

# 農薬調査研究報告

第12号

令和2年

## Research Report of Agricultural Chemicals

Vol. 12  
2020



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、農薬取締法、肥料法、飼料安全法、JAS法等の法律に基づき、農業生産資材（農薬、肥料、飼料等）や食品を対象として科学的な検査・分析を行い、農業生産資材の安全の確保、食品等の品質・表示の適正化等に技術で貢献することを使命に掲げ、業務を行っています。

農薬は、農薬取締法に基づく登録制度等により厳しい規制が行われており、農林水産大臣の登録を受けなければ製造、加工、輸入等を行うことができません。農薬取締法は平成30年に一部改正され、最新の科学的知見に基づき定期的（概ね15年ごと）に安全性等の評価が行われることになり、更に、農薬の蜜蜂への影響や農薬使用者への影響などに関して新たな評価が行われることとなりました。FAMIC農薬検査部は、農薬管理の要である農薬登録審査の実施機関として審査業務を担っています。また、農林水産省との密接な連携のもと、登録された農薬の市場における品質の確保のため農薬製造場への立入検査を実施するとともに、全国の農業生産現場における農薬の使用状況及び生産者から収集した農産物中の農薬の残留状況についての分析調査を行っています。

今般、令和元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12号を発行しました。農薬検査部の調査研究は、登録審査業務の遂行に必要な新たな知見や技術力の獲得、並びに残留農薬の調査に必要な分析技術の向上を目的としています。また、農林水産省との密接な連携のもと、農薬登録の国際調和を進める上で必要な技術情報等を収集し、分析した結果を提供するといった役割も担っています。こうした観点から、調査研究の対象については、実験を伴うもののみならず、文献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含めたものとしています。また、調査研究の成果は、関係学会等での発表を通じて公表に努めています。

本報告書が関係者の皆様の業務の参考になりますことを期待しています。また、農薬検査部では、今後も調査研究に積極的に取り組んでいくこととしています。調査研究の充実のためには、各方面の皆様からのご意見が不可欠ですので、ご指導のほどお願い申し上げます。

令和3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 木内 岳志

## 目 次

E Uにおける農薬使用者に対する急性曝露評価の調査	
高橋めぐみ	1
日本における農薬の散布液量実態調査	
神谷昌希、藤田智紀、佐々木千潮	6
ミツバチの田面水を介した農薬暴露実態の解明－実態調査および調査手法の確立－	
市原直登、加藤貴央、木村 穰、石原 悟	12
複数回収穫される農作物（にら）の残留性に関する調査研究	
大島 雄、泉澤 努、中別府里緒、佐藤辰彦、横山武彦、光寄克敏、新井奈津子、池田淳一、伊藤和男	17
平成31年（令和元年）度学会等での発表実績一覧	25
<b>【技術レポート】</b>	
残留農薬分析業務における分析法の検討	
(LC-MS/MSを用いた米穀中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価)	
坂部亮介、山本謙吾、鈴木徹也、大谷有二、臼井裕一、野村哲也、松野倫也	26

# EUにおける農薬使用者に対する急性曝露評価の調査

高橋めぐみ

独)農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

EU では従前より、農薬の使用者への安全性を確保するため農薬使用者曝露評価が実施されている。2016 年からは反復影響評価に加え急性曝露評価が実施されており、評価の方針及び評価内容が公表されている。農薬使用者の曝露評価については、2020 年度より我が国においても導入が決定しており、農薬使用者の急性及び反復影響について評価することとしている。農薬使用者に対する曝露評価に先立ち、本調査では先行事例である EU の評価状況について調査し、急性農薬使用者曝露許容量 (AAOEL) 設定の根拠とする試験の選択基準及び評価における各試験結果の例外的な安全係数等の取り扱い事例等について分析した。

Keywords ; 農薬使用者, 急性曝露評価, 急性農薬使用者曝露許容量, AAOEL

## 緒言

我が国における農薬使用者への農薬曝露に関するリスク評価及び管理の導入にあたり、既に同様の評価法が導入・運用されている EU の評価状況を把握することが重要である。そこで2019年度は、欧州における農薬使用者への急性曝露に関するリスク評価結果及び手法を調査した。

### 1. 調査の背景

我が国においては、2020 年度より新規申請される農薬有効成分に加え、2021 年度より再評価を実施する有効成分について農薬使用者に対するリスク評価を開始する。このリスク評価法では、登録する使用方法・作物ごとに、農薬を散布した際の曝露量を推定し、各毒性試験成績から導いた農薬使用者曝露許容量 (反復: Acceptable Operator Exposure Level (AOEL)<sup>a</sup>, 急性: Acute Acceptable Operator Exposure Level (AAOEL)<sup>b</sup>) と比較し、必要な防護装備等のリスク管理を行うこととしている (図 1)。



図 1. 使用者曝露評価の概要

農薬使用時の安全性評価ではまず、申請者より提出された毒性試験成績を基に AOEL 及び AAOEL が設定される。AOEL は中長期的な影響を、AAOEL は短期的な影響を評価する指標として、それぞれの評価期間に適した毒性試験成績を根拠として設定される。一方、曝露量については、農薬の使用方法等から中長期及び短期の推定曝露量を求める。AOEL 及び AAOEL と、評価対象農薬を使用した際の中長期及び短期の推定曝露量をそれぞれ比較した結果、曝露量が許容量を超えなければ登録とする。推定曝露量は、適用作物、農薬の使用法、剤型などに依存するため、評価機関や登録する農薬等によって異なる推定量となるが、許容量設定の考え方は各国の評価機関で共通である。

我が国において導入される農薬使用者安全性の評価スキームは、欧州における農薬評価制度を踏襲している。EU においては、従前から導入されている AOEL を用いた反復曝露影響のリスク評価に加え、2016 年より AAOEL を用いた急性曝露による農薬使用者への影響についてリスク評価が実施されている。

<sup>a</sup> Acceptable Operator Exposure Level (AOEL)

農薬使用者曝露許容量 (ヒトが農薬散布作業等により農薬に曝露した場合に健康に悪影響を示さないと推定される一日当たりの上限値)

<sup>b</sup> Acute Acceptable Operator Exposure Level (AAOEL)

急性農薬使用者曝露許容量 (ヒトが農薬散布作業等により 24 時間又はそれより短い時間農薬に曝露した場合に健康に悪影響を示さないと推定される一日当たりの上限値)

本調査では、欧州食品安全機関（European Food Safety Authority (EFSA)）ウェブサイトにて公表されている評価書の情報から EU における AAOEL 評価にかかる考え方を調査・分析し、AAOEL 設定の方法について整理した。

## 2. EU における農業使用者に対する曝露評価手法

EU における農業使用者に対する曝露評価手法は、2014 年採択の「農業使用者の曝露評価手法に関するガイダンス」<sup>1)</sup>において明示されており、このガイダンスの内容については調査研究課題として調査済みである<sup>2)</sup>。EFSA より当該ガイダンスが公表された時点では、急性曝露評価に用いる毒性指標の定義、また、評価手法等が確立されていないことを理由に AAOEL の設定及び急性曝露評価の導入は延期されていたが、2017 年に AAOEL の設定について補足的内容を示した文書<sup>3)</sup>が示され、現在の EFSA における評価はこの文書に則って行われている。

### 2.1. AAOEL 設定に関する補足文書について

AAOEL 設定に係る補足文書の概要を以下に記述する。

EFSA において新規に評価する有効成分及び再評価にて評価する有効成分について、有効成分の毒性プロファイルに基づいて AAOEL を設定する。設定に関する方針は以下の通り。

#### 2.1.1. Tier 1. AAOEL 設定の必要性について

Tier1 として、当該有効成分について AAOEL の設定が必要かどうか、フローチャート（図 2）に従って判断する。

##### ① AOEL との比較

AOEL の値は AAOEL 以下となることから、急性の推定曝露量が AOEL を下回る場合は、AAOEL を設定して比較しなくても、急性の推定曝露量が AAOEL を下回ると予想される。このような場合、AAOEL は設定不要。

##### ② 急性参照用量（Acute Reference Dose (ARfD)<sup>c)</sup> との比較

有効成分の評価の際には、必要に応じて急性参照用量（ARfD）が設定される。毒性試験成績から

ARfD が設定不要と判断された場合、あるいは、急性の推定曝露量が、経口吸収率で補正した ARfD を下回る場合、AAOEL は設定不要。ただし、ARfD 設定に用いた試験のエンドポイント<sup>d)</sup>が AAOEL 設定に利用可能（Tier 2 の①の基準に従って判定する）である場合に限る。

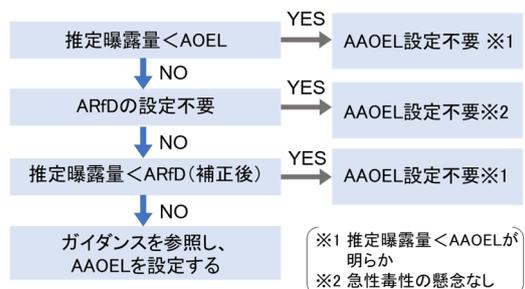


図 2. AAOEL 設定のフローチャート（Tier 1）

#### 2.1.2. Tier 2. AAOEL を設定する

Tier 1 で AAOEL 設定不要と判定されなかった有効成分について、AAOEL が設定される。

##### ① AAOEL 設定に利用する試験成績・毒性影響について

ARfD の設定根拠とされた試験における毒性影響が、経口曝露特有の影響でないことを確認する。

AAOEL の設定に用いることが適当なエンドポイント（毒性指標を設定するための根拠となる評価項目）の例は以下の通り。

- ・明確な発生毒性（奇形など）
- ・臨床における毒性徴候
- ・肝臓以外の臓器及び血液への影響

逆に、ARfD 設定の根拠となるが、AAOEL に設定には不適切なエンドポイントの例は以下の通り。

- ・被験物質の刺激性による食餌量の低下及び体重の減少
- ・消化器官への影響による嘔吐や下痢
- ・肝臓への影響（経口吸収された化学物質は体内循環前に肝臓を通過するが、経皮及び吸入により体内に吸収された化学物質は肝臓に直接到達しない）

<sup>c)</sup> Acute Reference Dose (ARfD)

急性参照用量（ヒトがある物質を 24 時間又はそれより短時間に摂取しても、現在の科学的知見からみて健康への悪影響がないと推定される摂取量）<sup>6)</sup>

<sup>d)</sup> 毒性指標（エンドポイント）

有害影響を評価するための指標となる、観察又は測定可能な生物学的事象。<sup>6)</sup>

## ② 具体的な AAOEL の設定

AAOEL 設定の考え方は、急性曝露に関する結果に基づくという点を除き基本的に AOEL を設定する場合と同じ。無毒性量 (No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) <sup>e</sup>) に安全係数 100 (必要に応じて追加) を適用し、さらに、必要と判断される場合は経口吸収率で補正する。

## 2.2. エンドポイントに関するレポート

これまでに欧州で実施された健康影響評価については、海外の機関でも調査・分析が行われている。本調査の参考とするため、2013 年に英国健康安全局 (Health and safety executive; HSE) にて実施された調査のレポートを入手した<sup>4)</sup>。このレポートは、欧州で実施された農薬有効成分の健康影響評価に係る基準値の設定状況について調査したものである。HSE は 2012 年 12 月 1 日時点で EFSA ウェブサイトにおいて公表されている 224 有効成分について評価書を収集し、一日摂取許容量 (Acceptable Daily Intake (ADI) <sup>f</sup>)、ARfD 及び AOEL について、その根拠となった試験成績、エンドポイント、安全係数等について分析した。レポート公表当時は急性の農薬使用者曝露によるリスク評価はまだ導入されてはいなかったことから、AAOEL については調査されていなかったが、将来的に設定予定の AAOEL の設定根拠として ARfD と同様の数値を採用することが妥当か否かについて考察されている。

分析の結果によると、ARfD 設定において、33 有効成分で消化器官への影響 (食餌量の低下による体重減少などを含む) が、また、4 有効成分で局所的な刺激による影響がエンドポイントとされていた。これらの毒性所見は、全身性の影響ではなく、被験物質の経口摂取による局所的な影響によるものである可能性もある。筆者らは、使用者の農薬曝露の主な経路は皮膚あるいは吸入であることを考慮すると、ARfD と同じ毒性影響に基づいて AAOEL を評価することが適切ではない場合があると結論し、個々の有効成分の AAOEL 設定の際には専門家による判断が必要であると述べた。

## 3. 調査対象

本調査においては、2016 年 1 月から 2018 年 12 月までに EFSA ウェブサイトにて評価書が公表された有効成分を対象とした<sup>5)</sup>。調査対象の有効成分のうち、AAOEL について審議されていないもの (データ不足が理由で最終評価結果が出ていないもの、AAOEL の考え方が導入される以前から継続して審議されていたもの等) を除いた 58 有効成分 (2016 年: 13 有効成分、2017 年: 18 有効成分、2018 年: 27 有効成分) について評価結果を分析した。

## 4. 調査結果

58 有効成分のうち、18 有効成分は AAOEL が設定されなかった。この 18 有効成分のうち 17 有効成分は ARfD 及び AAOEL とともに設定不要とされ、1 有効成分は、ARfD は設定されたが、使用方法が種子消毒の製剤であったため、AAOEL は設定されなかった。残りの 40 有効成分のうち、23 有効成分は ARfD と AAOEL は同じ値が設定された。経口吸収率が低い 17 有効成分は、経口吸収率を用いて補正した値が AAOEL として採用されていた (図 3) (表)。この補正に用いられた経口吸収率は、ADI の値を AOEL に適用するために用いられる値と同様であった。

安全係数については、最小毒性量 (Lowest Observed Adverse Effect Level (LOAEL) <sup>g</sup>) を根拠とする場合や毒性所見が重篤と判断されたものについては、通常的安全係数 100 に加えて追加の係数 (2 あるいは 3) が用いられていた。ただし、この安全係数は ARfD 設定のために用いられているものと同じ数値であり、AAOEL 設定のための特別な係数が採用されているものはなかった。

<sup>e</sup> No Observed Adverse Effect Level (NOAEL)

無毒性量 (ある物質について何段階かの異なる投与量を用いて毒性試験を行ったとき、有害影響が認められなかった最大の投与量)

<sup>f</sup> Acceptable Daily Intake (ADI)

一日摂取許容量 (ヒトがある物質を毎日一生涯にわたって摂取し続けても、現在の科学的知見からみて健康への悪影響がないと推定される一日当たりの摂取量) <sup>6)</sup>

<sup>g</sup> Lowest Observed Adverse Effect Level (LOAEL)

最小毒性量 (ある物質について何段階かの異なる投与量を用いて毒性試験を行ったとき、有害影響が認められた最小の投与量) <sup>6)</sup>

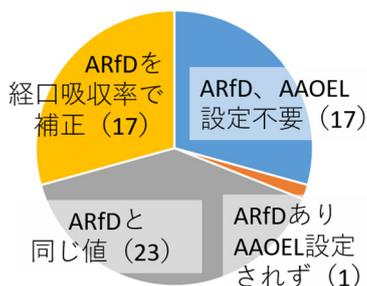


図3. 評価書を収集した58有効成分のAAOEL評価状況。括弧内の数字は有効成分の数を示す。

表. 今回調査した有効成分と分類  
国内登録のある有効成分に下線

分類	有効成分名	数
AAOEL設定不要 (ARfDも設定不要)	安息香酸, エトフメセート, <u>カルフェントラゾンエチル</u> , <u>シアゾファミド</u> , <u>プロボキシカルバゾン</u> , <u>マレイン酸ヒドラジド</u> , <u>メゾスルフロン</u> , <u>エトキサゾール</u> , <u>オキサスルフロン</u> , <u>ゾキサミド</u> , <u>カルボン</u> , <u>銅化合物</u> , <u>トリネキサパック</u> , <u>ホセチル</u> , <u>フロルピラウキシフェンベンジル</u> , <u>炭酸水素ナトリウム</u> , <u>ラミナラン</u>	17
AAOEL設定不要 (ARfDは設定)	シルチオフアム	1
AAOEL設定 (ARfDと同じ値)	<u>アセタミプリド</u> , <u>フラザスルフロン</u> , <u>プロピザミド</u> , <u>イマズスルフロン</u> , <u>クロルプロファム (IPC)</u> , <u>チラム</u> , <u>デスメディファム</u> , <u>ペトキサミド</u> , <u>ホルクロルフェニューロン</u> , <u>メコプロップP</u> , <u>メパニピリム</u> , <u>1-メチルシクロプロベン (1-MCP)</u> , <u>メフェントリフルコナゾール</u> , <u>シフルトリン</u> , <u>プロモキシニル</u> , <u>クロピラリド</u> , <u>トルクロホスメチル</u> , <u>デスメディファム</u> , <u>ジメテナミドP</u> , <u>ジクロルプロップP</u> , <u>フルミオキサジン</u> , <u>メチオカルブ</u> , <u>プロパニル</u>	23
AAOEL設定	<u>イブロジオン</u> , <u>プロピネズ</u> , <u>イ</u>	17

定 (ARfDを補正)	ソキサフルトール, <u>トリフロキシストロビン</u> , <u>トリベヌロンメチル</u> , <u>ビフェナゼート</u> , <u>メトキシフェノジド</u> , <u>アルファ-シペルメトリン</u> , <u>クロロタロニル (TPN)</u> , <u>クロジナホップ</u> , <u>シペルメトリン</u> , <u>インドキサカルブ</u> , <u>フェンピコキサミド</u> , <u>スピノサド</u> , <u>リムスルフロン</u> , <u>ナプロバミド-M</u> , <u>イソキサフルトール</u>
-------------	--

それぞれの区分に分類された有効成分の評価具体例を下記に示す。

○ ARfD, AAOEL ともに設定不要 (17 有効成分)

例) ホセチル (Fosetyl, 2007 年登録, 2018 年再評価)  
専門家会合にて, ARfD 及び AAOEL ともに設定不要と評価された。

○ ARfD は設定されたが, AAOEL は設定不要 (1 有効成分)

例) シルチオフアム (Silthiofam, 2018 年登録)  
申請農薬は種子処理 (Seed treatment) のみ。農薬使用者の推定曝露量の AOEL に対する占有率は, 防護装備なしのとき 205.23 %, グローブのみ着用したとき 62.37 %と推定された。  
専門家会合における具体的な検討内容は明らかとされていないが, 「代表的使用方法より判断し, 設定不要」との記載あり。

○ ARfD と AAOEL が同じ値 (23 有効成分)

例) トルクロホスメチル (Tolclofos-methyl, 2019 年登録)

ARfD, AAOEL ともに 0.14mg/kg が設定された。設定根拠試験はマウスの短期毒性試験 (NOAEL : 13.8 mg/kg/day, 曝露経路: 経口, エンドポイント: 投与開始後 14 日に見られたコリンエステラーゼ活性阻害, 安全係数: 100)。経口吸収率がラット及びマウスで 90%以上であったことから, 経口吸収率による補正は不要とされた。

○ ARfD を経口吸収率で補正した値を AAOEL に採用 (17 有効成分)

例) ビフェナゼート (Bifenazate, 2005 年登録, 2016 年再評価)

ARfD はラットの発生毒性試験成績 (NOAEL : 10 mg/kg/day, 曝露経路: 経口, エンドポイント: 投与初期に見られた体重増加抑制, 安全係数: 100) から, 0.1

mg/kg が設定された。AAOEL は、ARfD を経口吸収率 36% (ラット, 単回経口投与 (10 mg/kg)) で補正し, 0.036 mg/kg が設定された。

本調査より, EU における急性農薬使用者曝露評価について, AAOEL を設定するか否か, また, どの試験成績を根拠とするかは ARfD 設定基準に準じていることが明らかになった。

## 5. まとめ

本調査により, 以下の点が明らかになった。

- ・AAOEL 設定にあたっては, 基本的には ARfD 設定根拠となった NOAEL が用いられていた。必要に応じて経口吸収率 (AOEL 設定に用いられた経口吸収率と同じ) で補正された数値が採用されており, 農薬使用者に対する特別な安全係数や経口吸収率が採用されている有効成分はなかった。

- ・AAOEL 設定に関するガイダンス補足文書によると, 推定曝露量を ADI あるいは ARfD と比較して AAOEL 設定の要/不要を判断することも可能とあったが, 実際の評価書では実施されていなかった。

- ・種子処理のみに適用がある製剤に含まれる有効成分について, AAOEL が設定されていなかった例があった。推定曝露量と防護装備を考慮し, 専門家の判断により決定されたものと推測される。

- ・農薬使用者への曝露経路は主に吸入及び経皮であることから, 経口毒性試験成績から得られた NOAEL のみを根拠として AAOEL を設定することが適切であるかどうか, 試験成績を精査して判断することが重要である。

## 引用文献

1) Guidance on the assessment of exposure of operators,

workers, residents and bystanders in risk assessment for plant protection products, EFSA Journal 2014;12(10):3874  
<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2014.3874>

2) 工藤幹子, 大森正和: EU における農薬使用者に対する曝露評価手法の調査  
[https://www.acis.famic.go.jp/acis/chouken/chouken/ronbun04\\_2015.pdf](https://www.acis.famic.go.jp/acis/chouken/chouken/ronbun04_2015.pdf)

3) COMMISSION GUIDANCE DOCUMENT, SANTE-10832-2015 rev. 1.7, 24 January 2017  
[https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides\\_ppp\\_app-proc\\_guide\\_tox\\_accept-exp-levs-2015.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_ppp_app-proc_guide_tox_accept-exp-levs-2015.pdf)

4) Investigation of the state of the art on identification of appropriate reference points for the derivation of health-based guidance values (ADI, AOEL and AAOEL) for pesticides and on the derivation of uncertainty factors to be used in human risk assessment doi: 10.2903/sp.efsa.2013.EN-413  
<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/sp.efsa.2013.EN-413>

5) EFSA の評価書は下記ウェブサイトより入手可能  
<https://www.efsa.europa.eu/en/publications>

6) 残留農薬に関する食品健康影響評価指針. 2019 年 10 月. 食品安全委員会  
[https://www.fsc.go.jp/hyouka/index.data/R20616\\_zanryuno\\_yakushishin.pdf](https://www.fsc.go.jp/hyouka/index.data/R20616_zanryuno_yakushishin.pdf)

(全 URL のリンクについての確認は, 2020 年 10 月 5 日に実施)



# 日本における農薬の散布液量実態調査

神谷昌希, 藤田智紀, 佐々木千潮

独)農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

我が国で、新たに導入する農薬使用者の暴露量の評価、蜜蜂への影響評価及び作物残留評価(後作物残留を含む)について、より精密な評価を行うにあたり、農薬の単位面積当たりの投下量が重要なファクターとなる。そのため、作物毎に必要な散布液量及び散布液量の変動要因を把握するための調査を行った。その結果、草丈が高い作物あるいは葉数の多い作物ほど、必要な散布液量が多くなり、散布条件により農薬登録上の使用液量の上限を超える可能性が考えられた。

**Keywords:** 農薬, 農薬登録, 薬効, 散布液量, 使用液量, 作物残留試験, バラツキ, 感水紙

## 結 言

我が国において、作物に直接処理する薬剤の一般的な使用液量は、農薬登録上野菜類に含まれる作物では100~300 L/10a, 果樹類では200~700 L/10aとしている。このような範囲が設定されているのは、作物の生育ステージにより使用する散布液量の変動するためである。しかし、野菜類に含まれる作物であっても作型や植栽密度によって必要な散布液量は異なると考えられる。このため、幾つかの作物において必要な散布液量、散布液量の変動する要因を調査した。

## 材料および方法

調査は2通りの方法で行った。実際に作物に水を散布して、散布液量を調査する方法(実散布液量調査)と登録申請時に提出された薬効・薬害試験成績及び作物残留(作残)試験成績における散布液量を調査する方法(申請時に提出された試験成績の調査)とした。

### 1. 実散布液量調査

農薬検査部ほ場において、きゅうり、なす、オクラを対象に、複数の散布者により、個々が十分量と考える水量を散布し、その際の散布液量の調査を行った。各散布者の散布ムラによる散布液量への影響を確認するために、感水紙(スプレーイングシステムスジャパン合同会社, 東京)を用いて薬液付着斑の被覆面積

率を求めた。

### 1.1. 供試作物

きゅうり (品種: VR 夏すずみ, タキイ種苗株式会社) は2019年4月9日に育苗ポット(9 cm 径)には種し、5月7日に1畝当たり14株、3畝に定植した。なす (品種: とげなし千両二号, タキイ種苗株式会社) は2019年4月2日に育苗ポット(9 cm 径)には種し、6月4日に1畝当たり15株、3畝に定植した。オクラ (品種: アーリーファイブ, タキイ種苗株式会社) は2019年7月9日に1畝当たり32株、3畝には種した。

### 1.2. 試験区

きゅうりは、40.9 m<sup>2</sup>(長さ11.2 m×幅3.7 m)、なすは35.1 m<sup>2</sup>(長さ9.0 m×幅3.9 m)、オクラは42.4 m<sup>2</sup>(10.6 m×4.0 m)とした(いずれも3畝)。

#### 1.2.1. 感水紙の設置

畝毎及び作物の高低差による散布ムラを確認する目的で試験区内に感水紙を設置した。各作物の感水紙の設置は以下のとおり行った。

#### 1.2.2. きゅうりの試験設計

1畝14株に対して、任意の3か所を選定した。次に、抽出した株の最上部(180 cm)、高さ2/3(120 cm)と1/3(60 cm)の位置に感水紙を設置した(図1)。

畝Ⅰ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
畝Ⅱ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
畝Ⅲ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

図1. きゅうりの試験区の感水紙の位置

※各数字は株を表す

※丸で囲んだ数字の株に感水紙を配置

### 1.2.3. なすの試験設計

1畝15株に対して、任意の3か所を選定した。次に、抽出した株の最上部(120cm)、高さ1/2(60cm)の位置に感水紙を設置した(図2)。

畝Ⅰ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
畝Ⅱ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
畝Ⅲ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15

図2. なすの試験区の感水紙の位置

※各数字は株を表す

※丸で囲んだ数字の株に感水紙を配置

### 1.2.4. オクラの試験設計

1畝32株に対して、任意の3か所を選定した。次に、抽出した株の最上部(120cm)、高さ1/2(60cm)の位置に感水紙を設置した(図3)。

畝Ⅰ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
畝Ⅱ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
畝Ⅲ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32

図3. オクラの試験区の感水紙の位置

※各数字は株を表す

※丸で囲んだ数字の株に感水紙を配置

### 1.3. 散布壁面積

散布液量は作物の草丈により変動する。1畝の作物を壁と見なし、畝の長さとして作物の高さから面積を算出し、散布壁面積とした。

### 1.4. 作物の散布壁面積当たりの葉数

散布時の葉数も散布液量に影響すると考えられることから、供試作物ごとに葉数を計測した。散布壁面積当たりの葉数は、1畝に散布壁が2面あるため、3畝の葉数の合計を2で割ったものを散布壁面積で除算し、算出した。

## 1.5. 散布方法

### 1.5.1. 散布日時と作物の生育ステージ

きゅうりへの散布は6月26日に3人(散布者:A, B, D), 6月27日に1人(散布者:C), 7月18日に1人(散布者:E)の合計5人で、なすへの散布は7月30日に4人(散布者:A, B, C, E), 8月1日に1人(散布者:D)の合計5人, オクラには9月12日に4人(散布者:B, C, D, E)で散布を行った。散布時点の作物の生育ステージは表1のとおりであった。

表1. 各作物の散布日と生育ステージ

作物	散布日	生育ステージ
きゅうり	2019年6月26日	収穫初期
きゅうり	2019年6月27日	収穫初期
きゅうり	2019年7月18日	収穫終期
なす	2019年7月30日	収穫盛期
なす	2019年8月1日	収穫盛期
オクラ	2019年9月12日	収穫盛期

### 1.6. 散布器具の調整

散布器はMUS153D(株式会社マキタ, 愛知)を用いた。散布ノズル(丸3頭口(換板式), 永田製作所, 大阪)からの吐出量のバラツキを抑えるため、ノズルにかかる圧力を0.3MPaにした。さらにノズルから60秒間に吐出される液量(重量)を測定し、吐出量のバラツキを確認した。測定は3反復とした。60秒あたりの吐出量は510.0mL~560.0mLだった。各調査日毎に顕著な吐出量のバラツキはみられず、均一な散布が可能であると考えられた。

### 1.7. 散布液の調製

散布液は、水道水に展着剤(三井化学アグロ株式会社, グラミンS(登録番号第10972号), 東京)を10L当たり1mLの割合で加用したものを使用した。

### 1.8. 作物への散布及び栽培面積当たりの散布液量の計算

各散布者が十分量と考える水量を、葉の表裏及び高低で均一に散布液がかかるよう散布した。散布器に5L(5kg)の散布液を注入した。1畝散布終了後に散布器の残液の重量を計測した。散布前の重量から散布後の重量を差し引いた値を1畝の散布液量とした。その後3畝の合計散布液量を10aに換算して、10a当たりの散布液量とした。栽培面積は畝長と畝幅を乗算した値とし、畝間の面積は含めず算出した。

### 1.9. 散布壁面積当たりの散布液量の計算

各畝の実散布液量を散布壁面積で除算し、散布壁単位面積当たりの散布液量を求めた。

### 1.10. 感水紙の被覆面積率の計算

試験区から回収した感水紙を、スキャナー(RICOH imagio MP C3302 RPCS, 株式会社リコー, 東京)によりイメージ画像として取り込み、専用の解析ソフトウェア(「感水紙被覆面積率算出ソフトウェア」(窪田ら, 2010; 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター公開))で、感水紙の薬液付着液斑の被覆面積率を測定した。被覆面積率の畝毎の標準偏差, 高さ毎の標準偏差に基づき散布ムラを評価した。

### 1.11. 統計解析

統計ソフト R (Ver. 3.4.4, R core Team, 2018) を用いて解析を行った。散布壁面積当たり葉数と散布壁面積当たり散布液量について、Shapiro-Wilk 検定によりデータの正規性について検討した。この結果、データは正規分布しているとは言えなかったため、Spearman の順位相関係数を用いて散布壁面積当たり葉数と散布壁面積当たり散布液量との相関関係を評価した。

## 2. 申請時に提出された試験成績の調査

### 2.1. 薬効・薬害試験成績の調査

生育期～収穫期に茎葉散布が行われている薬効・薬害試験について情報収集した。きゅうり及びなすは平成 25 年度から平成 29 年度に実施された試験、オクラは平成 21 年度から平成 29 年度に実施された試験を対象とした。

### 2.2. 作物残留試験成績の調査

きゅうり, なす及びオクラの各作物で茎葉散布が行われている作物残留試験について調査した。昭和 59 年度から平成 29 年度に実施された試験を対象とした。

## 結果および考察

### 1. 実散布液量調査

#### 1.1. 栽培面積当たりの散布液量

実散布液量 (平均±標準偏差) はきゅうり (散布者: 5 人) では  $4.8 \pm 0.7$  L/畝, なす (散布者: 5 人) では  $3.7 \pm 0.9$  L/畝, オクラ (散布者: 4 人) では  $2.7 \pm 0.6$  L/畝となった (データ省略)。10 a 当たり換算ではきゅうりでは 5 人の平均が 349.8 L/10a となり, 登録上の使用液量の最大値 (300 L/10a) を超えた(図 4-1)。5 人のうち最大の散布液量は, 414.6 L/10a, 最小の散布液量は, 284.7 L/10a であり, 100 L/10a 以上の差が見られた。なすでは, 5 人の平均が 314.6 L/10a となり, こちらも登録上の使用液量の最大値を超えた (図 4-2)。5 人のう

ち最大の散布液量は, 386.8 L/10a, 最小の散布液量は, 213.5 L/10a であり, 150 L/10a 以上の差が見られた。オクラでは, 4 人の平均が 192.8 L/10a となり, 登録上の使用液量の範囲内であった (図 4-3)。4 人のうち最大の散布液量は, 244.0 L/10a, 最小の散布液量は, 160.1 L/10a であり, 80 L/10a 程度の差が見られた。

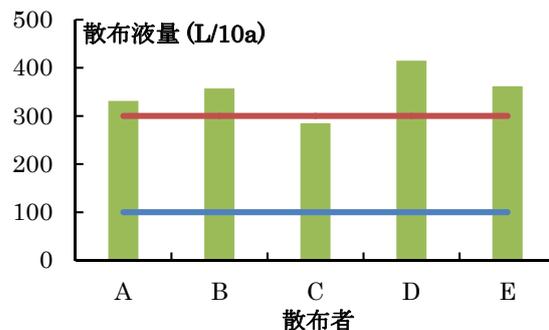


図 4-1. きゅうりの栽培面積に対する散布液量

6 月 26 日散布者: A, B, D, 6 月 27 日散布者: C, 7 月 18 日散布者: E. 上部の線は 300 L/10a, 下部の線は 100 L/10a を表す。

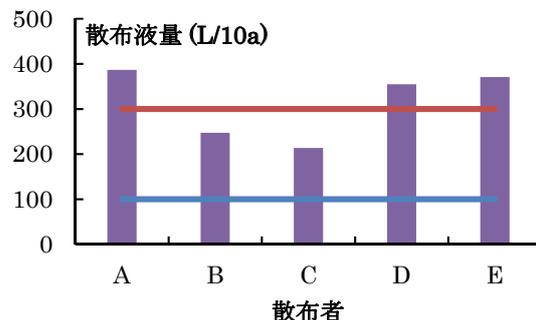


図 4-2. なすの栽培面積に対する散布液量

7 月 30 日散布: A, B, C, E, 8 月 1 日散布: D. 上部の線は 300 L/10a, 下部の線は 100 L/10a を表す。

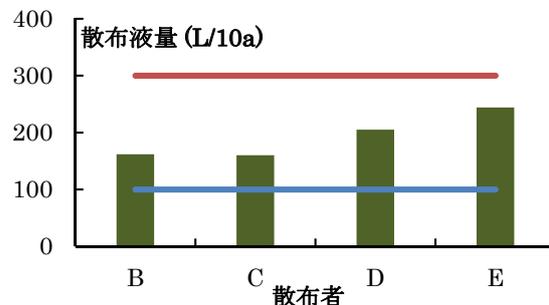


図 4-3. オクラの栽培面積に対する散布液量

9 月 12 日散布: B, C, D, E. 上部の線は 300 L/10a, 下部の線は 100 L/10a を表す。

## 1.2. 散布壁面積当たり散布液量

供試した作物は立体的に展開するため、散布壁面積に対する散布液量を算出した。その結果、きゅうりでは、散布壁面積 121.0 m<sup>2</sup> に対して 236.5 mL/m<sup>2</sup> (散布壁面積当たりの葉数: 21.1 枚/m<sup>2</sup>~23.3 枚/m<sup>2</sup>)、なすでは、散布壁面積 64.8 m<sup>2</sup> に対して 340.8 mL/m<sup>2</sup> (散布壁面積当たりの葉数: 58.0 枚/m<sup>2</sup>)、オクラでは散布壁面積 76.3 m<sup>2</sup> に対して 214.2 mL/m<sup>2</sup> (散布壁面積当たりの葉数: 8.9 枚/m<sup>2</sup>) であり、散布壁面積当たりの葉数が多い作物ほど、散布壁当たりの散布液量が多くなる傾向が見られた (図 5,  $r=0.62, p<0.05$ )。このことから、葉の密度は散布液量に影響を与える要因であると考えられた。

表 2-1. 散布時のきゅうり散布壁面積当たり葉数と散布壁面積当たりの散布液量 (3 畝の平均)

散布者	散布壁面積当たり葉数 <sup>※</sup>	散布液量/散布壁
A	21.1 枚/m <sup>2</sup>	223.8 mL/m <sup>2</sup>
B	21.1 枚/m <sup>2</sup>	241.3 mL/m <sup>2</sup>
C	21.1 枚/m <sup>2</sup>	192.5 mL/m <sup>2</sup>
D	21.1 枚/m <sup>2</sup>	280.3 mL/m <sup>2</sup>
E	23.3 枚/m <sup>2</sup>	244.5 mL/m <sup>2</sup>
平均		236.5 mL/m <sup>2</sup>
標準偏差		35.8
変動係数		1.5%

散布壁面積は 121.0 m<sup>2</sup>

※3 畝の合計葉数÷2÷散布壁面積

表 2-2. 散布時のなすの散布壁面積当たり葉数と散布壁面積当たりの散布液量 (3 畝の平均)

散布者	散布壁面積当たり葉数 <sup>※</sup>	散布液量/散布壁
A	58.0 枚/m <sup>2</sup>	419.0 mL/m <sup>2</sup>
B	58.0 枚/m <sup>2</sup>	267.9 mL/m <sup>2</sup>
C	58.0 枚/m <sup>2</sup>	231.3 mL/m <sup>2</sup>
D	58.0 枚/m <sup>2</sup>	384.3 mL/m <sup>2</sup>
E	58.0 枚/m <sup>2</sup>	401.7 mL/m <sup>2</sup>
平均		340.8 mL/m <sup>2</sup>
標準偏差		79.9
変動係数		2.3%

散布壁面積は 64.8 m<sup>2</sup>

※3 畝の合計葉数÷2÷散布壁面積

表 2-3. 散布時のオクラの散布壁面積当たり葉数と散布壁面積当たりの散布液量 (3 畝の平均)

散布者	散布壁面積当たり葉数 <sup>※</sup>	散布液量/散布壁
B	8.9 枚/m <sup>2</sup>	179.9 mL/m <sup>2</sup>
C	8.9 枚/m <sup>2</sup>	177.9 mL/m <sup>2</sup>
D	8.9 枚/m <sup>2</sup>	227.7 mL/m <sup>2</sup>
E	8.9 枚/m <sup>2</sup>	271.1 mL/m <sup>2</sup>
平均		214.2 mL/m <sup>2</sup>
標準偏差		44.2
変動係数		2.1%

散布壁面積は 76.3 m<sup>2</sup>

※3 畝の合計葉数÷2÷散布壁面積

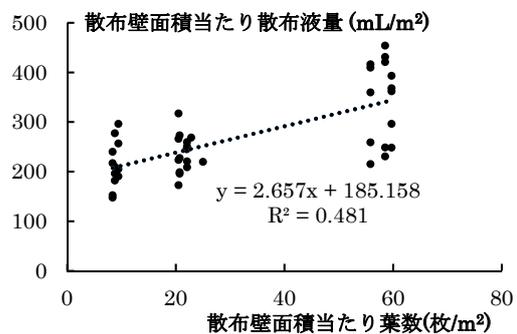


図 5. 散布壁面積当たり葉数に対する散布壁面積当たり散布液量

## 1.3. 散布ムラ及び散布者間のバラツキ

感水紙の葉液付着液斑の被覆面積率を測定した結果、きゅうりでは、畝毎の散布ムラ及び高低差による散布ムラともに、比較的大きくなった (表 3-1)。これは草丈が高く仕立てられたことから、上部への散布が難しくなったことが影響しているものと考えられた。なすでは高低差による散布ムラより、畝毎の散布ムラの方が大きくなった (表 3-2)。これは葉が多く、かつ横に広く展開していることから、より奥にまで散布しようとする意識が働き、散布ノズルを垂直方向に加え、水平方向に動かすことが原因と考えられた。一方オクラでは、きゅうり、なすに比べて高低差による散布ムラ及び畝毎の散布ムラは小さかった (表 3-3)。オクラは、きゅうりよりも草丈が低く、きゅうり及びなすよりも葉数が少ないことから、より一定のリズムで散布できたことが要因であると考えられた。

散布者間のバラツキについては、各散布者の被覆面積率の平均値から変動計数を算出した。その結果、きゅうりでは 12.7%、なすでは 6.9%、オクラでは 2.7%であった (表 3-1 から表 3-3)。草丈が低く、葉数の少ない、すなわち構造が単純な作物ほど散布者間のバラツキが少なくなるものと推察された。

表 3-1. きゅうりにおける感水紙の被覆面積率

散布者	被覆面積率の 平均値	畝毎の 標準偏差	高低差の 標準偏差
A	81.5%	0.6	8.9
B	68.1%	3.3	21.0
C	77.1%	15.6	9.1
D	91.9%	2.9	11.1
E	98.0%	1.7	2.3
平均	83.3%	-	-
標準偏差	10.6	-	-
変動計数	12.7%	-	-

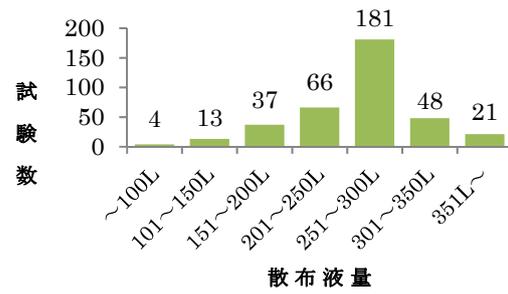


図 6. きゅうりの散布液量の分布（薬効・薬害試験、表中の数字は試験数を表す）

表 3-2. なすにおける感水紙の被覆面積率

散布者	被覆面積率の 平均値	畝毎の 標準偏差	高低差の 標準偏差
A	81.4%	13.7	8.7
B	96.7%	3.9	0.0
C	89.2%	10.8	5.4
D	96.6%	1.4	3.3
E	84.8%	9.7	5.1
平均	89.7%	-	-
標準偏差	6.2	-	-
変動係数	6.9%	-	-

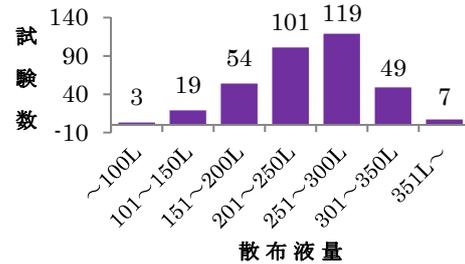


図 7. なすの散布液量の分布（薬効・薬害試験、表中の数字は試験数を表す）

表 3-3. オクラにおける感水紙の被覆面積率

散布者	被覆面積率の 平均値	畝毎の 標準偏差	高低差の 標準偏差
B	83.6%	12.5	12.1
C	82.1%	8.7	14.2
D	87.4%	9.1	12.6
E	81.8%	7.7	9.0
平均	83.7%	-	-
標準偏差	2.2	-	-
変動係数	2.7%	-	-

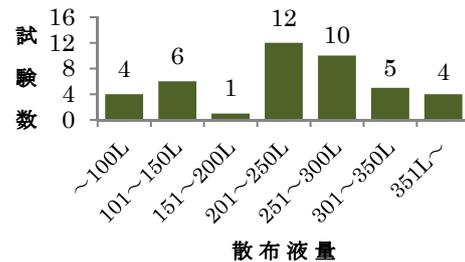


図 8. オクラの散布液量の分布（薬効・薬害試験、表中の数字は試験数を表す）

## 2. 申請時に提出された試験成績の調査

### 2.1. 薬効・薬害試験成績の調査

きゅうり、なす及びオクラの3作物について茎葉散布にて試験が行われている試験成績を対象に調査を行った。調査した試験数は、きゅうりが 370 試験、なすが 352 試験、オクラが 42 試験であった（図 6～8）。

調査した試験の散布時期は概ね収穫直前から収穫終期までとした。この結果、きゅうりにおける散布液量の最大値は 669 L/10a、最小値は 80 L/10a、平均で 276.7 L/10a であった。なすでは、最大値 610 L/10a、最小値 100 L/10a、平均 255.4 L/10a、オクラでは、最大値 370 L/10a、最小値 60 L/10a、平均 238.1 L/10a であった。

### 2.2. 作物残留試験成績の調査

きゅうり、なす及びオクラの3作物について茎葉散布にて試験が行われている試験成績を対象に調査を行った。調査した試験数は、きゅうりが 345 試験、なすが 315 試験、オクラが 43 試験であった（図 9～11）。

調査した試験の散布時期は概ね収穫直前から収穫終期までとした。きゅうりにおける散布液量の最大値は 530 L/10a、最小値は 150 L/10a、平均で 250.3 L/10a であった。なすでは、最大値 404 L/10a、最小値 100 L/10a、平均 236.7 L/10a、オクラでは、最大値 300 L/10a、最小値 150 L/10a、平均 224.1 L/10a であった。

### 2.3. 提出された試験成績に関する考察

薬効・薬害試験成績及び作物残留試験成績の調査結果から、草丈が高くなるきゅうりの方が、なすやオクラより散布液量は多くなる傾向が見られた。また、薬

効・葉害試験のほうが作物残留試験に比べ散布液量が多い傾向であった。これは、確実に効果を発揮させたいという散布者の意図が少なからず影響しているものと考えられた。

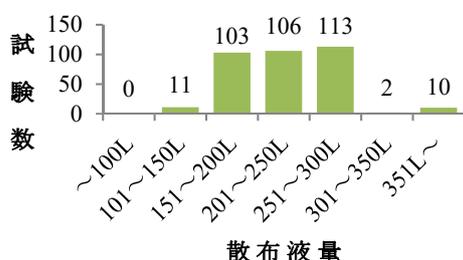


図9. きゅうりの散布液量の分布（作残試験、表中の数字は試験数を表す）

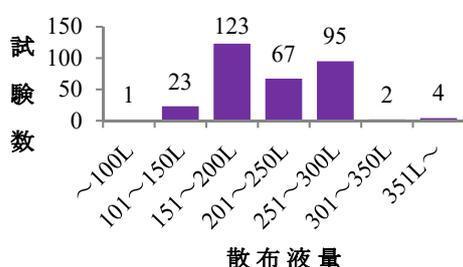


図10. なすの散布液量の分布（作残試験、表中の数字は試験数を表す）

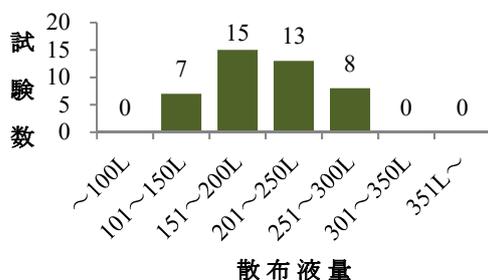


図11. オクラの散布液量の分布（作残試験、表中の数字は試験数を表す）

#### 2.4. 総合考察

今回の実散布液量調査及び申請時に提出された試験成績の調査結果から、収穫期のきゅうりやなすでは、必要な散布液量が、きゅうりやなすの登録上の使用液量の最大値である300 L/10aを超える事例が確認された。このため、必要な散布液量は、散布条件により農薬登録上の使用液量の上限を超える可能性が考えられた。しかし、散布器具の種類、散布ノズルの種類、散布時の圧力の違いも散布液量に影響すると考えられることから、これらの条件を変えることにより散布液量がどのように変動するか調査を行うこと

が望ましいと考えられた。

#### 参考文献

- 1) 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 東北農業研究センター 果樹研究所(2010)農薬の効率的散布技術マニュアル
- 2) 窪田陽介, 白井義彦, 林和信, 水上智道, 宮原義彦, 大里大, 中野和宏. 農業情報研究. 19, 16-22 (2010)
- 3) R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

# ミツバチの田面水を介した農薬暴露実態の解明

## —実態調査および調査手法の確立—

市原直登\*, 加藤貴央\*, 木村 穰\*, 石原 悟\*\*

\*独)農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

\*\*農林水産省 消費・安全局

水田におけるミツバチの水利用実態について野外調査を行った結果、巣箱近傍（半径 200 m 以内）でのみ水田から採水するミツバチが観察された。水田で採水しているミツバチは、土壌表面から染み出た水を好み、湛水状態の田面水から直接採水している個体は観察されなかった。また、水を介した蜂群への農薬の持ち込みや蜂群内での農薬の動態を調査する簡易的な手法の検討を行い、ミツバチへの給水方法としてメディウム瓶をテント内に吊り下げる手法が適していることを確認し、2 ヶ月程度閉鎖空間内で採水量をモニタリングしつつ蜂群を適切に維持できる飼育法を確立した。

Keywords : ミツバチ, 蜜蜂, ポリネーター, リスク評価, 田面水, 半野外試験

### 緒 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つの経路がある。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。そのため、経口暴露の主な暴露源は花粉・花蜜とされている。ミツバチの摂餌量と花粉・花蜜の残留農薬濃度から科学的根拠に基づく経口暴露量の推定が可能であり、リスク評価が行われている。

水も花粉・花蜜と同様にミツバチの蜂群の維持に必要であり<sup>1)</sup>、蜂蜜を幼虫に給餌するための希釈、ローヤルゼリーの生産、気化熱による巣箱内の温度調節など多様な目的で使用されている。外勤蜂の主な仕事は餌となる花粉や花蜜の採取であるが、一部の外勤蜂が、水集めを専門の仕事としていることが知られている<sup>2)</sup>。ミツバチの水利用に関しては一定の知見があるが、水を介した農薬暴露実態を定量的に示した知見は少ない。

評価の先行している欧米においても水を介した農薬のミツバチに対するリスク評価手法は完全には確立していない<sup>3),4)</sup>。しかしながら、日本の農地はおよそ半分が水田であり、農薬を施用した水田の水をミツバチが利用する可能性が高いため、田面水を介したミツバチに対する農薬暴露実態を把握・解明することは意義深い。また、暴露実態を反映した

水経由の農薬暴露についてリスク評価導入の要否を今後検討する必要がある。

本調査では、ミツバチの田面水を介した農薬暴露実態の解明を目的に、ミツバチの田面水利用実態の野外調査を行うとともに、蜂群内における水を介した農薬動態を調査する手法を検討した。

### 材料および方法

#### 1. 野外での採水状況調査

ミツバチの田面水利用実態を確認するため、埼玉県内の養蜂が行われている3地点で、巣箱から半径2 km の範囲内にある水田でミツバチの採水状況を調査した。調査日等を表1に示す。

表1. 各地点の野外調査日、水稻移植時期および調査時の気象条件

調査地点	調査日	水稻移植時期	調査時の気象条件 (上段: 天候, 下段: 最高/最低 気温 (°C))
A	2019年 5月24日	2019年 5月18日頃	晴 31.8/23.3
B	2019年 5月27日	2019年 5月18日頃	晴 36.2/18.3
C	2019年 6月11日	2019年 5月28日頃	曇/晴 24.3/15.3

それぞれの調査地点の半径2 km 圏内における水田が占める割合は、A および B で約 50%、C で約 5%だった。A および B では巣箱設置場所周辺は水田に囲まれており、C では巣箱の北西側約 50 m お

よび南側約 30 m に水田が位置していた。調査はいつでもミツバチの活動が活発な午前 9 時から午後 4 時に、水田の周囲を歩いて実施した。田面水の利用調査が目的であるため、調査は水田が湛水状態である水稲移植直後の 5 月から 6 月に実施した。

## 2. 蜂群内の水を介した農薬動態調査方法の検討

蜂群内での水を介した農薬動態の調査には、蜂群に持ち込まれる水量のモニタリングが必要である。しかし、ミツバチの行動範囲は巣箱を中心に半径 2.0 km から、場合によっては 6.5 km に及び<sup>5)6)</sup>、野外では様々な場所で採水していることが想定されるため、開放空間での調査は困難である。そこで、閉鎖空間での蜂群の飼育方法および給水方法について検討した。

なお、一般にミツバチは閉鎖空間を好まず、長期間閉鎖空間で飼育することは困難であるとされており<sup>4)</sup>、OECD が定める蜂群を用いた半野外試験<sup>7)</sup>においても、ミツバチに対するストレスから閉鎖空間内での試験期間は 10 日間以内に限定されている。

### 2.1. 閉鎖空間での飼育法の検討

供試生物は、花粉交配用のセイヨウミツバチ (*Apis mellifera* L.) 群 (巣板 4 枚群 (約 8000 頭)) を、2019 年 7 月 11 日に秋田屋本店 (岐阜県岐阜市) から購入し用いた。巣箱は購入後すぐに農薬検査部内敷地内に設置した簡易テント (FIELDOR 社製、製品名: スクリーンテント, 3.0 m × 3.0 m × 2.2 m (W × D × H)) 内に設置し、翌日巣門を開け飼育を開始した。餌として果糖ブドウ糖液糖 (Brix 糖度約 70 %, 製品名: はちまんま) および代用花粉 (製品名: ローヤルビー) を与えた。飼育は 2019 年 7 月 12 日から 9 月 10 日にかけて行った。飼育期間中は休日を除く毎朝巣箱外で確認された死虫数を計測した。また、定期的に巣箱内部を確認 (内検) し、巣板両面を写真撮影 (図 1) して生存成虫数を推定した巣板片面をミツバチが覆っている状態を 1000 頭と仮定



図 1. 生存成虫数推定に用いた写真の一例

して蜂群あたりの生存成虫総数を推定した。推定生存成虫数と死虫数から日ごとの死虫率を算出した。

### 2.2. 給水方法の検討

ミツバチが水場として好む給水方法の検討として 4 つの給水方法 (野外での採水状況を模した①足場として珪砂を敷き詰めたステンレス容器の地面への設置, ②足場として珪砂を敷き詰めたガラス容器の地面への設置, ③足場としてスポンジを浮かべたプラスチック容器の地面への設置, の 3 つの方法および玉川大学中村教授の助言による④脱脂綿で蓋をしたメディウム瓶を逆さにしてテント内に吊り下げる方法) を比較した (図 2)。

### 2.3. 採水量の調査

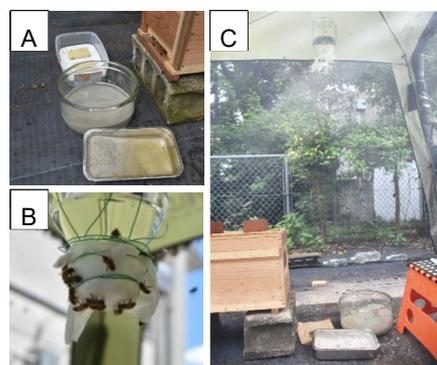


図 2. 検討に用いた給水器 (A: 手法①～③), B: 手法④, C: 全体

閉鎖空間内でミツバチが野外と同様に採水活動を行うことを確認するため、ミツバチが 1 回の採水行動で集める水の量を調査し、文献値と比較した。給水器の設置前後の蒸発量で補正した重量差から総採水量を求め、総採水量をミツバチが給水器に訪れる回数で除してミツバチが 1 回の採水行動で集める水の量を求めた。給水器からの蒸発量はミツバチが採水できないよう吸水口を網で覆った蒸発量測定用の容器を簡易テント内に設置して求めた。ミツバチが給水器に訪れる回数の総数は、午前・午後各 3 回給水器に訪れるミツバチ数を 15 分間観察し、15 分間の平均採水回数を給水器の設置時間で換算して推定した。給水器は毎日午前 9 時から午後 3 時の 6 時間設置した。調査は 2019 年 8 月 6 日から 8 月 12 日に行った。

## 結果および考察

### 1. 野外での採水状況調査

いずれの調査地点においても巣箱近傍 (半径 200



★：巣箱 緑格子：水田 オレンジ：水田以外 赤楕円：採水しているミツバチが確認できた場所

図3. 調査地点周辺の簡略図\*（左：調査地点B, 右：調査地点C）円は半径200m

(\*調査地点A周辺の土地利用はBと同様であり、ミツバチを確認した場所も類似していたため省略)



図4. 水田での採水行動の様子

m以内)の水田でのみ採水活動が観察された(図3)。エネルギー源とならない水を運ぶ働き蜂は、採水活動中に蜜の補給ができないことから、巣外で長い時間の活動ができず、巣箱近辺で採水することが知られている。本調査で巣箱近傍の水田でのみ採水活動が観察されたことは、これまでの知見を裏付ける結果であった。なお、水田で採水しているミツバチは、いずれも土壌表面から染み出た水を好んで採水しており、湛水状態の田面水から直接採水している

個体は確認されなかった(図4)。

## 2. 蜂群内の水を介した農薬動態調査方法の検討

### 2.1. 閉鎖空間内での蜂群の維持

巣箱内の農薬動態の調査を行うには、閉鎖空間内で一定期間蜂群を適切に維持する必要がある。一般的に飼養されているミツバチの日ごとの死虫率の中央値は13%程度<sup>8)</sup>とされていることから、本検討

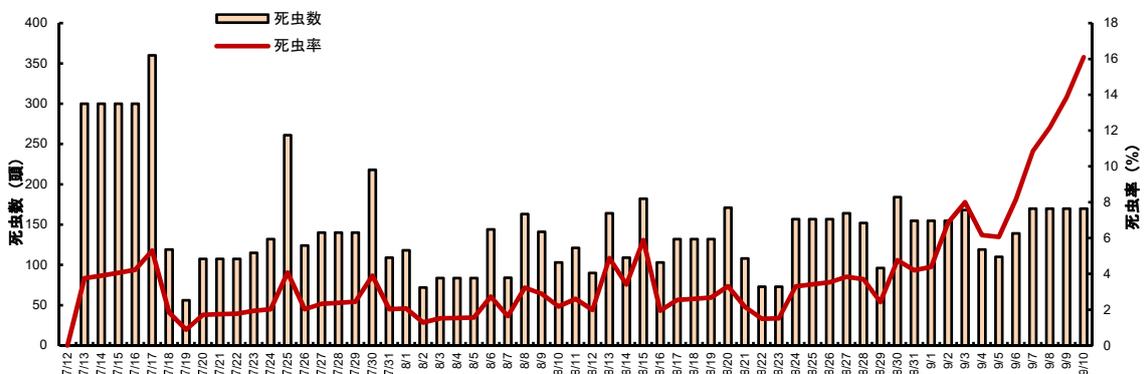


図5. 飼育期間中の死虫数と死虫率

では日ごとの死虫率が 10%を超えないことを適切な維持と判断する基準とし、閉鎖空間内での蜂群維持手法を検討した。

飼育期間中の日ごとの死虫率を図 5 に示す。飼育開始後数日間の死虫率は 10%より低かったが、死虫数が多く蜂群の状態は安定していなかった。試験開始時に死虫数が多くなる要因として、試験導入前の輸送中のストレスや環境の変化が考えられた。その後、2ヶ月程度は安定した飼育が可能であったが、9月に入り死虫率が上昇する傾向が認められ、死虫率が 10%を超えた。この原因としてミツバチヘギイタダニによる影響が考えられた。ミツバチヘギイタダニは雄蜂を好み、春から夏にかけては雄蜂に寄生しているが、秋になると雄蜂の生産が終わるため働き蜂へ寄生することが知られている<sup>9)</sup>。実際に、飼育終了時の働き蜂にミツバチヘギイタダニに寄生された成虫が多数確認された(図 6)。

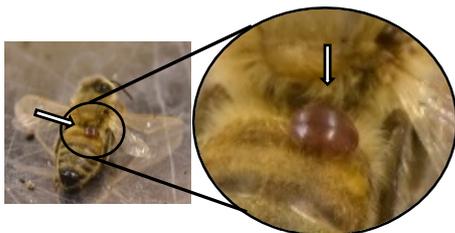


図 6. 働き蜂に寄生するミツバチヘギイタダニ (右は拡大写真)

飼育開始直後や飼育終了前を除いた期間では死虫率は 10%を超えず安定しており、今回の検討では 2ヶ月程度は閉鎖空間内でも蜂群の維持が可能であった。

## 2.2. 給水方法の検討

地面に給水器を配置する①～③の手法を、7月18日からの14日間、テント内に吊す④の手法を7月24日からの4日間検討した。その結果、①～③の手法では14日間で採水に訪れたミツバチは観察されなかった。一方、④の手法では設置翌日からミツバチの活発な採水行動が観察された。脱脂綿で蓋をしたメディウム瓶をテント内に吊り下げる手法が今回試した手法のなかで最も適していると考えられた。

## 2.3. 採水量の調査

2.2. で検討した給水器を吊り下げる手法でミツバチの採水量の調査を行った(図 7)。

7日間の総採水量、採水回数および1回当たりの採水量を図 8 に示す。晴天時に総採水量および採水



図 7. 採水量調査の様子 (左の容器は蒸発量測定用)

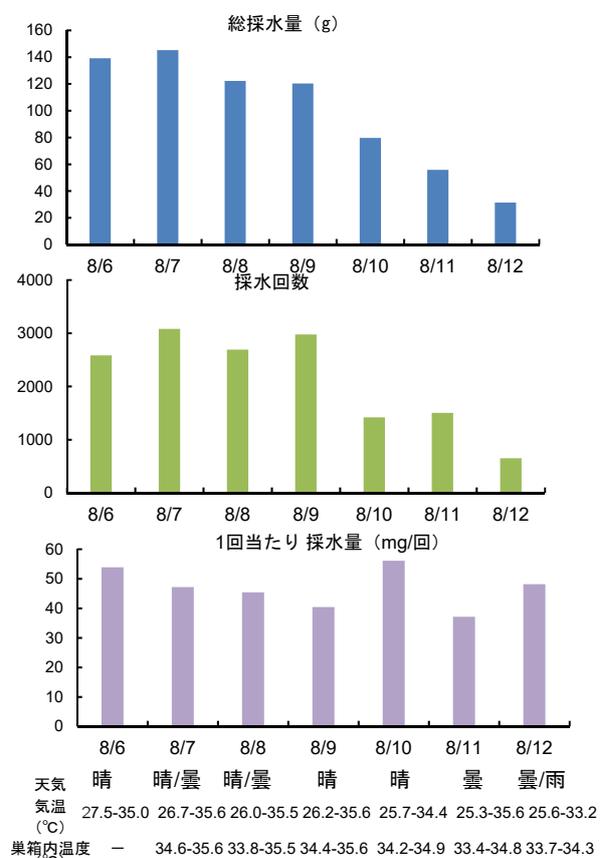


図 8. 総採水量 (上), 採水回数 (中), 1回当たりの採水量 (下)

回数が上昇する傾向は見られなかった。一般にミツバチは巣箱内、特に幼虫を育てる領域(蜂児域)の温度を 35°C前後に保つことが知られている。本調査でも、巣箱内温度が 35°Cを超えると採水回数が上昇する傾向が認められており、蜂児域の温度が採水のトリガーになっている可能性が考えられた(図 9)。1回当たりの採水量は 37-56 mg (平均値±SD: 47 ±6.3 mg) と日による変動は小さかった。本結果

は文献値<sup>10)</sup> (30–58 mg) と同等の結果であり、本飼育条件下において野外と同様に採水していることを確認した。

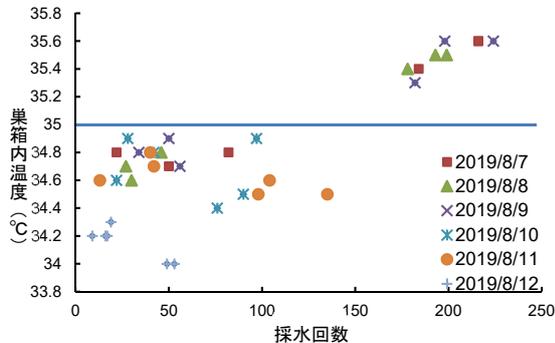


図9. 巣箱内温度と採水回数 (8月6日の巣箱内温度は未測定)

### まとめ

ミツバチの田面水利用状況を調査した結果、水田で採水する個体が巣箱にごく近い水田でのみ観察された。また、田面水を直接採水する個体は観察されず、土壌から染み出た水を好む傾向が認められた。

簡易テントを用いた閉鎖空間内でのミツバチ蜂群の飼育方法を検討した結果、2ヶ月程度蜂群を適切に維持することができた。閉鎖空間内において、ミツバチは地面に配置した給水器より巣箱上部に吊した給水器から好んで採水した。一般にミツバチを長期間閉鎖空間で飼育することは困難であるとされているが、本検討では、蜂群への給餌及び給水を適切に行えたことから、比較的長期間閉鎖空間内でのミツバチ蜂群を維持できたと考えられた。また、安定した蜂群の維持には、蜂群導入後に順化期間を設けること、ダニの発生を抑制することが重要と考えられた。

本結果を踏まえ、吊した給水器 (メディウム瓶) の重量測定をすることでミツバチの採水量をモニタリングしつつ、蜂群を適切に維持できる飼育法が確立できた。

### 謝 辞

本研究を進めるにあたり、野外調査にご協力いただいた埼玉県畜産会 金子氏、埼玉県養蜂協会 鈴木氏、間室氏、神田氏、埼玉県農業研究センター成田氏にこの場を借りて深く感謝の意を表します。

### 引用文献

- 1) Seeley, T.D.(1995): THE WISDOM OF THE HIVE. The Social Physiology of Honey Bee Colonies, HARVARD UNIVERSITY PRESS,
- 2) Robinson, G.E., et al.(1984): A highly specialized water-collecting honey bee, *Apidologie* 15:355-358
- 3) EFSA(2013): EFSA Guidance Document on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees).p60
- 4) U.S.EPA(2014): Guidance for Assessing Pesticide Risks to Bees.
- 5) 坂上昭一(1983): ミツバチの世界, 岩波新書, p.221
- 6) 佐々木正己(2003): 養蜂の科学, サイエンスハウス, p159
- 7) OECD(2007): GUIDANCE DOCUMENT ON THE HONEY BEE (*APIS MELLIFERA* L.) BROOD TEST UNDER SEMI-FIELD CONDITIONS.
- 8) EFSA(2013): EFSA Guidance Document on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees).p84
- 9) 木村 澄, 松山 茂, 中村 純, 浅田研一, 荻原麻理(2019): 養蜂技術指導手引書V 養蜂における衛生管理ダニ防除技術, 一般社団法人日本養蜂協会, p.10
- 10) Visscher, P.K. et al.(1996): How do honey bees (*Apis mellifera*) fuel their water foraging flights?, *Journal of Insect Physiology* 42:1089 - 1094



# 複数回収穫される農作物（にら）の残留性に関する調査研究

大島 雄<sup>\*\*</sup>，泉澤 努<sup>\*</sup>，中別府里緒<sup>\*</sup>，佐藤辰彦<sup>\*</sup>，横山武彦<sup>\*</sup>，光寄克敏<sup>\*\*</sup>，  
新井奈津子<sup>\*</sup>，池田淳一<sup>\*</sup>，伊藤和男<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup> 独)農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

<sup>\*\*</sup> 農林水産省消費・安全局

にら (*Allium tuberosum*) は、収穫により地上部を刈り取った際、残った根株から新たな茎葉が再生することで、同一株から複数回収穫することが出来る。本調査研究では、にらの茎葉に散布処理した農薬が、収穫後に再生する次作期の収穫物に残留するかどうか（キャリアオーバー）を明らかにすることを目的とし、同一の試験区から複数作期（第Ⅰ作期及び第Ⅱ作期）にかけて収穫を行う作物残留試験を実施した。供試農薬は、有効成分の化学構造の系統及び物理的・化学的性質の異なる4種類とし、散布液量に対する残留への影響を調べるため、散布液量の異なる2つの処理区及び無処理区を設定した。農薬の処理は第Ⅰ作期のみ行い、第Ⅰ作期の茎葉の収穫と同時に他の全ての株の地上部を刈り取り、その後再生した第Ⅱ作期の茎葉についても収穫した。収穫物の残留濃度を分析した結果、全ての供試農薬について、散布液量の違いに関わらず、第Ⅱ作期の収穫物の残留濃度は定量限界を超えなかった。

Keywords：にら，複数回収穫，キャリアオーバー

## 緒言

農薬取締法（昭和23年法律第82号）は、農薬の安全かつ適正な使用を確保するため、農林水産省令・環境省令において、農薬を使用する者が遵守すべき基準を定めなければならないと規定している<sup>1</sup>。その基準は「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）において定められており、食用及び飼料の用に供される農作物等に農薬を使用する際は、農作物等の生育期間中、農薬の容器等に表示された使用回数を超えて農薬を使用してはならないとしている<sup>2</sup>。農作物等の生育期間は、通常、農作物等の生産に用いた種苗のは種または植付けから当該農作物等の収穫に至るまでの間を指すが、果樹、茶、その他の複数回収穫される農作物等については、生育期間の開始時期を「その収穫の直前の収穫から」と定めている。すなわち、複数回収穫される農作物等については、収穫をもってそれまで使用した農薬の使用回数がリセットさ

れ、収穫後に新たな使用回数のカウントが始まる。

複数回収穫される農作物として典型的なのは、りんご、かんきつなどの果樹類であるが、葉菜類であるにら及び葉ねぎならびに茎野菜類であるアスパラガス等も複数回収穫される農作物として代表的である。例えばにらは、株元から3cm程度を残して茎葉を刈り取って収穫した後、残った根株からすぐに新たな葉が再生するため、生育に適した条件下であれば35～60日程度で再び収穫することができる。そのため、慣行的な栽培方法においては、年に5回前後収穫することができる<sup>3</sup>。

にらにおける農薬の使用回数は、茎葉を刈り取ってから、その後再生する茎葉を再び刈り取るまでの間をカウントする。生育期間中に使用し農作物に残留した農薬のうち、農作物の周辺土壌に残留し作物体に浸透移行した農薬や、残った根株に付着してから再生した茎葉まで移行した農薬は、使用回数のリセットを挟み次作の収穫物に残留（キャリアオーバー）することが考えられるが、

慣行散布区（150 L/10a程度）  
上限散布区（250 L/10a程度）

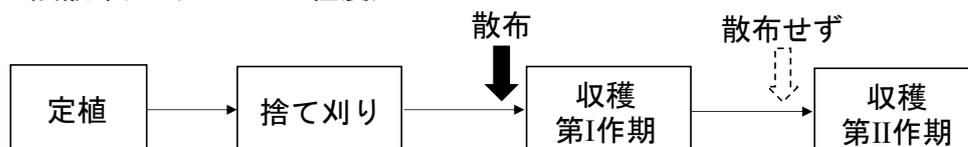


図1. 試験設計の概要

表 1. 選択した供試農薬の登録内容

農薬	使用時期	使用回数	使用方法	使用液量
農薬 1, 2, 3	収穫前日まで	3 回以内	散布	100~300 L/10a
農薬 4	収穫 14 日前まで	1 回	散布	100~300 L/10a

最終的な農薬残留に対する寄与のほとんどは、その収穫に向けた生育期間において使用する農薬であり、キャリアオーバーが次作の農薬残留に与える影響は小さい。一方で、には、独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC) が実施している「国内産農産物における農薬の使用状況及び残留状況調査」において基準値超過が複数報告されており (平成 19, 21, 22 及び 24 年度)、一部の事例 (22 及び 24 年度) では超過の原因が不明とされた<sup>4,5)</sup>。これらのキャリアオーバーが収穫物の残留に対して、実際にどの程度寄与しているのか知見を得ることで、今後これらの基準値超過事例が発生した際、栽培現場における原因究明の一助になると考えられた。

そこで本調査研究では、使用方法「散布」によって使用する農薬について、にはに対するキャリアオーバーの程度を明らかにするため、複数作期にかけて収穫を行う作物残留試験を実施した。試験にはビニールハウス栽培のにはを用いて、定植した年は収穫を行わず株を養成し、2 年目の収穫期開始時に、収穫に向けた茎葉の育成を行うために全ての茎葉を刈り取る作業を行った (捨て刈り)。捨て刈り後の株から再生する新たな茎葉に対して、登録の範囲内で最大の使用回数及び有効成分濃度、ならびに最短の収穫前日数となる条件 (cGAP) で散布処理を行い、茎葉を収穫した (第 I 作期)。収穫と同時に残りの株は全て捨て刈りし、根株から再生したにはは農薬を処理せず、そのまま収穫し、第 II 作期の試料として分析した (図 1)。第 I 作期と第 II 作期の残留濃度を比較することで、キャリアオーバーの程度を明らかにした。

なお、本研究では、キャリアオーバーに影響を与える要因として農薬の散布液量にも着目した。使用方法「散布」で登録されている農薬の散布液量は、作物全体に葉先から散布液が滴る程度散布するのが適量であり、登録されている散布液量の範囲内 (多くの野菜類は 100~300 L/10a で登録されている) で、圃場の栽植密度や作物体の大きさに合わせて、最適な散布液量で散布する必要がある。栽植密度や作物体の大きさに対して過剰な液量で散布した場合、作物体の表面に付着しきれず地面に落ちた散布液や、茎葉を伝って根株の上に落ちた散布液が、キャリアオーバーの要因となることが予想された。そのため、散布液量の違いによるキャリアオーバーへの影響についても調べた。

## 材料及び方法

### 1. 供試農薬

にはに登録を有し、使用方法「散布」が可能な有効成分の中から、化学構造の系統及びオクタノール/水分分配係数 ( $P_{ow}$ ) を始めとした物理的・化学的性質の異なる 4 種類を選択した。 $\log P_{ow}$  の値が小さいものから順に農薬 1, 2, 3, 4 とした。なお、農薬 3 については、2 種類の有効成分 3a 及び 3b の混合物である。各農薬の登録内容は表 1 に示した。

### 2. 栽培方法

試験場所は、東京都小平市に所在する FAMIC 農薬検査部のビニールハウス 1 棟 (全体面積 0.7a (5.4m×13m)) を用いた。平成 30 年 3 月 28 日に、にはの種子 (品種: スーパーグリーンベルト、購入元: 武蔵野種苗園) を、ハウス内に設置したセルトレイ及びハウス内の育苗用土壌に播種し、平成 30 年 6 月 8 日まで育苗した後、鉢上げした。その後、ハウス内に 10.5 m の畝を 3 畝立て、平成 30 年 7 月 24 日に、畝間 1 m、株間 30 cm の 2 条植えで合計 198 株のには苗を定植した。平成 30 年度は株の養成のための栽培期間とし、試験用の農薬の処理は行わなかった。令和元年 5 月 20 日に、古い葉を除去するために捨て刈りを行い、試験 (第 I 作期) の開始とした。

### 3. 処理及び収穫

ハウス内には、散布液量の異なる 2 つの処理区及び 1 つの無処理区を設けた (図 2)。2 つの処理区は、慣行栽培を想定した散布液量 (150 L/10a 程度: 慣行散布区) 及び登録の上限に近い散布液量 (250 L/10a 程度: 上限散布区) とした。散布液量以外の条件は同一とした。各区の面積は、慣行散布区及び上限散布区については各 9 m<sup>2</sup> (3 m×3 m) (各 60 株)、無処理区については 4.5 m<sup>2</sup> (1.5 m×3 m) (30 株) とし、各区の間には 1.2 m 幅の緩衝地



図2. 試験区の配置

帯を設けた。

試験スケジュールは表2のとおりとした。第I作期では、慣行散布区及び上限散布区それぞれに対し、農薬1, 2, 3及び4をそれぞれのcGAPに従って処理した。全ての農薬について収穫日を同日（令和元年6月26日）に設定し、収穫日から逆算することで、各農薬の処理日を設定した。複数回の使用が可能な農薬については、処理日の間隔を7日間とした。すなわち、cGAPが「収穫前日まで、3回以内」である農薬1, 2, 及び3については、収穫の15日前、8日前及び前日に、3種類の農薬の混合液を散布した。cGAPが「収穫14日前まで、1回」である農薬4については、収穫14日前に1回処理した。散布器具は、殺虫殺菌剤用ノズル（2頭口）を装着した背負い式バッテリー式動力噴霧器（丸山製作所MSB1100Li:霧太郎）を用いた。散布の直前に、メスリリンダーとストップウォッチを用いて散布機の水の吐出量を3回測定し、吐出量を一定に調整した。散布はメトロノームを用いて一定速度で移動することで、1株当たりの散布液量が均一になるように、目標量を処理区全体に散布した。

各試験区の試料は、区全体から均等に、12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知<sup>9</sup>で規定された採取量を満たすよう1.9~4.1 kg（9~12株）を収穫した。収穫時は株元から3~4 cmを残して茎葉を地際から刈り取り、枯れ葉、変質葉、病害虫の被害が著しい部位を取り除き、プラスチック製の袋に詰めて試料調製室に運んだ。

第I作期の試料を収穫した直後、圃場全体の残りの株は全て収穫時と同様の手順で捨て刈りした（第II作期の開始）。その後、再生した第II作期の株に対しては農薬を処理せず、再び収穫適期となった令和元年8月15日に、第I作期と同様に試料を収穫した。

#### 4. 試料調製

収穫した試料は収穫当日に試料調製した。収穫した試料から無作為に1 kg以上の茎葉を集め、まな板上でみじん切りにし、フードプロセッサーで均一化した。各均一化試料は密閉されたプラスチック製の袋に詰めて小分けにし、-25℃設定のフリーザー内で保管した。分析に供する際は、冷蔵庫に分析試料を一晩静置して解凍した。

表2. 試験スケジュール

作期	散布日及び収穫日※		被験物質毎の試験スケジュール		
			農薬 1, 2, 3	農薬 4	
第 I 作期	散布日	6月11日	収穫15日前	散布	—
		6月12日	収穫14日前	—	散布
		6月18日	収穫8日前	散布	—
		6月25日	収穫前日	散布	—
第 II 作期	収穫日	6月26日	最終散布1日後	—	—
		8月15日	最終散布51日後	—	—

※. 処理及び収穫は全て午前中に行った。

### 5. 分析方法

分析は、厚生労働省通知「食品に残留する農薬、飼料添加物または動物用医薬品の成分である物質の試験法」の「LC/MSによる農薬等の一斉試験法 I (農産物)」に準じた方法を用いた。

試料 20.0 g にアセトニトリル (残留農薬試験用) 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過した。ろ紙上の残留物にアセトニトリル 20 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過し、得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とした。この溶液から正確に 20 mL を分取し、塩化ナトリウム (残留農薬試験用) 10 g 及び 0.5 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.0) (リン酸水素二カリウム及びリン酸二水素カリウムを蒸留水に溶かして予め調製) 20 mL を加え、10 分間振とうした。静置した後、分離した水層を捨て、アセトニトリル層を 40 °C 以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物にアセトニトリル及びトルエン (残留農薬試験用) (3 : 1) 混液 2

mL を加えて溶かした。得られた溶液を、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 (InertSep GC/NH2 500 mg/500 mg) (アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 10 mL を予め注入し、流出液は捨てることによってコンディショニングした) に注入した後、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 20 mL を注入し、全溶出液を 40 °C 以下で濃縮し、溶媒を除去した。この残留物をアセトニトリル (LC/MS 用) に溶かし、正確に 4 mL とし、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) を用いて分析した。なお、測定ピークの面積が検量線の最大濃度のピーク面積を超えた場合は、1 mL または 2 mL 容全量ピペット及び 10 mL 容または 100 mL 容全量フラスコを用いて、アセトニトリル (LC/MS 用) で希釈した。分析条件は表 3 のとおりとした。

分析方法の妥当性確認は 13 生産第 3986 号農林水産省生産局生産資材課長通知 (第 3986 号通知) <sup>8)</sup> に

表 3. 分析に用いた液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) の条件

項目	条件	時間 (min)	A液:B液 (比)	A液:B液 (比)
LC部	: Waters製 ACQUITY UPLC System			
MS部	: Waters製 ACQUITY TQD			
カラム	: Wako製 Wakopak Ultra C18-2 内径2.1 mm, 長さ100 mm, 粒径2 µm			
流量	: 0.353 mL/min			
カラム温度	: 40 °C	0 ~ 0.29	85:15	→ 60:40
注入量	: 2 µL	~ 1.23		60:40
移動相	A液 : 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液	~ 2.18	60:40	→ 50:50
	B液 : 5 mmol/L 酢酸アンモニウムメタノール溶液 (グラジエント条件: 右表)	~ 2.93	50:50	→ 45:55
イオン化法	: エレクトロスプレーイオン化法 (ESI+)	~ 6.52	45:55	→ 5:95
測定法	: 多重反応モニタリング法 (MRM)	~ 10		5:95
イオン源温度	: 120 °C			
脱溶媒ガス温度	: 400 °C			
脱溶媒ガス流量	: 800 L/hr			

表 4. 試験法の妥当性確認結果

分析対象	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)	平均回収率 (%)	RSDr (%)
農薬 1	0.01	82, 78, 81, 82, 80	81	2.2
	100	81, 89, 91, 90, 92	89	5.0
農薬 2	0.01	89, 79, 83, 90, 89	86	5.8
	100	79, 88, 93, 88, 91	88	6.3
農薬 3a	0.01	65, 62, 62, 62, 62	63	2.0
	10	67, 73, 82, 99, 83	81	15
農薬 3b	0.01	74, 74, 75, 75, 76	75	1.1
	10	61, 75, 73, 96, 75	76	16
農薬 4	0.01	83, 76, 83, 81, 82	81	3.5
	100	62, 68, 78, 77, 84	75	9.3

表 5. 保存安定性試験結果

分析対象	サンプル 最大 保存日数 (日)	保存安定性試験				精度管理	
		添加 濃度 (ppm)	保存 日数 (日)	回収率 (%)	平均 回収率 (%)	回収率 (%)	添加濃度 (ppm)
農薬 1	218	1	243	85, 85	85	90	1
農薬 2	218	1	243	81, 79	80	87	1
農薬 3a	—	0.81	243	77, 79	78	101	1
農薬 3b	—	0.15	243	103, 106	104	102	1
農薬 3 (含量値)	218	1	243	78, 80	79	101	2
農薬 4	218	1	243	83, 79	81	80	1

準じた。無処理区試料または捨て刈り試料に、当該農薬の残留が見込まれる濃度及び 0.01 ppm になるよう分析対象物質の標準品を添加した試料各 5 点を分析し、回収率の平均及び併行相対標準偏差 (RSDr) を求めた。被験物質の保存安定性試験についても、実施方法は第 3 9 8 6 号通知に従った。無処理区試料または捨て刈り試料に、当該農薬が 1 ppm になるよう分析対象物質の標準品を添加した試料各 2 点を、処理区試料と同様の保存条件で、より長い期間保存した後に分析し、回収率の平均を求めた。

内部精度管理として、分析を行う都度、分析対象物質を試料中で 0.1 ppm (保存安定性試験においては 1 ppm) になるよう添加した無処理区試料または捨て刈り試料の分析を行い、回収率が 70~110 %であることを確認した。結果は、同一試料を 2 回繰り返し分析した平均値とし、分析値の差 (ばらつき) が、第 3 9 8 6 号通知に示された RSDr の範囲内であることを確認した。

## 結果及び考察

### 1. 分析法の妥当性評価

農薬 3a 及び 3b 以外については、全て第 3 9 8 6 号通知の要求を満たす結果が得られた (表 4)。農薬 3a 及び 3b については回収率の RSDr が第 3 9 8 6 号通知を満たさなかったが、分析日の内部精度管理の結果に問題が認められず、作期毎の残留濃度の結果に十分な差があったことから、作期毎の残留濃度を比較する上では農薬 3 の結果も問題ないと考えられた。試料の保存安定性 (表 5) に問題は認められなかった。

## 2. 分析結果

分析結果は表 6 及び図 3 に示した。慣行散布区の第 I 作期では、農薬 1 が 1.98 ppm、農薬 2 が 9.18 ppm、農薬 3 が 0.18 ppm、農薬 4 が 1.01 ppm 残留していた。一方、第 II 作期では農薬 2 が 0.01 ppm で、それ以外の成分は定量限界 (0.01 ppm または 0.02 ppm) 未満であり、第 I 作期に処理した農薬は、第 II 作期の試料にはほとんど残留していなかった。上限散布区も同様に、第 I 作期では、農薬 1 が 3.28 ppm、農薬 2 が 17.4 ppm、農薬 3 が 0.40 ppm、農薬 4 が 2.19 ppm 残留した一方、第 II 作期では農薬 2 が 0.01 ppm で、それ以外の成分は定量限界未満であった。以上の結果から、慣行栽培を想定した散布液量の場合、及び登録の上限に近い散布液量の場合ともに、今回使用した農薬 1~4 のキャリーオーバーはほとんど生じないことが明らかとなった。登録の上限近い散布液量で第 I 作期に農薬を散布しても、第 II 作期の収穫物に

農薬はほとんど残留しなかったため、慣行量以上の散布液量がキャリーオーバーを引き起こす可能性は低いことが示唆された。

第 I 作期の慣行散布区及び上限散布区同士の残留濃度を比較すると、残留濃度は概ね散布液量に比例していた。農薬毎の各区の残留濃度比 (上限散布区/慣行散布区) は、それぞれ 1.7 倍 (農薬 1)、1.9 倍 (農薬 2)、2.2 倍 (農薬 3)、2.2 倍 (農薬 4) であった。慣行散布区と上限散布区の散布液量の比は、最も残留濃度に影響する最終処理日の散布については、2.0 倍 (農薬 1、2、3 (収穫前日)) 及び 1.9 倍 (農薬 4 (収穫 14 日前)) であった。これらの作物体の表面積が散布液を付着させるために十分な広さを持っていたため、散布液量に比例して農薬の付着量が増加したと考えられる。

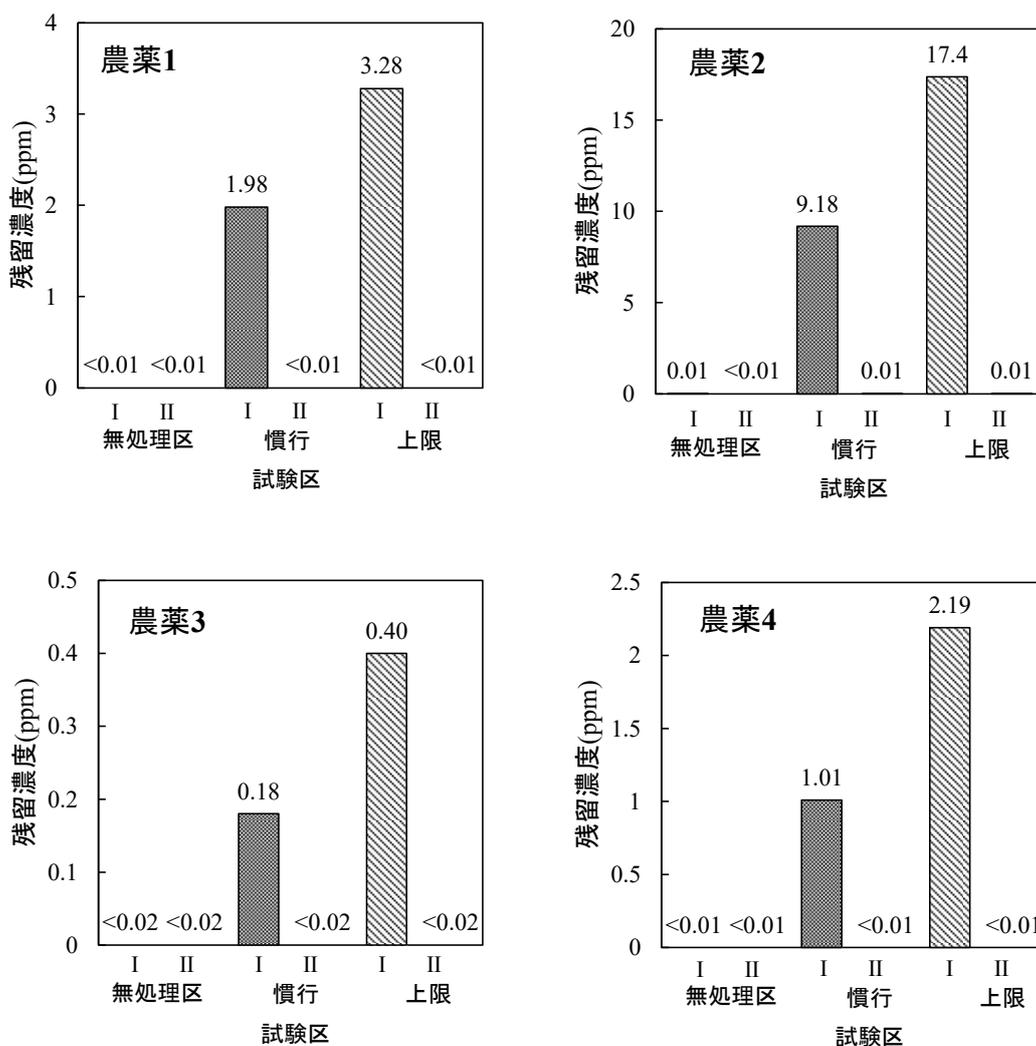


図3. 分析結果

表 6. 分析結果の詳細

分析対象	試験区	作期 ※1	使用 回数	PHI ※2	散布液量 (L/10a)	分析結果(ppm)			精度管理 ※3(%)
						分析値	分析値	平均値	
農薬 1	無処理	I	0	1	-	<0.01	<0.01	<0.01	81
		II	0	-	-	<0.01	<0.01	<0.01	89
	慣行	I	3	1	140, 150, 128	1.94	2.02	1.98	81
		II	0	-	-	<0.01	<0.01	<0.01	89
	上限	I	3	1	232, 250, 250	3.27	3.29	3.28	81
		II	0	-	-	<0.01	<0.01	<0.01	89
農薬 2	無処理	I	0	1	-	<0.01	0.01	0.01	87
		II	0	-	-	<0.01	<0.01	<0.01	87
	慣行	I	3	1	140, 150, 128	9.05	9.30	9.18	87
		II	0	-	-	0.01	0.01	0.01	87
	上限	I	3	1	232, 250, 250	16.4	18.4	17.4	87
		II	0	-	-	0.01	0.01	0.01	87
農薬 3 (含量) ※4	無処理	I	0	1	-	-	-	<0.02	-
		II	0	-	-	-	-	<0.02	-
	慣行	I	3	1	140, 150, 128	-	-	0.18	-
		II	0	-	-	-	-	<0.02	-
	上限	I	3	1	232, 250, 250	-	-	0.40	-
		II	0	-	-	-	-	<0.02	-
農薬 4	無処理	I	0	1	-	<0.01	<0.01	<0.01	79
		II	0	-	-	<0.01	<0.01	<0.01	85
	慣行	I	1	14	128	1.00	1.02	1.01	79
		II	0	-	-	<0.01	<0.01	<0.01	85
	上限	I	1	14	244	2.01	2.36	2.19	79
		II	0	-	-	<0.01	<0.01	<0.01	85

※1 各作期の日数は37日(第I作期)及び50日(第II作期)であった。

※2 当該作期の農薬の最終処理日から収穫日までの日数

※3 捨て刈り試料に0.1 ppm 添加した際の回収率

※4 分析結果は農薬 3a 及び 3b の含量値である。個々の成分の分析結果は表 7 に記載した。

表 7. 農薬 3a 及び 3b の分析結果

分析対象	試験区	作期	分析結果(ppm)			精度管理 (%)
			分析値	分析値	平均値	
農薬 3a	無処理	I	<0.01	<0.01	<0.01	71
		II	<0.01	<0.01	<0.01	79
	慣行	I	0.12	0.14	0.13	71
		II	<0.01	<0.01	<0.01	79
	上限	I	0.26	0.31	0.29	71
		II	<0.01	<0.01	<0.01	79
農薬 3b	無処理	I	<0.01	<0.01	<0.01	77
		II	<0.01	<0.01	<0.01	85
	慣行	I	0.04	0.05	0.05	77
		II	<0.01	<0.01	<0.01	85
	上限	I	0.10	0.12	0.11	77
		II	<0.01	<0.01	<0.01	85

### 結論

本研究では、化学構造の系統及び物理化学的性質の異なる 4 種類の供試農薬を用いて、複数回の収穫を行うにらの作物残留試験を実施した。1 回目の収穫以前に cGAP 条件で散布処理した農薬が、2 回目の収穫物に残留するかを調べたところ、全ての供試農薬について、定量限界を超える残留は見られなかった。複数回収穫される葉菜類として代表的なものについてのキャリーオーバーの知見が得られたため、基準値超過の事例が発生した際の原因究明に、本研究結果が一助となることが期待される。

### 参考文献

- 1) 農薬取締法（昭和二十三年法律第八十二号）  
[https://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n\\_kaisei/attach/pdf/index-2.pdf](https://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n_kaisei/attach/pdf/index-2.pdf)
  - 2) 農薬を使用する者が遵守すべき基準を定める省令（平成十五年農林水産省・環境省令第五号）  
[https://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n\\_kaisei/attach/pdf/index-17.pdf](https://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n_kaisei/attach/pdf/index-17.pdf)
  - 3) 農業技術大系 野菜編 8-①, 農山漁村文化協会, p352, p355, p364-365, p373, 2018.
  - 4) 国内産農産物における農薬の使用状況及び残留状況調査結果について（平成 22 年度）  
[https://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n\\_monitor/h22.html](https://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n_monitor/h22.html)
  - 5) 国内産農産物における農薬の使用状況及び残留状況調査結果について（平成 24 年度）  
[https://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n\\_monitor/h24.html](https://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n_monitor/h24.html)
  - 6) 農薬の登録申請に係る試験成績について（平成 12 年 1 月 24 日付け 12 農産第 8 1 4 7 号農林水産省農産園芸局長通知）  
<http://www.acis.famic.go.jp/shinsei/8147/8147.pdf>
  - 7) LC/MS による農薬等の一斉試験法 I（農産物）  
<https://www.mhlw.go.jp/content/000473280.pdf>
  - 8) 「農薬の登録申請に係る試験成績について」の運用について（平成 13 年 10 月 10 日付け 13 生産第 3 9 8 6 号農林水産省生産局生産資材課長通知）  
<http://www.acis.famic.go.jp/shinsei/3986/3986.pdf>
- （全 URL のリンクについての確認は、2020 年 10 月 28 日に実施。）

## 平成 31 年(令和元年)度学会等での発表実績一覧

### 1. 誌面発表

なし

### 2. 口頭・ポスター発表

	学会名	題目	発表者名
1	第 37 回農薬環境科学 研究会 (2019.11.21～ 22)	セイヨウミツバチ蜂群の簡 易テント内における飼育条 件の検討 (ポスター発表)	<u>市原直登</u> , <u>加藤貴央</u> , <u>木村穰</u> , 石原悟
2	日本農薬学会第 45 回 大会*	農薬の後作物残留リスク評 価に関する研究 (第 22 報) 農薬の土壌深度別の分 布量と作物吸収量の関係- ポット試験での検討-	<u>加藤貴央</u> , <u>元木裕</u> , 清 家伸康
3	日本農薬学会第 45 回 大会*	農薬の後作物残留リスク評 価に関する研究 (第 23 報) 農薬の土壌深度別の分 布量と作物吸収量の関係- 砂丘未熟土圃場での検討-	<u>元木裕</u> , <u>加藤貴央</u>

アンダーラインが引かれた者が,FAMIC 農薬検査部職員

\*新型コロナウイルスの影響により,日本農薬学会第 45 回大会は中止された.

ただし,大会は「みなし開催」とされ,一般講演とシンポジウムの発表は講演要旨集に記載された範囲で「発表が行われた」ものとして取り扱われることとなった.



# 【技術レポート】

残留農薬分析業務における分析法の検討

(LC-MS/MS を用いた米穀中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価) ..... 26



## 残留農薬分析業務における分析法の検討

### LC-MS/MS を用いた米穀中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価

坂部亮介\*1, 山本謙吾\*1, 鈴木徹也\*2, 大谷有二\*3, 白井裕一\*4, 野村哲也\*4, 松野倫也\*5

液体クロマトグラフトンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) を用いた米穀中の残留農薬一斉試験法について、13 農薬を対象とし、厚生労働省通知の「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 試験室において妥当性評価を行った。その結果、11 農薬については、全ての試験室において、妥当性評価の性能パラメータがガイドラインに示された目標値等に適合していた。

Keywords : 残留農薬, 米穀, 妥当性評価, 液体クロマトグラフトンデム型質量分析計

#### 結 言

独立行政法人農林水産消費安全技術センター農薬実態調査課（以下、センター）では、農林水産省の指示に基づき、国内産農産物における農薬の使用状況および残留状況について調査を行っている。農産物に使用される農薬は、作物や栽培地域によって異なることから、調査においては、農薬を効率よく分析することが重要である。

米穀の調査は、毎年実施しており、分析は厚生労働省通知<sup>1)</sup>の「GC/MS・LC/MS による農薬等の一斉試験法（米穀・麦類・大豆）」（以下、一斉法）および個別試験法で分析している。今回、調査対象農薬の拡大と分析の効率化を図るため、センターの分析対象としていない 13 農薬（以下、新規対象農薬）について検討を行った。

試験法については、抽出および精製は一斉法に準じ、測定は LC-MS/MS に変更した。

妥当性は「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」<sup>2) 3)</sup>（以下、ガイドライン）に基づき、試験室毎に評価した。

#### 材料および方法

##### 1. 試験室

以下の 3 試験室で実施した。

- ・農薬検査部農薬実態調査課（以下、小平）
- ・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. 新規対象農薬

米穀に使用されている農薬を事前調査し、使用実績のある次の 13 農薬を対象とした。

###### 2.1. 高頻度で使用されている農薬

イプフェンカルバゾン、エチプロール、オリサストロビンの 3 農薬

###### 2.2. ADI が低い農薬

ピリフタリド、シメコナゾール、フラメトピル、オキサジアルギルの 4 農薬

###### 2.3. 分析の効率化が期待される農薬

クミルロン、トリフルミゾール、ペンフルフェン、ピラゾキシフェン、ピラゾリネート、ジウロンの 6 農薬

\*1 独立行政法人農林水産消費安全技術センター農薬検査部

\*2 独立行政法人農林水産消費安全技術センター横浜事務所，現 仙台センター

\*3 独立行政法人農林水産消費安全技術センター横浜事務所

\*4 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

\*5 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター，現 農薬検査部

### 3. 試料および添加濃度

#### 3.1. 試料

新規対象農薬が検出されていない国産玄米（以下、ブランク試料）を用いた。同一試料を小平にて粉碎し、3 試験室で用いた。

#### 3.2. 添加濃度

一律基準である 0.01 mg/kg（以下、低濃度）およびその 10 倍にあたる 0.1 mg/kg（以下、高濃度）の 2 濃度とした。

### 4. 試薬および器具

#### 4.1. 標準品

農薬標準品：イブフェンカルバゾン、オリサストロビン代謝物、クミルロン、トリフルミゾール、トリフルミゾール代謝物およびピラゾリネートは林純薬工業株式会社、エチプロール、オリサストロビン、シメコナゾール、フラメトピル、オキサジアルギル、ピラゾキシフェンおよびジウロンは富士フィルム和光純薬株式会社、ピリフタリドは Dr.Ehrenstorfer 社、ペンフルフェンは SIGMA-ALDRICH 社製の粉末標準品をそれぞれ使用した。

混合標準液：各粉末標準品をアセトニトリルに溶解して 500 µg/mL の標準溶液を調製後、これらを混合し、20 µg/mL となるようアセトニトリルで希釈した。

添加回収試験用標準液および検量線用標準液：混合標準液をアセトニトリルで適宜希釈して調製した。

#### 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）、アセトン（残留農薬試験用）、トルエン（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）、塩化ナトリウム（残留農薬試験用）、リン酸トリフェニル (1級)、リン酸水素二カリウム (特級)、

リン酸二水素カリウム (特級)、無水硫酸ナトリウム（残留農薬試験用）、酢酸アンモニウム溶液（高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 用）およびケイソウ土（セライト545）を使用した。水は超純水製造装置（Merck Millipore製）で製造した超純水または超純水（LC/MS用）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 およびリン酸二水素カリウム 30.2 g を量り採り、水約 500 mL に溶解し、1 mol/L 水酸化ナトリウムまたは 1 mol/L 塩酸を用いて pH 7.0 に調製した後、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. 固相抽出ミニカラム

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（以下、C18 ミニカラム）は、Waters 製 Sep-Pak Vac C18 (1000 mg) を、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（以下、グラファイトカーボンミニカラム）は、Sigma-Aldrich 製 ENVI-Carb/LC-NH2 (500mg/500 mg) を使用した。C18 ミニカラムはアセトニトリル 10mL で、グラファイトカーボンミニカラムはアセトニトリル・トルエン (3:1) 10mL でそれぞれコンディショニングしたものをを用いた。

### 5. 装置

#### 5.1. ホモジナイザー

日本精機製作所製 エースホモジナイザー

#### 5.2. 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，横浜）

MS 部：Waters 製 Premier XE（小平，神戸）  
：Waters 製 ACQUITY TQD（横浜）

## 6. 前処理方法

### 6.1. 抽出

図1の分析法フローチャートに従い、水を加えて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(pH7.0)を加えて振とうしたのち、水層を分離除去した。

添加回収試験は、ホモジナイザー用容器に採取した試料に添加回収試験用標準液を添加し30分放置した後に抽出を開始した。

### 6.2. 精製

C18ミニカラムで油分を除去し、無水硫酸ナトリウムを用いて脱水したアセトニトリル層をグラファイトカーボンミニカラムで精製し、リン酸トリフェニル1 µg/mLを含むアセトン・n-ヘキサン(1:1)混液に溶解したものを試験溶液とした。

### 6.3. LC-MS/MS 測定用試験溶液

試験溶液0.125 mLから溶媒を除去し、残留物をアセトニトリルで0.5 mLとしたものをLC-MS/MS測定用試験溶液とした。

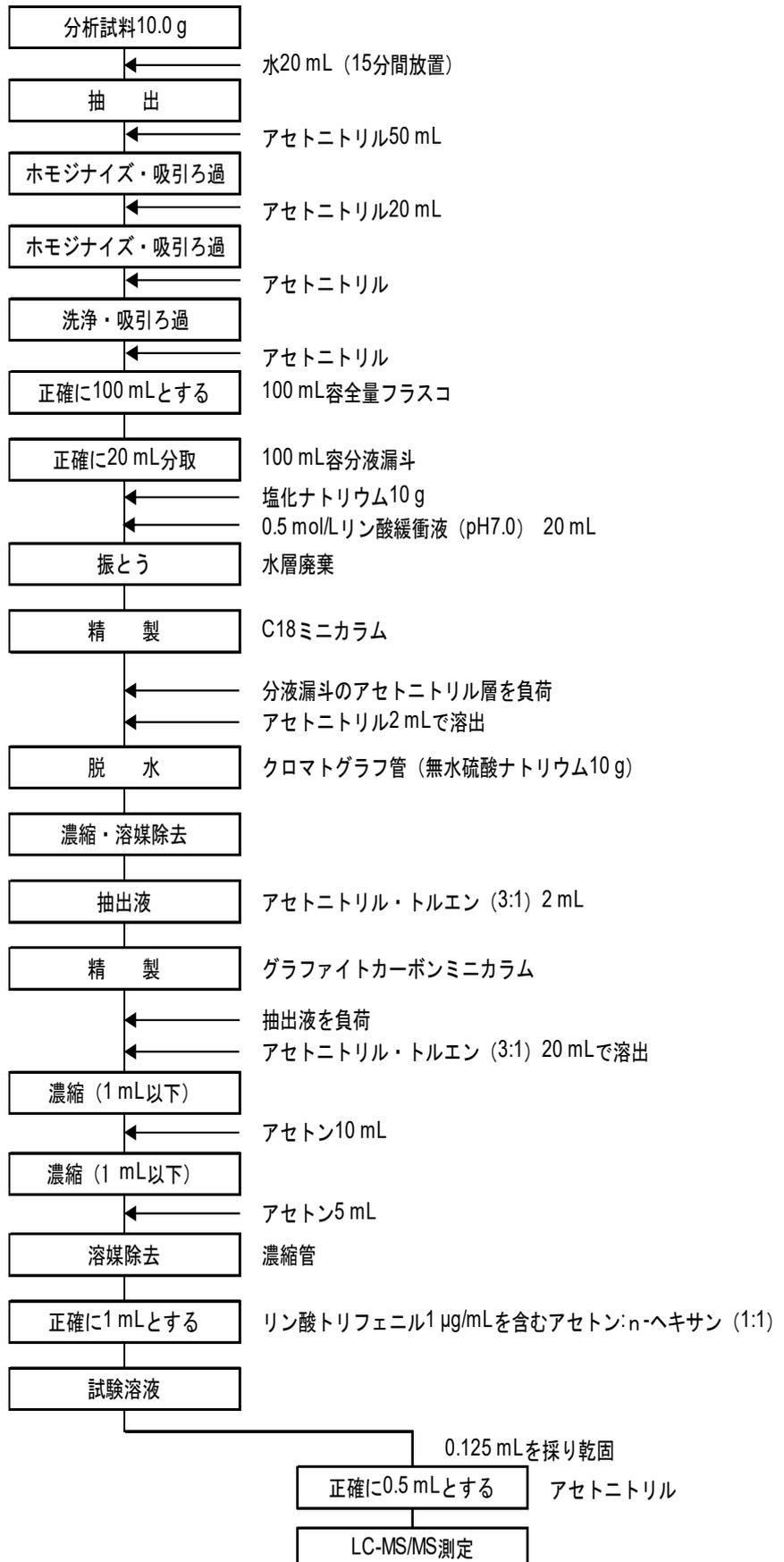


図1. LC-MS/MSによる一斉試験法(米穀)フローチャート

## 7. 測定条件

LC-MS/MS による測定イオンおよび測定条件は、表 1 から表 3 のとおりとした。

表 1. LC-MS/MS 測定イオン

農薬名	測定 モード	モニターイオン	モニターイオン
		(定量) m/z	(定性) m/z
イブフェンカルバゾン	+	427 > 198	427 > 156
エチプロール	+	397 > 351	397 > 255
オキサジアルギル	+	341 > 258	341 > 223
オリサストロピン	+	392 > 205	392 > 116
オリサストロピン代謝物	+	392 > 205	392 > 170
クミルロン	+	303 > 185	303 > 125
ジウロン	+	233 > 72	233 > 46
シメコナゾール	+	294 > 70	294 > 73
トリフルミゾール	+	346 > 278	346 > 73
トリフルミゾール代謝物	+	295 > 73	295 > 278
ピラゾキシフェン	+	403 > 91	403 > 105
ピラゾリネート	+	439 > 173	439 > 155
ピリフタリド	+	319 > 139	319 > 179
フラメトピル	+	334 > 157	334 > 290
ペンフルフェン	+	318 > 234	318 > 141

表 2. LC-MS/MS 測定条件

LC部	:	Waters製 ACQUITY UPLC System
MS部	:	Waters製 Premier XE (小平, 神戸), ACQUITY TQD (横浜)
カラム	:	Wako製 Wakopak Ultra C18-2 内径 2.1 mm, 長さ100 mm, 2 μm
流量	:	0.353 mL/min
カラム温度	:	40 °C
注入量	:	2 μL
移動相 A液	:	5 mmol/L酢酸アンモニウム水溶液
B液	:	5 mmol/L酢酸アンモニウムメタノール溶液 (グラジエント条件: 表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
脱溶媒ガス流量	:	800 L/hr

表 3. グラジエント条件

時間 (min)	A液:B液 (比)		A液:B液 (比)
0 ~ 0.29	85:15	→	60:40
~ 1.23			60:40
~ 2.18	60:40	→	50:50
~ 2.93	50:50	→	45:55
~ 6.52	45:55	→	5:95
~ 10			5:95

## 8. 妥当性評価

### 8.1. 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、異なる実施日または実施者で5回繰り返した。

### 8.2. 選択性の確認

ブランク試料を6. 前処理方法に従って調製した試験溶液 (以下、ブランク試料溶液) について、LC-MS/MS で測定し、新規対象農薬の定量を妨害するピークの有無を確認した。

### 8.3. 検量線の直線性の確認

新規対象農薬を混合した検量線用標準溶液 (0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05 および 0.1 μg/mL) 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た。各対象農薬の検量線について、相関係数 (r) が 0.995 以上であることをもって、検量線の直線性を確認した。

### 8.4. 検出限界および定量限界の確認

定量限界の目標値を 0.01 mg/kg、検出限界の目標値を 0.005 mg/kg とした。

ブランク試料溶液に 0.005 μg/mL となるように標準液を添加したものを 10 回、ブランク試料溶液を 5 回ランダムに測定し、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 を求めた。標準偏差 σ に 3.67<sup>4)</sup> を乗じた値を検出限界、10 を乗じた値を定量限界とした。

### 8.5. 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、高濃度は真度が 70~120 %, 併行精度が 15 %未満、室内精度が 20 %未満を目標値 (表 4 参照) とした。

表 4. 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 >

## 結果および考察

### 9. 妥当性評価結果

新規対象農薬について、ガイドラインに定められた選択性、真度、精度、定量限界に加え、検出限界および検量線の直線性の評価を行った。

#### 9.1. 選択性

ブランク試料の分析を行ったところ、いずれの新規対象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。

#### 9.2. 検量線の直線性

各試験室で作成した検量線の相関係数 ( $r$ ) は表 5 に示すとおりであり、全ての新規対象農薬について、 $0.002\sim 0.1\ \mu\text{g/mL}$  の範囲で直線性 (相関係数 ( $r$ ) が  $0.995$  以上) が確認された。

#### 9.3. 検出限界および定量限界

各試験室の検出限界および定量限界の結果を表 6 に示した。オキサジアルギルおよびオリサストロビン代謝物を除く 12 種の新規対象農薬および 1 種の代謝物については目標値を満たしていた。以上の結果から、オキサジアルギルおよびオリ

サストロビン代謝物の検出限界は  $0.01\ \text{mg/kg}$ 、定量限界は  $0.02\ \text{mg/kg}$  とし、その他の農薬の検出限界は  $0.005\ \text{mg/kg}$ 、定量限界は  $0.01\ \text{mg/kg}$  とした。

#### 9.4. 真度および精度

新規対象農薬について、各試験室の真度 (回収率) の平均値および精度 (併行精度および室内精度) の結果を表 7 に示した。ピラゾリネートを除く 12 の新規対象農薬については、ガイドラインの目標値を満たした。

#### 9.5. 室間再現性 (参考)

新規対象農薬について、全ての結果 (3 試験室それぞれにおいて 1 回当たり 2 併行、異なる実施日または異なる実施者で 5 回繰り返しの枝分かれ試験) から求めた真度 (回収率) および精度 (併行精度および室間精度) を表 8 に示した。この結果についてもピラゾリネートを除く 12 の新規対象農薬でガイドラインの目標値を満たした。

#### 9.6. その他

新規対象農薬のうち、オキサジアルギルおよびピラゾリネートは、標準液の経時安定性が悪かった。

表 5. 直線性の範囲と相関係数

農薬名	直線性の範囲 ( $\mu\text{g/mL}$ )	相関係数 (r)		
		小平	横浜	神戸
イプフェンカルバゾン	0.002-0.1	0.9995	0.9999	0.9999
エチプロール	0.002-0.1	0.9998	0.9998	0.9999
オキサジアルギル	0.002-0.1	0.9992	0.9998	0.9998
オリサストロビン	0.002-0.1	0.9995	0.9999	0.9995
オリサストロビン代謝物	0.002-0.1	0.9996	0.9999	0.9993
クミルロン	0.002-0.1	0.9999	0.9996	0.9990
ジウロン	0.002-0.1	0.9999	0.9992	0.9997
シメコナゾール	0.002-0.1	0.9998	0.9991	0.9979
トリフルミゾール	0.002-0.1	0.9999	0.9994	0.9994
トリフルミゾール代謝物	0.002-0.1	0.9995	0.9998	0.9990
ピラゾキシフェン	0.002-0.1	0.9993	0.9996	0.9996
ピラゾリネート	0.002-0.1	0.9992	0.9991	0.9974
ピリフタリド	0.002-0.1	0.9998	0.9994	0.9986
フラメトピル	0.002-0.1	1.0000	0.9998	0.9996
ペンフルフェン	0.002-0.1	0.9999	0.9999	0.9997

表 6. 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	設定値	小平	横浜	神戸	設定値
イプフェンカルバゾン	0.0023	0.0015	0.0024	<b>0.005</b>	0.0062	0.0041	0.0064	<b>0.01</b>
エチプロール	0.0015	0.0005	0.0003	<b>0.005</b>	0.0042	0.0014	0.0009	<b>0.01</b>
オキサジアルギル	0.0038	0.0036	0.0027	<b>0.01</b>	0.0103	0.0098	0.0073	<b>0.02</b>
オリサストロビン	0.0013	0.0012	0.0007	<b>0.005</b>	0.0036	0.0034	0.0018	<b>0.01</b>
オリサストロビン代謝物	0.0055	0.0010	0.0019	<b>0.01</b>	0.0151	0.0026	0.0052	<b>0.02</b>
クミルロン	0.0020	0.0010	0.0015	<b>0.005</b>	0.0054	0.0027	0.0041	<b>0.01</b>
ジウロン	0.0010	0.0021	0.0016	<b>0.005</b>	0.0027	0.0058	0.0042	<b>0.01</b>
シメコナゾール	0.0024	0.0015	0.0011	<b>0.005</b>	0.0066	0.0041	0.0029	<b>0.01</b>
トリフルミゾール	0.0021	0.0011	0.0004	<b>0.005</b>	0.0057	0.0029	0.0010	<b>0.01</b>
トリフルミゾール代謝物	0.0028	0.0026	0.0023	<b>0.005</b>	0.0076	0.0070	0.0063	<b>0.01</b>
ピラゾキシフェン	0.0017	0.0023	0.0010	<b>0.005</b>	0.0047	0.0062	0.0028	<b>0.01</b>
ピラゾリネート	0.0028	0.0013	0.0009	<b>0.005</b>	0.0077	0.0035	0.0025	<b>0.01</b>
ピリフタリド	0.0009	0.0005	0.0006	<b>0.005</b>	0.0024	0.0013	0.0017	<b>0.01</b>
フラメトピル	0.0006	0.0004	0.0008	<b>0.005</b>	0.0017	0.0012	0.0022	<b>0.01</b>
ペンフルフェン	0.0016	0.0007	0.0006	<b>0.005</b>	0.0043	0.0020	0.0017	<b>0.01</b>

表 7. 新規対象農薬の回収率, 併行精度および室内精度

農薬名	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		
		目標値	70~120	70~120	25 >	15 >	30 >
イブフェンカルバゾン	小平	95.1	95.9	11.8	4.5	12.6	6.0
	横浜	97.8	99.4	2.4	3.1	8.9	5.8
	神戸	93.0	96.4	4.2	5.2	11.1	5.8
エチプロール	小平	99.7	97.0	3.6	4.3	6.2	6.2
	横浜	99.0	98.8	4.0	3.0	4.5	4.3
	神戸	89.9	94.4	2.7	2.6	8.3	5.1
オキサジアルギル	小平	86.2	87.9	8.1	5.6	9.8	7.7
	横浜	90.3	94.2	6.6	2.6	8.6	5.1
	神戸	88.3	83.4	11.6	10.5	20.2	12.4
オリサストロビン	小平	97.8	100.8	4.7	3.7	5.4	5.0
	横浜	99.2	102.9	2.9	3.0	3.3	4.8
	神戸	99.7	102.5	6.9	2.7	7.6	4.4
オリサストロビン代謝物	小平	102.0	92.2	14.2	5.4	14.2	8.6
	横浜	96.4	100.9	5.0	3.8	5.0	6.5
	神戸	93.7	97.3	8.1	3.9	9.2	4.5
クミルロン	小平	104.3	102.3	2.6	5.8	7.0	6.3
	横浜	99.7	100.9	1.6	2.7	5.9	5.3
	神戸	96.5	98.5	2.9	2.2	7.8	3.0
ジウロン	小平	92.3	94.0	3.9	4.8	8.7	6.3
	横浜	97.3	98.2	1.4	3.0	2.1	4.3
	神戸	99.4	98.1	6.2	5.3	8.5	7.2
シメコナゾール	小平	90.2	97.5	9.0	4.7	9.0	7.3
	横浜	89.7	93.5	3.7	1.5	3.7	2.9
	神戸	76.0	79.9	4.6	5.9	5.9	5.9
トリフルミゾール	小平	88.0	86.2	5.2	6.5	7.5	7.2
	横浜	87.9	90.3	2.6	5.3	7.6	6.1
	神戸	80.9	85.6	9.0	9.9	9.0	10.5
トリフルミゾール代謝物	小平	84.6	91.2	5.7	5.5	9.9	5.5
	横浜	99.1	97.9	4.3	3.6	6.7	5.1
	神戸	78.7	83.3	4.6	8.2	7.7	8.8
ピラゾキシフェン	小平	100.1	97.0	6.7	5.3	9.2	8.3
	横浜	98.3	99.2	4.2	3.3	5.8	6.3
	神戸	87.8	93.0	5.2	4.6	6.1	5.5
ピラゾリネート	小平	61.0	74.4	11.8	4.4	27.9	20.1
	横浜	85.3	95.5	12.7	5.9	12.7	5.9
	神戸	279.5	356.0	4.9	10.5	70.5	39.3
ピリフタリド	小平	95.4	100.9	4.2	5.6	6.9	8.1
	横浜	98.4	101.9	1.7	3.0	4.5	4.2
	神戸	99.6	99.3	4.0	2.0	4.0	3.8

フラメトピル	小平	94.5	97.3	3.4	3.8	7.2	5.3
	横浜	96.6	98.9	2.5	3.6	3.7	5.5
	神戸	97.4	98.2	3.9	2.6	5.5	3.4
ペンフルフェン	小平	91.8	95.1	6.3	5.3	7.8	5.3
	横浜	97.1	98.6	1.8	3.4	3.7	6.0
	神戸	93.1	95.5	2.4	3.7	4.3	5.5

表 8. 3 試験室の回収率, 併行精度および室間精度

農薬名	回収率 (%) n=30		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	
	目標値	70~120	70~120	25 >	15 >	30 >	20 >
イプフェンカルバゾン		95.3	97.2	7.3	4.3	10.5	5.8
エチプロール		96.2	96.7	3.5	3.4	7.7	5.3
オキサジアルギル		88.3	88.5	9.0	6.8	13.2	9.7
オリサストロビン		98.9	102.1	5.1	3.1	5.5	4.6
オリサストロビン代謝物		97.3	96.8	10.1	4.4	10.1	7.4
クミルロン		100.2	100.6	2.4	3.9	7.2	5.1
ジウロン		96.3	96.8	4.4	4.4	7.4	6.1
シメコナゾール		85.3	90.3	6.4	4.3	9.9	10.1
トリフルミゾール		85.6	87.4	6.0	7.4	8.1	8.1
トリフルミゾール代謝物		87.5	90.8	4.9	5.9	12.7	9.1
ピラゾキシフェン		95.4	96.4	5.5	4.5	9.1	7.0
ピラゾリネート		142.0	175.3	7.7	12.5	103.2	87.0
ピリフタリド		97.8	100.7	3.5	3.9	5.3	5.5
フラメトピル		96.2	98.1	3.3	3.4	5.5	4.6
ペンフルフェン		94.0	96.4	3.9	4.2	5.8	5.5

## 10. まとめ

新規対象農薬 13 種類について、LC-MS/MS 測定による一斉法（米穀）の妥当性評価を行った。この結果、ピラゾリネートを除く 12 種の農薬は、全ての試験室で妥当性評価のパラメータが目標値等に適合した。ただし、オキサジアルギルは、標準液の経時安定性が悪いため、分析不可能と判断した。

以上の結果から、11 農薬について一斉法による分析が可能であることが確認された。（表 9）

### 参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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，平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号。

- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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，平成 22 年 12 月 24 日付け食安発 1224 第 1 号。
- 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，平成 23 年 12 月 8 日付け食安基発 1208 第 1 号。
- 4) JIS K 0136：2015，高速液体クロマトグラフィー質量分析通則。

表 9. 結果のまとめ

農薬名	選択性	真度	精度 (併行)	精度 (室内)	定量 限界	標準液の 安定性	判定
イブフェンカルバゾン	○	○	○	○	○	○	○
エチプロール	○	○	○	○	○	○	○
オキサジアルギル	○	○	○	○	○	×	×
オリサストロピン (オリサストロピン代謝物)	○	○	○	○	○	○	○
クミルロン	○	○	○	○	○	○	○
ジウロン	○	○	○	○	○	○	○
シメコナゾール	○	○	○	○	○	○	○
トリフルミゾール (トリフルミゾール代謝物)	○	○	○	○	○	○	○
ピラゾキシフェン	○	○	○	○	○	○	○
ピラゾリネート	○	×	○	×	○	×	×
ピリフタリド	○	○	○	○	○	○	○
フラメトピル	○	○	○	○	○	○	○
ペンフルフェン	○	○	○	○	○	○	○



農林水産消費安全技術センター  
**農薬調査研究報告（第12号）**

令和3年2月発行

発行： 独立行政法人 農林水産消費安全技術センター  
農薬検査部

〒187-0011 東京都小平市鈴木町 2-772

電話：050-3797-1865 FAX：042-385-3361

印刷： 株式会社 芳文社

