

## 9 メラミンを添加した土壌におけるコマツナに対する害の

### 確認試験とメラミン等の吸収

阿部文浩<sup>1</sup>, 八木寿治<sup>1</sup>, 坂東悦子<sup>1</sup>

キーワード コマツナ, メラミン, シアヌル酸, 植害試験

#### 1. はじめに

一部の水造粒した石灰窒素はメラミン含有量が高いことが判明したため、自主回収や出荷の自粛に至った<sup>1)</sup>。メラミンは作物によっては吸収し蓄積することがあるとの情報から、石灰窒素工業会や全農等がメラミンの吸収試験等を実施している。そこで、FAMIC においてもノイバウエルポットの試験規模でメラミンを土壌に添加してコマツナを栽培しメラミンのコマツナに対する害の有無を確認するとともに、栽培したコマツナ中のメラミン及びメラミンが変換して生じたシアヌル酸の吸収の有無を確認することとした。

#### 2. 材料および方法

##### 1) 栽培試験方法

供試土壌の理化学性等については表 1 に示した。栽培試験は農林水産省農蚕園芸局長通知による植物に対する害に関する栽培試験(以下、「植害試験」という)の方法<sup>2)</sup>に準じ、ノイバウエルポット(1/10000 a)当たり乾土として 290 g の黒ボク土を充填し、メラミン(和光純薬工業, 特級)添加量を 0 mg, 1 mg, 2 mg, 5 mg, 10 mg, 20 mg, 40 mg, 60 mg, 80 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg, 500 mg の 13 段階とした。供試作物はコマツナ(品種名:夏楽天)を用い、共通肥料は硫酸アンモニア, 過りん酸石灰及び塩化加里を用いて窒素, りん酸及び加里の成分量をそれぞれ 100 mg とし 1 区1反復の規模で試験を実施した。平成 23 年 5 月 16 日に土壌充填, 肥料及びメラミン混合を行い, 翌 17 日にポット当たり 20 粒を播種した。試験中 2 回の発芽調査と生育調査を実施し, 同年 6 月 10 日に収穫し生体重を測定した。試験期間中は人工気象装置内で, 温度は昼間(12 時間)25 °C, 夜間(12 時間)15 °C, 水分量は最大容水量の 60 %を目安に管理した。

表1 供試土壌の理化学性等

土壌の種類	土性	沖積土又は 洪積土の別	pH (H <sub>2</sub> O) 1+5	交換酸度	電気伝導率 (mS/m)	塩基置換容量 (meq/乾土100 g)	容積重 (g/風乾土500 ml)	最大容水量 (%/100 g乾土)
黒ボク土	壤土	洪積土	5.74	0.3	11	35.6	360	111

##### 2) 作物体の分析方法

収穫したコマツナは地上部の生体重を測定した後, 試験区毎に約 5 g に分け, 重量を測定した後ビニール袋に入れ密封して冷凍庫で保存し分析用試料とした。分析用試料は分析前に 40 °Cで一晩乾燥させた後, 目開

<sup>1</sup> 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

き 0.5 mm の網ふるいを通すまで粉碎した。メラミン及びシアヌル酸の分析は液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による方法<sup>3)</sup>によった。メラミン及びシアヌル酸の分析結果とポット当たりの生体重から試験区当たりのメラミン吸収量及びシアヌル酸含有量を算出した。

### 3) 跡地土壌の分析方法

コマツナを収穫したポットの土壌は根を取り除き風乾したのち目開き 2 mm の網ふるいを通させ、ビニール袋に入れ密封し室温で保存しメラミン及びシアヌル酸の分析に供した。分析は土壌中のメラミン及びその関連物質の試験法(参考法)<sup>4, 5)</sup>によった。別に、乾土当たりのメラミン等を換算するためハロゲンランプ水分計(100 °C)を用いて水分を測定した。なお、土壌の分析については分析法を検討・確立した後となったため栽培試験終了から約 6 か月後に実施した。

## 3. 結果及び考察

### 1) 栽培試験

栽培試験結果は表 2 に示した。ポットに添加するメラミン量を 0 mg から 500 mg まで設定しコマツナを栽培した。発芽時は特に差はなく異常な症状も認められず、葉長、生体重についても特に差は認められなかった(写真 1)。なお、メラミン 10 の生体重が低い原因は試験後半に水管理が不適(水切れ)であったことによるものである。播種 14 日後にメラミン 500 で本葉の先端中央部が枯れる症状が認められ、その後症状は徐々に広がり、葉の先端部のみならず葉の縁辺部に及び、試験終了時まで回復することはなかった。なお、この症状はメラミン 500 のみに限られた(写真 2)。

メラミン 500 は 10 a 当たり 150 kg (作土層 15 cm) のメラミンが施用された時を想定したものである。石灰窒素中にメラミンが混入していたとしても石灰窒素の施用量には限りがあることから、1 回に負荷されるメラミン量が 10 a 当たり 150 kg になることは考えられず、コマツナの初期生育には障害が現れないと考えられた。

表2 栽培試験結果

試験区	発芽調査成績		生育調査成績				異常症状
	5月20日	5月23日	5月31日	6月10日(収穫時)			
	発芽率 (%)	発芽率 (%)	葉長 (mm)	葉長 (mm)	生体重 (g/ポット)	生体重 指数 <sup>1)</sup>	
メラミン0	100	100	73	98	39.3	100	無
メラミン1	100	100	70	101	37.4	95	無
メラミン2	100	100	69	106	41.5	106	無
メラミン5	100	100	67	102	39.5	101	無
メラミン10	95	100	66	99	29.7	76	無
メラミン20	100	100	71	103	41.2	105	無
メラミン40	95	100	71	102	39.8	101	無
メラミン60	100	100	71	104	41.4	105	無
メラミン80	100	100	68	104	39.3	100	無
メラミン100	90	100	74	103	38.2	97	無
メラミン200	95	100	71	101	40.5	103	無
メラミン300	90	95	70	106	39.0	99	無
メラミン500	90	95	65	99	38.2	97	有

1) 生体重指数は各試験区の生体重をメラミン0の生体重で除し100倍して算出

## 2) コマツナ中のメラミン濃度等

コマツナ中のメラミン濃度等は表3に示した。コマツナ中のメラミン濃度はメラミンの添加量が多くなるに従い高くなり $6.8 \times 10^1 \mu\text{g/kg}$ ～ $1.7 \times 10^5 \mu\text{g/kg}$ であった。メラミン 20 からメラミン 500 はコーデックスの食品中のメラミンの基準値  $2.5\text{mg/kg}$  を超えた。メラミン吸収量もメラミンの添加量が多くなるに従い高くなるが、メラミン吸収率は0.2 %～1.3 %の間で推移した。特に添加量が 10 mg 以上になると添加量の増加に従い吸収率が高くなった。ポットという閉鎖環境であるもののメラミンは土壌中に少量存在していても植物が吸収するが、濃度が高くなると吸収量も増加することが明らかとなった。なお、メラミン 0 でコマツナにメラミンが検出された理由については不明である。

シアヌル酸についてはメラミン 60 からメラミン 500 の間で検出された。その濃度はメラミン添加量が多くなるに従い高くなり $3.1 \times 10^1 \mu\text{g/kg}$ ～ $5.2 \times 10^2 \mu\text{g/kg}$ であった。シアヌル酸含有量もメラミンの添加量が多くなるに従い高くなった。添加量が 40 mg 以下では生体内に検出されないことと、跡地土壌中のシアヌル酸が N.D. であることから土壌中でメラミンからシアヌル酸が生成して吸収することよりも生体内のメラミンが一定濃度以上になるとシアヌル酸を生成している可能性が示唆された。また、メラミン 300 とメラミン 500 でシアヌル酸濃度が同じ値であることについては、生体内での代謝が抑制されたのか、他の物質を生成しているのかが考えられるが今回の試験では明らかにすることができなかった。

表3 コマツナ中のメラミン濃度等

試験区	メラミン濃度 <sup>1)</sup> ( $\mu\text{g/kg}$ )	メラミン吸収量 <sup>1)</sup> ( $\mu\text{g/ポット}$ )	メラミン吸収率 <sup>2)</sup> (%)	シアヌル酸濃度 <sup>1)</sup> ( $\mu\text{g/kg}$ )	シアヌル酸含有量 <sup>1)</sup> ( $\mu\text{g/ポット}$ )
メラミン0	6.8E+01	2.7E+00	N.D.	N.D.	N.D.
メラミン1	3.0E+02	1.1E+01	0.9	N.D.	N.D.
メラミン2	2.5E+02	1.0E+01	0.4	N.D.	N.D.
メラミン5	3.8E+02	1.5E+01	0.2	N.D.	N.D.
メラミン10	1.1E+03	3.2E+01	0.3	N.D.	N.D.
メラミン20	2.6E+03	1.1E+02	0.5	N.D.	N.D.
メラミン40	5.6E+03	2.2E+02	0.5	N.D.	N.D.
メラミン60	8.5E+03	3.5E+02	0.6	3.1E+01	1.0E+00
メラミン80	1.3E+04	5.3E+02	0.7	3.7E+01	1.0E+00
メラミン100	1.9E+04	7.2E+02	0.7	5.7E+01	2.2E+00
メラミン200	4.6E+04	1.9E+03	0.9	2.5E+02	1.0E+01
メラミン300	8.4E+04	3.3E+03	1.1	5.2E+02	2.0E+01
メラミン500	1.7E+05	6.5E+03	1.3	5.2E+02	2.0E+01

1) 指数表記(例: $6.8\text{E}+01=6.8 \times 10^1$ )

2) メラミン0区のメラミン吸収量を減じた後添加量で除し算出

## 3) 跡地土壌中のメラミン濃度等

コマツナを栽培した跡地土壌のメラミン濃度等は表4に示した。メラミン添加量が少ないメラミン 1 及びメラミン 2 については誤差と考えられるメラミン残存量が定量されたが、メラミン 5 よりメラミン添加量が多い試験区は添加量の増加に伴いメラミン濃度及びメラミン残存量が増加した。また、シアヌル酸は検出下限( $0.5 \text{ mg/kg}$  程度)以下であった。なお、土壌の分析は栽培試験終了から約 6 か月後に実施していることから試験直後のメラミンの収支とシアヌル酸への分解の有無については確認ができなかった。

表4 跡地土壌のメラミン濃度等

試験区	メラミン濃度 <sup>1)</sup> (mg/kg乾土)	メラミン残存量 <sup>1)</sup> (mg)	シアヌル酸濃度 (mg/kg乾土)
メラミン0	N.D.	N.D.	N.D.
メラミン1	1.0E+01	3.0E+00	N.D.
メラミン2	1.0E+01	2.9E+00	N.D.
メラミン5	1.4E+01	4.1E+00	N.D.
メラミン10	3.1E+01	8.8E+00	N.D.
メラミン20	6.9E+01	2.0E+01	N.D.
メラミン40	1.1E+02	3.1E+01	N.D.
メラミン60	1.6E+02	4.7E+01	N.D.
メラミン80	2.1E+02	6.1E+01	N.D.
メラミン100	2.9E+02	8.5E+01	N.D.
メラミン200	5.9E+02	1.7E+02	N.D.
メラミン300	9.1E+02	2.6E+02	N.D.
メラミン500	1.5E+03	4.2E+02	N.D.

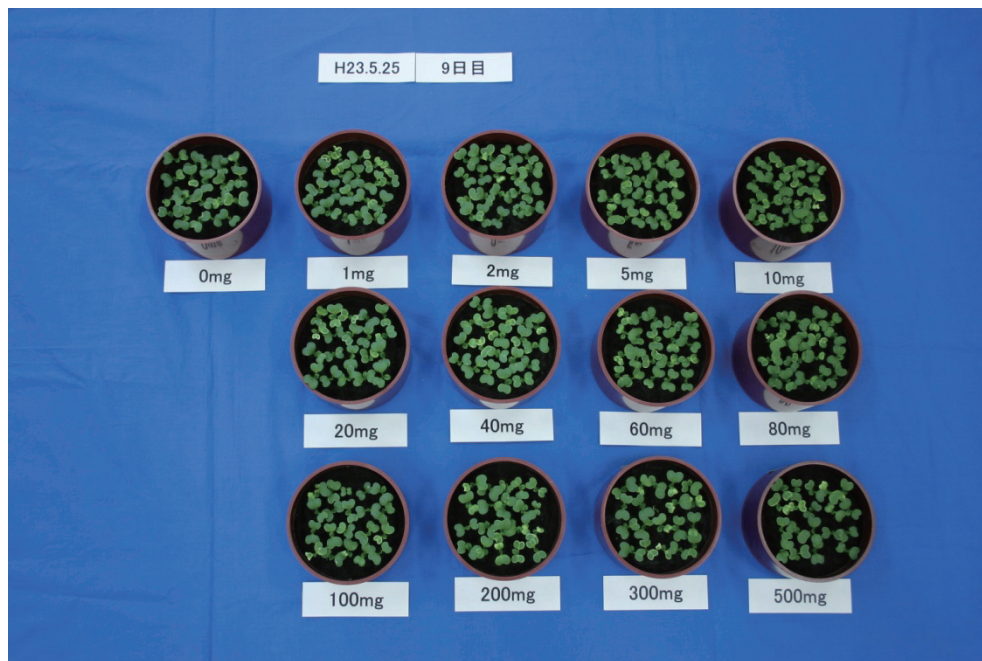
1) 指数表記 (例: 1.0E+01=1.0×10<sup>1</sup>)

#### 4. まとめ

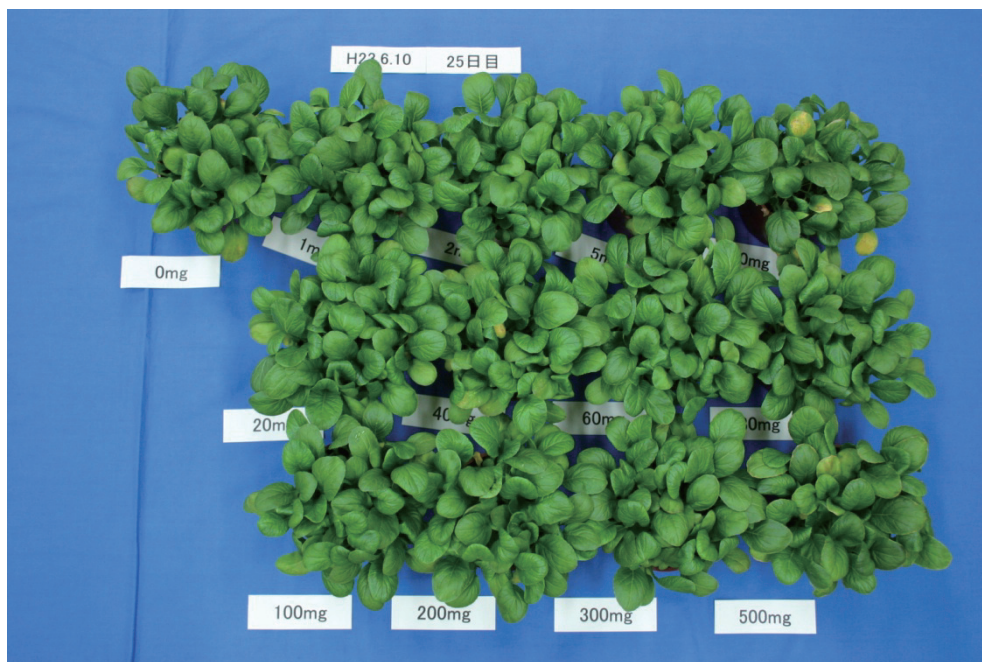
ノイバウエルポットの規模でメラミン添加量を 0 mg から 500 mg まで設定した試験区でコマツナを栽培した。その結果、500 mg 添加区で葉の縁辺部が枯れる症状が確認された。栽培したコマツナ中のメラミン濃度及び吸収量はメラミンの添加量が多くなるに従い高くなる傾向にあることからメラミンは生育初期から植物に吸収されることが確認された。シアヌル酸についてはメラミン 60 からメラミン 500 の間でシアヌル酸が検出され、その濃度はメラミン添加量が多くなるに従い高くなったが、跡地土壌中のシアヌル酸が N.D.であったことと、メラミン添加量が 40 mg までは生体内に認められないことから、作物体内のメラミン濃度が一定以上になるとシアヌル酸が代謝生成されていることが示唆された。

#### 文 献

- 1) 農林水産省消費・安全局農産安全管理課長通知: 石灰窒素の肥料登録に関する当面の取扱いについて、平成 23 年 4 月 15 日, 23 消安第 524 号 (2011)
- 2) 農林水産省農蚕園芸局長通知: 肥料取締法の一部改正に伴う今後の肥料取締りについて、別添 1, 植物に対する害に関する栽培試験, 昭和 59 年 4 月 18 日, 59 農蚕第 1943 号 (1984)
- 3) 八木寿治, 白井裕治: 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) による作物中のメラミン及びシアヌル酸の同時測定, 肥料研究報告, 5, 114~125 (2012)
- 4) 農林水産消費安全技術センター (FAMIC): 土壌中のメラミン及びその関連物質の試験法 (参考法)  
<[http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/sub9\\_4.pdf](http://www.famic.go.jp/ffis/fert/obj/sub9_4.pdf)>
- 5) 坂東悦子, 恵智正宏, 白井裕治: 高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法による土壌中のメラミン及びその関連物質の同時測定, 肥料研究報告, 5, 108~113 (2012)



平成 23 年 5 月 25 日 (9 日目) 発芽状況



平成 23 年 6 月 10 日 (25 日目) 生育状況

写真 1 発芽状況及び生育状況





5月31日 初期の枯れ症状



6月6日 枯れ症状



6月10日 メラミン 500



6月10日 枯れ症状

写真2 メラミン 500 の症状

## Confirmatory Study of the Harm and Absorption of Melamine etc. for Komatsuna in the Soil added Melamine

Fumihiko ABE<sup>1</sup>, Toshiharu YAGI<sup>1</sup> and Etsuko BANDO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Food and Agricultural Materials Inspection Center, Fertilizer and Feed Inspection Department

There is information that melamine may be absorbed and it may accumulate depending on plants. Therefore, this study was intended to observe the harm and absorption of melamine etc. for komatsuna (*Brassica rapa var. perviridis*) in the soil added melamine. Komatsuna was grown by the experimental plot which set up the melamine addition from 0 mg to 500 mg in neubauer pot. The growing tests were applied to the method of "vegetation test on the harm against plants " by the notice of the Ministry of Agriculture, Forestry, and Fisheries correspondingly. The ingredient amount of nitrogen, phosphorus, and potassium were set to 100 mg respectively, using ammonium sulfate, calcium superphosphate, and potassium chloride as fertilizers, and the growing tests of 1 division 1 repetition was performed.

As the result, the border part of a leaf withers were observed in 500 mg melamine addition division. Analysis of plants object was conducted by LC-MS/MS and analysis of former site soil was conducted by LC. Because the melamine concentration and the amount of absorption in the komatsuna tended to become high as the addition of melamine increased, it was confirmed that melamine is absorbed by the plant from the early stages of growth. Cyanuric acid concentration became high as the melamine addition increased. Cyanuric acid was detected between the melamine 60 mg and the melamine 500 mg. However, for the cause of that the cyanuric acid in former site soil was N.D., and an addition not being accepted to 40 mg in the living body, when melamine concentration in the living body became more than fixed, it was suggested that metabolism generation of the cyanuric acid is carried out.

*Key words* komatsuna, melamine, cyanuric acid, vegetation test on the harm against plants

(Research Report of Fertilizer, **5**, 101~107, 2012)