

資料 3 - 1

農薬登録における作物のグループ化の検討のための試験委託事業

(①すいか、メロン)

残留分析詳細(メロン試料)：トリフルミゾール

1. 分析対象物質

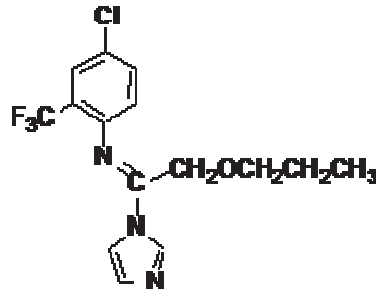
トリフルミゾール

化学名： (E)-4-chloro- α,α,α -trifluoro-N-(1-imidazol-1-yl-2-propoxyethylidene)-*o*-toluidine

分子式： $C_{15}H_{15}ClF_3N_3O$

分子量： 345.7

構造式：



性 状： 無色の結晶

融 点： 62.4℃

蒸気圧： 0.191 mPa (25℃)

分配係数： $\log K_{OW} = 5.06$ (pH 6.5), 5.1 (pH 7), 5.12 (pH 8)

溶解性： 水 10.2 mg/L (pH 7, 20-25℃)

アセトン 1440, クロロホルム 2220, ヘキサン 17.6, メタノール 496, キシレン 639 (以上 g/L, 20-25℃)

安定性： 強アルカリ及び酸性条件下で不安定

水中光分解性半減期 29時間

出 典：The Pesticide Manual 17th Edition.

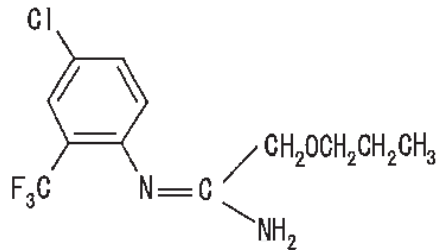
トリフルミゾール代謝物

化学名： 4-Chloro- α,α,α -trifluoro-N-(1-amino-2-propoxyethylidene)-o-toluidine

分子式： $C_{12}H_{14}ClF_3N_2O$

分子量： 294.70

構造式：



性 状： 無色の結晶

溶解性： 水に可溶

アセトン，クロロホルム，キシレンに易溶

安定性： 通常条件で安定

酸化剤との接触で反応する恐れ

酸，アルカリ性物質により分解する恐れ

出 典： 関東化学株式会社 安全データシート

2. 標準品及び試薬

トリフルミゾール標準品：純度 99.6%（関東化学製）

トリフルミゾール代謝物標準品：純度 100.0%（関東化学製）

メタノール，ヘキサン，りん酸水素二ナトリウム，りん酸二水素カリウム，塩化ナトリウム，無水硫酸ナトリウム，酢酸アンモニウム：特級（和光純薬工業製）

トルエン：残留農薬試験用（和光純薬工業製）

メタノール：高速液体クロマトグラフ用（和光純薬工業製）

アセトニトリル：高速液体クロマトグラフィー用（関東化学製）

水：PRA-0015-0V0／Analyticで精製した水（オルガノ製）

GC／SAX／PSA ミニカラム：InertSep GC／SAX／PSA 500mg／500mg／500mg／12mL

（ジーエルサイエンス製）

3. 装置及び機器

化学天秤：AUW220（島津製作所製）

上皿天秤：PB8001-S/FACT（メトラー・トレド製）

上皿天秤：MS6001S/02（メトラー・トレド製）

上皿天秤：FX-1200i（エー・アンド・デイ製）

ミキサー：CB-15T（ワーリング製）

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC-MS/MS）：

LCMS-8050 トリプル四重極型（島津製作所製）

データ処理装置：LabSolutions（島津製作所製）

4. 液体クロマトグラフ・質量分析計の操作条件

4.1. 液体クロマトグラフの操作条件

カラム：	Inertsil ODS-3（ジーエルサイエンス製） 内径 2.1 mm，長さ 10 cm，粒径 4 μ m
温度：	カラムオーブン 40℃ サンプルクーラ 15℃
移動相：	メタノール／5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 (70 : 30, v/v)
流量：	0.2 mL/min
注入量：	1 μ L
保持時間：	約 13.2 min（トリフルミゾール） 約 5.3 min（トリフルミゾール代謝物）

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
ネブライザーガス流量：	3.0 L/min
ヒーティングガス流量：	10.0 L/min
ドライイングガス流量：	10.0 L/min
CID ガス圧力：	270 kPa
インターフェイス電圧：	4.0 kV
インターフェイス温度：	300℃
DL 温度：	250℃
ヒートブロック温度：	400℃
イオン検出法：	MRM
<トリフルミゾール>	
Q1 PreBias：	-10.0 V
コリジョン電圧：	-11.0 V
Q3 PreBias：	-14.0 V
採取イオン：	プリカーサーイオン； m/z 346.00 プロダクトイオン； m/z 278.05
<トリフルミゾール代謝物>	
Q1 PreBias：	-16.0 V

コリジョン電圧： -24.0 V
Q3 PreBias： -17.0 V
採取イオン： プリカーサーイオン； m/z 295.20
プロダクトイオン； m/z 43.15

5. 検量線の作成

トリフルミゾール標準品20.0 mg（純度換算相当量）及びトリフルミゾール代謝物20.0 mg（純度換算相当量）を各々100 mL容メスフラスコに精秤し、メタノールに溶解して200 mg/Lの標準原液を調製した。この原液を等量ずつ混合し、メタノールで希釈して10 mg/Lの混合標準溶液を調製した。さらにこの混合標準溶液をメタノールで希釈して0.0025, 0.005, 0.025, 0.05, 0.075及び0.1 mg/Lの混合標準溶液を調製した。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、データ処理装置を用いてトリフルミゾール及びトリフルミゾール代謝物のピーク高さを測定し、横軸に重量 (ng)，縦軸にピーク高さをとって各検量線を作成した。

6. 分析操作

6.1. 試料の前処理

試料は写真撮影及び重量測定を実施した後、各々を縦に8分割し、対角の2つを取り合わせた（4組作製）。その2組を果実分析用試料とし、残りの2組を果肉分析用試料とした。果肉分析用試料は果肉と果皮に分け、果皮の厚さを測定した。又、果実、果肉及び果皮の各部位の全重量を測定した。

無処理区は、2組の果実分析用試料を細切した後、よく混ぜ合わせ、その一部を添加剤が必要な有機銅分析用試料として取り分けた後、残りの果実分析用試料をミキサーで均一化してトリフルミゾール分析用を含む調製試料を作製した。果肉分析用試料についても果実分析用試料と同様に各調製試料を作製した。

処理区は、2組の果実分析用試料を細切し、ミキサーで均一化してトリフルミゾール分析用を含む調製試料を作製した。果肉分析用試料についても果実分析用試料と同様に各調製試料を作製した。

各調製試料は2組以上作製し、即日分析を要するホセチル分析用試料を除き、密封して冷凍保存（-20℃以下）した。分析時にその1組を取り、分析に供した。

6.2. 抽出

均一化した試料20 gをはかりとり、リン酸緩衝溶液*20 mL，メタノール100 mL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、残渣をメタノール30 mLで2回洗い、同様にろ過した。ろ液を合わせ、メタノールで200 mL定容とし、その50 mL（試料5 g相当量）を取り、40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、メタノールを留去した。

* リン酸二水素カリウム61 gとリン酸水素二ナトリウム105 gを水1 Lに溶解した。

6.3. ヘキサン転溶

濃縮液を10%塩化ナトリウム水溶液80 mLを用いて分液ロートに移し、ヘキサン80 mLを加え5分間振とうした。静置分離後、ヘキサン層は無水硫酸ナトリウムをのせたろ紙（No.5A）を通過させ脱水した。水層にはヘキサン80 mLを加えて前記操作を繰り返した後、ヘキサン層を合わせた。ヘキサン層は40℃以下の水浴中で約2 mLまで減圧濃縮し、通風で乾固した。

6.4. GC/SAX/PSAミニカラムによる精製

GC/SAX/PSAミニカラムにアセトニトリル/トルエン（75：25，v/v）混液10 mLを流下して前処理した。残留物を同混液5 mLで溶解して、GC/SAX/PSAミニカラムに移して流下した後、同混液30 mLを流下した。全ての溶出液を取り合わせ、40℃以下の水浴中で約2 mLまで減圧濃縮し、通風で乾固した。

6.5. 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高さを求め、検量線よりトリフルミゾール及びトリフルミゾール代謝物の重量を求め、試料中の残留濃度を算出した。また、トリフルミゾール代謝物の残留濃度に換算係数1.17*を乗じ、トリフルミゾールの残留濃度に換算した。

* 換算係数1.17（トリフルミゾール分子量345.7/トリフルミゾール代謝物分子量294.7）

7. 定量限界値(LOQ)及び検出限界値(LOD)

トリフルミゾール，トリフルミゾール代謝物

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 (mg/kg)
0.005	5	4	1	0.004

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 (mg/kg)
0.0025	5	4	1	0.002

8. 回収率

分析法確認のため、市販試料*を用いて、0.004 mg/kg（定量限界相当）、0.25 mg/kg及び5 mg/kg添加濃度における回収試験を各5連分析で実施した。尚、無添加試料は2連分析し、全て定量限界未満であった。回収率の算出結果を示す。

* 東京都板橋区の小売店で2016年7月5日に購入した静岡県産のメロン（27.2 kg/12個）

8.1. 果肉

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)			平均回収率 (%)	RSDr (%)
<u>トリフルミゾール</u>						
市販品	5	97, 95,	96, 94	95,	95	1.2
市販品	0.25	99, 93,	96, 90	94,	94	3.6
市販品	0.004	122, 105,	111, 98	106,	108	8.2
<u>トリフルミゾール代謝物</u>						
市販品	5	89, 87,	89, 86	87,	88	1.5
市販品	0.25	94, 84,	91, 81	87,	87	6.0
市販品	0.004	110, 93,	104, 86	95,	98	9.6

8.2. 果実

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)			平均回収率 (%)	RSDr (%)
<u>トリフルミゾール</u>						
市販品	5	93, 90,	91, 87	90,	90	2.4
市販品	0.25	91, 88,	91, 81	89,	88	4.7
市販品	0.004	131, 110,	115, 97	112,	113	10.8
<u>トリフルミゾール代謝物</u>						
市販品	5	84, 81,	82, 75	82,	81	4.2
市販品	0.25	79, 71,	76, 69	73,	74	5.4
市販品	0.004	122, 111,	117, 80	114,	109	15.2

9. 精度管理

「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、内部精度管理を行った。

管理基準：20検体を超えるごとに、各1検体の無処理試料及び0.04 mg/kg添加試料（内部精度管理試料）を分析した。その結果、下表に示すように問題は認められなかった。

又、2015年7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）におけるZスコアは全て $Z < 2$ であった。

9.1. 果肉

成分名	分析日*	使用した圃場	回収率 (%)	無処理区の 分析値 (mg/kg)
<u>トリフルミゾール</u>	2016/10/15	茨城	96	<0.004
	2016/10/15	高知	107	<0.004
	2016/10/18	宮崎	85	<0.004
	2016/10/27	茨城	93	<0.004
	2016/10/27	高知	97	<0.004
	2016/10/27	宮崎	89	<0.004
<u>トリフルミゾール代謝物</u>	2016/10/15	茨城	92	<0.004
	2016/10/15	高知	104	<0.004
	2016/10/18	宮崎	91	<0.004
	2016/10/27	茨城	103	<0.004
	2016/10/27	高知	104	<0.004
	2016/10/27	宮崎	105	<0.004

回収試料の添加濃度：0.04 mg/kg

* 抽出日を記載

9.2. 果実

成分名	分析日*	使用した圃場	回収率 (%)	無処理区の 分析値 (mg/kg)
<u>トリフルミゾール</u>	2016/10/15	茨城	103	<0.004
	2016/10/15	高知	96	<0.004
	2016/10/18	宮崎	90	<0.004
	2016/10/27	茨城	97	<0.004
	2016/10/27	高知	90	<0.004
	2016/10/27	宮崎	74	<0.004
<u>トリフルミゾール代謝物</u>	2016/10/15	茨城	107	<0.004
	2016/10/15	高知	97	<0.004
	2016/10/18	宮崎	104	<0.004
	2016/10/27	茨城	110	<0.004
	2016/10/27	高知	99	<0.004
	2016/10/27	宮崎	94	<0.004

回収試料の添加濃度：0.04 mg/kg

* 抽出日を記載

10. 保存安定性確認

均一化した各無処理試料にトリフルミゾール及びトリフルミゾール代謝物を添加し、冷凍暗所（－20℃以下）に凍結保存した。一定期間保存した後、同様に分析して回収率を求め、保存中の安定性を確認した。保存安定性の結果を示す。

10.1. 果肉

圃場名	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)		平均回収率 (%)
<u>トリフルミゾール</u>					
茨城	0.5	69 (2016/8/19-10/27)	95,	91	93
高知	0.5	29 (2016/9/28-10/27)	93,	93	93
宮崎	0.5	80 (2016/8/8-10/27)	95,	94	94
<u>トリフルミゾール代謝物</u>					
茨城	0.5	69 (2016/8/19-10/27)	82,	74	78
高知	0.5	29 (2016/9/28-10/27)	79,	71	75
宮崎	0.5	80 (2016/8/8-10/27)	93,	91	92

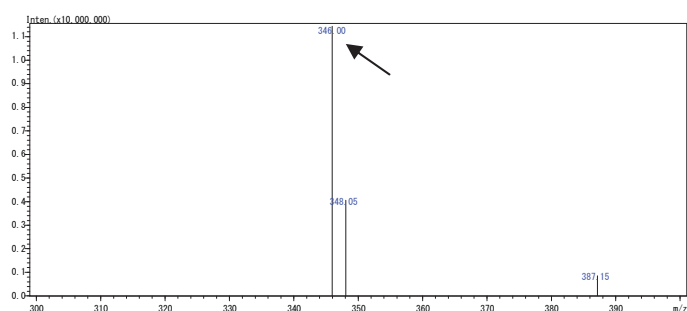
10.2. 果実

圃場名	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)		平均回収率 (%)
<u>トリフルミゾール</u>					
茨城	0.5	69 (2016/8/19-10/27)	97,	96	96
高知	0.5	29 (2016/9/28-10/27)	90,	89	90
宮崎	0.5	80 (2016/8/8-10/27)	100,	98	99
<u>トリフルミゾール代謝物</u>					
茨城	0.5	69 (2016/8/19-10/27)	91,	89	90
高知	0.5	29 (2016/9/28-10/27)	83,	82	82
宮崎	0.5	80 (2016/8/8-10/27)	95,	92	94

付図-1. マススペクトル

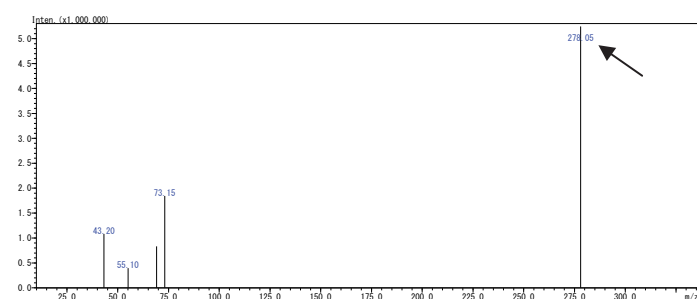
トリフルミゾールのマススペクトル（一次イオン）の一例（正モード）

（プリカーサーイオン $m/z=346.00$ ，正モード）



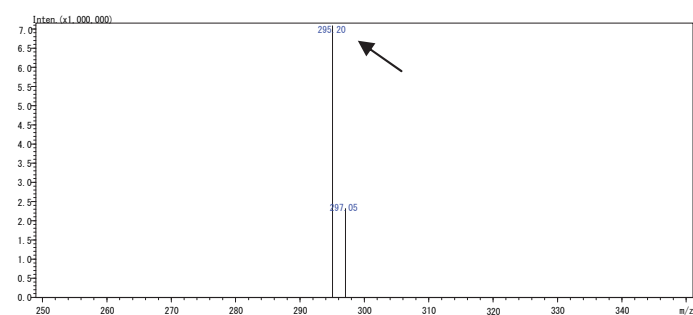
トリフルミゾールのプロダクトスキャンスペクトルの一例

（プロダクトイオン $m/z=278.05$ ，正モード）



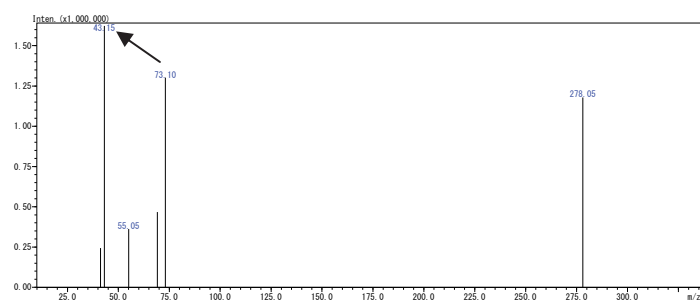
トリフルミゾール代謝物のマススペクトル（一次イオン）の一例（正モード）

（プリカーサーイオン $m/z=295.20$ ，正モード）



トリフルミゾール代謝物のプロダクトスキャンスペクトルの一例

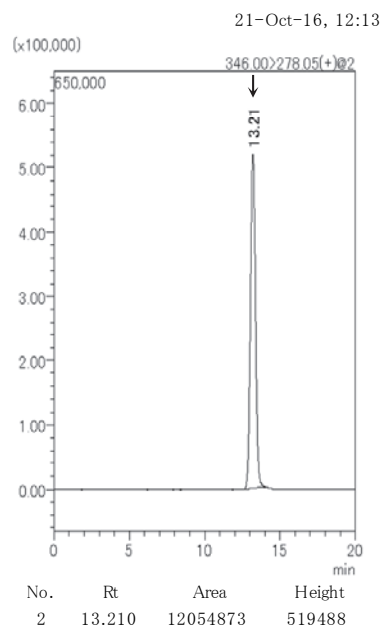
（プロダクトイオン $m/z=43.15$ ，正モード）



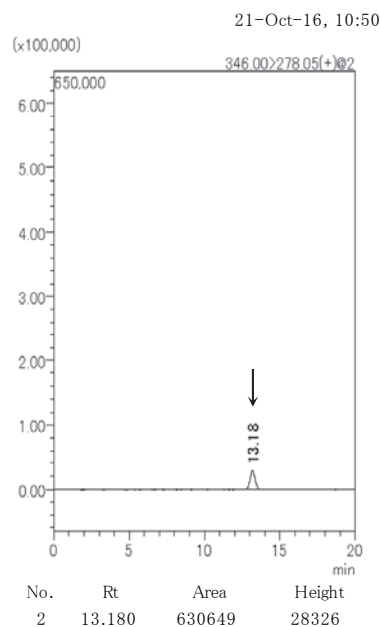
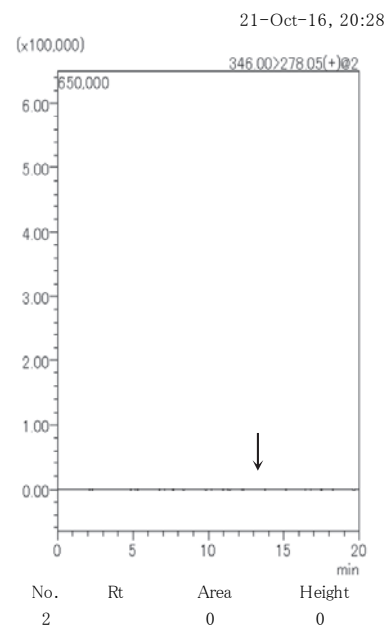
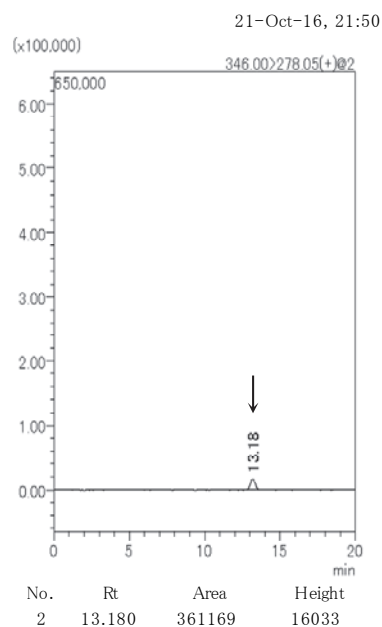
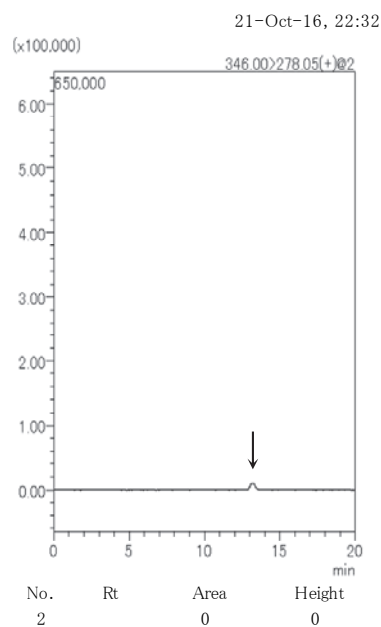
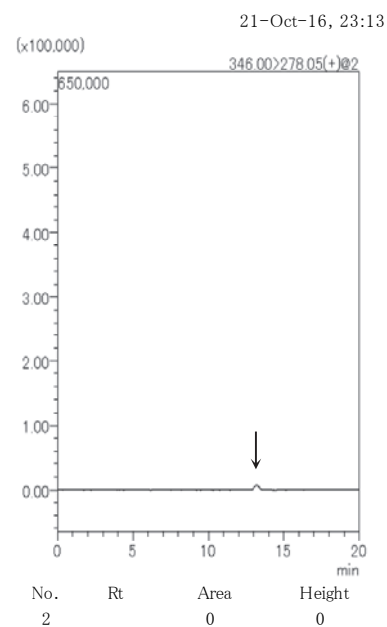
付図-2. トリフルミゾールのクロマトグラム (代表例)

付図-2-1. 果肉

標準品 0.1 ng

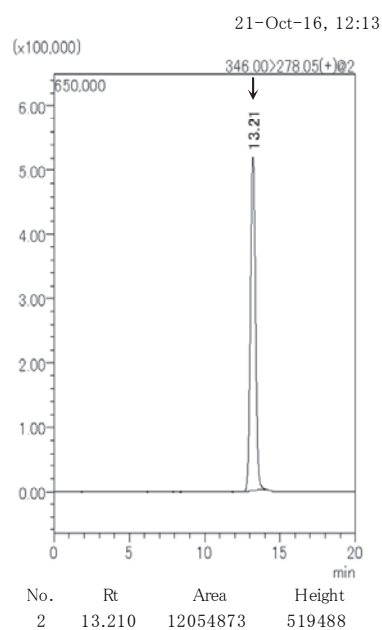


標準品 0.005 ng

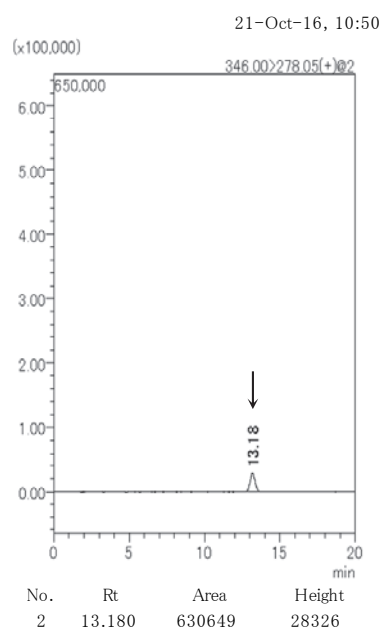
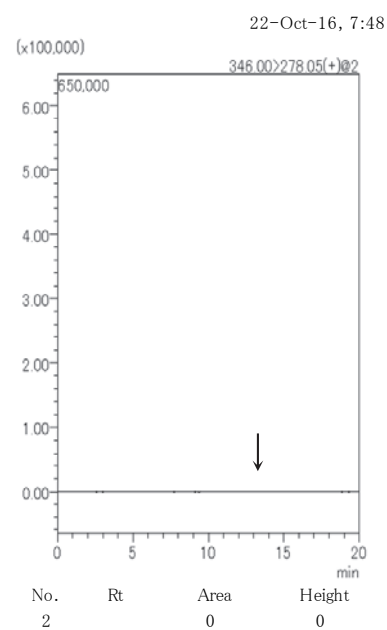
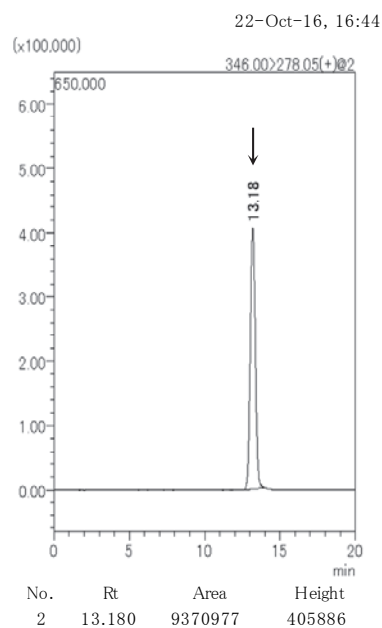
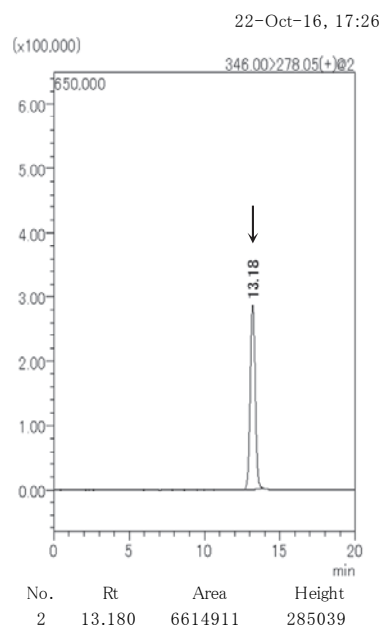
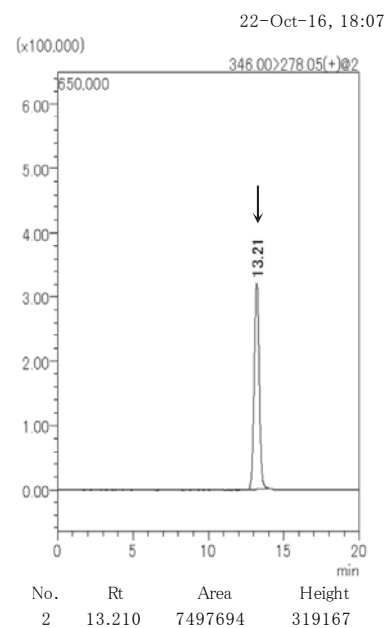
宮崎 無処理
1 μ L/4 mL/5 g宮崎 5回処理 1日後
1 μ L/4 mL/5 g宮崎 5回処理 3日後
1 μ L/4 mL/5 g宮崎 5回処理 7日後
1 μ L/4 mL/5 g

付図-2-2. 果実

標準品 0.1 ng



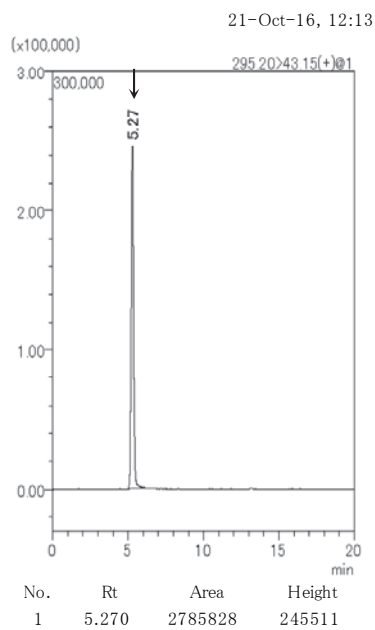
標準品 0.005 ng

宮崎 無処理
1 μ L/4 mL/5 g宮崎 5回処理 1日後
1 μ L/20 mL/5 g宮崎 5回処理 3日後
1 μ L/20 mL/5 g宮崎 5回処理 7日後
1 μ L/16 mL/5 g

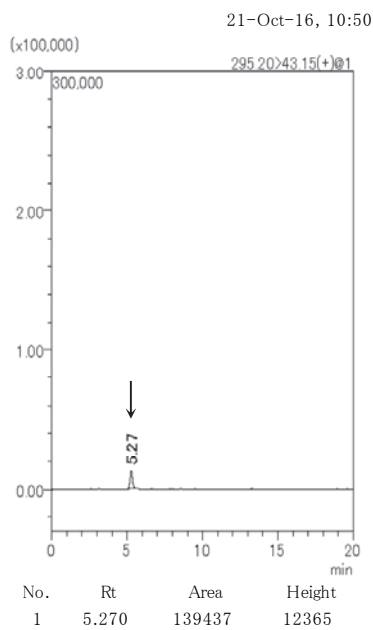
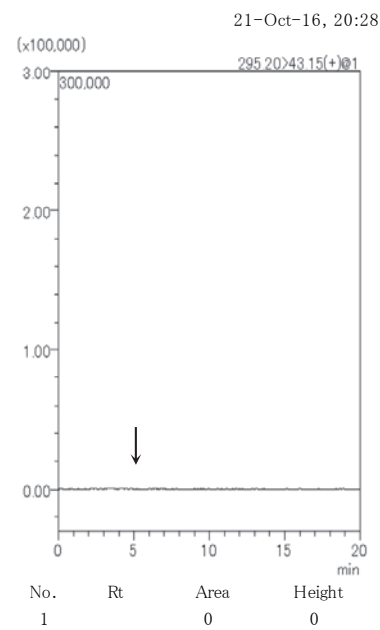
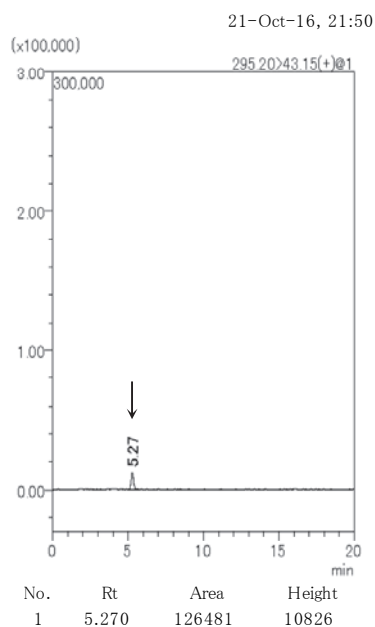
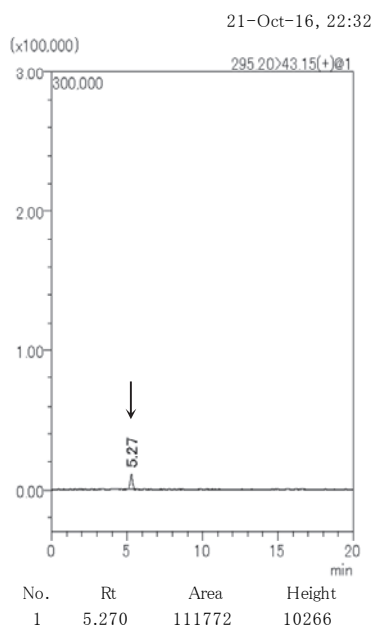
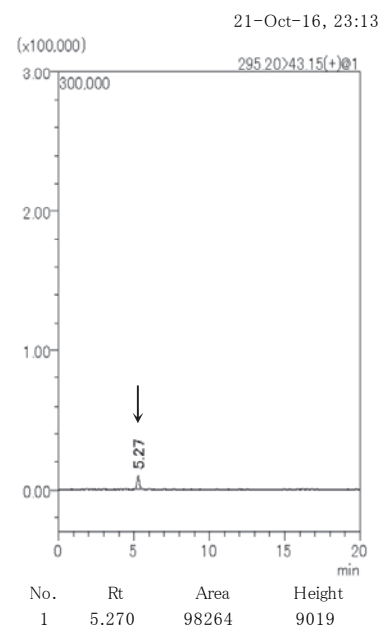
付図-3. トリフルミゾール代謝物のクロマトグラム (代表例)

付図-3-1. 果肉

標準品 0.1 ng

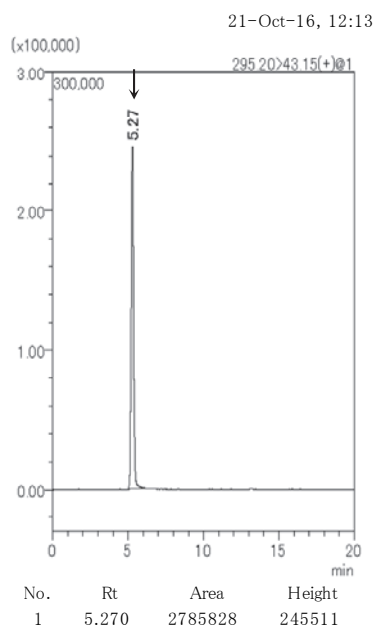


標準品 0.005 ng

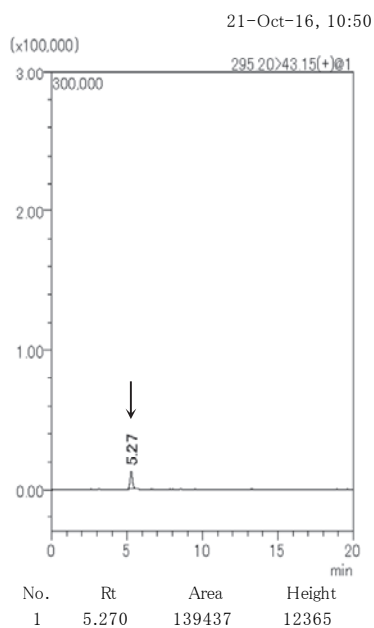
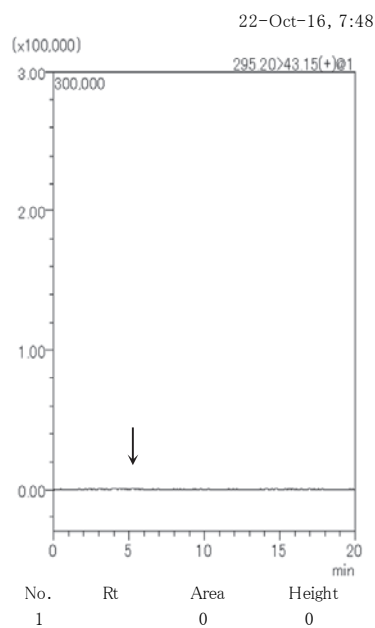
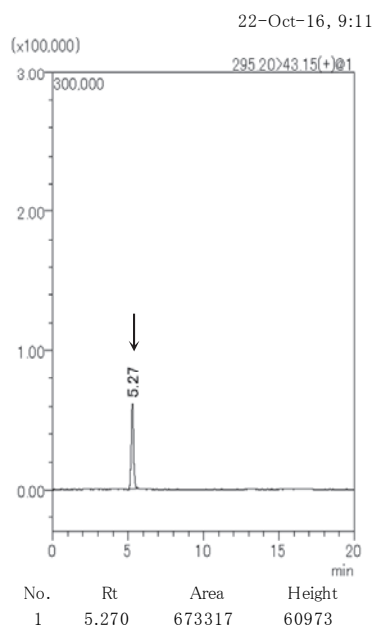
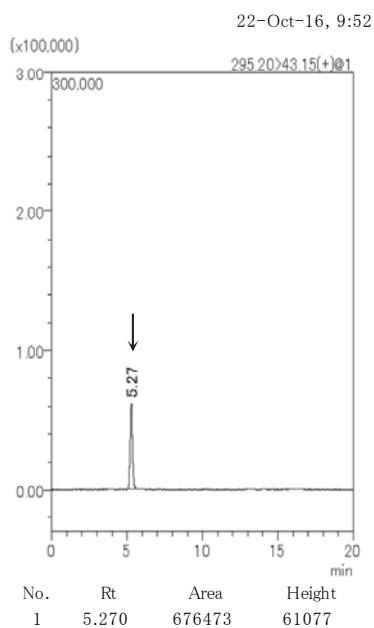
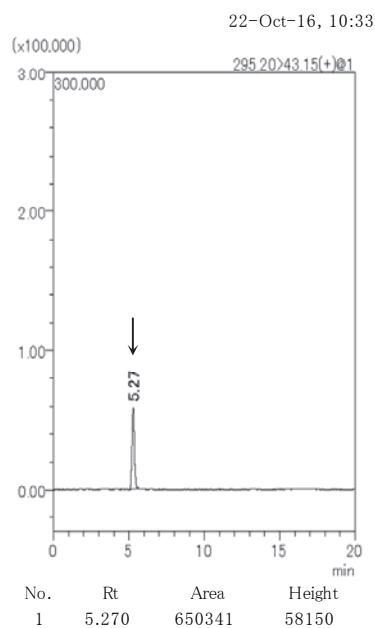
宮崎 無処理
1 µL/4 mL/5 g宮崎 5回処理 1日後
1 µL/4 mL/5 g宮崎 5回処理 3日後
1 µL/4 mL/5 g宮崎 5回処理 7日後
1 µL/4 mL/5 g

付図-3-2. 果実

標準品 0.1 ng



標準品 0.005 ng

宮崎 無処理
1 μ L/4 mL/5 g宮崎 5回処理 1日後
1 μ L/4 mL/5 g宮崎 5回処理 3日後
1 μ L/4 mL/5 g宮崎 5回処理 7日後
1 μ L/4 mL/5 g

残留分析詳細(メロン試料)：ノニルフェノールスルホン酸銅

1. 分析対象物質

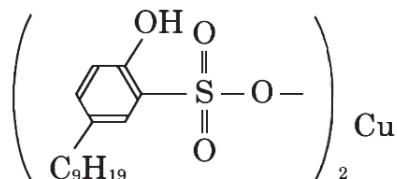
ノニルフェノールスルホン酸銅

化学名： nonyl phenol sulfonic acid copper(II)-salt

分子式： $C_{30}H_{46}CuO_8S_2$

分子量： 662.4

構造式：



性 状： 濃緑褐色タール状，特異臭

融 点： 191℃（分解）

蒸気圧： 2.1×10^{-4} Pa以下（25℃）

溶解性： 水 4.09 g/L（pH 3.57，25±1℃）

ヘキサン 5.12 mg/L（25±1℃）

キシレン 3.26，ジクロロメタン 167，アセトン 204，

メタノール 176，酢酸エチル 203（以上 g/L，25±1℃）

安定性： 191℃で熱分解

加水分解性半減期（25℃）1年以上，

水中光分解性半減期（25℃）10.9時間（蒸留水），15.4時間（自然水）

出 典：農薬ハンドブック 2016年版

2. 標準品及び試薬

ノニルフェノールスルホン酸ナトリウム標準品：純度 97.3%（米澤化学提供）
メタノール，水酸化ナトリウム，硫酸，塩化ナトリウム，酢酸エチル，
無水硫酸ナトリウム，ギ酸，アンモニア水，酢酸アンモニウム
：特級（和光純薬工業製）
メタノール：高速液体クロマトグラフ用（和光純薬工業製）
水：PRA-0015-0V0／Analyticで精製した水（オルガノ製）
ポリマー系ミニカラム：Strata-X-A W 33 μ m Polymeric Weak Anion 500mg／6mL
（フェノメネクス製）

3. 装置及び機器

化学天秤：AUW220（島津製作所製）
上皿天秤：PB8001-S/FACT（メトラー・トレド製）
上皿天秤：MS6001S/02（メトラー・トレド製）
上皿天秤：ML1502E/02（メトラー・トレド製）
ミキサー：CB-15T（ワーリング製）
液体クロマトグラフ・質量分析計（LC-MS）：1100SL（アジレント・テクノロジー製）
データ処理装置：ChemStation（アジレント・テクノロジー製）

4. 液体クロマトグラフ・質量分析計の操作条件

4.1. 液体クロマトグラフの操作条件

カラム：TSKgel ODS-100V（東ソー製）
内径 2.0 mm，長さ 7.5 cm，粒径 3 μ m
移動相：メタノール／5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液
（65 : 35, v/v）
流量：0.2 mL/min
温度：カラムオーブン 40℃
注入量：1 μ L
保持時間：約 3.0 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)
負モード
ネブライザーガス圧力：35 psi
ドライイングガス流量：12 L/min
ドライイングガス温度：350℃
フラグメンター電圧：100 V

キャピラリー電圧： 4000 V
イオン検出法： SIM
採取イオン： m/z 299.3

5. 検量線の作成

ノニルフェノールスルホン酸ナトリウム標準品20.0 mg（ノニルフェノールスルホン酸換算相当量）を100 mL容メスフラスコに精秤し、メタノールに溶解して200 mg/Lの標準原液を調製した。この原液をメタノールで希釈して10 mg/Lの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て0.0025, 0.005, 0.025, 0.05, 0.075及び0.1 mg/Lの標準溶液を調製した。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、データ処理装置を用いてノニルフェノールスルホン酸のピーク高さを測定し、横軸に重量（ng）、縦軸にピーク高さ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

試料は写真撮影及び重量測定を実施した後、各々を縦に8分割し、対角の2つを取り合わせた（4組作製）。その2組を果実分析用試料とし、残りの2組を果肉分析用試料とした。果肉分析用試料は果肉と果皮に分け、果皮の厚さを測定した。又、果実、果肉及び果皮の各部位の全重量を測定した。

無処理区は、2組の果実分析用試料を細切した後、よく混ぜ合わせ、その一部を添加剤が必要な有機銅分析用試料として取り分けた後、残りの果実分析用試料をミキサーで均一化してノニルフェノールスルホン酸銅分析用を含む調製試料を作製した。果肉分析用試料についても果実分析用試料と同様に各調製試料を作製した。

処理区は、2組の果実分析用試料を細切し、ミキサーで均一化してノニルフェノールスルホン酸銅分析用を含む調製試料を作製した。果肉分析用試料についても果実分析用試料と同様に各調製試料を作製した。

各調製試料は2組以上作製し、即日分析を要するホセチル分析用試料を除き、密封して冷凍保存（-20℃以下）した。分析時にその1組を取り、分析に供した。

6.2. 抽出

均一化した試料20 gをはかりとり、メタノール100 mL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、残渣をメタノール30 mLで2回洗い、同様にろ過した。ろ液を合わせ、メタノールで200 mLに定容し、その20 mL（試料2 g相当量）を取り、10%水酸化ナトリウム水溶液5 mLを加えて40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、メタノールを留去した。

6.3. 酢酸エチル転溶

残留物は0.5 mol/L硫酸水溶液及び1%水酸化ナトリウム水溶液を用いてpH7に中和した後、

10%塩化ナトリウム水溶液50 mLで分液ロートに移し、酢酸エチル50 mLを加え5分間振とうした。静置分離後、酢酸エチル層は無水硫酸ナトリウムをのせたろ紙（No.5A）を通過させ脱水し、水層には酢酸エチル50 mLを加えて前記操作を繰り返した後、酢酸エチル層を取り合わせた。酢酸エチル層は0.2%ギ酸溶液を10 mL加えて40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、酢酸エチルを留去した。

6.4. ポリマー系ミニカラムによる精製

ポリマー系ミニカラムにメタノール5 mL及び水10 mLを順次流下し前処理した。濃縮液をポリマー系ミニカラムに移して流下した後、0.2 %ギ酸溶液10 mL及びメタノール10 mLを流下し、流出液を捨てた。次にメタノール／アンモニア水（300：1，v/v）混液10 mLを流下し、溶出液を取り、40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、通風で乾固した。

6.5. 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高さを求め、検量線よりノニルフェノールスルホン酸の重量を求め、換算係数1.11*を乗じ、試料中のノニルフェノールスルホン酸銅の残留濃度を算出した。

* 換算係数1.11（ノニルフェノールスルホン酸銅分子量662.4／ノニルフェノールスルホン酸2分子量598.8）

7. 定量限界値(LOQ)及び検出限界値(LOD)

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* (mg/kg)
0.005	2	3	1	0.008

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* (mg/kg)
0.0025	2	3	1	0.004

* ノニルフェノールスルホン酸としての値

8. 回収率

分析法確認のため、市販試料*を用いて、0.008 mg/kg（定量限界相当）、0.25 mg/kg及び5 mg/kg添加濃度における回収試験を各5連分析で実施した。尚、無添加試料は2連分析し、全て定量限界未満であった。回収率の算出結果を示す。

* 東京都板橋区の小売店で2016年7月5日に購入した静岡県産のメロン（27.2 kg/12個）

8.1. 果肉

試料	添加濃度* (mg/kg)	回収率 (%)			平均回収率 (%)	RSDr (%)
市販品	5	89, 83,	85, 76	84,	83	5.7
市販品	0.25	90, 84,	88, 84	87,	87	3.0
市販品	0.008	103, 101,	102, 96	102,	101	2.7

* ノニルフェノールスルホン酸としての添加濃度

8.2. 果実

試料	添加濃度* (mg/kg)	回収率 (%)			平均回収率 (%)	RSDr (%)
市販品	5	87, 83,	86, 82	85,	85	2.4
市販品	0.25	87, 82,	86, 78	84,	83	4.3
市販品	0.008	91, 87,	91, 81	90,	88	4.8

* ノニルフェノールスルホン酸としての添加濃度

9. 精度管理

「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、内部精度管理を行った。

管理基準：20検体を超えるごとに、各1検体の無処理試料及び0.08 mg/kg添加試料（内部精度管理試料）を分析した。その結果、下表に示すように問題は認められなかった。

又、2015年7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）におけるZスコアは全てZ<2であった。

9.1. 果肉

分析日*	使用した圃場	回収率 (%)	無処理区の 分析値 (mg/kg)
2016/ 9/12	茨城	88	<0.01
2016/ 9/14	宮崎	93	<0.01
2016/10/ 7	高知	97	<0.01
2016/10/26	茨城	92	<0.01
2016/10/26	高知	104	<0.01
2016/10/26	宮崎	103	<0.01

回収試料の添加濃度：0.08 mg/kg（ノニルフェノールスルホン酸として）

* 抽出日を記載

9.2. 果実

分析日*	使用した圃場	回収率 (%)	無処理区の 分析値 (mg/kg)
2016/ 9/12	茨城	89	<0.01
2016/ 9/14	宮崎	92	<0.01
2016/10/ 7	高知	100	<0.01
2016/10/26	茨城	102	<0.01
2016/10/26	高知	107	<0.01
2016/10/26	宮崎	109	<0.01

回収試料の添加濃度：0.08 mg/kg（ノニルフェノールスルホン酸として）

* 抽出日を記載

10. 保存安定性確認

均一化した各無処理試料にノニルフェノールスルホン酸ナトリウムを添加し、冷凍暗所（－20℃以下）に凍結保存した。一定期間保存した後、同様に分析して回収率を求め、保存中の安定性を確認した。保存安定性の結果を示す。

10.1. 果肉

圃場名	添加濃度* (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)		平均回収率 (%)
茨城	0.5	68 (2016/8/19-10/26)	87,	83	85
高知	0.5	28 (2016/9/28-10/26)	92,	89	90
宮崎	0.5	81 (2016/8/6-10/26)	86,	86	86

* ノニルフェノールスルホン酸としての添加濃度

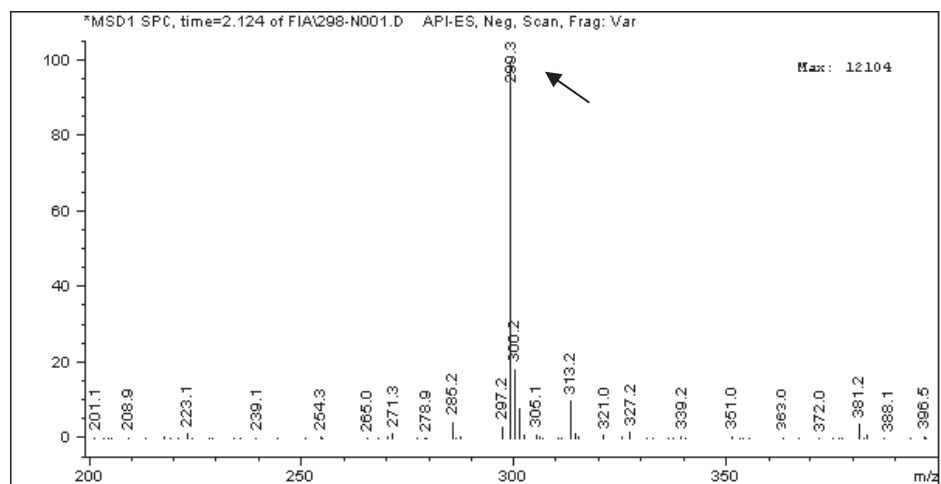
10.2. 果実

圃場名	添加濃度* (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)		平均回収率 (%)
茨城	0.5	68 (2016/8/19-10/26)	86,	85	86
高知	0.5	28 (2016/9/28-10/26)	93,	92	92
宮崎	0.5	81 (2016/8/6-10/26)	88,	87	88

* ノニルフェノールスルホン酸としての添加濃度

付図-1. マススペクトル

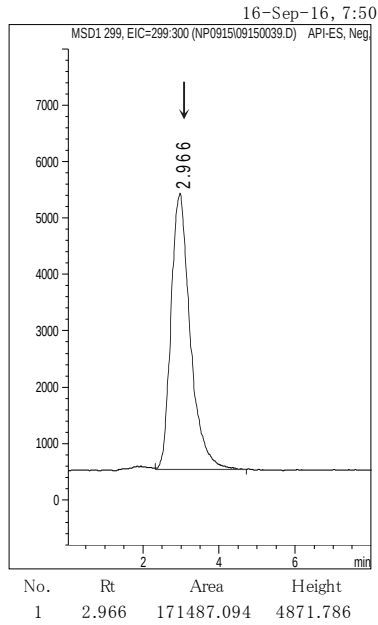
ノニルフェノールスルホン酸のマススペクトルの一例 (負モード)



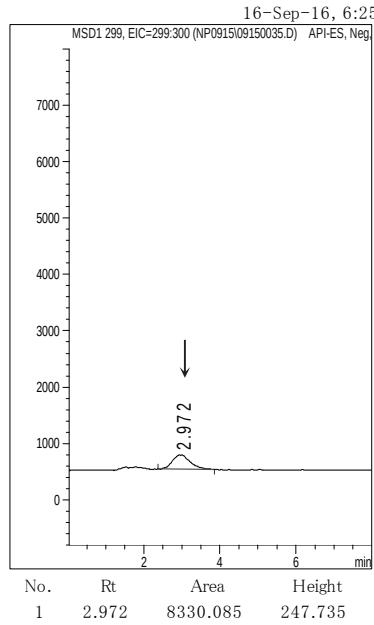
付図-2. ノニルフェノールスルホン酸のクロマトグラム（代表例）

付図-2-1. 果肉

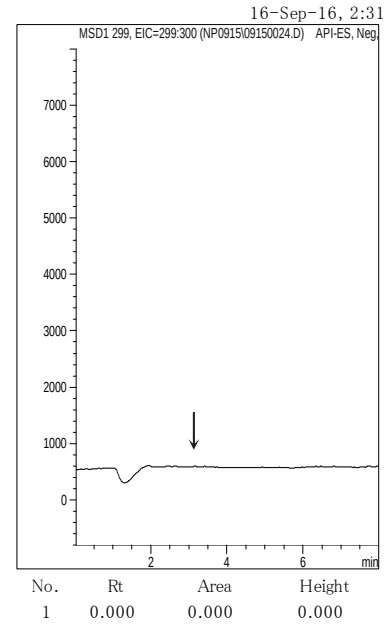
標準品 0.1 ng



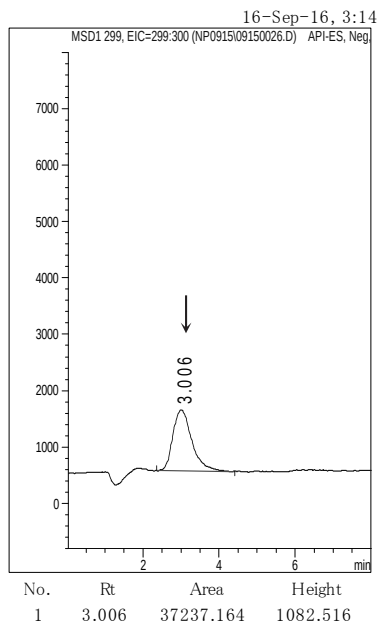
標準品 0.005 ng



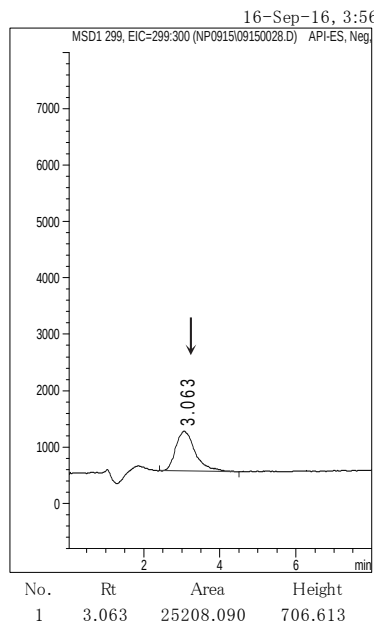
宮崎 無処理
1 μ L/3 mL/2 g



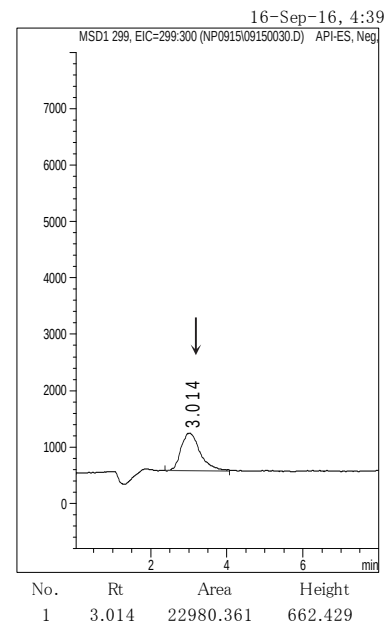
宮崎 4回処理 1日後
1 μ L/3 mL/2 g



宮崎 4回処理 3日後
1 μ L/3 mL/2 g



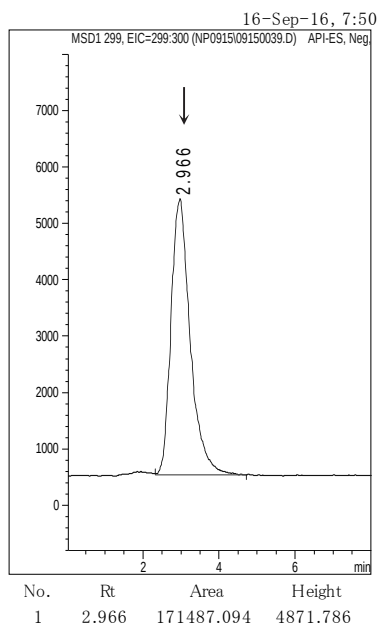
宮崎 4回処理 7日後
1 μ L/3 mL/2 g



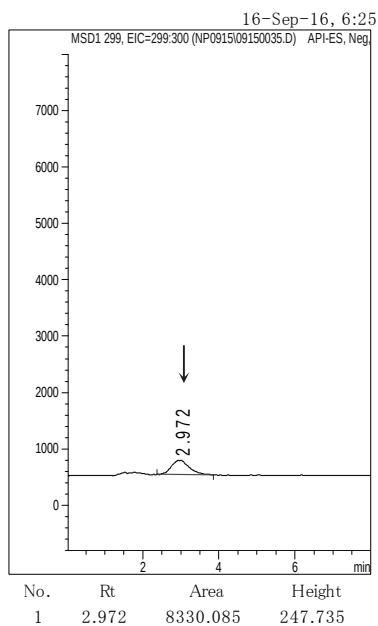
メロン 処理区A（ノニルフェノールスルホン酸銅）

付図-2-2. 果実

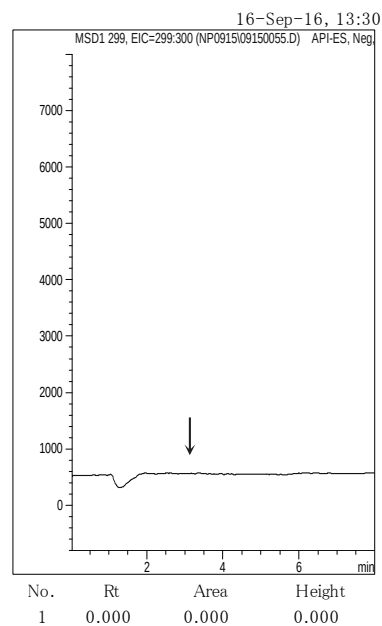
標準品 0.1 ng



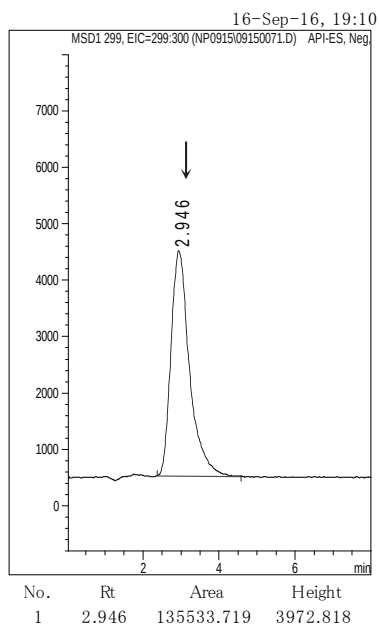
標準品 0.005 ng



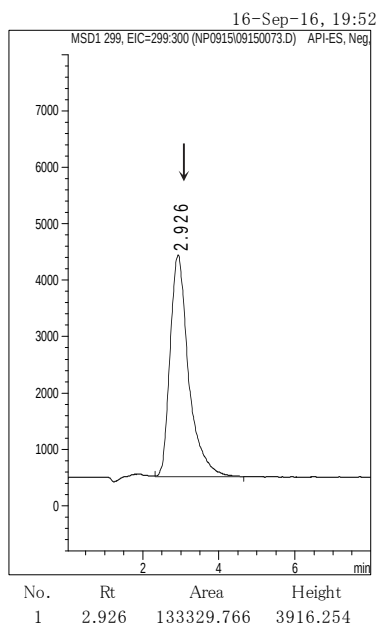
宮崎 無処理
1 µL/3 mL/2 g



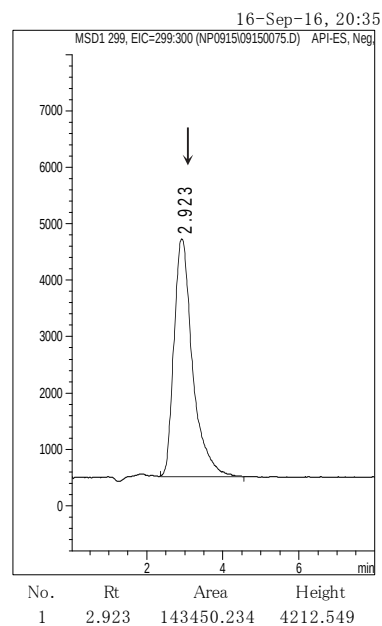
宮崎 4回処理 1日後
1 µL/90 mL/2 g



宮崎 4回処理 3日後
1 µL/75 mL/2 g



宮崎 4回処理 7日後
1 µL/75 mL/2 g



残留分析詳細(メロン試料) : ベノミル

1. 分析対象物質

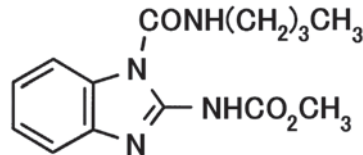
ベノミル

化学名 : methyl 1-(butylcarbamoyl)benzimidazol-2-ylcarbamate

分子式 : $C_{14}H_{18}N_4O_3$

分子量 : 290.3

構造式 :



性 状 : 無色の結晶

融 点 : 140°C (分解)

蒸気圧 : <0.005 mPa (25°C)

分配係数 : $\log K_{OW} = 1.37$

溶解性 : 水 1.9 (pH 9), 2.9 (pH 7), 3.6 (pH 5) (以上 mg/L, 20-25°C)
 アセトン 14, クロロホルム 138, *N,N*-ジメチルホルムアミド 50,
 エタノール 3.2, ヘプタン 0.27, キシレン 8.6 (以上 g/L, 20-25°C)

安定性 : 加水分解性半減期 (25°C) ;
 3.5時間 (pH 5), 1.5時間 (pH 7), <1時間 (pH 9)
 いくつかの溶媒中でカルベンダジムとイソシアン酸ブチルを生成
 光に対して安定
 保存中に湿った土壤中で水と接触すると分解

出 典 : The Pesticide Manual 17th Edition.

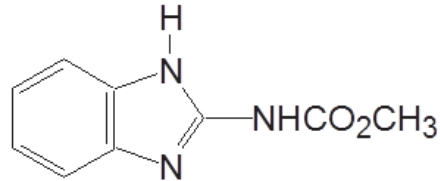
カルベンダジム

化学名： methyl benzimidazol-2-ylcarbamate

分子式： $C_9H_9N_3O_2$

分子量： 191.2

構造式：



性 状： 結晶性粉末

融 点： 302-307°C (分解)

蒸気圧： 0.09 mPa (20°C), 0.15 mPa (25°C)

分配係数： $\log K_{OW} = 1.38$ (pH 5), 1.49 (pH 9), 1.51 (pH 7)

溶解性： 水 7.0 (pH 8), 8.0 (pH 7), 29.0 (pH 4) (以上 mg/L, 20-25°C)

アセトン 0.3, ベンゼン 0.036, クロロホルム 0.1,

シクロヘキサン <0.01, ジクロロメタン 0.068,

ジエチルエーテル <0.01, *N,N*-ジメチルホルムアミド 5,

エタノール 0.3, 酢酸エチル 0.135, ヘキサン 0.0005

(以上 g/L, 20-25°C)

安定性： 融点で分解

50°C以下で少なくとも2年間は安定

20,000 lxの光を照射後7日間安定

アルカリ性条件下 (22°C) での半減期 >350日 (pH 5-7), 124日 (pH 9)

酸性溶液中で安定し, 水溶性塩を生成

出 典： The Pesticide Manual 17th Edition.

2. 標準品及び試薬

ベノミル標準品：純度 98% (Dr.Ehrenstorfer 製)

カルベンダジム標準品：純度 99.0% (Dr.Ehrenstorfer 製)

メタノール, ギ酸：特級 (和光純薬工業製)

メタノール：高速液体クロマトグラフ用 (和光純薬工業製)

水：PRA-0015-0V0 / Analytic で精製した水 (オルガノ 製)

C18 ミニカラム：InertSep SlimJ C18 1000mg / 6mL (ジエールサイエンス製)

3. 装置及び機器

化学天秤：AUW220 (島津製作所製)

上皿天秤：PB8001-S/FACT (メトラー・トレド製)

上皿天秤：MS6001S/02 (メトラー・トレド製)

上皿天秤：FX-1200i (エー・アンド・デイ製)

ミキサー：CB-15T (ワーリング製)

液体クロマトグラフ・質量分析計 (LC-MS/MS)：

LCMS-8050 トリプル四重極型 (島津製作所製)

データ処理装置：LabSolutions (島津製作所製)

4. 液体クロマトグラフ・質量分析計の操作条件

4.1. 液体クロマトグラフの操作条件

カラム：	Unison UK-C18 (インタクト製)
	内径 2.0 mm, 長さ 7.5 cm, 粒径 3 μ m
温度：	カラムオーブン 40℃
	サンプルクーラ 15℃
移動相：	0.1 %ギ酸溶液 / メタノール (80 : 20, v/v)
流量：	0.2 mL/min
注入量：	1 μ L
保持時間：	約 3.3 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
ネブライザーガス流量：	3.0 L/min
ヒーティングガス流量：	10.0 L/min
ドライイングガス流量：	10.0 L/min
CID ガス圧力：	270 kPa
インターフェイス電圧：	4.0 kV

インターフェイス温度：	300℃
DL 温度：	250℃
ヒートブロック温度：	400℃
Q1 PreBias：	-20.0 V
コリジョン電圧：	-20.0 V
Q3 PreBias：	-20.0 V
イオン検出法：	MRM
採取イオン：	プリカーサーイオン； m/z 192.00 プロダクトイオン； m/z 160.00

5. 検量線の作成

カルベンダジム標準品20.0 mg（純度換算相当量）を100 mL容メスフラスコに精秤し、メタノールに溶解して200 mg/Lの標準原液を調製した。この原液を水／メタノール（50：50，v/v）混液で希釈して10 mg/Lの標準溶液を調製し、さらにこの標準溶液を同混液で希釈して0.00015, 0.0003, 0.0015, 0.003, 0.0045及び0.006 mg/Lの標準溶液を調製した。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、データ処理装置を用いてカルベンダジムのピーク高さを測定し、横軸に重量（ng）、縦軸にピーク高さをもって検量線を作成した。

6. 分析操作

6.1. 試料の前処理

試料は写真撮影及び重量測定を実施した後、各々を縦に8分割し、対角の2つを取り合わせた（4組作製）。その2組を果実分析用試料とし、残りの2組を果肉分析用試料とした。果肉分析用試料は果肉と果皮に分け、果皮の厚さを測定した。又、果実、果肉及び果皮の各部位の全重量を測定した。

無処理区は、2組の果実分析用試料を細切した後、よく混ぜ合わせ、その一部を添加剤が必要な有機銅分析用試料として取り分けた後、残りの果実分析用試料をミキサーで均一化してベノミル分析用を含む調製試料を作製した。果肉分析用試料についても果実分析用試料と同様に各調製試料を作製した。

処理区は、2組の果実分析用試料を細切し、ミキサーで均一化してベノミル分析用を含む調製試料を作製した。果肉分析用試料についても果実分析用試料と同様に各調製試料を作製した。

各調製試料は2組以上作製し、即日分析を要するホセチル分析用試料を除き、密封して冷凍保存（-20℃以下）した。分析時にその1組を取り、分析に供した。

6.2. 抽出

均一化した試料20 gをはかりとり、メタノール100 mL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、残渣をメタノール30 mLで2回洗い、同様にろ過した。ろ液を合わせ、メタノールで200 mL定容とし、その5 mL（試料0.5 g相当量）を取り、水5 mLを加えて40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、メタノールを留去した。

6.3. C18ミニカラムによる精製

C18ミニカラムにメタノール5 mL及び水5 mLを順次流下して前処理した。濃縮液をC18ミニカラムに移して流下した後、水／メタノール（90：10，v/v）混液10 mLを流下し、流出液を捨てた。次に水／メタノール（50：50，v/v）混液9.5 mLを流下し、溶出液を取った。

6.4. 定量

溶出液を適量の水／メタノール（50：50，v/v）混液で定容した。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高さを求め、検量線よりカルベンダジムの重量を求め、換算係数1.52*を乗じ、試料中のベノミルの残留濃度を算出した。

* 換算係数1.52（ベノミル分子量290.3／カルベンダジム分子量191.2）

7. 定量限界値(LOQ)及び検出限界値(LOD)

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*	
0.0003	0.5	10	1	0.006	
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*	
0.00015	0.5	10	1	0.003	

* カルベンダジムとしての値

8. 回収率

分析法確認のため、茨城試料及び宮崎試料の無処理試料を用いて、定量限界相当（ベノミルは0.01 mg/kg、カルベンダジムは0.006 mg/kg）、0.25 mg/kg及び5 mg/kg添加濃度における回収試験を各6連分析で実施した。尚、無処理試料は2連分析し、全て定量限界未満であった。回収率の算出結果を示す。

8.1. 果肉

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)			平均回収率 (%)	RSDr (%)
<u>ベノミル</u>						
茨城	5	100,	98,	96	97	1.7
宮崎		96,	96,	96		
茨城	0.25	105,	104,	101	101	3.7
宮崎		101,	98,	95		
茨城	0.01	98,	97,	94	96	2.6
宮崎		98,	94,	92		
<u>カルベンダジム</u>						
茨城	5	102,	100,	98	99	2.3
宮崎		101,	98,	96		
茨城	0.25	104,	100,	100	100	2.7
宮崎		100,	98,	96		
茨城	0.006	101,	100,	99	97	4.6
宮崎		99,	95,	89		

8.2. 果実

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)			平均回収率 (%)	RSDr (%)
<u>ベノミル</u>						
茨城	5	99,	98,	96	101	3.6
宮崎		105,	104,	103		
茨城	0.25	100,	99,	97	101	3.0
宮崎		106,	102,	101		
茨城	0.01	96,	94,	93	94	1.5
宮崎		96,	95,	93		
<u>カルベンダジム</u>						
茨城	5	98,	97,	95	98	2.1
宮崎		101,	98,	96		
茨城	0.25	98,	95,	94	97	2.3
宮崎		100,	98,	98		
茨城	0.006	99,	97,	97	94	5.0
宮崎		96,	90,	87		

9. 精度管理

「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、内部精度管理を行った。

管理基準：20検体を超えるごとに、各1検体の無処理試料、0.1 mg/kg（ベノミル）及び0.06 mg/kg（カルベンダジム）添加試料（内部精度管理試料）を分析した。その結果、下表に示すように問題は認められなかった。

又、2015年7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）におけるZスコアは全て $Z < 2$ であった。

9.1. 果肉

成分名	分析日*	使用した圃場	回収率 (%)	無処理区の 分析値 (mg/kg)
<u>ベノミル</u>	2016/ 9/12	茨城	107	<0.01
	2016/ 9/12	宮崎	101	<0.01
	2016/10/11	茨城	101	<0.01
	2016/10/11	高知	101	<0.01
	2016/10/11	宮崎	96	<0.01
<u>カルベンダジム</u>	2016/ 9/12	茨城	103	<0.006
	2016/ 9/12	宮崎	101	<0.006
	2016/10/11	茨城	94	<0.006
	2016/10/11	高知	96	<0.006
	2016/10/11	宮崎	93	<0.006

回収試料の添加濃度：ベノミル；0.1 mg/kg カルベンダジム；0.06 mg/kg

* 抽出日を記載

9.2. 果実

成分名	分析日*	使用した圃場	回収率 (%)	無処理区の 分析値 (mg/kg)
<u>ベノミル</u>	2016/ 9/12	茨城	104	<0.01
	2016/ 9/12	宮崎	107	<0.01
	2016/10/11	茨城	97	<0.01
	2016/10/11	高知	97	<0.01
	2016/10/11	宮崎	92	<0.01
<u>カルベンダジム</u>	2016/ 9/12	茨城	102	<0.006
	2016/ 9/12	宮崎	104	<0.006
	2016/10/11	茨城	96	<0.006
	2016/10/11	高知	93	<0.006
	2016/10/11	宮崎	92	<0.006

回収試料の添加濃度：ベノミル；0.1 mg/kg カルベンダジム；0.06 mg/kg

* 抽出日を記載

10. 保存安定性確認

均一化した各無処理試料にベノミル及びカルベンダジムを添加し、冷凍暗所（－20℃以下）に凍結保存した。一定期間保存した後、同様に分析して回収率を求め、保存中の安定性を確認した。保存安定性の結果を示す。

10.1. 果肉

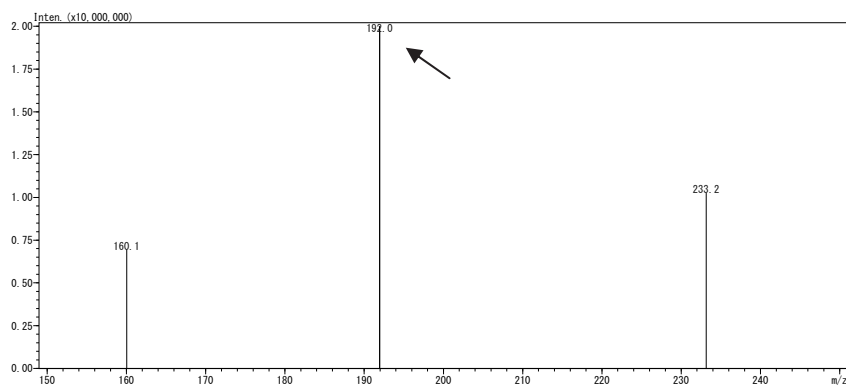
圃場名	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)		平均回収率 (%)
<u>ベノミル</u>					
茨城	0.5	53 (2016/8/19-10/11)	99,	99	99
高知	0.5	13 (2016/9/28-10/11)	98,	96	97
宮崎	0.5	66 (2016/8/6-10/11)	96,	96	96
<u>カルベンダジム</u>					
茨城	0.5	53 (2016/8/19-10/11)	100,	95	98
高知	0.5	13 (2016/9/28-10/11)	97,	96	96
宮崎	0.5	66 (2016/8/6-10/11)	94,	91	92

10.2. 果実

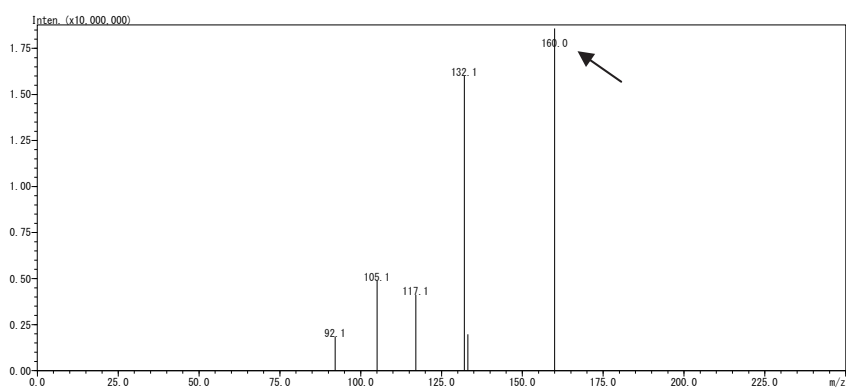
圃場名	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)		平均回収率 (%)
<u>ベノミル</u>					
茨城	0.5	53 (2016/8/19-10/11)	97,	95	96
高知	0.5	13 (2016/9/28-10/11)	99,	96	98
宮崎	0.5	66 (2016/8/6-10/11)	94,	93	94
<u>カルベンダジム</u>					
茨城	0.5	53 (2016/8/19-10/11)	93,	91	92
高知	0.5	13 (2016/9/28-10/11)	96,	93	94
宮崎	0.5	66 (2016/8/6-10/11)	93,	91	92

付図-1. マススペクトル

カルベンダジムのマススペクトル（一次イオン）の一例（正モード）
 (プリカーサーイオン $m/z=192.0$, 正モード)



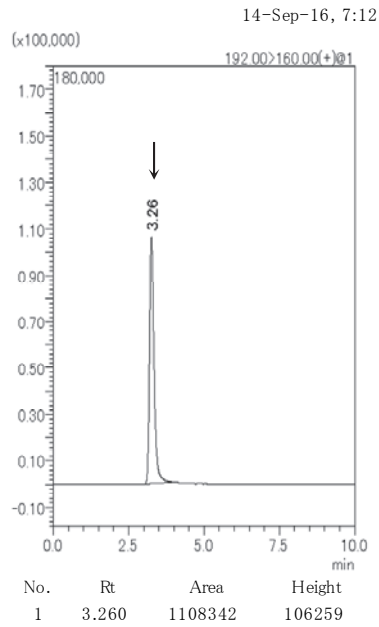
カルベンダジムのプロダクトスキャンスペクトルの一例
 (プロダクトイオン $m/z=160.0$, 正モード)



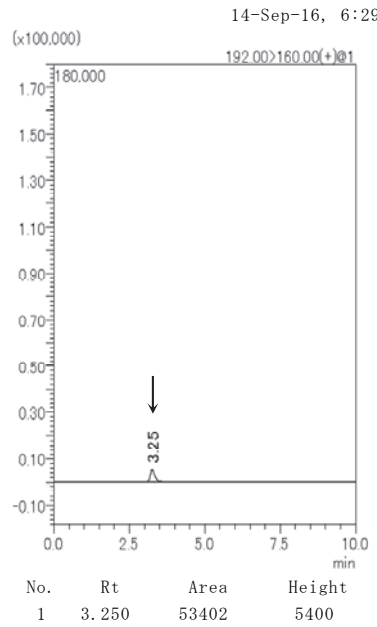
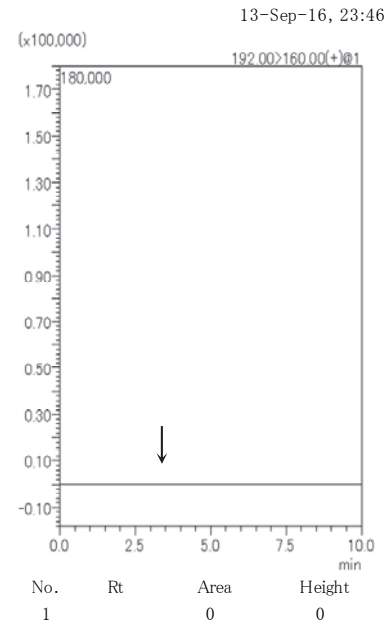
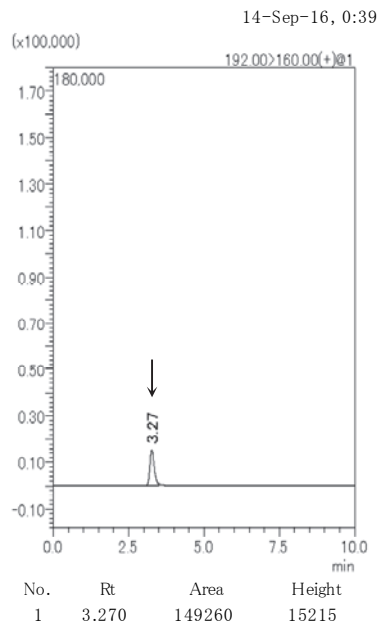
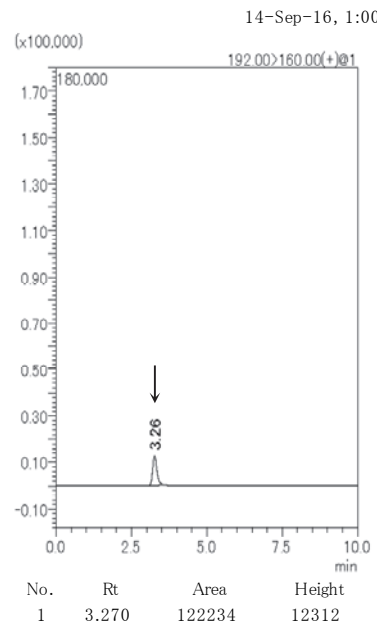
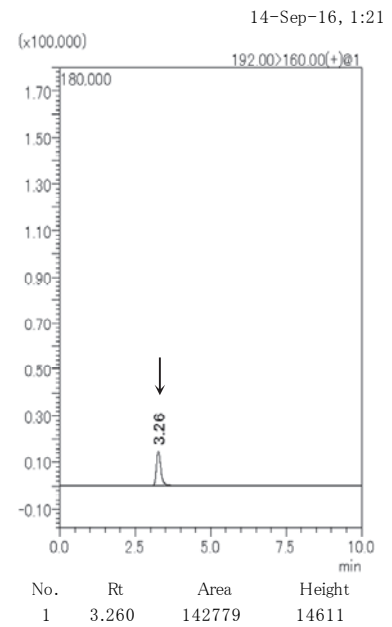
付図-2. カルベンダジムのクロマトグラム (代表例)

付図-2-1. 果肉

標準品 0.006 ng

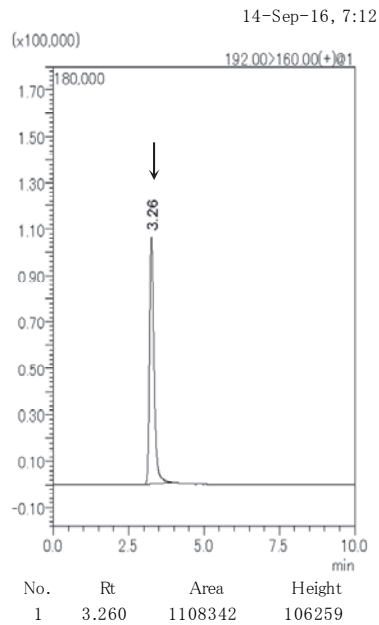


標準品 0.0003 ng

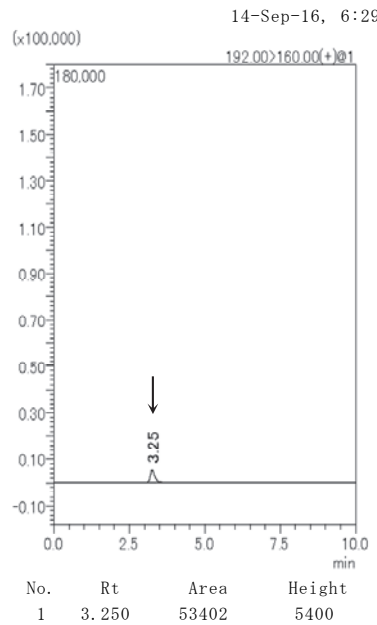
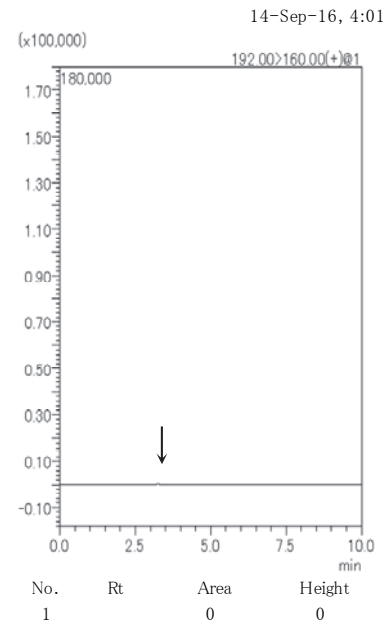
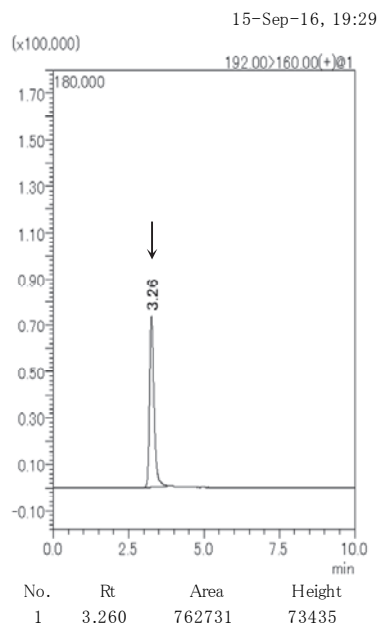
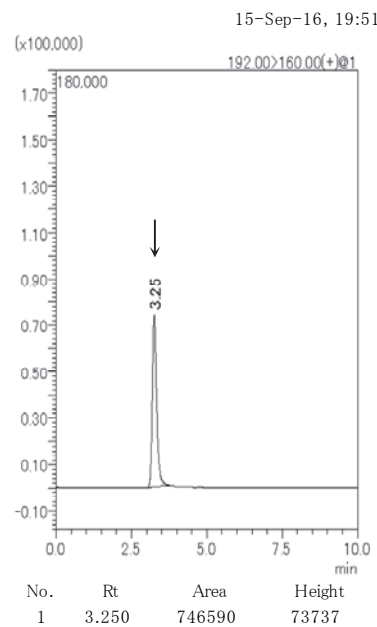
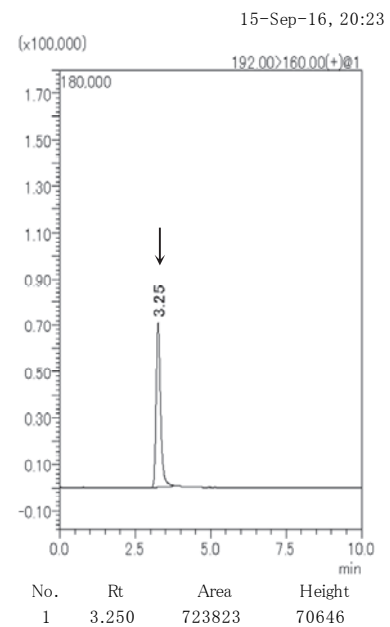
宮崎 無処理
1 µL/10 mL/0.5 g宮崎 3回処理 1日後
1 µL/10 mL/0.5 g宮崎 3回処理 3日後
1 µL/10 mL/0.5 g宮崎 3回処理 7日後
1 µL/10 mL/0.5 g

付図-2-2. 果実

標準品 0.006 ng



標準品 0.0003 ng

宮崎 無処理
1 μ L/10 mL/0.5 g宮崎 3回処理 1日後
1 μ L/70 mL/0.5 g宮崎 3回処理 3日後
1 μ L/60 mL/0.5 g宮崎 3回処理 7日後
1 μ L/60 mL/0.5 g

残留分析詳細(メロン試料) : DBEDC

1. 分析対象物質

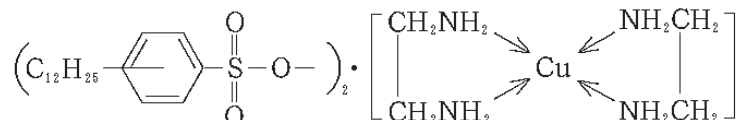
DBEDC

化学名 : dodecylbenzenesulphonic acid bisethylenediamine copper [II] salt

分子式 : $C_{40}H_{74}CuN_4O_6S_2$

分子量 : 834.7

構造式 :



性 状 : あざやかな青紫色ペースト状, 無臭

蒸気圧 : 3.2×10^{-9} Pa (25℃)

溶解性 : 水 1.53 (pH 7.27), ヘキサン 146, キシレン 104,
ジクロロメタン 186, アセトン 220, メタノール 174,
酢酸エチル 95.2 (以上 g/L, 25±1℃)

安定性 : 100℃で熱分解

加水分解性半減期 30日 (pH 1.2および4.0, 37℃), 30日以上 (pH4.0),
1年以上 (pH 7.0), 1年以上 (pH 9.0, 25℃)

水中光分解性半減期 29.2時間 (蒸留水, 25℃), 37.3日 (自然水, 25℃)

出 典 : 農薬ハンドブック 2016年版

2. 標準品及び試薬

DBEDC 標準品 : 純度 97.43% (米澤化学提供)

メタノール, 水酸化ナトリウム, アンモニア水, 塩酸, ギ酸, ギ酸アンモニウム

: 特級 (和光純薬工業製)

メタノール : 高速液体クロマトグラフ用 (和光純薬工業製)

アセトニトリル : 高速液体クロマトグラフィー用 (関東化学製)

水 : PRA-0015-0V0 / Analytic で精製した水 (オルガノ製)

ポリマー系ミニカラム : Strata-X-AW 33μm Polymeric Weak Anion 500mg / 6mL

(フェノメネクス製)

3. 装置及び機器

化学天秤：AUW220（島津製作所製）

上皿天秤：PB8001-S/FACT（メトラー・トレド製）

上皿天秤：MS6001S/02（メトラー・トレド製）

上皿天秤：ML1502E/02（メトラー・トレド製）

ミキサー：CB-15T（ワーリング製）

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC-MS/MS）：

LCMS-8050 トリプル四重極型（島津製作所製）

データ処理装置：LabSolutions（島津製作所製）

4. 液体クロマトグラフ・質量分析計の操作条件

4.1. 液体クロマトグラフの操作条件

カラム：	InertSustain Phenylhexyl（ジーエルサイエンス製） 内径 2.1 mm，長さ 15 cm，粒径 3 μ m
移動相：	アセトニトリル／0.5 %ギ酸含有 5 mmol/L ギ酸アンモニウム 溶液（60：40，v/v）
流量：	0.25 mL/min
温度：	カラムオーブン 40℃ サンプルクーラ 15℃
注入量：	1 μ L
保持時間：	約 5.2 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) 負モード
ネブライザーガス流量：	3.0 L/min
ヒーティングガス流量：	10.0 L/min
ドライイングガス流量：	10.0 L/min
CID ガス圧力：	270 kPa
インターフェイス電圧：	4.0 kV
インターフェイス温度：	300℃
DL 温度：	250℃
ヒートブロック温度：	400℃
Q1 PreBias：	17.0 V
コリジョン電圧：	38.0 V
Q3 PreBias：	12.0 V
イオン検出法：	MRM

採取イオン： プリカーサーイオン； m/z 325.50
 プロダクトイオン； m/z 197.30

5. 検量線の作成

DBEDC標準品20.0 mg（純度換算相当量）を100 mL容メスフラスコに精秤し、メタノールに溶解して200 mg/L標準原液を調製した。この原液をメタノールで希釈して10 mg/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0.025, 0.05, 0.25, 0.5, 0.75 及び1 mg/Lの標準溶液を調製した。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、データ処理装置を用いてDBEDCのピーク高さを測定し、横軸に重量（ng）、縦軸にピーク高さ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

試料は写真撮影及び重量測定を実施した後、各々を縦に8分割し、対角の2つを取り合わせた（4組作製）。その2組を果実分析用試料とし、残りの2組を果肉分析用試料とした。果肉分析用試料は果肉と果皮に分け、果皮の厚さを測定した。又、果実、果肉及び果皮の各部位の全重量を測定した。

無処理区は、2組の果実分析用試料を細切した後、よく混ぜ合わせ、その一部を添加剤が必要な有機銅分析用試料として取り分けた後、残りの果実分析用試料をミキサーで均一化してDBEDC分析用を含む調製試料を作製した。果肉分析用試料についても果実分析用試料と同様に各調製試料を作製した。

処理区は、2組の果実分析用試料を細切し、ミキサーで均一化してDBEDC分析用を含む調製試料を作製した。果肉分析用試料についても果実分析用試料と同様に各調製試料を作製した。

各調製試料は2組以上作製し、即日分析を要するホセチル分析用試料を除き、密封して冷凍保存（-20℃以下）した。分析時にその1組を取り、分析に供した。

6.2. 抽出

均一化した試料20 gをはかりとり、10%水酸化ナトリウム水溶液5 mLとメタノール100 mL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、残渣をメタノール30 mLで2回洗い、同様にろ過した。ろ液を合わせ、40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、メタノールを留去した後ビーカーに移し、1 mol/L塩酸溶液及び1%水酸化ナトリウム水溶液でpH 7に調整し、水で100 mLに定容した。

6.3. ポリマー系ミニカラムによる精製

ポリマー系ミニカラムにメタノール5 mL及び水10 mLを順次流下し前処理した。定容液から2.5 mL（試料0.5 g相当量）を分取しポリマー系ミニカラムに流下した後、水15 mL及びメタノール10 mLを流下して、これらの流出液を捨てた。次にメタノール／アンモニア

水（99：1，v/v）混液15 mLを流下し，溶出液を取り，40℃以下の水浴中で減圧濃縮し，通風で乾固した。

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高さを求め，検量線よりDBEDC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(LOQ)及び検出限界値(LOD)

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 (mg/kg)
0.05	0.5	5	1	0.5

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 (mg/kg)
0.025	0.5	5	1	0.25

8. 回収率

分析法確認のため、市販試料*を用いて、0.5 mg/kg (定量限界相当)、2.5 mg/kg及び50 mg/kg 添加濃度における回収試験を各5連分析で実施した。尚、無添加試料は2連分析し、全て定量限界未満であった。回収率の算出結果を示す。

* 東京都板橋区の小売店で2016年7月5日に購入した静岡県産のメロン (27.2 kg/12個)

8.1. 果肉

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)			平均回収率 (%)	RSDr (%)
市販品	50	80, 78,	80, 77	78,	79	1.7
市販品	2.5	93, 86,	90, 85	89,	89	3.6
市販品	0.5	95, 87,	89, 76	87,	87	7.9

8.2. 果実

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)			平均回収率 (%)	RSDr (%)
市販品	50	77, 72,	77, 71	72,	74	4.0
市販品	2.5	95, 85,	89, 84	86,	88	5.0
市販品	0.5	104, 94,	103, 93	96,	98	5.3

9. 精度管理

「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、内部精度管理を行った。

管理基準：20検体を超えるごとに、各1検体の無処理試料及び5 mg/kg添加試料（内部精度管理試料）を分析した。その結果、下表に示すように問題は認められなかった。

又、2015年7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）におけるZスコアは全てZ<2であった。

9.1. 果肉

分析日*	使用した圃場	回収率 (%)	無処理区の 分析値 (mg/kg)
2016/10/ 5	茨城	91	<0.5
2016/10/ 5	高知	94	<0.5
2016/10/ 5	宮崎	96	<0.5
2016/10/28	茨城	96	<0.5
2016/10/28	高知	107	<0.5
2016/10/28	宮崎	102	<0.5

回収試料の添加濃度：5 mg/kg

* 抽出日を記載

9.2. 果実

分析日*	使用した圃場	回収率 (%)	無処理区の 分析値 (mg/kg)
2016/10/ 5	茨城	103	<0.5
2016/10/ 5	高知	101	<0.5
2016/10/ 5	宮崎	91	<0.5
2016/10/28	茨城	100	<0.5
2016/10/28	高知	101	<0.5
2016/10/28	宮崎	102	<0.5

回収試料の添加濃度：5 mg/kg

* 抽出日を記載

10. 保存安定性確認

均一化した各無処理試料にDBEDCを添加し、冷凍暗所（－20℃以下）に凍結保存した。一定期間保存した後、同様に分析して回収率を求め、保存中の安定性を確認した。保存安定性の結果を示す。

10.1. 果肉

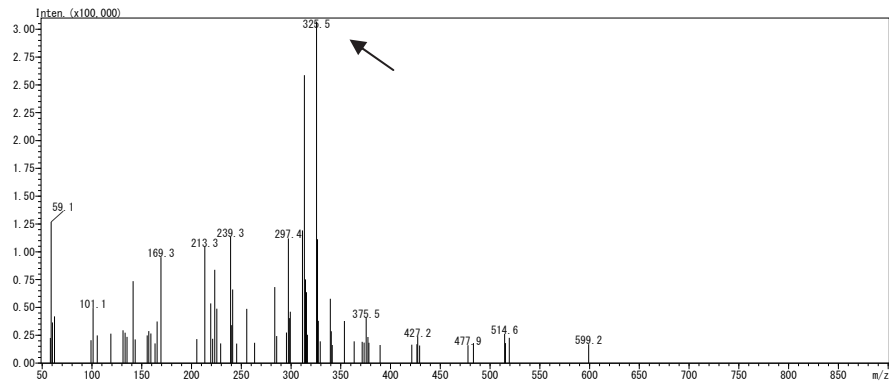
圃場名	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)		平均回収率 (%)
茨城	10	70 (2016/8/19-10/28)	99,	96	98
高知	10	30 (2016/9/28-10/28)	101,	100	100
宮崎	10	83 (2016/8/6-10/28)	101,	101	101

10.2. 果実

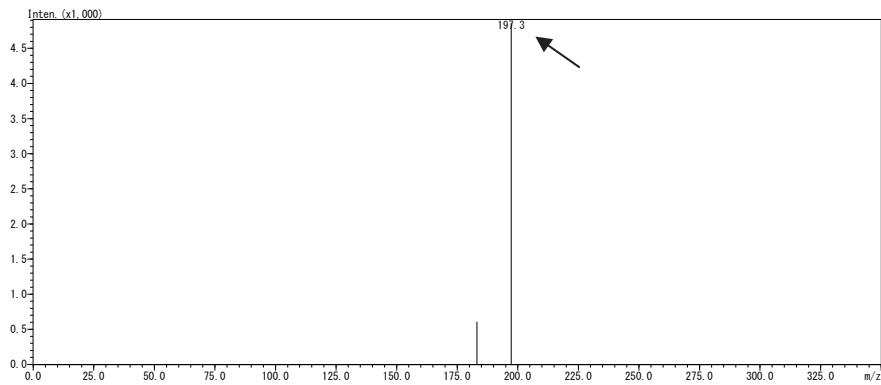
圃場名	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)		平均回収率 (%)
茨城	10	70 (2016/8/19-10/28)	109,	107	108
高知	10	30 (2016/9/28-10/28)	101,	98	100
宮崎	10	83 (2016/8/6-10/28)	105,	103	104

付図-1. マススペクトル

DBEDCのマススペクトル（一次イオン）の一例（負モード）

（プリカーサーイオン $m/z=325.5$, 負モード）

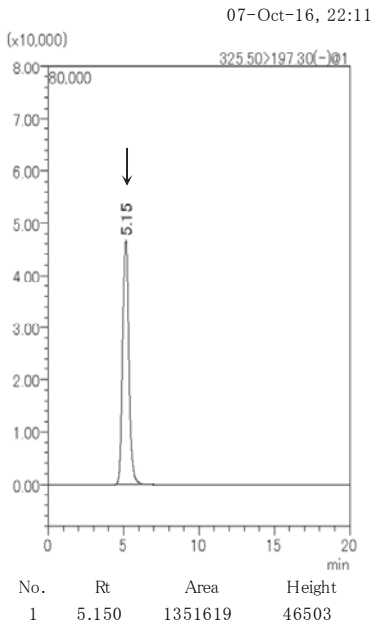
DBEDCのプロダクトスキャンスペクトルの一例

（プロダクトイオン $m/z=197.3$, 負モード）

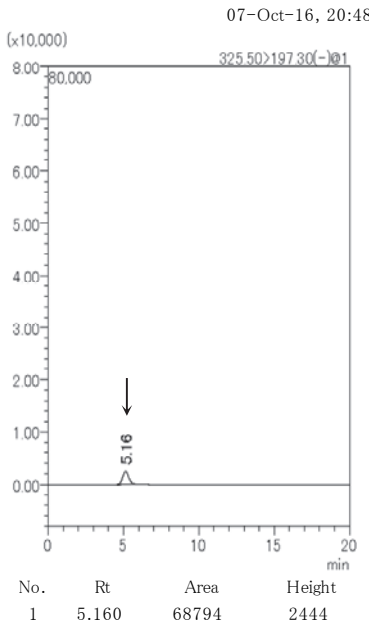
付図-2. DBEDCのクロマトグラム (代表例)

付図-2-1. 果肉

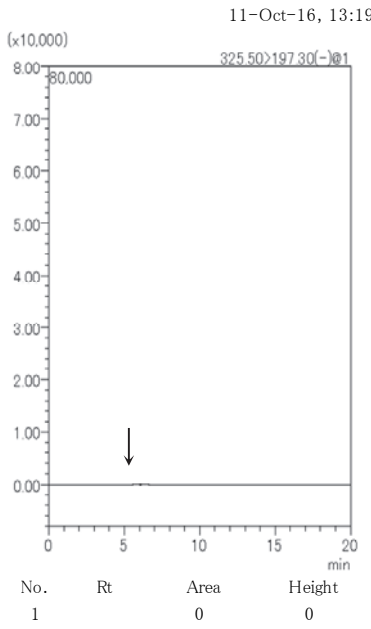
標準品 1 ng



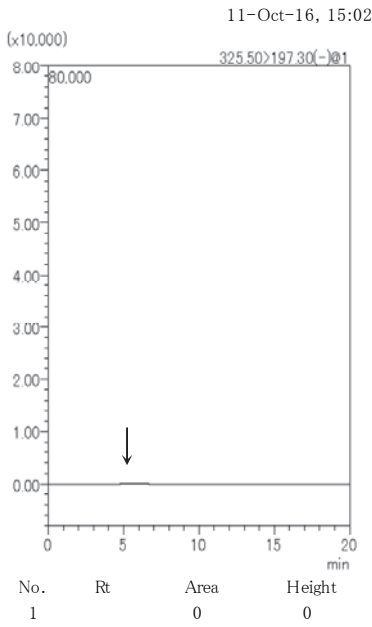
標準品 0.05 ng



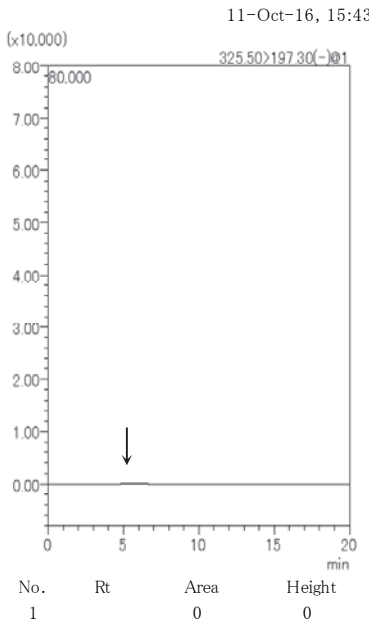
宮崎 無処理
1 µL/5 mL/0.5 g



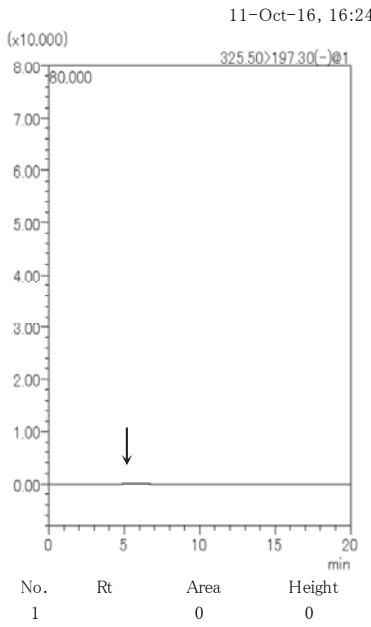
宮崎 4回処理 1日後
1 µL/5 mL/0.5 g



宮崎 4回処理 3日後
1 µL/5 mL/0.5 g

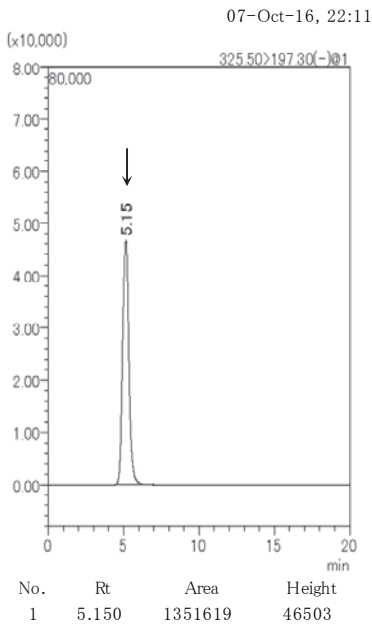


宮崎 4回処理 7日後
1 µL/5 mL/0.5 g

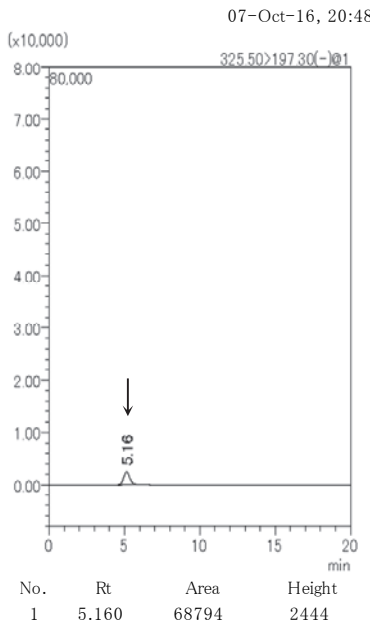


付図-2-2. 果実

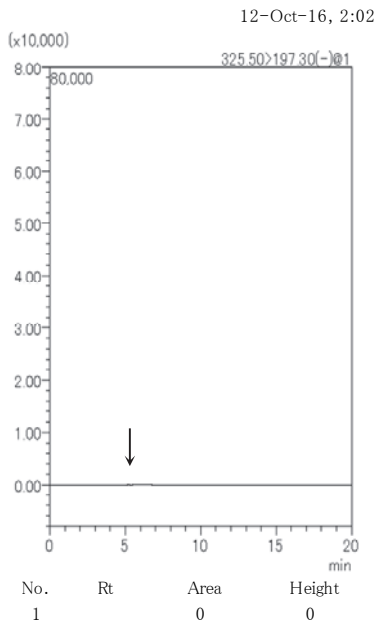
標準品 1 ng



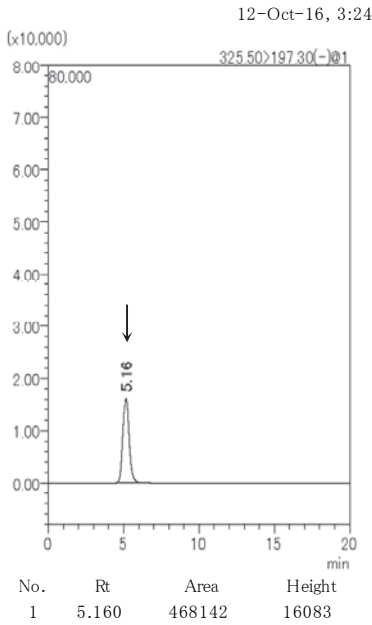
標準品 0.05 ng



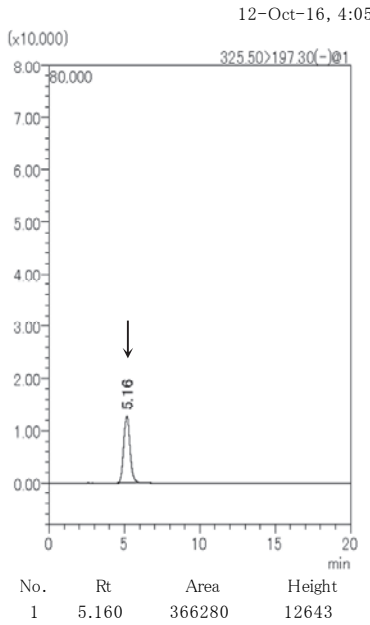
宮崎 無処理
1 μ L/5 mL/0.5 g



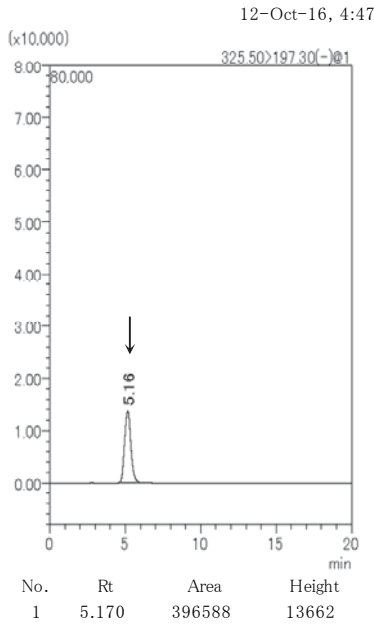
宮崎 4回処理 1日後
1 μ L/5 mL/0.5 g



宮崎 4回処理 3日後
1 μ L/5 mL/0.5 g



宮崎 4回処理 7日後
1 μ L/5 mL/0.5 g



残留分析詳細(メロン試料) : ホセチル

1. 分析対象物質

ホセチル

化学名 : aluminium tris-O-ethylphosphonate

分子式 : $C_6H_{18}AlO_9P_3$

分子量 : 354.1

構造式 :

$$\left(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{H}}{\text{P}}}-\text{O} \right)_3 \text{Al}$$

性 状 : 無色の粉末

融 点 : 215°C

分配係数 : $\log K_{OW} = -2.1$

溶解性 : 水 $1.113 \times 10^5 \text{ mg/L}$ (pH 6, 20-25°C)
 アセトン 0.006, 酢酸エチル <0.001, メタノール 0.807,
 (以上 g/L, 20-25°C)

安定性 : 加水分解性半減期 ; 5日 (pH 3), 13.4日 (pH 13)

276°C以上で分解

光分解性半減期 23時間

出 典 : The Pesticide Manual 17th Edition.

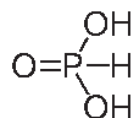
亜リン酸

化学名： phosphonic acid

分子式： $\text{H}_3\text{O}_3\text{P}$

分子量： 82.0

構造式：



性 状： 吸湿性及び溶解性白色結晶

融 点： 71°C

溶解性： 水 $4.25 \times 10^6 \text{ mg/L}$ ($20-25^{\circ}\text{C}$)

安定性： 常温常圧で安定

酸化作用に対して安定

未開封品は4年間は分解しない

100°C 以上で有毒かつ可燃性のホスフィンガスが生成

250°C 以上で急速に分解し、自然発火性のリン酸、ホスフィン、水素及びいくつかの赤リンが生成

出 典： The Pesticide Manual 17th Edition.

2. 標準品及び試薬

ホセチル標準品：純度 90.0% (Dr.Ehrenstorfer 製)

亜リン酸標準品：純度 98.9% (関東化学製)

塩酸，水酸化ナトリウム，水酸化カリウム：特級 (和光純薬工業製)

シュウ酸二水和物，2-(2-エトキシエトキシ)エタノール：特級 (関東化学製)

ジエチルエーテル：残留農薬試験用 (和光純薬工業製)

2-プロパノール：高速液体クロマトグラフ用 (和光純薬工業製)

N-メチル-*N*-ニトロソ-*p*-トルエンスルホンアミド：(東京化成製)

水：PRA-0015-0V0／Analytic で精製した水 (オルガノ製)

透析用チューブ：セルロースチューブ (透析膜) 36/32 (VISKASE SALES 製)

強酸性陽イオン交換樹脂：ダウエックス 50W×8 200-400mesh (ダウ・ケミカル製)

【ジアゾメタン・ジエチルエーテル溶液の調製】

メチル化装置のエーテル槽にジエチルエーテル適量*を，ジアゾメタン発生槽に 2-(2-エトキシエトキシ)エタノール 4 mL 及び 10 mol/L 水酸化カリウム溶液 2 mL を入れ，反応槽にジエチルエーテル 50 mL を入れ氷冷した。メチル化装置のジアゾメタン発生槽に *N*-メチル-*N*-ニトロソ-*p*-トルエンスルホンアミド 2 g をジエチルエーテル 5 mL に溶かしたものを加えながら窒素を 5 分間緩やかに通じて反応させ反応槽の溶液を採取した。この溶液は用時調製し，使用した。

* エーテル槽の管がジエチルエーテルに浸かる程度の量

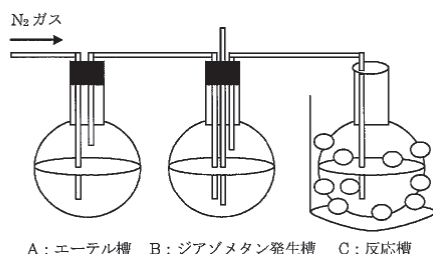


図1 メチル化装置

【陽イオン交換樹脂の調製】

強酸性陽イオン交換樹脂 500 mL を，水を用いて再生用クロマト管に移し，1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 5 L，水 3 L，3 mol/L 塩酸溶液 5 L 及び水 3 L を順次流下して樹脂を再生し水中に保存した。

3. 装置及び機器

メチル化装置：図1参照

化学天秤：AUW220 (島津製作所製)

上皿天秤：PB8001-S/FACT (メトラー・トレド製)

上皿天秤：EK-1200i（エー・アンド・デイ製）

ミキサー：CB-15T（ワーリング製）

ガスクロマトグラフ（FPD-P）：7890A（アジレント・テクノロジー製）

データ処理装置：Open LAB（アジレント・テクノロジー製）

4. 測定機器の操作条件

4.1. ガスクロマトグラフの操作条件

検出器：	FPD-P
カラム：	Stabilwax（島津製作所製） 内径 0.53 mm，長さ 30 m，膜厚 1.0 μ m
温度：	カラム 100℃，注入口 280℃，検出器 250℃
ガス流量：	キャリアーガス（He）10 mL/min 水素 75 mL/min，空気 100 mL/min
注入量：	1 μ L
保持時間：	ホセチル 約 4.2 min， 亜リン酸 約 3.6 min

5. 検量線の作成

ホセチル及び亜リン酸標準品50.0 mg（純度換算相当量）を各々100 mL容メスフラスコに精秤し，水に溶解して500 mg/L標準原液を調製した。この原液を50 mL容メスフラスコに1 mLずつ分取し，0.1 mol/Lシュウ酸溶液25 mLを加え，水で定容して10 mg/L混合標準溶液を調製した。この混合標準溶液1 mLをナス型フラスコに取り，2-プロパノール5 mLを加え混合し，ジアゾメタン・ジエチルエーテル溶液をフラスコ内の溶液が淡黄色を呈するまで加え，時々振り混ぜながら室温で30分間放置した。放置後，反応液の色により過剰のジアゾメタンを確認した後，窒素気流下で約5 mLまで濃縮し，ジエチルエーテル及び過剰のジアゾメタンを留去した。濃縮液を2-プロパノールを用いて50 mL定容とし，0.2 mg/Lの混合標準溶液を調製した。この混合標準溶液を2-プロパノールを用いて希釈し，0.005，0.01，0.05，0.1，0.15及び0.2 mg/Lの混合標準溶液を調製した。この溶液を前記条件のガスクロマトグラフに注入し，データ処理装置を用いてホセチル及び亜リン酸のピーク高さを測定し，横軸に重量（ng），縦軸にピーク高さ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

試料は写真撮影及び重量測定を実施した後，各々を縦に8分割し，対角の2つを取り合わせた（4組作製）。その2組を果実分析用試料とし，残りの2組を果肉分析用試料とした。果肉分析用試料は果肉と果皮に分け，果皮の厚さを測定した。又，果実，果肉及び果皮の各

部位の全重量を測定した。

無処理区は、2組の果実分析用試料を細切した後、よく混ぜ合わせ、その一部を添加剤が必要な有機銅分析用試料として取り分けた後、残りの果実分析用試料をミキサーで均一化してホセチル分析用を含む調製試料を作製した。果肉分析用試料についても果実分析用試料と同様に各調製試料を作製した。

処理区は、2組の果実分析用試料を細切し、ミキサーで均一化してホセチル分析用を含む調製試料を作製した。果肉分析用試料についても果実分析用試料と同様に各調製試料を作製した。

各調製試料は2組以上作製し、その1組を取り、即日分析に供した。残りの調製試料は密封して冷凍保存（-20℃以下）した。

6.2. 抽出

均一化した試料10 gを透析膜チューブにはかりとり、0.1 mol/Lシュウ酸溶液20 mLを加え、開口部を閉じ、あらかじめ水200 mLを入れた250 mL容褐色ビンに入れ、振とう機を用いて軽く振り混ぜながら24時間抽出した。抽出溶液を水を用いてナス型フラスコに移し入れ、0.1 mol/Lシュウ酸溶液5 mLを加え、50℃以下の水浴中で約5 mLまで減圧濃縮した。

6.3. 陽イオン交換樹脂による精製

クロマト管（内径15 mm, 長さ30 cm）にあらかじめ調製した強酸性陽イオン交換樹脂2 mLを水を用いて充填した。上端にガラスウールをのせ、水20 mLで洗浄し前処理した。濃縮液をクロマト管に移し入れ、流速0.5 mL/分でカラムの上端まで流下し、さらに水12 mLを流下し、これら全ての溶出液を取った。溶出液は水を用いて20 mL定容とした。

6.4. メチル化

定容液から1 mL（試料0.5 g相当量）をナス型フラスコに分取し、2-プロパノール5 mLを加え混合し、ジアゾメタン・ジエチルエーテル溶液をフラスコ内の溶液が淡黄色を呈するまで加え、時々振り混ぜながら室温で30分間放置した。放置後、反応液の色により過剰のジアゾメタンを確認した後、窒素気流下で約5 mLまで濃縮し、ジエチルエーテル及び過剰のジアゾメタンを留去した。

6.5. 定量

濃縮液を適量の2-プロパノールで定容した。この溶液を前記条件のガスクロマトグラフに注入してピーク高さを求め、検量線よりホセチル及び亜リン酸の重量を求め、残留濃度を算出した。また、亜リン酸の残留濃度に換算係数1.44*を乗じ、ホセチルの残留濃度に換算した。

* 換算係数1.44（ホセチル分子量354.1／亜リン酸3分子量246.0）

7. 定量限界値(LOQ)及び検出限界値(LOD)

7.1. ホセチル

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 (mg/kg)
0.01	0.5	10	1	0.2

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 (mg/kg)
0.005	0.5	10	1	0.1

7.2. 亜リン酸

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 (mg/kg)
0.01	0.5	10	1	0.2

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 (mg/kg)
0.005	0.5	10	1	0.1

8. 回収率

分析法確認のため、市販試料*を用いて、0.2 mg/kg（定量限界相当）、1 mg/kg及び20 mg/kg 添加濃度における回収試験を各5連分析で実施した。尚、無添加試料は2連分析し、全て定量限界未満であった。回収率の算出結果を示す。

* 東京都板橋区の小売店で2016年7月5日に購入した静岡県産のメロン（27.2 kg/12個）

8.1. 果肉

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)			平均回収率 (%)	RSDr (%)
<u>ホセチル</u>						
市販品	20	87, 80,	86, 72	81,	81	7.4
市販品	1	88, 83,	85, 82	83,	84	2.8
市販品	0.2	97, 95,	97, 92	96,	95	2.2
<u>亜リン酸</u>						
市販品	20	85, 78,	85, 71	80,	80	7.3
市販品	1	85, 81,	82, 80	81,	82	2.3
市販品	0.2	95, 92,	93, 92	92,	93	1.4

8.2. 果実

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)			平均回収率 (%)	RSDr (%)
<u>ホセチル</u>						
市販品	20	85, 78,	84, 76	81,	81	4.7
市販品	1	80, 76,	78, 75	77,	77	2.5
市販品	0.2	78, 76,	78, 76	76,	77	1.4
<u>亜リン酸</u>						
市販品	20	86, 79,	84, 77	83,	82	4.5
市販品	1	83, 78,	79, 76	79,	79	3.2
市販品	0.2	85, 81,	83, 80	81,	82	2.4

9. 精度管理

「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、内部精度管理を行った。

管理基準：20検体を超えるごとに、各1検体の無処理試料、ホセチル及び亜リン酸各2 mg/kg添加試料（内部精度管理試料）を分析した。その結果、下表に示すように問題は認められなかった。

又、2015年7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）におけるZスコアは全てZ<2であった。

9.1. 果肉

成分名	分析日*	使用した圃場	回収率 (%)	無処理区の分析値 (mg/kg)
<u>ホセチル</u>	2016/ 8/ 6	市販品	81	<0.2
	2016/ 8/ 8	市販品	76	<0.2
	2016/ 8/12	宮崎	84	<0.2
	2016/ 8/12	宮崎	82	<0.2
	2016/ 8/19	市販品	75	<0.2
	2016/ 8/24	市販品	77	<0.2
	2016/ 8/26	茨城	79	<0.2
	2016/ 8/30	茨城	79	<0.2
	2016/ 9/28	市販品	86	<0.2
	2016/ 9/30	市販品	79	<0.2
	2016/10/ 4	高知	79	<0.2
<u>亜リン酸</u>	2016/ 8/ 6	市販品	85	<0.2
	2016/ 8/ 8	市販品	78	<0.2
	2016/ 8/12	宮崎	85	<0.2
	2016/ 8/12	宮崎	83	<0.2
	2016/ 8/19	市販品	76	<0.2
	2016/ 8/24	市販品	80	<0.2
	2016/ 8/26	茨城	81	<0.2
	2016/ 8/30	茨城	81	<0.2
	2016/ 9/28	市販品	87	<0.2
	2016/ 9/30	市販品	79	<0.2
	2016/10/ 4	高知	82	<0.2

回収試料の添加濃度：ホセチル及び亜リン酸 各2 mg/kg

* 抽出日を記載

9.2. 果実

成分名	分析日*	使用した圃場	回収率 (%)	無処理区の分析値 (mg/kg)
<u>ホセチル</u>	2016/ 8/ 6	市販品	80	<0.2
	2016/ 8/ 8	市販品	75	<0.2
	2016/ 8/12	宮崎	84	<0.2
	2016/ 8/12	宮崎	83	<0.2
	2016/ 8/19	市販品	78	<0.2
	2016/ 8/24	市販品	75	<0.2
	2016/ 8/26	茨城	78	<0.2
	2016/ 8/30	茨城	81	<0.2
	2016/ 9/28	市販品	81	<0.2
	2016/ 9/30	市販品	74	<0.2
	2016/10/ 4	高知	75	<0.2
<u>亜リン酸</u>	2016/ 8/ 6	市販品	84	<0.2
	2016/ 8/ 8	市販品	79	<0.2
	2016/ 8/12	宮崎	86	<0.2
	2016/ 8/12	宮崎	84	<0.2
	2016/ 8/19	市販品	79	<0.2
	2016/ 8/24	市販品	83	<0.2
	2016/ 8/26	茨城	82	<0.2
	2016/ 8/30	茨城	85	<0.2
	2016/ 9/28	市販品	84	<0.2
	2016/ 9/30	市販品	80	<0.2
	2016/10/ 4	高知	80	<0.2

回収試料の添加濃度：ホセチル及び亜リン酸 各2 mg/kg

* 抽出日を記載

10. 保存安定性確認

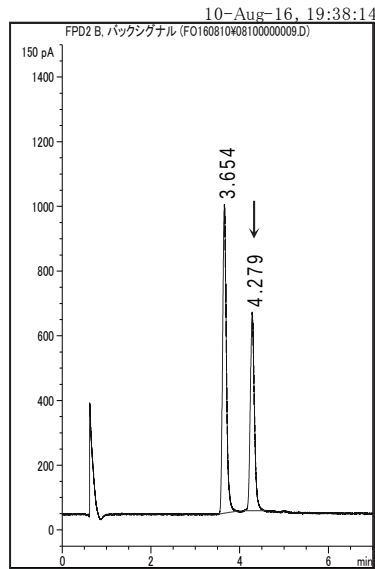
試料到着後直ちに分析したため、保存中の安定性確認は実施しなかった。

付図-1. ホセチルのクロマトグラム (代表例)

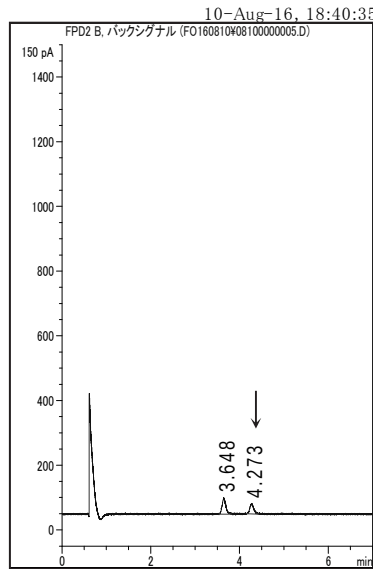
付図-1-1. 果肉

標準品 0.2 ng

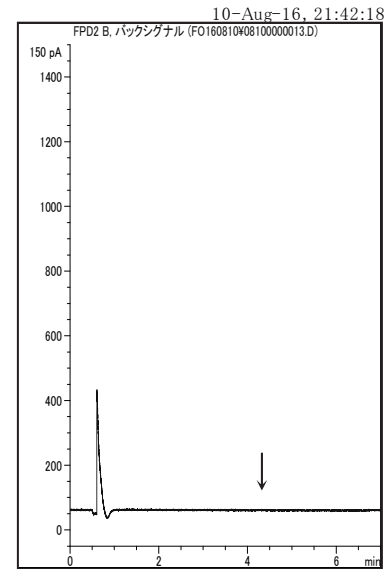
標準品 0.01 ng

宮崎 無処理
1 μ L/10 mL/0.5 g

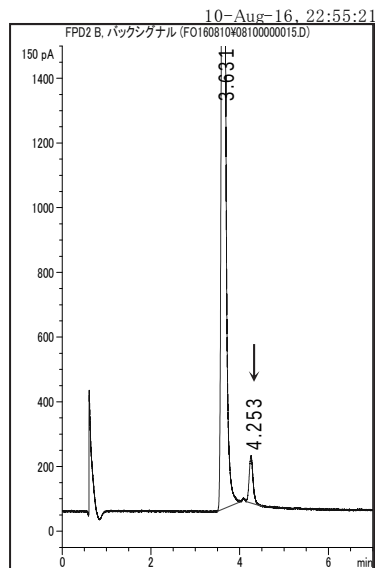
No.	Rt	Area	Height
1	3.654	5619.925	951.163
2	4.279	3924.176	612.464



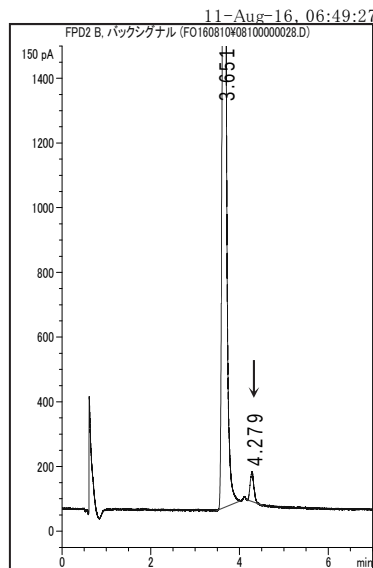
No.	Rt	Area	Height
1	3.648	286.255	48.700
2	4.273	197.214	31.347



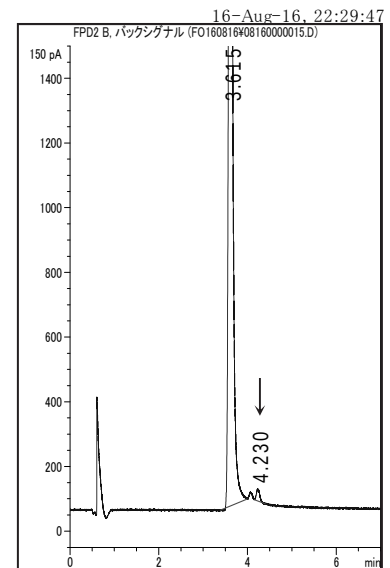
No.	Rt	Area	Height
1	0.000	0.000	0.000
2	0.000	0.000	0.000

宮崎 3回処理 1日後
1 μ L/10 mL/0.5 g宮崎 3回処理 3日後
1 μ L/10 mL/0.5 g宮崎 3回処理 7日後
1 μ L/10 mL/0.5 g

No.	Rt	Area	Height
1	3.631	20123.576	3414.155
2	4.253	884.445	144.532



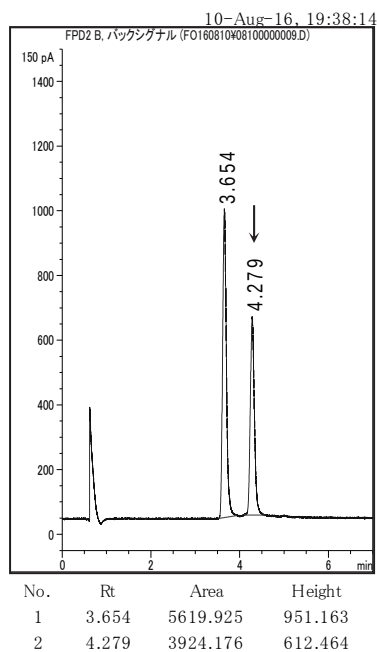
No.	Rt	Area	Height
1	3.651	18375.799	3125.318
2	4.279	519.444	91.233



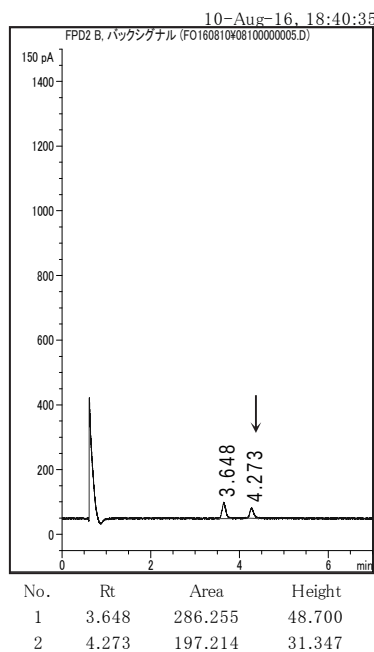
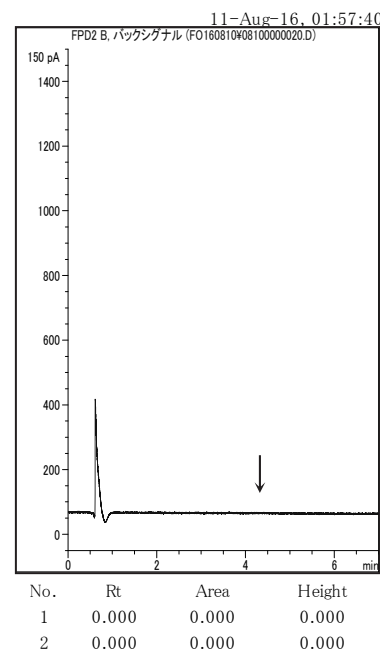
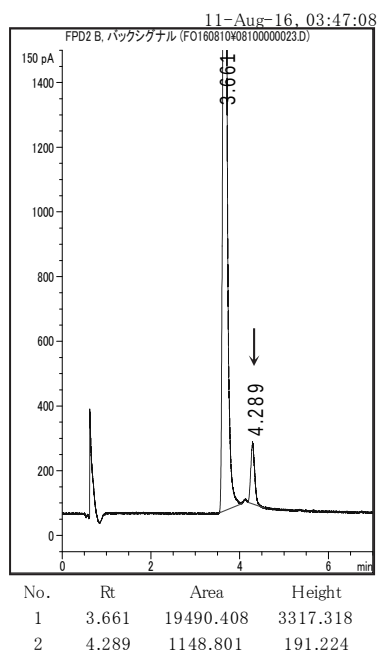
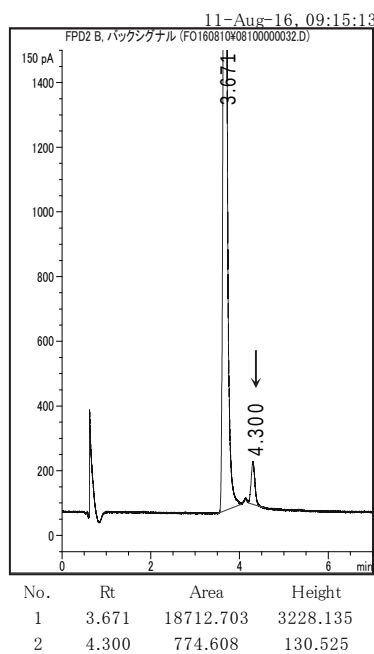
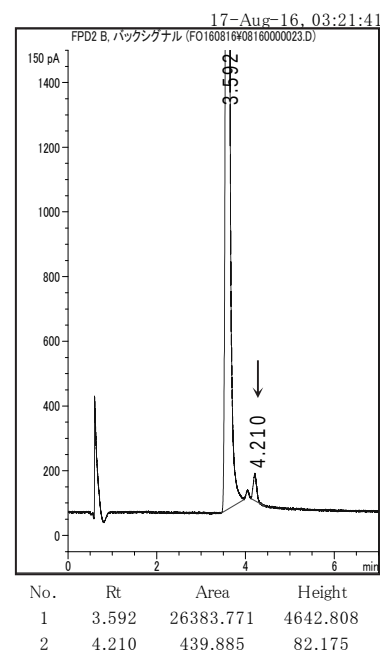
No.	Rt	Area	Height
1	3.615	22145.678	3984.969
2	4.230	182.543	36.087

付図-1-2. 果実

標準品 0.2 ng



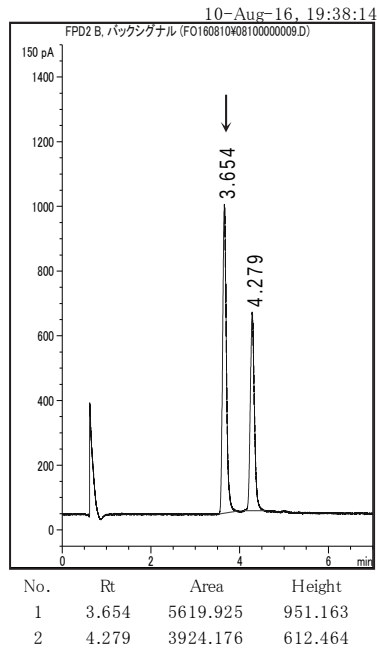
標準品 0.01 ng

宮崎 無処理
1 μ L/10 mL/0.5 g宮崎 3回処理 1日後
1 μ L/10 mL/0.5 g宮崎 3回処理 3日後
1 μ L/10 mL/0.5 g宮崎 3回処理 7日後
1 μ L/10 mL/0.5 g

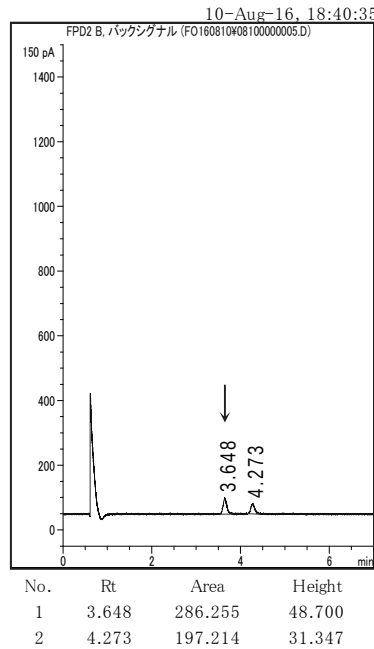
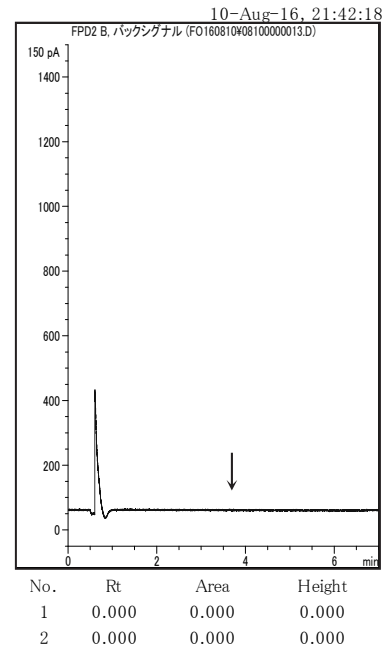
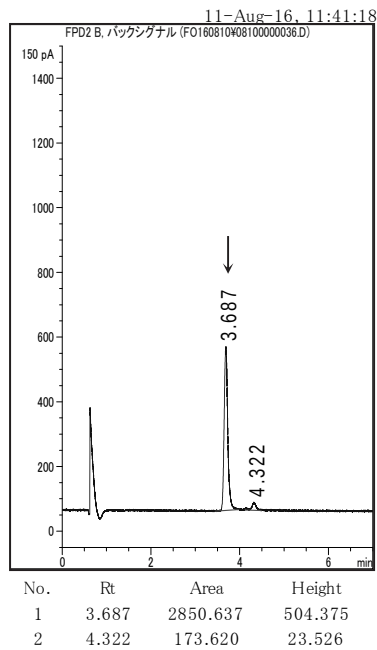
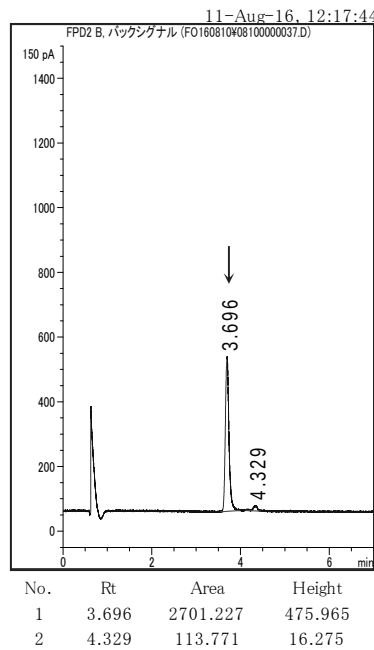
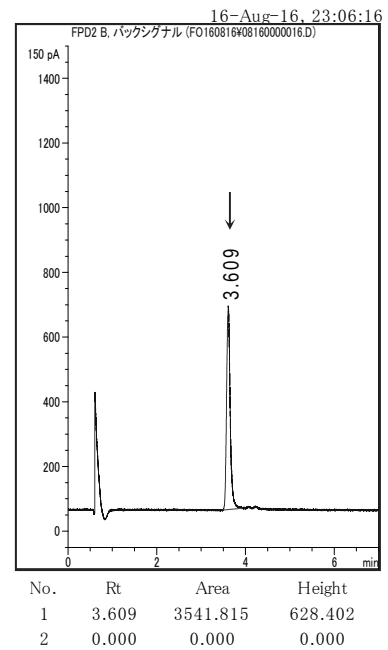
付図-2. 亜リン酸のクロマトグラム (代表例)

付図-2-1. 果肉

標準品 0.2 ng

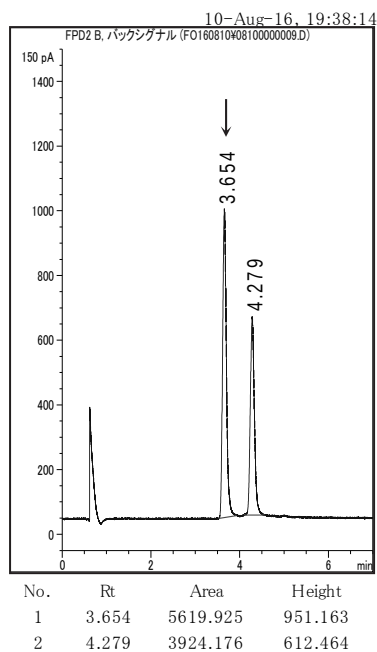


標準品 0.01 ng

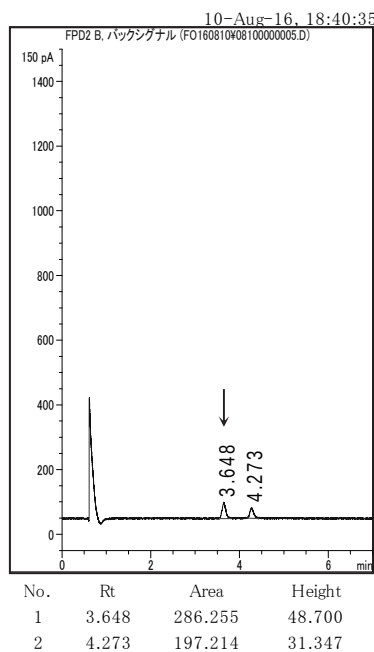
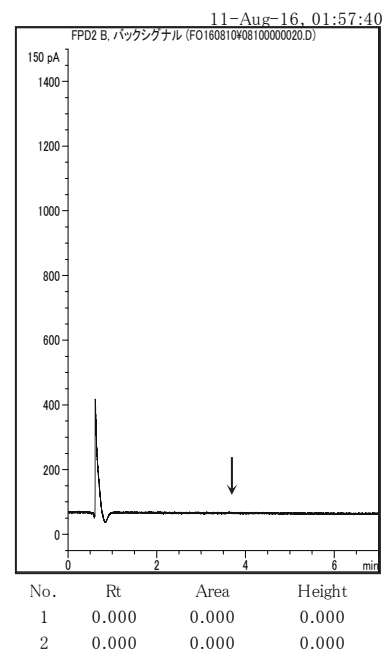
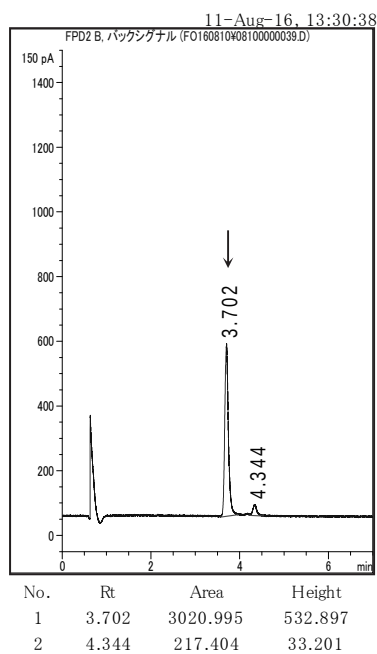
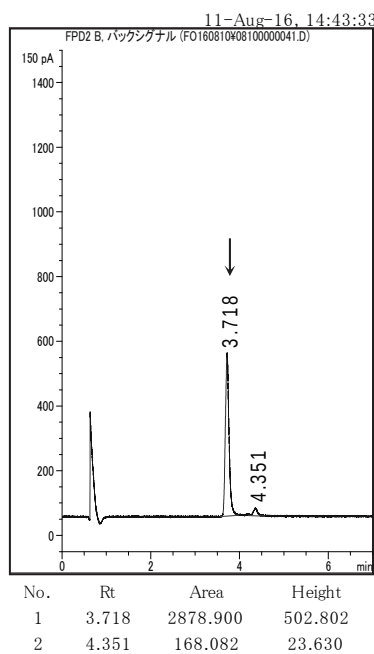
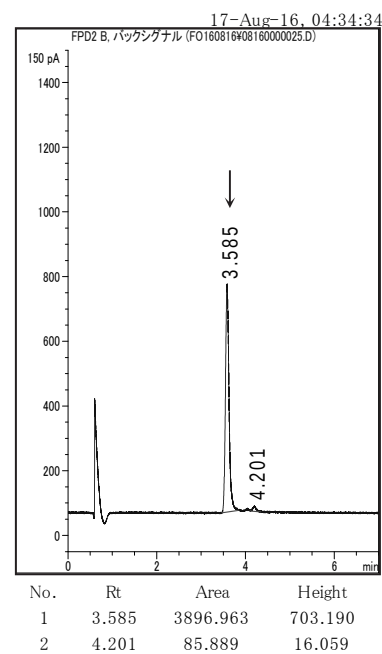
宮崎 無処理
1 μ L/10 mL/0.5 g宮崎 3回処理 1日後
1 μ L/60 mL/0.5 g宮崎 3回処理 3日後
1 μ L/60 mL/0.5 g宮崎 3回処理 7日後
1 μ L/60 mL/0.5 g

付図-2-2. 果実

標準品 0.2 ng



標準品 0.01 ng

宮崎 無処理
1 μ L/10 mL/0.5 g宮崎 3回処理 1日後
1 μ L/60 mL/0.5 g宮崎 3回処理 3日後
1 μ L/60 mL/0.5 g宮崎 3回処理 7日後
1 μ L/60 mL/0.5 g

残留分析詳細(メロン試料)：試料重量，作物写真

1. 試料重量等

試料	処理	経過	平均重量	総平均重量	総重量	総重量の平均	重量比(%)		果皮の厚さ
	回数	日数	(kg/個)	(kg/個)	(kg)	(kg)	果肉	果皮	(mm)
茨城	0	—	1.71	1.82	17.1	11.2	85	15	2.0
	A	1	1.75		8.77		85	15	1.6
	A	3	1.85		9.24		87	13	1.8
	A	7	1.95		9.77		86	14	1.4
							平均 86:14		平均 1.7
高知	0	—	1.71	1.71	20.5	12.8	85	15	1.4
	A	1	1.68		10.1		83	17	1.4
	A	3	1.70		10.2		83	17	1.4
	A	7	1.73		10.4		83	17	1.6
							平均 84:16		平均 1.5
宮崎	0	—	2.00	1.86	20.0	13.2	84	16	1.7
	A	1	1.77		10.6		82	18	1.8
	A	3	1.83		11.0		84	16	2.0
	A	7	1.83		11.0		86	14	1.1
							平均 84:16		平均 1.7
3 ほ場の総平均重量				3 ほ場の総重量の平均					
1.80 kg/個				12.4 kg					

A：トリフルミゾールは5回処理

ノニルフェノールスルホン酸銅は4回処理

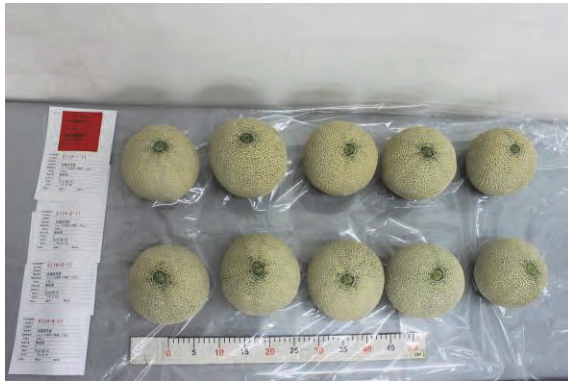
ベノミルは3回処理

DBEDCは4回処理

ホセチルは3回処理

2. 作物写真

2.1. 茨城



茨城 無処理



茨城 処理 1 日後



茨城 処理 3 日後



茨城 処理 7 日後

2.2. 高知



高知 無処理



高知 処理 1 日後



高知 処理 3 日後



高知 処理 7 日後

2.3. 宮崎



宮崎 無処理



宮崎 処理 1 日後



宮崎 処理 3 日後



宮崎 処理 7 日後

資料 3 - 2

農薬登録における作物のグループ化の検討のための試験委託事業

(①すいか、メロン)

残留分析詳細(メロン試料)：マラソン

1. 分析対象物質

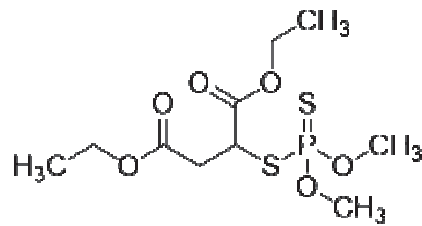
マラソン

化学名： diethyl (dimethoxyphosphinothioylthio)succinate

分子式： $C_{10}H_{19}O_6PS_2$

分子量： 330.4

構造式：



性 状： こはく色の透明な液体

融 点： 2.85℃

沸 点： 156-157℃ (0.7 mmHg)

蒸気圧： 5.3 mPa (30℃)

分配係数： $\log K_{OW} = 2.75$

溶解性： 水 145.0 mg/L (20-25℃)

アルコール，芳香族炭化水素，エステル，エーテル，
ヘプタン (65-93 g/L, 20-25℃)，ケトン類に可溶

安定性： 中性の水溶液中で比較的安定

強酸及びアルカリにより分解

加水分解性半減期 (25℃)；107日 (pH 5)，6日 (pH 7)，0.5日 (pH 9)

出 典：The Pesticide Manual 17th Edition.

2. 標準品及び試薬

マラソン標準品：純度 99% (Dr.Ehrenstorfer 製)

アセトン, ヘキサン, 塩化ナトリウム, 無水硫酸ナトリウム：特級 (和光純薬工業製)

アセトン：残留農薬試験用 (和光純薬工業製)

水：PRA-0015-0V0 / Analytic で精製した水 (オルガノ製)

GC / NH₂ ミニカラム：InertSep GC / NH₂ 500mg / 500mg / 6mL

(ジーエルサイエンス製)

3. 装置及び機器

化学天秤：AUW220 (島津製作所製)

上皿天秤：PB8001-S / FACT (メトラー・トレド製)

上皿天秤：MS6001S / 02 (メトラー・トレド製)

上皿天秤：FX-1200i (エー・アンド・デイ製)

ミキサー：CB-15T (ワーリング製)

ガスクロマトグラフ (FPD-P)：6890N (アジレント・テクノロジー製)

データ処理装置：OpenLAB (アジレント・テクノロジー製)

4. ガスクロマトグラフの操作条件

検出器：FPD-P

カラム：Rtx-5 Amine (島津ジーエルシー製)

内径 0.53 mm, 長さ 30 m, 膜厚 1 μm

温度：注入口 250℃

検出器 250℃

ガス流量：ヘリウム (キャリアガス) 8.0 mL/min

ヘリウム (メイクアップガス) 15 mL/min

水素 75 mL/min

空気 100 mL/min

注入量：2 μL

保持時間：約 3.3 min

5. 検量線の作成

マラソン標準品 20.0 mg (純度換算相当量) を 100 mL 容メスフラスコに精秤し, アセトンに溶解して 200 mg/L 標準原液を調製した。この原液をアセトンで希釈して 10 mg/L 標準溶液を調製し, さらにこの標準溶液をアセトンで希釈して 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.15 及び 0.2 mg/L の標準溶液を調製した。この溶液を前記条件のガスクロマトグラフに注入し, データ処理装置を用いてマラソンのピーク高さを測定し, 横軸に重量 (ng), 縦軸にピーク高さをとっ

て検量線を作成した。

6. 分析操作

6.1. 試料の前処理

試料は写真撮影及び重量測定を実施した後、各々を縦に8分割し、対角の2つを取り合わせた（4組作製）。その2組を果実分析用試料とし、残りの2組を果肉分析用試料とした。果肉分析用試料は果肉と果皮に分け、果皮の厚さを測定した。又、果実、果肉及び果皮の各部位の全重量を測定した。

無処理区は、2組の果実分析用試料を細切した後、よく混ぜ合わせ、その一部を添加剤が必要な有機銅分析用試料として取り分けた後、残りの果実分析用試料をミキサーで均一化してマラソン分析用を含む調製試料を作製した。果肉分析用試料についても果実分析用試料と同様に各調製試料を作製した。

処理区は、2組の果実分析用試料を細切し、ミキサーで均一化してマラソン分析用を含む調製試料を作製した。果肉分析用試料についても果実分析用試料と同様に各調製試料を作製した。

各調製試料は2組以上作製し、密封して冷凍保存（ -20°C 以下）した。分析時にその1組を取り、分析に供した。

6.2. 抽出

均一化した試料20 gをはかりとり、アセトン100 mL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30 mLで2回洗い、同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンで200 mL定容とし、定容液から40 mL（試料4 g相当量）を分取し、 40°C 以下の水浴中で減圧濃縮し、アセトンを留去した。

6.3. ヘキサン転溶

濃縮液を10%塩化ナトリウム溶液80 mLを用いて分液ロートに移し、ヘキサン80 mLを加え5分間振とうした。静置分離後、ヘキサン層は無水硫酸ナトリウムをのせたろ紙（No.5A）を通過させ脱水した。水層にはヘキサン80 mLを加えて前記操作を繰り返した後、ヘキサン層を取り合わせた。ヘキサン層は 40°C 以下の水浴中で約2 mLまで減圧濃縮した。

6.4. GC/NH₂ミニカラムによる精製

GC/NH₂ミニカラムにヘキサン／アセトン（90：10，v/v）10 mLを流下し前処理した。残留物を同混液5 mLで溶解してGC/NH₂ミニカラムに移して流下した後、同混液20 mLを流下し、全ての溶出液を取り合わせ、 40°C 以下の水浴中で約2 mLまで減圧濃縮し、通風で乾固した。

6.5. 定量

残留物を適量のアセトンに溶解した。この溶液を前記条件のガスクロマトグラフに注入してピーク高さを求め、検量線よりマラソンの重量を求め、試料中の残留濃度を算出した。

7. 定量限界値(LOQ)及び検出限界値(LOD)

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 (mg/kg)
0.02	4	4	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 (mg/kg)
0.01	4	4	2	0.005

8. 回収率

分析法確認のため、市販試料*を用いて、0.01 mg/kg（定量限界相当）、0.25 mg/kg及び5 mg/kg添加濃度における回収試験を各5連分析で実施した。尚、無添加試料は2連分析し、全て定量限界未満であった。回収率の算出結果を示す。

* 東京都板橋区の小売店で2016年7月5日に購入した静岡県産のメロン（27.2 kg/12個）

8.1. 果肉

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)			平均回収率 (%)	RSDr (%)
市販品	5	100, 95,	98, 95	97,	97	2.2
市販品	0.25	101, 91,	100, 83	94,	94	7.8
市販品	0.01	99, 90,	97, 84	95,	93	6.5

8.2. 果実

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)			平均回収率 (%)	RSDr (%)
市販品	5	90, 86,	90, 82	88,	87	3.8
市販品	0.25	91, 86,	88, 83	88,	87	3.4
市販品	0.01	102, 85,	95, 78	92,	90	10.3

9. 精度管理

「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、内部精度管理を行った。

管理基準：20検体を超えるごとに、各1検体の無処理試料及び0.1 mg/kg添加試料（内部精度管理試料）を分析した。その結果、下表に示すように問題は認められなかった。

又、2015年7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）におけるZスコアは全て $Z < 2$ であった。

9.1. 果肉

分析日*	使用した圃場	回収率 (%)	無処理区の 分析値 (mg/kg)
2016/ 9/ 9	茨城	96	<0.01
2016/ 9/ 9	宮崎	98	<0.01
2016/10/13	茨城	83	<0.01
2016/10/13	高知	86	<0.01
2016/10/13	宮崎	85	<0.01

回収試料の添加濃度：0.1 mg/kg

*抽出日を記載

9.2. 果実

分析日*	使用した圃場	回収率 (%)	無処理区の 分析値 (mg/kg)
2016/ 9/ 9	茨城	102	<0.01
2016/ 9/ 9	宮崎	92	<0.01
2016/10/13	茨城	91	<0.01
2016/10/13	高知	98	<0.01
2016/10/13	宮崎	89	<0.01

回収試料の添加濃度：0.1 mg/kg

*抽出日を記載

10. 保存安定性確認

均一化した各無処理試料にマラソンを添加し、冷凍暗所（－20℃以下）に凍結保存した。一定期間保存した後、同様に分析して回収率を求め、保存中の安定性を確認した。保存安定性の結果を示す。

10.1. 果肉

圃場名	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)		平均回収率 (%)
茨城	0.5	55 (2016/8/19-10/13)	81,	76	78
高知	0.5	15 (2016/9/28-10/13)	85,	84	84
宮崎	0.5	68 (2016/8/6-10/13)	78,	75	76

10.2. 果実

圃場名	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)		平均回収率 (%)
茨城	0.5	55 (2016/8/19-10/13)	86,	82	84
高知	0.5	15 (2016/9/28-10/13)	81,	80	80
宮崎	0.5	68 (2016/8/6-10/13)	87,	85	86

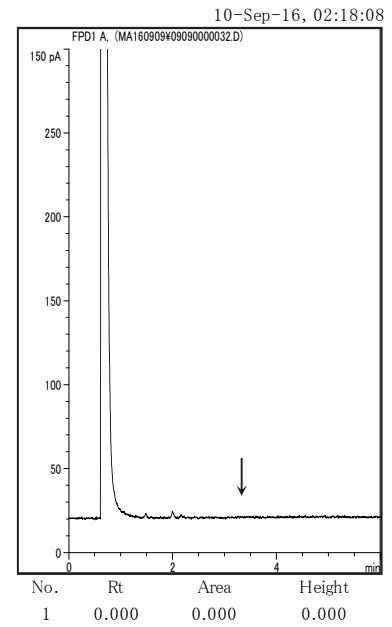
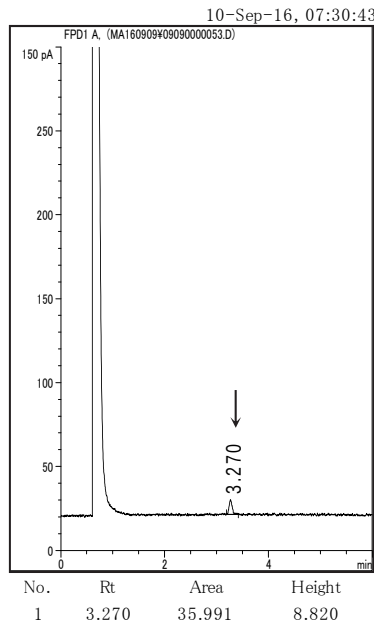
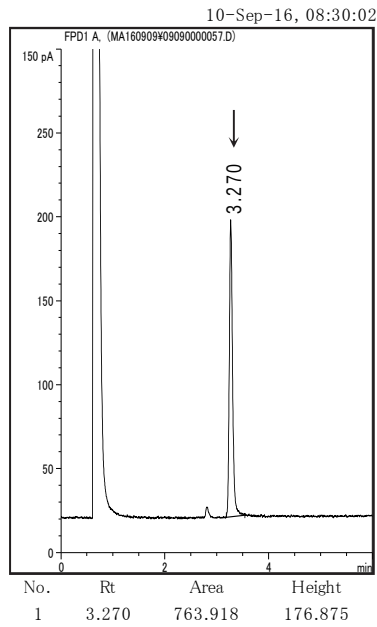
付図-1. マラソンのクロマトグラム (代表例)

付図-1-1. 果肉

標準品 0.4 ng

標準品 0.02 ng

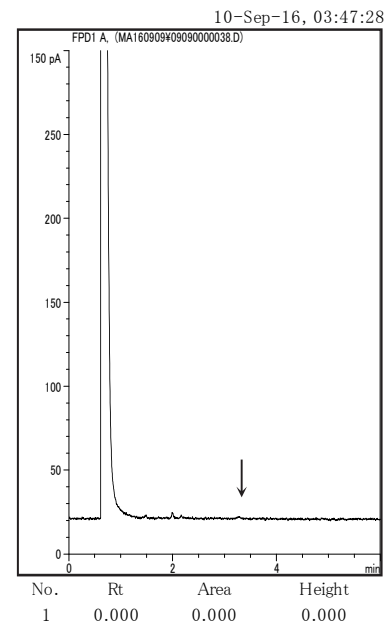
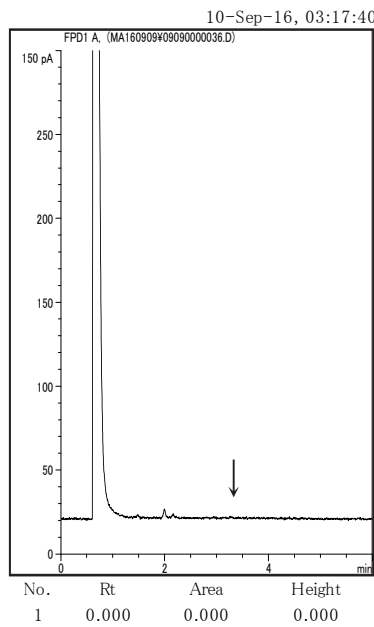
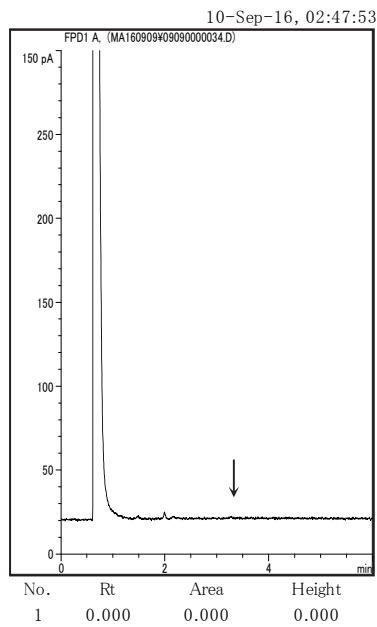
宮崎 無処理
2 μ L/4 mL/4 g



宮崎 3回処理 1日後
2 μ L/4 mL/4 g

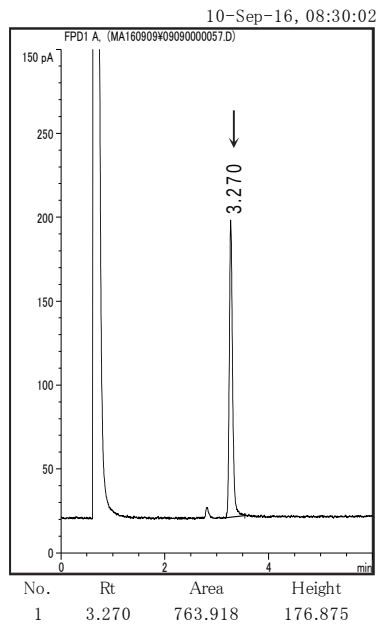
宮崎 3回処理 3日後
2 μ L/4 mL/4 g

宮崎 3回処理 7日後
2 μ L/4 mL/4 g

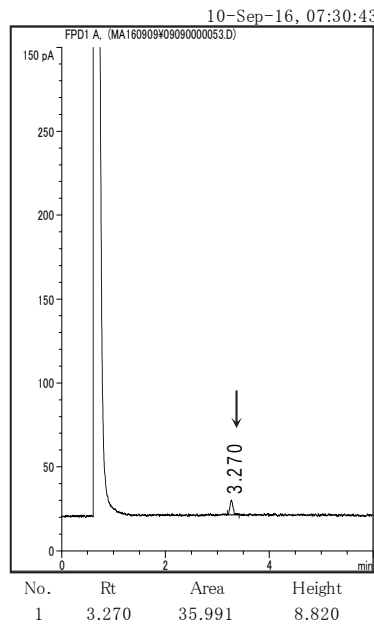
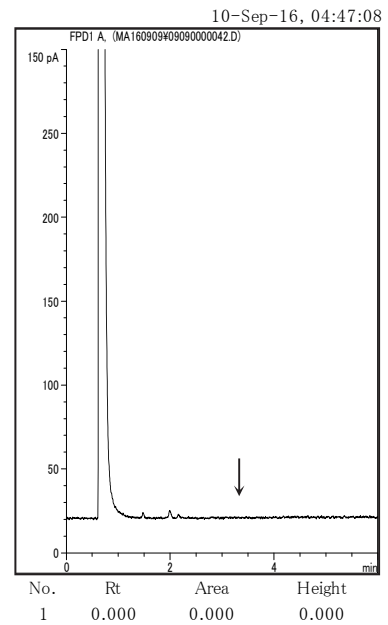
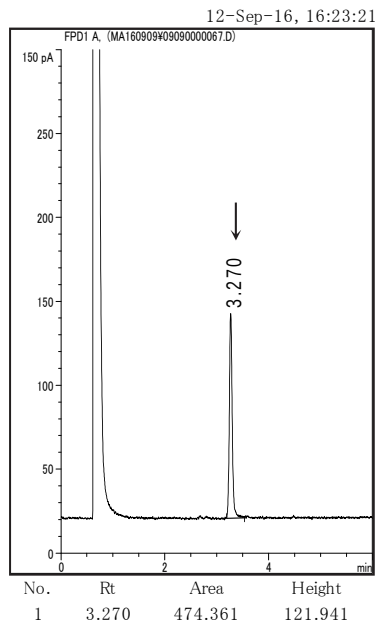
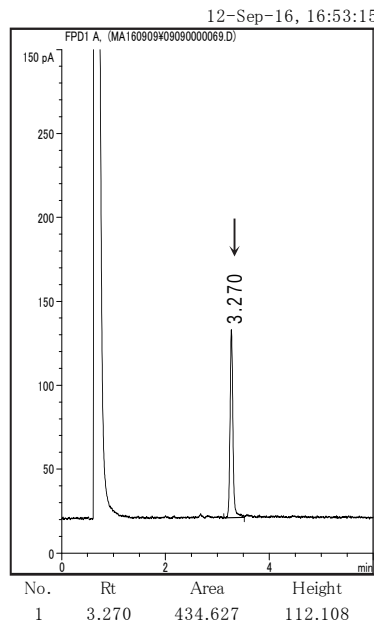
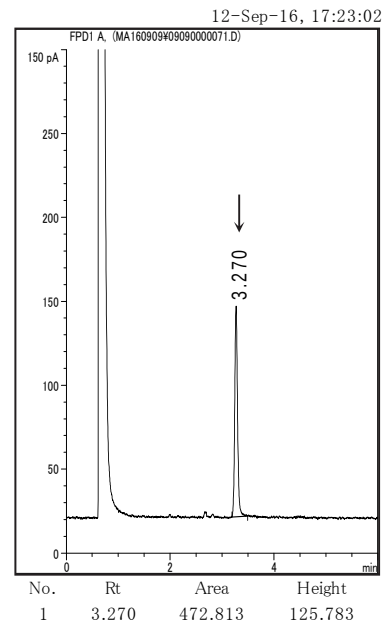


付図-1-2. 果実

標準品 0.4 ng



標準品 0.02 ng

宮崎 無処理
2 μ L/4 mL/4 g宮崎 3回処理 1日後
2 μ L/24 mL/4 g宮崎 3回処理 3日後
2 μ L/24 mL/4 g宮崎 3回処理 7日後
2 μ L/12 mL/4 g

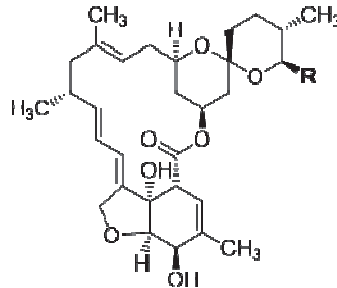
残留分析詳細(メロン試料)：ミルベメクチン

1. 分析対象物質

ミルベメクチン

構造式：

R = -CH₃ (milbemycin A₃)
R = -CH₂CH₃ (milbemycin A₄)



性 状： 白色の結晶性粉末

蒸気圧： 1.3×10^{-5} mPa (20℃)

安定性： 加水分解性半減期 (A₄)；11.6日 (pH 5)，260日 (pH 7)，226日 (pH 9)

ミルベメクチンA₃

化学名： (10E,14E,16E,22Z)-(1R,4S,5'S,6R,6'R,8R,13R,20R,21R,24S)-
21,24-dihydroxy-5',6',11,13,22-pentamethyl-3,7,19-
trioxatetracyclo[15.6.1.1^{4,8}.0^{20,24}]pentacos-10,14,16,22-tetraene-6-spiro-
2'-tetrahydropyran-2-one

分子式： C₃₁H₄₄O₇

分子量： 528.7

融 点： 212-215℃

分配係数： log K_{OW} = 5.3

溶解性： 水 0.88 mg/L (20-25℃)

アセトン 66.1，ベンゼン 143.1，エタノール 41.9，酢酸エチル 69.5，
n-ヘキサン 1.4，メタノール 64.8 (以上 g/L, 20-25℃)

ミルベメクチンA₄

化学名： (10E,14E,16E,22Z)-(1R,4S,5'S,6R,6'R,8R,13R,20R,21R,24S)-
6'-ethyl-21,24-dihydroxy-5',11,13,22-tetramethyl-3,7,19-
trioxatetracyclo[15.6.1.1^{4,8}.0^{20,24}]pentacos-10,14,16,22-tetraene-6-spiro-
2'-tetrahydropyran-2-one

分子式： C₃₂H₄₆O₇

融 点： 212-215℃

分配係数： log K_{OW} = 5.9

溶解性： 水 7.2 mg/L (20-25℃)

アセトン 365.3, ベンゼン 524.2, エタノール 234.0, 酢酸エチル 320.4,
n-ヘキサン 6.5, メタノール 458.8 (以上 g/L, 20-25°C)

出 典 : The Pesticide Manual 17th Edition.

2. 標準品及び試薬

ミルベメクチン A₃ 標準品 : 純度 99.2% (林純薬工業製)
ミルベメクチン A₄ 標準品 : 純度 98.7% (林純薬工業製)
アセトン, 無水トリフルオロ酢酸 : 特級 (和光純薬工業製)
トリエチルアミン : 鹿特級 (関東化学製)
トルエン, ベンゼン : 残留農薬試験用 (和光純薬工業製)
メタノール : 高速液体クロマトグラフ用 (和光純薬工業製)
アセトニトリル : 高速液体クロマトグラフィー用 (関東化学製)
水 : PRA-0015-0V0 / Analytic で精製した水 (オルガノ製)
PH ミニカラム : InertSep PH 1 g / 6 mL (ジーエルサイエンス製)
GC / NH₂ / SI ミニカラム : InertSep GC / NH₂ / SI 500mg / 400mg / 600mg / 12mL
(ジーエルサイエンス製)

3. 装置及び機器

化学天秤 : AUW220 (島津製作所製)
上皿天秤 : PB8001-S / FACT (メトラー・トレド製)
上皿天秤 : MS6001S / 02 (メトラー・トレド製)
上皿天秤 : EK-1200G (エー・アンド・デイ製)
ミキサー : CB-15T (ワーリング製)
定温乾燥機 : WFO-410W (東京理化器機製)
高速液体クロマトグラフ : LC-6A (島津製作所製)
データ処理装置 : EZChrom Elite (アジレント・テクノロジー製)

4. 液体クロマトグラフの操作条件

検出器 : 蛍光分光光度計 RF-20A
カラム : WakoPak Navi C30-5
内径 4.6 mm, 長さ 25 cm, 粒径 5 μm
移動相 : メタノール / 水 (92 : 8, v/v)
流量 : 1.0 mL/min
恒温槽温度 : 40°C
注入量 : 20 μL

検出波長： 励起 360 nm, 蛍光 460 nm
感度： Range 1 LOW
保持時間： 約 15.0 min（ミルベメクチン A₃）
約 17.6 min（ミルベメクチン A₄）

5. 検量線の作成

ミルベメクチンA₃及びミルベメクチンA₄の標準品20.0 mg（純度換算相当量）を各々100 mL容メスフラスコに精秤し、メタノールに溶解して200 mg/Lの標準原液を調製した。この原液を等量ずつ混合し、メタノールで希釈して10 mg/Lの混合標準溶液を調製した。この混合標準溶液5 mLをナス型フラスコに分取し、40℃以下の水浴中で約1 mLまで減圧濃縮し、通風で乾固した。残留物に0.5 mol/Lトリエチルアミン含有ベンゼン1 mL及び無水トリフルオロ酢酸0.5 mLを加えて密栓し、45℃に設定した定温乾燥器中に30分間放置して蛍光ラベル化した。放冷後、トリエチルアミン50 µLを加えて窒素気流下で乾固直前まで濃縮し、濃縮液はメタノールで50 mLに定容して1 mg/Lの混合標準溶液を調製した。さらにこの混合標準溶液をメタノールで希釈して0.0005, 0.001, 0.005, 0.01, 0.015及び0.02 mg/Lの混合標準溶液を調製した。この溶液を前記条件の高速液体クロマトグラフに注入し、データ処理装置を用いてミルベメクチンA₃及びミルベメクチンA₄のピーク高さを測定し、横軸に重量（ng）、縦軸にピーク高さをとって各検量線を作成した。

6. 分析操作

6.1. 試料の前処理

試料は写真撮影及び重量測定を実施した後、各々を縦に8分割し、対角の2つを取り合わせた（4組作製）。その2組を果実分析用試料とし、残りの2組を果肉分析用試料とした。果肉分析用試料は果肉と果皮に分け、果皮の厚さを測定した。又、果実、果肉及び果皮の各部位の全重量を測定した。

無処理区は、2組の果実分析用試料を細切した後、よく混ぜ合わせ、その一部を添加剤が必要な有機銅分析用試料として取り分けた後、残りの果実分析用試料をミキサーで均一化してミルベメクチン分析用を含む調製試料を作製した。果肉分析用試料についても果実分析用試料と同様に各調製試料を作製した。

処理区は、2組の果実分析用試料を細切し、ミキサーで均一化してミルベメクチン分析用を含む調製試料を作製した。果肉分析用試料についても果実分析用試料と同様に各調製試料を作製した。

各調製試料は2組以上作製し、密封して冷凍保存（-20℃以下）した。分析時にその1組を取り、分析に供した。

6.2. 抽出

均一化した試料20 gをはかりとり、アセトン100 mL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30 mLで2回洗い、同様にろ過した。ろ液を合わせ、アセトンで200 mL定容とし、その10 mL（試料1 g相当量）をビーカーに取り、水30 mLを加えた。

6.3. PHミニカラムによる精製

PHミニカラムにメタノール5 mL及び水10 mLを順次流下し前処理した。抽出液をPHミニカラムに流下し、さらにメタノール／水（50 : 50, v/v）混液20 mLで容器内を洗浄後、これをPHミニカラムに移して流下してこれらの流出液を捨てた。次にメタノール15 mLを流下し溶出液を取り、40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、通風で乾固した。

6.4. GC／NH₂／SI ミニカラムによる精製

GC／NH₂／SIミニカラムにアセトニトリル／トルエン（75 : 25, v/v）混液10 mLを流下し前処理した。残留物を同混液5 mLに溶解してGC／NH₂／SIミニカラムに移して流下し、次に同混液20 mLを流下し、全ての溶出液を取り合わせ、40℃以下の水浴中で減圧濃縮し、通風で乾固した。

6.5. 蛍光ラベル化

残留物に0.5 mol/L トリエチルアミン含有ベンゼン1 mL及び無水トリフルオロ酢酸0.5 mLを加えて密栓し、45℃に設定した定温乾燥器中に30分間放置して蛍光ラベル化した。放冷後、トリエチルアミン50 µLを加えて窒素気流下で乾固直前まで濃縮した。

6.6. 定量

濃縮液を適量のメタノールで定容した。この溶液を前記条件の高速液体クロマトグラフに注入してピーク高さを求め、検量線よりミルベメクチンA₃及びミルベメクチンA₄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(LOQ)及び検出限界値(LOD)

ミルベメクチンA₃, ミルベメクチンA₄

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 (mg/kg)
0.02	1	5	20	0.005

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 (mg/kg)
0.01	1	5	20	0.003

8. 回収率

分析法確認のため、市販試料*を用いて、0.005 mg/kg (定量限界相当)、0.25 mg/kg及び5 mg/kg添加濃度における回収試験を各5連分析で実施した。尚、無添加試料は2連分析し、全て定量限界未満であった。回収率の算出結果を示す。

* 東京都板橋区の小売店で2016年7月5日に購入した静岡県産のメロン (27.2 kg/12個)

8.1. 果肉

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)			平均回収率 (%)	RSDr (%)
ミルベメクチンA ₃						
市販品	5	99, 96,	96, 90	96,	95	3.5
市販品	0.25	87, 83,	87, 72	83,	82	7.5
市販品	0.005	92, 75,	92, 73	92,	85	11.6
ミルベメクチンA ₄						
市販品	5	99, 95,	96, 90	96,	95	3.4
市販品	0.25	89, 85,	89, 73	86,	84	7.8
市販品	0.005	101, 86,	98, 78	92,	91	10.2

8.2. 果実

試料	添加濃度 (mg/kg)	回収率 (%)			平均回収率 (%)	RSDr (%)
ミルベメクチンA ₃						
市販品	5	93, 92,	93, 73	93,	89	9.9
市販品	0.25	86, 86,	86, 70	86,	83	8.6
市販品	0.005	99, 66,	79, 65	77,	77	17.8
ミルベメクチンA ₄						
市販品	5	94, 92,	93, 74	92,	89	9.5
市販品	0.25	88, 87,	88, 72	88,	85	8.3
市販品	0.005	97, 73,	77, 68	75,	78	14.3

9. 精度管理

「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、内部精度管理を行った。

管理基準：20検体を超えるごとに、各1検体の無処理試料及び0.05 mg/kg添加試料（内部精度管理試料）を分析した。その結果、下表に示すように問題は認められなかった。

又、2015年7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）におけるZスコアは全て $Z < 2$ であった。

9.1. 果肉

成分名	分析日*	使用した圃場	回収率 (%)	無処理区の 分析値 (mg/kg)
<u>ミルベメクチンA₃</u>	2016/11/10	茨城	94	<0.005
	2016/11/10	高知	95	<0.005
	2016/11/10	宮崎	97	<0.005
	2016/11/30	茨城	96	<0.005
	2016/11/30	高知	98	<0.005
	2016/11/30	宮崎	92	<0.005
<u>ミルベメクチンA₄</u>	2016/11/10	茨城	94	<0.005
	2016/11/10	高知	95	<0.005
	2016/11/10	宮崎	96	<0.005
	2016/11/30	茨城	96	<0.005
	2016/11/30	高知	98	<0.005
	2016/11/30	宮崎	93	<0.005

回収試料の添加濃度：0.05 mg/kg

* 抽出日を記載

9.2. 果実

成分名	分析日*	使用した圃場	回収率 (%)	無処理区の 分析値 (mg/kg)
<u>ミルベメクチンA₃</u>	2016/11/18	茨城	91	<0.005
	2016/11/18	高知	90	<0.005
	2016/11/18	宮崎	93	<0.005
	2016/12/ 8	茨城	96	<0.005
	2016/12/ 8	高知	100	<0.005
	2016/12/ 8	宮崎	98	<0.005
<u>ミルベメクチンA₄</u>	2016/11/18	茨城	90	<0.005
	2016/11/18	高知	89	<0.005
	2016/11/18	宮崎	91	<0.005
	2016/12/ 8	茨城	96	<0.005
	2016/12/ 8	高知	98	<0.005
	2016/12/ 8	宮崎	98	<0.005

回収試料の添加濃度：0.05 mg/kg

* 抽出日を記載

10. 保存安定性確認

均一化した各無処理試料にミルベメクチンA₃及びミルベメクチンA₄を添加し、冷凍暗所（－20℃以下）に凍結保存した。一定期間保存した後、同様に分析して回収率を求め、保存中の安定性を確認した。保存安定性の結果を示す。

10.1. 果肉

圃場名	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)		平均回収率 (%)
<u>ミルベメクチンA₃</u>					
茨城	0.5	103 (2016/8/19-11/30)	98,	94	96
高知	0.5	63 (2016/9/28-11/30)	98,	94	96
宮崎	0.5	114 (2016/8/8-11/30)	98,	96	97
<u>ミルベメクチンA₄</u>					
茨城	0.5	103 (2016/8/19-11/30)	100,	95	98
高知	0.5	63 (2016/9/28-11/30)	104,	101	102
宮崎	0.5	114 (2016/8/8-11/30)	103,	101	102

10.2. 果実

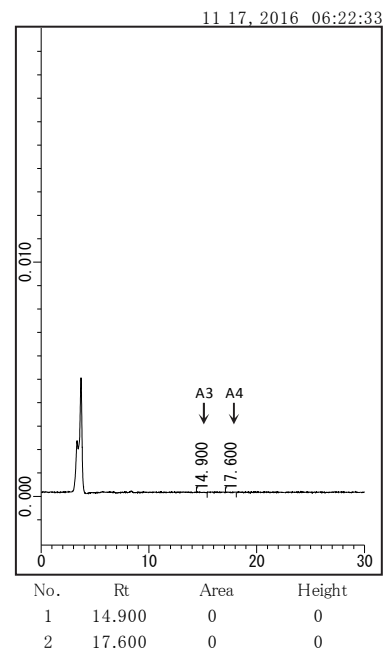
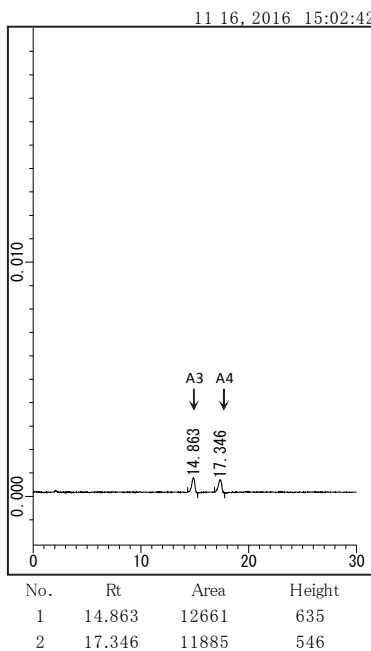
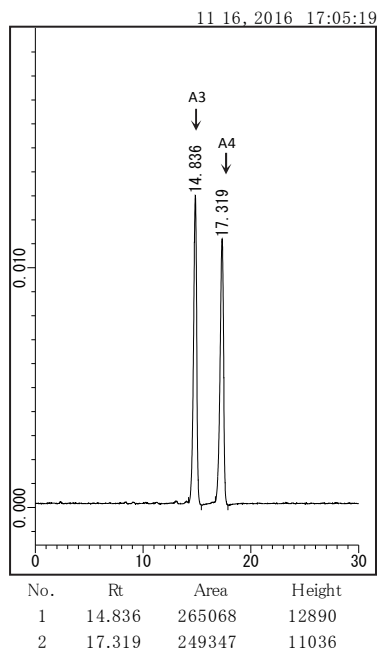
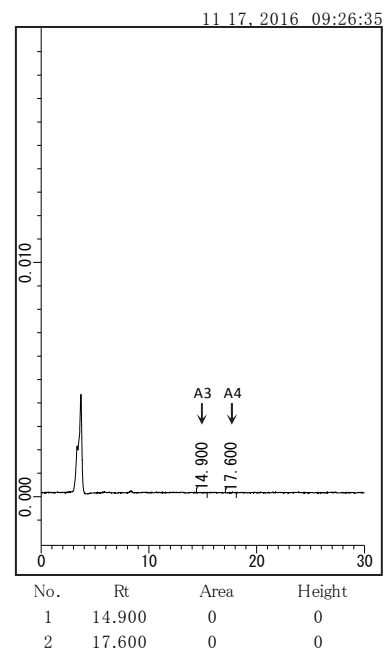
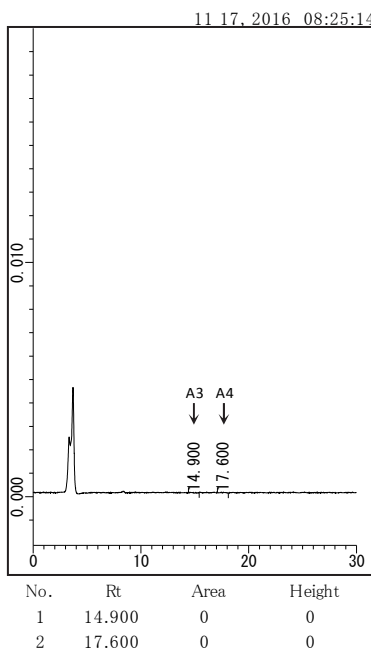
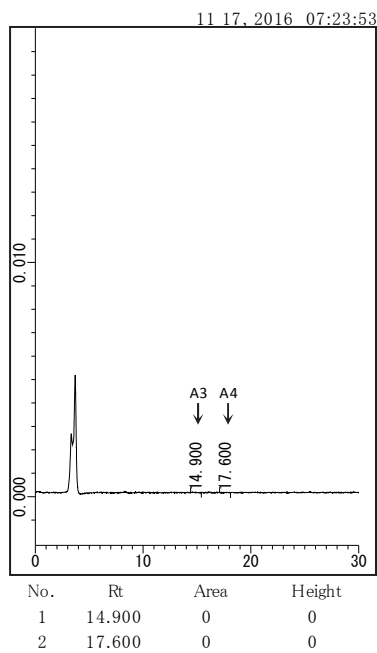
圃場名	添加濃度 (mg/kg)	保存期間 (日)	回収率 (%)		平均回収率 (%)
<u>ミルベメクチンA₃</u>					
茨城	0.5	111 (2016/8/19-12/8)	91,	91	91
高知	0.5	71 (2016/9/28-12/8)	108,	108	108
宮崎	0.5	122 (2016/8/8-12/8)	110,	103	106
<u>ミルベメクチンA₄</u>					
茨城	0.5	111 (2016/8/19-12/8)	96,	95	96
高知	0.5	71 (2016/9/28-12/8)	98,	97	98
宮崎	0.5	122 (2016/8/8-12/8)	98,	96	97

付図-1. ミルベメクチンのクロマトグラム (代表例)

付図-1-1. 果肉

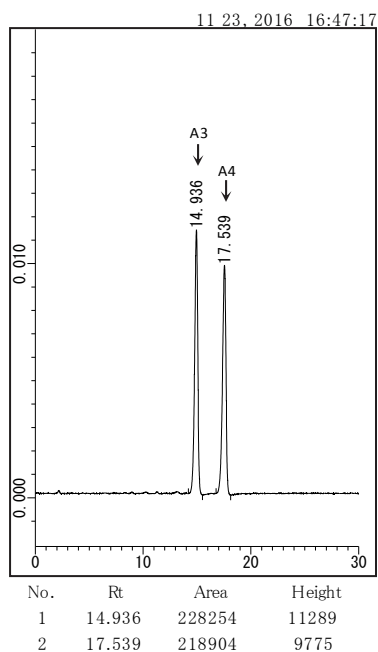
標準品 0.4 ng

標準品 0.02 ng

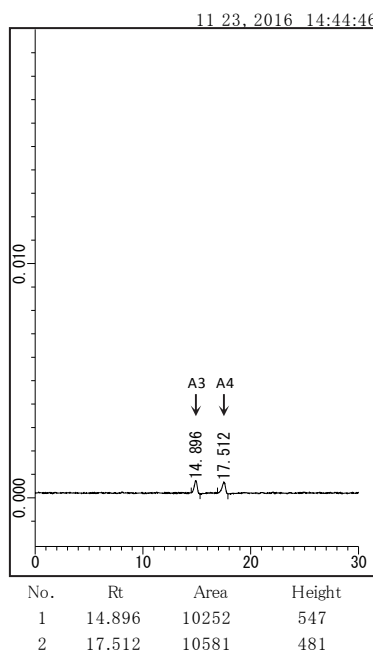
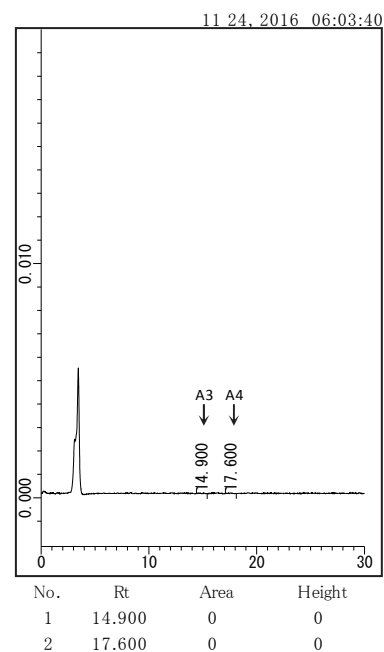
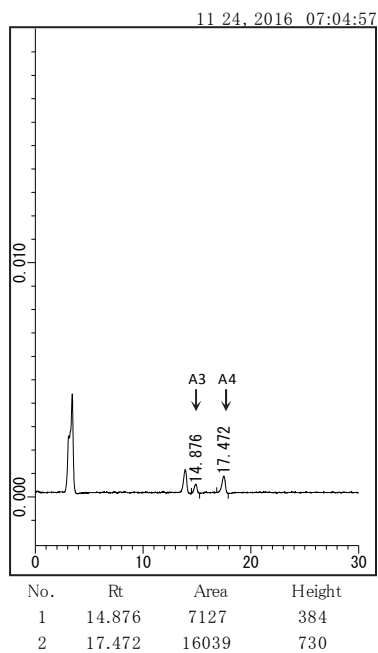
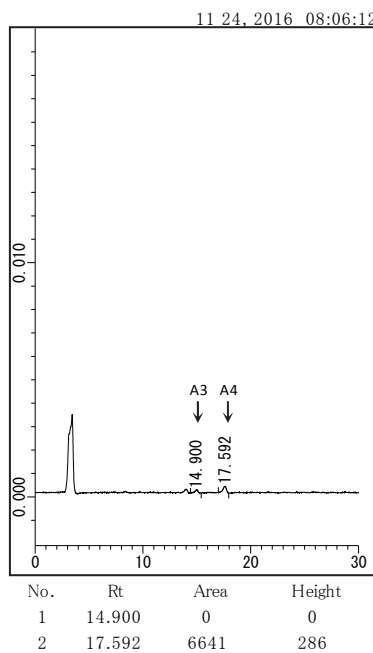
宮崎 無処理
20 μ L/5 mL/1 g宮崎 2回処理 1日後
20 μ L/5 mL/1 g宮崎 2回処理 3日後
20 μ L/5 mL/1 g宮崎 2回処理 7日後
20 μ L/5 mL/1 g

付図-1-2. 果実

標準品 0.4 ng



標準品 0.02 ng

宮崎 無処理
20 μ L/5 mL/1 g宮崎 2回処理 1日後
20 μ L/5 mL/1 g宮崎 2回処理 3日後
20 μ L/5 mL/1 g宮崎 2回処理 7日後
20 μ L/5 mL/1 g