

令和4年3月31日

安全な農畜水産物安定供給のための包括的レギュラトリーサイエンス研究推進
委託事業のうち短期課題解決型研究
研究成果報告書

課題番号：20330843

臭化メチルの代替の消毒方法の確立及び安全性の確保
(臭化メチルの安全性の向上に係る研究)

研究期間：令和2年度～令和3年度（2年間）

研究総括者名：大山 和俊

試験研究機関名：一般財団法人残留農薬研究所

<別紙様式3>最終年度報告書

1 研究目的

臭化メチルの暴露評価に関する科学的知見を得るために必要な真度、精度及び感度を有し、且つ、簡易で迅速な臭化メチル及び臭素の分析法、並びに、読み替え手法等を確立することを目的とする。

このため、本研究では、

1. 分析法の開発：標準溶液の安定性、分析法の検討、分析法の妥当性確認
 2. 実態調査：臭化メチル剤処理による残留実態の把握、読み替え手法等の確立
- により、臭化メチル及び臭素の経時的な減衰や関係性を解明し、最終的に読み替え手法等の確立を目標とする。

その結果、

1. 分析法の開発：臭化メチルの暴露評価に関する科学的知見を得ることが可能となり
2. 実態調査：臭化メチルくん蒸の継続的な活用で、新たなくん蒸技術の開発や普及に要する経費削減が見込まれ、我が国の農産物の安全安心に対する費用対効果は多大となること

が期待される。

2 研究内容

(1) 研究課題

1) 分析法の開発(大山和俊・一般財団法人残留農薬研究所)

海外から輸入された植物から植物防疫法第5条の2第1項で規定する検疫有害動物植物が確認された場合は、その植物について消毒または廃棄を実施する。消毒に使用する薬剤等は輸入植物検疫規程別表第3「消毒方法の基準」で定められており、多様な病害虫や植物に対して使用可能な臭化メチルを用いたくん蒸が多く用いられている。臭化メチルは、農薬取締法に基づき登録された農薬であるため、人体や環境への影響に関する最新の科学的データを整備し、使用上の安全性を確保することが求められている。その為、現行の臭化メチルを用いた消毒措置の継続が必要な品目を対象に、科学的データに基づき人体等への安全性を担保しつつ、検疫上の安全性を確保した新たな消毒基準を策定する必要がある。

本小課題では、臭化メチルの暴露評価に関する科学的知見を得るために必要となる真度、精度および感度を有し、且つ、迅速で簡易な臭化メチルおよび臭素の分析法を検討する。現行の臭素試験法¹⁾は、試料を灰化した後、誘導体化してGC-ECDで定量する方法で、その定量限界は1 mg/kgである。当該試験法は、電気炉で灰化できる試料点数(6点程)に制約があり、且つ、灰化工程に7~8時間を要する為、多検体を迅速に分析することが困難である。そして、現行の全臭素分析法では、残留臭素の形態が、臭素酸などの有機臭素体であるか無機臭素であるかを区別することができない。一方、欧州委員会においては、試料をメタノール抽出し、無機臭素および臭素酸類をそれぞれLC-MS/MSで定量する方法²⁾が示されており、臭化メチルの安全管理への活用が期待される。

臭化メチルについて我が国では、蒸留法により捕集した後、誘導体化してGC-NPDで定量する報告例³⁾があり、その検出限界は0.005 mg/kgである。当該分析法は、蒸留装置の設置に制約があり(1.5 m幅のドラフト内に1組設置)、且つ、誘導体化試薬(0,0-ジエチル-S-メチルジチオリン酸)が市販されていないため汎用性が無い。一方、欧米においては、試料をメタノール抽出し、その抽出液をHS-GC-ECDで定量する報告例^{4), 5)}があり、臭化メチルの安全管理への活用が期待される。

(ア) 標準溶液の安定性(矢島智成・一般財団法人残留農薬研究所)

臭化メチルは揮発性が高いことから、標準溶液は用時調整することが基本操作となるが、任意の期間保管した標準溶液と新規調製した標準溶液の測定感度を比較し、一定期間の保存が可能かを確認する。標準溶液の安定性が確認されることにより、分析結果の信頼性を確保しつつ、分析実務の作業性を向上させることが可能となる。

(イ) 分析法の検討(飯島和昭・一般財団法人残留農薬研究所)

迅速・簡易な臭素(含む臭素酸イオン)および臭化メチルの分析法を検討することにより、本事業の目標達成のために不可欠なくん蒸試料の実態調査を効率的に実施することが可能となる。

(ウ) 分析法の妥当性確認(長田拓也・一般財団法人残留農薬研究所)

迅速・簡易な臭素(含む臭素酸イオン)および臭化メチルの分析法の妥当性を確認することにより、本事業で収集される分析値の信頼性が担保される。なお、分析法の妥当性確認は、農林水産省の試験指針⁶⁾ならびにOECDテストガイドンス⁷⁾に準拠して実施する。

(エ) 実態調査の予備検討 (矢島智成・一般財団法人残留農薬研究所)

モデルくん蒸装置を用いた農産品の臭化メチルくん蒸を予備的に実施することにより、引き続いて実施する小課題-2：実態調査における試験条件の詳細設定が可能となる。

2) 実態調査等 (大山和俊・一般財団法人残留農薬研究所)

臭化メチルの残留基準を臭素とする現行の国内規定が整備されて以降は、臭化メチルの残留調査は臭素を分析対象として収集されてきた。しかしながら、臭素は広く天然に存在する為、無機臭素での安全管理には天然由来のバックグラウンドを考慮する必要があり、臭化メチル使用に伴う安全性評価を正確に行うことは困難である。そのため、新たな消毒基準の策定には、全臭素のデータを臭化メチルで読み替える手法、安全に係る評価物質の経時的な減衰傾向を推計する計算手法を確立する必要がある。

臭化メチルそのものを分析対象とした農産品中での残留データは相応数を収集可能であるが、調査年次が古いものが多く、その多くは無残留データであった。一方、臭化メチルくん蒸におけるくん蒸ガスの薬量、残存ガス濃度および臭素としての残留量からは、少なくともくん蒸直後の試料では、臭化メチルそのものが相応濃度で残留している可能性が推察される。近年の分析技術の進歩ならびに物流インフラの整備(くん蒸施設から分析機関への試料輸送時間の短縮や、冷蔵輸送等の普及)を考慮すると、新たな消毒基準の策定には、実くん蒸試料における各種農産品での残留実態を調査し、最新の残留データを収集する必要がある。

そこで、本小課題では、臭化メチルの暴露評価に関する科学的知見を得るために必要となる臭化メチルそのものの残留実態を調査し、取得した残留データに基づき既存の臭素残留データから、臭化メチル残留濃度に読み替える手法を構築する。

(ア) 実態調査等 (矢島智成・一般財団法人残留農薬研究所)

3種生鮮品、3種乾燥品および2種油糧種子の計10種農産品を臭化メチルでくん蒸して残留実態を調査した。なお、くん蒸条件は、農産物間の残留性比較が可能なように、収容比：0.1(試料1.2 kg/12 L)、くん蒸温度： $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、投薬量：50.0 g/m³、くん蒸24時間、残存ガス排気1時間の統一条件とした。残留濃度分析は、臭化メチルの残留濃度が定量限界未満(<0.01 mg/kg)となるまで、くん蒸終了0、1、3、7、14および21日後に分析した。また、臭素および臭素酸分析は、くん蒸直後と最長保管試料について実施し、さらに代表的な5種農産品については、通知試験法に準じた灰化(無機化)抽出での全臭素分析も実施して、当該試験に適用した溶媒抽出法での分析結果と比較した。

(イ) 読み替え手法等の確立 (飯島和昭・一般財団法人残留農薬研究所)

くん蒸試料中の臭化メチル濃度の初期残留濃度(C_0)を、残留臭素濃度の分析値から算出⁸⁾し、本残留実態調査における臭化メチルの残留濃度から、保管期間中の残存率(C_t/C_0)を算出した。そして、臭素残留データを解析し、残留傾向の異なる各種農産品グループごとに残留臭化メチル濃度への読み替える手法を構築した。さらに、開発した読み替え手法により、既存の臭素残留データを解析して一定期間保管した場合の臭化メチル濃度を試算した。

(2) 達成目標及び進捗目標

1) 分析法の開発

臭素の分析法は、各種農産品における残留基準の1/10相当の評価が可能で、且つ、臭素酸イオンの残留性に関する情報が得られる方法を開発する。臭化メチルの分析法は、定量限界が 0.01 mg/kgであることを必須条件とし、残留濃度の減衰速度の把握が可能な迅速簡易な方法を開発する。そして、開発した迅速・簡易な分析法は、各種農産品への適用が可能のように、OECDテストガイドラインに示される代表的な5種カテゴリーの農産品を網羅した妥当性評価で試験指針の要求基準を満たすことを目標とする。

2) 実態調査等

各種農産品での残留傾向を把握可能なように生鮮品、乾燥品および油糧種子の各種を含むように10品目以上で臭化メチルくん蒸の実態を調査する。保管したくん蒸試料の残留濃度分析は、臭化メチルの残留濃度が定量限界未満となるまで経時的に分析する。そして、臭素残留データを解析することにより、残留傾向の異なる各種農産品グループごとに残留臭化メチル濃度への読み替える手法を構築することを目標とした。

(3) 研究成果の行政施策・措置への貢献

臭化メチルの暴露評価に関する科学的知見を得るために必要な真度、精度および感度を有し、且つ、迅速・簡易な分析法の開発は、多種作物での広範な実態調査が可能とする。迅速で簡易なLC-MS/MS測定による臭素分析法ならびにHS-GC-ECD測定による臭化メチル分析法を併用することにより、短い時間間隔での臭化メチルから無機臭素および臭素酸への変換に関する科学的な知見を得ることが可能となる。そして、詳細な臭化メチルくん蒸に伴う実態調査には、相応の時間と経費を費やす必要があるが、本研究成果として得られる無機臭素及び臭素酸類への変換効率に関する科学的な知見により、既存データを活用して、適切かつ速やかに臭化メチルくん蒸に伴う安全管理体制を構築することが期待される。さらに、迅速で簡易なLC-MS/MS測定による臭素分析法ならびにHS-GC-ECD 測定による臭化メチル分析法は、臭化メチル使用に伴う経済的な検査体制の構築にも貢献することが期待される。

迅速簡易な分析法を活用した臭化メチルくん蒸の実態調査により得られた残留データを解析することにより、既存の臭素残留データを、残留傾向の異なる乾燥品、油糧種子および生鮮品のグループごとに残留臭化メチル濃度への読み替える手法を構築することが可能となる。この読み替え手法は、既存の臭素残留に基づく安全性評価から、臭化メチルそのものの残留値に基づく安全性評価への移行に際して活用されることが期待される。全臭素の既存データを臭化メチルで読み替える手法、安全に係る評価物質の経時的な減衰傾向を推計する計算手法を確立し、新たな消毒基準を速やかに策定することが可能となる。

なお、本研究成果は、権利化せずに公知化し、国内の学会等で発表もしくは論文とし、広く利用許諾し普及する。

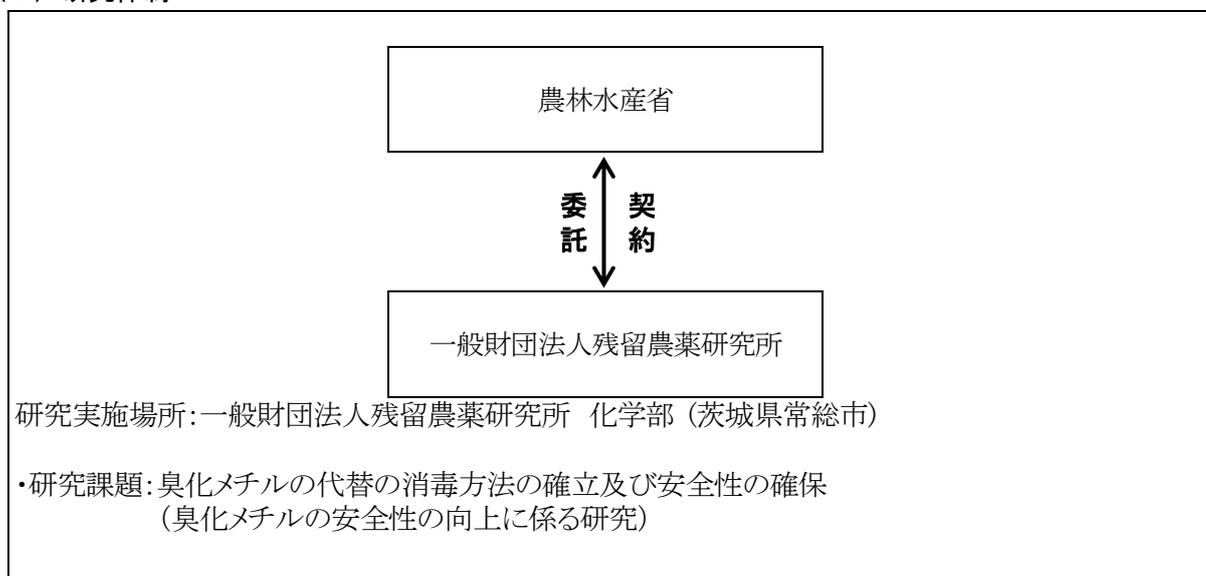
(4) 年次計画

研究課題	研究年度	
	令和2年度	令和3年度
1. 分析法の開発		
(1) 標準溶液の安定性	標準溶液の安定性 ^a	
(2) 分析法の検討	分析法の検討 ^b	
(3) 分析法の妥当性確認	分析法の妥当性確認 ^c	
(4) 実態調査の予備検討	実態調査の予備検討 ^d	
2. 実態調査等		
(1) 実態調査		実態調査
(2) 読み替え手法等の確立	読み替え手法等の確立	

年次計画の見直し理由

- ^a 分析法検討と並行して標準溶液の安定性確認を実施したため。
- ^b 臭化メチルの使用許可手続きに時間を要したため。
- ^c 生鮮品の臭化メチル分析法の検討に時間を要したため。
- ^d くん蒸装置を検疫消毒実態に準じた循環構造に改良したため。

(5) 研究体制



(6) 実施体制

研究項目	担当研究機関・研究室		研究担当者	エフォート (%)	
	機関	研究室			
研究総括者	一般財団法人 残留農薬研究所	化学部 残留第1研究室	◎ 大山和俊	1	
1. 分析法の開発					
(1) 標準溶液の安定性			○ 矢島智成	20	
(2) 分析法の検討			○ 飯島和昭 △ 長田拓也 △ 矢島智成	10 15 前出	
(3) 分析法の妥当性確認			○ 長田拓也 △ 矢島智成	前出 前出	
(4) 実態調査の予備検討			○ 矢島智成	前出	
2. 実態調査等					
(1) 実態調査			○ 矢島智成 △ 長田拓也	前出 前出	
(2) 読み替え手法等の確立			○ 飯島和昭	前出	

(注) 研究総括者には◎、小課題責任者には○、実行課題責任者には△を付すこと。

(7) 各年度の研究費

令和2年度 6,000,000円

令和3年度 3,000,000円

(以下同じ)

3 研究推進会議の開催状況

別添のとおり。

4 研究成果の概要（別紙参照）

（1）主な成果

1）成果の内容

小課題（1）として、HS-GC-ECDを用いた臭化メチル分析法並びにLC-MS/MSを用いた臭素および臭素酸分析法を確立するため、標準溶液の安定性の確認、分析法の検討および分析法の妥当性の確認を行った。その結果、臭化メチルの暴露評価に関する科学的知見を得るために必要な真度、精度及び感度を有し、且つ、簡易で迅速な臭化メチル及び臭素・臭素酸の分析法を確立した。小課題（2）として、各種農産品でくん蒸実態調査を行い臭化メチルの暴露評価に必要な残留データを取得した。そして、実態調査で得られた残留データを解析し、生鮮品、乾燥品および油糧種子類の各グループ単位で臭素残留濃度を臭化メチル残留濃度に読み替える手法を構築した。そして、既存の臭素残留データから臭化メチル残留濃度を試算し、臭化メチル濃度が定量限界未満となるまでの保管期間を予測した。

2）成果の活用

臭化メチルの暴露評価に関する科学的知見を得るために必要な真度、精度および感度を有し、且つ、迅速・簡易な分析法は、適切かつ速やかに臭化メチルクん蒸に伴う安全管理体制を構築することに貢献することが期待される。さらに、迅速で簡易なLC-MS/MS測定による臭素分析法ならびにHS-GC-ECD測定による臭化メチル分析法は、臭化メチル使用に伴う経済的な検査体制の構築にも貢献することが期待される。

迅速簡易な分析法を活用した臭化メチルクん蒸の実態調査により得られた残留データを解析することにより、既存の臭素残留データを、残留傾向の異なる乾燥品、油糧種子および生鮮品のグループごとに残留臭化メチル濃度への読み替える手法を構築することが可能となる。この読み替え手法は、既存の臭素残留に基づく安全性評価から、臭化メチルそのものの残留値に基づく安全性評価への移行に際して活用されることが期待される。全臭素の既存データを臭化メチルで読み替える手法、安全に係る評価物質の経時的な減衰傾向を推計する計算手法を確立し、新たな消毒基準を速やかに策定することが可能となる。

（2）各研究課題の成果

1）分析法の開発

（ア）研究目標

臭化メチルの暴露評価に関する科学的知見を得るために必要な真度、精度および感度を有し、且つ、簡易・迅速な臭化メチルおよび臭素の分析法を開発する。両分析法は、試験指針^{6、7}に従い分析法の妥当性を確認するとともに、現行臭化メチルに対応した通知試験法における臭素の分析法（灰化抽出法）との比較を行いその適用性を確認する。

（イ）研究内容

臭化メチルの分析法は、HS-GC-ECD測定による欧米の報告事例^{4、5}を参照し、メタノール/水混液で抽出する迅速・簡易法を検討した。また、標準溶液の安定性に関する情報取得や、各種内部標準物質の比較検討を実施した。

臭素の分析法は、QuPPE-PO-Method2)を参照し、LC測定条件等を最適化して迅速・簡易なLC-MS/MS測定による臭素および臭素酸の分別分析法を構築した。また、迅速・簡易分

析でのメタノール／水混液で抽出した場合の分析値と、通知試験法に従い灰化抽出した場合の分析値を比較して、開発した分析法の適用性を検証した。

開発した分析法は、試験指針に従い高水分含有作物、高油分含有作物、高タンパク質作物、高デンプン含有作物および酸性作物の5カテゴリー全てを含むように各種農産品を選択して、その妥当性を真度（回収率）、精度（RSDr）、直線性（検量線）および感度（定量限界）等の各種項目について検証した。

（ウ）研究結果

臭化メチルの分析法は、ヨウ化メチルを内部標準物質として、メタノール／水混液で水冷しながら抽出し、HS-GC-ECD測定する迅速・簡易法を開発した（図1）。なお、生鮮品の分析時は、各農産品の水分量を差し引いて、抽出液の含水率を調整する必要がある。

乾物試料

- ↓ 20 gを遠心管に採取
- ↓ +メタノール／水（8:2、v/v）混液 40 mL
- ↓ +内部標準物質溶液（ヨウ化メチル 0.2 μL/L）1 mL
- ↓ 30秒～1分間磨砕抽出
- ↓ 遠心分離（5000×g、-5℃、15分間）
- ↓ 上澄み 5 mLをヘッドスペース用バイアルに封入

定量（HS-GC-ECD）

生鮮野菜・果実試料

- ↓ 20 gを遠心管に採取
- ↓ +水分量を試料由来のものと合わせて20 mLに調整するよう水を加える
- ↓ +メタノール 20 mL
- ↓ +内部標準物質溶液（ヨウ化メチル 0.2 μL/L）1 mL
- ↓ 30秒間磨砕抽出
- ↓ 遠心分離（5000×g、-5℃、15分間）
- ↓ 上澄み 5 mLをヘッドスペース用バイアルに封入

定量（HS-GC-ECD）

※ 全て氷浴中で操作し、抽出溶媒は-30℃以下に予冷して使用

図1. 臭化メチルの分析法のフローシート

5カテゴリー／10種農産品に 0.01 mg/kg、2 mg/kgおよび各実くん蒸試料の残留濃度を上回る濃度の臭化メチルを添加して求めた平均回収率は71～111%の範囲で、その相対標準偏差は11%以下であり、全て試験指針の許容範囲内であった（表1）。この結果から、HS-GC-ECDを用いた臭化メチル分析法の真度および精度に問題無いことを確認した。また、検量線の直線性も良好（ $r > 0.99$ ）であり、定量限界は0.01 mg/kgで問題無いことを確認した。

表 1. 臭化メチルの回収率

農産品	添加濃度 ^a (mg/kg)	平均回収 率 (%)	RSDr (%)	農産品	添加濃度 ^a (mg/kg)	平均回収 率 (%)	RSDr (%)
コムギ	0.01	71	6	ナタネ	0.01	104	10
	2	83	6		1	98	10
	10	74	6		30	82	5
オオムギ	0.01	74	11	ダイズ	0.01	75	4
	2	90	9		2	90	10
トウモロコシ	0.01	111	6	アスパラガス	10	86	3
	2	86	6		0.01	103	7
モロコシ	0.01	72	9	ブロッコリー	2	99	5
	2	82	5		5	89	4
	5	83	3		0.01	99	8
ゴマ	0.01	74	7	キウイ	2	98	3
	1	110	2		0.01	77	3
	10	86	3		2	107	3
	30	92	8		35	100	9

RSDr : 併行相対標準偏差 (n=5)

臭素および臭素酸の分析法は、LC-MS/MS測定の実験条件をマトリクス検量線を適用するなど最適化することで、メタノール/水混液で抽出する迅速・簡易法を開発した(図2)。

抽出

- ↓ 試料 10.0 g (乾物 5.00 g)
- ↓ 生鮮品は1%ギ酸含有メタノール/水 (5:5、 v/v) 80 mL添加
- ↓ 乾物は水20 mLを加えて浸漬、1%ギ酸含有メタノール/水 (5:5、 v/v) 80 mL添加
- ↓ ホモジナイザーで磨砕抽出、同混液10 mLでシャフトを洗浄
- ↓ 洗浄液を合わせて30分間振とう、吸引ろ過
- ↓ 残渣に同混液80 mL加え、30分間振とう、吸引ろ過
- ↓ 全ろ液を合わせ、同混液で200 mL定容

定量 (LC-MS/MS) マトリクス検量線法

図2. 臭素および臭素酸の分析法のフローシート

5カテゴリー/8種農産品に、各農産品の残留基準の1/10相当の臭素および1/100相当の臭素酸を添加して求めた平均回収率は、それぞれ84~100%および71~92%の範囲であり、それらの併行相対標準偏差は6%以下で、全て試験指針の許容範囲内であった(表2)。この結果から、開発した臭素および臭素酸分析法の真度および精度に問題無いことを確認した。また、検量線の直線性も良好 ($r > 0.99$) で問題無いことを確認した。

表 2. 臭素および臭素酸の回収率

農産品	臭素			臭素酸		
	添加濃度 ^a (mg/kg)	平均回収 率 (%)	RSD _r (%)	添加濃度 ^a (mg/kg)	平均回収 率 (%)	RSD _r (%)
カボチャ	200	100	3	20	91	3
ブロッコリー	100	86	4	10	91	3
アスパラガス	100	91	2	10	81	4
ゴマ	100	94	4	10	78	6
ダイズ	200	84	2	20	71	5
コムギ	50	92	3	5	90	4
食用ソルガム	50	98	3	5	92	2
キウイー	30	99	4	3	83	3

RSD_r : 併行相対標準偏差 (n=6)

臭素化メチルクン蒸したコムギ、ダイズ、ナタネ、アスパラガスおよびキウイー試料を、通知試験法に従い灰化（臭素化合物を無機化した全臭素）して得た抽出液と、本試験で適用した1%ギ酸含有メタノール/水（5:5、v/v）混液での抽出液（臭素イオン）のLC-MS/MS測定値の間には、良好な相関性（ $R^2=0.9736$ ）が認められ、両分析値の同等性を確認した（図3）。

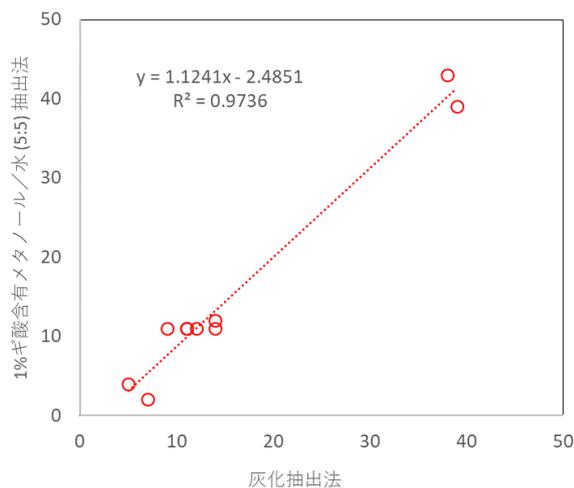


図 3. 溶媒抽出法と灰化抽出法での残留臭素濃度の相関

臭素：1%ギ酸含有メタノール/水（5:5）抽出法、全臭素：灰化抽出法

(エ) 研究成果の活用における留意点

HS-GC-ECDを用いた臭化メチルの迅速・簡易分析法の実行上の留意事項を、以降に示す。臭化メチルおよび内部標準物質ヨウ化メチルは、いずれも揮発性が高いので抽出工程は氷浴中で予め冷却した溶媒で、手早く抽出操作を行う必要がある。また、内部標準物質を抽出段階から添加するサロゲート法につき、最終検液を希釈して再測定することが出

来ないため、検量線の濃度範囲は直線性が得られる範囲で最大幅に設定した。また、これに関連して、検量線の低濃度および高濃度域では、必要に応じて実試料の感度を挟み込む3濃度に絞り込んだ検量線で定量しないと良好な真度が得られない場合がある。

LC-MS/MSを用いた臭素および臭素酸の迅速・簡易分析法では、測定時にマトリクス検量線を適用する必要がある。本研究では、ナタネおよびキウイの実くん蒸試料と並行分析した臭素酸の回収率が、それぞれ39%および58%と規定範囲外(70~120%)となった事例があった。その原因特定は困難であったが、臭素酸分析では品種間のマトリクス効果の変動や、酸性食品のpH変動などに留意する必要性がある。

(オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

該当無し。

<引用文献>

- 1) 食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生省告示第370号)に規定する試験法:
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoushokuhin/zanryu/zanryu3/siken.html#sankou (2021年3月19日閲覧)。
- 2) “Quick Method for the Analysis of Numerous Highly Polar Pesticides in Food Involving Extraction with Acidified Methanol and LC-MS/MS Measurement (QuPPE-PO-Method)”: 欧州委員会ホームページ (2020年11月2日閲覧)
[https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlSRM/meth_QuPPE_PO_V11\(1\).pdf](https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlSRM/meth_QuPPE_PO_V11(1).pdf)
- 3) S. Asaka and K. Seguchi; *J. Pesticide. Sci.* **4**, 453–456 (1979).
- 4) J.L. Daft; *J. of AOAC Int.* **75**, 1083–1091 (1992).
- 5) K.N.T. Norman, K.A. Scudamore, W.A. Matthews and M.F. Wilson; *Pestic. Sci.* **44**, 309–316 (1995).
- 6) 農林水産省(30消安第6278号、2019年)
- 7) ガイダンス: 経済協力開発機構(ENV/JM/MONO 17、2007年)

2) 実態調査等

(ア) 研究目標

臭化メチルの実態調査が可能なくん蒸モデル装置を作製する。そして、臭化メチルくん蒸試料の残留実態を調査し、臭化メチルの経時的な減衰と臭素および臭素酸の生成との関係性を解明し、全臭素評価から臭化メチル評価への読み替え手法を構築する。

(イ) 研究内容

外付け流路に臭化メチルガスの試料導入部とガスモニターを接続したくん蒸装置を作製し、10種農産物を、収容比:0.1、くん蒸温度:20℃、投薬量:50.0 g/m³とした統一条件で、24時間臭化メチルでくん蒸した(図4)。くん蒸装置内の残存ガスを1時間排気した後、直ちに試料中の臭化メチル濃度を分析した。残り試料は実験室内で継続保管し、臭化メチルの残留濃度が定量限界未満となるまで、くん蒸終了1、3、7、14および21日後に分析した。なお、くん蒸試料の一部は、臭素および臭素酸分析用に一部を取り分けて凍結保管し、適宜、くん蒸直後と最長保管試料を分析した。さらに、代表的な5種農産品については、通知試験法に準じた灰化(無機化)抽出での全臭素分析も実施して、当該試験に適用した溶媒抽出法での分析結果と比較した。

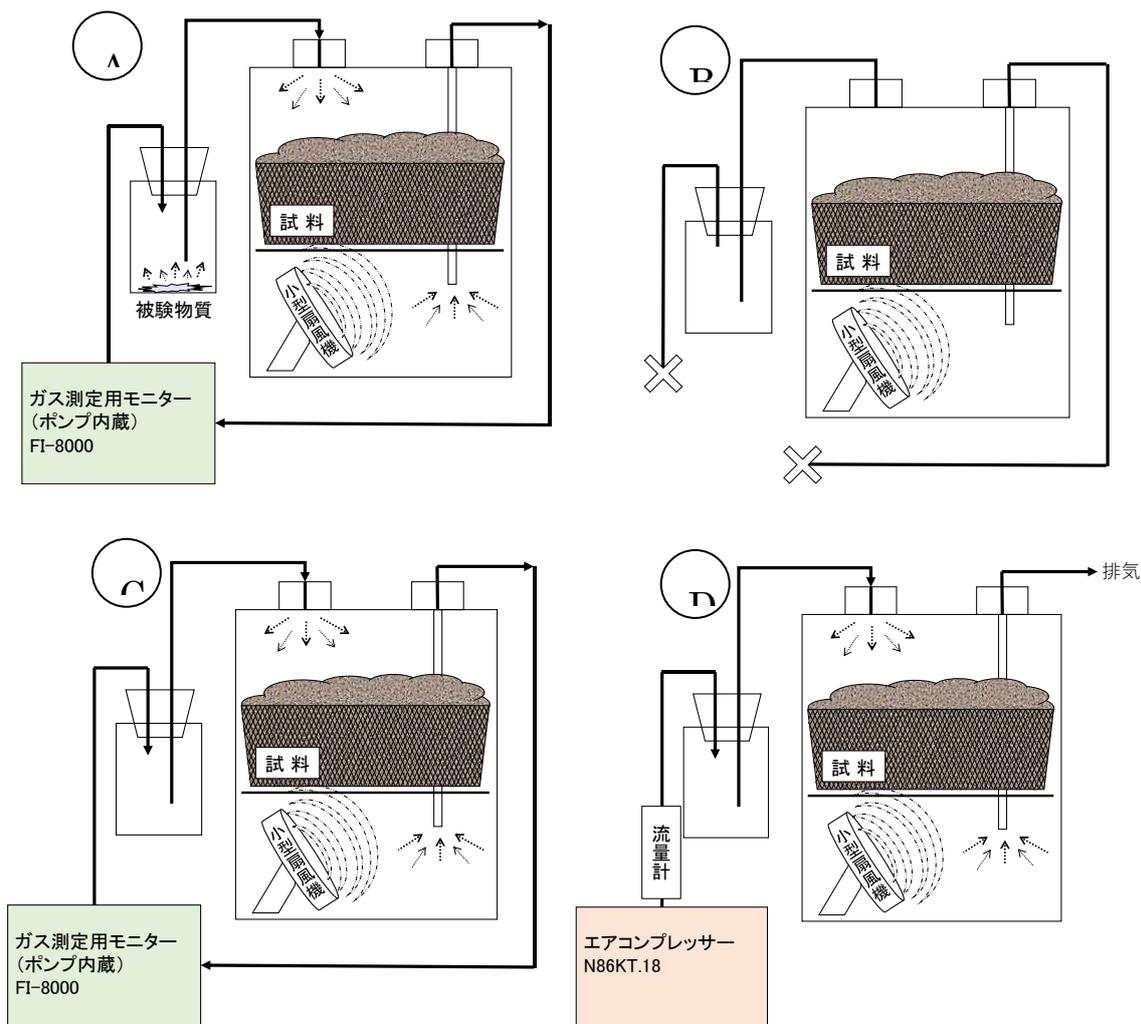


図4. くん蒸モデル装置の工程別模式図 (12L容)

A: 被験物質の施用工程、B: くん蒸工程、C: ガス濃度測定工程、D: 排気工程

(ウ) 研究結果

くん蒸ガスの排気直後試料の残留臭化メチル分析では、全ての農産品で実測値が得られ、その残留濃度範囲は 0.44~30.5 mg/kgであった。くん蒸試料中の残留臭化メチルは、その後急速に減衰し、7日間保管試料では5種農産品の残留濃度が定量限界未満となり、比較的緩やかに減衰したゴマおよびナタネも21日間の保管後には定量限界未満まで減衰した。一方、くん蒸試料中の残留臭素濃度は、くん蒸直後と保管終了時間で大きな差異が無く、その残留濃度範囲は 7~128 mg/kgであった。また、臭素酸の分析値は、全ての試料で定量限界未満 (< 残留基準値の1/10未満) であった。

臭化メチルの減衰速度は、野菜が最も早く、生果実、穀類、豆類が同等であり、油糧種子類が最も緩やかであった (野菜 > 生果実 ≒ 穀類 ≒ 豆類 > 油糧種子類)。臭化メチル残留濃度を自然対数でプロットしたときの回帰式はいずれも良好な直線性を示し、その傾きから算出した推定半減期は、全て1日以内であった (図5)。

くん蒸試料中の臭化メチル濃度の初期残留濃度 (C0) を、残留臭素濃度の分析値から算出し8)、本残留実態調査における臭化メチルの残留濃度から、保管期間中の残存率

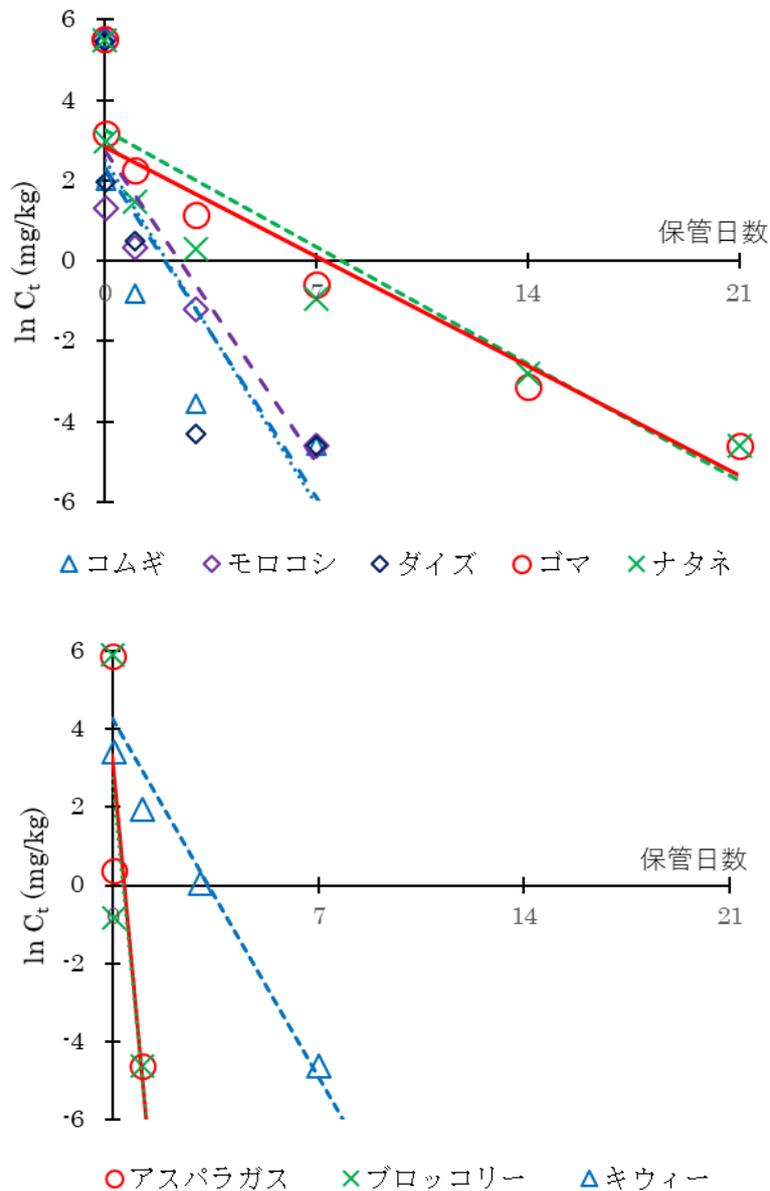


図5. くん蒸試料中の残留臭化メチル濃度の消長

(C_t/C_0) として算出した (図6)。そして、臭素残留データを、残留傾向の異なる乾燥品、油糧種子および生鮮品のグループごとに残留臭化メチル濃度への読み替える手法を構築した。この読み替え手法により解析した既存の臭素残留データからの試算では、乾燥品(麦類、モロコシ類、豆類、嗜好品類) および生鮮品については、くん蒸から最長3日の保管試料まで臭化メチルの残留が見込まれるが、7日以上保管試料中の残留濃度は定量限界未満となった。油糧種子類であるナタネおよびゴマについては、くん蒸から最長7~14日の保管試料まで臭化メチルの残留が見込まれるが、21日以上保管試料中の残留濃度は定量限界未満となった。この読み替え手法の試算値は、代表作物で実施した今回の残留実態調査結果と概ね合致した結果であり、既存の臭素残留に基づく安全性評価から、臭化メチルでの直接的な安全性評価への移行への活用が期待される。

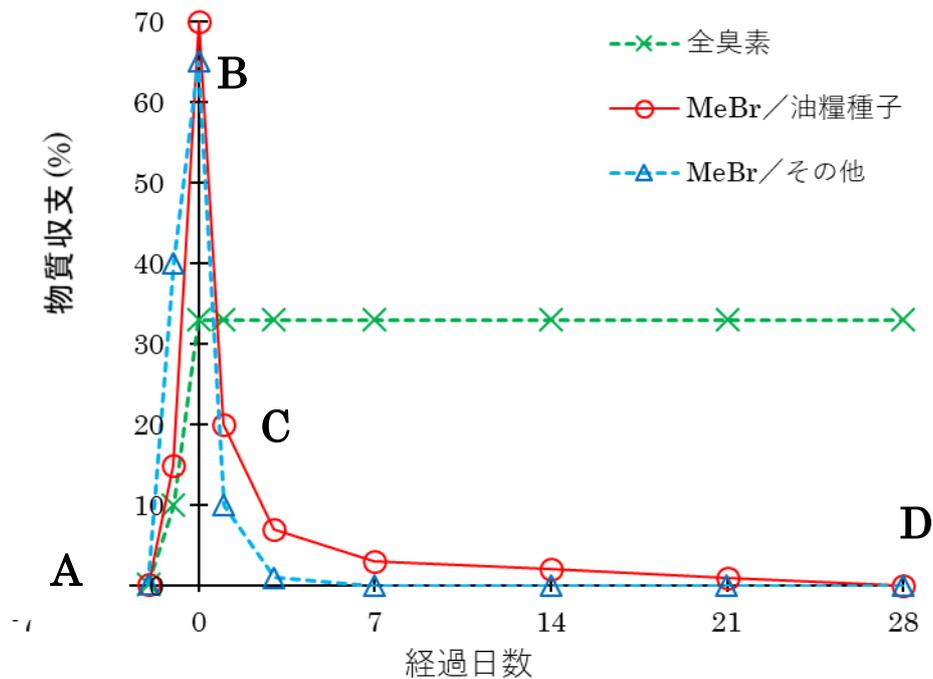


図6. 残留臭素濃度から残留臭化メチル濃度への読み替えイメージ

A: くん蒸開始、B: くん蒸終了時(C₀)、C: 排気後、D: くん蒸28日後
(くん蒸終了時の残存ガス、1/3相当量が臭素残留での仮想プロット)

(エ) 研究成果の活用における留意点

臭素残留データから残留臭化メチル濃度への読み替え手法は、本事業におけるくん蒸実態調査データに基づき構築した。そのため、将来的に本読み替え手法を適用する際には、主に次の3点を考慮する必要がある。① 予測精度: 油糧種子以外の農産品に関しては、実残留値が得られた保管期間の時点数が不足しているため、高精度での予測は困難である。(減衰速度の数式化は困難であったため、調査時点での残存率を係数とした単純解析を選択。) ② 温度条件: 本実態調査の保管条件は「20℃付近」であることから、低温保管では過小評価となり、高温保管では過剰評価となることが想定される。③ 排気条件: 本調査の残存ガスの排気条件は「単純開放1時間」であることから、気密条件での保管では過小評価となり、長時間の送風排気の場合には過剰評価となることが想定される。

(オ) 研究目標の達成に当たっての問題点

該当無し。

<引用文献>

8) 扇田哲夫、三角隆、内藤浩光、後藤睦郎、小川昇、谷川展暁: 植防研報 45、59-61 (2009).

5 研究成果の発表

別添のとおり。

6 目的の達成に当たっての現時点での問題点等

該当無し。

<研究総括者の自己評価>

項目		評価結果
試験研究全体		Ⓐ：順調 B：概ね順調 C：やや遅れている D：遅れている
研究 小 課 題	分析法の開発	Ⓐ：順調 B：概ね順調 C：やや遅れている D：遅れている
	実態調査等	Ⓐ：順調 B：概ね順調 C：やや遅れている D：遅れている
		A：順調 B：概ね順調 C：やや遅れている D：遅れている
		A：順調 B：概ね順調 C：やや遅れている D：遅れている
		A：順調 B：概ね順調 C：やや遅れている D：遅れている
自己評価コメント		
		臭化メチルの使用許可手続き等に時間を要したため、初年度の研究開始時期が遅れたが、最終的に研究目標を達成することが出来た。

研究推進会議の開催状況、研究成果の発表(論文、特許等)等

課題番号	(1) 研究推進会議等開催回数	(2) 行政が活用しうる成果の有無	(3) 学術論文数		(4) 口頭発表回数		(5) 出版図書数	(6) 国内特許権等数		(7) 国際特許権等数		(8) 報道件数	(9) 物品購入の有無
			和文	欧文	国内	国際		出願	取得	出願	取得		
20330843	2	有	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	無

(1) 研究推進会議等の開催実績

区分: ①推進会議、②現地検討会、③その他

区分	推進会議の名称	年月日	開催場所	参加者数	消費・安全局担当官の出席有無	主な議題及び決定事項
①	第1回研究推進会議	令和2年8月5日	(一財)残留農薬研究所	17	有	初年度研究計画の検討
①	第2回研究推進会議	令和3年2月26日	(一財)残留農薬研究所	18	有	初年度研究成果の検討
①	第3回研究推進会議	令和3年6月25日	(一財)残留農薬研究所	18	有	2年度研究計画の検討
①	第4回研究推進会議	令和4年3月2日	(一財)残留農薬研究所	20	有	最終研究成果の検討

(2) 行政が活用しうる成果

区分: ①行政がすでに活用した成果、②行政が活用する目途がたった成果

区分	成果の内容	主な利用場面	活用状況

(3) 学術論文

タイトル、著者名、学会誌名、巻、ページ、発行年月	機関名

(4) 口頭発表

タイトル、発表者名、学会等名、発表年月	機関名
「ヘッドスペース注入GC-ECDを用いた農産品中の臭化メチル迅速分析法の開発」、矢島智成、山口優衣、小林修一、稲垣祐香、浜野浩子、長田拓也、飯島和昭、大山和俊; 日本農薬学会第47回大会、2022年3月	(一財)残留農薬研究所
「臭化メチルくん蒸試料における臭化メチル、臭素および臭素酸の残留実態調査」、小林修一、矢島智成、山口優衣、稲垣祐香、浜野浩子、長田拓也、飯島和昭、大山和俊; 日本農薬学会第47回大会、2022年3月	(一財)残留農薬研究所

(5) 出版図書

区分: ①出版著書、②雑誌、③年報、④広報誌、⑤その他

区分	著書名、(タイトル)、著者名、出版社名、発行年月	機関名

(6)国内特許権等

特許権等の名称	発明者	権利者 (出願人等)	特許権等の種類	番号	出願年月日	取得年月日	機関名

(7)国際特許権等

特許権等の名称	発明者	権利者 (出願人等)	特許権等の種類	番号	出願年月日	取得年月日	機関名

(8)報道件数

区分:①プレスリリース、②新聞記事、③テレビ放映

区分	記事等の名称	掲載紙・放送社名	年月日	機関名	備考

(9)購入物品

品名	規格	員数	購入実績(円)		使用目的	備考
			単価	金額		

臭化メチルの代替の消毒方法の確立及び安全性の確保(臭化メチルの安全性の向上に係る研究)

臭化メチルは病害虫が輸入農産品とともに国内に入るのを防除するのに**必要不可欠なくん蒸剤**ですが、現行の試験法では、灰化して全臭素量で評価されているため、臭化メチルそのものの残留性に関する情報が得られません。この試験法が通知される以前は、臭化メチルそのものを分析していましたが、蒸留法であったため、残留性に関する十分な知見がありませんでした。そこで、本研究では各種農産品に残留する**臭化メチルそのものを分析する迅速・簡易な方法を開発**し、さらに、モデルくん蒸装置を作製して**実くん蒸試料**における**臭化メチルの残留傾向**を調査しました。その結果を基に既存の**臭素残留データからの臭化メチルへの読み替え手法**を構築しました。

【臭化メチルの分析方法】

- 試料20 g
- ↓メタノール/水混液
- ↓内部標準物質
- 磨砕抽出
- ↓ 氷冷しながら操作
- 遠心分離
- ↓
- ヘッドスペース注入GC測定

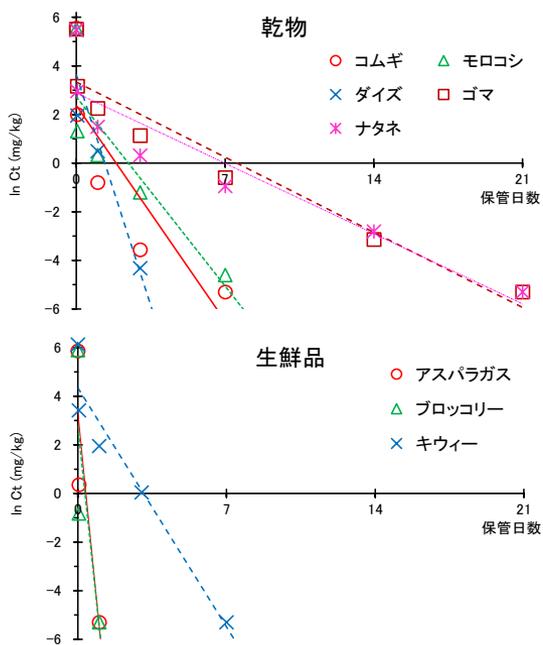


気相(ヘッドスペース)を測定する方法で、**迅速**かつ**簡易**な分析が可能



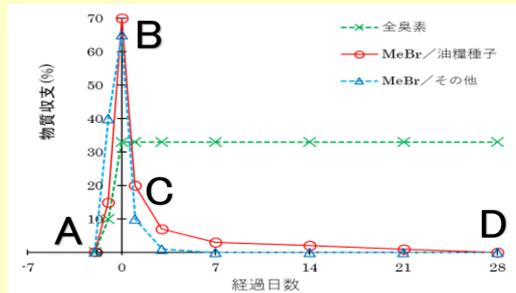
(定量限界:0.01 mg/kg)
分析時間:1時間以内)

【臭化メチルの残留傾向】



モデルくん蒸試料の室温での減衰速度
野菜 > 生果実 ≒ 穀類 ≒ 豆類 > 油糧種子類
いずれも速やかに減衰 (推定半減期:1日以内)

【臭素残留値から読み替えイメージ】



A:くん蒸開始, B:くん蒸終了時 (C₀), C:排気後, D:くん蒸28日後
(くん蒸終了時の残存ガス, 1/3相当量が臭素残留での仮想プロット)

油糧種子、その他の乾物、生鮮品の3グループにわけて臭化メチルへの読み替え手法を構築

期待される効果: 農産品の残留性を**グループ評価**することで、**新たな消毒基準を効率的に整備可能!**