

# 樹木類の花における農薬の残留傾向

高野優美\*, 秋山嘉大\*, 市原直登\*\*, 平松未森\*, 石原 悟\*\*\*

\*独)農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

\*\*環境省 水・大気環境局

\*\*\*農林水産省 消費・安全局

常緑樹のツツジおよび落葉樹のドウダンツツジの開花前後にジノテフラン、クロチアニジンおよびエトフェンプロックス製剤を処理し、開花後の花または葉における各農薬の残留量を調査した。開花前処理では、ツツジの葯でジノテフランのみわずかに検出され、ドウダンツツジの花からはいずれの成分も定量下限値以上の濃度では検出されなかった。開花始処理では、処理直後の残留農薬濃度が最も高く、その後、経時的な減衰が見られた。また、ツツジの調査では、農薬処理時の花が蕾の状態の場合、残留農薬濃度が低くなる傾向が認められ、開花ステージの異なりに伴う薬液の付着量の異なりが花の残留農薬濃度に影響を及ぼすことが示唆された。

農薬の花への残留傾向は、供試作物の処理時の枝葉の繁茂状況、花の形態や咲き方の相違、花卉への害虫被害有無などの影響を受けることが考えられた。

Keywords : ミツバチ, 蜜蜂, ポリネーター, リスク評価, 樹木, 花, 花粉, 花蜜, 残留

## 結 言

ミツバチが農薬に暴露する経路は、虫体に直接付着する接触暴露と農薬を含んだ食物などを摂取する経口暴露の2つがあり、農薬のミツバチに対するリスク評価では両方の暴露経路を考慮した評価が行われている。ミツバチにとって花粉はタンパク源、花蜜はエネルギー源であり蜂群の維持に必須であるため、経口暴露の主な暴露源は花粉・花蜜とされている。

経口暴露量の推定は、「ミツバチの摂餌量」に、「花粉・花蜜の農薬残留濃度」を乗じて算出する。ミツバチの摂餌量は、ミツバチが餌として摂取する花粉・花蜜の量であり、ミツバチの階級毎、花粉・花蜜毎の摂餌量データを元に設定された定数を用いている。これに対し、農薬残留濃度は農薬の使用方法に応じた暴露シナリオ（茎葉散布、土壌処理、種子処理）ごとに予測式を用いて推定値を算出するが、評価対象農薬の適用に即した試験方法で実施した花粉・花蜜残留試験より得られた実測値を、推定値の代わりに用いることができる。これを暴露量の精緻化という。

花粉・花蜜残留試験は、作物の性質等を考慮し、代表作物データの活用が検討されている。また、花粉・花蜜の採取が困難な場合、花粉または花蜜の代替として花全体、花粉の代替として葯、花蜜の代替として花蜜を含む花の一部等を分析部位とするこ

とができるとされている。

花粉・花蜜への農薬残留については、これまで農林水産省の事業で主にイネ<sup>2)</sup>、ウリ科作物等<sup>3)</sup>および果樹<sup>4)</sup>についての調査が実施されているが、非食用の作物、特に樹木についての知見は少ない。

本調査では、樹木における農薬の花粉・花蜜への残留性について調査することを目的に、ツツジおよびドウダンツツジを試験作物とした花粉・花蜜残留試験を実施した。

## 材料および方法

### 1. 供試作物および試験区概要

ツツジ (*Rhododendron* sp.) (図 1A) およびドウダンツツジ (*Enkianthus perulatus*) (図 1B) を供試作物とした。



図 1. 供試作物の花

A : ツツジ, B : ドウダンツツジ

開花前に農薬処理を行う区では、開花約3ヶ月前、2ヶ月前、2週間前になるよう農薬処理日を設定した。また、BBCHスケール<sup>5)</sup>で開花開始(Beginning of flowering)と定義されている樹当たり10%の花が開花した日を「開花始」とし、開花始に農薬処理を行う区を設定した。試験区概要を表1に示す。

ツツジは試験区当たり10樹とし、試験区間距離を約3~4mとした。試験区間の3~4樹はマージン区として農薬処理およびサンプリングを行わない区とした。ドウダンツツジは試験区当たり7樹とし、試験区間に9樹のマージン区を設け、試験区間の距離を約7~8mとした。

各試験区の外観を図2-1および図2-2に、平面概略図を図2-3に示す。

表1. 供試作物および試験区の概要

作物名	試験区	処理時の生育ステージ	樹数(樹)	面積(m <sup>2</sup> )
ツツジ	1	開花3ヶ月前	10	12.4
	2	開花2ヶ月前		12.7
	3	開花2週間前		13.6
	4	開花始		14.8
ドウダンツツジ	1	開花3ヶ月前	7	1.8
	2	開花2ヶ月前		
	3	開花2週間前		
	4	開花始		

## 2. 農薬の処理方法

供試農薬は、浸透移行性を有する、ネオニコチノイド系農薬のジノテフラン(20%水溶剤;アルバリン顆粒水溶剤)とクロチアニジン(16%水溶剤;ダントツ水溶剤)および浸透移行性を有しない、合成ピレスロイド系農薬のエトフェンプロックス(20%乳剤;トレボン乳剤)の3成分を選定した。

各農薬製剤を表2に示す有効成分投下量となるよう混用し、噴霧器(乾電池式噴霧器GT-5S, KOSHIN社製)で散布した。農薬処理は、風が弱く晴れた日の午前中に行った。

表2. 各農薬の単位面積当たりの有効成分投下量(kg ai/ha)

ジノテフラン	クロチアニジン	エトフェンプロックス
0.30	0.56	0.70



図2-1. ツツジ試験区

(撮影日: 2022年1月16日)



図2-2. ドウダンツツジ試験区

(撮影日: 2022年4月11日)

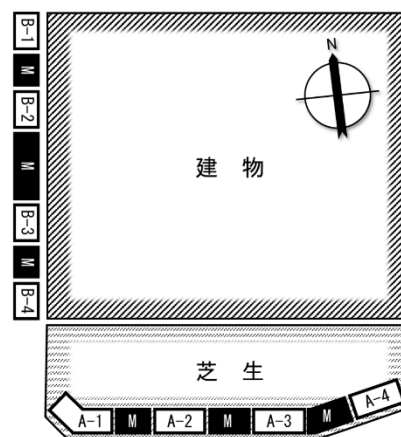


図2-3. 建物配置図および試験区平面概略図

A-1: ツツジ試験区1, A-2: ツツジ試験区2, A-3: ツツジ試験区3, A-4: ツツジ試験区4,

B-1: ドウダンツツジ試験区1, B-2: ドウダンツツジ試験区2, B-3: ドウダンツツジ試験区3, B-4: ドウダンツツジ試験区4,

M: マージン区

ツツジの農薬処理時は、マージン区を挟んで隣の試験区をブルーシートで覆い、ドリフトによる他試験区との交差汚染を防止した(図2-1)。ドウダンツツジは試験区間の距離を7~8 m とすることで交差汚染を防止した。

### 3. 農薬処理時期

4月中下旬での開花が予想されたため、試験区1の農薬処理は1月中旬に、試験区2の農薬処理は2月下旬に行い、試験区3の処理は3月下旬に行った。試験区4の処理は、樹当たり10%が開花したことを目視で確認し、処理を行った。開花約2週間前の花芽の様子を図3に示す。

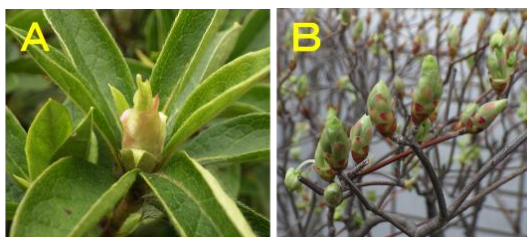


図3. 各供試作物の花芽

A : ツツジ花芽, B : ドウダンツツジ花芽および葉芽

### 4. 試料採取方法

試料は、開花始当日、開花始3日後および開花始7日後に採取した。ただし、採取予定日に降雨が予想された場合は、前日または翌日に採取した。開花始処理区の試料採取は、農薬処理後、薬液が乾いたことを確認してから行った。各作物の試料採取方法は下記のとおり。いずれも、清浄なニトリルグローブおよび器具を用い、試験区の両端を避けて無作為に採取した。

#### 4.1. ツツジ

開花した花を萼の下から手で採取し、ジッパー付きポリ袋に入れて実験室内に持ち帰った。試験区4(開花始処理区)では、農薬処理後、薬液が十分乾いたことを確認してから、開花している花すべてにタグを付け、処理4日後の試料採取時に農薬処理時に開花していた花として採取した。タグがついてい

ない花は、処理時に開花していなかった花として採取した。室内に持ち帰った花は、ハサミおよびピンセットを用いて萼を取り除いた後(図4I)、乳鉢内で細切し、乳棒を用いて全体を磨砕均質化して-80℃で冷凍保存した。分析操作の直前にデシケーター内で解凍し分析に供した。試験区3の開花始当日試料および試験区4の農薬処理4日後試料は、花粉の代替として葯、花蜜(図4II)の溜まる花卉基部約1 cmの部位、花卉基部を取り除いた花卉を分離し、部位別に分析した(図4III)。葯は1.5 mL容速沈管に、花卉基部および花卉は50 mL容速沈管に入れて-80℃で冷凍保存した。分析操作の直前にデシケーター内で解凍し、花卉基部および花卉は50 mL容速沈管に入れて-80℃で冷凍保存した。分析操作の直前にデシケーター内で解凍し、花卉基部および花卉は乳鉢内で細切後、乳棒を用いて磨砕均質化した。葯は1.5 mL容速沈管内で、ホモジナイザー(パワーマッシャーIIおよびバイオマッシャーII, (株)ニッピ製)を用いて磨砕均質化した。無処理試料は、試験区4から農薬処理前に採取し、花全体を試験区と同様に調製、保管した。農薬処理日および開花始とした日、ならびに試料採取日までの経過日数および分析対象部位を表3に示す。



図4. ツツジ試料と花蜜

I : 花全体試料, II : 花蜜, III : 部位別分析試料

表 3. ツツジの農薬処理, 試料採取スケジュールおよび分析対象部位

試験区	農薬処理 (年/月/日)	開花始 (年/月/日)	処理後 日数	開花始後 日数	分析対象部位
1	2022/1/20	2022/4/18	95	7	花全体
			92	4	花全体
			88	0	花全体
2	2022/2/25	2022/4/16	56	6	花全体
			53	3	花全体
			50	0	花全体
3	2022/3/29	2022/4/14	24	8	花全体
			20	4	花全体
			16	0	花全体・部位別
4	2022/4/12	2022/4/12	7	7	花全体
			4	4	花全体*1・部位別*2
			0	0	花全体

\*1 農薬処理時に開花していた花と農薬処理後に開花した花を区別して採取

\*2 農薬処理後に開花した花から採取

#### 4.2. ドウダンツツジ

開花した花および葉をハサミで切り落とし、それぞれ 50 mL 容遠沈管に入れて室内に持ち帰り、乳鉢内で細切後、乳棒を用いて磨砕均質化した。その後、50 mL 容遠沈管に入れて -80 °C で冷凍保存した。分析操作の直前にデシケーター内で解凍し、分析に供した。なお、開花した花が少なく分析可能な量を採取できなかった場合は、葉のみを分析対象とした。

無処理試料は、農薬検査部敷地内の無処理の樹から試験区と同様に採取、保管した。

農薬処理日および開花始とした日、ならびに試料採取日までの経過日数および分析対象部位を表 4 に示す。

表 4. ドウダンツツジの農薬処理, 試料採取スケジュールおよび分析対象部位

試験区	農薬処理 (年/月/日)	開花始 (年/月/日)	処理後 日数	開花始後 日数	分析対象部位
1	2022/1/20	2022/4/11	88	7	葉
			84	3	花全体・葉
			81	0	花全体・葉
2	2022/2/25	2022/4/14	56	8	葉
			52	4	花全体・葉
			48	0	花全体・葉
3	2022/3/29	2022/4/13	21	6	葉
			18	3	葉
			15	0	葉
4	2022/4/12	2022/4/12	7	7	葉
			4	4	花全体・葉
			0	0	花全体・葉



## 5. 分析方法および精度管理

QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) 法に準じ検討した分析方法に従い試験溶液を調製し、添加回収試験の結果概ね良好な回収率が得られた分析方法を用いた。分析方法の概要、添加回収試験および保存安定性試験結果を別添 2 に示す。

分析は各 2 連で実施した。ただし、採取量が少なく必要量に満たなかった試料については、1 連もしくは全量を量り取り試料重量で分析値を補正した。測定は高速液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) で行い、内部標準法を用いて定量した。定量用検量線溶液は、試験溶液中の各成分の濃度の概ね 0.5 倍、1 倍および 2 倍の濃度に調製したアセトニトリル溶液を用いた。ただし、定量下限値の 200 倍の濃度以上検出された成分については、試験溶液を希釈し、外部標準法 (絶対検量線法) を用いて定量した。内部標準物質には、安定同位体標識化合物のクロチアニジン d3 およびエトフェンプロックス d5 を用いた。

定量下限値は、ジノテフランおよびクロチアニジンが 0.005 mg/kg、エトフェンプロックスが 0.01 mg/kg とした。

## 結果および考察

### 1. 分析結果

各試料の分析結果を別添 1 の表 1 から表 5 に示す。

#### 1.2. ツツジ

試験区 1, 2 および 3 (開花始前処理区) からはいずれの農薬も定量下限値以上で検出されなかった。

試験区 4 (開花始処理区) では、残留農薬濃度の減衰が確認できた。いずれの成分も、処理直後の残留農薬濃度がもっとも高く、処理 7 日後には最高濃度の 1% 前後まで減少した。また、農薬処理時に開花していた花は、開花していなかった花に比べて残留農薬濃度が高かった (図 9 I および図 9 II)。

試験区 3 の葯、花弁基部、花弁を分析した結果では、葯のみジノテフランが 0.023 mg/kg 検出され、開花前の農薬処理による残留は葯で最も高かった。試験区 4 の農薬処理後に開花した花の処理 4 日後の試料では、葯で 0.28~0.45 mg/kg、花弁基部で 0.33~4.3 mg/kg、花弁で 0.95~6.3 mg/kg 検出され、花弁で残留農薬濃度が最も高かった (図 9 III)。

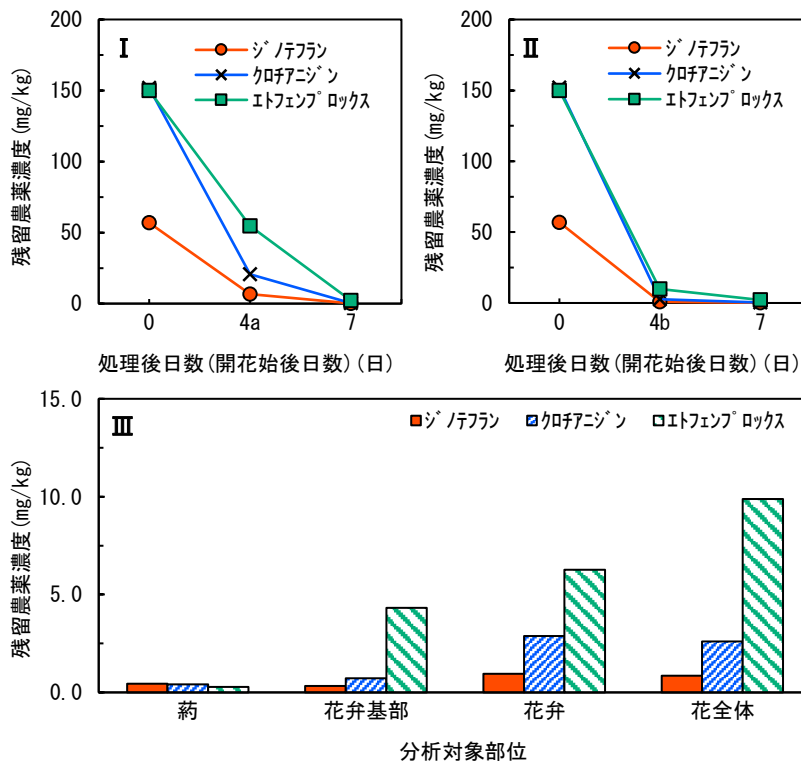


図 9. ツツジ試験区 4 (開花始処理区) 試料中残留農薬濃度  
 I : 花全体試料中の減衰経過 (処理時に開花していた花を処理 4 日後試料 (4a) として分析)  
 II : 花全体試料中の減衰経過 (処理後に開花した花を処理 4 日後試料 (4b) として分析)  
 III : 処理 4 日後試料 (処理後開花) 中の部位別残留農薬濃度

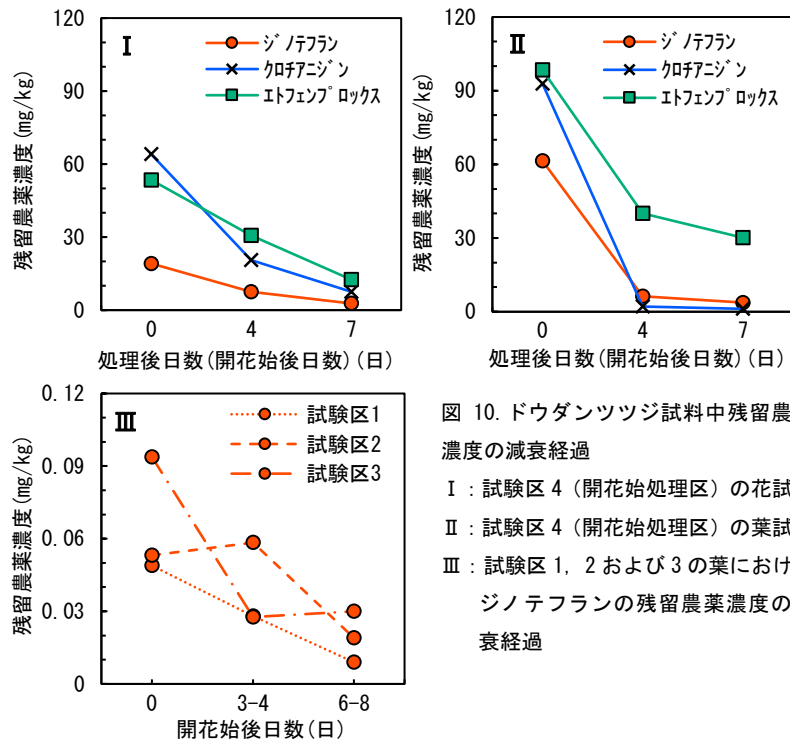


図 10. ドウダンツツジ試料中残留農薬濃度の減衰経過  
 I : 試験区 4 (開花始処理区) の花試料  
 II : 試験区 4 (開花始処理区) の葉試料  
 III : 試験区 1, 2 および 3 の葉におけるジノテフランの残留農薬濃度の減衰経過

### 1.3. ドウダンツツジ

花試料の分析では、試験区 1 および 2 (開花始前処理区) からはいずれの農薬も定量下限値以上で検出されなかった。

試験区 4 (開花始処理区) では、残留農薬濃度の減衰が確認できた (図 10 I)。いずれの成分も、処理直後の残留農薬濃度がもっとも高く、その後処理 7 日後には最高濃度の 12~23 % まで減少した。

葉試料の分析では、ジノテフランが試験区 1, 2 および 3 (開花始前処理区) から 0.0090~0.094 mg/kg 検出され、クロチアニジンは試験区 3 から定量下限値未満または 0.0061~0.010 mg/kg 検出された。ジノテフランは、農薬処理後日数に伴い減少する傾向が認められた (図 10 III)。

試験区 4 (開花始処理区) では、残留農薬濃度の減衰が確認できた (図 10 II)。いずれの成分も、処理直後の残留濃度がもっとも高く、処理 7 日後には最高濃度の 1.3~31 % まで減少した。

## 2. 考察

開花始前および開花始後に農薬処理を行い、ツツジおよびドウダンツツジにおける農薬残留分析調査を行った。

開花始前の処理では、ツツジの花全体試料およびドウダンツツジの花全体試料からは、いずれの農薬も定量下限値以上の濃度で検出されなかった。また、ツツジの処理 16 日後の花を葯、花卉基部、花卉の部位別に分析した結果、葯以外からはいずれの農薬も検出されなかったことから、ツツジおよびドウダンツツジでは、開花前に処理した農薬の開花後の花への移行性は低いことが示唆された。ドウダンツツジでは、花と葉で残留傾向が異なる結果となった。ドウダンツツジは一つの芽の中に複数の花芽と葉芽が集合しており、花と葉が同時に展開し、花が開花した後に葉が伸張する。開花始前の処理時期には葉も展開しておらず、花と同様に薬液に直接暴露はしていないが、花よりも葉で残留が認められたことから、ジノテフランは花よりも葉に移行しやすいことが示唆された。

開花始の処理では、すべての試料において処理直

後の残留農薬濃度が最も高く、その後、経時的な減衰が認められた。また、ツツジでは、農薬処理時に開花していた花は、開花していなかった花（蕾）に比べて残留農薬濃度が高くなる傾向が認められた。このことについて、開花している花の方が表面積が大きいこと、ツツジの花の形状から花弁のひだ部分および基部に薬液が溜まりやすく、薬液の付着量が多くなったことが原因であると考えられた。

ツツジの部位別分析では、開花始処理区の全ての部位で定量下限値以上検出された。ツツジ一花当たりの各部位の平均重量（表 12）から、各部位の農薬残留量を算出し、花全体試料の残留量を 100%として各部位への残留分布を算出した結果（図 11）、ジノテフランおよびクロチアニジンでは 80%以上が花弁に分布しており、一花中の分布は花弁で最も高かった。エトフェンプロックスは約 50%が花弁以外に分布しており、部位別の分析では、雄蕊花糸、雌蕊、子房を取り除いたため、それらの部位への残留が示唆された。

調査結果の比較として、果樹類であるモモの開花前および開花始に、本調査と同一成分を含む農薬製

剤を処理し、萼片および花柄を除く花全体試料への残留性を調べた結果、花芽休眠期（開花約 2.5 ヶ月前）および花芽萌芽後（開花約 2 週間前）に処理した農薬は、開花後の花から定量下限値以上の濃度で検出された。このことから、作物によって開花始前に処理した農薬の残留傾向に差があることが示唆された。

試験区 4（開花始処理区）の花全体試料での各成分の残留農薬濃度を単位面積当たりの有効成分投下量で除した値（RUD : Residue per Unit Dose）を比較した結果を図 12 に示す。なお、ツツジの処理 4 日後の RUD の算出には、処理時に開花していた花および処理後に開花した花の残留農薬濃度の平均値を用いた。開花始処理における花への農薬の残留はドウダンツツジよりもツツジの方が高かった。この要因として、ツツジの花は上向きまたは横向きに開花するのに対し（図 1A）、ドウダンツツジの花はすべて下向きに開花し、形状が釣り鐘型をしており（図 1B）、薬液が花弁の内側に直接暴露しにくいことが考えられる。一方で、モモの RUD は両作物よ

表 12. ツツジ一花あたりの部位別平均重量および農薬残留分布

分析部位	平均重量 (g/花)	ジノテフラン		クロチアニジン		エトフェンプロックス	
		残留量 ( $\mu\text{g}/\text{花}$ )	残留量/ 花全体	残留量 ( $\mu\text{g}/\text{花}$ )	残留量/ 花全体	残留量 ( $\mu\text{g}/\text{花}$ )	残留量/ 花全体
薬	0.012	0.0055	0.48 %	0.0050	0.15 %	0.0033	0.026 %
花弁基部	0.12	0.0039	3.4 %	0.084	2.5 %	0.51	3.9 %
花弁	0.97	0.92	82 %	2.8	82 %	6.1	47 %
花全体	1.3	1.1	-	3.4	-	13	-

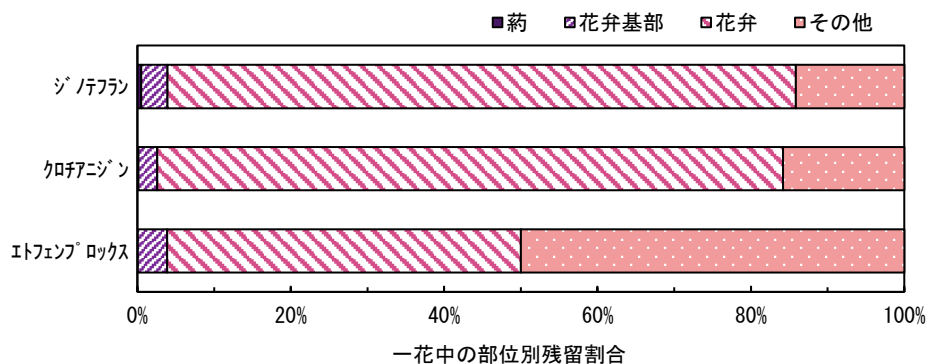


図 11. ツツジ試験区 4（開花始）処理 4 日後試料（処理後開花）の一花中残留分布

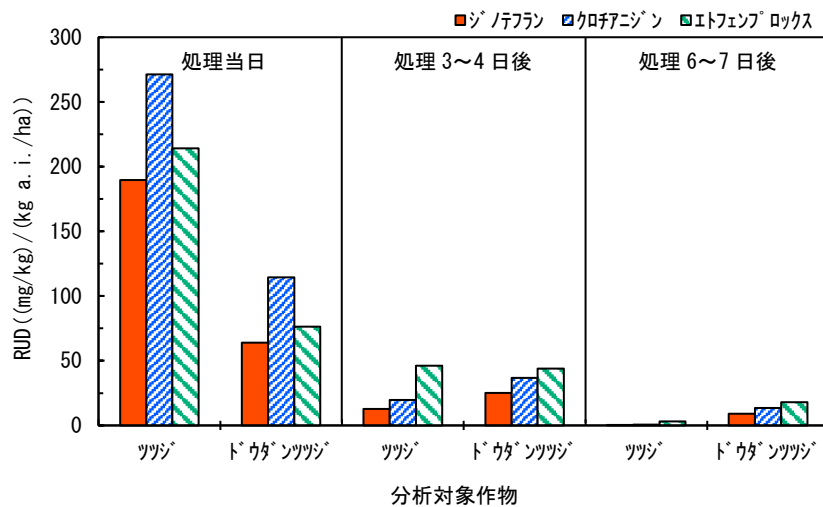


図 12. 開花始処理区における各作物の花試料中 RUD

りも高い結果となった。この要因として、ツツジは常緑樹で農薬処理時にも葉が密集しており、一方で、モモは開花始期には葉がなく、枝から花のみが展開しており、花への葉液の直接暴露が大きかったことが考えられた。また、モモでは他の作物と異なりエトフェンプロックスの RUD が最も高かった。この要因のひとつとして、ツツジの部位別分析結果より、エトフェンプロックスは他の成分とは花中の分布が異なる傾向が認められ、本調査ではモモの開花前の花芽において害虫による食害が発生したことにより試料の部位別重量比率に影響を及ぼした結果、RUD にも影響した可能性が考えられた。

各農薬の減衰傾向は作物によって大きな違いはみられなかったが、エトフェンプロックスの減衰がその他 2 成分に比べて緩やかであった。この要因のひとつとして、ジノテフランおよびクロチアニジンは浸透移行性が高く、花中の濃度の減少が早かったことが考えられた。

また、ツツジよりもドウダンツツジの方で減衰が早い傾向が認められ、この要因として供試作物間の日照条件の違いが考えられた。ドウダンツツジ試験区は建物の西側壁面に沿って設置されているのに対し、ツツジ試験区は建物南側に設置されており、処理後の日照条件が異なっていた (図 2-3)。調査に用いた成分はいずれも水中光分解性が比較的高い成分<sup>6)</sup> (水中光分解半減期は、ジノテフラン、クロチアニジンおよびエトフェンプロックスでそれぞ

れ 3.8 時間、40~46 分および 4.7~7.9 日) であることから、日照条件の違いによって光分解による消失速度に差が生じた可能性が考えられた。

本調査では、花全体または部位別試料を花粉および花蜜の代替試料として分析した。本調査結果は、花粉、花蜜試料を部位別試料で代替することの妥当性の検討に資すると考えられる。

## 引用文献

- 1) 農林水産省(2020): 農薬の登録申請において提出すべき資料について (平成 31 年 3 月 29 日付け 30 消安第 6278 号農林水産省消費・安全局長通知) 別紙 2 ミツバチへの影響評価ガイドンス
- 2) 一般社団法人日本植物防疫協会(2021):平成 29 年度 農薬の影響評価に向けた試験委託事業 (①有用生物の水稻花粉を経由した暴露影響調査) 水稻花粉の農薬残留量調査報告書
- 3) 一般社団法人日本植物防疫協会(2020): 平成 31 年度 農薬の影響評価に向けた試験委託事業 有用生物の評価に係る花粉・花蜜残留試験法の検討・検証報告書
- 4) 一般社団法人日本植物防疫協会(2022): 令和 3 年度 農薬の蜜蜂への影響評価の充実のためのデータ収集委託事業 (花粉・花蜜残留試験法



の検討・検証) 報告書

- 5) Federal Research Centre for cultivated Plants(2018): Growth stages of mono- and dicotyledonous plants, BBCH Monograph, p.144, 178, 180
- 6) 一般社団法人日本植物防疫協会 (2016): 農薬ハンドブック 2016年版, p.76, 98, 100

別添 1.

表 1. ツツジ分析結果（花全体）

試験区	処理後 日数(日)	開花始後 日数(日)	ジノテフラン(mg/kg)			クロチアニジン(mg/kg)			エトフェンプロックス(mg/kg)		
			分析値①	分析値②	平均値	分析値①	分析値②	平均値	分析値①	分析値②	平均値
無処理	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1	95	6	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00
	92	4	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00
	88	0	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00
2	56	6	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00
	53	4	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00
	50	0	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00
3	24	8	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00
	20	4	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00
	16	0	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00	<L00
4	7	7	0.14	0.16	0.15	0.33	0.35	0.34	1.9	2.4	2.1
	4	4b	0.84	0.87	0.85	2.6	2.6	2.6	10	10	9.9
	4	4a	6.7	6.8	6.8	22	20	21	61	49	55
	0	0	57	56	57	153	151	152	162	138	150

ND : 未検出 <L00 : 定量下限値 (ジノテフランおよびクロチアニジン ; 0.005 mg/kg, エトフェンプロックス ; 0.01 mg/kg) 未満

a : 農薬処理時開花 b : 農薬処理後開花

表 2. ツツジ分析結果 (部位別)

試験区	処理後 日数 (日)	開花始 後日数 (日)	試料 部位	ジノテフラン (mg/kg)			クロチアニジン (mg/kg)			エトフェンプロックス (mg/kg)		
				分析値①	分析値②	平均値	分析値①	分析値②	平均値	分析値①	分析値②	平均値
3	16	0	葯	0.023	0.022	0.023	<L0Q	<L0Q	<L0Q	<L0Q	<L0Q	<L0Q
			花弁基部*	<L0Q	-	<L0Q	<L0Q	-	<L0Q	<L0Q	-	<L0Q
			花弁	<L0Q	<L0Q	<L0Q	<L0Q	<L0Q	<L0Q	<L0Q	<L0Q	<L0Q
4	4	4b	葯	0.41	0.49	0.45	0.36	0.47	0.42	0.30	0.25	0.28
			花弁基部*	0.33	-	0.33	0.72	-	0.72	4.3	-	4.3
			花弁	0.94	0.96	0.95	2.8	2.9	2.9	6.3	6.2	6.3

\* : 1連で分析を実施 <L0Q : 定量下限値 (ジノテフランおよびクロチアニジン ; 0.005 mg/kg, エトフェンプロックス ; 0.01 mg/kg) 未満 b : 農薬処理後開花

表 3. ドウダンツツジ分析結果（花全体）

試験区	処理後 日数(日)	開花始後 日数(日)	ジノテフラン(mg/kg)			クロチアニジン(mg/kg)			エトフェンプロックス(mg/kg)		
			分析値①	分析値②	平均値	分析値①	分析値②	平均値	分析値①	分析値②	平均値
無処理	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1	84	3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	81	0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	52	4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	48	0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
4	7	7	2.8	2.6	2.7	7.7	7.5	7.6	13	12	13
	4	4	7.6	7.5	7.5	21	20	21	31	30	31
	0	0	19	19	19	63	65	64	53	54	53

ND : 未検出 <LOQ : 定量下限値（ジノテフランおよびクロチアニジン ; 0.005 mg/kg, エトフェンプロックス ; 0.01 mg/kg）未満

表 4. ドウダンツツジ分析結果 (葉)

試験区	処理後 日数(日)	開花始後 日数(日)	ジノテフラン(mg/kg)			クロチアニジン(mg/kg)			エトフェンプロックス(mg/kg)		
			分析値①	分析値②	平均値	分析値①	分析値②	平均値	分析値①	分析値②	平均値
無処理	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1	88	7	0.0095	0.0084	0.0090	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	84	3	0.026	0.031	0.028	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	81	0	0.047	0.051	0.049	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2	56	8	0.017	0.021	0.019	<LOQ	<LOQ	<LOQ	ND	ND	ND
	52	4	0.057	0.059	0.058	<LOQ	<LOQ	<LOQ	ND	ND	ND
	48	0	0.054	0.052	0.053	<LOQ	<LOQ	<LOQ	ND	ND	ND
3	21	6	0.030	0.030	0.030	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	18	3	0.029	0.026	0.028	0.0061	0.010	0.0081	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	15	0	0.093	0.095	0.094	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
4	7	7	3.8	3.7	3.7	1.2	1.2	1.2	30	30	30
	4	4	6.1	6.4	6.3	2.0	2.1	2.1	40	40	40
	0	0	61	61	61	91	95	93	100	97	98

ND : 未検出 <LOQ : 定量下限値 (ジノテフランおよびクロチアニジン ; 0.005 mg/kg, エトフェンプロックス ; 0.01 mg/kg) 未満



表 5. モモ分析結果（花全体）

試験区	処理後 日数(日)	開花始 後日数 (日)	ジノテフラン(mg/kg)			クロチアニジン(mg/kg)			エトフェンプロックス(mg/kg)		
			分析値①	分析値②	平均値	分析値①	分析値②	平均値	分析値①	分析値②	平均値
無処理	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
花芽 休眠期 処理	85	9	0.0076	0.0064	0.0070	0.0071	0.0062	0.0066	0.026	0.030	0.028
	79	3	0.0074	0.0079	0.0077	0.0063	0.0071	0.0067	0.031	0.029	0.030
	76	0	0.035	0.038	0.037	0.017	0.018	0.018	0.094	0.11	0.10
花芽 萌芽後 処理	28	8	0.023	0.020	0.022	0.024	0.020	0.022	0.13	0.11	0.12
	23	3	0.066	0.053	0.060	0.103	0.087	0.095	0.83	0.57	0.70
	20	0	0.089	0.089	0.089	0.077	0.076	0.076	0.39	0.40	0.40
開花始 処理	6	6	2.6	3.1	2.9	2.5	3.0	2.7	57	61	59
	3	3	13	12	13	15	14	15	227	240	234
	0	0	389	244	316	366	238	302	1047	1054	1051

ND : 未検出

## 別添 2.

### 分析方法概要、添加回収試験結果 および保存安定性試験結果

#### 1. 前処理

抽出および精製処理の概要を図 1 に示す。

##### 1.1. ツツジ

###### 1.1.1. 花全体、花卉基部、花卉

磨砕均質化後の試料を 50 mL 容遠沈管に 3.0 g 量り取り、抽出溶媒（超純水：アセトニトリル（ACN）：1%酢酸 = 44:55:1）27 mL を添加後、1 分間振とうして懸濁溶液とした。これに内部標準溶液 50  $\mu$ L を添加し軽く攪拌した後、抽出塩（硫酸マグネシウム（MgSO<sub>4</sub>）6 g および酢酸ナトリウム（NaOAc）1.5 g）を添加し、1 分間振とう後、3,000 rpm で 5 分間遠心分離した。上澄み液 1 mL を 2 mL 容遠沈管（精製塩（MgSO<sub>4</sub> 150 mg、エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル（PSA）50 mg およびオクタデシルシリル化シリカゲル（C<sub>18</sub>）50 mg）を含む）に移し入れ、1 分間振とうした。これを 15,000 rpm で 10 分間遠心分離後、上澄み液を試験溶液とした。

###### 1.1.2. 葯

磨砕均質化後の試料を 1.5 mL 容遠沈管に 0.10 g 量り取り、抽出溶媒（超純水：ACN：1%酢酸 = 44:55:1）900  $\mu$ L を添加後、1 分間振とうし、懸濁溶液とした。これに内部標準溶液 3 倍希釈液 5  $\mu$ L を添加し軽く攪拌した後、抽出塩（MgSO<sub>4</sub> 200 mg および NaOAc 50 mg）を添加し、1 分間振とう後、3,000 rpm で 5 分間遠心分離した。上澄み液 420  $\mu$ L を 1.5 mL 容遠沈管（精製塩（MgSO<sub>4</sub> 75 mg、PSA 25 mg および C<sub>18</sub> 25 mg）を含む）に移し入れ、1 分間振とうした。これを 15,000 rpm で 10 分間遠心分離後、上澄み液を試験溶液とした。

#### 1.2. ドウダンツツジおよびモモ

磨砕均質化後の試料を 50 mL 容遠沈管に 3.0 g 量り取り、抽出溶媒（超純水：ACN：1%酢酸 = 44:55:1）27 mL を添加後、1 分間振とうし、懸濁溶液とした。これに内部標準溶液 50  $\mu$ L を添加し軽く攪拌した後、抽出塩（MgSO<sub>4</sub> 6 g および NaOAc 1.5 g）を添

加し、1 分間振とう後、3,000 rpm で 5 分間遠心分離した。上澄み液 12 mL を 15 mL 容遠沈管（精製塩（MgSO<sub>4</sub> 1200 mg、PSA 400 mg および C<sub>18</sub> 400 mg）を含む）に移し入れ、1 分間振とうした。これを 3,000 rpm で 5 分間遠心分離後、上澄み液 8 mL を 50 mL 容ナス型フラスコに採取し、40 °C 以下の水浴中で減圧濃縮後、窒素気流下で溶媒を留去、乾固した。残留物に ACN：トルエン（3:1）混液 2 mL を加え、ACN：トルエン（3:1）混液 20 mL であらかじめ洗浄した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（500 mg/500 mg、6 mL）に負荷し、ACN：トルエン（3:1）混液 20 mL で溶出した。溶出液を 40 °C 以下の水浴中で減圧濃縮後、窒素気流下で溶媒を留去、乾固した。残留物を ACN 0.8 mL で溶解し、1.5 mL 容遠沈管に移し入れ、15,000 rpm で 5 分間遠心分離した。上澄みを ACN で 4 倍に希釈し、試験溶液とした。

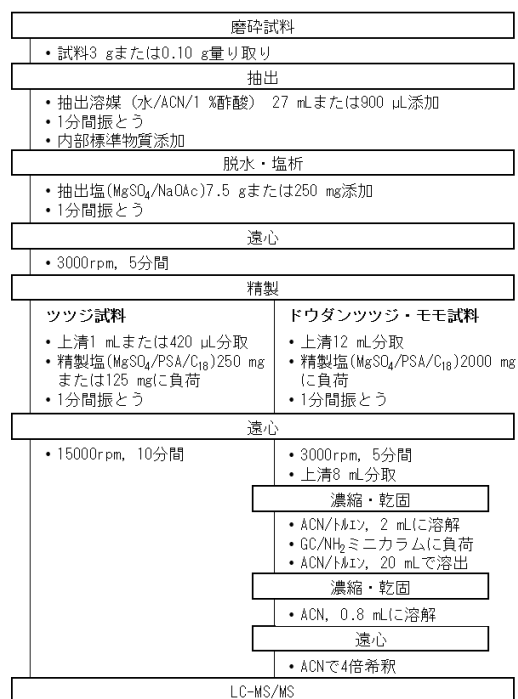


図 1. 試験溶液の調製

## 2. 測定装置および測定条件

LC-MS/MS（島津製作所，LCMS-8045）を用いて，Multiple Reaction Monitoring（MRM）（多重反応モニタリング）モードにより測定した．測定条件および測定イオンを表1から表4に示す．

表 1. 測定条件

装置	島津製作所製 LC-MS/MS(LCMS-8045)	
カラム	Waters 社製 Atlantis T3 (粒径 3.0 $\mu$ m, 内径 2.1 mm, 長さ 50 mm)	
流量	0.2 mL/min	
カラム温度	40 $^{\circ}$ C	
注入量	2 $\mu$ L	
移動相 A液	ツツジ試料 : 0.1 %ギ酸 + 5 mM 酢酸アンモニウム水溶液 ドウダンツツジ, モモ試料 : 0.1 %ギ酸 + 10 mM ギ酸アンモニウム水溶液	
B液	ツツジ試料 : メタノール ドウダンツツジ, モモ試料 : アセトニトリル	
イオン化法	エレクトロスプレーイオン化法 (ESI+)	

表 2. MS 温度条件

	ツツジ	ドウダンツツジ, モモ	
		クロチアニジン	ジノテフラン エトフェンブロックス
インターフェイス温度	200 $^{\circ}$ C	350 $^{\circ}$ C	150 $^{\circ}$ C
DL 温度	120 $^{\circ}$ C	250 $^{\circ}$ C	100 $^{\circ}$ C
ヒートブロック温度	250 $^{\circ}$ C	450 $^{\circ}$ C	200 $^{\circ}$ C

表 3. グラジエント条件

時間 (分)	A液 (%)	B液 (%)
0	80	20
0.5	80	20
10	5	95
17.5	5	95
24	80	20

表 4. 測定イオン

	プリカーサーイオン (m/z)	プロダクトイオン (m/z)
ジノテフラン	203.00	129.10
クロチアニジン	249.85	169.10
エトフェンブロックス	394.30	177.20
クロチアニジン d3	253.10	172.10
エトフェンブロックス d5	400.30	183.20

### 3. 添加回収試験結果および保存安定性試験結果

添加回収試験の結果を表 5-1 から表 5-3 に示す。  
各濃度に調製した混合標準溶液を無処理試料に添

加し、回収率および併行精度を求めた。

保存安定性試験の結果を表 6-1 から表 6-3 に示す。  
各濃度に調製した混合標準溶液をツツジおよびド

表 5-1. ジノテフラン添加回収試験結果

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)	平均回収率 (%)	RSDr
ツツジ(花全体)	0.5	114 107 102 102 100	105	5.0
	0.05	102 103 105 105 103	104	1.2
	0.005	89 105 100 105 95	99	6.3
ドウダンツツジ(花全体)	0.5	73 72 79 78 72	75	0.5
	0.05	71 79 89 65 63	74	10
	0.005	72 69 75 72 69	71	2.2
ドウダンツツジ(葉)	0.5	88 93	90	2.5
	0.05	79 100	89	11
	0.005	108 124	116	7.0
モモ(花全体)	0.05	70 80	75	6.7
	0.005	85 93	89	4.5

表 5-2. クロチアニジン添加回収試験結果

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)	平均回収率 (%)	RSDr
ツツジ(花全体)	0.5	99 99 96 95 95	97	1.8
	0.05	98 97 101 100 96	98	1.9
	0.005	91 99 93 94 95	94	2.7
ドウダンツツジ(花全体)	0.5	97 95 93 91 82	96	1.1
	0.05	94 94 93 90 80	94	0.7
	0.005	99 90 89 86 76	94	4.4
ドウダンツツジ(葉)	0.5	108 108	108	0.0
	0.05	89 116	102	13
	0.005	86 169	127	33
モモ(花全体)	0.05	82 92	87	5.7
	0.005	93 98	95	2.6

表 5-3. エトフェンプロックス添加回収試験結果

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)	平均回収率 (%)	RSDr
ツツジ(花全体)	1.0	98 99 96 96 96	97	1.2
	0.10	91 92 95 95 93	93	1.7
	0.010	99 101 103 98 95	99	2.5
ドウダンツツジ(花全体)	1.0	94 91 90 88 80	89	1.3
	0.10	89 91 86 86 78	86	2.6
	0.010	80 75 75 72 63	73	3.5
ドウダンツツジ(葉)	1.0	90 93	91	1.6
	0.10	77 91	84	8.0
	0.010	93 130	111	16
モモ(花全体)	0.10	81 95	88	7.8
	0.010	83 80	81	2.2

ウダンツツジの花全体試料の無処理試料に添加し、  
-80℃で一定期間冷凍保存した後、回収率を求めた。

表 6-1. ジノテフラン保存安定性試験結果

試料	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
ツツジ (花全体)	0.05	232	139 127	133
ドウダンツツジ (花全体)		160	78 73	76

表 6-2. クロチアニジン保存安定性試験結果

試料	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
ツツジ (花全体)	0.05	232	122 114	118
ドウダンツツジ (花全体)		160	92 84	88

表 6-3. エトフェンプロックス保存安定性試験結果

試料	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)	平均回収率 (%)
ツツジ (花全体)	0.10	232	121 114	117
ドウダンツツジ (花全体)		160	89 84	86