

別添 2 分析方法の詳細

本調査における各分析対象物質の残留分析は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」（平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知）中の「農作物への残留性に関する試験」の「作物残留試験」（以下「ガイドライン」という。）の項目に従い実施した。

なお、本項におけるほ場試験場所の略称は括弧内のとおりとした。

公益社団法人青森県植物防疫協会（青森植）

公益社団法人福島県植物防疫協会（福島植）

一般社団法人長野県植物防疫協会 須坂研究所（長野植）

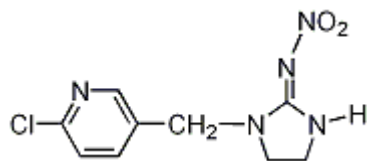
一般社団法人日本植物防疫協会 山梨試験場（日植防山梨）

I. イミダクロプリド

1. 分析対象物質

イミダクロプリド

化学構造式：



化学名： (E)-1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine

化学式： $C_9H_{10}ClN_5O_2$

分子量： 255.7

性状： 無色結晶，弱い特異臭

融点： 144°C

蒸気圧： 4×10^{-7} mPa (20°C)， 9×10^{-7} mPa (25°C)

オクタノール／水分配係数： $\log P_{ow} = 0.57$ (21°C)

溶解性： 水0.61g/L (20°C)，ジクロロメタン67 g/L，2-プロパノール2.3 g/L，
トルエン0.69 g/L (以上 20°C) ヘキサン <0.1g/L

安定性： pH 5～11で加水分解に対して安定

出典： The Pesticide Manual 15th Edition

2. 標準品及び試薬

イミダクロプリド標準品：純度 99.1% (和光純薬工業製)

アセトニトリル，アセトン，ヘキサン，酢酸エチル：残留農薬試験用 (関東化学製)

メタノール：LC-MS 用 (関東化学製)

水：ピュアライト PRA-0015-0V1（オルガノ製）及びピュリック Z II（オルガノ製）で精製した水
多孔性ケイソウ土カラム：InertSep K-solute 5mL 容（ジーエルサイエンス製）
積層ミニカラム：ENVI-Carb II /PSA SPE Tube 500mg/300mg/6mL（スペルコ製）

3. 装置及び機器

ミキサー：クイジナート DLC-NXJ2（クイジナート・アメリカ製）
液体クロマトグラフ／タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)：Xevo TQ-S micro(Waters 製)
データ処理ソフトウェア：MassLynx(Waters 製)

4. 測定機器の操作条件

4.1. 液体クロマトグラフの操作条件

カラム：ACQUITY UPLC HSS T3（waters 製）
内径 2.1mm, 長さ 100mm, 粒径 1.8 μ m
溶離液：A 液：100 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液
B 液：メタノール
C 液：水

時間	A	B	C
0	2	10	88
0.5	2	40	58
2.0	2	40	58
3.0	2	50	48
4.0	2	55	43
11.0	2	98	0
13.0	2	98	0
16.0	2	10	88

流量：0.4 mL/min
カラム温度：40℃
注入量：2 μ L
保持時間：約 2.4 min

4.2. 質量分析計の操作条件

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)
正モード
コーンガス流量：50 L/h(N₂)
脱溶媒ガス流量：1000L/h(N₂)

脱溶媒ガス温度： 500℃
ソースブロック温度： 150℃
キャピラリー電圧： 1.0kV
コーン電圧： 34V
コリンジョン電圧： 16V
(コリンジョンガス;Ar)
イオン検出法： MRM 法
モニタリングイオン： プリカーサーイオン；m/z 256.12
プロダクトイオン；m/z 175.05

5. 検量線の作成

イミダクロプリド標準品20.2mgを20mL容メスフラスコに精秤し、アセトンに溶解して1000mg/L標準原液を調製した。これらの原液をアセトンで希釈して20mg/L標準溶液を調製し、さらにこの標準溶液をメタノールで希釈して0.0005, 0.001, 0.002, 0.01及び0.02mg/Lの標準溶液を調製した。これらの溶液を前記条件の液体クロマトグラフ・質量分析計に注入し、データ処理装置を用いてイミダクロプリドのピーク面積を測定し、横軸に重量(ng)、縦軸にピーク面積をとって検量線を作成した。

6. 分析操作

6.1. 試料の前処理

試料は、果梗を除去し、縦に4分割した後、冷凍庫（－20℃設定）に保存した。分析直前にミキサーを用いて全量を磨砕均一化した。

6.2. 抽出

均一化した試料20gをはかりとり、アセトン100mLを加え、30分間振とうした。抽出物をろ紙を敷いた桐山漏斗で吸引ろ過し、残渣をアセトン50mLで洗い、同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンで200mL定容とした。その2mL（試料0.2g相当量）を取り、40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、アセトンを留去した。

6.3. 多孔性ケイソウ土カラムによる精製

濃縮液にアセトニトリル／水（50:50, v/v）を加え約5 gとした後、多孔性ケイソウ土カラムに流下した。5分間放置後、酢酸エチル／ヘキサン（50:50, v/v）混液30mLで容器内を洗浄し多孔性ケイソウ土カラムに移して流下した。溶出液を取り、40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去した。

6.3. ENVI-Carb/PSA積層ミニカラムによる精製

ENVI-Carb/PSA積層ミニカラムにアセトン／ヘキサン（50:50, v/v）5mLを流下し前処理した。残留物をアセトン／ヘキサン（50:50, v/v）5mL積層ミニカラムに流下した。同様の操作を後2回繰り返し行った。全流下液を取り溶出液とした。この溶出液を40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去した。

6.4. 定量

残留物を適量のメタノールに溶解した。この溶液を前記条件の液体クロマトグラフ・質量分析計に注入してピーク面積を求め、検量線よりクロチアニジンの重量を求め、試料中の残留濃度を算出した。

7. 定量限界値及び検出限界値

定量限界相当量 (ng)	試料採取量 (g)	最終溶液 (mL)	注入量 (μL)	定量限界 (ppm)
0.002	0.2	2	2	0.01

最小検出量 (ng)	試料採取量 (g)	最終溶液 (mL)	注入量 (μL)	検出限界 (ppm)
0.001	0.2	2	2	0.005

8. 分析方法の妥当性確認

ガイドラインに基づき、分析法の妥当性確認のため分析方法の選択性及び回収率を確認した。

選択性は各無処理区試料のクロマトグラムに分析対象物質の定量を妨げるピークがなかったことから確認された。

回収率は普通りんごが青森植試料、福島植試料、長野植試料及び日植防山梨試料の無処理試料を用いて、定量限界相当（0.01ppm）及び1ppm添加濃度における回収試験を各ほ場試験場所2連、計8連分析で実施した。小型りんご（アルプス乙女）が青森植試料、福島植試料、及び長野植試料の無処理試料を用いて、定量限界相当（0.01ppm）及び1ppm添加濃度における回収試験を各ほ場試験場所2連、計6連分析で実施した。小型りんご（ドルゴ及びメイポール）は日植防山梨試料の無処理試料を用いて、定量限界相当（0.01ppm）及び1ppm添加濃度における回収試験を各5連分析で実施した。それぞれの平均回収率と併行相対標準偏差（RSDr）を算出した（表1～4）。その回収率と併行相対標準偏差が以下に示す条件を満たしたことを確認した。以上から採用した分析方法が妥当であることを確認した。

回収率及びRSDrの評価基準

添加濃度 (ppm)	平均回収率 (%)	RSDr*
0.01	60～120	≤ 30
1.0	70～110	≤ 10

*RSDr=標準偏差／平均値×100

表1. 普通りんご試料の平均回収率とRSDr

試料調製 場所	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					平均回収率 (%)	RSDr (%)
青森植, 福島植	1.0	104	103	103	97		105	3.8
		108	110	107	104			
長野植, 日植防山梨	0.01	102	106	103	106		105	2.1
		107	101	105	106			

表2. 小型りんご（アルプス乙女）試料の平均回収率とRSDr

試料調製 場所	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					平均回収率 (%)	RSDr (%)
青森植, 福島植, 長野植	1.0	92	98	105	100	100	98	4.3
	0.01	103	109	103	109	108	112	3.4

表3. 小型りんご（ドルゴ）試料の平均回収率とRSDr

試料調製 場所	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					平均回収率 (%)	RSDr (%)
日植防 山梨	1.0	105	102	102	102	106	103	1.9
	0.01	104	96	111	115	106	106	6.8

表4. 小型りんご（メイポール）試料の平均回収率とRSDr

試料調製 場所	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)					平均回収率 (%)	RSDr (%)
日植防 山梨	1.0	99	99	98	104	102	100	2.5
	0.01	101	98	103	106	103	102	2.9

9. 試料分析結果

無処理区を含む各試験区の分析結果を表5及び表6に示した。分析は各2連で行い、分析値の差を「R」で示した。また、各2連のRSDrを算出しその値が以下に示す評価基準を満たしたことを確認した。

残留濃度に対するRSDr及び差(R)の評価基準

残留濃度 (ppm)	RSDr*	差(R)
0.01～0.1以下	≤20	定量限界値の2倍以内
0.1超～1.0以下	≤15	

*RSDr=差(R)／平均値×100×0.89

表5. 普通りんご試料の分析結果

試料調製場所 (品種)	経過日数 (日)	分析値① (ppm)	分析値② (ppm)	R	平均値 (ppm)	RSDr (%)
青森植 (王林)	1	0.40	0.41	0.01	0.40	2.2
	3	0.22	0.20	0.02	0.21	8.5
	7	0.18	0.19	0.01	0.18	4.9
	14	0.15	0.14	0.01	0.14	6.4
	21	0.14	0.14	0.00	0.14	0.0
福島植 (ふじ)	1	0.30	0.30	0.00	0.30	0.0
	3	0.07	0.07	0.00	0.07	0.0
	7	0.07	0.07	0.00	0.07	0.0
	14	0.05	0.05	0.00	0.05	0.0
	21	0.05	0.05	0.00	0.05	0.0
長野植 (秋映)	1	0.19	0.18	0.01	0.18	4.9
	3	0.15	0.15	0.00	0.15	0.0
	7	0.13	0.12	0.01	0.12	7.4
	14	0.11	0.11	0.00	0.11	0.0
	21	0.10	0.10	0.00	0.10	0.0
日植防山梨 (シナノスイート)	1	0.09	0.09	0.00	0.09	0.0
	3	0.07	0.07	0.00	0.07	0.0
	7	0.10	0.11	0.01	0.10	8.9
	14	0.08	0.08	0.00	0.08	0.0
	21	0.09	0.09	0.00	0.09	0.0

各試料調製場所における無処理試料の分析結果は定量限界未満 (<0.01ppm)

表6. 小型りんご試料の分析結果

試料調製場所 (品種)	経過日数 (日)	分析値① (ppm)	分析値② (ppm)	R	平均値 (ppm)	RSDr (%)
青森植 (アルプス乙女)	1	0.79	0.77	0.02	0.78	2.3
	3	0.51	0.48	0.03	0.50	5.3
	7	0.49	0.49	0.00	0.49	0.0
	14	0.44	0.44	0.00	0.44	0.0
	21	0.41	0.41	0.00	0.41	0.0
福島植 (アルプス乙女)	1	0.72	0.75	0.03	0.74	3.6
	3	0.74	0.74	0.00	0.74	0.0
	7	0.56	0.57	0.01	0.56	1.6
	14	0.41	0.39	0.02	0.40	4.5
	21	0.32	0.32	0.00	0.32	0.0
長野植 (アルプス乙女)	1	0.31	0.30	0.01	0.30	3.0
	3	0.28	0.28	0.00	0.28	0.0
	7	0.21	0.23	0.02	0.22	8.1
	14	0.11	0.11	0.00	0.11	0.0
	21	0.09	0.09	0.00	0.09	0.0
日植防山梨 (ドルゴ)	1	0.33	0.35	0.02	0.34	5.2
	3	0.40	0.39	0.01	0.40	2.2
	7	0.24	0.26	0.02	0.25	7.1
	14	0.19	0.20	0.01	0.20	4.5
	21	0.19	0.21	0.02	0.20	4.5
日植防山梨 (メイポール)	1	0.18	0.17	0.01	0.18	4.9
	3	0.16	0.16	0.00	0.16	0.0
	7	0.12	0.11	0.01	0.12	7.4
	14	0.08	0.07	0.01	0.08	11.1
	21	0.04	0.04	0.00	0.04	0.0

各試料調製場所における無処理試料の分析結果は定量限界未満 (<0.01ppm)

10. 保存安定性確認

均一化した各無処理試料にイミダクロプリドを添加し、冷凍暗所（－20℃設定）に実試料の保存期間を満たすよう冷凍保存し、保存期間中の安定性を確認した。安定性は、保存期間終了後、実試料と同様に分析して回収率を求め平均回収率が70%を超えていることを確認した。表8及び表9に示したとおり、回収率に問題はなく保存中の安定性が確認された。

表7. 普通りんご試料の保存安定性確認結果

試料調製 場所	添加濃度 (ppm)	保存期間(日)		回収率		平均回収率 (%)
		実試料	保存試験試料	(%)		
青森植	1.0	23	37 (2017/10/21-11/27)	101	94	98
福島植	1.0	42	64 (2017/ 9/21-11/24)	98	100	99
長野植	1.0	42	63 (2017/ 9/20-11/22)	97	95	96
日植防山梨	1.0	54	75 (2017/ 9/7-11/21)	94	96	95

表8. 小型りんご試料の保存安定性確認結果

試料調製場所 (品種)	添加濃度 (ppm)	保存期間(日)		回収率		平均回収率
		実試料	保存試験試料	(%)		(%)
青森植 (アルプス乙女)	1.0	40	58 (2017/10/21-12/18)	103	103	103
福島植 (アルプス乙女)	1.0	69	88 (2017/ 9/21-12/18)	92	96	94
長野植 (アルプス乙女)	1.0	70	86 (2017/ 9/20-12/15)	91	92	92
日植防山梨 (ドルゴ)	1.0	40	43 (2017/ 9/7-10/20)	96	95	96
日植防山梨 (メイポール)	1.0	47	68 (2017/ 9/7-11/14)	96	93	95

11. 精度管理

ガイドラインに基づき、内部精度管理と外部精度管理を実施した。

内部精度管理については「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」（平成9年4月1日付け衛食第117号厚生省生活衛生局食品保健課長通知）に基づき、各ほ場の実試料分析と保存安定性試験を行うごとに、各1検体の無処理試料及びイミダクロプリド 0.1ppm添加試料を分析した。結果は、無処理区試料にはピークが検出されないこと及び添加試料の回収率が70～120%にあること確認し評価した。

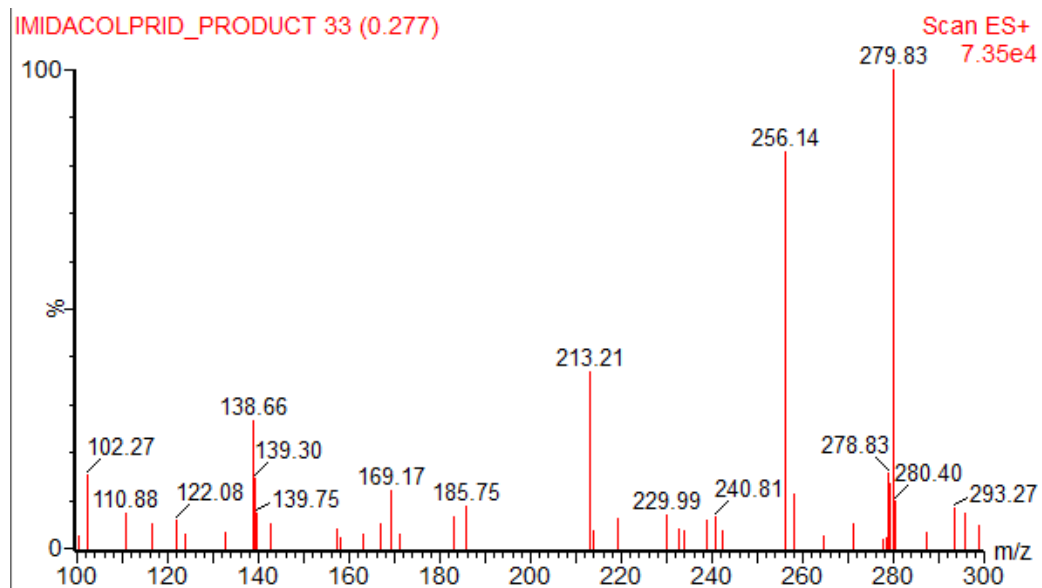
その結果、表7に示すとおり問題は認められず、一連の分析操作は適正に実施された。

又、外部精度管理として2017年6月実施の食品衛生精度管理比較調査（一般財団法人食品薬品安全センター）に参加した。その結果Zスコアは全て $Z < 2$ となり良好であった。

表9. 内部精度管理の結果

分析日	使用した圃場 (分析試料)	回収率 (%)	無処理区の分析値 (ppm)
2017/10/19	日植防山梨（ドルゴ）	102	<0.01
10/20	日植防山梨（ドルゴ_保存試験）	101	<0.01
10/24	日植防山梨（メイポール）	105	<0.01
10/31	日植防山梨（普通りんご）	100	<0.01
11/ 1	長野植（普通りんご）	100	<0.01
11/ 8	福島植（普通りんご）	97	<0.01
11/13	青森植（普通りんご）	103	<0.01
11/14	日植防山梨（メイポール_保存試験）	97	<0.01
11/21	日植防山梨（普通りんご_保存試験）	102	<0.01
11/22	長野植（普通りんご_保存試験）	103	<0.01
11/24	福島植（普通りんご_保存試験）	106	<0.01
11/27	青森植（普通りんご_保存試験）	105	<0.01
11/29	長野植（アルプス乙女）	105	<0.01
11/29	福島植（アルプス乙女）	101	<0.01
11/30	青森植（アルプス乙女）	102	<0.01
12/15	長野植（アルプス乙女_保存試験）	106	<0.01
12/18	青森植（アルプス乙女_保存試験）	113	<0.01
12/18	福島植（アルプス乙女_保存試験）	109	<0.01

イミダクロプリドのマススペクトル（一次イオン）の一例（正モード）



イミダクロプリドのプロダクトスキャンスペクトルの一例
(プリカーサーイオン $m/z=256.1$, 正モード)



図.1 マススペクトル

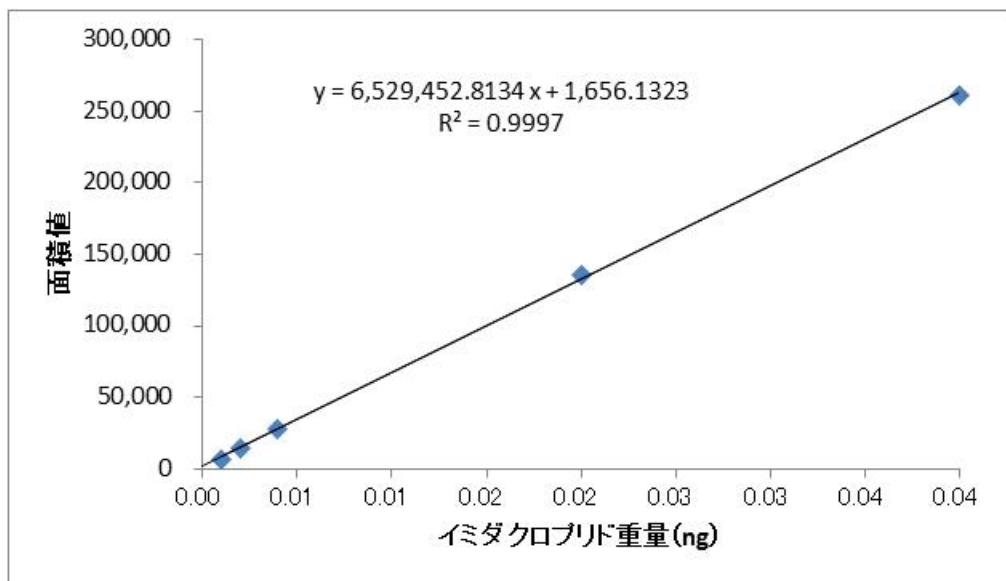


図.2 検量線の一例

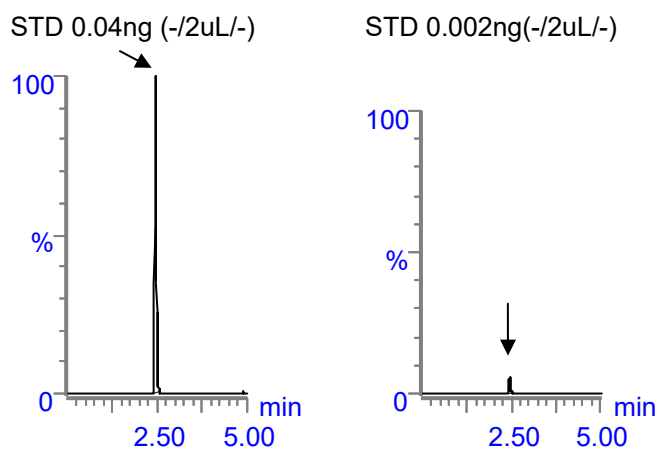


図3.標準溶液のクロマトグラム

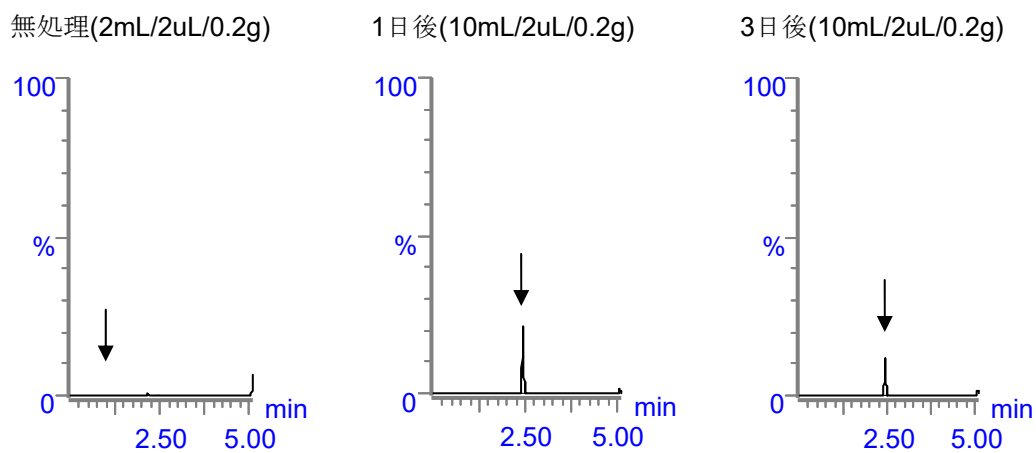


図4-1. 青森植試料のクロマトグラム (王林)

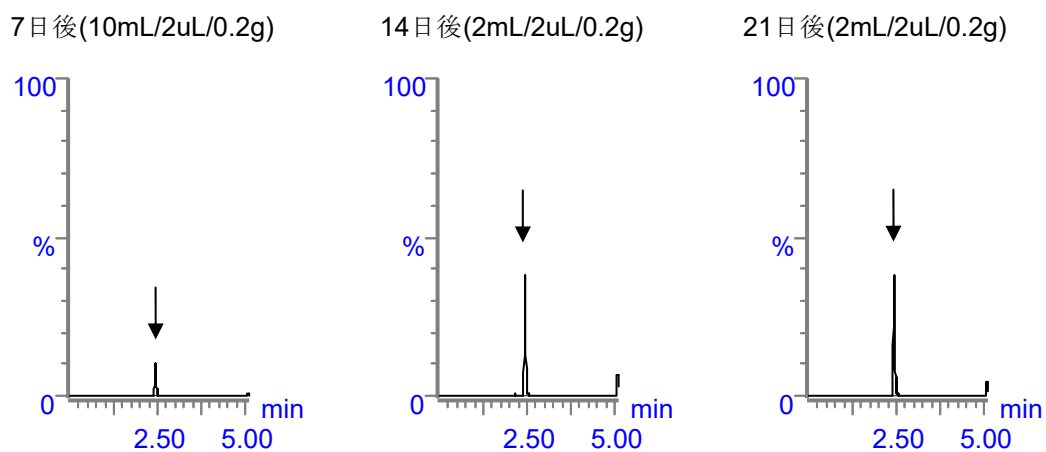


図4-2. 青森植試料のクロマトグラム (王林)

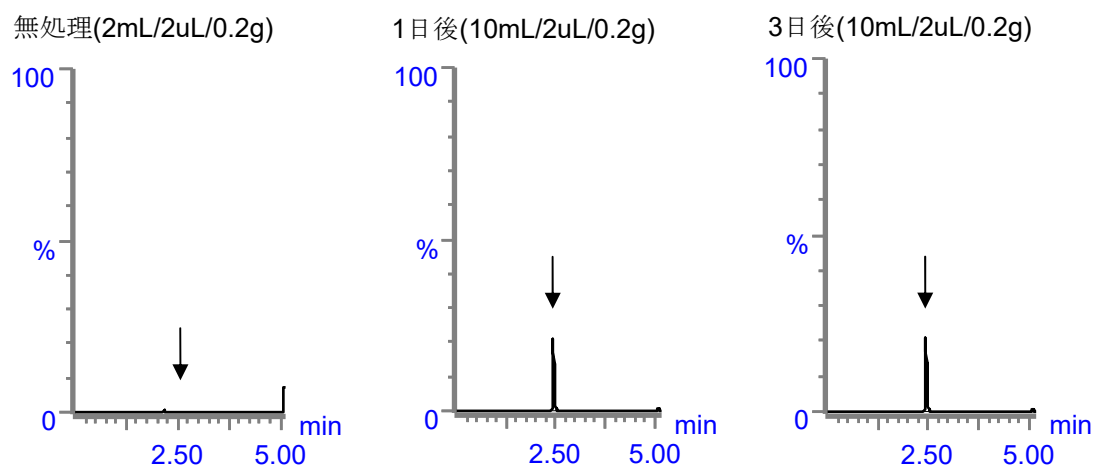


図5-1. 福島植試料のクロマトグラム (ふじ)

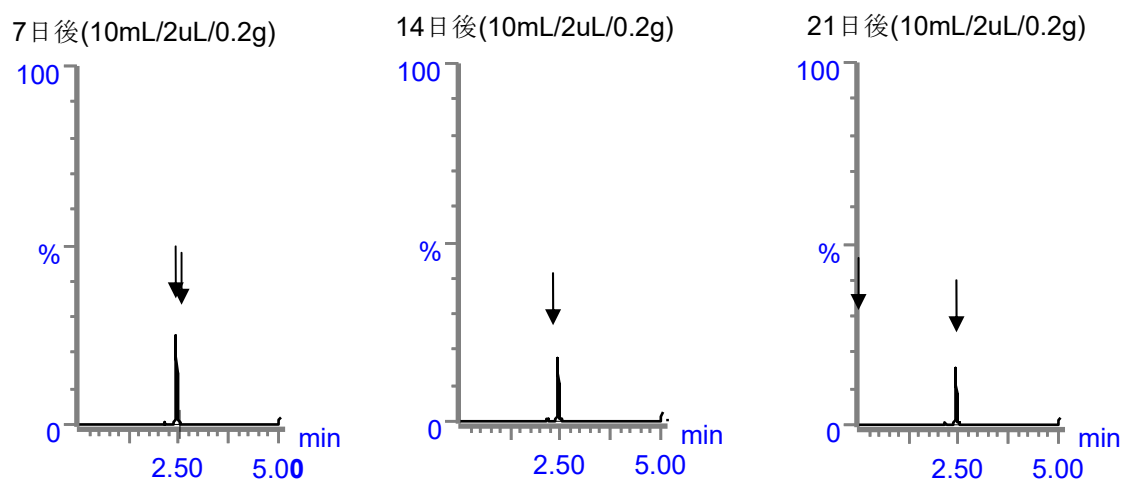


図5-2. 福島植試料のクロマトグラム (ふじ)

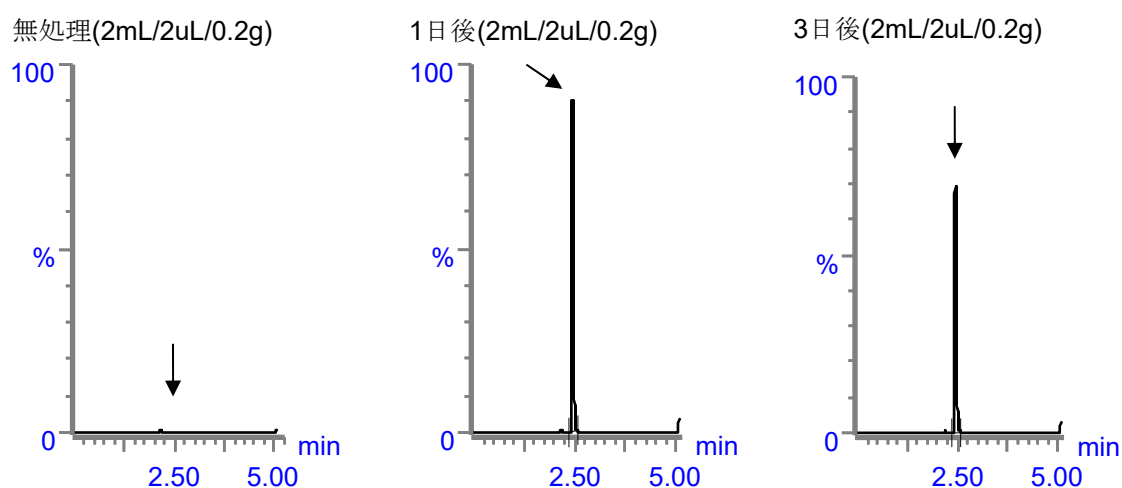


図6-1. 長野植試料のクロマトグラム (秋映)

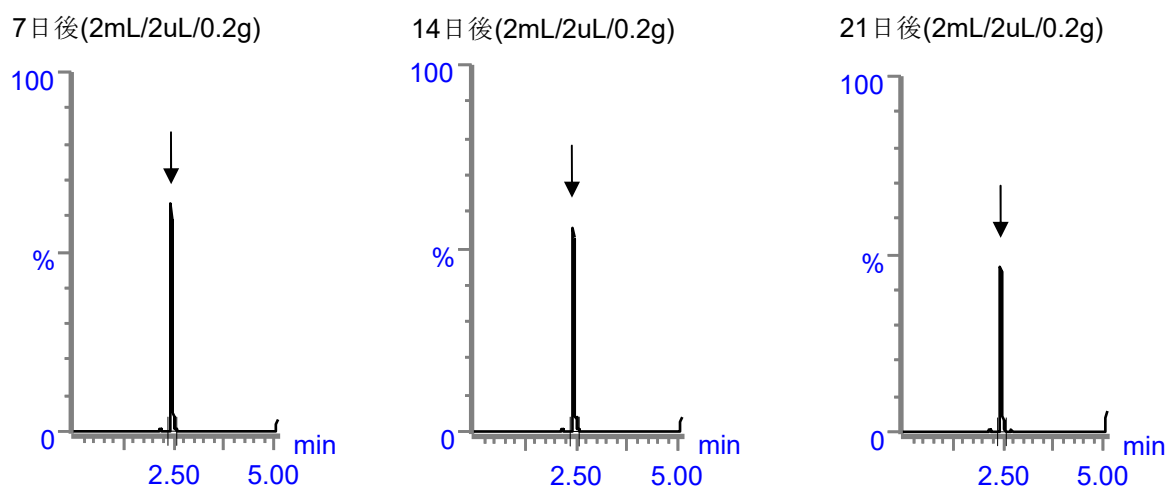


図6-2. 長野植試料のクロマトグラム (秋映)

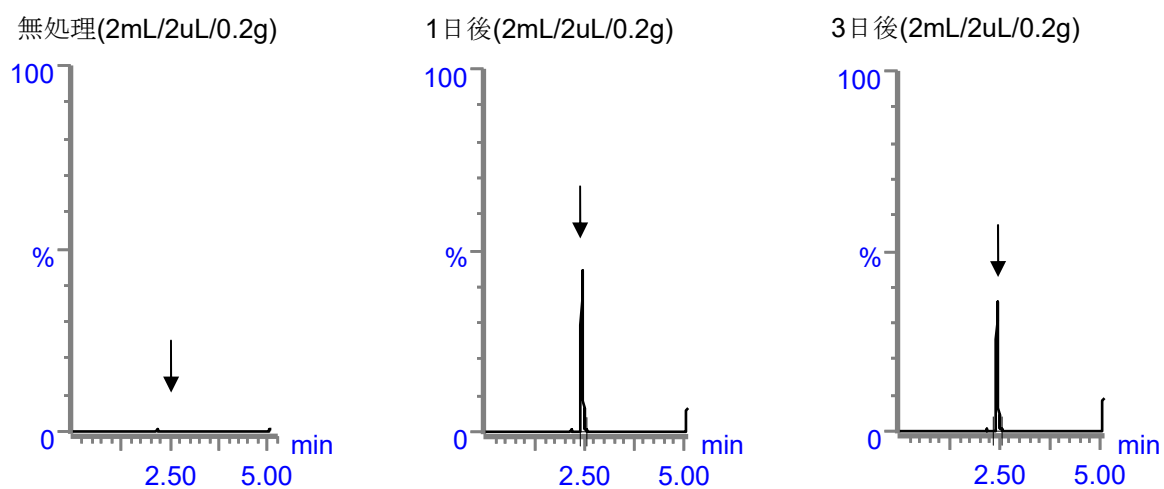


図7-1. 日植防山梨試料のクロマトグラム (シナノスイート)

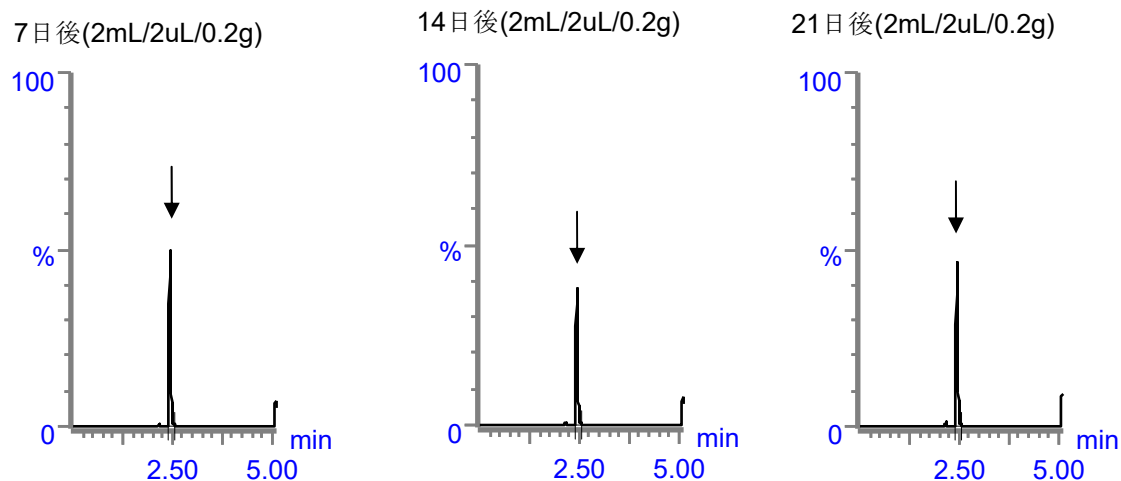


図7-2. 日植防山梨試料のクロマトグラム (シナノスイート)

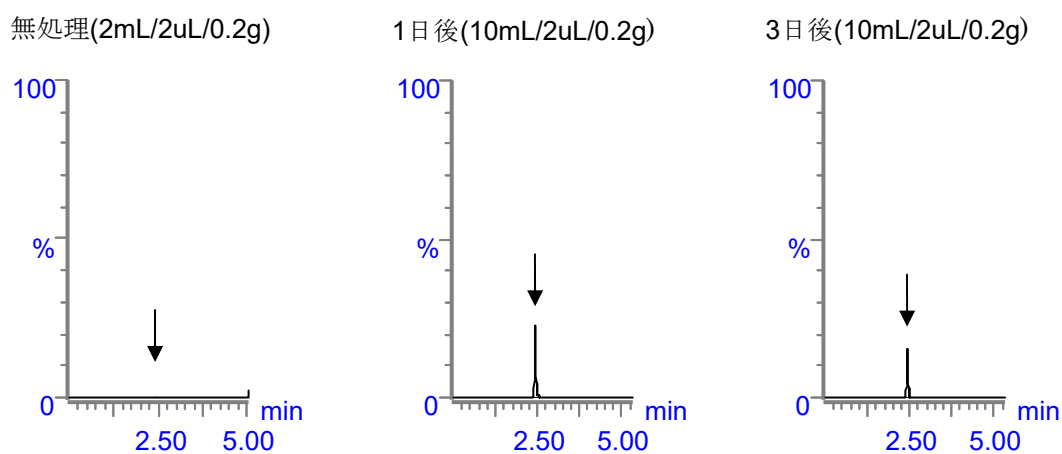


図8-1. 青森植試料のクロマトグラム (アルプス乙女)

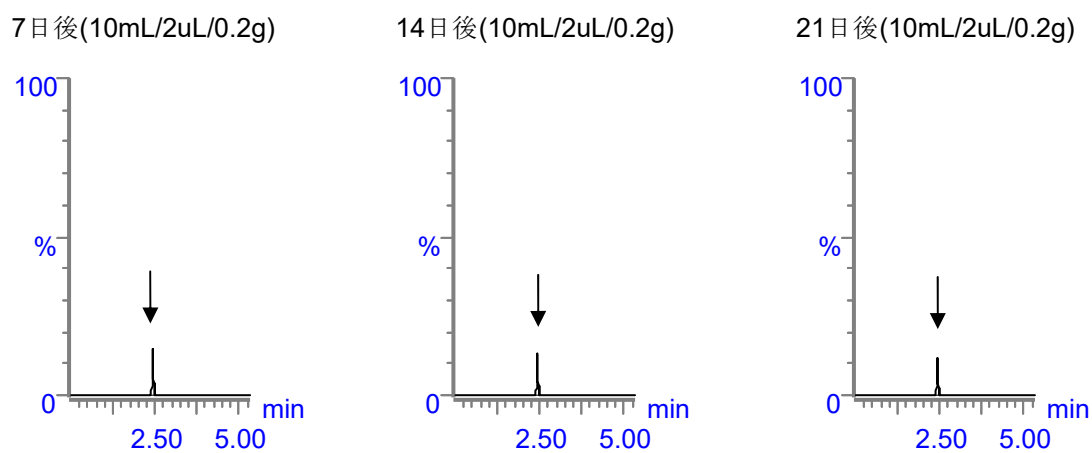


図8-2. 青森植試料のクロマトグラム (アルプス乙女)

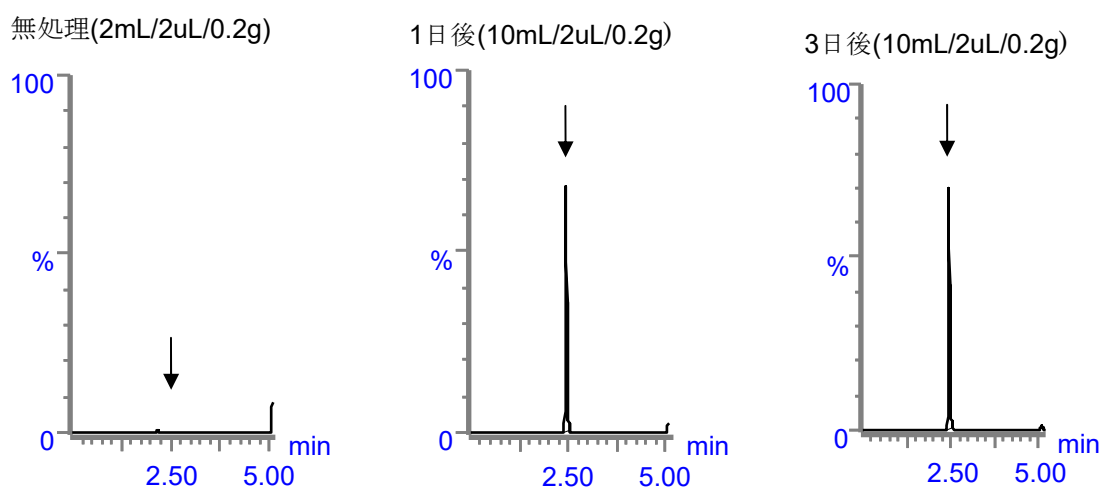


図9-1. 福島植試料のクロマトグラム (アルプス乙女)

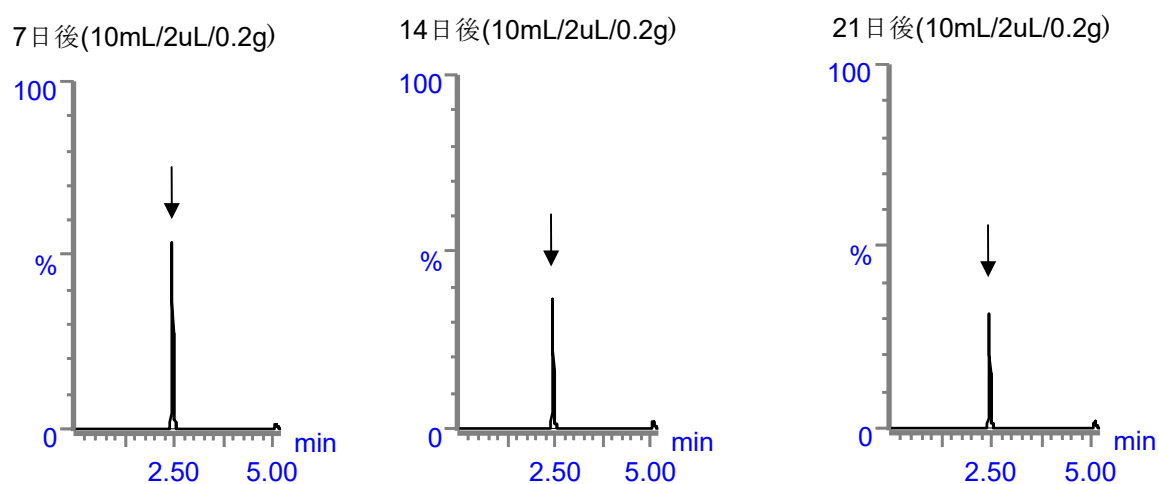


図9-2. 福島植試料のクロマトグラム (アルプス乙女)

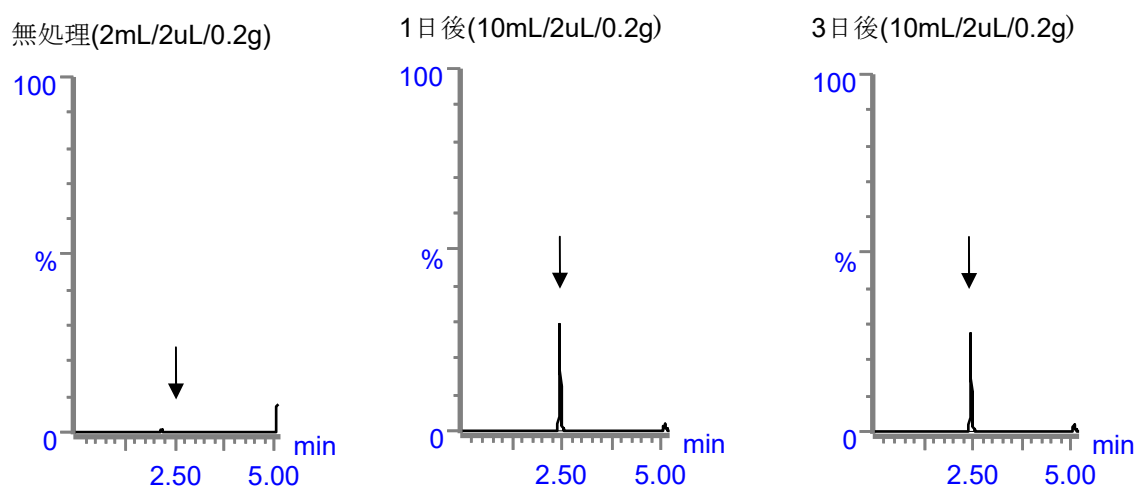


図10-1. 長野植試料のクロマトグラム (アルプス乙女)

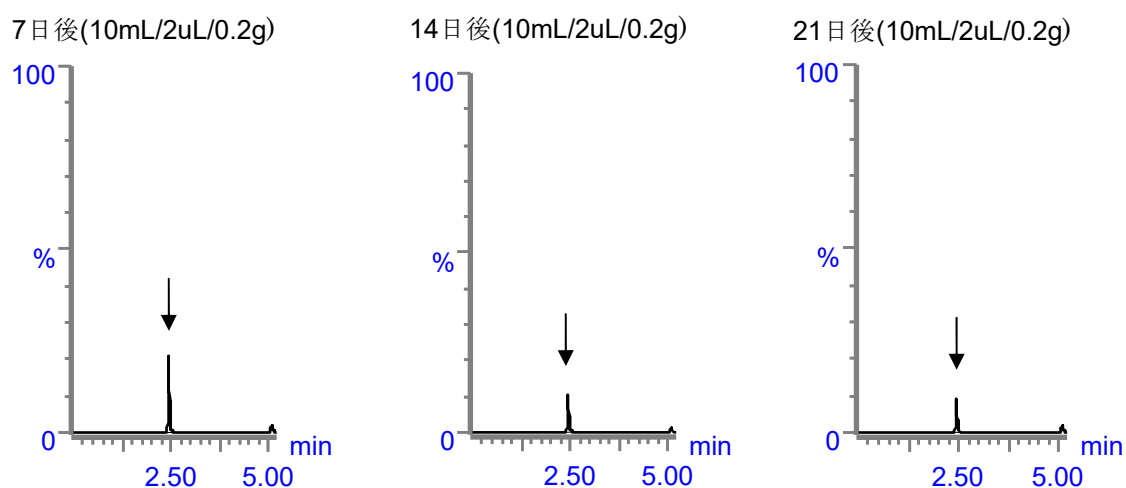


図10-2. 長野植試料のクロマトグラム (アルプス乙女)

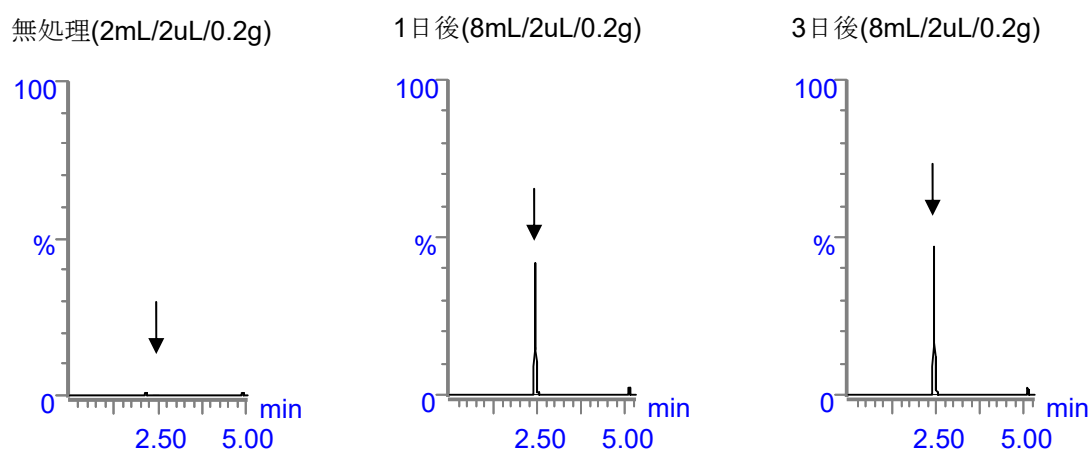


図11-1. 日植防山梨試料のクロマトグラム (ドルゴ)

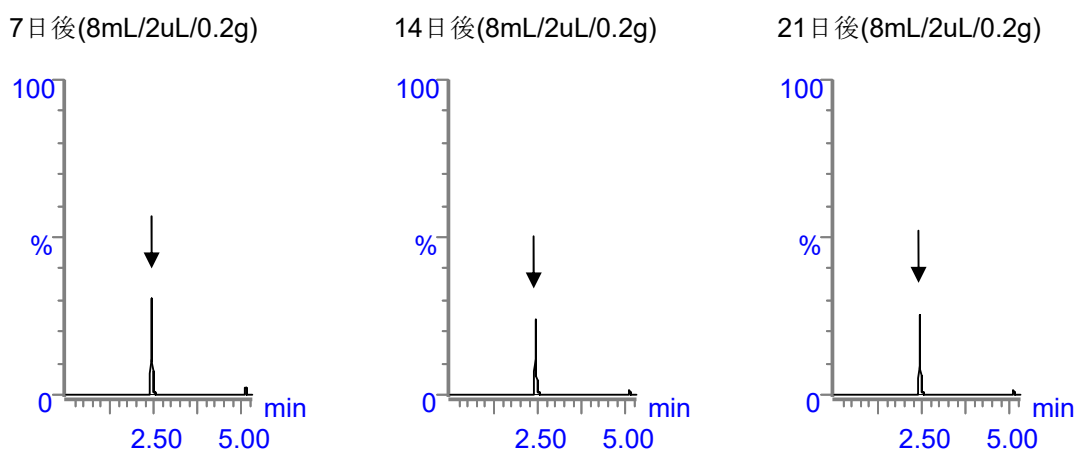


図11-2. 日植防山梨試料のクロマトグラム (ドルゴ)

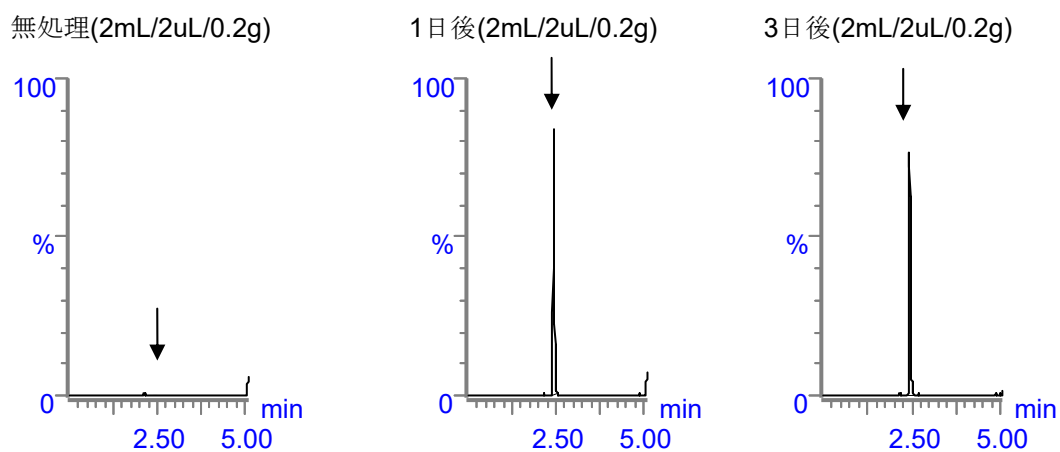


図12-1. 日植防山梨試料のクロマトグラム (メイポール)

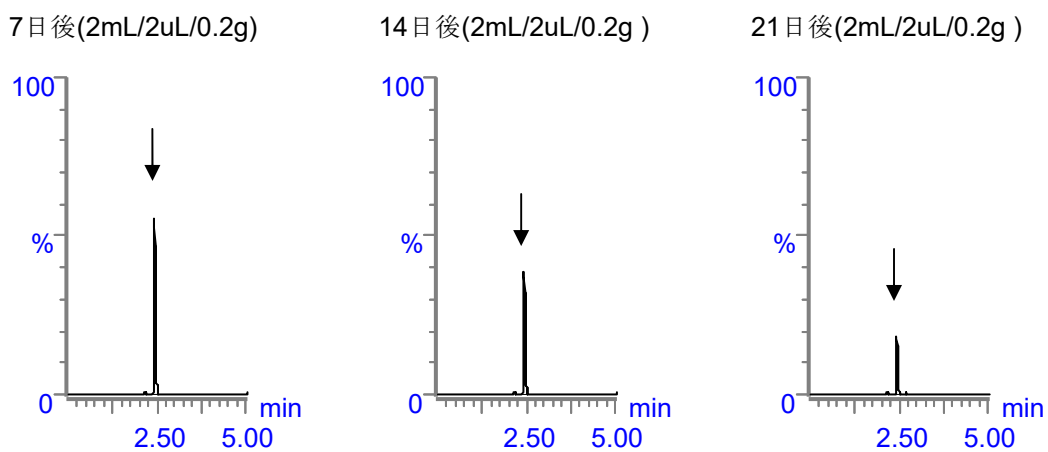


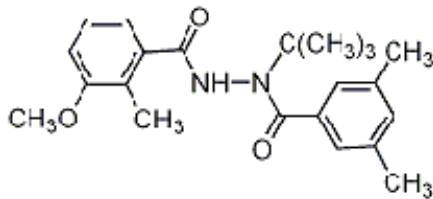
図12-2. 日植防山梨試料のクロマトグラム (メイポール)

II. メトキシフェノジド

1. 分析対象物質

メトキシフェノジド

化学構造式：



化学名： *N*-tert-butyl-*N'*-(3-methoxy-*o*-toluoyl)-3,5-xylohydrazide

化学式： $C_{22}H_{28}N_2O_3$

分子量： 368.5

性状： 白色固体

融点： 204–206°C

蒸気圧： $<1.33 \times 10^{-5}$ Pa (25°C)

オクタノール／水分配係数： $\log P_{ow} = 3.72$ (pH=7.07)

溶解性： 水3.3mg/L (20°C), メタノール50.3 g/L, アセトン41.5 g/L,
ジクロロメタン9.16 g/L, キシレン 0.214g/L, n-ヘキサン8.6mg/L
(以上 20°C)

安定性： 熱；220°Cで安定

加水分解半減期 (24.9±1.6°C)；587日 (pH5), 1572日 (pH7),
695日 (pH9)

水中光分解性半減期 (25°C)；2166日 (pH7), 77日 (自然水)

出典： 農薬ハンドブック 2016年版

2. 標準品及び試薬

メトキシフェノジド標準品：純度 99.0% (Dr.Ehrenstorfer 製)

アセトニトリル, アセトン, ヘキサン, 酢酸エチル：残留農薬試験用 (関東化学製)

メタノール：LC-MS 用 (関東化学製)

水：ピュアライト PRA-0015-0V1 (オカノ製) 及びピュリック Z II (オカノ製) で精製した水

多孔性ケイソウ土カラム：InertSep K-solute 5mL 容 (ジーエルサイエンス製)

積層ミニカラム：ENVI-Carb II/PSA SPE Tube 500mg/300mg/6mL (スペルコ製)

3. 装置及び機器

ミキサー：クイジナート DLC-NXJ2 (クイジナート・アメリカ製)

液体クロマトグラフ／タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)：Xevo TQ-S micro(Waters 製)

データ処理ソフトウェア：MassLynx(Waters 製)

4. 測定機器の操作条件

4.1. 液体クロマトグラフの操作条件

カラム： ACQUITY UPLC HSS T3 (waters 製)
内径 2.1mm, 長さ 100mm, 粒径 1.8 μ m

溶離液： A 液：100 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液
B 液：メタノール
C 液：水

時間	A	B	C
0	2	10	88
0.5	2	40	58
2.0	2	40	58
3.0	2	50	48
4.0	2	55	43
11.0	2	98	0
13.0	2	98	0
16.0	2	10	88

流量： 0.4 mL/min

カラム温度： 40°C

注入量： 2 μ L

保持時間： 約 7.7min

4.2. 質量分析計の操作条件

イオン化法： エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)
正モード

コーンガス流量： 50 L/h(N₂)

脱溶媒ガス流量： 1000L/h(N₂)

脱溶媒ガス温度： 500°C

ソースブロック温度： 150°C

キャピラリー電圧： 1.0kV

コーン電圧： 34V

コリジョン電圧： 16V
(コリジョンガス;Ar)

イオン検出法： MRM 法

モニタリングイオン： プリカーサーイオン ; m/z 369.2
プロダクトイオン ; m/z 313.2

5. 検量線の作成

メトキシフェノジド標準品20.2mgを20mL容メスフラスコに精秤し、アセトンに溶解して1000mg/L標準原液を調製した。これらの原液をアセトンで希釈して20mg/L標準溶液を調製し、さらにこの標準溶液をメタノールで希釈して0.0005, 0.001, 0.002, 0.01及び0.02mg/Lの標準溶液を調製した。これらの溶液を前記条件の液体クロマトグラフ・質量分析計に注入し、データ処理装置を用いてメトキシフェノジドのピーク面積を測定し、横軸に重量(ng), 縦軸にピーク面積をとって検量線を作成した。

6. 分析操作

6.1. 試料の前処理

試料は、果梗を除去し、縦に4分割した後、冷凍庫（-20℃設定）に保存した。分析直前にミキサーを用いて全量を磨砕均一化した。

6.2. 抽出

均一化した試料20gをはかりとり、アセトン100mLを加え、30分間振とうした。抽出物をろ紙を敷いた桐山漏斗で吸引ろ過し、残渣をアセトン50mLで洗い、同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンで200mL定容とした。その2mL（試料0.2g相当量）を取り、40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、アセトンを留去した。

6.3. 多孔性ケイソウ土カラムによる精製

濃縮液にアセトニトリル／水（50:50, v/v）を加え約5 gとした後、多孔性ケイソウ土カラムに流下した。5分間放置後、酢酸エチル／ヘキサン（50:50, v/v）混液30mLで容器内を洗浄し多孔性ケイソウ土カラムに移して流下した。溶出液を取り、40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去した。

6.3. ENVI-Carb/PSA積層ミニカラムによる精製

ENVI-Carb/PSA積層ミニカラムにアセトン／ヘキサン（50:50, v/v）5mLを流下し前処理した。残留物をアセトン／ヘキサン（50:50, v/v）5mL積層ミニカラムに流下した。同様の操作を後2回繰り返し行った。全流下液を取り溶出液とした。この溶出液を40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去した。

6.4. 定量

残留物を適量のメタノールに溶解した。この溶液を前記条件の液体クロマトグラフ・質量分析計に注入してピーク面積を求め、検量線よりメトキシフェノジドの重量を求め、試料中の残留濃度を算出した。

7. 定量限界値及び検出限界値

定量限界相当量 (ng)	試料採取量 (g)	最終溶液 (mL)	注入量 (μL)	定量限界 (ppm)
0.002	0.2	2	2	0.01

最小検出量 (ng)	試料採取量 (g)	最終溶液 (mL)	注入量 (μL)	検出限界 (ppm)
0.001	0.2	2	2	0.005

8. 分析方法の妥当性確認

ガイドラインに基づき、分析法の妥当性確認のため分析方法の選択性及び回収率を確認した。

選択性は各無処理区試料のクロマトグラムに分析対象物質の定量を妨げるピークがなかったことから確認された。

回収率は普通りんごが青森植試料、福島植試料、長野植試料及び日植防山梨試料の無処理試料を用いて、定量限界相当（0.01ppm）及び1ppm添加濃度における回収試験を各ほ場試験場所2連、計8連分析で実施した。小型りんご（アルプス乙女）が青森植試料、福島植試料、及び長野植試料の無処理試料を用いて、定量限界相当（0.01ppm）及び1ppm添加濃度における回収試験を各ほ場試験場所2連、計6連分析で実施した。小型りんご（ドルゴ及びメイポール）は日植防山梨試料の無処理試料を用いて、定量限界相当（0.01ppm）及び1ppm添加濃度における回収試験を各5連分析で実施した。それぞれの平均回収率と併行相対標準偏差（RSDr）を算出した（表1～4）。その回収率と併行相対標準偏差が以下に示す条件を満たしたことを確認した。以上から採用した分析方法が妥当であることを確認した。

回収率及びRSDrの評価基準

添加濃度 (ppm)	平均回収率 (%)	RSDr*
0.01	60～120	≤ 30
1.0	70～110	≤ 10

*RSDr＝標準偏差／平均値×100

表1. 普通りんご試料の平均回収率とRSDr

試料調製 場所	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)				平均回収率 (%)	RSDr (%)
青森植, 福島植, 長野植, 日植防山梨	1.0	102	102	101	97	104	4.5
		109	110	109	104		
	0.01	91	95	88	95	93	2.6
		94	94	93	94		

表2. 小型りんご（アルプス乙女）試料の平均回収率とRSDr

試料調製 場所	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)						平均回収率 (%)	RSDr (%)
青森植, 福島植, 長野植	2.0*	97	100	103	102	102	98	100	2.4
	1.0	92	97	104	103	100	99	99	4.4
	0.01	100	102	108	109	107	112	106	4.2

*：青森植，福島植の各3連、計6連で実施

表3. 小型りんご（ドルゴ）試料の平均回収率とRSDr

試料調製 場所	添加濃度 (mg/kg)		回収率 (%)				平均回収率 (%)	RSDr (%)
日植防 山梨	2.0	98	103	103	103	102	102	2.1
	1.0	102	98	103	102	103	102	2.0
	0.01	105	103	102	100	98	102	2.7

表4. 小型りんご（メイポール）試料の平均回収率とRSDr

試料調製 場所	添加濃度 (mg/kg)				回収率 (%)		平均回収率 (%)	RSDr (%)
日植防 山梨	1.0	98	99	99	102	102	100	1.9
	0.01	102	105	97	96	95	99	4.3

9. 試料分析結果

無処理区を含む各試験区の分析結果を表5及び表6に示した。分析は各2連で行い、分析値の差を「R」で示した。また、各2連のRSDrを算出しその値が以下に示す評価基準を満たしたことを確認した。

残留濃度に対するRSDr及び差(R)の評価基準

残留濃度 (ppm)	RSDr*	差(R)
0.1超～1.0以下	≤ 15	定量限界値の2倍以内
1.0超	≤ 10	

*RSDr = 差(R) / 平均値 × 100 × 0.89

表5. 普通りんご試料の分析結果

試料調製場所 (品種)	経過日数 (日)	分析値① (ppm)	分析値② (ppm)	R	平均値 (ppm)	RSDr (%)
青森植 (王林)	1	0.98	0.93	0.05	0.96	4.6
	3	0.86	0.84	0.02	0.85	2.1
	7	0.69	0.63	0.06	0.66	8.1
	14	0.60	0.58	0.02	0.59	3.0
	21	0.63	0.61	0.02	0.62	2.9
福島植 (ふじ)	1	0.86	0.79	0.07	0.82	7.6
	3	0.61	0.58	0.03	0.60	4.5
	7	0.59	0.57	0.02	0.58	3.1
	14	0.53	0.51	0.02	0.52	3.4
	21	0.51	0.50	0.01	0.50	1.8
長野植 (秋映)	1	0.58	0.57	0.01	0.58	1.5
	3	0.54	0.50	0.04	0.52	6.8
	7	0.65	0.58	0.07	0.62	10.0
	14	0.54	0.53	0.01	0.54	1.6
	21	0.58	0.55	0.03	0.56	4.8
日植防山梨 (シナノスイート)	1	0.42	0.38	0.04	0.40	8.9
	3	0.43	0.41	0.02	0.42	4.2
	7	0.61	0.59	0.02	0.60	3.0
	14	0.35	0.34	0.01	0.34	2.6
	21	0.44	0.43	0.01	0.44	2.0

各試料調製場所における無処理試料の分析結果は定量限界未満 (<0.01ppm)

表6. 小型りんご試料の分析結果

試料調製 場所	経過日数 (日)	分析値① (ppm)	分析値② (ppm)	R	平均値 (ppm)	RSDr (%)
青森植 (アルプス乙女)	1	1.34	1.33	0.01	1.34	0.7
	3	1.10	1.08	0.02	1.09	1.6
	7	1.14	1.13	0.01	1.14	0.8
	14	0.96	0.95	0.01	0.96	0.9
	21	1.00	0.98	0.02	0.99	1.8
福島植 (アルプス乙女)	1	1.33	1.25	0.08	1.29	5.5
	3	1.35	1.26	0.09	1.30	6.2
	7	1.39	1.36	0.03	1.38	1.9
	14	1.00	0.95	0.05	0.98	4.5
	21	0.94	0.90	0.01	0.92	3.9
長野植 (アルプス乙女)	1	0.62	0.61	0.01	0.62	1.4
	3	0.60	0.58	0.02	0.59	3.0
	7	0.65	0.63	0.02	0.64	2.8
	14	0.41	0.38	0.03	0.40	6.7
	21	0.37	0.35	0.02	0.36	4.9
日植防山梨 (ドルゴ)	1	1.20	1.16	0.04	1.18	3.0
	3	1.41	1.31	0.10	1.36	6.5
	7	1.38	1.29	0.09	1.34	6.0
	14	1.18	1.09	0.09	1.14	7.0
	21	1.20	1.19	0.01	1.20	0.7
日植防山梨 (メイポール)	1	0.88	0.83	0.05	0.86	5.2
	3	0.89	0.88	0.01	0.88	1.0
	7	0.82	0.82	0.00	0.82	0.0
	14	0.55	0.54	0.01	0.54	1.6
	21	0.38	0.37	0.01	0.38	0.9

各試料調製場所における無処理試料の分析結果は定量限界未満 (<0.01ppm)

10. 保存安定性確認

均一化した各無処理試料にメトキシフェノジドを添加し、冷凍暗所（－20℃設定）に実試料の保存期間を満たすよう冷凍保存し、保存期間中の安定性を確認した。安定性は、保存期間終了後、実試料と同様に分析して回収率を求め平均回収率が70%を超えていることを確認した。表8及び表9に示したとおり、回収率に問題はなく保存中の安定性が確認された。

表7. 普通りんご試料の保存安定性確認結果

試料調製 場所	添加濃度 (ppm)	保存期間(日)		回収率		平均回収率 (%)
		実試料	保存試験試料	(%)		
青森植	1.0	23	37(2017/10/21-11/27)	88	93	91
福島植	1.0	42	64 (2017/ 9/21-11/24)	90	93	92
長野植	1.0	42	63 (2017/ 9/20-11/22)	92	99	96
日植防山梨	1.0	54	75 (2017/ 9/7-11/21)	92	91	92

表8. 小型りんご試料の保存安定性確認結果

試料調製場所 (品種)	添加濃度 (ppm)	保存期間(日)		回収率		平均回収率
		実試料	保存試験試料	(%)		(%)
青森植 (アルプス乙女)	1.0	40	58 (2017/10/21-12/18)	91	88	90
福島植 (アルプス乙女)	1.0	69	88 (2017/ 9/21-12/18)	88	94	91
長野植 (アルプス乙女)	1.0	70	86 (2017/ 9/20-12/15)	83	85	84
日植防山梨 (ドルゴ)	1.0	40	43 (2017/ 9/7-10/20)	94	94	94
日植防山梨 (メイポール)	1.0	47	68 (2017/ 9/7-11/14)	83	87	85

11. 精度管理

ガイドラインに基づき、内部精度管理と外部精度管理を実施した。

内部精度管理については「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」（平成9年4月1日付け衛食第117号厚生省生活衛生局食品保健課長通知）に基づき、各ほ場の実試料分析と保存安定性試験を行うごとに、各1検体の無処理試料及びメトキシフェノジド0.1ppm添加試料を分析した。結果は、無処理区試料にはピークが検出されないこと及び添加試料の回収率が70～120%の範囲にあること確認し評価した。

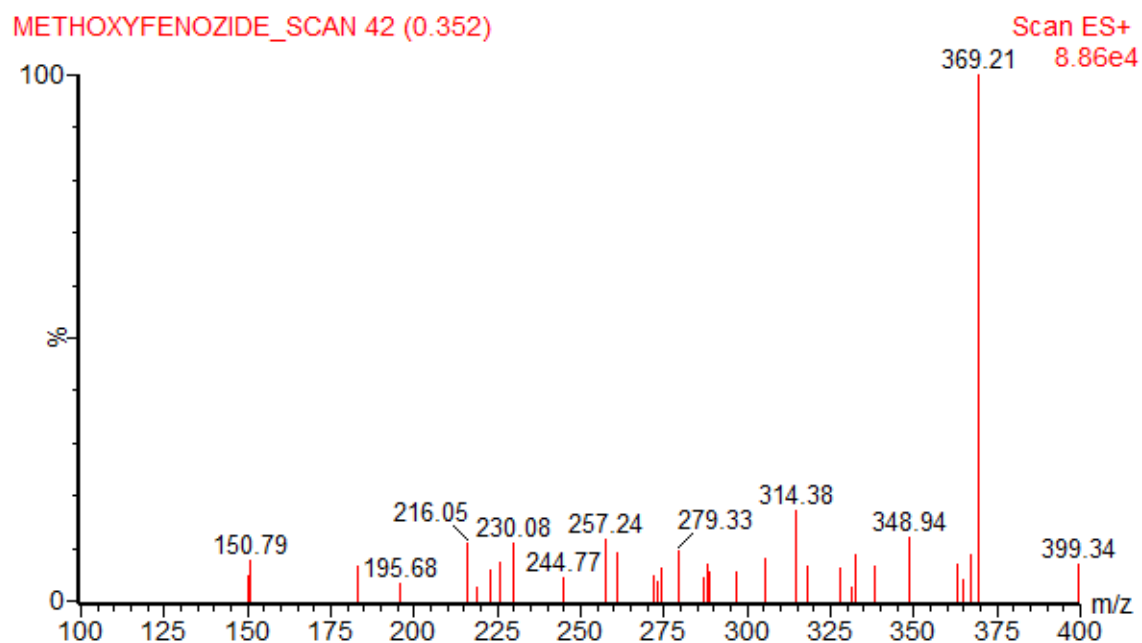
その結果、表7に示すとおり問題は認められず、一連の分析操作は適正に実施された。

又、外部精度管理として2017年6月実施の食品衛生精度管理比較調査（一般財団法人食品薬品安全センター）に参加した。その結果Zスコアは全て $Z < 2$ となり良好であった。

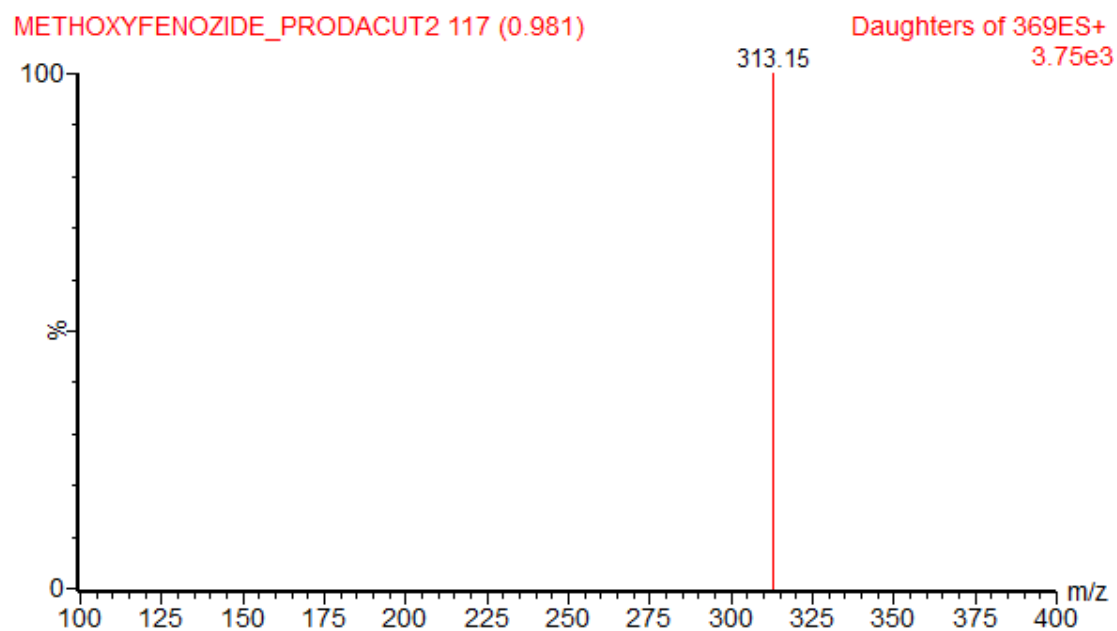
表9. 内部精度管理の結果

分析日	使用した圃場 (分析試料)	回収率 (%)	無処理区の分析値 (ppm)
2017/10/19	日植防山梨（ドルゴ）	99	<0.01
10/20	日植防山梨（ドルゴ_保存試験）	99	<0.01
10/24	日植防山梨（メイポール）	108	<0.01
10/31	日植防山梨（普通りんご）	102	<0.01
11/ 1	長野（普通りんご）	103	<0.01
11/ 8	福島（普通りんご）	98	<0.01
11/13	青森（普通りんご）	100	<0.01
11/14	日植防山梨（メイポール_保存試験）	90	<0.01
11/21	日植防山梨（普通りんご_保存試験）	100	<0.01
11/22	長野（普通りんご_保存試験）	104	<0.01
11/24	福島（普通りんご_保存試験）	104	<0.01
11/27	青森（普通りんご_保存試験）	104	<0.01
11/29	長野（アルプス乙女）	106	<0.01
11/29	福島（アルプス乙女）	100	<0.01
11/30	青森（アルプス乙女）	100	<0.01
12/15	長野（アルプス乙女_保存試験）	103	<0.01
12/18	青森（アルプス乙女_保存試験）	115	<0.01
12/18	福島（アルプス乙女_保存試験）	108	<0.01

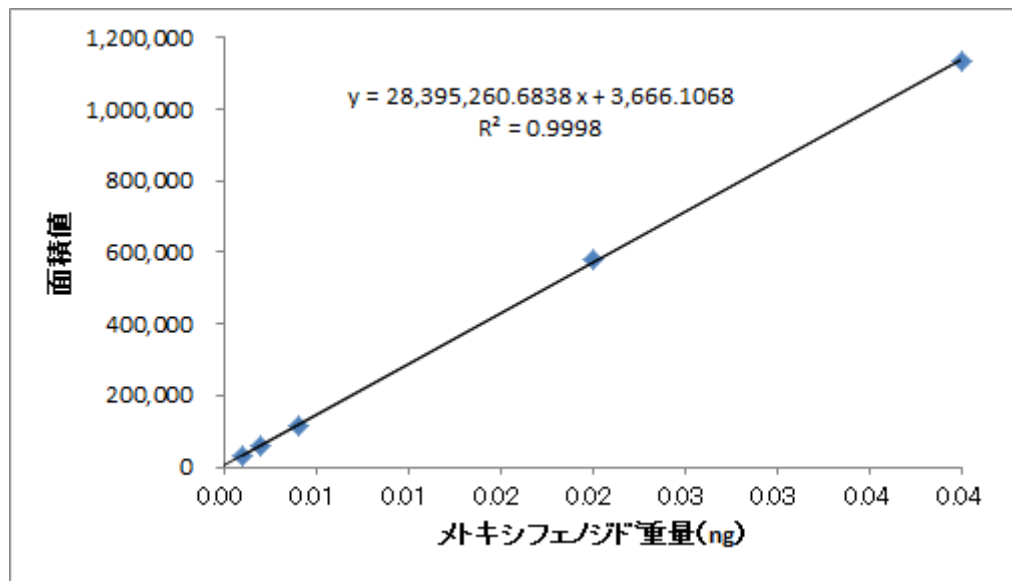
メトキシフェノジドのマススペクトル（一次イオン）の一例（正モード）



メトキシフェノジドのプロダクトスキャンスペクトルの一例
(プリカーサーイオン m/z=369.2, 正モード)



付図1. マススペクトル



付図2. 検量線の一例

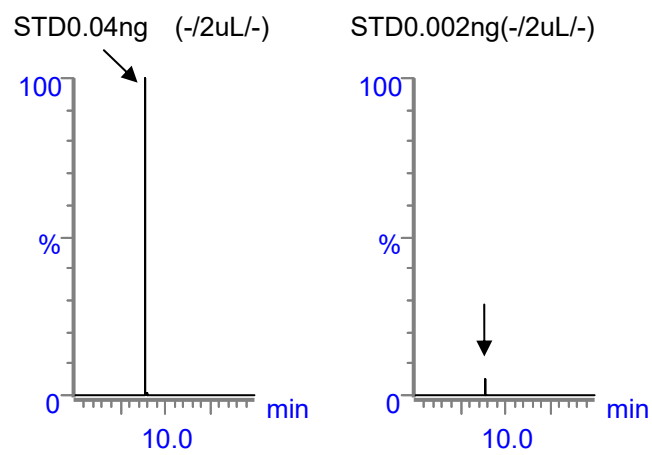


図3. 標準品のクロマトグラム

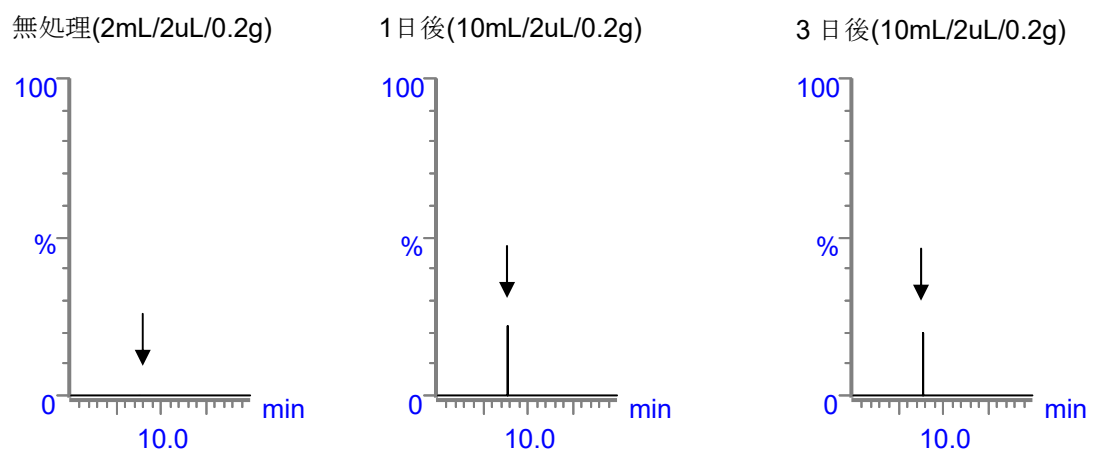


図4-1. 青森植試料のクロマトグラム (王林)

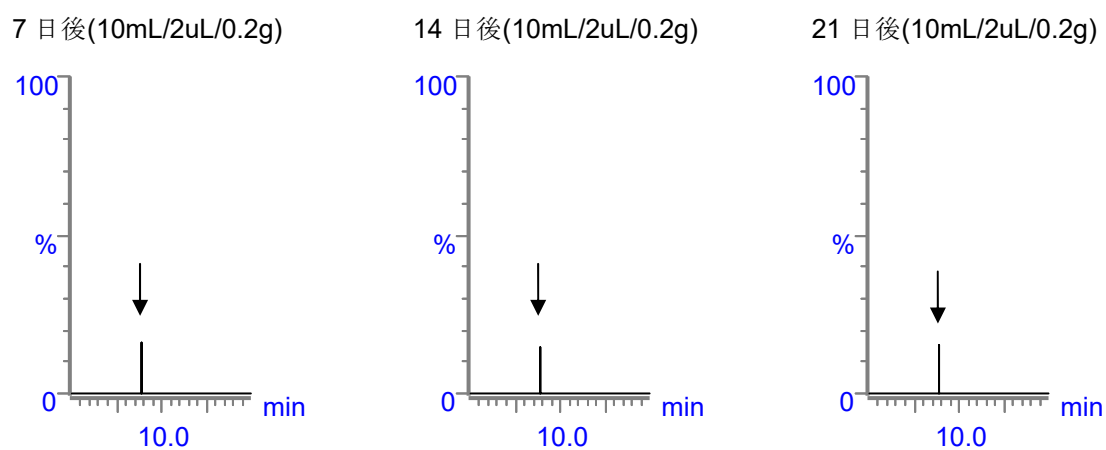


図4-2. 青森植試料のクロマトグラム (王林)

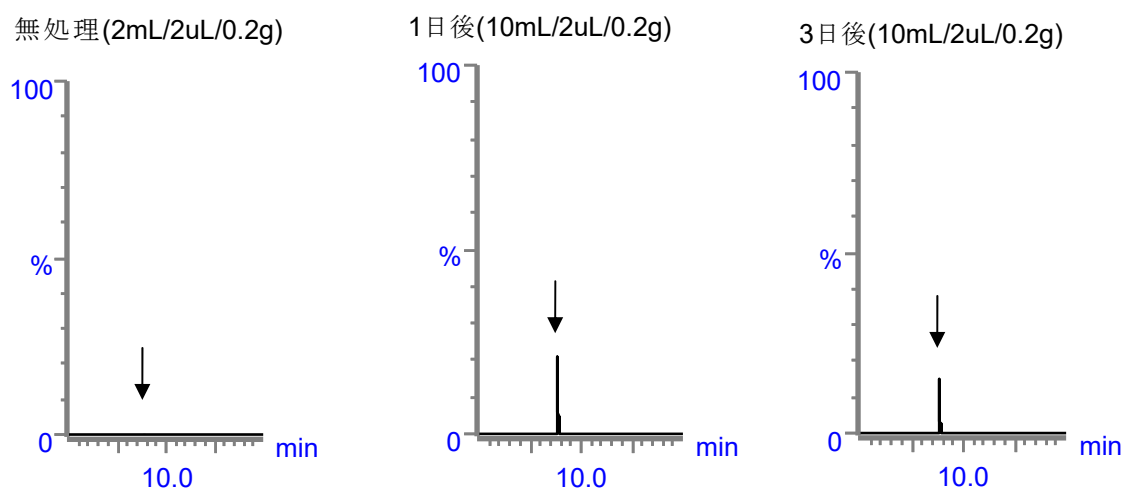


図5-1. 福島植試料のクロマトグラム (ふじ)

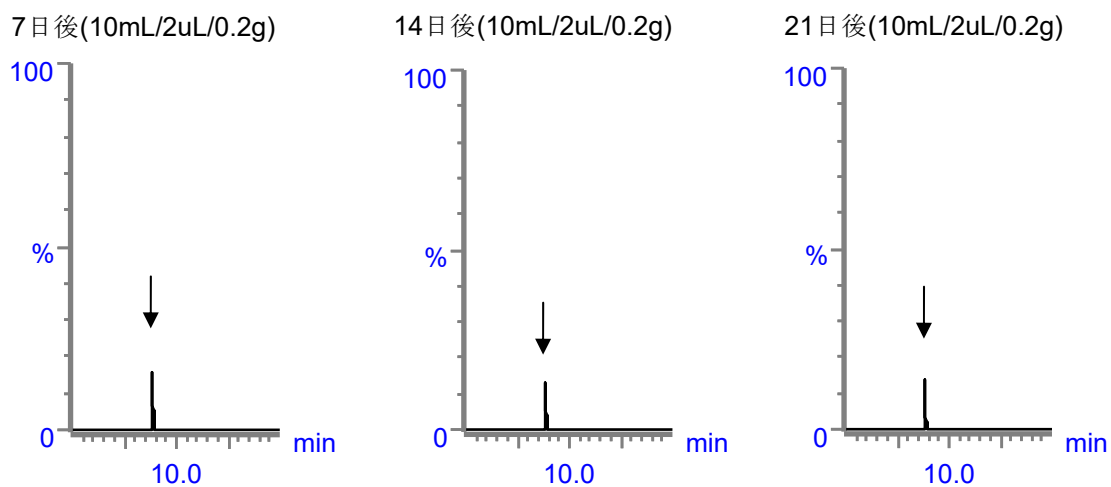


図5-2. 福島植試料のクロマトグラム (ふじ)

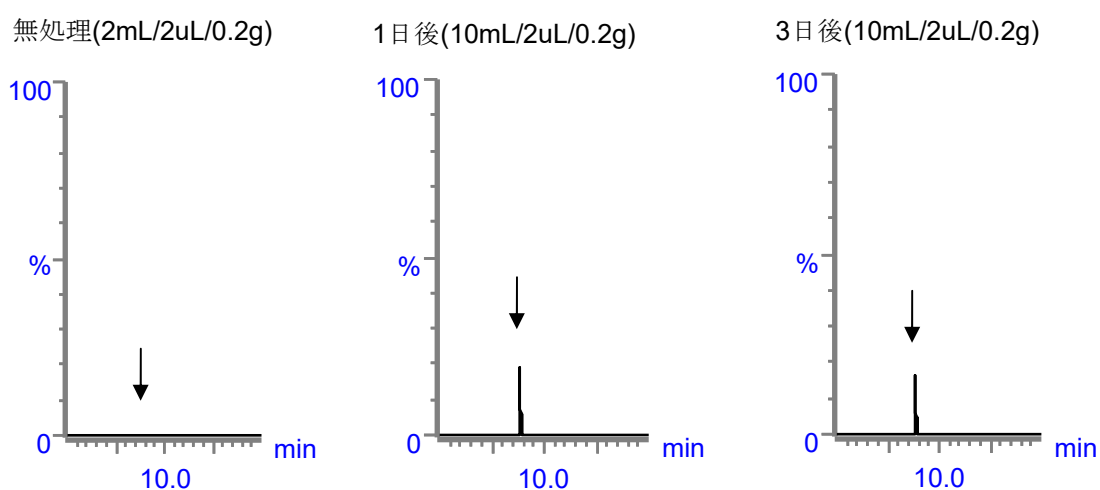


図6-1. 長野植試料のクロマトグラム (秋映)

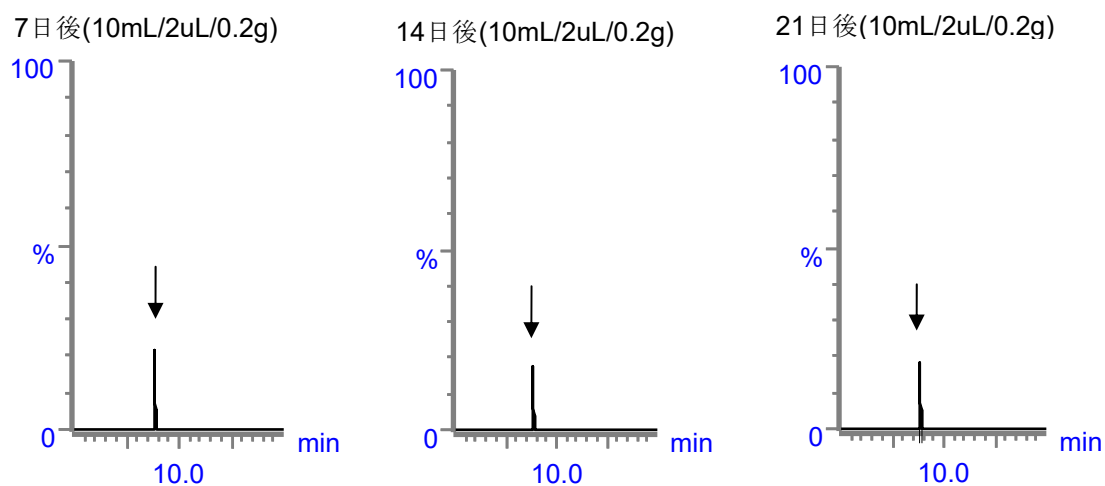


図6-2. 長野植試料のクロマトグラム (秋映)

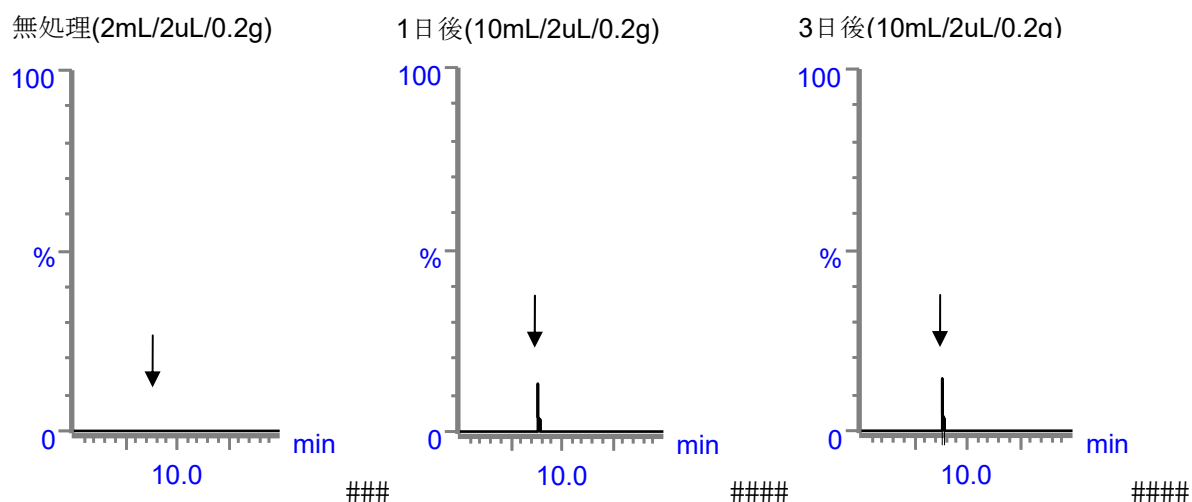


図7-1. 日植防山梨試料のクロマトグラム (シナノスイート)

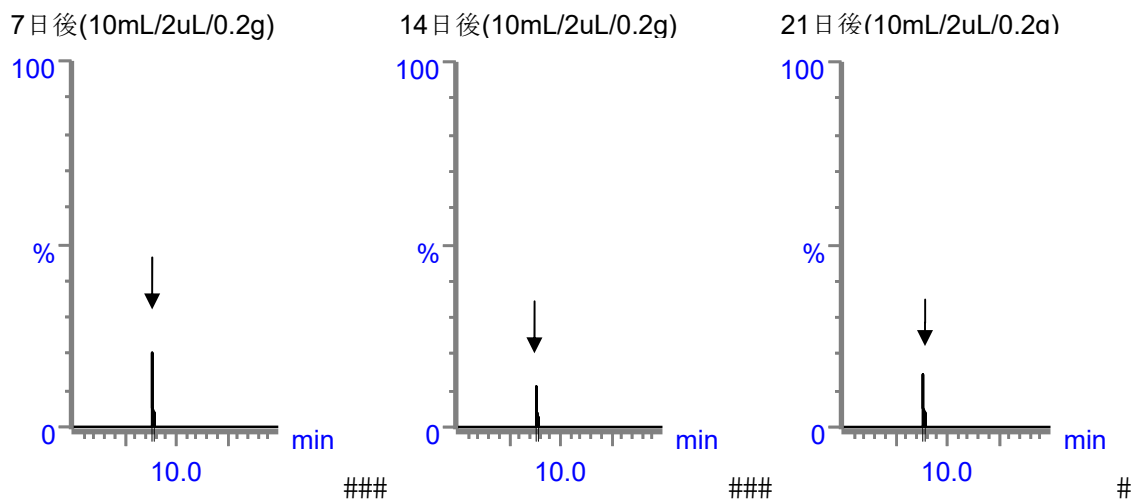


図7-2. 日植防山梨試料のクロマトグラム (シナノスイート)

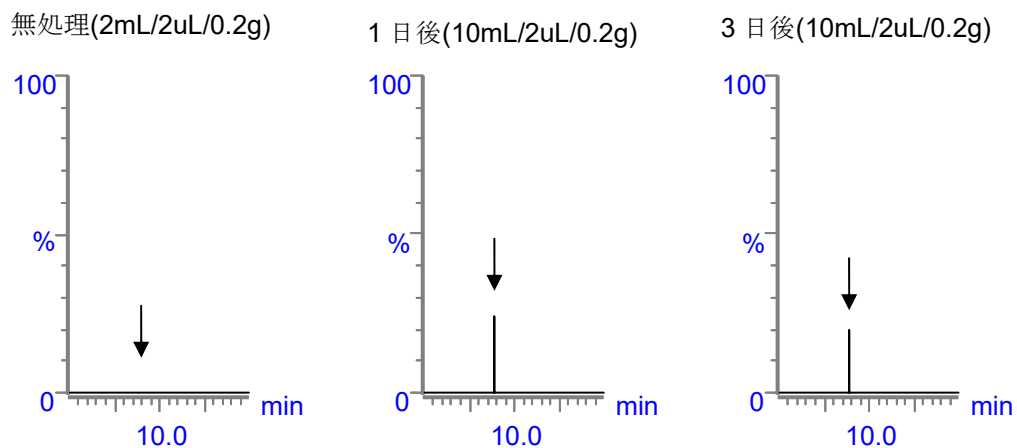


図8-1. 青森植試料のクロマトグラム (アルプス乙女)

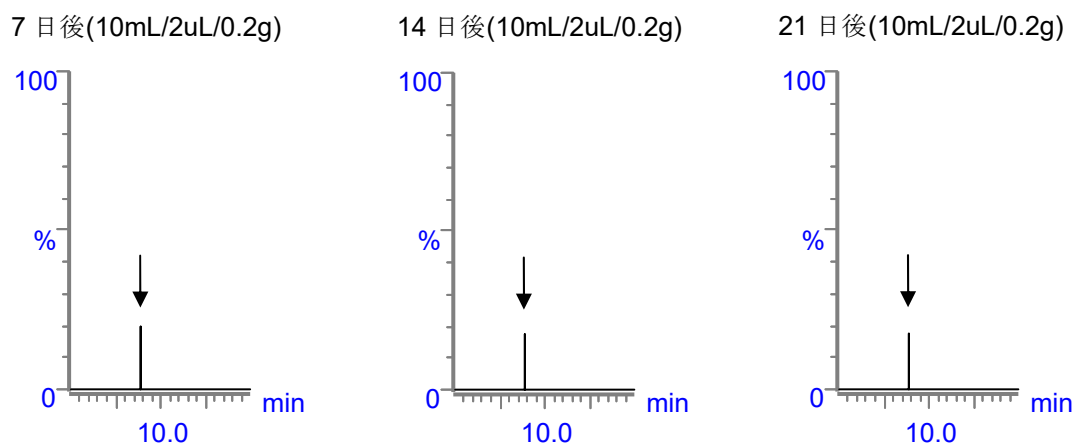


図8-2. 青森植試料のクロマトグラム (アルプス乙女)

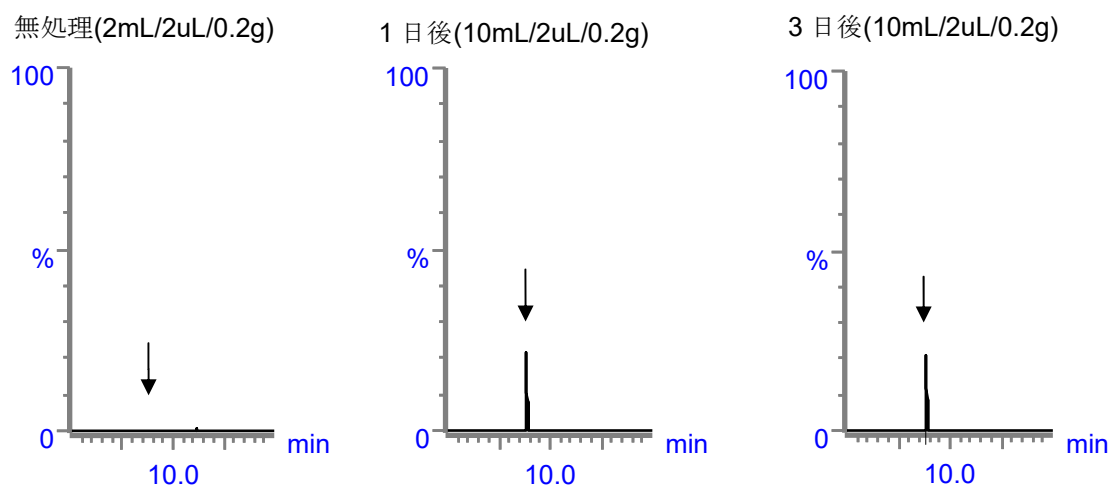


図9-1. 福島植試料のクロマトグラム (アルプス乙女)

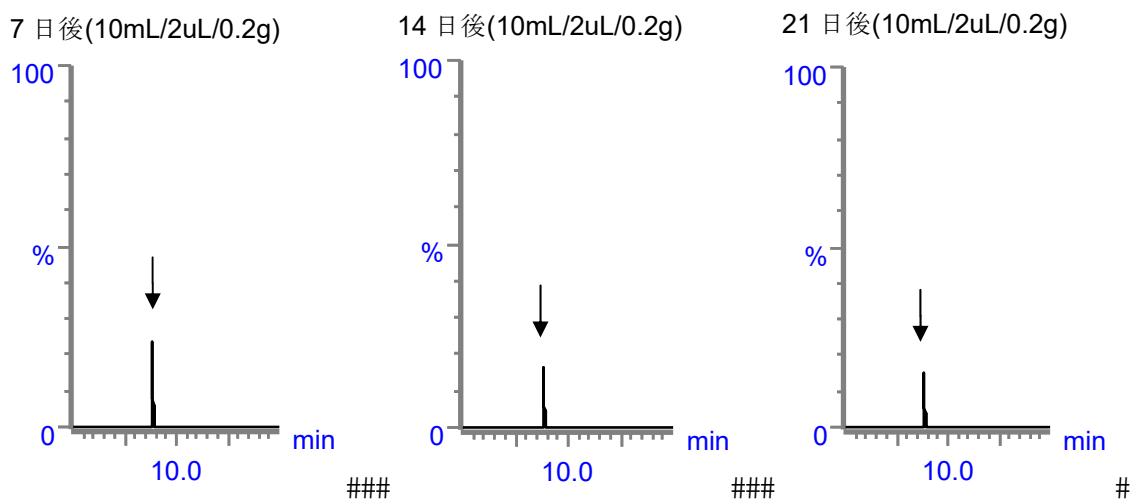


図9-2. 福島植試料のクロマトグラム (アルプス乙女)

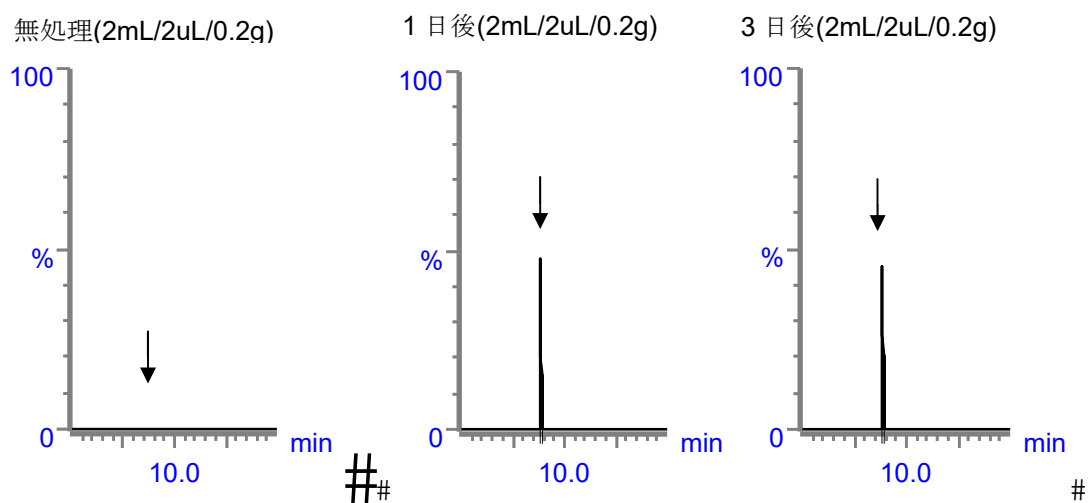


図10-1. 長野植試料のクロマトグラム (アルプス乙女)

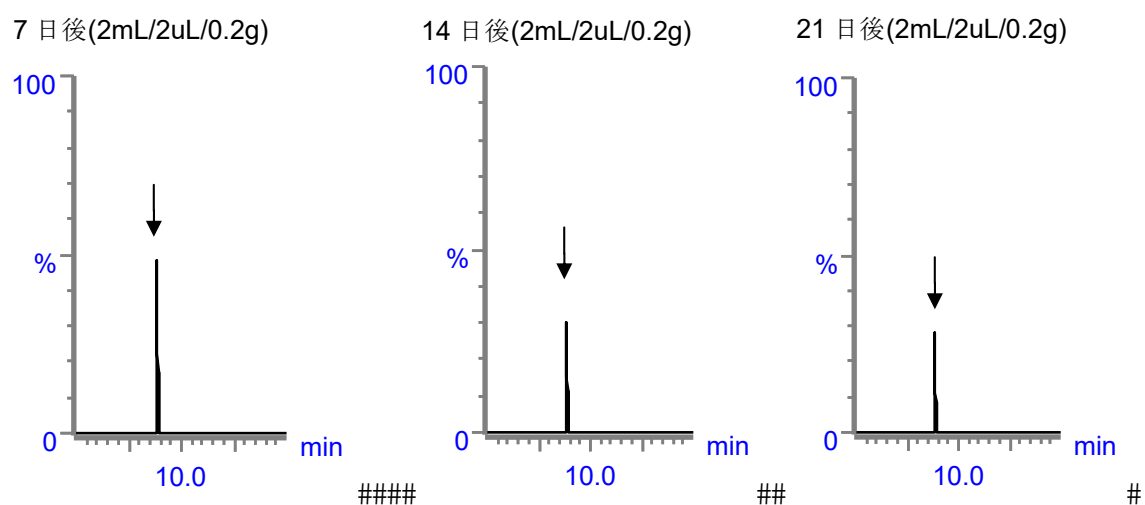


図10-1. 長野植試料のクロマトグラム (アルプス乙女)

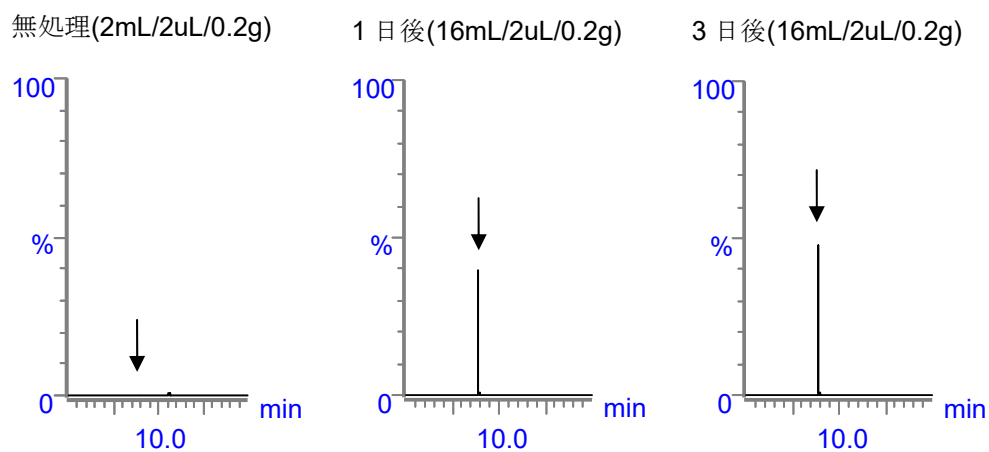


図11-1. 日植防山梨試料のクロマトグラム (ドルゴ)

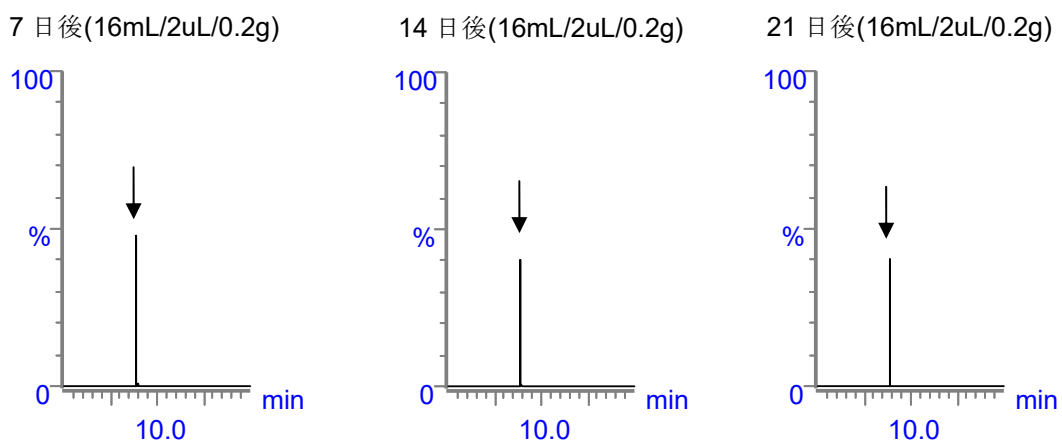


図11-2. 日植防山梨試料のクロマトグラム (ドルゴ)

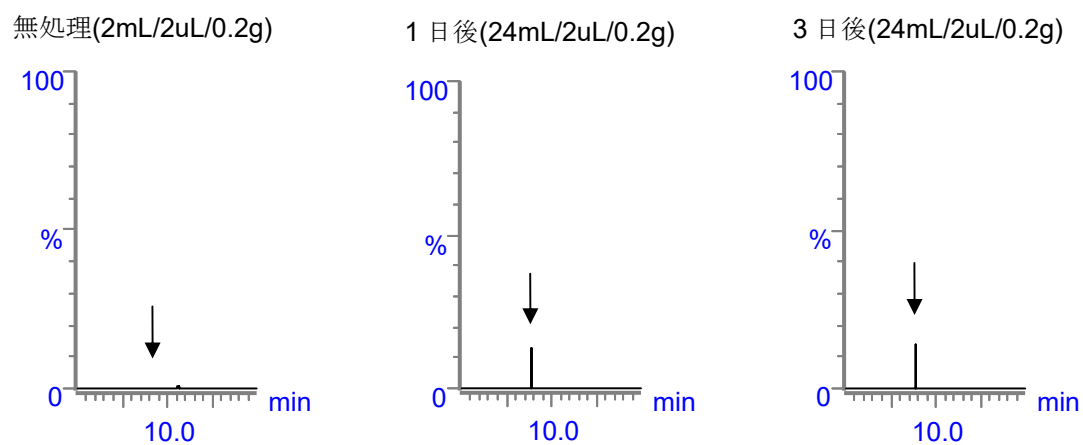


図12-1. 日植防山梨試料のクロマトグラム (メイポール)

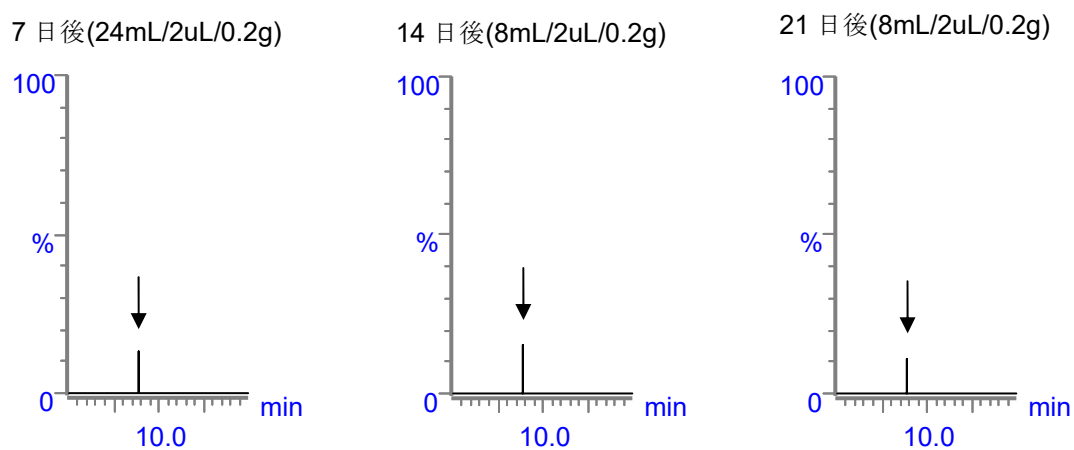


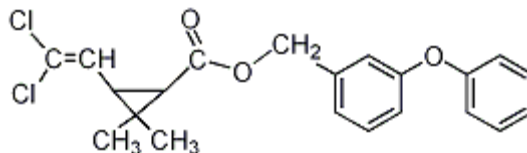
図12-2. 日植防山梨試料のクロマトグラム (メイポール)

III. ペルメトリン

1. 分析対象物質

ペルメトリン

化学構造式：



- 化学名： 3-phenoxybenzyl(1*RS*,3*RS*;1*RS*,3*SR*)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate
- 化学式： $C_{21}H_{20}Cl_2O_3$
- 分子量： 391.3
- 性 状： 茶褐色液体
- 融 点： $34^{\circ}C$ - $35^{\circ}C$; *cis*体 63 - $65^{\circ}C$, *trans*体 44 - $47^{\circ}C$
- 蒸気圧： *cis*体 2.9×10^{-3} mPa, *trans*体 9.2×10^{-4} Pa
- オクタノール／水分配係数： $\log P_{ow} = 6.1$ ($20^{\circ}C$)
- 溶解性： 水; 6×10^{-3} mg/L (pH=7, $20^{\circ}C$)
*cis*体 0.20 mg/L (pH不定, $25^{\circ}C$) , *trans*体 0.13 mg/L (pH不定, $25^{\circ}C$)
キシレン >1000, ヘキサン >1000, メタノール 258
(以上 g/kg, $25^{\circ}C$)
- 安定性： 熱に安定 ($50^{\circ}C$ で2年以上安定)
アルカリ溶液中より酸性溶液中で安定
pH9での半減期50日, pH5及びpH7において安定 ($25^{\circ}C$)

出典： The Pesticide Manual 15th Edition

2. 標準品及び試薬

- cis*-ペルメトリン標準品：純度 99.6% (和光純薬工業製)
- trans*-ペルメトリン標準品：純度 98.5% (和光純薬工業製)
- アセトニトリル, アセトン, ヘキサン, 酢酸エチル：残留農薬試験用 (関東化学製)
- メタノール：LC-MS 用 (関東化学製)
- 水：ピュアライト PRA-0015-0V1 (オルガノ製) 及びピュリック Z II (オルガノ製) で精製した水
- 多孔性ケイソウ土カラム：InertSep K-solute 5mL 容 (ジーエルサイエンス製)
- 積層ミニカラム：ENVI-Carb II/PSA SPE Tube 500mg/300mg/6mL (スペルコ製)

3. 装置及び機器

- ミキサー：クイジナート DLC-NXJ2 (クイジナート・アメリカ製)
- 液体クロマトグラフ／タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)：Xevo TQ-S micro(Waters 製)
- データ処理ソフトウェア：MassLynx(Waters 製)

4. 測定機器の操作条件

4.1. 液体クロマトグラフの操作条件

カラム： ACQUITY UPLC HSS T3 (waters 製)
内径 2.1mm, 長さ 100mm, 粒径 1.8 μ m

溶離液： A 液：100 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液
B 液：メタノール
C 液：水

時間	A	B	C
0	2	10	88
0.5	2	40	58
2.0	2	40	58
3.0	2	50	48
4.0	2	55	43
11.0	2	98	0
13.0	2	98	0
16.0	2	10	88

流量： 0.4 mL/min

カラム温度： 40°C

注入量： 2 μ L

保持時間： *cis*-ペルメトリン; 約 11.6 min
trans-ペルメトリン; 約 11.4 min

4.2. 質量分析計の操作条件

イオン化法： エレクトロスプレーイオン化法 (ESI)
正モード

コーンガス流量： 50 L/h(N₂)

脱溶媒ガス流量： 1000L/h(N₂)

脱溶媒ガス温度： 500°C

ソースブロック温度： 150°C

キャピラリー電圧： 1.0kV

コーン電圧： 34V

コリンジョン電圧： 16V
(コリンジョンガス;Ar)

イオン検出法： MRM 法

モニタリングイオン： *cis*-ペルメトリン
プリカーサーイオン； m/z 408.2
プロダクトイオン； m/z 183.1
trans-ペルメトリン
プリカーサーイオン； m/z 408.2
プロダクトイオン； m/z 183.1

5. 検量線の作成

cis-ペルメトリンは標準品 20.1mg を 20mL 容メスフラスコに精秤し、アセトンに溶解して 1000mg/L 標準原液を調製した。*trans*-ペルメトリンは標準品 20.3mg を 20mL 容メスフラスコに精秤し、アセトンに溶解して 1000mg/L 標準原液を調製した。この各原液から等量を取り合わせ、アセトンで希釈して *cis*-及び *trans*-ペルメトリンの含量として 20mg/L 混合標準溶液を調製した。さらにこの標準溶液をメタノールで希釈し、0.0005, 0.001, 0.002, 0.01 及び 0.02mg/L の混合標準溶液を調製した。これらの溶液を前記条件の液体クロマトグラフ・質量分析計に注入し、データ処理装置を用いて *cis*-及び *trans*-ペルメトリンのピーク面積を測定し、横軸に重量、縦軸に 2 本のピーク面積の合計をとって検量線を作成した。

6. 分析操作

6.1. 試料の前処理

試料は、果梗を除去し、縦に4分割した後、冷凍庫（-20℃設定）に保存した。分析直前にミキサーを用いて全量を磨砕均一化した。

6.2. 抽出

均一化した試料20gをはかりとり、アセトン100mLを加え、30分間振とうした。抽出物をろ紙を敷いた桐山漏斗で吸引ろ過し、残渣をアセトン50mLで洗い、同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンで200mL定容とした。その2mL（試料0.2g相当量）を取り、40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、アセトンを留去した。

6.3. 多孔性ケイソウ土カラムによる精製

濃縮液にアセトニトリル／水（50:50, v/v）を加え約5 gとした後、多孔性ケイソウ土カラムに流下した。5分間放置後、酢酸エチル／ヘキサン（50:50, v/v）混液30mLで容器内を洗浄し多孔性ケイソウ土カラムに移して流下した。溶出液を取り、40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去した。

6.3. ENVI-Carb/PSA積層ミニカラムによる精製

ENVI-Carb/PSA積層ミニカラムにアセトン／ヘキサン（50:50, v/v）5mLを流下し前処理した。残留物をアセトン／ヘキサン（50:50, v/v）5mL積層ミニカラムに流下した。同様の

操作を後2回繰り返し行った。全流下液を取り溶出液とした。この溶出液を40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、最後は窒素気流下で溶媒を留去した。

6.4. 定量

残留物を適量のメタノールに溶解した。この溶液を前記条件の液体クロマトグラフ・質量分析計に注入してピーク面積を求め、検量線よりペルメトリンの重量を求め、試料中の残留濃度を算出した。

7. 定量限界値及び検出限界値

定量限界相当量 (ng)	試料採取量 (g)	最終溶液 (mL)	注入量 (μL)	定量限界 (ppm)
0.002	0.2	2	2	0.01

最小検出量 (ng)	試料採取量 (g)	最終溶液 (mL)	注入量 (μL)	検出限界 (ppm)
0.001	0.2	2	2	0.005

8. 分析方法の妥当性確認

ガイドラインに基づき、分析法の妥当性確認のため分析方法の選択性及び回収率を確認した。

選択性は各無処理区試料のクロマトグラムに分析対象物質の定量を妨げるピークがなかったことから確認された。

回収率は普通りんごが青森植試料、福島植試料、長野植試料及び日植防山梨試料の無処理試料を用いて、定量限界相当（0.01ppm）及び1ppm添加濃度における回収試験を各ほ場試験場所2連、計8連分析で実施した。小型りんご（アルプス乙女）が青森植試料、福島植試料、及び長野植試料の無処理試料を用いて、定量限界相当（0.01ppm）及び1ppm添加濃度における回収試験を各ほ場試験場所2連、計6連分析で実施した。小型りんご（ドルゴ及びメイポール）は日植防山梨試料の無処理試料を用いて、定量限界相当（0.01ppm）及び1ppm添加濃度における回収試験を各5連分析で実施した。それぞれの平均回収率と併行相対標準偏差（RSDr）を算出した（表1～4）。その回収率と併行相対標準偏差が以下に示す条件を満たしたことを確認した。以上から採用した分析方法が妥当であることを確認した。

回収率及びRSDrの評価基準

添加濃度 (ppm)	平均回収率 (%)	RSDr*
0.01	60～120	≤ 30
1.0	70～110	≤ 10

*RSDr＝標準偏差／平均値×100

表1. 普通りんご試料の平均回収率とRSDr

試料調製 場所	添加濃度 (ppm)	回収率 (%)				平均回収率 (%)	RSDr (%)
青森植, 福島植 長野植, 日植防山梨	1.0	99	96	97	95	103	7.0
	0.01	112	110	111	106		
	0.01	85	93	86	88	89	3.6
		89	94	87	89		

表2. 小型りんご（アルプス乙女）試料の平均回収率とRSDr

試料調製 場所	添加濃度 (ppm)		回収率 (%)				平均回収率 (%)	RSDr (%)	
青森植, 福島植, 長野植	1.0	88	95	102	95	97	92	95	5.0
	0.01	94	96	101	103	110	99	101	5.7

表3. 小型りんご（ドルゴ）試料の平均回収率とRSDr

試料調製場所	添加濃度 (ppm)		回収率 (%)				平均回収率 (%)	RSDr (%)
日植防山梨	1.0	97	96	95	100	97	97	1.9
	0.01	93	90	86	86	87	88	3.4

表4. 小型りんご（メイポール）試料の平均回収率とRSDr

試料調製場所	添加濃度 (ppm)		回収率 (%)				平均回収率 (%)	RSDr (%)
日植防山梨	1.0	94	99	92	101	100	97	4.1
	0.01	101	92	98	91	95	95	4.4

9. 試料分析結果

無処理区を含む各試験区の分析結果を表5及び表6に示した。分析は各2連で行い、分析値の差を「R」で示した。また、各2連のRSDrを算出しその値が以下に示す評価基準を満たしたことを確認した。

残留濃度に対するRSDr及び差(R)の評価基準		
残留濃度 (ppm)	RSDr*	差(R)
0.01超～0.1以下	≤20	定量限界値の2倍以内
0.1超～1.0以下	≤15	

*RSDr＝差(R)／平均値×100×0.89

表5. 普通りんご試料の分析結果

試料調製場所 (品種)	経過日数 (日)	分析値① (ppm)	分析値② (ppm)	R	平均値 (ppm)	RSDr (%)
青森植 (王林)	1	0.27	0.27	0.01	0.27	0.0
	3	0.24	0.21	0.03	0.22	12.1
	7	0.22	0.20	0.02	0.21	8.5
	14	0.18	0.18	0.00	0.18	0.0
	21	0.20	0.19	0.01	0.20	4.5
福島植 (ふじ)	1	0.26	0.25	0.01	0.26	3.4
	3	0.25	0.23	0.02	0.24	7.4
	7	0.24	0.22	0.02	0.23	7.7
	14	0.22	0.22	0.00	0.22	0.0
	21	0.21	0.21	0.00	0.21	0.0
長野植 (秋映)	1	0.24	0.23	0.01	0.24	3.7
	3	0.23	0.23	0.00	0.23	0.0
	7	0.23	0.22	0.01	0.22	4.0
	14	0.21	0.20	0.01	0.20	4.5
	21	0.31	0.28	0.03	0.30	8.9
日植防山梨 (シナノスイート)	1	0.13	0.12	0.01	0.12	7.4
	3	0.12	0.11	0.01	0.12	7.4
	7	0.16	0.14	0.02	0.15	11.9
	14	0.11	0.10	0.01	0.10	0.0
	21	0.13	0.11	0.02	0.12	14.8

各試料調製場所における無処理試料の分析結果は定量限界未満 (<0.01ppm)

表6. 小型りんご試料の分析結果

試料調製場所 (品種)	経過日数 (日)	分析値① (ppm)	分析値② (ppm)	R	平均値 (ppm)	RSDr (%)
青森植 (アルプス乙女)	1	0.47	0.46	0.01	0.46	1.9
	3	0.43	0.41	0.02	0.42	4.2
	7	0.52	0.51	0.01	0.52	1.7
	14	0.47	0.46	0.01	0.46	1.9
	21	0.52	0.50	0.02	0.51	3.5
福島植 (アルプス乙女)	1	0.45	0.44	0.01	0.44	2.0
	3	0.53	0.51	0.02	0.52	3.4
	7	0.48	0.47	0.01	0.48	1.9
	14	0.48	0.45	0.03	0.46	5.8
	21	0.51	0.48	0.03	0.50	5.3
長野植 (アルプス乙女)	1	0.23	0.22	0.01	0.22	4.0
	3	0.27	0.23	0.04	0.25	14.2
	7	0.26	0.22	0.04	0.24	14.8
	14	0.18	0.16	0.02	0.17	10.5
	21	0.21	0.19	0.02	0.20	8.9
日植防山梨 (ドルゴ)	1	0.45	0.44	0.01	0.44	2.0
	3	0.47	0.45	0.02	0.46	3.9
	7	0.44	0.41	0.03	0.42	6.4
	14	0.38	0.37	0.01	0.38	2.3
	21	0.41	0.37	0.04	0.39	9.1
日植防山梨 (メイポール)	1	0.32	0.28	0.04	0.30	11.9
	3	0.26	0.25	0.01	0.26	3.4
	7	0.22	0.19	0.03	0.20	13.4
	14	0.18	0.17	0.01	0.18	4.9
	21	0.10	0.08	0.02	0.09	19.8

各試料調製場所における無処理試料の分析結果は定量限界未満 (<0.01ppm)

10. 保存安定性確認

均一化した各無処理試料に*cis*-ペルメトリン及び*trans*-ペルメトリンを混合して添加し、冷凍暗所（－20℃設定）に実試料の保存期間を満たすよう冷凍保存し、保存期間中の安定性を確認した。安定性は、保存期間終了後、実試料と同様に分析して回収率を求め平均回収率が70%を超えていることを確認した。表8及び表9に示したとおり、回収率に問題はなく保存中の安定性が確認された。

表7. 普通りんご試料の保存安定性確認結果

試料調製 場所	添加濃度 (ppm)	保存期間(日)		回収率		平均回収率
		実試料	保存試験試料	(%)		(%)
青森	1.0	23	37(2017/10/21-11/27)	96	92	94
福島	1.0	42	64 (2017/ 9/21-11/24)	94	93	94
長野	1.0	42	63 (2017/ 9/20-11/22)	97	94	96
日植防山梨	1.0	54	75 (2017/ 9/7-11/21)	90	90	90

表8. 小型りんご試料の保存安定性確認結果

試料調製場所 (品種)	添加濃度 (ppm)	保存期間(日)		回収率		平均回収率
		実試料	保存試験試料	(%)		(%)
青森 (アルプス乙女)	1.0	40	58 (2017/10/21-12/18)	95	97	96
福島 (アルプス乙女)	1.0	69	88 (2017/ 9/21-12/18)	99	103	101
長野 (アルプス乙女)	1.0	70	86 (2017/ 9/20-12/15)	92	88	90
日植防山梨 (ドルゴ)	1.0	40	43 (2017/ 9/7-10/20)	102	106	104
日植防山梨 (メイポール)	1.0	47	68 (2017/ 9/7-11/14)	90	94	92

11. 精度管理

ガイドラインに基づき、内部精度管理と外部精度管理を実施した。

内部精度管理については「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」（平成9年4月1日付け衛食第117号厚生省生活衛生局食品保健課長通知）に基づき、各ほ場の実試料分析と保存安定性試験を行うごとに、各1検体の無処理試料及びペルメトリン0.1ppm添加試料を分析した。結果は、無処理区試料にはピークが検出されないこと及び添加試料の回収率が70～120%の範囲にあること確認し評価した。

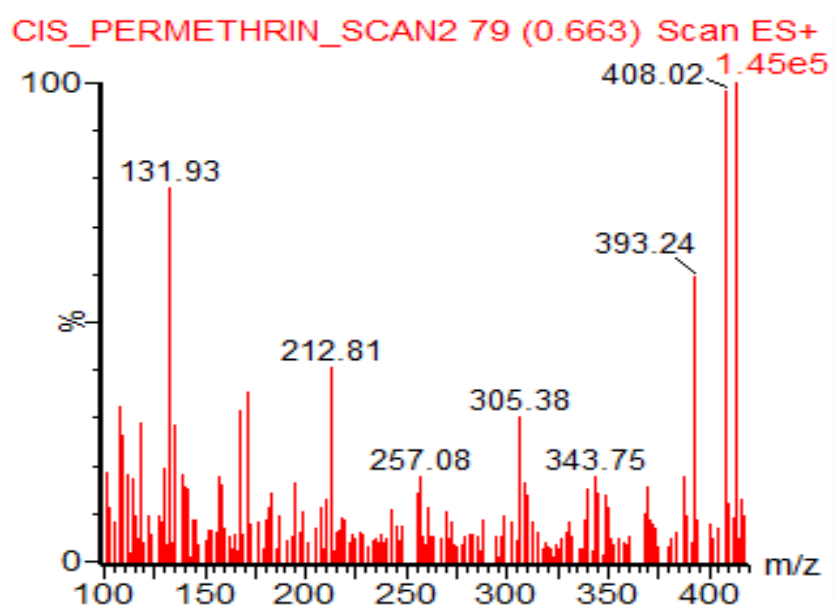
その結果、表7に示すとおり問題は認められず、一連の分析操作は適正に実施された。

又、外部精度管理として2017年6月実施の食品衛生精度管理比較調査（一般財団法人食品薬品安全センター）に参加した。その結果Zスコアは全て $Z < 2$ となり良好であった。

表9. 内部精度管理の結果

分析日	使用した圃場 (分析試料)	回収率 (%)	無処理区の分析値 (ppm)
2017/10/19	日植防山梨（ドルゴ）	88	<0.01
10/20	日植防山梨（ドルゴ_保存試験）	99	<0.01
10/24	日植防山梨（メイポール）	95	<0.01
10/31	日植防山梨（普通りんご）	88	<0.01
11/ 1	長野植（普通りんご）	93	<0.01
11/ 8	福島植（普通りんご）	87	<0.01
11/13	青森植（普通りんご）	93	<0.01
11/14	日植防山梨（メイポール_保存試験）	84	<0.01
11/21	日植防山梨（普通りんご_保存試験）	92	<0.01
11/22	長野植（普通りんご_保存試験）	92	<0.01
11/24	福島植（普通りんご_保存試験）	95	<0.01
11/27	青森植（普通りんご_保存試験）	96	<0.01
11/29	長野植（アルプス乙女）	90	<0.01
11/29	福島植（アルプス乙女）	90	<0.01
11/30	青森植（アルプス乙女）	100	<0.01
12/15	長野植（アルプス乙女_保存試験）	103	<0.01
12/18	青森植（アルプス乙女_保存試験）	117	<0.01
12/18	福島植（アルプス乙女_保存試験）	111	<0.01

cis-ペルメトリンのマスペクトル（一次イオン）の一例（正モード）



cis-ペルメトリンのプロダクトスキンスペクトルの一例
(プリカーサーイオン $m/z=408.0$, 正モード)

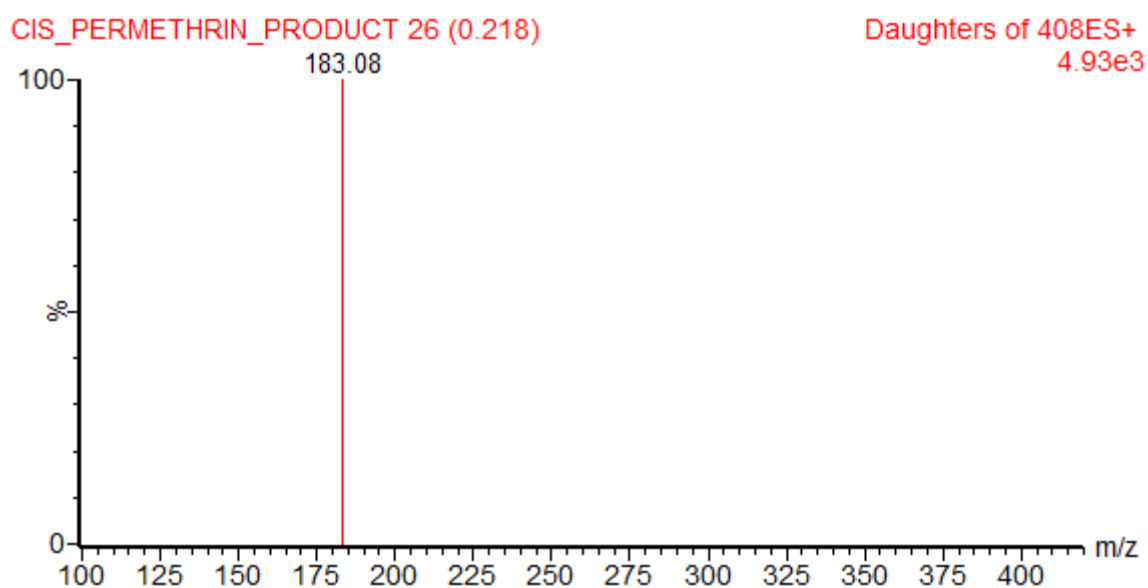
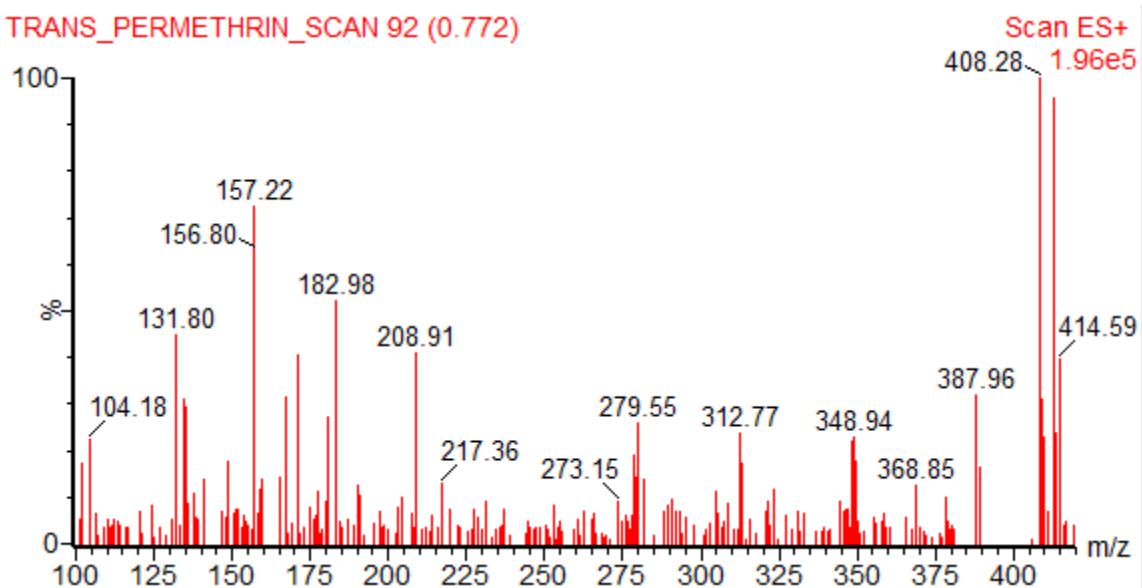


図1-1. マスペクトル

trans-ペルメトリンのマススペクトル（一次イオン）の一例（正モード）

TRANS_PERMETHRIN_SCAN 92 (0.772)



trans-ペルメトリンのプロダクトスキンスペクトルの一例

(プリカーサーイオン $m/z=408.0$, 正モード)

TRANS_PERMETHRIN_PRODUCT 29 (0.243)



図1-2. マススペクトル

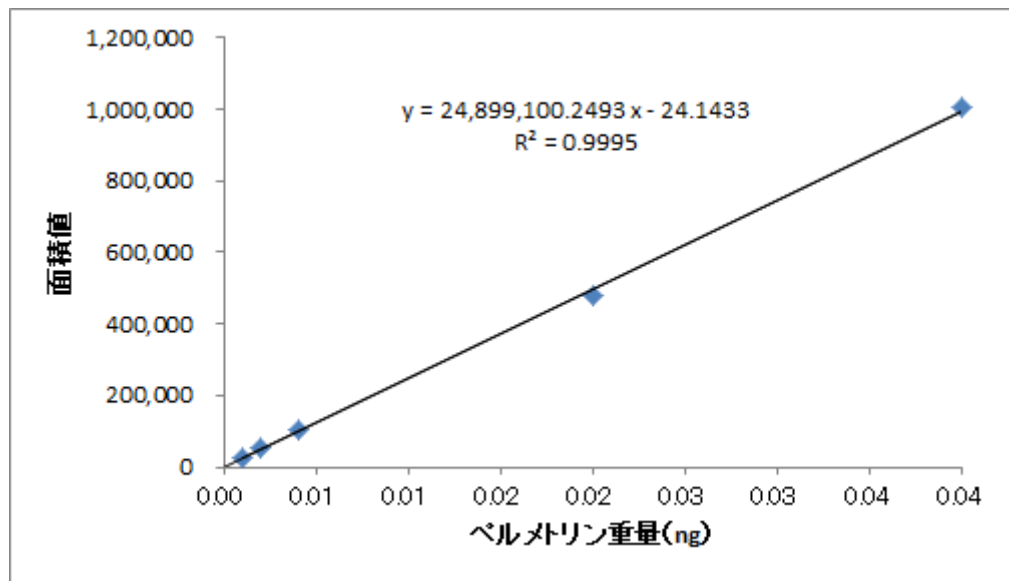


図2. 検量線の一例 (*cis*-ペルメトリン及び*trans*-ペルメトリンの含量)

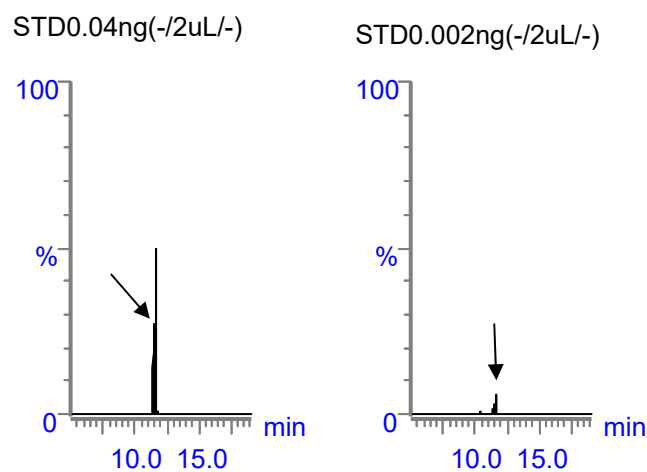


図2. 標準溶液のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン)

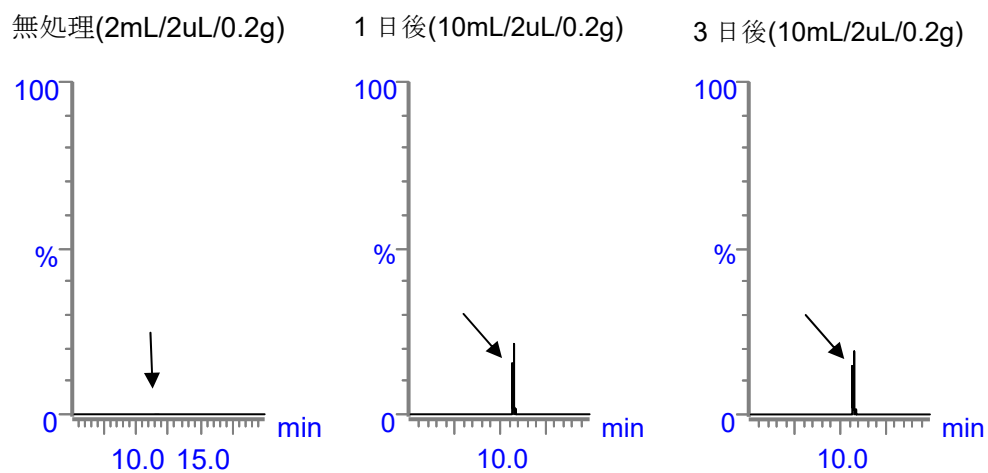
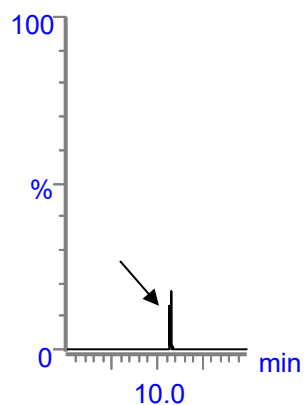
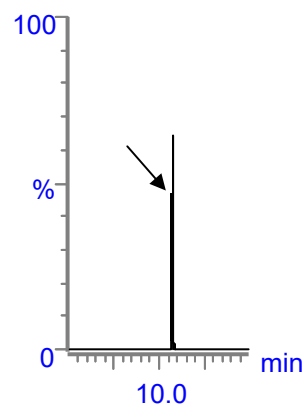


図3-1. 青森植試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/王林)

7 日後(10mL/2uL/0.2g)



14 日後(2mL/2uL/0.2g)



21 日後(2mL/2uL/0.2g)

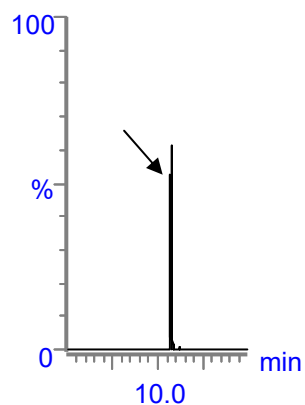
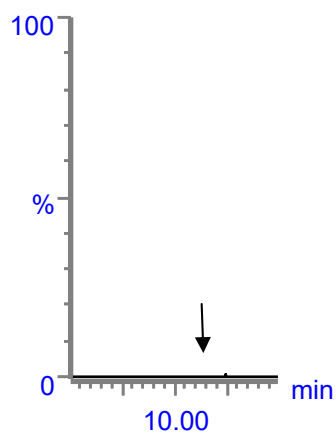
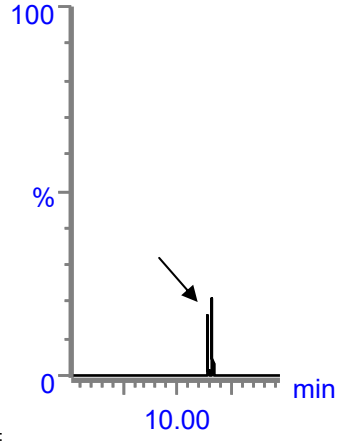


図3-2. 青森植試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/王林)

無処理(2mL/2uL/0.2g)



1 日後(10mL/2uL/0.2g)



3 日後(10mL/2uL/0.2g)

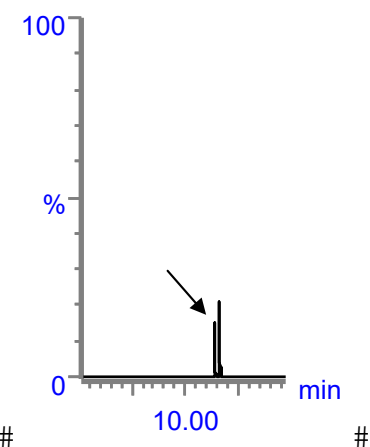
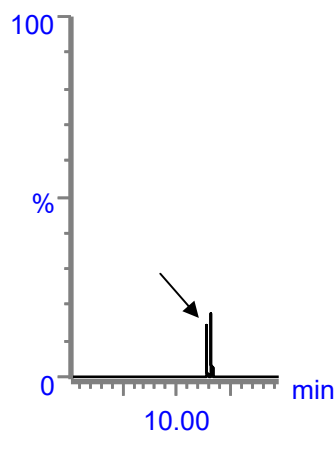


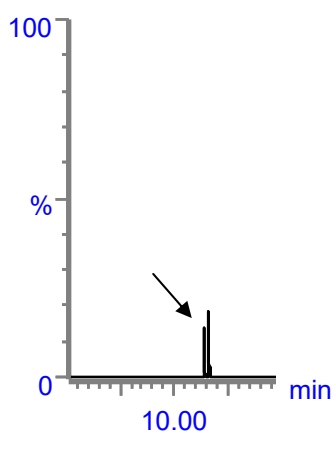
図4-1. 福島植試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/ふじ)

#

7 日後(10mL/2uL/0.2g)



14 日後(10mL/2uL/0.2g)



21 日後(10mL/2uL/0.2g)

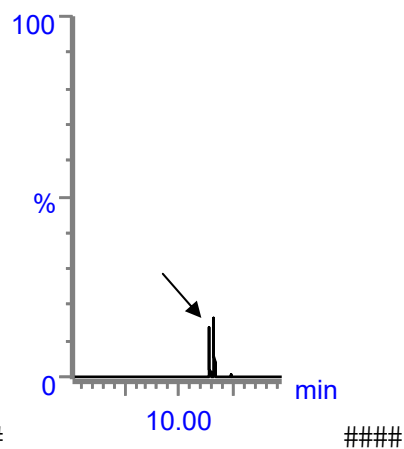


図4-2. 福島植試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/ふじ)

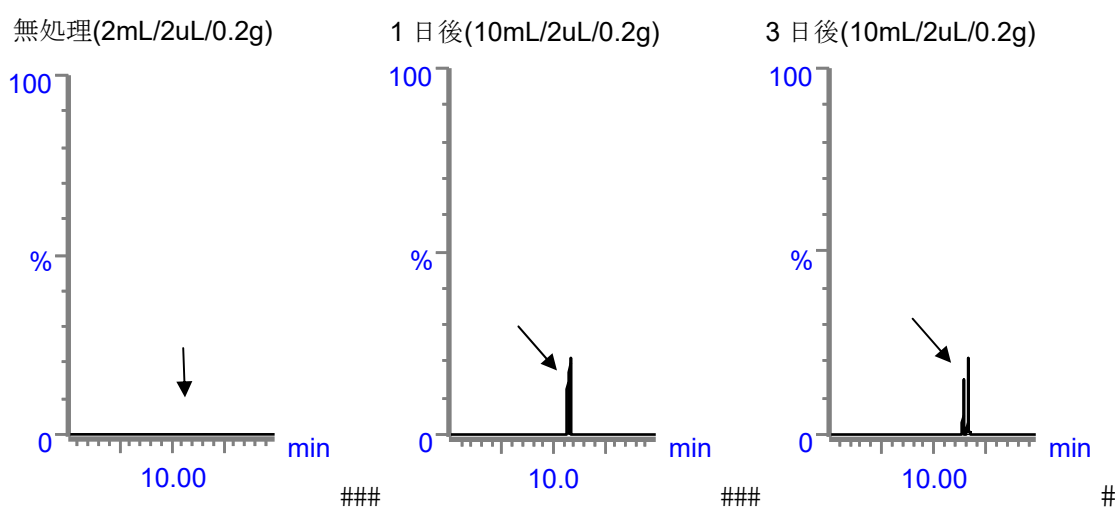


図5-1. 長野植試料のクロマトグラム (cis-ペルメトリン/秋映)

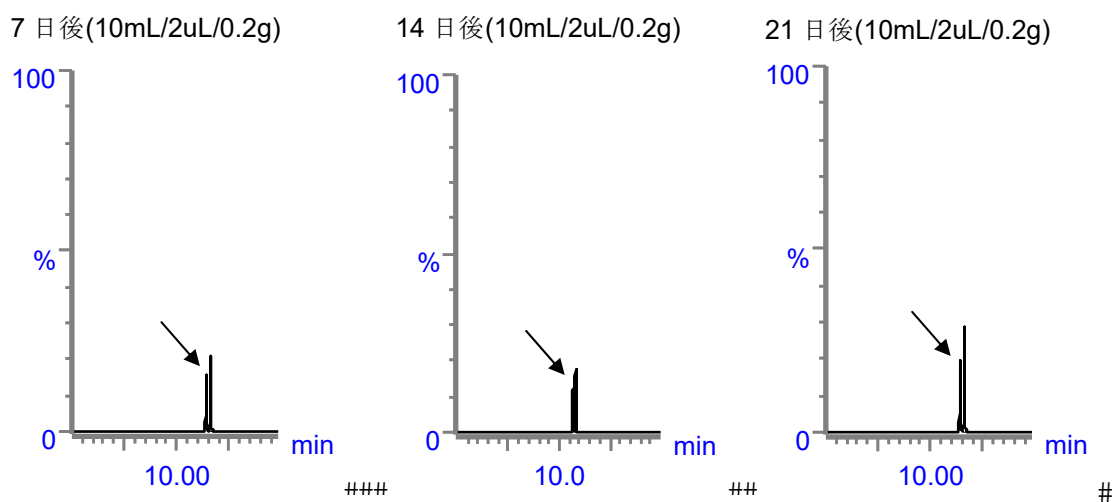


図5-2. 長野植試料のクロマトグラム (cis-ペルメトリン/秋映)

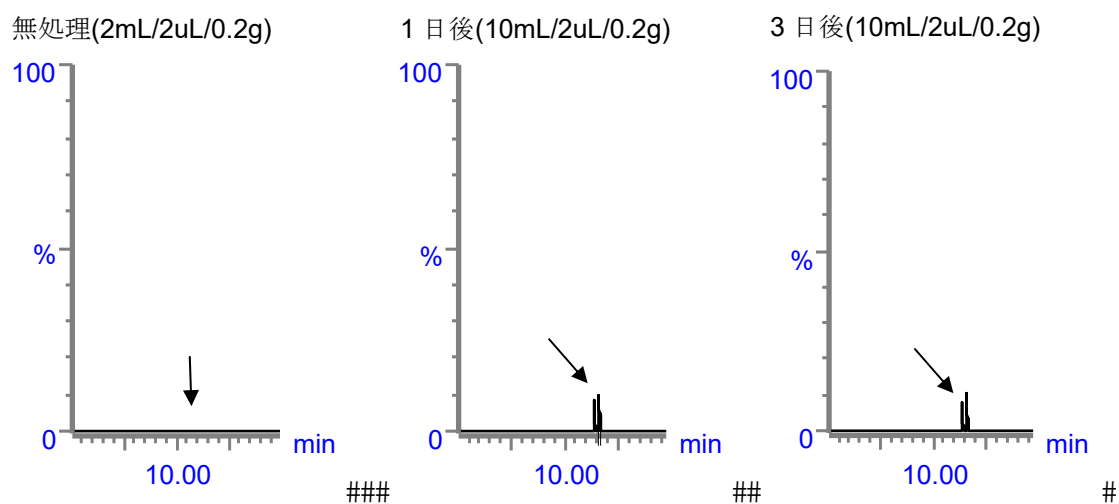


図6-1. 日植防山梨試料のクロマトグラム (cis-ペルメトリン/シナノスイート)

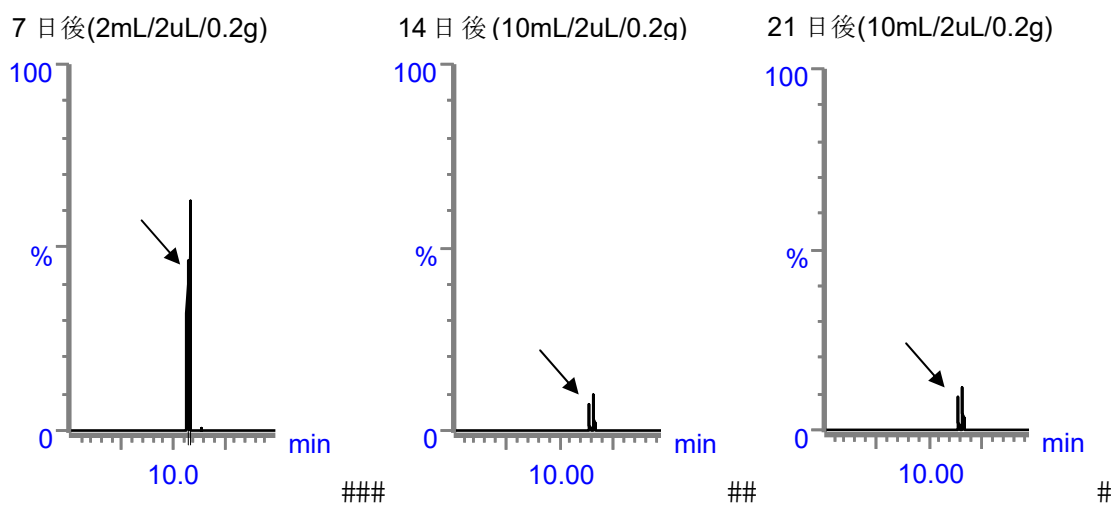


図6-1. 日植防山梨試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/シナノスイート)

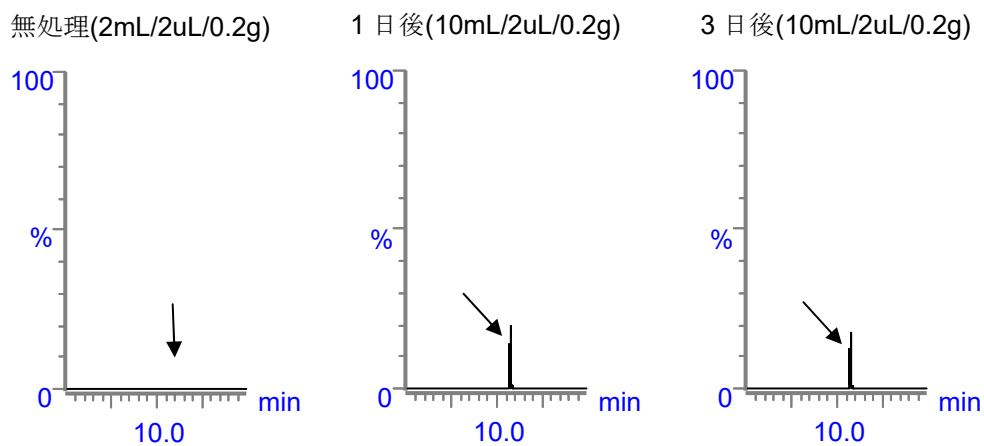


図7-1. 青森植試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/アルプス乙女)

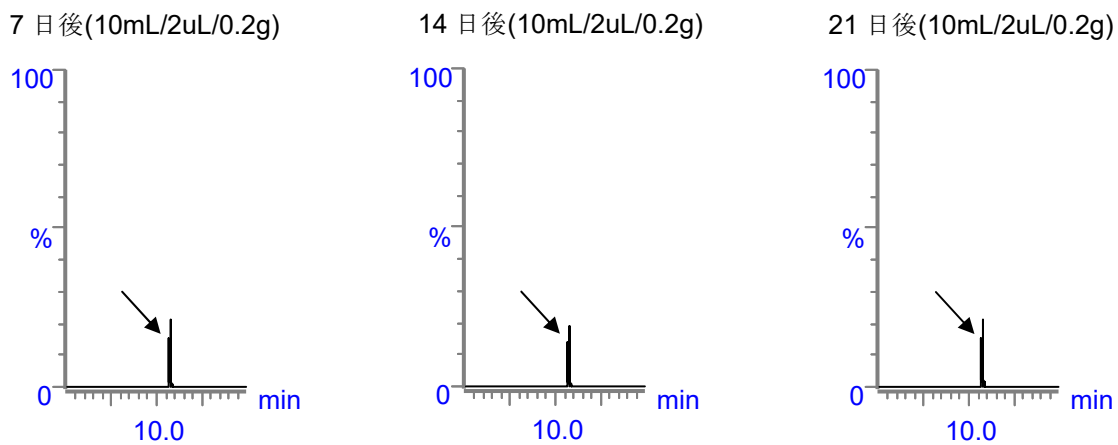


図7-2. 青森植試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/アルプス乙女)

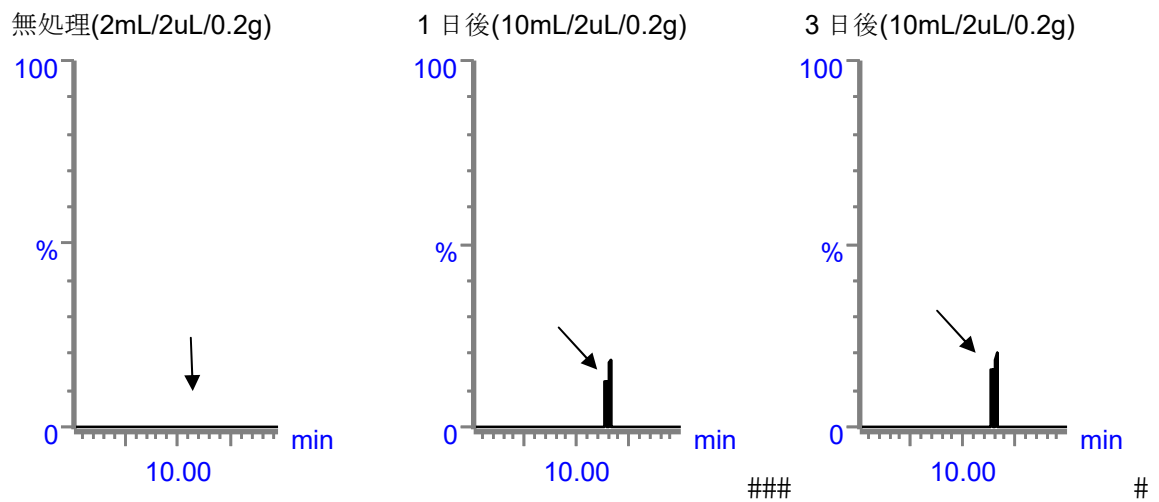


図8-1. 福島植試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/アルプス乙女)

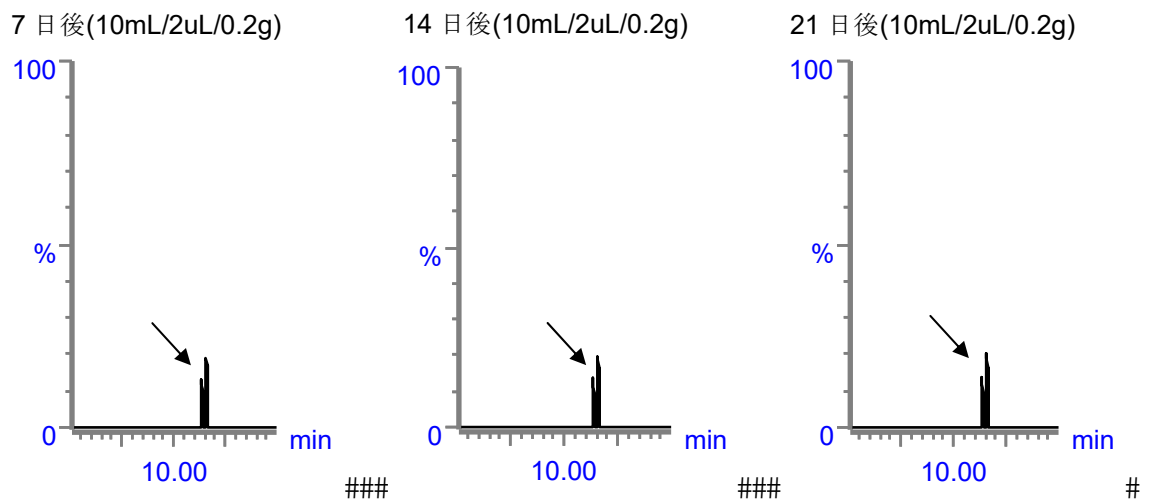


図8-2. 福島植試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/アルプス乙女)

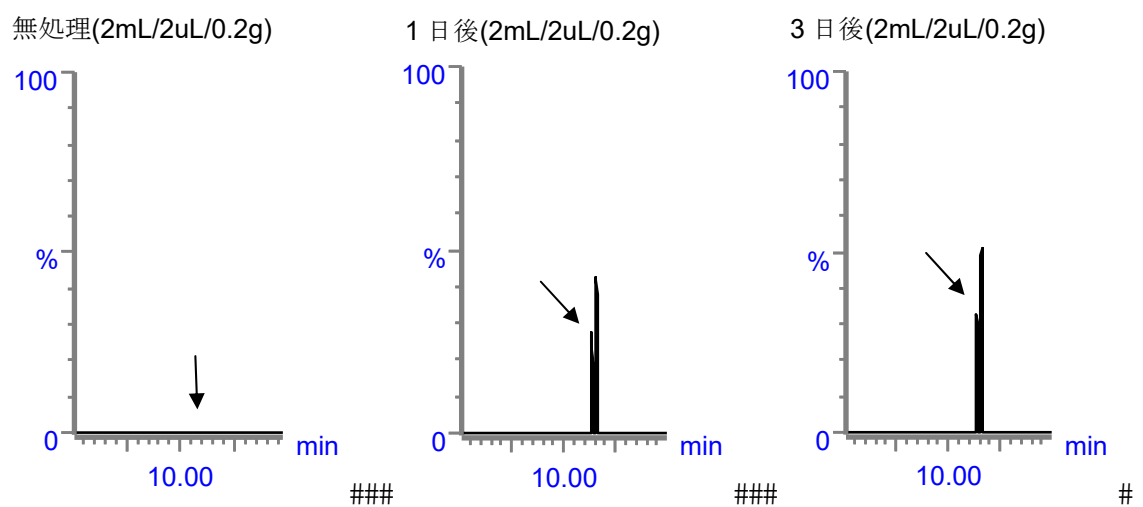


図9-1. 長野植試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/アルプス乙女)

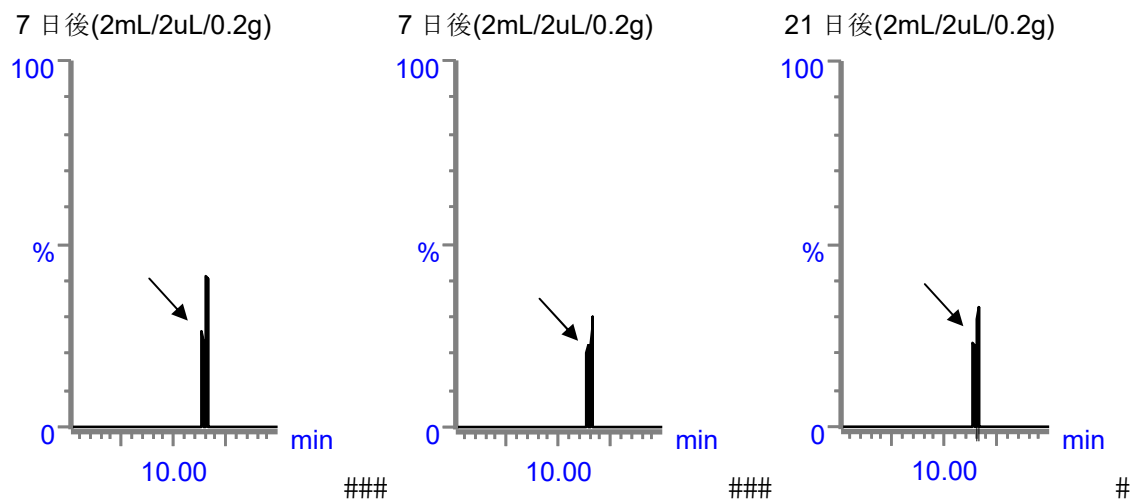


図9-1. 長野植試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/アルプス乙女)

#

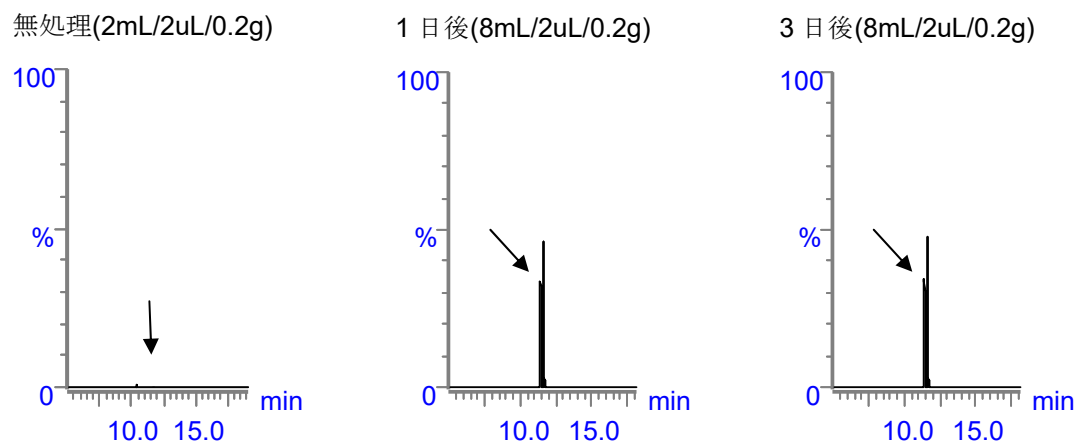


図10-1. 日植防山梨試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/ドルゴ)

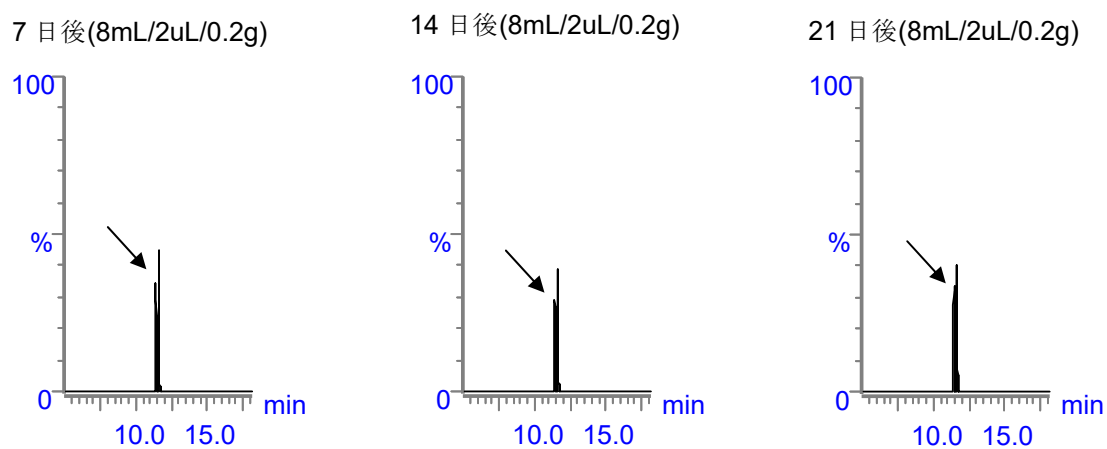


図10-2. 日植防山梨試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/ドルゴ)

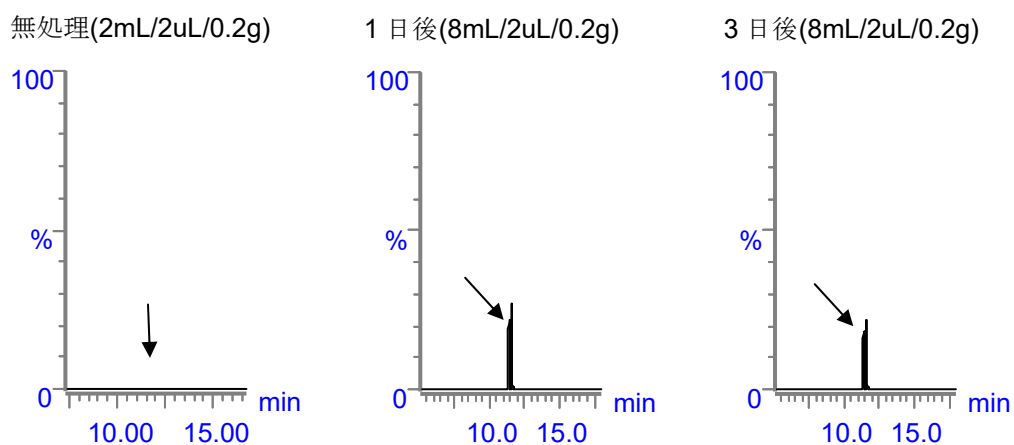


図11-1. 日植防山梨試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/メイポール)

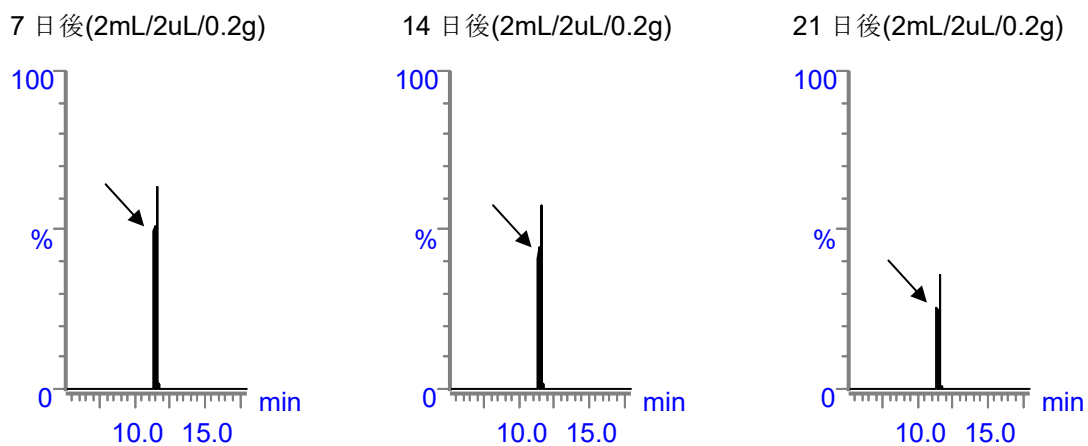


図11-2. 日植防山梨試料のクロマトグラム (*cis*-ペルメトリン/メイポール)

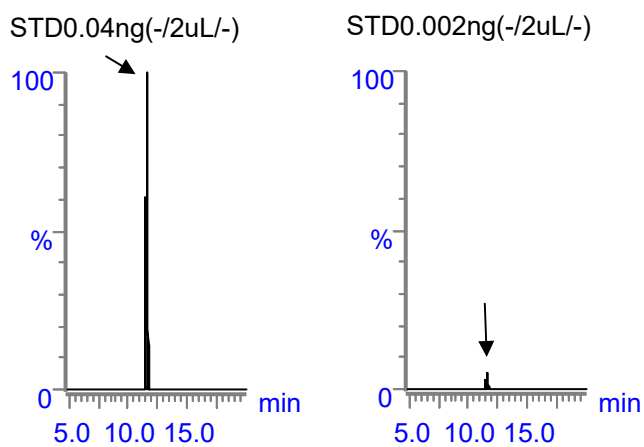


図12. 標準溶液のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン)

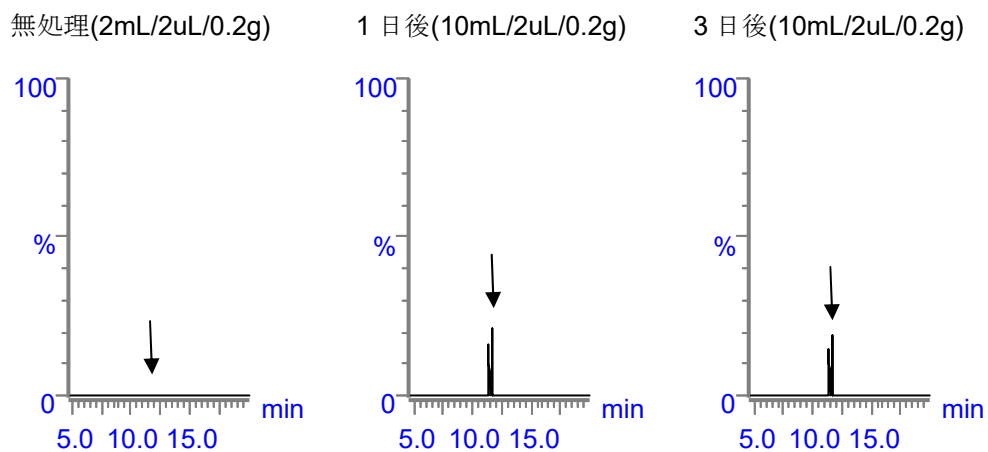


図13-1. 青森植試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/王林)

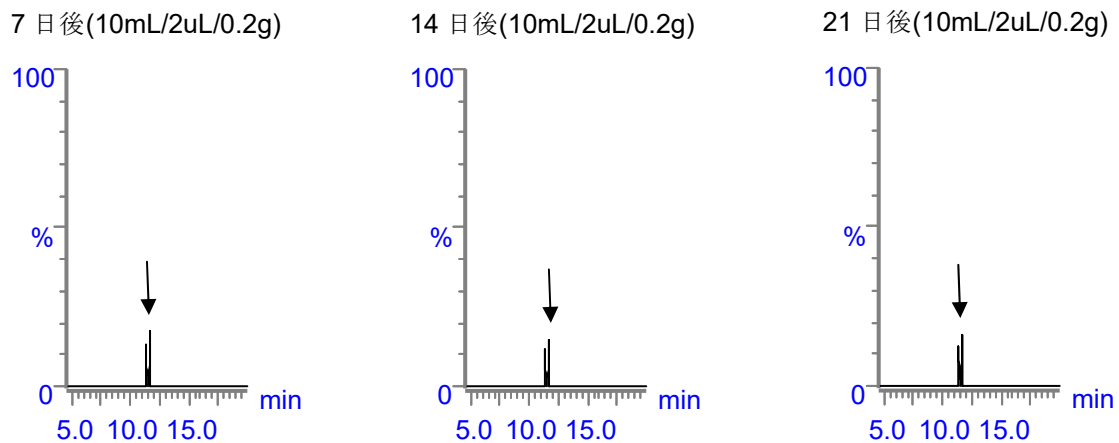


図13-2. 青森植試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/王林)

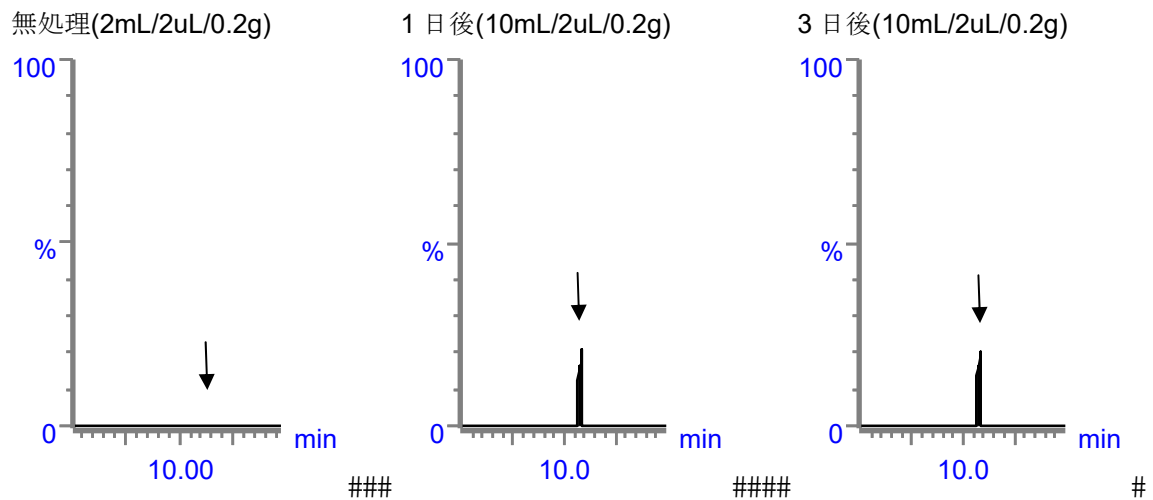


図14-1. 福島植試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/ふじ)

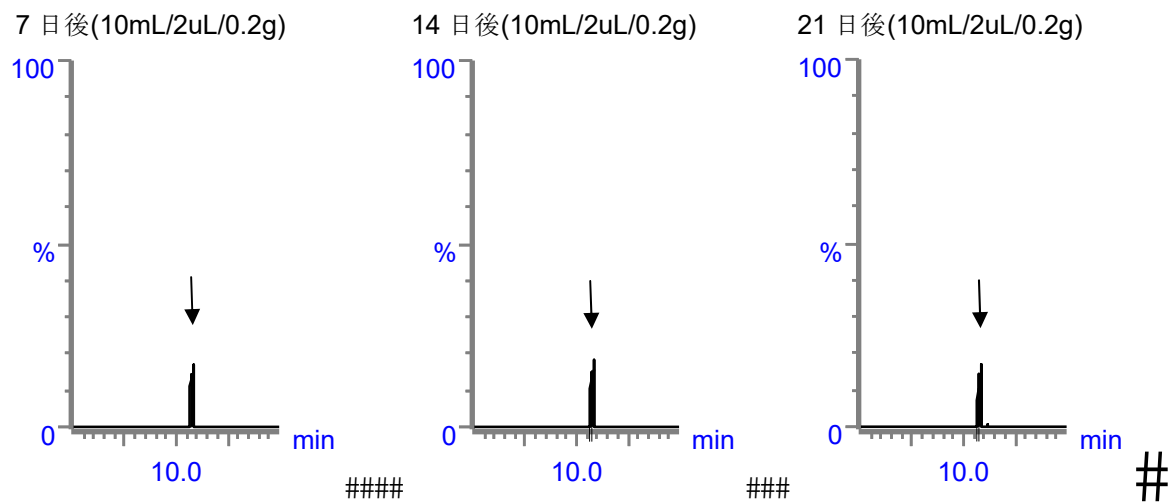


図14-2. 福島植試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/ふじ)

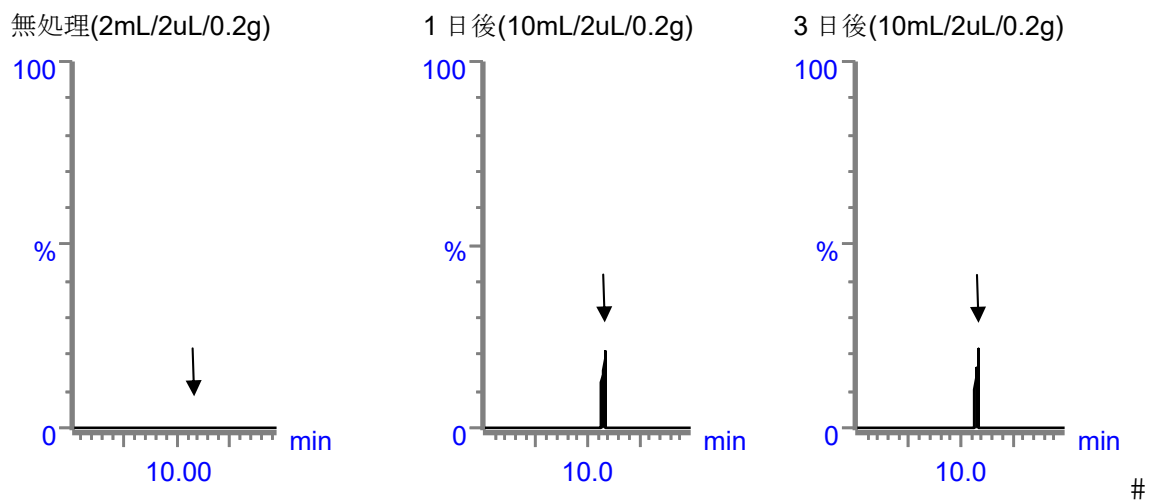


図15-1. 長野植試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/秋映)

#

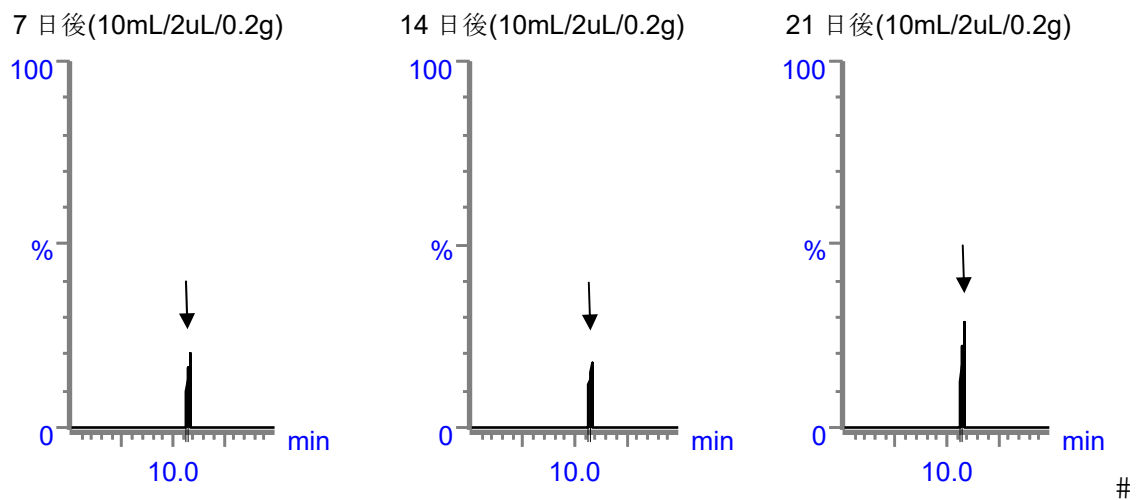


図15-2. 長野植試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/秋映)

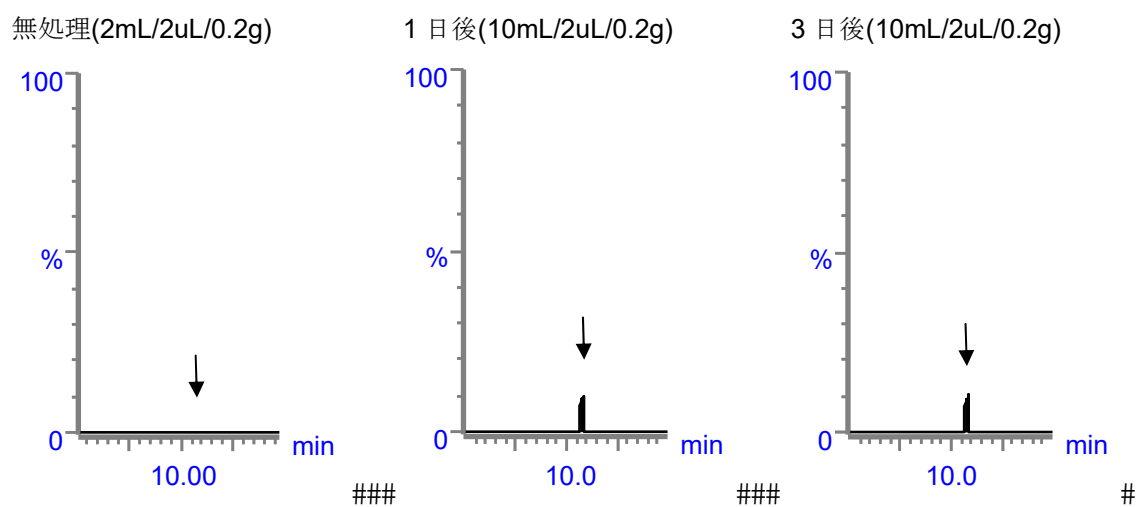


図16-1. 日植防山梨試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/シナノスイート)

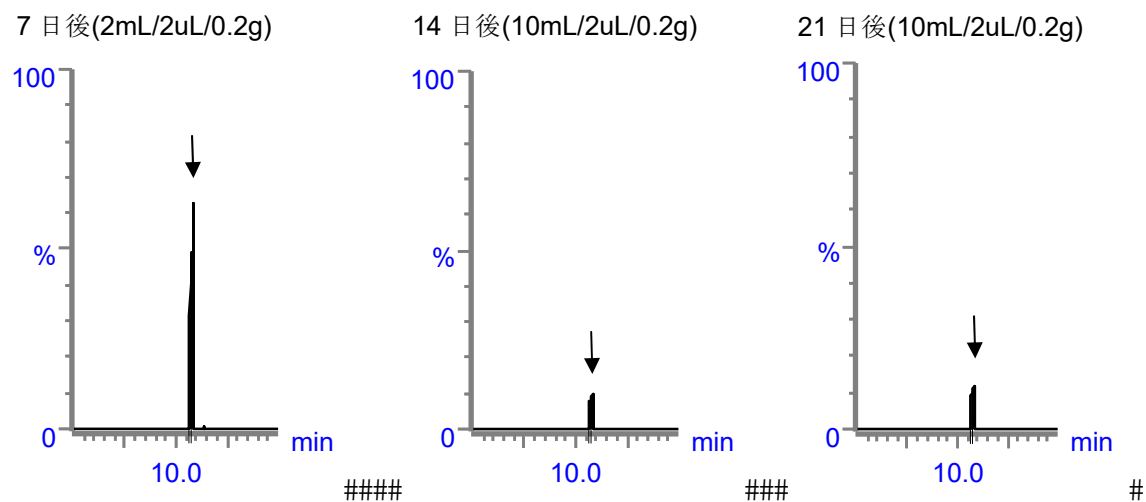


図16-2. 日植防山梨試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/シナノスイート)

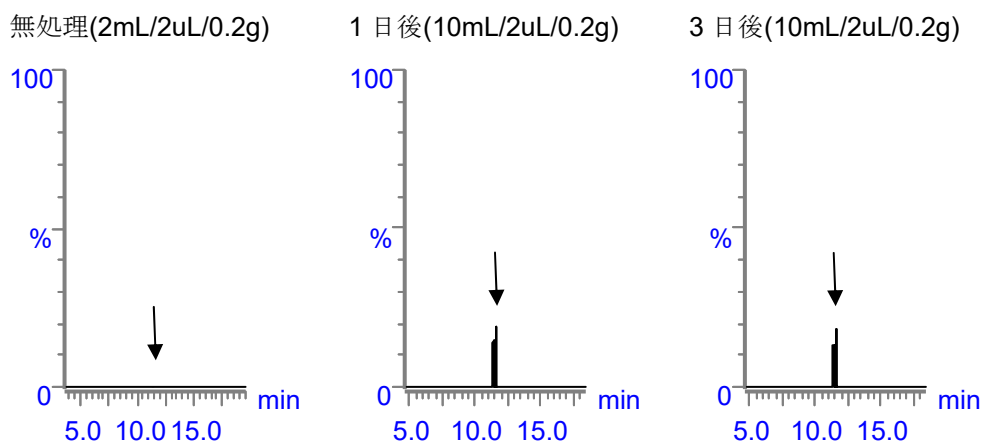


図17-1. 青森植試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/アルプス乙女)

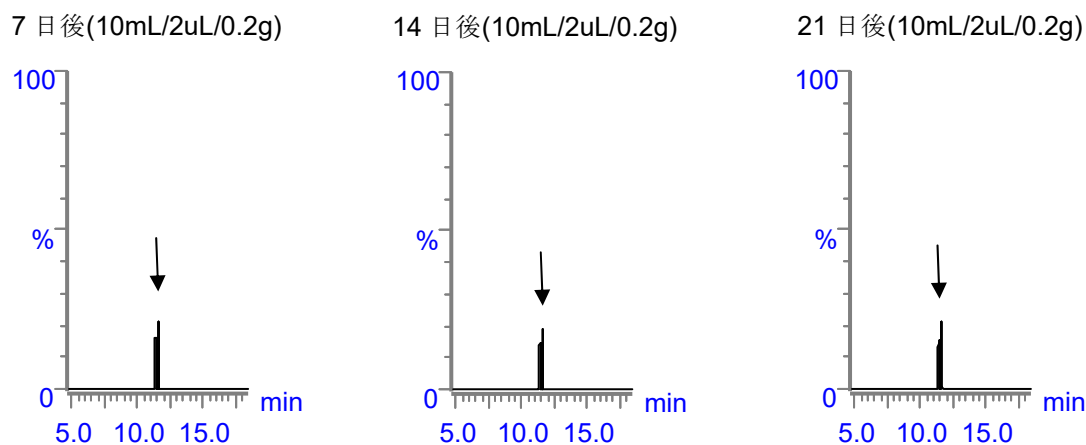


図17-2. 青森植試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/アルプス乙女)

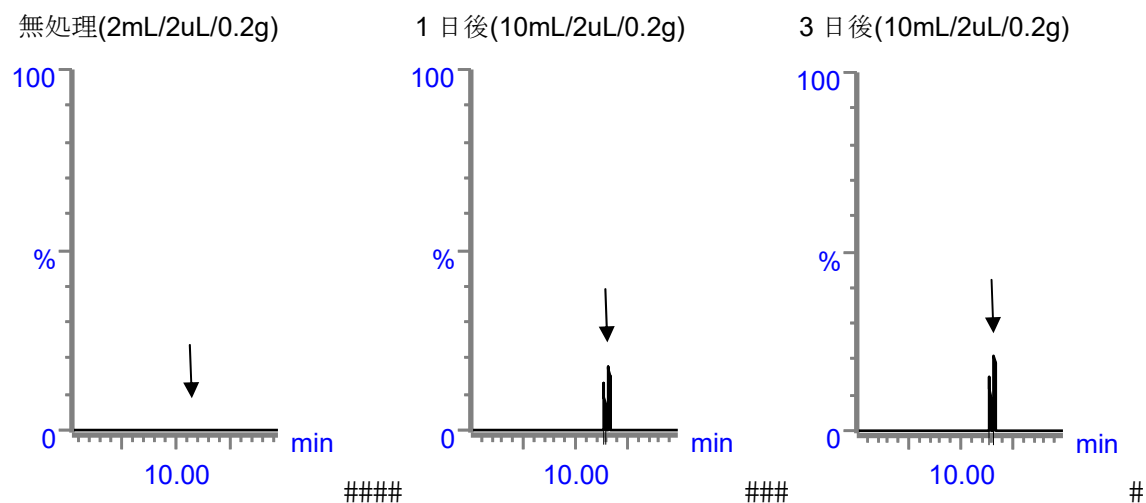


図18-1. 福島植試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/アルプス乙女)

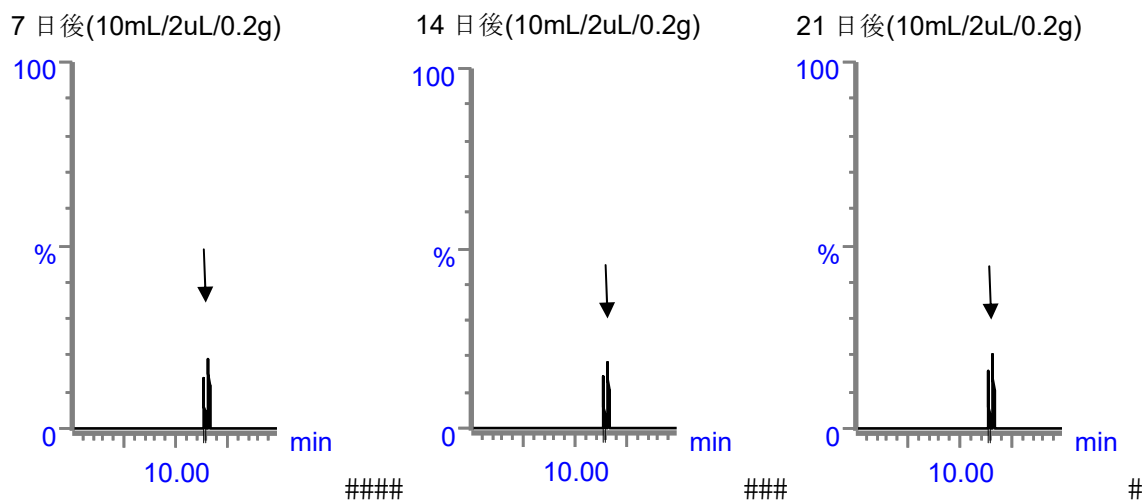


図18-2. 福島植試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/アルプス乙女)

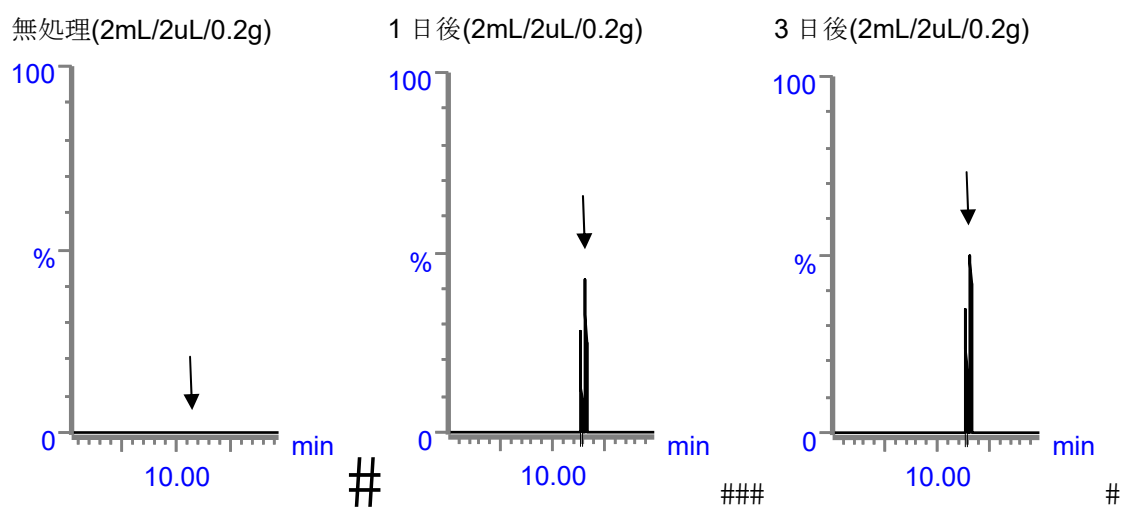


図19-1. 長野植試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/アルプス乙女) #

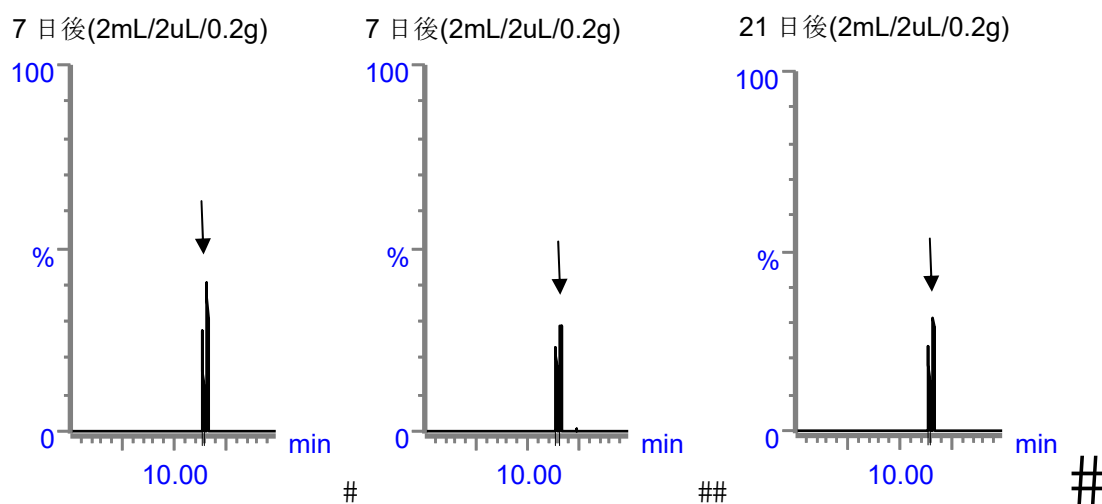


図19-2. 長野植試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/アルプス乙女)

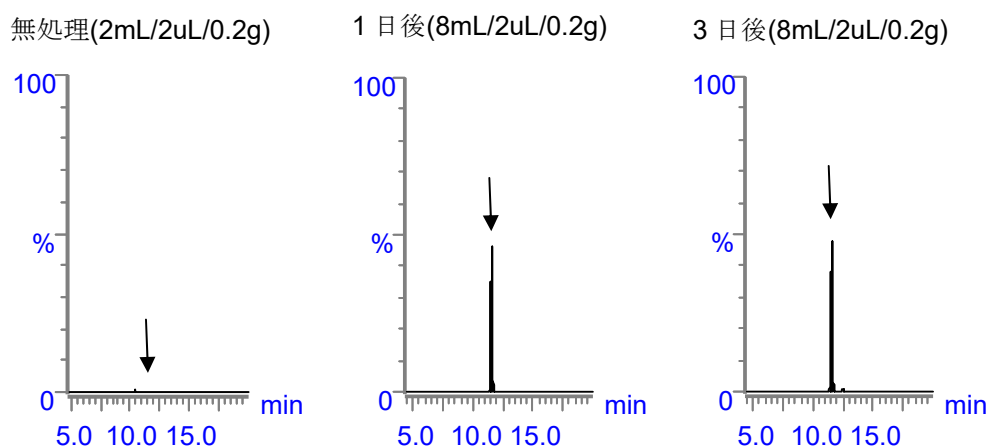


図20-1. 日植防山梨試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/ドルゴ)

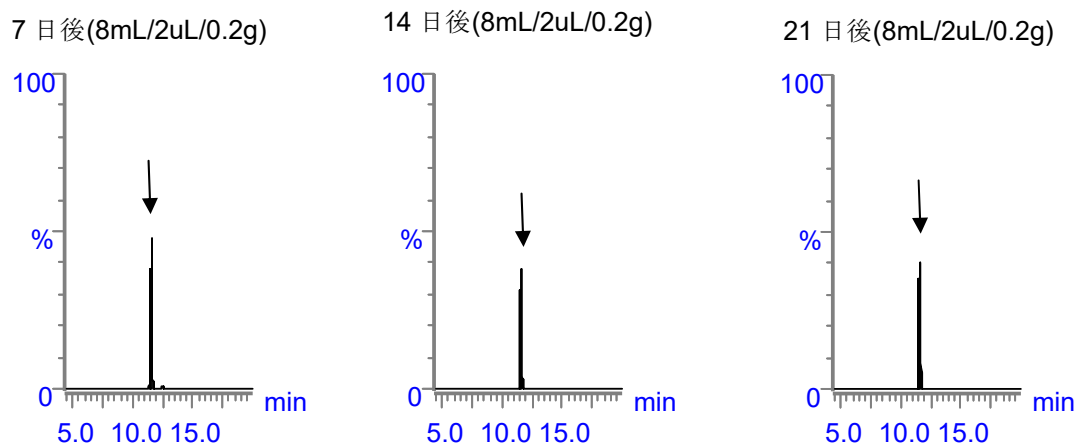


図20-2. 日植防山梨試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/ドルゴ)

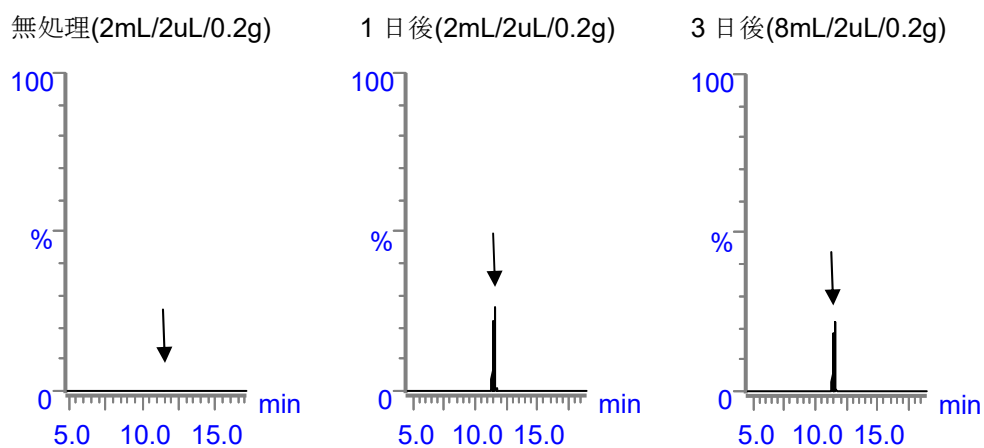


図21-1. 日植防山梨試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/メイポール)

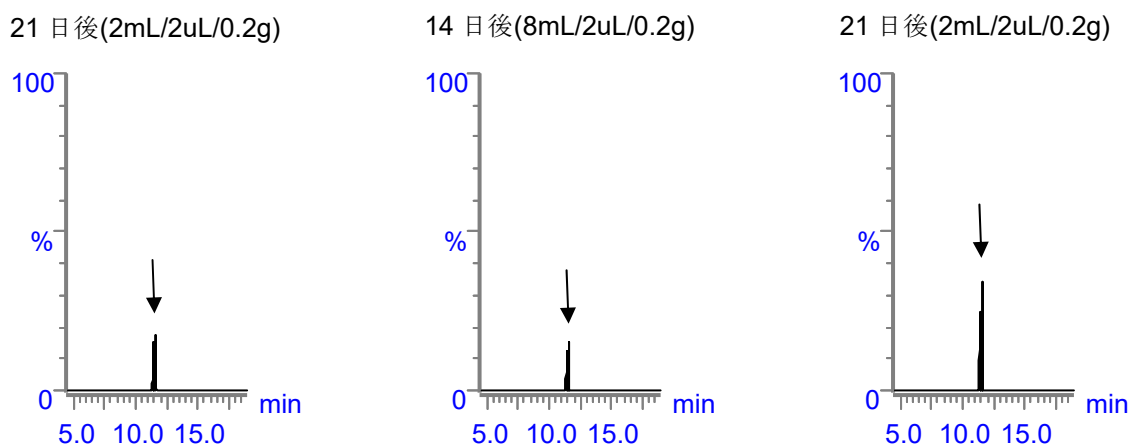
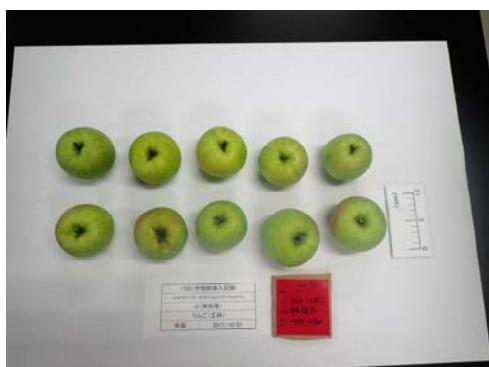


図21-2. 日植防山梨試料のクロマトグラム (*trans*-ペルメトリン/メイポール)

IV. 到着時の試料写真

1. 普通りんご



青森植（王林） 無処理



青森植（王林） 処理1日後



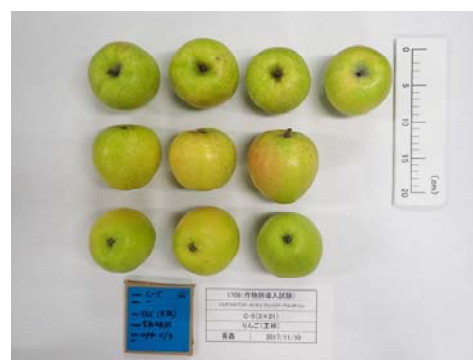
青森植（王林） 処理3日後



青森植（王林） 処理7日後



青森植（王林） 処理14日後



青森植（王林） 処理21日後



福島植（ふじ） 無処理



福島植（ふじ） 処理1日後



福島植（ふじ） 処理3日後



福島植（ふじ） 処理7日後



福島植（ふじ） 処理14日後



福島植（ふじ） 処理21日後



長野植（秋映） 無処理



長野植（秋映） 処理1日後



長野植（秋映） 処理3日後



長野植（秋映） 処理7日後



長野植（秋映） 処理14日後



長野植（秋映） 処理21日後



日植防山梨（シナスイト） 無処理



日植防山梨（シナスイト） 処理1日後



日植防山梨（シナスイト） 処理3日後



日植防山梨（シナスイト） 処理7日後



日植防山梨（シナスイト） 処理14日後



日植防山梨（シナスイト） 処理21日後

2. 小型りんご



青森植（アルプス乙女） 無処理



青森植（アルプス乙女） 処理1日後



青森植（アルプス乙女） 処理3日後



青森植（アルプス乙女） 処理7日後



青森植（アルプス乙女） 処理14日後



青森植（アルプス乙女） 処理21日後



福島植（アルプス乙女） 無処理



福島植（アルプス乙女） 処理1日後



福島植（アルプス乙女） 処理3日後



福島植（アルプス乙女） 処理7日後



福島植（アルプス乙女） 処理14日後



福島植（アルプス乙女） 処理21日後



長野植 (アルプス乙女) 無処理



長野植 (アルプス乙女) 処理1日後



長野植 (アルプス乙女) 処理3日後



長野植 (アルプス乙女) 処理7日後



長野植 (アルプス乙女) 処理14日後



長野植 (アルプス乙女) 処理21日後



日植防山梨（ドルゴ） 無処理



日植防山梨（ドルゴ） 処理1日後



日植防山梨（ドルゴ） 処理3日後



日植防山梨（ドルゴ） 処理7日後



日植防山梨（ドルゴ） 処理14日後



日植防山梨（ドルゴ） 処理21日後



日植防山梨 (メイトール) 無処理



日植防山梨 (メイトール) 処理1日後



日植防山梨 (メイトール) 処理3日後



日植防山梨 (メイトール) 処理7日後



日植防山梨 (メイトール) 処理14日後



日植防山梨 (メイトール) 処理21日後