	測定値	目標値
小平	0.0003	0.003	0.0009	0.01
横浜	0.0001	0.003	0.0003	0.01
神戸	0.0003	0.003	0.0009	0.01

7.1.4. 真度および精度

3 試験室の作物別の真度（回収率）および精度（併行精度および室内精度）の結果を表 6~表 9 に示した。

真度は、回収率がいずれもガイドラインに示された目標値 70~120% の範囲内であった。

併行精度および室内精度は、いずれもガイドラインに示された目標値を満たしていた。

表 6. レタスにおける回収率、併行精度および室内精度
ポジティブモード

試験 室名	回収率 (%) n=10		併行精度 (RSD%)		室内精度 (RSD%)	
	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度
小平	98.5	98.9	4.9	2.7	4.9	3.3
横浜	99.1	97.2	5.4	2.7	5.5	3.4
神戸	94.3	95.0	3.2	2.0	5.9	2.7

ネガティブモード

試験 室名	回収率 (%) n=10		併行精度 (RSD%)		室内精度 (RSD%)	
	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度
小平	100.0	100.2	2.3	3.8	6.6	3.8
横浜	100.2	95.5	3.9	2.1	5.9	3.5
神戸	92.5	94.0	5.0	2.6	5.0	2.9

表 7. ピーマンにおける回収率、併行精度および室内精度
ポジティブモード

試験 室名	回収率 (%) n=10		併行精度 (RSD%)		室内精度 (RSD%)	
	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度
小平	98.7	101.0	6.1	2.6	6.1	3.2
横浜	97.1	93.7	1.7	3.1	5.3	3.1
神戸	94.7	97.8	4.2	3.4	7.5	3.8

ネガティブモード

試験 室名	回収率 (%) n=10		併行精度 (RSD%)		室内精度 (RSD%)	
	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度
小平	97.0	99.6	3.9	2.7	6.3	2.8
横浜	96.1	96.8	2.1	4.1	5.4	4.2
神戸	95.1	93.6	3.9	2.6	3.9	4.5

表 8. なすにおける回収率，併行精度および室内精度

ポジティブモード

試験 室名	回収率 (%) n=10		併行精度 (RSD%)		室内精度 (RSD%)	
	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度
小平	97.1	102.0	5.7	2.8	5.7	3.4
横浜	102.0	99.5	3.2	2.5	4.8	2.5
神戸	93.9	96.1	4.8	2.3	4.8	2.3

ネガティブモード

試験 室名	回収率 (%) n=10		併行精度 (RSD%)		室内精度 (RSD%)	
	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度
小平	99.9	98.9	4.9	2.1	4.9	2.5
横浜	99.1	96.2	3.6	1.8	8.2	6.8
神戸	93.9	97.8	5.0	1.7	5.0	5.1

表 9. 日本なしにおける回収率，併行精度および室内精度

ポジティブモード

試験 室名	回収率 (%) n=10		併行精度 (RSD%)		室内精度 (RSD%)	
	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度
小平	99.1	98.6	5.3	3.0	5.4	3.1
横浜	98.3	93.2	1.7	3.0	3.4	4.1
神戸	95.4	96.0	4.7	2.7	4.8	3.2

ネガティブモード

試験 室名	回収率 (%) n=10		併行精度 (RSD%)		室内精度 (RSD%)	
	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度
小平	101.2	98.2	5.0	3.0	5.0	5.4
横浜	97.9	97.3	2.6	2.1	5.6	2.4
神戸	94.2	97.4	7.4	2.9	7.7	4.5

7.2. 室間再現精度の結果

参考として各試験室における5回繰り返しの併行測定結果の平均値（各試験室5個のデータ）について，作物別の真度（回収率）および精度（併行精度および室間精度）の結果を表10に示した。この結果についてもすべてガイドラインの目標値を満たしていた。

表 10. 3試験室の測定結果（回収率，併行精度および室間精度）

ポジティブモード

作物名	回収率 (%) n=15		併行精度 (RSD%)		室間精度 (RSD%)	
	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度
レタス	97.3	97.0	4.0	2.6	4.4	3.1
ピーマン	96.8	97.5	5.2	2.4	5.2	4.3
なす	97.7	99.2	3.5	1.9	5.2	3.4
日本なし	97.6	95.9	3.5	2.8	3.7	3.8

ネガティブモード

作物名	回収率 (%) n=15		併行精度 (RSD%)		室間精度 (RSD%)	
	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度
レタス	97.6	96.6	5.3	2.5	6.5	4.0
ピーマン	96.1	96.7	4.7	3.1	4.7	4.2
なす	97.7	97.7	4.8	4.9	5.4	4.9
日本なし	97.7	97.6	4.7	3.8	5.5	3.8

8. まとめ

通知法のペンチオピラド試験法を LC/MS/MS による測定方法についてガイドラインに基づき妥当性評価を行ったところ，今回対象とした試料については，すべての試験室において，妥当性評価の分析性能パラメータが，それぞれの目標値等に適合していることを確認した。

おわりに

以上の結果から，すべての試験室でペンチオピラド試験法を LC/MS/MS による測定が導入できると考えられた。

参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知，食安発第 0124001 号第 3 章個別試験法（通知試験法）「ペンチオピラド試験法」（農産物）
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知，食安発第 12241 号食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長通知，食安基 1208 第 1 号食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインに関する質疑応答集（Q&A）について

残留農薬分析業務における分析法の検討2

一斉試験法（米穀）における調査対象農薬追加のための妥当性検証

青山吉一^{*1}，白井裕一^{*1}，加藤直樹^{*2}，守山智章^{*2}，鈴木徹也^{*3}，山田篤司^{*3}

^{*1}独）農林水産消費安全技術センター 神戸センター

^{*2}独）農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

^{*3}独）農林水産消費安全技術センター 本部横浜事務所

一斉試験法（米穀）における妥当性の確認を行っていない9農薬について，厚生労働省の「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に基づき，3試験室において単一試験室による妥当性確認（シングルラボバリデーション）を行った結果，すべての試験室において，妥当性評価の分析性能パラメータが，ガイドラインに示されたそれぞれの目標値に適合していることを確認した。

Keywords：残留農薬，米穀，妥当性評価ガイドライン，液体クロマトグラフタンデム型質量分析計

緒 言

独立行政法人農林水産消費安全技術センターでは、「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」1)（以下，通知試験法）の別添 第2章一斉分析法の「GC/MSによる農薬等の一斉分析法（農産物）」および「LC/MSによる農薬等の一斉分析法 I（農産物）」に対応した「農薬実態調査課 GC/MS・LC/MSによる農薬等の一斉試験法（米穀・麦類・大豆）手順書」（以下，一斉試験法（米穀等））により米穀の農薬の分析を行っている。

一斉試験法（米穀等）の米穀において，妥当性の確認を行っていない9農薬について，液体クロマトグラフタンデム型質量分析計（以下，LC/MS/MS）による測定方法の検証を実施した。検証は，「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」（平成22年12月24日付け食安発第1224第1号，（以下，ガイドライン））に基づき，3試験室において単一試験室による妥当性確認（シングルラボバリデーション）を行った。

なお，既存の液体クロマトグラフ質量分析計（以下，LC/MS）分析対象13農薬についてもLC/MS/MSによる測定に変更する検証を併せて行った。

材料および方法

1. 検証を行った試験室

以下の3試験室で検証を行った。

- ・ 農薬検査部農薬実態調査課（以下，小平）
- ・ 本部横浜事務所農薬実態調査課（以下，横浜）
- ・ 神戸センター農薬実態調査課（以下，神戸）

2. 対象農薬

2.1. LC/MS/MS 測定農薬（新規妥当性確認）

クロラントラニリプロール，シラフルオフェン，スピノサド（スピノシン A および スピノシン D），テブフェノジド，ピラクロニル，フィプロニル，ペンシクロン，ベンゾフェナップおよびペントキサゾンの9農薬。

2.2. LC/MS 分析対象農薬（測定方法変更）

アゾキシストロビン，イミダクロプリド，インダノファン，オキサジクロメホン，カルプロパミド，クロチアニジン，クロメプロップ，ダイムロン，チアクロプリド，チアメトキサム，フェノブカルブ（BPMC），フェリムゾンおよびメトキシフェノジドの13農薬。

2.3. GC/MS 分析対象農薬（参考）

EPN，イソプロカルブ（MIPC），イソプロチオラン，イプロベンホス（IBP），ウニコナゾールP，エスプロカルブ，エディフェンホス（EDDP），エトフェンプロックス，オキサジアゾン，カフェン

ストロール, キノクラミン (ACN), ジクロシメット, シハロホップブチル, ジメタメトリン, シメトリン, チオベンカルブ (ベンチオカーブ), チフルザミド, テニルクロール, トリシクラゾール, ピリブチカルブ, ピリミノバックメチル, ピロキロン, フェントロチオン (MEP), フェノキサニル, フェンチオン (MPP), フェントエート (PAP), フサライド, ブタクロール, ブタミホス, ブプロフェジン, フルジオキサニル, フルトラニル, プレチラククロール, プロモブチド (脱臭素体を含む), ベンフレセート, マラチオン (マラソン), メタラキシル, メフェナセートおよびメプロニルの 39 農薬.

3. 試料および添加濃度

3.1. 試料

試料は, 平成 25 年度に残留農薬調査試料として神戸において受領した米穀 (玄米) を供試試料とした.

3.2. 添加濃度

添加濃度は, 一律基準濃度である 0.01 ppm (以下, 低濃度) およびその 10 倍にあたる 0.1 ppm (以下, 高濃度) の 2 濃度とした. 添加回収試験は, 試料に農薬標準溶液を添加し 30 分程度放置した後試験操作を行った.

4. 試薬等

4.1. 農薬標準溶液

LC/MS/MS 測定農薬: クロラントラニプロール (Dr.Ehrenstorfer 社), シラフルオフエン, ピラクロニル, フィプロニル, ペンシクロン, ペントキサゾン (和光純薬工業株式会社), スピノサド (スピノシン A およびスピノシン D), ベンゾフェナップ (林純薬工業株式会社) およびテブフェノジド (関東化学株式会社) の農薬標準品を使用した.

各農薬標準品にアセトニトリルを加えて溶かし, 500 µg/mL の標準原液を調製した.

LC/MS 分析対象農薬: 農薬混合標準溶液 (特注品: 関東化学株式会社) 各 20 ppm, 5 mL アンブル瓶, 溶媒 (アセトニトリル)

これを適宜, アセトニトリルで希釈し試験標準液とした.

GC/MS 分析対象農薬: 農薬混合標準溶液 (特

注品: 関東化学株式会社) 各 20 ppm, 5 mL アンブル瓶, 溶媒 (アセトン).

これを適宜, アセトン及び n-ヘキサン (1:1) 混液で希釈し試験標準液とした.

4.2. 試薬

アセトニトリル (残留農薬試験用および液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS) 用), トルエン (残留農薬試験用), アセトン (残留農薬試験用), n-ヘキサン (残留農薬試験用), メタノール (液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS) 用および高速液体クロマトグラフ分析 (HPLC) 用), リン酸トリフェニル (特級), 塩化ナトリウム (残留農薬試験用), リン酸水素二カリウム (特級), リン酸二水素カリウム (特級), 水酸化ナトリウム (特級), 塩酸 (特級), 無水硫酸ナトリウム (残留農薬試験用) およびケイソウ土 (セライト 545) を使用した.

4.3. 調製試薬

0.5 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0): リン酸水素二カリウム 52.7 g 及びリン酸二水素カリウム 30.2 g を量り取り, 水約 500 mL に溶解し, 1 mol/L 水酸化ナトリウム又は 1 mol/L 塩酸を用いて pH 7.0 に調整した後, 水を加えて 1 L とした.

4.4. ろ紙

桐山ロート用ろ紙 No.5A-60

4.5. グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム

GL サイエンス製 InertSep GC/NH2 500 mg/500 mg (小平)

SUPELCO 製 ENVI-Carb/LC-NH2 500 mg/500 mg (横浜, 神戸)

4.6. オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム

Waters 製 Sep-Pak Vac 6cc C18 (1 g)

4.7. 水

超純水製造装置 (ミリポア製) を使用した.

4.8. ロータリーエバポレーター

BÜCHI 製 R-200,R210

4. 9. 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計

LC 部：Waters 製 ACQUITY UPLC System (小平, 神戸)
LC 部：Waters 製 Alliance2795 (横浜)
MS 部：Waters 製 Premier XE (小平, 横浜, 神戸)

5. 前処理方法

5. 1. 抽出

図 1. のフローのとおり、一斉試験法 (米穀等) に従い水を加え膨潤させた試料から農薬をアセトニトリルで抽出し、抽出液に塩化ナトリウムおよび 0.5 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0) を加えて振とうした後、水層を分離除去した。

5. 2. 精製

アセトニトリル層をオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製し、脱水の後、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製し、リン酸トリフェニル (内標準物質) 1 µg/mL を含むアセトンおよび

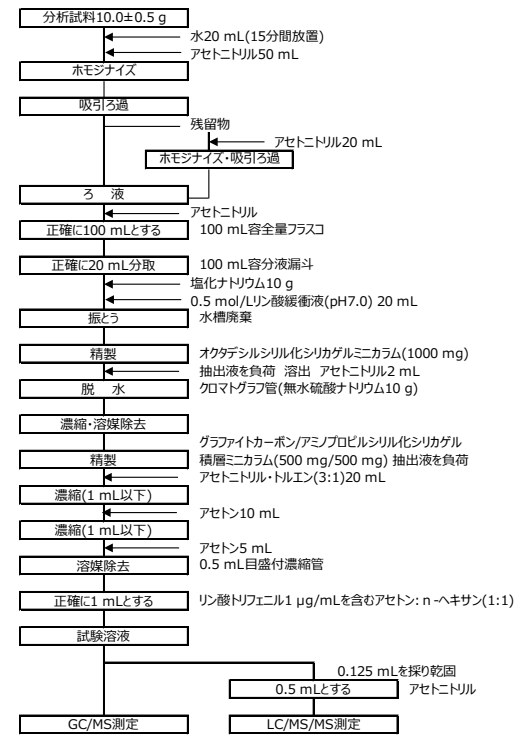


図 1. 一斉試験法 (米穀等) フロー

n-ヘキサン (1:1) 混液を加えて、試験溶液とした (GC/MS 用試験溶液、標準添加法により測定)。

この試験溶液 0.125 mL を採り乾固後、アセトニトリルで 0.5 mL としたものを LC/MS/MS 用試験溶液とした。

6. 測定条件

LC/MS/MS による測定条件および LC 条件は、下表 1-1 から表 1-3. のとおりとした。

表 1-1. LC/MS/MS 測定条件

農薬名	測定モード	ブリーク m/z	ブリーク (定量) m/z	ブリーク (定性) m/z
クロロピリフェノール	+	484	286	177
シラフルオフェン	+	426	287	168
スピンシン A	+	732.5	142	98
スピノジ D	+	746.5	142	98
テブフェノジ D	+	353	297	105
ピラクロニル	+	315	169	241
フィプロニル	-	435	330	250
ベンジクロン	+	329	125	218
ベンジフェナップ	+	431	105	119
ベンチメゾリン	+	354	286	186

表 1-2. LC 条件

カラム	: Waters 製 Acquity UPLC HSS T3 2.1 × 100 mm, 1.7 µm (小平) : Waters 製 Atlantis T3 C18 2.1 × 100 mm, 3 µm (横浜) : Wako 製 Wakopak Ultra C18-2 2.1 × 100 mm, 2 µm (神戸)
流量	: 0.353 mL/min (小平), 0.2 mL/min (横浜, 神戸)
カラム温度	: 40°C
注入量	: 2 µL (小平, 神戸), 5 µL (横浜)
移動相	: A 液 5 mmol 酢酸アンモニウム水溶液 B 液 5 mmol 酢酸アンモニウムメタノール溶液 (グラジエント条件: 表 1-3)
イオン化法	: エレクトロスプレーイオン化法 (ESI+, ESI-)
測定法	: 多重反応モニタリング法 (MRM)
イオン源温度	: 120°C
脱溶媒ガス温度	: 400°C (小平, 神戸), 350°C (横浜)
脱溶媒ガス流量	: 800 L/hr (小平, 神戸), 600 L/hr (横浜)

表 1-3. グラジエント条件

小平			横浜, 神戸		
時間 (min)	A (%)	B (%)	時間 (min)	A (%)	B (%)
0	85	15	0	85	15
0.29	60	40	0.67	60	40
1.23	60	40	2.33	60	40
2.18	50	50	4	50	50
2.93	45	55	5.33	45	55
6.52	5	95	11.67	5	95
8.52	5	95	16.5	5	95
10	85	15	20 (神戸)	85	15
			25 (横浜)	85	15

7. 試験法の妥当性評価方法

7.1. 枝分かれ試験

ガイドラインに示された実験例に基づき、各試験室において低濃度および高濃度の添加回収試験をそれぞれ2併行で実施し、実施日を変える又は異なる実施者による5回の繰り返し試験を行う。

7.2. 選択性の確認

あらかじめ対象農薬を含まないことを確認した試料（以下、ブランク試料）の試験溶液を作製し、LC/MS/MSで測定して定量を妨害するピークの有無を確認する。

7.3. 検量線の直線性の確認

試験標準液を希釈し、0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05 および 0.1 µg/mL の溶液を作製する。これらの溶液を LC/MS/MS に注入し、得られたクロマトグラムからピーク面積から検量線を作成し、0.002 µg/mL から順次、測定濃度を大きくして、0.1 µg/mL まで相関係数 r が 0.995 以上を維持していることを確認する。

7.4. 検出限界および定量限界の確認

検出限界の目標値は 0.005 ppm、定量限界の目標値は 0.01 ppm とする。

ブランク試料に 0.005 ppm となるように混合農薬標準溶液を添加したものを10回、ブランク試料溶液をランダムに5回測定し、正味の測定値（ブランク試料の測定値を差し引いた測定値）から試料中濃度に換算した値の標準偏差 σ に、係数 3.67 を乗じた値を検出限界として算出した。定量限界は標準偏差 σ に係数 10 を乗じたものとして算出した。

7.5. 真度および精度の確認

ガイドラインに従い、低濃度は真度（回収率）が 70～120%、併行精度が 25%未満、室内精度が 30%未満、高濃度は真度（回収率）が 70～120%、併行精度が 15%未満、室内精度が 20%未満を目標値とし評価を行う。

表 2. ガイドラインに示された真度および精度の目標値

濃度 (ppm)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
≤ 0.001	70～120	30 >	35 >
$0.001 < \sim \leq 0.01$	70～120	25 >	30 >
$0.01 < \sim \leq 0.1$	70～120	15 >	20 >
$0.1 <$	70～120	10 >	15 >

8. 結果および考察

8.1. LC/MS/MS 測定農薬の妥当性評価の結果

8.1.1. 選択性

ブランク試料について分析を行ったところ、いずれの農薬においても定量の妨害となるピークは認められず、選択性に問題がないことを確認した。

8.1.2. 検量線の直線性

3試験室の直線性の結果を表3に示した。0.002～0.1ppmの範囲で、小平のテブフェノジドと横浜のクロラントラニリプロールが 0.997 程度の相関係数となった他は、高い直線性（相関係数 r = 0.999 以上）を有しており、すべての農薬について相関係数 r が 0.995 以上であることを確認した。

表 3. 直線性の範囲と相関係数

農薬名	直線性の範囲 (ppm)	相関係数 (r)		
		小平	横浜	神戸
クロラントラニリプロール	0.002-0.1	0.9997	0.9978	1.0000
シラルオフェン	0.002-0.1	0.9995	0.9996	1.0000
スピノシンA	0.002-0.1	0.9997	0.9999	1.0000
スピノシンD	0.002-0.1	0.9996	0.9999	1.0000
テブフェノジド	0.002-0.1	0.9977	0.9999	1.0000
ビラクロニル	0.002-0.1	0.9999	1.0000	1.0000
フィプロニル	0.002-0.1	0.9996	0.9996	1.0000
ベンゾクロン	0.002-0.1	0.9998	0.9994	0.9999
ベンゾフェナブ	0.002-0.1	0.9994	0.9997	0.9999
ベンチザゾン	0.002-0.1	0.9995	0.9999	0.9998

8.1.3. 検出限界および定量限界

3試験室の検出限界および定量限界の結果を表4に示した。いずれも目標値より低い値を示した。

この結果から定量限界を一律基準である 0.01 mg/kg とし、検出限界を 0.005 mg/kg とした。

8.1.4. 真度および精度

各試験室の真度（回収率）および精度（併行精度および室内精度）の結果を表5に示した。

真度は、回収率がいずれもガイドラインに示された目標値 70～120%の範囲内であった。

併行精度および室内精度は、いずれもガイドラインに示された目標値を満たしていた。

8.1.5. 空間再現精度の結果

参考として各試験室における5回繰り返しの併

行測定結果の平均値（各試験室5個のデータ）について、真度（回収率）および精度（併行精度および室内精度）の結果を表6に示した。この結果についてもすべてガイドラインの目標値を満たしていた。

表 4. 検出限界および定量限界

農薬名	検出限界 (mg/kg)			定量限界 (mg/kg)		
	小平	横浜	神戸	小平	横浜	神戸
クロラントラニリプロール	0.0018	0.00136	0.00039	0.00492	0.00370	0.00107
シラフルオフェン	0.0010	0.00063	0.00034	0.00263	0.00172	0.00092
スピノシンA	0.0005	0.00041	0.00014	0.00144	0.00112	0.00037
スピノシンD	0.0004	0.00037	0.00015	0.00106	0.00101	0.00042
テブフェノジド	0.0007	0.00054	0.00069	0.00184	0.00146	0.00187
ピラクロニル	0.0005	0.00053	0.00028	0.00125	0.00144	0.00076
フィプロニル	0.0012	0.00101	0.00078	0.00337	0.00275	0.00212
ベンシクロン	0.0005	0.00025	0.00032	0.00146	0.00068	0.00088
ベンゾフェナップ	0.0007	0.00070	0.00023	0.00178	0.00191	0.00063
ペントキサゾン	0.0027	0.00111	0.00131	0.00739	0.00302	0.00358

表 5. 回収率，併行精度および室内精度

農薬名	試験所	回収率 (%) n=10		併行精度 (RSD%)		室内精度 (RSD%)	
		低濃度	高濃度	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度
クロラントラニリプロール	小平	103.3	98.7	6.5	3.9	6.5	6.8
	横浜	94.1	95.2	5.2	5.6	12.8	11.8
	神戸	100.0	98.5	1.4	2.6	2.8	2.9
シラフルオフェン	小平	90.8	78.5	4.6	3.2	6.2	5.0
	横浜	81.0	87.4	3.9	9.9	11.8	14.0
	神戸	84.3	81.4	5.1	2.1	5.4	6.5
スピノシンA	小平	82.6	82.0	2.5	2.9	10.1	7.0
	横浜	89.6	96.4	3.8	4.4	11.1	16.3
	神戸	82.9	82.4	5.3	4.0	8.3	7.6
スピノシンD	小平	83.3	83.2	3.4	4.1	6.5	6.5
	横浜	86.8	93.1	4.1	4.8	12.7	18.2
	神戸	86.1	85.0	5.1	2.7	11.9	10.6
テブフェノジド	小平	88.2	92.8	2.8	3.1	4.8	6.4
	横浜	93.3	93.8	2.5	3.3	6.4	9.0
	神戸	98.0	96.0	4.3	2.3	6.7	3.3
ピラクロニル	小平	94.9	99.1	1.9	2.0	5.0	2.8
	横浜	101.4	104.0	4.4	3.5	7.2	9.2
	神戸	101.3	99.7	2.2	5.2	5.9	5.7
フィプロニル	小平	99.7	95.7	2.9	4.3	3.7	5.0
	横浜	101.1	103.7	7.2	4.0	7.3	8.4
	神戸	89.8	89.9	4.7	5.1	11.7	9.6
ベンシクロン	小平	95.9	100.8	3.6	1.5	4.0	4.3
	横浜	98.4	102.2	3.1	3.7	5.1	8.2
	神戸	101.3	100.1	2.4	1.3	5.5	3.9
ベンゾフェナップ	小平	96.0	97.9	3.2	2.4	7.1	3.6
	横浜	98.3	103.6	5.0	4.6	5.5	8.3
	神戸	102.7	101.1	2.1	2.9	4.7	5.2
ペントキサゾン	小平	84.2	96.1	9.7	7.0	9.7	8.1
	横浜	96.1	99.9	5.0	2.2	10.7	6.6
	神戸	97.6	103.2	6.9	3.4	10.8	8.5

表 6. 3 試験室の測定結果（回収率，併行精度および室間精度）

農薬名	回収率（%） n=15		併行精度（RSD%）		室間精度（RSD%）	
	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度	低濃度	高濃度
クロラントラニリブロール	99.1	97.5	7.4	7.4	8.1	7.4
シラフルオフェン	85.4	82.4	7.5	8.6	8.9	9.5
スピノシンA	85.0	86.9	9.6	11.5	9.7	13.9
スピノシンD	85.4	87.1	10.4	12.9	10.4	13.0
テブフェノジド	93.2	94.2	5.6	6.3	7.3	6.3
ピラクロニル	99.2	101.0	5.8	6.0	6.4	6.0
フィプロニル	96.9	96.4	7.0	7.2	8.9	9.7
ペンシクロン	98.5	101.0	4.5	5.6	4.8	5.6
ベンゾフェナップ	99.0	100.8	5.2	5.6	5.8	5.7
ベントキサゾン	92.6	99.7	8.9	7.1	11.3	7.3

8.2. LC/MS 分析対象農薬の妥当性評価の結果

LC/MS/MS 測定への変更は試験法の一部を変更することであるため，ガイドラインに基づき選択性および真度の確認を行った。

8.2.1. 選択性

ブランク試料について分析を行ったところ，いずれの農薬においても定量の妨害となるピークは認められず，選択性に問題がないことを確認した。

められず，選択性に問題がないことを確認した。

8.2.2. 真度

各試験室の繰り返し測定結果 10 回（回収率）の平均値を表 7 に示した。この結果についても 70～120%の基準を満たした。

表 7. LC/MS 分析対象農薬の LC/MS/MS 測定結果の回収（%）

農薬名	低濃度 n=10			高濃度 n=10		
	小平	横浜	神戸	小平	横浜	神戸
アゾキシストロビン	94.7	98.1	102.5	98.3	101.3	101.4
イミダクロプリド	93.1	88.5	98.2	94.7	100.1	99.2
インダノファン	92.3	96.9	89.5	92.4	93.0	84.9
オキサジクロメホン	93.0	99.9	100.3	94.7	105.4	97.9
カルプロパミド	89.0	85.3	99.3	88.4	88.7	91.0
クロチアニジン	88.9	87.1	97.1	93.7	100.6	96.7
クロメプロップ	90.0	91.8	103.9	92.9	95.4	97.3
ダイムロン	93.2	102.1	101.7	96.4	99.9	97.5
チアクロプリド	93.3	98.5	101.5	98.8	104.2	100.7
チアメトキサム	84.1	93.0	92.1	88.1	93.9	91.1
フェノブカルブ（BPMC）	80.0	96.7	93.0	82.1	96.0	89.3
フェリムゾン	83.0	89.9	90.1	90.8	98.3	96.2
メトキシフェノジド	92.4	100.3	92.0	99.6	103.5	89.2

8.3. GC/MS 分析対象農薬の真度（参考）

本調査では LC/MS/MS 測定の検証対象農薬（22 農薬（9 農薬+13 農薬））が一斉試験法（米穀）において既に妥当性が確認されている GC/MS 測定対象の 39 農薬に対して影響がないことを確認するため GC/MS 分析対象農薬を同時に加えて添加回収試験を実施した。

験を実施した。

各試験室における GC/MS 分析対象農薬の繰り返し測定結果 10 回の平均値を表 8.に示した。この結果についてもすべての農薬で真度（回収率 70～120%）の基準を満たした。

表 8. GC/MS 分析対象農薬測定結果の回収率(%)

農薬名	低濃度 n=10			高濃度 n=10		
	小平	横浜	神戸	小平	横浜	神戸
E P N	96.7	94.8	88.6	78.1	77.9	73.9
イソプロカルブ (MIPC)	84.9	86.1	95.6	82.2	84.8	76.5
イソプロチオラン	89.7	101.8	85.6	90.3	94.4	88.6
イプロベンホス (IBP)	90.8	95.2	83.7	89.6	90.8	77.7
ウニコナゾール	96.0	94.1	88.1	87.7	91.7	85.5
エスプロカルブ*	88.0	100.1	99.4	92.3	95.7	91.2
エディフェンホス (EDDP)	96.9	86.3	91.7	87.6	84.3	86.8
エトフェンブロックス	93.4	92.0	98.0	85.8	91.9	91.3
オキサジアゾン	106.3	102.9	97.2	93.6	92.7	99.7
カフェンストロール	93.0	81.7	94.9	95.4	78.0	97.0
キノクラミン (ACN)	85.4	87.3	84.2	79.3	79.9	75.6
ジクロシメット (異性体計)	95.1	94.3	95.5	96.1	93.7	89.5
シハロホップブチル	96.5	100.1	91.3	97.0	87.9	88.4
ジメタメトリン	97.6	90.7	92.8	91.3	88.8	88.3
シメトリン	97.1	89.1	94.4	90.5	87.8	88.3
チオベンカルブ (ベンチカブ)	89.1	89.2	86.7	92.1	90.3	89.4
チフルザミド	92.7	91.0	85.1	89.5	82.6	82.0
テニルクロール	99.5	86.7	89.6	92.0	94.7	95.5
トリシクラゾール	91.4	104.8	86.4	83.7	76.5	75.6
ピリブチカルブ	94.0	91.4	95.3	82.0	86.2	84.7
ピリミノバックメチル (E体)	97.2	92.7	96.0	96.8	93.8	92.9
ピリミノバックメチル (Z体)	101.7	98.0	97.0	91.9	94.1	94.0
ピロキロン	91.0	88.3	93.7	89.0	85.7	85.2
フェニトロチオン (MEP)	93.4	94.9	87.9	89.0	74.3	73.5
フェノキサニル	96.6	103.0	94.7	98.3	96.3	95.9
フェンチオン (MPP)	95.8	92.5	104.4	96.0	90.2	89.4
フェントエート (PAP)	91.1	97.5	88.0	90.5	80.8	79.9
フサライド	88.4	90.4	93.2	85.6	85.2	85.3
ブタクロール	96.4	90.1	94.4	89.6	87.7	87.0
ブタミホス	92.4	93.5	85.3	77.2	73.5	72.7
ブプロフェジン	94.9	88.3	94.2	88.1	89.4	88.6
フルジオキシニル	92.3	94.6	97.6	94.1	92.1	91.6
フルトラニル	96.2	103.8	97.5	92.6	91.1	90.8
プレチラクロール	90.9	95.8	96.7	94.5	88.5	88.7
ブロモブチド	90.1	97.1	100.8	95.7	88.3	87.9
ブロモブチド脱臭素体	103.5	111.4	101.5	92.3	91.1	90.6
ベンフレセート	94.3	94.0	93.7	96.2	94.8	94.1
馬拉チオン(マラソ)	89.9	92.9	91.7	95.6	88.2	86.9
メタラキシル	89.3	89.4	106.5	98.0	93.8	94.3
メフェナセツト	99.0	93.1	91.1	91.5	89.3	89.4
メブロニル	102.8	97.4	98.9	98.8	99.0	99.4

9. まとめ

一斉試験法（米穀）の試料は玄米とし、妥当性の確認を行っていない 9 農薬について、LC/MS/MS による測定方法の検証を実施しガイドラインに基づく妥当性評価を行ったところ、9 農薬については、すべての試験室において妥当性評価の性能パラメータが、それぞれの目標値等に適合していることを確認した。

従来 LC/MS 測定を行っていた 13 農薬について、LC/MS/MS への測定方法の変更が可能かガイドラインに基づき妥当性評価を行ったところ、検証対象とした 13 農薬については、すべての試験室におい

て妥当性評価の性能パラメータが、それぞれの目標値等に適合していることを確認した。

おわりに

以上の結果から、すべての試験室において、9 農薬の一斉試験法（米穀等）による LC/MS/MS 測定が導入できると考えられた。

また、LC/MS 分析対象としてきた 13 農薬についても、LC/MS/MS による測定方法に変更することが可能と考えられた。

参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知, 食安発第 0124001 号第 2 章一斉試験法(通知試験法)「GC/MS による農薬等の一斉分析法(農産物)」、「LC/MS による農薬等の一斉分析法 I (農産物)」
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知, 食安発第 12241 号食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長通知, 食安基 1208 第 1 号食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインに関する質疑応答集(Q&A)について

