



食安発第1003001号
平成18年10月3日

各

都道府県知事
保健所設置市長
特別区長

 殿

厚生労働省医薬食品局食品安全部長

食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質
の試験法について（一部改正）

食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件（平成17年厚生労働省告示第499号）が平成17年11月29日に公布され、その内容については、同日付け食安発第1129001号当職通知をもって通知したところである。

これに関連して、今般、「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」（平成17年1月24日付け食安発第0124001号当職通知）の別添の一部を下記のとおり改正することとしたので、関係者への周知方よろしく願います。

記

1. 前文及び目次を別紙1のとおり改める。なお、改正部分を下線で示す。
2. 「第1章 総則」を別紙2のとおり改める。なお、改正部分を下線で示す。
3. 「第2章 一斉試験法」の「GC/MSによる農薬等の一斉試験法（農産物）」、「LC/MSによる農薬等の一斉試験法（農産物）」、「LC/MSによる農薬等の一斉試験法（農産物）」及び「GC/MSによる農薬等の一斉試験法（畜水産物）」について、分析対象化合物を改めるため、それぞれ別紙3のとおり改める。なお、改正部分を下線で示す。また、「LC/MSによる農薬等の一斉試験法（畜水産物）」を別紙4のとおり新たに加える。
4. 「第3章 個別試験法」について、別紙5のとおり「エチプロール試験法」、

「ジクロールボス及びトリクロールホン試験法」、「シアゾファミド試験法」、「トルフェンピラド試験法」、「ノバルロン試験法」、「ビフェナゼート試験法」、「フェンアミドン試験法」、「プロヒドロジャスモン試験法」及び「ボスカリド試験法」中の「活性炭ミニカラム」を「グラファイトカーボンミニカラム」に改めるとともに、一部の記載方法について他の試験法と平仄をあわせる。なお、改正部分を下線で示す。また、別紙6のとおり「クロピラリド試験法」及び「ジクワット、パラコート及びメピコートクロリド試験法」を加える。

5. なお、農薬「ジクロールボス及びナレド」の取扱いについては、平成18年5月31日付け厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡「食品中のジクロールボス及びナレドの試験にあたっての留意点について」を参照されたい。

食品に残留する農薬、飼料添加物又は 動物用医薬品の成分である物質 の試験法

厚生労働省医薬食品局食品安全部

平成 1 8 年 1 0 月

食品に残留する農薬、飼料添加物又は 動物用医薬品の成分である物質の試験法

食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生省告示第370号)の第1食品の部A食品一般の成分規格の6の(1)の表の第1欄、7の(1)の表の第1欄及び9の(1)の表の第1欄に掲げる農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質(その物質が化学的に変化して生成した物質を含む。)の試験法(同表第3欄に「不検出」と定めているものに係るものを除く。)について、次のとおり定める。

第1章 総則

第2章 一斉試験法

第3章 個別試験法

「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」(平成17年1月24日付け食安発第0124001号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知)別添

目 次

第1章 総則

第2章 一斉試験法

- ・ GC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）
- ・ LC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）
- ・ LC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）
- ・ GC/MS による農薬等の一斉試験法（畜水産物）
- ・ LC/MS による農薬等の一斉試験法（畜水産物）
- ・ HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法（畜水産物）
- ・ HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法（畜水産物）

第3章 個別試験法

- ・ BHC、 γ -BHC、DDT、アルドリン及びディルドリン、エタルフルリン、エトリジアゾール、キントゼン、クロルデン、ジコホール、テクナゼン、テトラジホン、テフルトリン、トリフルリン、ハルフェンプロックス、フェンプロパトリン、ヘキサクロロベンゼン、ヘプタクロル、ベンフルラリン並びにメトキシクロール試験法
- ・ 2, 4 - D、2, 4 - DB 及びクロプロップ試験法
- ・ 2, 2 - DPA 試験法
- ・ DCIP 試験法
- ・ DBEDC 試験法
- ・ EPN、アニロホス、イサゾホス、イプロベンホス、エチオン、エディフェンホス、エトプロホス、エトリムホス、カズサホス、キナルホス、クロルピリホス、クロルピリホスメチル、クロルフェンビンホス、シアノホス、ジスルホトン、ジメチルビンホス、ジメトエート、スルプロホス、ダイアジノン、チオメトン、テトラクロルビンホス、テルブホス、トリアゾホス、トリブホス、トルクロホスメチル、パラチオン、パラチオンメチル、ピペロホス、ピラクロホス、ピラゾホス、ピリダフェンチオン、ピリミホスメチル、フェナミホス、フェントロチオン、フェンスルホチオン、フェンチオン、フェントエート、ブタミホス、プロチオホス、プロパホス、プロフェノホス、プロモホス、ベンスリド、ホキシム、ホサロン、ホスチアゼート、ホスファミドン、ホスメット、ホレート、マラチオン、メカルバム、メタクリホス、メチダチオン及びメピンホス試験法
- ・ EPTC 試験法
- ・ MCPA 及びジカンバ試験法
- ・ Sec - ブチルアミン試験法
- ・ アクリナトリン、シハロトリン、シフルトリン、シペルメトリン、デルタメトリン及びトラロメトリン、ピフェントリン、ピレトリン、フェンバレレート、フルシトリネート、フルバリネート並びにペルメトリン試験法
- ・ アシベンゾラルSメチル試験法
- ・ アジムスルフロン、ハロスルフロンメチル及びフラザスルフロン試験法
- ・ アシュラム試験法
- ・ アセキノシル試験法
- ・ アセタミプリド試験法

- ・ アセフェート、オメトエート及びメタミドホス試験法
- ・ アゾキシストロピン試験法
- ・ アニラジン試験法
- ・ アミトラス試験法
- ・ アラクロール、イソプロカルブ、クレソキシムメチル、ジエトフェンカルブ、テニルクロール、テブフェンピラド、パクロブトラゾール、ピテルタノール、ピリプロキシフェン、ピリミノバックメチル、フェナリモル、ブタクロール、フルトラニル、プレチラクロール、メトラクロール、メフェナセット、メプロニル及びレナシル試験法
- ・ アラニカルブ試験法
- ・ アルジカルブ、エチオフェンカルブ、オキサミル、カルバリル、ピリミカーブ、フェノブカルブ及びベンダイオカルブ試験法
- ・ アルベンダゾール、オキシベンダゾール、チアベンダゾール、フルベンダゾール及びメベンダゾール試験法
- ・ アンプロリウム及びデコキネート試験法
- ・ イオドスルフロメチル、エタメツルフロメチル、エトキシスルフロメチル、シノスルフロメチル、スルホスルフロメチル、トリアスルフロメチル、ニコスルフロメチル、ピラゾスルフロメチル、プリミスルフロメチル、プロスルフロメチル及びリムスルフロメチル試験法
- ・ イソウロン、ジウロン、テブチウロン、トリフルムロン、フルオメツロン及びリニューロン試験法
- ・ イソフェンホス試験法
- ・ イソメタミジウム試験法
- ・ イナベンフィド試験法
- ・ イプロジオン試験法
- ・ イベルメクチン、エプリノメクチン及びモキシデクチン試験法
- ・ イマザモックスアンモニウム塩試験法
- ・ イマザリル試験法
- ・ イマズスルフロメチル及びベンスルフロメチル試験法
- ・ イミノクタジン試験法
- ・ イミベンコナゾール試験法
- ・ インダノファン試験法
- ・ ウニコナゾールP試験法
- ・ エスプロカルブ、クロルプロファミン、チオベンカルブ、ピリブチカルブ及びペンディメタリン試験法
- ・ エチクロゼート試験法
- ・ エチプロール試験法
- ・ エテホン試験法
- ・ エトキサゾール試験法
- ・ エトキシキン試験法
- ・ エトフェンプロックス試験法
- ・ エトベンザニド試験法
- ・ エマメクチン安息香酸塩試験法
- ・ オキサジクロメホン及びフェノキサニル試験法
- ・ オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン及びテトラサイクリン試験法
- ・ オキスポコナゾールフマル酸塩試験法

- ・ オキシリニック酸試験法
- ・ オクスフェンダゾール、フェバンテル及びフェンペンダゾール試験法
- ・ オリサストロピン試験法
- ・ オルメトプリム、ジアベリジン、トリメトプリム及びピリメタミン試験法
- ・ カフェンストール、ジフェノコナゾール、シプロコナゾール、シメトリン、チフルザミド、テトラコナゾール、テブコナゾール、トリアジメノール、フルジオキシニル、プロピコナゾール、ヘキサコナゾール及びペンコナゾール試験法
- ・ カルタップ、ベンスルタップ及びチオシクラム試験法
- ・ カルプロパミド試験法
- ・ カルベンダジム、チオファネート、チオファネートメチル及びベノミル試験法
- ・ カルボスルファン、カルボフラン、フラチオカルブ及びベンフラカルブ試験法
- ・ カンタキサンチン試験法
- ・ キザロホップエチル試験法
- ・ キノメチオネート試験法
- ・ キャプタン、クロルベンジレート、クロロタロニル及びホルペット試験法
- ・ キンクロラック試験法
- ・ クミルロン試験法
- ・ グリホサート試験法
- ・ グルホシネート試験法
- ・ クレトジム試験法
- ・ クロサンテル試験法
- ・ クロジナホッププロパルギル試験法
- ・ クロチアニジン試験法
- ・ **クロピラリド試験法**
- ・ クロフェンテジン試験法
- ・ クロリムロンエチル及びトリベヌロンメチル試験法
- ・ クロルスルフロロン及びメトスルフロロンメチル試験法
- ・ クロルフェナピル及びピフェノックス試験法
- ・ クロルフルアズロン、ジフルベンズロン、テブフェノジド、テフルベンズロン、フルフェノクスロン、ヘキサフルムロン及びルフェヌロン試験法
- ・ クロルメコート試験法
- ・ ゲンタマイシン試験法
- ・ サラフロキサシン及びダノフロキサシン試験法
- ・ 酸化フェンブタズ試験法
- ・ シアゾファミド試験法
- ・ シアナジン試験法
- ・ ジアフェンチウロン試験法
- ・ シアン化水素試験法
- ・ ジクラズリル及びナイカルバジン試験法
- ・ シクロキシジム試験法
- ・ ジクロシメット試験法
- ・ シクロスルファミロン試験法
- ・ ジクロフルアニド試験法
- ・ ジクロベニル試験法

- ・ ジクロメジン試験法
- ・ ジクロルボス及びトリクロルホン試験法
- ・ ジクワット、パラコート及びメピコートクロリド試験法
- ・ ジチアノン試験法
- ・ ジチオピル及びチアゾピル試験法
- ・ ジノカップ試験法
- ・ ジノテフラン試験法
- ・ シハロホップブチル及びジメテナミド試験法
- ・ ジヒドロストレプトマイシン、ストレプトマイシン、スペクチノマイシン及びネオマイシン試験法
- ・ ジフェンゾコート試験法
- ・ ジフルフェニカン試験法
- ・ シプロジニル試験法
- ・ ジメチピン試験法
- ・ ジメトモルフ試験法
- ・ シモキサニル試験法
- ・ 臭素試験法
- ・ シラフルオフエン試験法
- ・ シロマジン試験法（農産物）
- ・ シロマジン試験法（畜産物）
- ・ シンメチリン試験法
- ・ スピノサド試験法
- ・ スピラマイシン試験法
- ・ スルファキノキサリン、スルファジアジン、スルファジミジン、スルファジメトキシ、スルファメトキサゾール、スルファメトキシピリダジン、スルファメラジン、スルファモノメトキシ及びスルフィソゾール試験法
- ・ スルファジミジン試験法
- ・ セトキシジム試験法
- ・ セフチオフル試験法
- ・ ゼラノール試験法
- ・ ダイムロン試験法
- ・ ダゾメット、メタム及びメチルイソチオシアネート試験法
- ・ ターバシル試験法
- ・ チアジニル試験法
- ・ チアベンダゾール及び5 - プロピルスルホニル - 1 H - ベンズイミダゾール - 2 - アミン試験法
- ・ チオジカルブ及びメソミル試験法
- ・ チルミコシン試験法
- ・ テクロフタラム試験法
- ・ デスメディファム試験法
- ・ テブラロキシジム試験法
- ・ テレフタル酸銅試験法
- ・ トリクラベンダゾール試験法
- ・ トリクラミド試験法

- ・ トリクロロ酢酸ナトリウム塩試験法
- ・ トリシクラゾール試験法
- ・ トリネキサパックエチル試験法
- ・ トリフルミゾール試験法
- ・ トリブロムサラン及びピチオノール試験法
- ・ トルフェンピラド試験法
- ・ 鉛試験法
- ・ ニコチン試験法
- ・ ニテンピラム試験法
- ・ ノバルロン試験法
- ・ バミドチオン試験法
- ・ ビオレスメトリン試験法
- ・ ピクロラム試験法
- ・ ビスピリバックナトリウム塩試験法
- ・ ヒ素試験法
- ・ ビフェナゼート試験法
- ・ ヒメキサゾール試験法
- ・ ピメトロジン試験法
- ・ プラクロストロピン試験法
- ・ プラゾキシフェン試験法
- ・ プラフルフェンエチル試験法
- ・ プリダベン試験法
- ・ プリダリル試験法
- ・ プリチオバックナトリウム塩試験法
- ・ プリデート試験法
- ・ プリフェノックス試験法
- ・ プリミジフェン試験法
- ・ プリメタニル試験法
- ・ ピルリマイシン試験法
- ・ ファモキサドン試験法
- ・ フィプロニル試験法
- ・ フェノキサプロップエチル試験法
- ・ フェンアミドン試験法
- ・ フェントラザミド試験法
- ・ フェンピロキシメート試験法
- ・ フェンヘキサミド試験法
- ・ フェンチン試験法
- ・ ブチレート試験法
- ・ フラメトピル試験法
- ・ フルアジナム試験法
- ・ フルアジホップ試験法
- ・ フルオルイミド試験法
- ・ フルカルバゾンナトリウム塩試験法
- ・ フルシラゾール試験法

- ・ フルスルファミド試験法
- ・ フルベンダゾール試験法
- ・ フルミオキサジン試験法
- ・ プロクロラズ試験法
- ・ プロシミドン試験法
- ・ プロパモカルブ試験法
- ・ プロヒドロジャスモン試験法
- ・ プロヘキサジオンカルシウム塩試験法
- ・ ヘキシチアゾクス試験法
- ・ ペンシクロン試験法
- ・ ベンジルペニシリン試験法
- ・ ベンゾピシクロン試験法
- ・ ペンタゾン試験法
- ・ ペントキサゾン試験法
- ・ ベンフレセート試験法
- ・ ボスカリド試験法（農産物）
- ・ ボスカリド試験法（畜産物）
- ・ ホセチル試験法
- ・ マレイン酸ヒドラジド試験法
- ・ ミクロブタニル試験法
- ・ メタベンズチアズロン試験法
- ・ メタミトロン試験法
- ・ メチオカルブ試験法
- ・ メトプレン試験法
- ・ メトリブジン試験法
- ・ メパニピリム試験法
- ・ モリネート試験法
- ・ ラクトパミン試験法
- ・ リン化水素試験法
- ・ レバミゾール試験法

（参考）食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号）に規定する試験法

- ・ 2, 4, 5 - T試験法
- ・ アゾシクロチン及びシヘキサチン試験法
- ・ アミトロール試験法
- ・ アルドリン、エンドリン及びディルドリン試験法
- ・ カプタホール試験法
- ・ カルバドックス試験法
- ・ クマホス試験法
- ・ クレンブテロール試験法
- ・ クロラムフェニコール試験法
- ・ クロルプロマジン試験法

- ・ ジエチルスチルベストール試験法
- ・ ジメトリダゾール、メトロニダゾール及びロニダゾール試験法
- ・ ダミノジッド試験法
- ・ デキサメタゾン試験法
- ・ トリアゾホス及びパラチオン試験法
- ・ - トレンボロン及び - トレンボロン試験法
- ・ 二臭化エチレン試験法
- ・ ニトロフラン類試験法
- ・ プロファム試験法

第 1 章 総則

1. 用語

- (1)「分析対象化合物」とは、第2章に規定する試験法によって分析する化合物であって、食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生省告示第370号。以下「告示」という。)の第1食品の部 A 食品一般の成分規格の6の(1)の表の第1欄若しくは7の(1)の表の第1欄若しくは9の(1)の表の第1欄に掲げる農薬、飼料添加物又は動物用医薬品(以下「農薬等」という。)の成分である物質(その物質が化学的に変化して生成した物質を含む。)及びその類似物質(例えば、塩や光学異性体など)をいう。
- (2)「分析値」とは、告示に定める食品に残留する農薬等の成分である物質の量の限度(以下「基準値」という。)と比較する値をいう。
- (3)「種実類」とは、オイルシード、ナッツ類、カカオ豆及びコーヒー豆をいう。
- (4)「定量限界」とは、試料に含まれる分析対象化合物の定量が可能な最低の量又は濃度をいい、クロマトグラフィーの場合には、概ね S (ピーク高さ)/ N (ベースラインノイズ)=10となる分析対象化合物の量を農薬等の成分である物質の濃度として示してある。
- (5)「類型」とは、当該試験法の由来をいい、以下のとおり分類している。
- A: 公定法(乳及び乳製品の成分規格等に関する省令(昭和26年厚生省令第52号)告示及び通知に定めてきたもののうち、Cを除く。)
 - B: 諸外国の政府機関等が定めている試験法(Aを除く。)
 - C: 有識者からなる検討会によって作成された試験法
 - D: 文献から引用した試験法(A~Cを除く。)

2. 装置

第2章及び第3章に規定する試験法によって試験を実施する場合の装置について、「ガスクロマトグラフ・質量分析計を用いる」と規定している場合は、GC/MS及びGC/MS/MSいずれの使用も可能である。また、「液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる」と規定している場合は、LC/MS及びLC/MS/MSいずれの使用も可能である。

3. 試薬・試液

第2章及び第3章に規定する試験法によって試験を実施する場合の試薬・試液は、同章において個別に示すもののほか、告示の第2添加物の部 C 試薬・試液等の1.に掲げるもの又は別紙に掲げるものとする。

なお、「(特級)」と記載したものは、日本工業規格試薬の特級の規格に適合するものであることを示す。

4. 試料採取

第2章及び第3章に規定する試験法によって試験を実施する場合の試料採取は、別に規定する場合を除き、以下の方法に従って行う。

- (1) 穀類、豆類及び種実類の場合は、検体を420 μ mの標準網ふるいを通して粉砕する。
- (2) 果実、野菜及びハーブの場合は、検体約1kgを精密に量り、必要に応じて適量の水を量って加え、細切均一化する。
- (3) 茶及びホップの場合は、検体を420 μ mの標準網ふるいを通して粉砕し、抹茶以外の茶の場合は、均一化する。
- (4) スパイスの場合は、その形状に応じて、種実類又は果実の場合に準ずる。
- (5) 筋肉の場合は、可能な限り脂肪層を除き、細切均一化する。
- (6) 脂肪の場合は、可能な限り筋肉層を除き、細切均一化する。
- (7) 肝臓、腎臓及びその他の食用部分の場合は、細切均一化する。
- (8) 乳及びはちみつの場合は、よく混合して均一化する。
- (9) 魚類の場合は、可食部を細切均一化する。
- (10) 貝類の場合は、殻を除去し、細切均一化する。
- (11) 甲殻類の場合は、小型のものは全部位を、大型のものは外側の殻を除去し、細切均一化する。
- (12) 卵の場合は、殻を除去し、卵白と卵黄を合わせてよく混合し均一化する(卵白中又は卵黄中に残留基準が設けられている場合を除く)。

5. 分析上の留意事項

- (1) 第2章及び第3章に規定する試験法以外の方法によって試験を実施しようとする場合には、同章に規定する試験法と比較して、真度、精度及び定量限界において、同等又はそれ以上の性能を有するとともに、特異性を有すると認められる方法によって実施するものとする。
- (2) 分析値を求める際には、基準値より1けた多く求め、その多く求めた1けたについて四捨五入するものとする。
- (3) 個別試験法に示す定量限界は通知された方法により試験を実施した場合の一般的な定量限界値を示すものである。試験の対象となる食品の残留基準(食品衛生法第11条第3項に定める人の健康を損なうおそれのない量として厚生労働大臣が薬事・食品衛生審議会の意見を聴いて定める量を含む)に相当する濃度を測定することが困難な場合には、機器の測定条件(例えば、カラムの種類、カラム温度、移動相の流速及び組成、キャリアーガスの流速、質量分析の場合には測定モード、測定イオン、電圧)を変更する、機器への試験溶液注入量を増やす、試験溶液を濃縮する、精製を追加してノイズを減らす、試料量を増やすことなどにより対応する必要がある。また、一斉試験法など、他の試験法が通知されている場合には、その採用についても検討することとする。

(別紙)

アクリルアミド共重合体結合グリセリルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(360mg) 内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に、アクリルアミド共重合体結合グリセリルプロピルシリル化シリカゲル 360 mg を充てんしたものの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

アセトニトリル アセトニトリル 300 mL をすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトニトリルを除去する。この残留物を *n*-ヘキサン 5 mL に溶かし、その 5 μ L を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上の *n*-ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} g の γ -BHC が示すピークの高さ以下でなければならない。

アセトン アセトン 300 mL をすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、アセトンを除去する。この残留物を *n*-ヘキサン 5 mL に溶かし、その 5 μ L を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上の *n*-ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} g の γ -BHC が示すピークの高さ以下でなければならない。

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(360mg) 内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に、アミノプロピルシリル化シリカゲル 360 mg を充てんしたものの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(500mg) 内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に、アミノプロピルシリル化シリカゲル 500 mg を充てんしたものの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(1,000mg) 内径 12 ~ 13 mm のポリエチレン製のカラム管に、アミノプロピルシリル化シリカゲル 1,000 mg を充てんしたものの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

亜硫酸ナトリウム 亜硫酸ナトリウム(特級)

亜硫酸カリウム 亜硫酸カリウム(特級)

アルゴン 純度 99.998v/v%以上のものを用いる。

イソプロピルエーテル イソプロピルエーテル(特級)

エタノール エタノール 300 mL をすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、エタノールを除去する。この残留物を *n*-ヘキサン 5 mL に溶かし、その 5 μ L を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上の *n*-ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} g の γ -BHC が示すピークの高さ以下でなければならない。

エチルシリル化シリカゲルミニカラム(1,000mg) 内径 12 ~ 13 mm のポリエチレン製のカラム管に、エチルシリル化シリカゲル 1,000 mg を充てんしたものの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

3 mol/L エチルマグネシウムブロミド・エーテル溶液 3 mol/L エチルマグネシウムブロミド・エーテル溶液

エチレンジアミン - *N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム(500mg) 内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に、エチレンジアミン - *N*-プロピルシリル化シリカゲル 500 mg を充てんしたものの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

エーテル エチルエーテル 300 mL をすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、エチルエーテルを除去する。この残留物を *n*-ヘキサン 5 mL に溶かし、その 5 μ L を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上の *n*-ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} g の γ -BHC が示すピークの高さ以下でなければならない。

塩化第一鉄 塩化第一鉄(特級)

塩化ナトリウム 塩化ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質

を含む場合には、*n*-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

塩基性アルミナミニカラム(1,710mg) 内径8~9mmのポリエチレン製のカラム管に、塩基性アルミナ1,710mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

塩酸グアニジン 塩酸グアニジン(特級)

塩酸ピリジン 塩酸ピリジン(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には、*n*-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものを用いる。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(360mg) 内径8~9mmのポリエチレン製のカラム管に、オクタデシルシリル化シリカゲル360mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(500mg) 内径8~9mmのポリエチレン製のカラム管に、オクタデシルシリル化シリカゲル500mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(850mg) 内径8~9mmのポリエチレン製のカラム管に、オクタデシルシリル化シリカゲル850mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(1,000mg) 内径12~13mmのポリエチレン製のカラム管に、オクタデシルシリル化シリカゲル1,000mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(遮光、1,000mg) 光の透過を防ぐ包装を施した内径12~13mmのポリエチレン製のシリンジ型カラム管に、オクタデシルシリル化シリカゲル1,000mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(5,000mg) 内径19mmのポリエチレン製のシリンジ型カラム管に、オクタデシルシリル化シリカゲル5,000mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

オルトギ酸トリメチル オルトギ酸トリメチル(1級)

オルト酢酸トリメチル 純度98%以上の試薬を用いる。

過塩素酸ナトリウム 過塩素酸ナトリウム(特級)

過酸化ナトリウム 過酸化ナトリウム(特級)

活性炭 活性炭(クロマトグラフ用)

ガラス繊維ろ紙 化学分析用ガラス繊維ろ紙

カラムクロマトグラフィー用アルミナ(塩基性) カラムクロマトグラフィー用に製造したアルミナ(塩基性、粒径50~200 μ m)を用いる。

カラムクロマトグラフィー用アルミナ(中性) カラムクロマトグラフィー用に製造した活性アルミナ(中性、粒径63~200 μ m)を用いる。

カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム カラムクロマトグラフィー用に製造した合成ケイ酸マグネシウム(粒径150~250 μ m)を130 $^{\circ}$ Cで12時間以上加熱した後、デシケーター中で放冷する。

カラムクロマトグラフィー用シリカゲル(粒径63~200 μ m) カラムクロマトグラフィー用に製造したシリカゲル(粒径63~200 μ m)を130 $^{\circ}$ Cで12時間以上加熱した後、デシケーター中で放冷する。

カラムクロマトグラフィー用シリカゲル(粒径150~425 μ m) カラムクロマトグラフィー用に製造したシリカゲル(粒径150~425 μ m)を130 $^{\circ}$ Cで12時間以上加熱した後、デシケーター中で放冷する。

カラム担体 ガスクロマトグラフィー用に製造したケイソウ土(粒径150~177 μ m)を酸処理及びシラン処理したものを用いる。

カルボキシジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム(150mg)
内径8~9mmのポリエチレン製のカラムにカルボキシジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体150mgを充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用

いる。

カルボキシメチルシリル化シリカゲルミニカラム(1,000mg) 内径 10 ~ 12 mm のポリエチレン製のカラム管に、カルボキシメチルシリル化シリカゲル 1,000 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

クエン酸アンモニウム クエン酸アンモニウム (第二) (特級)

クエン酸三カリウム クエン酸三カリウム (特級)

グラファイトカーボンミニカラム(500mg) 内径 12 ~ 13 mm のポリエチレン製のカラム管に、グラファイトカーボン 500 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム(500mg/500mg) 内径 12 ~ 13 mm のポリエチレン製のカラム管に、グラファイトカーボン及びアミノプロピルシリル化シリカゲル各 500 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

グリセリルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(360mg) 内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に、グリセリルプロピルシリル化シリカゲル 360 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

- グルコシダーゼ 1 mg 当たり 37 , pH5.0 で 1 分間にサリシンからグルコースを 4 ~ 12 μ mol 遊離させる力価のものを用いる。

m-クロロ過安息香酸 純度 70%以上の試薬を用いる。

クロロホルム クロロホルム 300 mL をすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、クロロホルムを除去する。この残留物を *n*-ヘキサン 5 mL に溶かし、その 5 μ L を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上の *n*-ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} g の γ -BHC が示すピークの高さ以下でなければならない。

ケイソウ土 化学分析用ケイソウ土を用いる。

高純度窒素 純度 99.999v/v%以上のものを用いる。

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム(900mg) 内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に、合成ケイ酸マグネシウム 900 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

合成ゼオライト 細孔径 0.3 nm の合成ゼオライトを用いる。

酢酸アンモニウム 純度 97%以上の試薬を用いる。

酢酸エチル 酢酸エチル 300 mL をすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、酢酸エチルを除去する。この残留物を *n*-ヘキサン 5 mL に溶かし、その 5 μ L を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上の *n*-ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} g の γ -BHC が示すピークの高さ以下でなければならない。

三フッ化ホウ素エーテル錯体 純度 99%以上の試薬を用いる。

ジエチレングリコール 純度 98%以上の試薬を用いる。

ジエチレングリコールモノエチルエーテル 純度 99%以上の試薬を用いる。

シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム(遮光、1,000mg) 光の透過を防ぐ包装を施した内径 12 ~ 13 mm のポリエチレン製のカラム管に、シクロヘキシルシリル化シリカゲル 1,000 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム(2,000mg) 内径 15 ~ 16 mm のポリエチレン製のカラム管に、シクロヘキシルシリル化シリカゲル 2,000 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム(遮光、2,000mg) 光の透過を防ぐ包装を施した内径 15 ~ 16 mm のポリエチレン製のカラム管に、シクロヘキシルシリル化シリカゲル 2,000 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

ジクロロメタン ジクロロメタン 300 mL をすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し、ジクロ

ロメタンを除去する。この残留物を *n*-ヘキサン 5 mL に溶かし、その 5 μ L を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき、ガスクロマトグラム上の *n*-ヘキサン以外のピークの高さは、 2×10^{-11} g の γ -BHC が示すピークの高さ以下でなければならない。

ジクロロメタン(特級) ジクロロメタン(特級)

ジクロロジメチルシラン 純度 98%以上の試薬を用いる。

ジブチルヒドロキシトルエン ジブチルヒドロキシトルエン(特級)

p-ジメチルアミノベンズアルデヒド *p*-ジメチルアミノベンズアルデヒド(特級)

消泡用シリコン シリコンを消泡用に製造したものをを用いる。

シリカゲルミニカラム(500mg) 内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に、カラムクロマトグラフィー用に製造したシリカゲル 500 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものをを用いる。

シリカゲルミニカラム(690mg) 内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に、カラムクロマトグラフィー用に製造したシリカゲル 690 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものをを用いる。

シリカゲルミニカラム(遮光、690mg) 光の透過を防ぐ包装を施した内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に、カラムクロマトグラフィー用に製造したシリカゲル 690 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものをを用いる。

シリカゲルミニカラム(1,000mg) 内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に、カラムクロマトグラフィー用に製造したシリカゲル 1,000 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものをを用いる。

水酸化ホウ素ナトリウム 純度 98%以上の試薬を用いる。

スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム 内径 20 mm、長さ 300 mm のステンレス製のカラム管に、ゲル浸透クロマトグラフィー用に製造したスチレンジビニルベンゼン共重合体を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものをを用いる。

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム(265mg) 内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に、スチレンジビニルベンゼン共重合体 265 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものをを用いる。

スルファミン酸 スルファミン酸(特級)

セルラーゼ 1 mg 当たり 37 μ mol/L, pH 5.0 で 1 分間にセルロースからグルコースを 29 μ mol/L 遊離させる力価のものをを用いる。

多孔性ケイソウ土カラム(20mL 保持用) 内径 20 ~ 30 mm のポリエチレン製のカラム管に、20 mL を保持することができる量のカラムクロマトグラフィー用に製造した顆粒状多孔性ケイソウ土を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものをを用いる。

中性アルミナミニカラム(1,710mg) 内径 9 ~ 10 mm のポリエチレン製のカラム管に、中性アルミナ 1,710 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものをを用いる。

テトラヒドロフラン テトラヒドロフラン(特級)

ドデシル硫酸ナトリウム 純度 85%以上の試薬を用いる。

トリエチルアミン トリエチルアミン(特級)

トリナトリウムペンタンシアノアミンフェロエート トリナトリウムペンタンシアノアミンフェロエート(特級)

2,2,2-トリフルオロエタノール 2,2,2-トリフルオロエタノール(特級)

トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(500mg) 内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に、トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲル 500 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものをを用いる。

トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(1,000mg) 内径 6 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に、トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲル 1,000 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものをを用いる。

トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲル及びベンゼンスルホン酸シリル化シリカゲル

ル混合ミニカラム(200mg) 内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に, トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲル及びベンゼンスルホン酸シリル化シリカゲルの混合物 200 mg を充てんしたものの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

ナトリウムベンゼンチオラート 純度 98%以上の試薬を用いる。

o-ニトロベンズアルデヒド *o*-ニトロベンズアルデヒド(特級)

乳酸 乳酸(特級)

フェノールフタレイン試液 フェノールフタレイン 1 g をエタノール 100 mL に溶かす。

o-フタルアルデヒド 純度 99%以上の試薬を用いる。

フッ化カリウム フッ化カリウム(特級)

プロピルスルホニルシリル化シリカゲルミニカラム(1,000mg) 内径 12 ~ 13 mm のポリエチレン製のカラム管に, プロピルスルホニルシリル化シリカゲル 1,000 mg を充てんしたものの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

フルオレスカミン 純度 98%以上の試薬を用いる。

9-フルオレニルメチルクロロホルマート 9-フルオレニルメチルクロロホルマート(特級)

n-ヘキサン *n*-ヘキサン 300 mL をすり合わせ減圧濃縮器を用いて 5 mL に濃縮し, この 5 μ L を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき, ガスクロマトグラム上の *n*-ヘキサン以外のピークの高さは, 2×10^{-11} g の γ -BHC が示すピークの高さ以下でなければならない。

ヘプタフルオロ酪酸 ヘプタフルオロ-*n*-酪酸

ヘプタンスルホン酸ナトリウム 1-ヘプタンスルホン酸ナトリウム(特級)

ベルオキシニ硫酸カリウム ベルオキシニ硫酸カリウム(1級)

ベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(500mg) 内径 8 ~ 9 mm のポリエチレン製のカラム管に, ベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲル 500 mg を充てんしたものの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

3-ペンタノン 3-ペンタノン(特級)

n-ペンタン 純度 99%以上の試薬を用いる。

水 蒸留水を用いる。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には, *n*-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものをを用いる。

無水クロロ酢酸 純度 99%以上の試薬を用いる。

無水フルオロ酢酸 純度 99%以上の試薬を用いる。

無水硫酸ナトリウム 無水硫酸ナトリウム(特級)。当該農薬等の成分である物質の分析の妨害物質を含む場合には, *n*-ヘキサン等の溶媒で洗浄したものをを用いる。

メタノール メタノール 300 mL をすり合わせ減圧濃縮器を用いて濃縮し, メタノールを除去する。この残留物を *n*-ヘキサン 5 mL に溶かし, その 5 μ L を電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフに注入して試験するとき, ガスクロマトグラム上の *n*-ヘキサン以外のピークの高さは, 2×10^{-11} g の γ -BHC が示すピークの高さ以下でなければならない。

メチルイソブチルケトン メチルイソブチルケトン(特級)

1-メチルイミダゾール 純度 99%以上の試薬を用いる。

メチルオレンジ試液 メチルオレンジ 0.1 g を水 100 mL に溶かす。

N-メチル-*N*-ニトロソ-*p*-トルエンスルホンアミド 純度 98%以上の試薬を用いる。

N-メチルピストリフルオロアセトアミド 純度 95%以上の試薬を用いる。

2-メルカプトエタノール 純度 99%以上の試薬を用いる。

3-メルカプトプロピオン酸 純度 98%以上の試薬を用いる。

モノエタノールアミン モノエタノールアミン(特級)

モレキュラーシーブス 天然のアルカリ金属ケイ酸ナトリウム又はアルカリ度類金属ケイ酸ナトリウム

ヨウ化カリウム・デンプン紙 ヨウ化カリウム・デンプン紙

ヨードトリメチルシラン 純度 95%以上の試薬を用いる。

四ホウ酸ナトリウム 四ホウ酸ナトリウム (特級)

ラウリル硫酸ナトリウム ラウリル硫酸ナトリウム (特級)

リン酸水素一カリウム リン酸水素一カリウム (特級)

リン酸水素二カリウム リン酸水素二カリウム (特級)

リン酸テトラ - *n* - ブチルアンモニウム リン酸テトラ - *n* - ブチルアンモニウム (特級)

第 2 章 一斉試験法

(変更：GC/MS による農薬等の一斉試験法 (農産物)、
LC/MS による農薬等の一斉試験法 (農産物)、LC/MS
による農薬等の一斉試験法 (農産物)、GC/MS による
農薬等の一斉試験法 (畜水産物))

GC/MS による農薬等の一斉試験法（農産物）

1．分析対象化合物

別表参照

2．装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

0.5 mol/Lリン酸緩衝液（pH7.0） リン酸水素二カリウム（ K_2HPO_4 ）52.7 g及びリン酸二水素カリウム（ KH_2PO_4 ）30.2 gを量り採り、水約500 mLに溶解し、1 mol/L水酸化ナトリウム又は1 mol/L塩酸を用いてpHを7.0に調整した後、水を加えて1 Lとする。

各農薬等標準品 各農薬等の純度が明らかなもの。

4．試験溶液調製法

1) 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合

試料 10.0 g に水 20 mL を加え、15 分間放置する。

これにアセトニトリル 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトニトリル 20 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とする。

抽出液 20 mL を採り、塩化ナトリウム 10 g 及び 0.5 mol/L リン酸緩衝液（pH7.0）20 mL を加え、10 分間振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）にアセトニトリル 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記のアセトニトリル層を注入し、さらに、アセトニトリル 2 mL を注入して、全溶出液を採り、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液 2 mL を加えて溶かす。

果実、野菜、ハーブ、茶及びホップの場合

果実、野菜及びハーブの場合は、試料 20.0 g を量り採る。茶及びホップの場合は、試料 5.00 g に水 20 mL を加え、15 分間放置する。

これにアセトニトリル 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトニトリル 20 mL 加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とする。

抽出液 20 mL を採り、塩化ナトリウム 10 g 及び 0.5 mol/L リン酸緩衝液（pH7.0）20 mL を加え、振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。アセトニトリル層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液 2 mL を加えて溶かす。

2) 精製

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (500 mg/500 mg) に、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 20 mL を注入し、全溶出液を 40 °C 以下で 1 mL 以下に濃縮する。これにアセトン 10 mL を加えて 40 °C 以下で 1 mL 以下に濃縮し、再度アセトン 5 mL を加えて濃縮し、溶媒を除去する。残留物をアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液に溶かして、正確に 1 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

各農薬等の標準品について、それぞれのアセトン溶液を調製し、それらを混合した後、適切な濃度範囲の各農薬等を含むアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液溶液を数点調製する。それぞれ 2 µL を GC/MS に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 2 µL を GC/MS に注入し、5 の検量線で各農薬等の含量を求める。

7. 確認試験

GC/MS により確認する。

8. 測定条件

GC/MS

カラム : 5 % フェニル-メチルシリコン 内径 0.25 mm、長さ 30m、膜厚 0.25 µm

カラム温度 : 50 (1分) - 25 /分 - 125 (0分) - 10 /分 - 300 (10分)

注入口温度 : 250

キャリアーガス : ヘリウム

イオン化モード (電圧) : EI (70 eV)

主なイオン (*m/z*) : 別表参照

保持時間の目安 : 別表参照

9. 定量限界

別表参照

ただし、別表は測定限界 (ng) の例を示したものである。

10. 留意事項

1) 試験法の概要

各農薬等を試料からアセトニトリルで抽出し、塩析で水を除いた後、果実、野菜等についてはそのまま、穀類、豆類及び種実類についてはオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製後、いずれもグラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製し、GC/MS で測定及び確認する方法である。

2) 注意点

別表は本法を適用できる化合物を五十音順に示したものであるが、規制対象となる品目には本法を適用できない代謝物等の化合物が含まれる場合があるので留意すること。また、保持時間の異なる異性体は、化合物名欄に個別に示した。また、分析中に生成する分解物を測定している場合は、「分解物」と表記した。

本試験法は別表に示した全ての化合物の同時分析を保証したものではない。化合物同士の相互作用による分解等及び測定への干渉等のおそれがあるため、分析対象とする化合物の組み合わせにおいてあらかじめこれらの点を検証する必要がある。

装置にはガスクロマトグラフ・タンデム型質量分析計(GC/MS/MS)の使用も可能である。

リン酸緩衝液の調製には、ナトリウム塩を使用してもよい。

アセトニトリル抽出液に添加する塩化ナトリウム(10g)が多すぎる場合は、減らしてもよいが、十分に飽和する量を加える。

濃縮し、溶媒を完全に除去する操作は、窒素気流を用いて穏やかに行う。

正確な測定値を得るためには、マトリックス添加標準溶液又は標準添加法を用いることが必要な場合がある。

定量限界は、使用する装置、試験溶液の濃縮倍率及び試験溶液注入量により異なるので、必要に応じて最適条件を検討する。

抹茶以外の茶について、次の表の第1欄に掲げる農薬を試験する場合は、同表第2欄に掲げる個別試験法により分析すること。

第1欄	第2欄
B H C	B H C 等試験法
D D T	B H C 等試験法
X M C	アルジカルブ等試験法
アクリナトリン	アクリナトリン等試験法
アセタミプリド	アセタミプリド試験法
アルドリリン及びディルドリン	B H C 等試験法
イソキサチオン	E P N 等試験法 ^(注)
イミベンコナゾール	イミベンコナゾール試験法
エチオン	E P N 等試験法
エトフェンプロックス	エトフェンプロックス試験法
エンドリン	B H C 等試験法
クロルピリホス	E P N 等試験法
クロルフェナピル	クロルフェナピル等試験法
ジコホール	B H C 等試験法
シハロトリン	アクリナトリン等試験法
ジフェノコナゾール	カフェンストロール等試験法
シフルトリン	アクリナトリン等試験法
シペルメトリン	アクリナトリン等試験法
ジメトエート	E P N 等試験法
ダイアジノン	E P N 等試験法

第1欄	第2欄
テトラコナゾール	カフェンストロール等試験法
テトラジホン	BHC等試験法
テブフェンピラド	アラクロール等試験法
デルタメトリン及びトラロメトリン	アクリナトリン等試験法
トリフルラリン	BHC等試験法
パラチオン	EPN等試験法
パラチオンメチル	EPN等試験法
ハルフェンプロックス	BHC等試験法
ビフェントリン	アクリナトリン等試験法
ピラクロホス	EPN等試験法
ピリダベン	ピリダベン試験法
ピリフェノックス	ピリフェノックス試験法
ピリミホスメチル	EPN等試験法
ピレトリン	アクリナトリン等試験法
フェニトロチオン	EPN等試験法
フェントエート	EPN等試験法
フェンバレレート	アクリナトリン等試験法
フェンプロパトリン	BHC等試験法
フルシトリネート	アクリナトリン等試験法
フルバリネート	アクリナトリン等試験法
プロチオホス	EPN等試験法
プロピコナゾール	カフェンストロール等試験法
プロフェノホス	EPN等試験法
ペルメトリン	アクリナトリン等試験法
ホサロン	EPN等試験法
ミクロブタニル	ミクロブタニル試験法
メチダチオン	EPN等試験法

(注) イソキサチオンについてはEPN等試験法の分析対象化合物に含まれないが、抹茶以外の茶については、当該試験法のa法により分析すること。

11. 参考文献

- 1) Fillion, J.ら, J.AOAC Int, 83, 698~713 (2000)

12. 類型

C

(別表)GC/MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)

品目名	分析対象化合物名	保持指標	測定イオン(m/z)				測定限界 (ng)
BHC	-BHC	1714	219	183	181		0.010
	-BHC	1761	219	183	181		0.011
	-BHC(リンデン)	1779	219	183	181		0.011
	-BHC	1833	219	183	181		0.015
DDT	op'-DDT	2295	237	235	212	165	0.010
	pp'-DDD	2289	237	235	178	165	0.007
	pp'-DDE	2196	318	246			0.004
	pp'-DDT	2373	237	235	212	165	0.011
EPN	EPN	2484	185	169	157		0.032
TCMTB	TCMTB	2162	180				0.004
XMC	XMC	1563	122				0.001
アクリナトリン	アクリナトリン	2613	289	208	181		0.006
アザコナゾール	アザコナゾール	2216	217	173			0.003
アジンホスメチル	アジンホスメチル	2572	160	132			0.132
アセタミプリド	アセタミプリド	2452	166	152			0.021
アセトクロール	アセトクロール	1882	233	223	146		0.007
アトラジン	アトラジン	1755	215	200			0.002
アニロホス	アニロホス	2512	226	125			0.023
アメトリン	アメトリン	1916	227	212			0.002
アラクロール	アラクロール	1898	188	160			0.002
アラマイト	アラマイト(異性体1)	2192	319	185			0.058
	アラマイト(異性体2)	2197	319	185			0.063
	アラマイト(異性体3)	2208	319	185			0.012
	アラマイト(異性体4)	2230	319	185			0.008
アルドリン及びディルドリン	アルドリン	1998	293	265	263	261	0.013
イサゾホス	イサゾホス	1815	285	257	172	161	0.005
イソキサジフェンエチル	イソキサジフェンエチル	2328	294	222	204		0.024
イソキサチオン	イソキサチオン	2234	313	285	177	105	0.001
イソフェンホス	イソフェンホス	2064	255	213	121		0.001
	イソフェンホスオキソン	1998	229	201			0.002
イソプロカルブ	イソプロカルブ	1538	263	136	125	121	0.001
イソプロチオラン	イソプロチオラン	2177	204	290	231	118	0.008
イプロベンホス	イプロベンホス	1845	246	204	91		0.008
イマザメタベンズメチルエステル	イマザメタベンズメチルエステル(異性体1)	2160	256	214	187		0.012
	イマザメタベンズメチルエステル(異性体2)	2164	256	214	187		0.012
イミベンコナゾール	イミベンコナゾール	3187	253	250	125		0.005
	イミベンコナゾール脱ベンジル体	2210	270	235			0.023
ウニコナゾールP	ウニコナゾールP	2193	234	165	131		0.004
エスプロカルブ	エスプロカルブ	1965	222	162			0.001
エタルフルラリン	エタルフルラリン	1648	316	276			0.003
エチオン	エチオン	2281	231	153			0.004
エディフェンホス	エディフェンホス	2356	310	173			0.019
エトキサゾール	エトキサゾール	2489	330	300	204	141	0.0004
エトフェンブロックス	エトフェンブロックス	2870	376	183	163		0.0004
エトフメセート	エトフメセート	1953	286	207	161		0.020
エトプロホス	エトプロホス	1641	200	158	139		0.011
エトリムホス	エトリムホス	1824	292	277	181		0.008
エボキシコナゾール	エボキシコナゾール(異性体1)	2341	192	165			0.107
	エボキシコナゾール(異性体2)	2428	194	192	165	138	0.007
エンドスルファン	-エンドスルファン	2152	241	195			0.018
	-エンドスルファン	2281	241	237	195		0.034
	エンドスルファンスルファート	2362	422	387	272		0.004
エンドリン	エンドリン	2262	345	317	281	263	0.042
オキサジアゾン	オキサジアゾン	2189	302	258	175		0.002
オキサジキシル	オキサジキシル	2280	163	132			0.026
オキシフルオルフェン	オキシフルオルフェン	2198	331	300	302	252	0.043
オメトエート	オメトエート	1596	156	141	110		0.086
オリザリン	オリザリン	2667	317	275			0.055
カズサホス	カズサホス	1692	270	213	159	158	0.015
カフェンストロール	カフェンストロール	2767	188	119	100		0.001
カルフェントラゾンエチル	カルフェントラゾンエチル	2327	340	330	312		0.002
カルボキシ	カルボキシ	2211	235	225	143		0.001
カルボフラン	カルボフラン	1743	164	149			0.016
	カルボフラン(分解物)	1304	164	149			0.005

品目名	分析対象化合物名	保持指標	測定イオン(m/z)				測定限界 (ng)
キナルホス	キナルホス	2086	157	156	146	118	0.019
キノキシフェン	キノキシフェン	2347	237				0.001
キノクラミン	キノクラミン	1968	207	172			0.024
キントゼン	キントゼン	1759	295	237			0.005
クレソキシムメチル	クレソキシムメチル	2201	206	116			0.002
クロゾリネート	クロゾリネート	2059	331	259			0.003
クロマゾン	クロマゾン	1761	204	125			0.001
クローレトキシホス	クローレトキシホス	1624	263	153			0.002
クロータルジメチル	クロータルジメチル	1988	332	301			0.0002
クローデン	cis-クローデン	2148	373	272	375		0.0003
	trans-クローデン	2121	373	272	375		0.0003
クロービリホス	クロービリホス	1982	314	286	197		0.022
クロービリホスメチル	クロービリホスメチル	1885	286	125			0.001
クローフェナビル	クローフェナビル	2222	408	247			0.016
クローフェンゾン	クローフェンゾン	2169	302	175	111		0.001
クローフェンピンホス	クローフェンピンホス(E)	2048	323	269	267		0.014
	クローフェンピンホス(Z)	2071	323	269	267		0.009
クローブファム	クローブファム	1754	223	164	127		0.011
クロープロファム	クロープロファム	1660	213	154	127		0.003
クローベンシド	クローベンシド	2119	268	127	125		0.002
クローベンジレート	クローベンジレート	2261	251	139			0.001
クローネブ	クローネブ	1513	208	206	193		0.003
シアナジン	シアナジン	1987	225	212			0.016
シアノホス	シアノホス	1781	243	109			0.001
ジエトフェンカルブ	ジエトフェンカルブ	1979	267	225			0.006
ジオキサチオン	ジオキサチオン	1770	270	125			0.003
ジクロシメット	ジクロシメット(異性体1)	2081	277	221			0.015
	ジクロシメット(異性体2)	2114	277	221			0.013
ジクロトホス	ジクロトホス	1664	237	193	127		0.005
ジクロフェンチオン	ジクロフェンチオン	1873	279	223			0.001
ジクロホップメチル	ジクロホップメチル	2395	340	253			0.003
ジクロラン	ジクロラン	1734	206	176			0.023
1,1-ジクロ-2,2-ビス(4-エチルフェニル)エタン	1,1-ジクロ-2,2-ビス(4-エチルフェニル)エタン	2245	224	223	167		0.001
ジコホール	ジコホール	2539	251	139			-
	ジコホール分解物(4,4'-ジクロロペンゾフェノン)	2018	250	139			0.008
ジスルホトン	ジスルホトン	1813	274	88			0.001
	ジスルホトンスルホン体	2132	213	153			0.004
シニドンエチル	シニドンエチル	3204	358	330			0.003
シハロトリン	シハロトリン(異性体1)	2574	449	197	181		0.038
	シハロトリン(異性体2)	2597	449	197	181		0.012
シハロホップブチル	シハロホップブチル	2581	357	256			0.010
ジフェナミド	ジフェナミド	2026	239	167			0.001
ジフェノコナゾール	ジフェノコナゾール(異性体1)	3017	323	265			0.005
	ジフェノコナゾール(異性体2)	3025	323	265			0.004
シフルトリン	シフルトリン(異性体1)	2775	226	206	163		0.114
	シフルトリン(異性体2)	2788	226	206	163		0.067
	シフルトリン(異性体3)	2796	226	206	163		0.133
	シフルトリン(異性体4)	2801	226	206	163		0.074
ジフルフェニカン	ジフルフェニカン	2397	394	266			0.007
シプロコナゾール	シプロコナゾール(異性体1)	2234	222	139			0.006
	シプロコナゾール(異性体2)	2238	222	139			0.002
シベルメトリン	シベルメトリン(異性体1)	2828	181	163			0.055
	シベルメトリン(異性体2)	2842	181	163			0.040
	シベルメトリン(異性体3)	2850	181	163			0.085
	シベルメトリン(異性体4)	2855	181	163			0.042
シマジン	シマジン	1744	201				0.002
ジメタメトリン	ジメタメトリン	2059	255	212			0.001
ジメチルピンホス	ジメチルピンホス(E)	1959	297	295			0.008
	ジメチルピンホス(Z)	1986	297	295	204		0.008
ジメテナミド	ジメテナミド	1875	230	154			0.005
ジメトエート	ジメトエート	1736	125	87			0.033
シメトリン	シメトリン	1906	213	170			0.001
ジメビベレート	ジメビベレート	2093	145	119			0.001
スピロキサミン	スピロキサミン(異性体1)	1896	100				0.001
	スピロキサミン(異性体2)	1949	100				0.001
スピロジクロフェン	スピロジクロフェン	2690	312	259			0.021

品目名	分析対象化合物名	保持指標	測定イオン(m/z)				測定限界 (ng)
ゾキサミド	ゾキサミド	2428	260	258	187		0.012
	ゾキサミド(分解物)	2094	242	187			0.054
ターバシル	ターバシル	1816	163	161	117		0.013
ダイアジノン	ダイアジノン	1791	304	179	152	137	0.014
ダイアレート	ダイアレート(異性体1)	1697	236	234	86		0.002
	ダイアレート(異性体2)	1715	236	234	86		0.006
チオベンカルブ	チオベンカルブ	1983	257	125	100		0.001
チオメトン	チオメトン	1725	246	158	125	88	0.009
チフルザミド	チフルザミド	2190	449	194			0.001
ディルドリン	ディルドリン	2215	277	263	261		0.023
テクナゼン	テクナゼン	1594	261	203			0.002
テトラクロルピンホス	テトラクロルピンホス	2121	329				0.001
テトラコナゾール	テトラコナゾール	1998	336	171			0.001
テトラジホン	テトラジホン	2536	356	159			0.004
テニルクロール	テニルクロール	2384	288	127			0.001
テブコナゾール	テブコナゾール	2397	250	125			0.006
テブフェンピラド	テブフェンピラド	2505	333	318			0.002
テフルトリン	テフルトリン	1816	383	197	177		0.003
デメトン-S-メチル	デメトン-S-メチル	1627	142	109			0.017
デルタメトリン	デルタメトリン	3056	253	181			0.020
テルブトリン	テルブトリン	1945	226				0.001
テルブホス	テルブホス	1783	288	231	153		0.007
デルタメトリン	トラロメトリン	3066	253	181			0.230
トリアジメノール	トリアジメノール(異性体1)	2088	168	128	112		0.009
	トリアジメノール(異性体2)	2104	168	128	112		0.003
トリアジメホン	トリアジメホン	1999	208				0.006
トリアゾホス	トリアゾホス	2310	257	161			0.011
トリアレート	トリアレート	1827	268				0.001
トリシクラゾール	トリシクラゾール	2185	189	162	161		0.045
トリデモルフ	トリデモルフ	-	128				0.031
トリブホス	トリブホス	2193	169				0.001
トリフルラリン	トリフルラリン	1663	306	264			0.008
トリフロキシストロピン	トリフロキシストロピン	2336	116				0.002
トルクロホスメチル	トルクロホスメチル	1899	267	265			0.001
トルフェンピラド	トルフェンピラド	3106	383	171			0.032
2-(1-ナフチル)アセタミド	2-(1-ナフチル)アセタミド	1947	185	141			0.005
ナプロバミド	ナプロバミド	2165	271	128	72		0.020
ニトロタールイソプロピル	ニトロタールイソプロピル	2009	254	236	212		0.003
ノルフルラゾン	ノルフルラゾン	2348	303	173	145		0.006
バクロプロトラゾール	バクロプロトラゾール	2128	236	167	125		0.002
バラチオン	バラチオン	1994	291	261	235		0.007
バラチオンメチル	バラチオンメチル	1896	263	233	125		0.005
ハルフェンブロックス	ハルフェンブロックス	2841	265	263	183		0.021
ピコリナフェン	ピコリナフェン	2483	376	238			0.013
ピテルタノール	ピテルタノール(異性体1)	2695	268	170	168		0.001
	ピテルタノール(異性体2)	2710	268	170	168		0.006
ピフェノックス	ピフェノックス	2515	341	310			0.044
ピフェントリン	ピフェントリン	2468	181	166			0.001
ピベロニルプトキシド	ピベロニルプトキシド	2409	177	176	149		0.001
ピベロホス	ピベロホス	2486	320	140	84		0.026
ピラクロホス	ピラクロホス	2660	360	194			0.011
ピラゾホス	ピラゾホス	2622	232	221			0.076
ピラフルフェンエチル	ピラフルフェンエチル	2355	412	349			0.003
ピリダフェンチオン	ピリダフェンチオン	2455	340	199	97		0.092
ピリダベン	ピリダベン	2731	309	147			0.010
ピリフェノックス	ピリフェノックス(E)	2122	262	187	171		0.003
	ピリフェノックス(Z)	2068	262	187	171		0.004
ピリプチカルブ	ピリプチカルブ	2436	181	165	108		0.001
ピリプロキシフェン	ピリプロキシフェン	2574	226	136			0.001
ピリミノバックメチル	ピリミノバックメチル(E)	2350	302	259	173		0.001
	ピリミノバックメチル(Z)	2255	302	256			0.0003
ピリミホスメチル	ピリミホスメチル	1940	305	290			0.001
ピリメタニル	ピリメタニル	1801	199	198	183		0.002

品目名	分析対象化合物名	保持指標	測定イオン(m/z)				測定限界 (ng)
ビレトリン	ビレトリン	2314	133	123			0.035
	ビレトリン	2615	161	160			0.117
ピロキロン	ピロキロン	1797	173	144	130		0.013
ピンクロソリン	ピンクロソリン	1890	285	187			0.003
フィプロニル	フィプロニル	2052	369	367	351		0.004
フェナミホス	フェナミホス	2154	303	217	154		0.084
フェナリモル	フェナリモル	2629	219	139			0.002
フェントロチオン	フェントロチオン	1946	277	260			0.004
フェノキサニル	フェノキサニル	2240	293	189			0.008
フェノチオカルブ	フェノチオカルブ	2136	160	72			0.017
フェントリン	フェントリン(異性体1)	2531	183	123			0.079
	フェントリン(異性体2)	2545	183	123			0.030
フェンアミドン	フェンアミドン	2499	268	238			0.019
フェンクローホルホス	フェンクローホルホス	1919	287	285			0.001
フェンスルホチオン	フェンスルホチオン	2265	308	293	156		0.008
フェンチオン	フェンチオン	1987	278	169			0.0004
フェントエート	フェントエート	2078	274	246			0.002
フェンバレレート	フェンバレレート(異性体1)	2959	419	167	125		0.099
	フェンバレレート(異性体2)	2989	419	167	125		0.159
フェンブコナゾール	フェンブコナゾール	2782	198	129			0.016
フェンプロバトリン	フェンプロバトリン	2498	349	265	181		0.013
フェンプロビモルフ	フェンプロビモルフ	1995	129	128	70		0.001
フサライド	フサライド	2021	272	243			0.005
ブタクロール	ブタクロール	2129	176	160			0.001
ブタミホス	ブタミホス	2145	286	200			0.004
ブピリメート	ブピリメート	2202	273	208			0.006
ブプロフェジン	ブプロフェジン	2205	172	105			0.003
フラムプロップメチル	フラムプロップメチル	2195	276	105	77		0.002
フリラゾール	フリラゾール	1743	262	220			0.006
フルアクリピリム	フルアクリピリム	2289	204	190	189	145	0.010
フルキンコナゾール	フルキンコナゾール	2729	340	108			0.008
フルジオキソニル	フルジオキソニル	2169	248	154	127		0.012
フルシトリン	フルシトリン(異性体1)	2844	451	199	157		0.005
	フルシトリン(異性体2)	2871	451	199	157		0.007
フルチアセトメチル	フルチアセトメチル	3240	405	403			0.021
フルトラニル	フルトラニル	2161	323	173			0.001
フルトリアホール	フルトリアホール	2157	219	201	164	123	0.016
フルバリネート	フルバリネート(異性体1)	2964	252	250			0.008
	フルバリネート(異性体2)	2973	252	250			0.009
フルフェンビルエチル	フルフェンビルエチル	2245	408	335			0.001
フルミオキサジン	フルミオキサジン	2950	354	287			0.021
フルミクロラックベンチル	フルミクロラックベンチル	3080	423	308			0.010
フルリドン	フルリドン	2903	329	328	310		0.011
プレチラクロール	プレチラクロール	2174	262	238	162		0.001
プロシミドン	プロシミドン	2088	283	212	96		0.019
プロチオホス	プロチオホス	2170	309	267			0.001
プロバクロー	プロバクロー	1612	176	120			0.007
プロバジン	プロバジン	1759	229	214	172		0.043
プロバニル	プロバニル	1876	217	163	161		0.013
プロバホス	プロバホス	2114	304	220			0.001
プロバルギット	プロバルギット(異性体1)	2398	135	107			0.044
	プロバルギット(異性体2)	2403	173	135	107		0.044
プロビコナゾール	プロビコナゾール(異性体1)	2346	302	259	256	173	0.006
	プロビコナゾール(異性体2)	2360	259	173			0.005
プロビザミド	プロビザミド	1786	175	173	145		0.017
プロヒドロジャスモン	プロヒドロジャスモン(異性体1)	1814	184	153			0.023
	プロヒドロジャスモン(異性体2)	1844	184	153			0.196
プロフェノホス	プロフェノホス	2184	339	337	139	97	0.063
プロボキスル	プロボキスル	1610	152	110			0.004
プロマシル	プロマシル	1954	231	205			0.002
プロメトリン	プロメトリン	1919	241	226	184		0.017
プロモブチド	プロモブチド	1887	232	119			0.003
プロモプロビレート	プロモプロビレート	2481	341	183			0.004
プロモホス	プロモホス	2026	331	125			0.002
プロモホスエチル	プロモホスエチル	2109	359	303			0.002
ヘキサコナゾール	ヘキサコナゾール	2172	214	175			0.002

品目名	分析対象化合物名	保持指標	測定イオン(m/z)				測定限界 (ng)
ヘキサジノン	ヘキサジノン	2380	252	171	128		0.004
ペナラキシル	ペナラキシル	2334	206	148			0.002
ペノキサコル	ペノキサコル	1853	259	120			0.003
ヘブタクロール	ヘブタクロール	1922	337	272	100		0.001
	ヘブタクロールエポキシド	2080	353	81			0.048
ベルメトリン	ベルメトリン(異性体1)	2711	183	163			0.012
	ベルメトリン(異性体2)	2728	183	163			0.011
ペンコナゾール	ペンコナゾール	2060	248	159			0.001
ペンディメタリン	ペンディメタリン	2046	281	252			0.002
ペンフルラリン	ペンフルラリン	1668	292	264			0.002
ペンフレゼート	ペンフレゼート	1871	256	163			0.003
ホサロン	ホサロン	2555	367	182			0.003
ホスチアゼート	ホスチアゼート(異性体1)	2027	283	195			0.043
	ホスチアゼート(異性体2)	2032	283	195			0.047
ホスファミドン	ホスファミドン	1870	264	127			0.043
ホスメット	ホスメット	2480	161	160	133		0.017
ホルモチオン	ホルモチオン	1855	126	125			0.008
ホレート	ホレート	1703	260	231	121	75	0.008
マラチオン	マラチオン	1963	173	158			0.002
ミクロブタニル	ミクロブタニル	2198	179	152	150		0.015
メカルバム	メカルバム	2070	159	131			0.011
メタラキシル(異性体:メフェノキサム)	メタラキシル(異性体:メフェノキサム)	1915	249	234	220	206	0.006
メチダチオン	メチダチオン	2115	302	145	85		0.009
メキシクロル	メキシクロル	2495	274	228	227	212	0.004
メブレン	メブレン	2097	175	153	111		0.022
メミノストロピン	メミノストロピン(E)	2169	238	196	191		0.005
	メミノストロピン(Z)	2212	238	196	191	166	0.010
メトラクロール	メトラクロール	1975	238	162			0.001
メビンホス	メビンホス	1424	192	164	127		0.008
メフェナセット	メフェナセット	2588	298	192	120		0.002
メフェンビルジエチル	メフェンビルジエチル	2427	299	271	253		0.011
メプロニル	メプロニル	2308	269	119			0.001
モノクロトホス	モノクロトホス	1679	192	164	127		0.048
リンデン(-BHC)	リンデン(-BHC)	1779	219	183	181		0.011
レスメトリン	レスメトリン(異性体1)	2398	171	143	123		0.012
	レスメトリン(異性体2)	2414	171	143	123		0.003
レナシル	レナシル	2359	153	136	110		0.002

化合物名の五十音順に示し、異性体は保持時間順に示した。

保持指標はn-アルカンの保持時間を基準とした値であり、2～3機関で求めた値の平均値を示した。

測定イオンの太字斜字体は定量イオン、その他は定性イオンを示す。

測定限界は標準溶液2μLをGC/MSに注入したときのS/N=10の値であり、2～3機関で求めた値の中で最も小さい値を示した。

本法に従って果実又は野菜について試験溶液を調製し、2μLをGC/MSに注入した場合、0.08ngが試料中0.01ppmに相当する。

LC/MS による農薬等の一斉試験法 (農産物)

1. 分析対象化合物

別表参照

2. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計 (LC/MS) 又は液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計 (LC/MS/MS)

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の 2 に示すものを用いる。

0.5 mol/L リン酸緩衝液 (pH7.0) リン酸水素二カリウム (K_2HPO_4) 52.7 g 及びリン酸二水素カリウム (KH_2PO_4) 30.2 g を量り採り、水約 500 mL に溶解し、1 mol/L 水酸化ナトリウム又は 1 mol/L 塩酸を用いて pH を 7.0 に調整した後、水を加えて 1 L とする。

各農薬等標準品 各農薬等の純度が明らかなもの。

4. 試験溶液調製法

1) 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合

試料 10.0 g に水 20 mL を加え、15 分間放置する。

これにアセトニトリル 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトニトリル 20 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とする。

抽出液 20 mL を採り、塩化ナトリウム 10 g 及び 0.5 mol/L リン酸緩衝液 (pH7.0) 20 mL を加え、10 分間振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にアセトニトリル 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記のアセトニトリル層を注入し、さらに、アセトニトリル 2 mL を注入して、全溶出液を採り、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 2 mL を加えて溶かす。

果実、野菜、ハーブ、茶及びホップの場合

果実、野菜及びハーブの場合は、試料 20.0 g を量り採る。茶及びホップの場合は、試料 5.00 g に水 20 mL を加え、15 分間放置する。

これにアセトニトリル 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトニトリル 20 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とする。

抽出液 20 mL を採り、塩化ナトリウム 10 g 及び 0.5 mol/L リン酸緩衝液 (pH7.0) 20 mL を加え、振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。アセトニトリル層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 2 mL を加えて溶かす。

2) 精製

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (500 mg/500 mg) に、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液 20 mL を注入し、全溶出液を 40 以下で 1 mL 以下に濃縮する。これにアセトン 10 mL を加えて 40 以下で 1 mL 以下に濃縮し、再度アセトン 5 mL を加えて濃縮し、溶媒を除去する。残留物をメタノールに溶かして、正確に 4 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

各農薬等の標準品について、それぞれのアセトニトリル溶液を調製し、それらを混合した後、適切な濃度範囲の各農薬等を含むメタノール溶液を数点調製する。それぞれ 5 µL を LC/MS 又は LC/MS/MS に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 5 µL を LC/MS 又は LC/MS/MS に注入し、5 の検量線で各農薬等の含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS 又は LC/MS/MS により確認する。

8. 測定条件

カラム: オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 3 ~ 3.5 µm) 内径 2 ~ 2.1 mm、長さ 150 mm

カラム温度: 40

移動相: A 液及び B 液について下の表の濃度勾配で送液する。

移動相流量: 0.20 mL/分

A 液: 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液

B 液: 5 mmol/L 酢酸アンモニウムメタノール溶液

時間(分)	A 液 (%)	B 液 (%)
0	85	15
1	60	40
3.5	60	40
6	50	50
8	45	55
17.5	5	95
30	5	95
30	85	15

イオン化モード: ESI

主なイオン (m/z): 別表参照

保持時間の目安: 別表参照

9. 定量限界

別表参照

ただし、別表は測定限界 (ng) の例を示したものである。

10. 留意事項

1) 試験法の概要

各農薬等を試料からアセトニトリルで抽出し、塩析で水を除いた後、果実、野菜等についてはそのまま、穀類、豆類及び種実類についてはオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製後、いずれもグラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製し、LC/MS 又は LC/MS/MS で測定及び確認する方法である。

2) 注意点

別表は本法を適用できる化合物を五十音順に示したものであるが、規制対象となる品目には本法を適用できない代謝物等の化合物が含まれる場合があるので留意すること。また、保持時間の異なる異性体は、化合物名欄に個別に示した。

本試験法は別表に示した全ての化合物の同時分析を保証したものではない。化合物同士の相互作用による分解等及び測定への干渉等のおそれがあるため、分析対象とする化合物の組み合わせにおいてあらかじめこれらの点を検証する必要がある。

リン酸緩衝液の調製には、ナトリウム塩を使用してもよい。

アセトニトリル抽出液に添加する塩化ナトリウム (10g) が多すぎる場合は、減らしてもよいが、十分に飽和する量を加える。

濃縮し、溶媒を完全に除去する操作は、窒素気流を用いて穏やかに行う。

LC/MS 又は LC/MS/MS の感度によっては、試験溶液をさらにメタノールで希釈する。

特にメタノール溶液中では不安定な農薬等があるため、測定は試験溶液の調製後速やかに行う。検量線用溶液は用時調製する。常温のオートサンプラーラック中に試験溶液を長時間置かない。

正確な測定値を得るためには、マトリックス添加標準溶液又は標準添加法を用いることが必要な場合がある。

定量限界は、使用する機器、試験溶液の濃縮倍率及び試験溶液注入量により異なるので、必要に応じて最適条件を検討する。

チオジカルブは作物の種類によっては前処理中にメソミルに変化する。

抹茶以外の茶についてジウロンの試験をする場合は、別途定めるイソウロン、ジウロン、テブチウロン、トリフルムロン、フルオメツロン及びリニュロン試験法により分析すること。シクロプロトリンの試験をする場合は、別途定めるシクロプロトリン試験法により分析すること。

11. 参考文献

- 1) Fillion, J.ら, JAOAC Int, 83, 698~713 (2000)

12. 類型

C

(別表)LC/MSによる農薬等の一斉試験法 (農産物)

品目名	分析対象化合物名	相対保持時間	LC/MS 測定イオン(m/z)						LC/MS/MS 測定イオン(m/z)									測定限界(ng)				
			ポジティブ測定			ネガティブ測定			ポジティブ測定			ネガティブ測定										
			定量	定性		定量	定性		親	子(定量)	子(定性)	親	子(定量)	子(定性)	LC/MS	LC/MS/MS						
アザフェニジン	アザフェニジン	1.00										338	264	299	112					-	0.006	
アザメチホス	アザメチホス	0.82	325		347	215	183					325	183		112					0.003	0.002	
アシベンゾラルSメチル	アシベンゾラルSメチル	1.09										211	136		211	69				-	0.026	
アジンホスメチル	アジンホスメチル	1.05	318	160	132							318	160	77	132					0.005	0.003	
アゾキシストロピン	アゾキシストロピン	1.07										404	372		344					-	0.002	
アニロホス	アニロホス	1.22	368		390	199	157					368	199		125					0.003	0.001	
アバメクチン	アバメクチンB1a	1.46	896	891	897	567	305					891	567	305	568					0.024	0.026	
アラマイト	アラマイト	1.30										352	191		255	57				-	0.001	
アルジカルブ	アルジカルブ	0.76										208	116		191	89				-	0.014	
アルドキシカルブ	アルドキシカルブ	0.40										240	223	86	148	76				-	0.018	
イソキサフルトール	イソキサフルトール	1.00	377	360	283	251		-358	-359			360	251		360	144				0.004	0.003	
イプロジオン	イプロジオン	1.17										330	245		288					-	0.033	
イプロバリカルブ	イプロバリカルブ	1.15	321		343	119						321	119		203					0.002	0.001	
イマザリル	イマザリル	1.20										297	159		255					-	0.008	
イミダクロプリド	イミダクロプリド	0.53	256		209	175						256	209	175						0.008	0.005	
インダノファン	インダノファン	1.21	341		363	175						341	175		187					0.168	0.005	
インドキサカルブ	インドキサカルブ	1.28	528		550	203	150					528	150		203					0.002	0.004	
エボキシコナゾール	エボキシコナゾール	1.15										330	121		101					-	0.002	
オキサジクロメホン	オキサジクロメホン	1.38	376		378	190						376	190		161					0.002	0.0002	
オキサミル	オキサミル	0.43										237	72		237	90				-	0.007	
オキシカルボキシシン	オキシカルボキシシン	0.62	268		207	175						268	175		147					0.004	0.001	
オリザリン	オリザリン	1.17						-345	-346	-78							-345	-281	-78	-147	0.003	0.001
カルバリル	カルバリル	0.91										219	202	145	145	127				-	0.006	
カルプロバミド	カルプロバミド	1.27	334		336	196						336	139		103					0.013	0.003	
カルボフラン	カルボフラン	0.87										222	165		123					-	0.010	
キザロホップエチル	キザロホップ - p - テフリル	1.30	429		431	299						429	299		85					0.002	0.001	
	キザロホップエチル	1.28										373	299		271	255				-	0.001	
クミルロン	クミルロン	1.17	303		325	185						303	185		125					0.008	0.0002	
クロキントセットメキシル	クロキントセットメキシル	1.34	336		358	238						336	238		192	179				0.014	0.001	
クロチアニジン	クロチアニジン	0.54	250		169			-248	-58			250	169		132					0.002	0.002	
クロフェンテジン	クロフェンテジン	1.24										303	138		102					-	0.006	
クロマフェノジド	クロマフェノジド	1.15	395		175							395	175		339	147				0.002	0.001	
クロメプロップ	クロメプロップ	1.33	324		346	120		-322	-175			324	120		203	105				0.004	0.006	
クロリダゾン	クロリダゾン	0.61	222		244	104	65					222	92	65	77					0.004	0.002	
クロロクスロン	クロロクスロン	1.13										291	72		291	164				-	0.003	
シアゾファミド	シアゾファミド	1.18	325		140	108						325	108		325	261				0.005	0.001	
ジウロン	ジウロン	1.01										233	72		233	160				-	0.007	
シクロエート	シクロエート	1.26										216	154	83	154	83				-	0.005	
シクロプロトリン	シクロプロトリン	1.36										499	499	181	229					-	0.084	
シフルフェナミド	シフルフェナミド	1.25	413		435	295	241					413	295	241	203					0.005	0.001	
ジフルベンズロン	ジフルベンズロン	1.17										328	311	158	311	141				-	0.002	
シプロジニル	シプロジニル	1.21										226	93		108	77				-	0.021	
シメコナゾール	シメコナゾール	1.16	294		295	135						294	70		73					0.002	0.002	
ジメチリモール	ジメチリモール	0.96	210		232	140	71					210	71		140					0.001	0.001	
ジメトモルフ	ジメトモルフ(E)	1.08										388	301		165					-	0.001	
	ジメトモルフ(Z)	1.10										388	301		165					-	0.002	
シラフルオフェン	シラフルオフェン	1.63										426	287		168					-	0.012	
スピノサド	スピノシンA	1.44										732	142		98					-	0.0003	
	スピノシンD	1.49										746	142		98					-	0.001	
ダイアレート	ダイアレート	1.28	272		270							270	86		109					0.086	0.036	
ダイムロン	ダイムロン	1.15	269		291	151						269	151		91					0.028	0.001	
チアクロプリド	チアクロプリド	0.64	253		255	126						253	126		90	73				0.004	0.002	
チアベンダゾール	チアベンダゾール	0.75	202		203	175						202	175		131					0.001	0.001	
チアマトキサム	チアマトキサム	0.44	292	211	314							292	211		181					0.003	0.004	
チオジカルブ及びメソミル	チオジカルブ	0.92	354	355		377	163					355	88		108					0.012	0.001	
テトラクロロピホス	テトラクロロピホス(Z)	1.19	367		389							367	127		206					0.053	0.005	

LC/MS による農薬等の一斉試験法 (農産物)

1. 分析対象化合物

別表参照

2. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計 (LC/MS) 又は液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計 (LC/MS/MS)

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の 2 に示すものを用いる。

各農薬等標準品 各農薬等の純度が明らかなもの。

4. 試験溶液調製法

1) 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合

試料 10.0 g に水 20 mL を加え、15 分間放置する。

これにアセトニトリル 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトニトリル 20 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とする。

抽出液 20 mL を採り、塩化ナトリウム 10 g 及び 0.01 mol/L 塩酸 20 mL を加え、15 分間振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にアセトニトリル 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記のアセトニトリル層を注入し、さらに、アセトニトリル 2 mL を注入して、全溶出液を採り、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトン、トリエチルアミン及び *n*-ヘキサン (20 : 0.5 : 80) 混液 2 mL を加えて溶かす。

果実、野菜、ハーブ、茶及びホップの場合

果実、野菜及びハーブの場合は、試料 20.0 g を量り採る。茶及びホップの場合は、試料 5.00 g に水 20 mL を加え、15 分間放置する。

これにアセトニトリル 50 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトニトリル 20 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とする。

抽出液 20 mL を採り、塩化ナトリウム 10 g 及び 0.01 mol/L 塩酸 20 mL を加え、振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。アセトニトリル層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトン、トリエチルアミン及び *n*-ヘキサン (20 : 0.5 : 80) 混液 2 mL を加えて溶かす。

2) 精製

シリカゲルミニカラム (500 mg) に、メタノール、アセトン各 5 mL を順次注入し、各流出

液は捨てる。さらに *n*-ヘキサン 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られた溶液を注入した後、アセトン、トリエチルアミン及び *n*-ヘキサン (20 : 0.5 : 80) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン及びメタノール (1 : 1) 混液 20 mL を注入し、溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をメタノールに溶かして、正確に 4 mL としたものを試験溶液とする。

5 . 検量線の作成

各農薬等の標準品について、それぞれのアセトニトリル溶液を調製し、それらを混合した後、適切な濃度範囲の各農薬等を含むメタノール溶液を数点調製する。それぞれ 5 μ L を LC/MS 又は LC/MS/MS に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6 . 定量

試験溶液 5 μ L を LC/MS 又は LC/MS/MS に注入し、5 の検量線で各農薬等の含量を求める。

7 . 確認試験

LC/MS 又は LC/MS/MS により確認する。

8 . 測定条件

カラム: オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 3 ~ 3.5 μ m) 内径 2 ~ 2.1 mm、長さ 150 mm

カラム温度: 40

移動相: A 液及び B 液について下の表の濃度勾配で送液する。

移動相流量: 0.20 mL/分

A 液: 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液

B 液: 5 mmol/L 酢酸アンモニウムメタノール溶液

時間(分)	A 液 (%)	B 液 (%)
0	85	15
1	60	40
3.5	60	40
6	50	50
8	45	55
17.5	5	95
30	5	95
30	85	15

イオン化モード: ESI

主なイオン (*m/z*): 別表参照

保持時間の目安: 別表参照

9 . 定量限界

別表参照

ただし、別表は測定限界 (ng) の例を示したものである。

10. 留意事項

1) 試験法の概要

各農薬等を試料からアセトニトリルで抽出し、酸性条件下で塩析する。水を除いた後、果実、野菜等についてはそのまま、穀類、豆類及び種実類についてはオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製後、いずれもシリカゲルミニカラムで精製し、LC/MS 又は LC/MS/MS で測定及び確認する方法である。

2) 注意点

別表は本法を適用できる化合物を五十音順に示したものであるが、規制対象となる品目には本法を適用できない代謝物等の化合物が含まれる場合があるので留意すること。また、保持時間の異なる異性体は、化合物名欄に個別に示した。

本試験法は別表に示した全ての化合物の同時分析を保証したものではない。化合物同士の相互作用による分解等及び測定への干渉等のおそれがあるため、分析対象とする化合物の組み合わせにおいてあらかじめこれらの点を検証する必要がある。

アセトニトリル抽出液に添加する塩化ナトリウム(10g)が多すぎる場合は、減らしてもよいが、十分に飽和する量を加える。また、極性が高い農薬を対象とするため、十分に振とうして塩化ナトリウムを溶解させる。

濃縮し、溶媒を完全に除去する操作は、窒素気流を用いて穏やかに行う。

LC/MS 又は LC/MS/MS の感度によっては、試験溶液をさらにメタノールで希釈する。

特にメタノール溶液中では不安定な農薬等があるため、測定は試験溶液の調製後速やかに行う。検量線用溶液は用時調製する。常温のオートサンプラーラック中に試験溶液を長時間置かない。

正確な測定値を得るためには、マトリックス添加標準溶液又は標準添加法を用いることが必要な場合がある。

定量限界は、使用する機器、試験溶液の濃縮倍率及び試験溶液注入量により異なるので、必要に応じて最適条件を検討する。

11. 参考文献

なし

12. 類型

C

(別表)LC/MSによる農薬等の一斉試験法 (農産物)

品目名	分析対象化合物名	相対保持時間	LC/MS 測定イオン(m/z)				LC/MS/MS 測定イオン(m/z)								測定限界 (ng)					
			ポジティブ測定		ネガティブ測定		ポジティブ測定				ネガティブ測定									
			定量	定性	定量	定性	親	子(定量)	子(定性)	親	子(定量)	子(定性)	親	子(定量)	子(定性)	LC/MS	LC/MS/MS			
2,4-D	2,4-D	0.73			-161		-163										0.025	0.150		
MCPA	MCPA	0.73			-141		-199										0.007	0.118		
MCPB	MCPB	0.97			-227	-141											0.278	0.012		
アイオキシニル	アイオキシニル	0.73			-370	-126											0.001	0.003		
アシフルオルフェン	アシフルオルフェン	1.04			-360	-316											0.031	0.023		
アジムスルフロン	アジムスルフロン	0.52			-423		-424	425		182	139						0.116	0.005		
イオドスルフロメチル	イオドスルフロメチル	0.72	508	509				508		167	508						0.011	0.004		
イマザキン	イマザキン	0.54	312	267				312		267	199	128	86				0.001	0.001		
イマゾスルフロン	イマゾスルフロン	0.54			-411	-413		415		156		78		-411	-229	-154	-153	0.017	0.079	
エタメツルフロメチル	エタメツルフロメチル	0.66	411	412				411		196		168						0.001	0.003	
エトキシスルフロン	エトキシスルフロン	0.83	399	400				399		261		218						0.002	0.002	
クロジナホップ酸	クロジナホップ酸	0.90			-310		-238	312		266		238						0.007	0.016	
クロフェンセット	クロフェンセット	0.60	279	261				279		261		166						0.004	0.024	
クロブロッブ	クロブロッブ	0.64			-199	-127								-199	-127	-71		0.088	0.023	
クロランスラムメチル	クロランスラムメチル	0.81	430	398				430		398	370	153						0.008	0.006	
クロリムロンエチル	クロリムロンエチル	0.80			-413		-415	415		186		83						0.018	0.003	
クロルスルフロン	クロルスルフロン	0.55	358	360				358		141		167						0.008	0.005	
4-クロロフェノキシ酢酸	4-クロロフェノキシ酢酸	0.55			-185	-127								-185	-127	-185		0.117	0.011	
シクラニリド	シクラニリド	0.92			-272	-160								-272	-160	-228		0.005	0.002	
ジクロスラム	ジクロスラム	0.84	406	161				406		161		378						0.017	0.003	
シクロスルファミロン	シクロスルファミロン	0.99	422	444				422		261	139	218	69	-420	-265	-78		0.008	0.002	
ジクロメジン	ジクロメジン	1.21	255	257				257	255	140	89	158	75	-253	-182	-40		0.255	0.087	
ジクロルブロッブ	ジクロルブロッブ	0.86			-233	-161								-233	-161	-125		0.057	0.012	
シノスルフロン	シノスルフロン	0.48	414	436				414		183		157	83	-412	-154	-66		0.011	0.002	
ジベレリン	ジベレリン	0.48			-345	-143								-345	-143	-239	-221	0.066	0.055	
スルフェントラゾン	スルフェントラゾン	0.85			-387		-385	387		307		146						0.017	0.146	
スルホスルフロン	スルホスルフロン	0.59			-469		-470	471		211		261						0.001	0.007	
チジアズロン	チジアズロン	0.84			-219	-100		221		102		128		-219	-100			0.002	0.002	
チフェンスルフロメチル	チフェンスルフロメチル	0.50	388	167				388		167		126	56					0.013	0.001	
トリアスルフロン	トリアスルフロン	0.62	402	404				402		167		141						0.008	0.009	
トリクロピル	トリクロピル	0.81			-254	-196								-254	-196	-218		0.132	0.006	
トリフルスルフロメチル	トリフルスルフロメチル	0.92	493	264				493		264		96						0.005	0.001	
トリフロキシスルフロン	トリフロキシスルフロン	0.72			-436		-437	438		182		257						0.007	0.003	
トリベヌロンメチル	トリベヌロンメチル	0.56	396	418				396		181	155	364		-394	-153	-55		0.058	0.003	
ナブタラム	ナブタラム	0.66			-290	-246		292		144		149		-290	-246	-142		0.020	0.016	
1-ナフタレン酢酸	1-ナフタレン酢酸	0.63			-185	-141								-185	-141	-185		0.486	0.073	
ハロキシホップ	ハロキシホップ	1.08	362	316				362		316		288	91					0.010	0.002	
ハロスルフロメチル	ハロスルフロメチル	0.69			-433	-435		435		182		83		-433	-252	-154	-78	0.020	0.005	
ピラゾスルフロメチル	ピラゾスルフロメチル	0.66	415	437				415		182	181	139	83	-413	-154	-232		0.029	0.002	
フェンヘキサミド	フェンヘキサミド	1.18	302	304				302		97	96	55		-300	-264	-249		0.037	0.005	
フラザスルフロン	フラザスルフロン	0.54	408	430				408		182	181	227	139	-406	-154	-251		0.011	0.001	
ブリミスルフロメチル	ブリミスルフロメチル	0.93			-467			491		264		250		-467	-226	-225	-175	-126	0.009	0.008
フルアジホップ	フルアジホップ	0.91	328	350				328		283	282	255	254	-326	-254	-206		0.027	0.023	
フルメツラム	フルメツラム	0.44	326	129				326		129		326	109					0.008	0.005	
フルロキシピル	フルロキシピル	0.48			-253	-195								-253	-195	-233		0.421	0.116	
プロスルフロン	プロスルフロン	0.84			-418			420		167		141		-418	-139	-138	-107	0.009	0.006	
プロボキシカルバゾンNa塩	プロボキシカルバゾンNa塩	0.55	399	416				421	399	180	115	264	134	-397	-156	-113		0.047	0.007	

GC/MS による農薬等の一斉試験法（畜水産物）

1．分析対象化合物

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類の場合は、別表 1 参照
乳、卵及びはちみつの場合は、別表 2 参照

2．装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の 2 に示すものを用いる。
各農薬等標準品 各農薬等の純度が明らかなもの。

4．試験溶液調製法

1) 抽出

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類の場合

筋肉、肝臓、腎臓及び魚介類の場合は、試料 20.0 g を量り採る。脂肪の場合は、5.00 g を量り採る。

これに水 20 mL を加え、ホモジナイズした後、アセトン及び *n*-ヘキサン（1：2）混液 100 mL を加え、さらにホモジナイズした後、毎分 2,500 回転で 5 分間遠心分離し、有機層を採る。残留物に *n*-ヘキサン 50 mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 2,500 回転で 5 分間遠心分離する。得られた有機層を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別する。ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去した後、残留物の重量を測定し、これを抽出脂肪重量とする。残留物の全量または一定量を採り、ゲル浸透クロマトグラフィー用カラム（スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム）への負荷量が試料 5.0 g 相当量になるように（試料 5.0 g 中の抽出脂肪量が 0.5 g を超える場合には、カラムへの負荷量が抽出脂肪 0.50 g 相当量になるように）アセトン及びシクロヘキサン（1：4）混液に溶かす。

乳、卵及びはちみつの場合

乳及び卵の場合は、試料 20.0 g を量り採る。はちみつの場合は、試料 20.0 g を量り採り、水 20 mL を加えて溶かす。

これにアセトニトリル 100 mL を加えて、ホモジナイズした後、毎分 2,500 回転 5 分間遠心分離し、有機層を採る。残留物にアセトニトリル 50 mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 2,500 回転で 5 分間遠心分離する。得られた有機層を合わせ、塩化ナトリウム 10 g を加え、振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。アセトニトリル層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。乳及び卵の場合は、残留物をゲル浸透クロマトグラフィー用カラム（スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム）への負荷量が試料 5.0 g 相当量になるようにアセトン及びシクロヘキサン（1：4）混液に溶かす。はちみつの場合は、残留物をアセトン及び *n*-ヘキサン（1：1）混液に溶かし、正確に 10 mL とする。

2) 精製

筋肉、脂肪、魚介類、乳及び卵の場合

a ゲル浸透クロマトグラフィー

1) で得られた溶液を毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、その上澄液 5 mL をゲル浸透クロマトグラフィー用カラム (スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム) に注入し、アセトン及びシクロヘキサン (1 : 4) 混液で溶出する。アクリナトリンの保持時間からトリシクラゾールの溶出終了までの溶出液を採り、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 2 mL を加えて溶かす。

b エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに a で得られた溶液を注入し、さらに、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 20 mL を注入して、全溶出液を採り、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液に溶かし、正確に 1 mL (脂肪の場合は 0.5 mL) としたものを試験溶液とする。

肝臓及び腎臓の場合

a ゲル浸透クロマトグラフィー

1) で得られた溶液を毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、その上澄液 5 mL をゲル浸透クロマトグラフィー用カラム (スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム) に注入し、アセトン及びシクロヘキサン (1 : 4) 混液で溶出する。アクリナトリンの保持時間からアクリナトリンの溶出終了までの画分 (画分) 及び画分 の分取終了からトリシクラゾールの溶出終了までの画分 (画分) を採る。

b エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にアセトン及びシクロヘキサン (1 : 4) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに画分 を注入し、さらに、アセトン及びシクロヘキサン (1 : 4) 混液 5 mL を注入して、全溶出液を採り、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物に *n*-ヘキサン 1 mL を加えて溶かす。

c シリカゲルカラムクロマトグラフィー

シリカゲルミニカラム (690 mg) に *n*-ヘキサン 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに b で得られた溶液を注入し、さらに、*n*-ヘキサン 10 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、カラムにエーテル及び *n*-ヘキサン (1 : 19) 混液 15 mL を注入し、溶出液を a で得られた画分 に合わせ、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液に溶かし、正確に 1 mL としたものを試験溶液とする。

はちみつの場合

エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られたアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液溶液 2.5 mL を注入し、さらに、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 20 mL を注入して、全溶出液を採り、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液に溶解し、正確に 1 mL としたものを試験溶液とする。

5．検量線の作成

各農薬等の標準品について、それぞれのアセトン溶液を調製し、それらを混合した後、適切な濃度範囲の各農薬等を含むアセトン及び*n*-ヘキサン(1：1)混液溶液を数点調製する。それぞれ2 µLをGC/MSに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6．定量

試験溶液2 µLをGC/MSに注入し、5の検量線で各農薬の含量を求める。

7．確認試験

GC/MSにより確認する。

8．測定条件

GC/MS

カラム：5%フェニル-メチルシリコン 内径0.25 mm、長さ30m、膜厚0.25 µm

カラム温度：50 (1分) - 25 /分 - 125 (0分) - 10 /分 - 300 (10分)

注入口温度：250

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード(電圧)：EI(70 eV)

主なイオン(*m/z*)：別表1及び別表2参照

保持時間の目安：別表1及び別表2参照

9．定量限界

別表1及び別表2参照

ただし、別表1及び別表2は測定限界(ng)の例を示したものである。

10．留意事項

1) 試験法の概要

各農薬等を試料からアセトン及び*n*-ヘキサン(1：2)混液で抽出(乳、卵及びはちみつの場合はアセトニトリルで抽出)し、ゲル浸透クロマトグラフィー及びエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し(肝臓及び腎臓の場合はシリカゲルカラムクロマトグラフィーを追加し、はちみつの場合はゲル浸透クロマトグラフィーを省略する)、GC/MSで測定及び確認する方法である。

2) 注意点

別表1及び別表2は本法を適用できる化合物を五十音順に示したものであるが、規制対象となる品目には本法を適用できない代謝物等の化合物が含まれる場合があるので留意すること。また、保持時間の異なる異性体は、化合物名欄に個別に示した。また、分析中に生成する分解物を測定している場合は、「分解物」と表記した。

本試験法は別表1及び別表2に示した全ての化合物の同時分析を保証したものではない。化合物同士の相互作用による分解等及び測定への干渉等のおそれがあるため、分析対象とする化合物の組み合わせにおいてあらかじめこれらの点を検証する必要がある。

装置には、ガスクロマトグラフ・タンデム型質量分析計(GC/MS/MS)の使用も可能である。

アセトニトリル抽出液に添加する塩化ナトリウム(10g)が多すぎる場合は、減らしてもよ

いが、十分に飽和する量を加える。

濃縮し、溶媒を完全に除去する操作は、窒素気流を用いて穏やかに行う。

ゲル浸透クロマトグラフィー条件の例を以下に示す。

カラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム（内径 20 mm、長さ 300 mm）にガードカラムとしてスチレンジビニルベンゼン共重合体カラム（内径 20 mm、長さ 100 mm）を接続したもの、又は同等品

移動相：アセトン及びシクロヘキサン（1：4）混液

流速：5 mL/min

カラム温度：40

注入量：5 mL

モニター波長：254 nm

分取範囲：次の方法によりあらかじめ決定しておく。

アクリナトリン及びトリシクラゾールの 5 mg/L 混合溶液を移動相で調製し、その 5 mL をゲル浸透クロマトグラフィー用カラムに注入して 254 nm でモニターし、溶出位置を確認する。溶出液を適当な間隔で分取して GC/MS で測定するなど他の適切な方法を用いてもよい。

a 筋肉、脂肪、魚介類、乳及び卵の場合の分取範囲（図 1 参照）

アクリナトリンの保持時間からトリシクラゾールの溶出が終了するまで。

（例）58～165 mL（合計 107 mL）

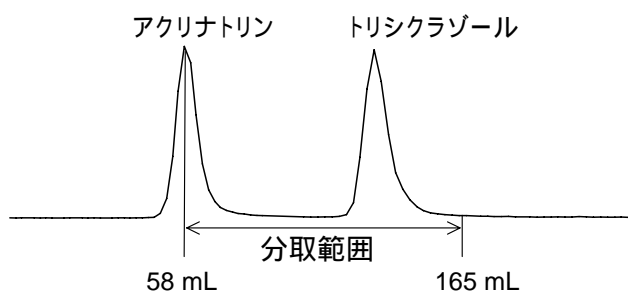


図 1 筋肉、脂肪、魚介類、乳及び卵の場合の分取範囲

b 肝臓及び腎臓の場合の分取範囲（図 2 参照）

画分：アクリナトリンの保持時間からアクリナトリンの溶出が終了するまで。

画分：画分の分取終了からトリシクラゾールの溶出が終了するまで。

（例）画分：58～65 mL（合計 7 mL）、画分：65～165 mL（合計 100 mL）

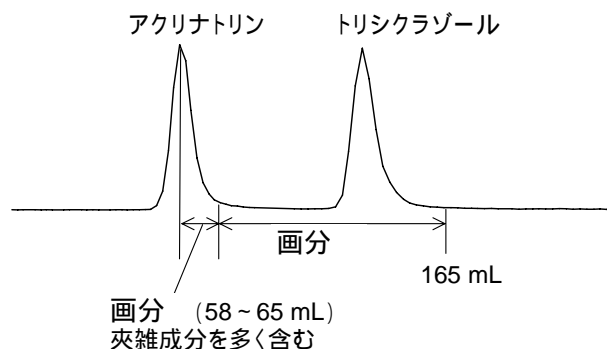


図 2 肝臓及び腎臓の場合の分取範囲

ミニカラムは使用条件で各農薬等の溶出調査を事前に行い、溶出位置を確認してから使用する。

脂肪含有量が高い試料では、試験溶液の濃縮倍率が低くなる。その際、目標の測定感度が得られない場合には、抽出脂肪を用いてゲル浸透クロマトグラフィー以降の操作を複数回行い、検液を合わせて試験溶液とする。

正確な測定値を得るためには、マトリックス添加標準溶液又は標準添加法を用いることが必要な場合がある。

定量限界は、使用する機器、試験溶液の濃縮倍率及び試験溶液注入量により異なるので、必要に応じて最適条件を検討する。

11．参考文献

なし

12．類型

C

(別表1)GC/MSによる農薬等の一斉試験法(畜水産物)

品目名	分析対象化合物名	保持指標	測定イオン(m/z)					測定限界 (ng)
-BHC(リンデンをいう。)	-BHC(リンデン)	1775	219	183	181			0.005
DDT	o,p'-DDT	2289	237	235				0.001
	p,p'-DDD	2285	237	235				0.001
	p,p'-DDE	2192	318	246				0.0005
	p,p'-DDT	2367	237	235				0.001
EPTC	EPTC	1360	132	128	86			0.002
アジンホスメチル	アジンホスメチル	2570	160	132				0.006
アトラジン	アトラジン	1755	215	200				0.001
アムトリン	アムトリン	1912	227	212				0.0006
アラクロール	アラクロール	1899	237	188	160			0.001
アラマイト	アラマイト(異性体1)	2190	334	197	185			0.046
	アラマイト(異性体2)	2196	334	197	185			0.046
	アラマイト(異性体3)	2208	334	319				0.004
	アラマイト(異性体4)	2230	334	319				0.009
アルドリン及びディルドリン	アルドリン	1993	263	261				0.003
アレスリン	アレスリン(異性体1及び2)	2066	136	123				0.002
	アレスリン(異性体3及び4)	2075	136	123				0.002
イソプロチオラン	イソプロチオラン	2175	290	231	189	162	118	0.002
イブロジオン	イブロジオン	2452	316	314				0.010
	イブロジオン代謝物	2536	329	187				0.022
イマザリル	イマザリル	2171	215	173				0.003
フェンバレート	エスフェンバレート(異性体1)	2951	419	225	181	167		0.059
	エスフェンバレート(異性体2)	2982	419	225	181	167		0.003
エチオン	エチオン	2279	384	231	153			0.0004
エトキサゾール	エトキサゾール	2487	359	300				0.003
エトフメセート	エトフメセート	1951	286	207				0.002
エトプロホス	エトプロホス	1640	200	158				0.006
エトリジアゾール	エトリジアゾール	1456	213	211	183			0.001
エボキシコナゾール	エボキシコナゾール	2424	194	192				0.006
エンドスルファン	-エンドスルファン	2150	243	241	170			0.012
	-エンドスルファン	2277	241	195				0.014
	エンドスルファンスルフェート	2362	274	272				0.004
エンドリン	エンドリン	2255	317	263	245			0.005
オキサジアゾン	オキサジアゾン	2187	344	258	175			0.001
オキサベトリニル	オキサベトリニル	1841	103	77	73			0.003
オキシフルオルフェン	オキシフルオルフェン	2197	361	252				0.004
カルフェントラゾンエチル	カルフェントラゾンエチル	2325	340	330	312			0.002
カルボキシ	カルボキシ	2211	235	143	87			0.002
カルボスルファン	カルボスルファン	2451	160	118				0.002
キノキシフェン	キノキシフェン	2353	307	237				0.001
キントゼン	キントゼン	1764	249	237				0.003
クレソキシムメチル	クレソキシムメチル	2203	206	132	116			0.002
クロルタルジメチル	クロルタルジメチル	1988	301	299				0.0003
クロルデン	cis-クロルデン	2148	375	373				0.001
	trans-クロルデン	2121	375	373				0.001
	オキシクロルデン	2071	389	387				0.006
クロルピリホス	クロルピリホス	1980	316	314				0.004
クロルピリホスメチル	クロルピリホスメチル	1885	288	286				0.0003
クロルフェナビル	クロルフェナビル	2221	406	247	59			0.002
クロルフェンゾン	クロルフェンゾン	2166	304	302	175			0.010
クロルフェンピンホス	(E)-クロルフェンピンホス	2046	323	267				0.009
	(Z)-クロルフェンピンホス	2069	323	267				0.003
クロルブファム	クロルブファム	1751	225	223	164	153		0.016
クロルベンシド	クロルベンシド	2117	270	268	125			0.003
クロロネブ	クロロネブ	1509	208	206	193	191		0.001
クロロベンジレート	クロロベンジレート	2262	253	251	139			0.003
ジクロホップメチル	ジクロホップメチル	2392	342	340	253			0.003
1,1-ジクロロ-2,2-ビス(4-エチルフェニル)エタン	1,1-ジクロロ-2,2-ビス(4-エチルフェニル)エタン	2243	224	223				0.0005
ジコホール	ジコホール分解物(4,4'-ジクロロヘンゾフェノ)	2014	250	139				0.003
ジスルホトン	ジスルホトン	1814	274	186	89	88		0.001
	ジスルホトンスルホン体	2130	213	153				0.003
シハロトリン	シハロトリン(異性体1)	2572	197	181				0.009
	シハロトリン(異性体2)	2596	197	181				0.009
ジフェニルアミン	ジフェニルアミン	1634	169	168	167			0.0004

品目名	分析対象化合物名	保持指標	測定イオン(m/z)				測定限界 (ng)
ジフェノコナゾール	ジフェノコナゾール(異性体1)	3019	323	265			0.009
	ジフェノコナゾール(異性体2)	3027	323	265			0.007
シフルトリン	シフルトリン(異性体1)	2777	226	206			0.034
	シフルトリン(異性体2)	2791	226	206			0.029
	シフルトリン(異性体3)	2799	226	206			0.042
	シフルトリン(異性体4)	2805	226	206			0.050
ジフルフェニカン	ジフルフェニカン	2396	394	266			0.0002
シプロコナゾール	シプロコナゾール(異性体1)	2238	224	222			0.008
	シプロコナゾール(異性体2)	2240	224	222			0.006
シベルメトリン	シベルメトリン(異性体1)	2823	165	163	127		0.039
	シベルメトリン(異性体2)	2837	165	163	127		0.025
	シベルメトリン(異性体3)	2845	165	163	127		0.041
	シベルメトリン(異性体4)	2850	165	163	127		0.034
シマジン	シマジン	1748	201	186			0.003
スピロキサミン	スピロキサミン(異性体1)	1896	198	101	100		0.002
	スピロキサミン(異性体2)	1948	198	101	100		0.001
ダイアジノン	ダイアジノン	1791	304	179			0.004
ダイアレート	ダイアレート(異性体1)	1696	236	234			0.001
	ダイアレート(異性体2)	1714	236	234			0.003
チオベンカルブ	チオベンカルブ	1985	257	100			0.001
チオトン	チオトン	1724	125	88			0.002
アルドリン及びディルドリン	ディルドリン	2208	277	263			0.010
テクナゼン	テクナゼン	1597	261	259			0.002
テトラクロルピホス	(Z)-テトラクロルピホス	2121	331	329	109		0.002
テブコナゾール	テブコナゾール	2398	250	125			0.005
テフルトリン	テフルトリン	1816	197	177			0.0004
デルタメトリン及びトラロメトリン	デルタメトリン(異性体1)	3029	253	181			0.417
	デルタメトリン(異性体2)	3059	253	181			0.008
テルブトリン	テルブトリン	1944	241	226			0.001
テルブホス	テルブホス	1781	231	153			0.002
デルタメトリン及びトラロメトリン	トラロメトリン分解物1[=デルタメトリン(異性体1)]	3028	253	181			0.587
	トラロメトリン分解物2[=デルタメトリン(異性体2)]	3057	253	181			0.020
トリアジメノール	トリアジメノール	2095	168	112			0.010
トリアジメホン	トリアジメホン	1999	210	208	181		0.010
トリアゾホス	トリアゾホス	2310	177	172	161		0.014
トリアレート	トリアレート	1827	270	268	143		0.003
トリチコナゾール	トリチコナゾール	2556	299	237	235		0.008
トリブホス	トリブホス	2194	202	169			0.005
トリフルミゾール	トリフルミゾール	2087	278	206			0.002
トリフルラリン	トリフルラリン	1661	306	264			0.001
トリフロキシストロピン	トリフロキシストロピン	2333	222	186	116		0.003
ニトラピリン	ニトラピリン	1452	196	194			0.0005
パーバン	パーバン	2190	222	153			0.021
パラチオン	パラチオン	1996	291	139	87		0.004
パラチオンメチル	パラチオンメチル	1899	263	109			0.002
アレスリン	バイオレスリン(異性体1)	2073	136	123			0.003
	バイオレスリン(異性体2)	2075	136	123			0.004
バイオレスメトリン	バイオレスメトリン(異性体1)	2401	171	123			0.223
	バイオレスメトリン(異性体2)	2413	171	123			0.005
ピコリナフェン	ピコリナフェン	2477	376	238			0.001
ピテルタノール	ピテルタノール(異性体1)	2700	171	170	168		0.0004
	ピテルタノール(異性体2)	2714	171	170	168		0.002
ピフェントリン	ピフェントリン	2471	181	166	165		0.001
ピペロニルブトキシド	ピペロニルブトキシド	2407	177	176	149		0.001
ピラクロストロピン	ピラクロストロピン分解物	2964	164	132			0.032
ピラクロホス	ピラクロホス	2664	362	360			0.004
ピラゾホス	ピラゾホス	2619	373	232	221		0.013
ピリダベン	ピリダベン	2732	309	147			0.004
ピリプロキシフェン	ピリプロキシフェン	2578	226	136	78		0.002
ピリミカーブ	ピリミカーブ	1839	238	166	72		0.001
ピリミホスメチル	ピリミホスメチル	1941	305	290			0.001
ピリメタニル	ピリメタニル	1799	199	198			0.0002
ピレトリン	ピレトリン	2297	162	133	123		0.154
	ピレトリン	2629	167	161	160	107	0.258
ピンクロゾリン	ピンクロゾリン	1890	287	285	212		0.002
ファミフル	ファミフル	2334	218	217			0.005
ファミキサドン	ファミキサドン	3106	330	197	196		0.007

品目名	分析対象化合物名	保持指標	測定イオン(m/z)				測定限界 (ng)
フィブロニル	フィブロニル	2049	369	367	351	213	0.002
フェナミホス	フェナミホス	2152	303	288	154		0.009
フェナリモル	フェナリモル	2631	251	219			0.007
フェニトロチオン	フェニトロチオン	1949	277	260			0.003
フェノキサプロップエチル	フェノキサプロップエチル	2667	361	288			0.003
	フェノトリン(異性体1)	2526	183	123			0.007
	フェノトリン(異性体2)	2540	183	123			0.003
フェノバルブ	フェノバルブ	1609	150	121			0.001
フェンアミドン	フェンアミドン	2496	268	238			0.003
フェンチオン	フェンチオン	1990	279	278	169		0.001
フェンバレレート	フェンバレレート(異性体1)	2953	225	167			0.006
	フェンバレレート(異性体2)	2982	225	167			0.022
フェンブコナゾール	フェンブコナゾール	2776	198	129			0.004
フェンプロバトリン	フェンプロバトリン	2495	181	125			0.006
フェンプロピモルフ	フェンプロピモルフ	1991	303	129	128		0.001
ブプロフェジン	ブプロフェジン	2204	305	175	172	106	0.004
フラチオカルブ	フラチオカルブ	2526	194	163			0.003
フラムプロップメチル	フラムプロップメチル	2190	335	276	231	105	77
フルキンコナゾール	フルキンコナゾール	2723	375	342	340		0.001
フルジオキシニル	フルジオキシニル	2169	248	154			0.004
フルシトリネート	フルシトリネート(異性体1)	2847	199	157			0.011
	フルシトリネート(異性体2)	2874	199	157			0.017
フルシラゾール	フルシラゾール	2202	234	233	206		0.001
フルトラニル	フルトラニル	2162	323	281	173		0.003
フルフェナセット	フルフェナセット	1991	211	151			0.011
フルリドン	フルリドン	2908	329	328			0.003
ブロクロラズ	ブロクロラズ	2738	310	180			0.014
ブロシミドン	ブロシミドン	2088	285	283			0.003
ブロパキサホップ	ブロパキサホップ	3277	443	299			0.015
ブロバニル	ブロバニル	1879	217	163	161		0.013
ブロバルギット	ブロバルギット(異性体1及び2)	2402	350	173	135		0.014
プロピコナゾール	プロピコナゾール(異性体1)	2348	261	259			0.007
	プロピコナゾール(異性体2)	2362	261	259			0.006
プロビザミド	プロビザミド	1789	175	173			0.003
プロフェノホス	プロフェノホス	2186	339	337			0.004
プロベタンホス	プロベタンホス	1777	194	138			0.004
プロメトリン	プロメトリン	1918	241	226	184		0.002
プロモプロピレート	プロモプロピレート	2487	343	341	339		0.005
ヘキサクロロベンゼン	ヘキサクロロベンゼン	1717	286	284			0.001
ペナラキシル	ペナラキシル	2331	206	148			0.002
ヘプタクロル	ヘプタクロル	1920	337	274	272		0.001
	ヘプタクロルエポキシド	2072	353	351			0.001
ベルメトリン	ベルメトリン(異性体1)	2706	184	183			0.003
	ベルメトリン(異性体2)	2723	184	183			0.003
ベンコナゾール	ベンコナゾール	2064	248	159			0.003
ベンディメタリン	ベンディメタリン	2047	253	252			0.005
ベンフラカルブ	ベンフラカルブ	2624	190	164	163		0.002
ボスカリド	ボスカリド	2832	344	342	140		0.016
ホスメット	ホスメット	2480	161	160			0.008
ホレート	ホレート	1700	260	231	75		0.010
マラチオン	マラチオン	1965	173	127	125		0.006
マイクロブタニル	マイクロブタニル	2198	179	150			0.006
メタクリホス	メタクリホス	1496	240	208	180		0.003
メチダチオン	メチダチオン	2113	145	85			0.003
メキシクロール	メキシクロール	2491	228	227			0.002
メブレン	メブレン	2097	191	153	111	73	0.009
メトラクロール	メトラクロール	1977	238	162			0.002
	S-メトラクロール	1975	238	162			0.0007
メフェンビルジエチル	メフェンビルジエチル	2424	255	253			0.002
レスメトリン	レスメトリン(異性体1)	2399	171	123			0.037
	レスメトリン(異性体2)	2414	171	123			0.004

化合物名の五十音順に示し、異性体は保持時間順に示した。

保持指標はn-アルカンの保持時間を基準とした値であり、2~4機関で求めた値の平均値を示した。

測定イオンの太字斜字体は定量イオン、その他は定性イオンを示す。

測定限界は標準溶液2μLをGC/MSに注入したときのS/N=10の値であり、各機関で求めた値の中で最も小さい値を示した。

本法に従って試験溶液を調製し、2μLをGC/MSに注入した場合、脂肪以外*1では0.1ngが、脂肪*2では0.025ngが試料中0.01ppmに相当する。

*1 試料5g相当量を用いて試験溶液(最終液量1mL)を調製した場合。

*2 試料0.625g相当量(脂肪含量80%のとき、脂肪0.5gに相当する試料量)を用いて試験溶液(最終液量0.5mL)を調製した場合。

(別表2)GC/MSによる農薬等の一斉試験法(畜水産物)

品目名	分析対象化合物名	保持指標	測定イオン(m/z)				測定限界 (ng)	
-BHC(リンデンをいう。)	-BHC(リンデン)	1775	219	183	181		0.005	
DDT	o,p'-DDT	2289	237	235			0.001	
	p,p'-DDD	2285	237	235			0.001	
	p,p'-DDE	2192	318	246			0.0005	
	p,p'-DDT	2367	237	235			0.001	
	アザメチホス	アザメチホス	2323	324	217	215		0.024
アジンホスメチル	アジンホスメチル	2570	160	132			0.006	
アセタミプリド	アセタミプリド	2458	152	126	90		0.022	
アセフェート	アセフェート	1436	136	94			0.003	
アゾキシストロピン	アゾキシストロピン	3083	388	345	344		0.002	
アトラジン	アトラジン	1755	215	200			0.001	
アムトリン	アムトリン	1912	227	212			0.0006	
アラクロール	アラクロール	1899	237	188	160		0.001	
アラマイト	アラマイト(異性体1)	2190	334	197	185		0.046	
	アラマイト(異性体2)	2196	334	197	185		0.046	
	アラマイト(異性体3)	2208	334	319			0.004	
	アラマイト(異性体4)	2230	334	319			0.009	
アルジカルブ	アルジカルブ分解物	897	115	100			0.012	
アルドキシカルブ	アルドキシカルブ分解物	1131	80	68			0.003	
アルドリノ及びディルドリン	アルドリノ	1993	263	261			0.003	
アレスリン	アレスリン(異性体1及び2)	2066	136	123			0.002	
	アレスリン(異性体3及び4)	2075	136	123			0.002	
イソフェンホス	イソフェンホス	2066	255	213	121		0.004	
	イソフェンホスオキソン	1998	229	201			0.003	
イソプロチオラン	イソプロチオラン	2175	290	231	189	162	118	0.002
イブロジオン	イブロジオン	2452	316	314			0.010	
イマザリル	イマザリル	2171	215	173			0.003	
フェンバレート	エスフェンバレート(異性体1)	2951	419	225	181	167	0.059	
	エスフェンバレート(異性体2)	2982	419	225	181	167	0.003	
エチオン	エチオン	2279	384	231	153		0.0004	
エトキサゾール	エトキサゾール	2487	359	300			0.003	
エトフメセート	エトフメセート	1951	286	207			0.002	
エトプロホス	エトプロホス	1640	200	158			0.006	
エボキシコナゾール	エボキシコナゾール	2424	194	192			0.006	
エンドスルファン	-エンドスルファン	2150	243	241	170		0.012	
	-エンドスルファン	2277	241	195			0.014	
	エンドスルファンスルフェート	2362	274	272			0.004	
エンドリン	エンドリン	2255	317	263	245		0.005	
オキサジアゾン	オキサジアゾン	2187	344	258	175		0.001	
オキサベトリニル	オキサベトリニル	1841	103	77	73		0.003	
オキシフルオルフェン	オキシフルオルフェン	2197	361	252			0.004	
オメトエート	オメトエート	1596	110	156			0.005	
カルバリル	カルバリル	1912	144	115			0.001	
カルフェントラゾンエチル	カルフェントラゾンエチル	2325	340	330	312		0.002	
カルボキシシ	カルボキシシ	2211	235	143	87		0.002	
カルボフラン	カルボフラン	1742	221	164	149		0.001	
キノキシフェン	キノキシフェン	2353	307	237			0.001	
キントゼン	キントゼン	1764	249	237			0.003	
クレソキシムメチル	クレソキシムメチル	2203	206	132	116		0.002	
クロルタールジメチル	クロルタールジメチル	1988	301	299			0.0003	
クロルデン	cis-クロルデン	2148	375	373			0.001	
	trans-クロルデン	2121	375	373			0.001	
	オキシクロルデン	2071	389	387			0.006	
クロルピリホス	クロルピリホス	1980	316	314			0.004	
クロルピリホスメチル	クロルピリホスメチル	1885	288	286			0.0003	
クロルフェナビル	クロルフェナビル	2221	406	247	59		0.002	
クロルフェンゾン	クロルフェンゾン	2166	304	302	175		0.010	
クロルフェンピンホス	(E)-クロルフェンピンホス	2046	323	267			0.009	
	(Z)-クロルフェンピンホス	2069	323	267			0.003	
クロルブファム	クロルブファム	1751	225	223	164	153	0.016	
クロルベンシド	クロルベンシド	2117	270	268	125		0.003	
クロロネブ	クロロネブ	1509	208	206	193	191	0.001	
クロロベンジレート	クロロベンジレート	2262	253	251	139		0.003	
ジクロホップメチル	ジクロホップメチル	2392	342	340	253		0.003	
1,1-ジクロロ-2,2-ビス(4-エチルフェニル)エタン	1,1-ジクロロ-2,2-ビス(4-エチルフェニル)エタン	2243	224	223			0.0005	
ジコホール	ジコホール分解物(4,4'-ジクロロベンゾフェノ)	2014	250	139			0.003	

品目名	分析対象化合物名	保持指標	測定イオン (m/z)					測定限界 (ng)
ジスルホトン	ジスルホトン	1814	274	186	89	88	0.001	
	ジスルホトンスルホン体	2130	213	153			0.003	
シハロトリン	シハロトリン(異性体1)	2572	197	181			0.009	
	シハロトリン(異性体2)	2596	197	181			0.009	
ジフェニルアミン	ジフェニルアミン	1634	169	168	167		0.0004	
ジフェノコナゾール	ジフェノコナゾール(異性体1)	3019	323	265			0.009	
	ジフェノコナゾール(異性体2)	3027	323	265			0.007	
シフルトリン	シフルトリン(異性体1)	2777	226	206			0.034	
	シフルトリン(異性体2)	2791	226	206			0.029	
	シフルトリン(異性体3)	2799	226	206			0.042	
	シフルトリン(異性体4)	2805	226	206			0.050	
ジフルフェニカン	ジフルフェニカン	2396	394	266			0.0002	
シプロコナゾール	シプロコナゾール(異性体1)	2238	224	222			0.008	
	シプロコナゾール(異性体2)	2240	224	222			0.006	
シベルメトリン	シベルメトリン(異性体1)	2823	165	163	127		0.039	
	シベルメトリン(異性体2)	2837	165	163	127		0.025	
	シベルメトリン(異性体3)	2845	165	163	127		0.041	
	シベルメトリン(異性体4)	2850	165	163	127		0.034	
シマジン	シマジン	1748	201	186			0.003	
ジメトエート	ジメトエート	1733	125	93	87		0.005	
ジメトモルフ	ジメトモルフ(異性体1)	3099	387	303	301		0.010	
	ジメトモルフ(異性体2)	3141	387	303	301		0.012	
スピロキサミン	スピロキサミン(異性体1)	1896	198	101	100		0.002	
	スピロキサミン(異性体2)	1948	198	101	100		0.001	
ダイアジノン	ダイアジノン	1791	304	179			0.004	
ダイアレート	ダイアレート(異性体1)	1696	236	234			0.001	
	ダイアレート(異性体2)	1714	236	234			0.003	
チアクロプリド	チアクロプリド	2922	251	101			0.400	
チアベンダゾール	チアベンダゾール	2091	201	174			0.002	
チオベンカルブ	チオベンカルブ	1985	257	100			0.001	
チオメトン	チオメトン	1724	125	88			0.002	
アルドリン及びディルドリン	ディルドリン	2208	277	263			0.010	
テクナゼン	テクナゼン	1597	261	259			0.002	
テトラクロロピホス	(Z)-テトラクロロピホス	2121	331	329	109		0.002	
テブコナゾール	テブコナゾール	2398	250	125			0.005	
テブチウロン	テブチウロン分解物	1524	171	156			0.010	
テフルトリン	テフルトリン	1816	197	177			0.0004	
デルタメトリン及びトラロメトリン(総和として)	デルタメトリン(異性体1)	3029	253	181			0.417	
	デルタメトリン(異性体2)	3059	253	181			0.008	
テルプトリン	テルプトリン	1944	241	226			0.001	
テルブホス	テルブホス	1781	231	153			0.002	
デルタメトリン及びトラロメトリン(総和として)	トラロメトリン分解物1[デルタメトリン(異性体1)]	3028	253	181			0.587	
	トラロメトリン分解物2[デルタメトリン(異性体2)]	3057	253	181			0.020	
トリアジメノール	トリアジメノール	2095	168	112			0.010	
トリアジメホン	トリアジメホン	1999	210	208	181		0.010	
トリアソホス	トリアソホス	2310	177	172	161		0.014	
トリアレート	トリアレート	1827	270	268	143		0.003	
トリチコナゾール	トリチコナゾール	2556	299	237	235		0.008	
トリブホス	トリブホス	2194	202	169			0.005	
トリフルミゾール	トリフルミゾール	2087	278	206			0.002	
トリフルラリン	トリフルラリン	1661	306	264			0.001	
トリフロキシストロピン	トリフロキシストロピン	2333	222	186	116		0.003	
ノルフルラゾン	ノルフルラゾン	2339	305	303	145		0.005	
パーバン	パーバン	2190	222	153			0.021	
パラチオン	パラチオン	1996	291	139	87		0.004	
パラチオンメチル	パラチオンメチル	1899	263	109			0.002	
アレスリン	バイオアレスリン(異性体1)	2073	136	123			0.003	
	バイオアレスリン(異性体2)	2075	136	123			0.004	
バイオレスメトリン	バイオレスメトリン(異性体1)	2401	171	123			0.223	
	バイオレスメトリン(異性体2)	2413	171	123			0.005	
ピコリナフェン	ピコリナフェン	2477	376	238			0.001	
ピテルタノール	ピテルタノール(異性体1)	2700	171	170	168		0.0004	
	ピテルタノール(異性体2)	2714	171	170	168		0.002	
ピフェントリン	ピフェントリン	2471	181	166	165		0.001	
ピペロニルブトキシド	ピペロニルブトキシド	2407	177	176	149		0.001	
ピラクロストロピン	ピラクロストロピン分解物	2964	164	132			0.032	
ピラゾホス	ピラゾホス	2619	373	232	221		0.013	
ピリダベン	ピリダベン	2732	309	147			0.004	
ピリプロキシフェン	ピリプロキシフェン	2578	226	136	78		0.002	

品目名	分析対象化合物名	保持指標	測定イオン (m/z)					測定限界 (ng)
ピリミカーブ	ピリミカーブ	1839	238	166	72			0.001
ピリミホスメチル	ピリミホスメチル	1941	305	290				0.001
ピリメタニル	ピリメタニル	1799	199	198				0.0002
ピレトリン	ピレトリン	2297	162	133	123			0.154
	ピレトリン	2629	167	161	160	107		0.258
ピンクロゾリン	ピンクロゾリン	1890	287	285	212			0.002
ファミフル	ファミフル	2334	218	217				0.005
ファミキサドン	ファミキサドン	3106	330	197	196			0.007
フィプロニル	フィプロニル	2049	369	367	351	213		0.002
フェナミホス	フェナミホス	2152	303	288	154			0.009
フェナリモル	フェナリモル	2631	251	219				0.007
フェントロチオン	フェントロチオン	1949	277	260				0.003
フェノキサプロップエチル	フェノキサプロップエチル	2667	361	288				0.003
フェノトリン	フェノトリン(異性体1)	2526	183	123				0.007
	フェノトリン(異性体2)	2540	183	123				0.003
フェノブカルブ	フェノブカルブ	1609	150	121				0.001
フェンアミドン	フェンアミドン	2496	268	238				0.003
フェンチオン	フェンチオン	1990	279	278	169			0.001
フェンバレレート	フェンバレレート(異性体1)	2953	225	167				0.006
	フェンバレレート(異性体2)	2982	225	167				0.022
フェンブコナゾール	フェンブコナゾール	2776	198	129				0.004
フェンブロパトリン	フェンブロパトリン	2495	181	125				0.006
フェンブロピモルフ	フェンブロピモルフ	1991	303	129	128			0.001
ブプロフェジン	ブプロフェジン	2204	305	175	172	106		0.004
フラチオカルブ	フラチオカルブ	2526	194	163				0.003
フラムプロップメチル	フラムプロップメチル	2190	335	276	231	105	77	0.003
フルキンコナゾール	フルキンコナゾール	2723	375	342	340			0.001
フルジオキソニル	フルジオキソニル	2169	248	154				0.004
フルシトリン	フルシトリン(異性体1)	2847	199	157				0.011
	フルシトリン(異性体2)	2874	199	157				0.017
フルシラゾール	フルシラゾール	2202	234	233	206			0.001
フルトラニル	フルトラニル	2162	323	281	173			0.003
フルトリアホール	フルトリアホール	2152	219	164				0.010
フルバリネート	フルバリネート(異性体1)	2966	252	250				0.004
	フルバリネート(異性体2)	2976	252	250				0.004
フルミオキサジン	フルミオキサジン	2943	354	287				0.030
フルミクロラックベンチル	フルミクロラックベンチル	3077	423	308				0.006
フルリドン	フルリドン	2908	329	328				0.003
ブクロラズ	ブクロラズ	2738	310	180				0.014
ブロシミドン	ブロシミドン	2088	285	283				0.003
ブロボキサゾール	ブロボキサゾール	3277	443	299				0.015
ブロボニル	ブロボニル	1879	217	163	161			0.013
ブロボバルギット	ブロボバルギット(異性体1及び2)	2402	350	173	135			0.014
ブロボコナゾール	ブロボコナゾール(異性体1)	2348	261	259				0.007
	ブロボコナゾール(異性体2)	2362	261	259				0.006
ブロボザミド	ブロボザミド	1789	175	173				0.003
ブロボフェノホス	ブロボフェノホス	2186	339	337				0.004
ブロボタンホス	ブロボタンホス	1777	194	138				0.004
ブロボキスル(ブロボクスル)	ブロボキスル(ブロボクスル)	1612	152	110				0.002
ブロボマシル	ブロボマシル	1952	231	207	205			0.028
ブロボメトリン	ブロボメトリン	1918	241	226	184			0.002
ブロボプロピレート	ブロボプロピレート	2487	343	341	339			0.005
ヘキサジノン	ヘキサジノン	2381	172	171				0.005
ベナラキシル	ベナラキシル	2331	206	148				0.002
ヘブタクロル	ヘブタクロル	1920	337	274	272			0.001
	ヘブタクロルエボキシド	2072	353	351				0.001
ベルメトリン	ベルメトリン(異性体1)	2706	184	183				0.003
	ベルメトリン(異性体2)	2723	184	183				0.003
ベンコナゾール	ベンコナゾール	2064	248	159				0.003
ベンダイオカルブ	ベンダイオカルブ	1674	166	151				0.003
ベンディメタリン	ベンディメタリン	2047	253	252				0.005
ベンフラカルブ	ベンフラカルブ	2624	190	164	163			0.002
ボスカリド	ボスカリド	2832	344	342	140			0.016
ホスメット	ホスメット	2480	161	160				0.008
ホレート	ホレート	1700	260	231	75			0.010
マラチオン	マラチオン	1965	173	127	125			0.006
マイクロブタニル	マイクロブタニル	2198	179	150				0.006
メタミドホス	メタミドホス	1230	141	94				0.004

品目名	分析対象化合物名	保持指標	測定イオン (m/z)				測定限界 (ng)
メタラキシル及びメフェノキサム (総和として)	メタラキシル	1916	249	234	206	132	0.006
メチダチオン	メチダチオン	2113	145	85			0.003
メトキシクロール	メトキシクロール	2491	228	227			0.002
メトブレン	メトブレン	2097	191	153	111	73	0.009
メトラクロール	メトラクロール	1977	238	162			0.002
	<u>S-メトラクロール</u>	1975	238	162			0.0007
メトリブジン	メトリブジン	1888	199	198	144		0.003
メビンホス	<u>メビンホス(異性体1)</u>	1420	192	127			0.007
	<u>メビンホス(異性体2)</u>	1424	192	127			
メタラキシル及びメフェノキサム (総和として)	メフェノキサム	1912	249	206	160		0.002
メフェンビルジエチル	メフェンビルジエチル	2424	255	253			0.002
レスメトリン	<u>レスメトリン(異性体1)</u>	2399	171	123			0.037
	<u>レスメトリン(異性体2)</u>	2414	171	123			0.004

化合物名の五十音順に示し、異性体は保持時間順に示した。

保持指標は *n* - アルカンの保持時間を基準とした値であり、2 ~ 4 機関で求めた値の平均値を示した。

測定イオンの太字斜字体は定量イオン、その他は定性イオンを示す。

測定限界は標準溶液 2 μL を GC/MS に注入したときの S/N = 10 の値であり、各機関で求めた値の中で最も小さい値を示した。

本法に従って試験溶液を調製し、2 μL を GC/MS に注入した場合*1、0.1ng が試料中 0.01ppm に相当する。

*1 試料 5g 相当量を用いて試験溶液 (最終液量 1mL) を調製した場合。

LC/MS による農薬等の一斉試験法（畜水産物）

1．分析対象化合物

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類の場合は、別表1参照
乳、卵及びはちみつの場合は、別表2参照

2．装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）又は液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC/MS/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。
各農薬等標準品 各農薬等の純度が明らかなもの。

4．試験溶液調製法

1) 抽出

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類の場合

筋肉、肝臓、腎臓及び魚介類の場合は、試料20.0 gを量り採る。脂肪の場合は、5.00 gを量り採る。

これに水20 mLを加え、ホモジナイズした後、アセトン及び*n*-ヘキサン（1：2）混液100 mLを加え、さらにホモジナイズした後、毎分2,500回転で5分間遠心分離し、有機層を採る。

残留物に*n*-ヘキサン50 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分2,500回転で5分間遠心分離する。得られた有機層を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別する。ろ液を40以下で濃縮し、溶媒を除去した後、残留物の重量を測定し、これを抽出脂肪重量とする。残留物の全量または一定量を採り、ゲル浸透クロマトグラフィー用カラム（スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム）への負荷量が試料5.0 g相当量になるように（試料5.0 g中の抽出脂肪量が0.5 gを超える場合には、カラムへの負荷量が抽出脂肪0.50 g相当量になるように）アセトン及びシクロヘキサン（1：4）混液に溶かす。

乳、卵及びはちみつの場合

乳及び卵の場合は、試料20.0 gを量り採る。はちみつの場合は、試料20.0 gを量り採り、水20 mLを加えて溶かす。

これにアセトニトリル100 mLを加えて、ホモジナイズした後、毎分2,500回転で5分間遠心分離し、有機層を採る。残留物にアセトニトリル50 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分2,500回転で5分間遠心分離する。得られた有機層を合わせ、塩化ナトリウム10 gを加え、振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。アセトニトリル層に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40以下で濃縮し、溶媒を除去する。乳及び卵の場合は、残留物をゲル浸透クロマトグラフィー用カラム（スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム）への負荷量が試料5.0 g相当量になるようにアセトン及びシクロヘキサン（1：4）混液に溶かす。はちみつの場合は、残留物をアセトン及び*n*-ヘキサン（1：1）混液に溶かし、正確に10 mLとする。

2) 精製

筋肉、脂肪、魚介類、乳及び卵の場合

a ゲル浸透クロマトグラフィー

1) で得られた溶液を毎分3,000回転で5分間遠心分離し、その上澄液5 mLをゲル浸透クロマトグラフィー用カラム（スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム）に注入し、アセトン及びシクロヘキサン（1：4）混液で溶出する。アクリナトリンの保持時間からトリシクラゾールの溶出終了までの溶出液を採り、40以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトン及び*n*-ヘキサン

(1 : 1) 混液 2 mL を加えて溶かす。

b エチレンジアミン - *N* - プロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

エチレンジアミン - *N* - プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに a で得られた溶液を注入し、さらに、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 20 mL を注入して、全溶出液を採り、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をメタノールに溶かし、正確に 5 mL (脂肪の場合は 2.5 mL) としたものを試験溶液とする。

肝臓及び腎臓の場合

a ゲル浸透クロマトグラフィー

1) で得られた溶液を毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、その上澄液 5 mL をゲル浸透クロマトグラフィー用カラム (スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム) に注入し、アセトン及びシクロヘキサン (1 : 4) 混液で溶出する。アクリナトリンの保持時間からアクリナトリンの溶出終了までの画分 (画分) 及び画分 の分取終了からトリシクラゾールの溶出終了までの画分 (画分) を採る。

b エチレンジアミン - *N* - プロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

エチレンジアミン - *N* - プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にアセトン及びシクロヘキサン (1 : 4) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに画分 を注入し、さらに、アセトン及びシクロヘキサン (1 : 4) 混液 5 mL を注入して、全溶出液を採り、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物に *n*-ヘキサン 1 mL を加えて溶かす。

c シリカゲルカラムクロマトグラフィー

シリカゲルミニカラム (690 mg) に *n*-ヘキサン 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに b で得られた溶液を注入し、さらに、*n*-ヘキサン 10 mL を注入し、流出液は捨てる。

次いで、カラムにエーテル及び *n*-ヘキサン (1 : 19) 混液 15 mL を注入し、溶出液を a で得られた画分 に合わせ、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をメタノールに溶かし、正確に 5 mL としたものを試験溶液とする。

はちみつの場合

エチレンジアミン - *N* - プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られたアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液溶液 2.5 mL を注入し、さらに、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 20 mL を注入して、全溶出液を採り、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をメタノールに溶解し、正確に 5 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

各農薬等の標準品について、それぞれのアセトニトリル溶液を調製し、それらを混合した後、適切な濃度範囲の各農薬等を含むメタノール溶液を数点調製する。それぞれ 5 µL を LC/MS 又は LC/MS/MS に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 5 µL を LC/MS 又は LC/MS/MS に注入し、5 の検量線で各農薬等の含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS 又は LC/MS/MS により確認する。

8. 測定条件

LC/MS(/MS)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 3 ~ 3.5 µm) 内径 2 ~ 2.1 mm、長さ 150 mm

カラム温度：40

移動相：A 液及び B 液について下の表の濃度勾配で送液する。

移動相流量：0.20 mL/分

A 液：5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液

B 液：5 mmol/L 酢酸アンモニウムメタノール溶液

時間 (分)	A液 (%)	B液 (%)
0	85	15
1	60	40
3.5	60	40
6	50	50
8	45	55
17.5	5	95
30	5	95
30	85	15

イオン化モード：ESI

主なイオン (m/z): 別表 1 及び別表 2 参照

保持時間の目安：別表 1 及び別表 2 参照

9. 定量限界

別表 1 及び別表 2 参照

ただし、別表 1 及び別表 2 は測定限界 (ng) の例を示したものである。

10. 留意事項

1) 試験法の概要

各農薬等を試料からアセトン及び n -ヘキサン (1 : 2) 混液で抽出 (乳、卵及びはちみつの場合にはアセトニトリルで抽出) し、ゲル浸透クロマトグラフィー及びエチレンジアミン - N - プロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し (肝臓及び腎臓の場合はシリカゲルカラムクロマトグラフィーを追加し、はちみつの場合にはゲル浸透クロマトグラフィーを省略する)、LC/MS又はLC/MS/MS で測定及び確認する方法である。

2) 注意点

別表 1 及び別表 2 は本法を適用できる化合物を五十音順に示したものであるが、規制対象となる品目には本法を適用できない代謝物等の化合物が含まれる場合があるので留意すること。また、保持時間の異なる異性体は、化合物名欄に個別に示した。

本試験法は別表 1 及び別表 2 に示した全ての化合物の同時分析を保証したものではない。化合物同士の相互作用による分解等及び測定への干渉等のおそれがあるため、分析対象とする化合物の組み合わせにおいてあらかじめこれらの点を検証する必要がある。

アセトニトリル抽出液に添加する塩化ナトリウム (10 g) が多すぎる場合は、減らしてもよいが、十分に飽和する量を加える。

濃縮し、溶媒を完全に除去する操作は、窒素気流を用いて穏やかに行う。

ゲル浸透クロマトグラフィー条件の例を以下に示す。

カラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム (内径20 mm、長さ300 mm) にガードカラムとしてスチレンジビニルベンゼン共重合体カラム (内径20 mm、長さ100 mm) を接続したものの、又は同等品

移動相：アセトン及びシクロヘキサン (1 : 4) 混液

流速：5 mL/min

カラム温度：40

注入量：5 mL

モニター波長：254 nm

分取範囲：次の方法によりあらかじめ決定しておく。

アクリナトリン及びトリシクラゾールの 5 mg/L 混合溶液を移動相で調製し、その 5 mL をゲル浸透クロマトグラフィー用カラムに注入して 254 nm でモニターし、溶出位置を確認する。溶出液を適当な間隔で分取して LC/MS で測定するなど他の適切な方法を用いてもよい。

a 筋肉、脂肪、魚介類、乳及び卵の場合の分取範囲（図 1 参照）

アクリナトリンの保持時間からトリシクラゾールの溶出が終了するまで。

（例）58～165 mL（合計 107 mL）

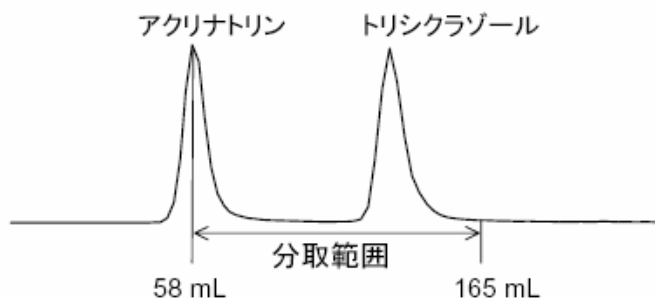


図 1 筋肉、脂肪、魚介類、乳及び卵の場合の分取範囲

b 肝臓及び腎臓の場合の分取範囲（図 2 参照）

画分Ⅰ：アクリナトリンの保持時間からアクリナトリンの溶出が終了するまで。

画分Ⅱ：画分Ⅰの分取終了からトリシクラゾールの溶出が終了するまで。

（例）画分Ⅰ：58～65 mL（合計 7 mL）、画分Ⅱ：65～165 mL（合計 100 mL）

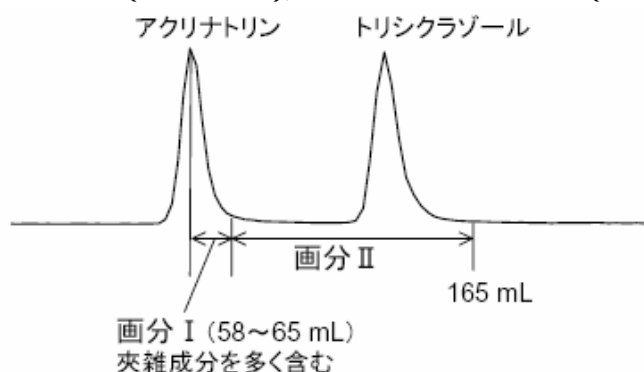


図 2 肝臓及び腎臓の場合の分取範囲

ミニカラムは使用条件で各農薬等の溶出調査を事前に行い、溶出位置を確認してから使用する。

脂肪含有量が高い試料では、試験溶液の濃縮倍率が低くなる。その際、目標の測定感度が得られない場合には、抽出脂肪を用いてゲル浸透クロマトグラフィー以降の操作を複数回行い、検液を合わせて試験溶液とする。

LC/MS 又は LC/MS/MS の感度によっては、試験溶液をさらにメタノールで希釈する。

特にメタノール溶液中では不安定な農薬等があるため、測定は試験溶液の調製後速やかに行う。検量線用溶液は用時調製する。常温のオートサンプラーラック中に試験溶液を長時間置かない。

正確な測定値を得るためには、マトリックス添加標準溶液又は標準添加法を用いることが必要な場合がある。

定量限界は、使用する機器、試験溶液の濃縮倍率及び試験溶液注入量により異なるので、必要に応じて最適条件を検討する。

11. 参考文献

なし

12. 類型

C

(別表1) LC/MSによる農薬等の一斉試験法(畜水産物)

品目名	分析対象化合物名	相対保持時間	LC/MS 測定イオン (m/z)				LC/MS/MS 測定イオン (m/z)				測定限界 (ng), S/N=10			
			ポジティブ測定		ネガティブ測定		ポジティブ測定				LC/MS	LC/MS/MS		
			定量	定性	定量	定性	親	子(定量)	子(定性)					
アメトリン	アメトリン	1.09					228	186	96	-	0.0003			
アラマイト	アラマイト	1.36					357	191	167	105	-	0.0005		
エトキサゾール	エトキサゾール	1.41					360	141	304	177	-	0.0001		
エボキシコナゾール	エボキシコナゾール	1.19					331	330	121	123	101	-	0.0002	
オキサベトリニル	オキサベトリニル	1.08					233	147	87	77	-	0.0020		
カルフェントラゾンエチル	カルフェントラゾンエチル	1.23					412	346	366	-	-	0.0004		
キザロホップエチル	キザロホップエチル	1.34					374	300	299	272	91	-	0.0005	
	キザロホップ-p-テフリル	1.32					429	85	299	-	-	0.0008		
クレトジム	クレトジム(異性体1)	0.93					360	164	268	166	-	0.0060		
	クレトジム(異性体2)	1.05					360	164	268	166	-	0.0021		
クロキントセットメキシル	クロキントセットメキシル	1.37					337	336	239	238	193	192	-	0.0002
クロジナホッププロバルギル	クロジナホッププロバルギル	1.23					350	266	238	91	-	-	0.0002	
クロフェンテジン	クロフェンテジン	1.29					303	138	102	-	-	-	0.0005	
クロルブファム	クロルブファム	1.08					224	172	154	-	-	-	0.0006	
クロルフルアズロン	クロルフルアズロン	1.43					540	383	158	-	-	-	0.0007	
ジフルベンズロン	ジフルベンズロン	1.21					311	158	141	-	-	-	0.0005	
シプロジニル	シプロジニル	1.26					226	108	93	118	93	-	0.0021	
セトキシジム	セトキシジム(異性体1)	0.89					328	178	220	180	-	-	0.0432	
	セトキシジム(異性体2)	1.11					328	178	220	180	-	-	0.0004	
ダイアレート	ダイアレート	1.32					270	86	143	109	-	-	0.0088	
テブフェノジド	テブフェノジド	1.21					353	297	133	297	133	-	0.0008	
テフルベンズロン	テフルベンズロン	1.31			-379		381	158	141	-	0.004	0.0029	-	0.0003
トリフルミゾール	トリフルミゾール	1.28	346				346	278	73	-	0.006	0.0003	-	-
	トリフルミゾール代謝物	1.12	295											
トリフルムロン	トリフルムロン	1.23	359				359	156	139	-	0.057	0.0003	-	-
トリフロキシストロピン	トリフロキシストロピン	1.27	409				409	186	145	-	0.001	0.0002	-	-
ノバルロン	ノバルロン	1.28			-491		493	158	141	-	0.007	0.0012	-	-
バーバン	バーバン	1.11	258				258	178	143	-	0.212	0.0110	-	-
ピラクロストロピン	ピラクロストロピン	1.23	388				388	194	163	-	0.008	0.0004	-	-
ピラゾホス	ピラゾホス	1.24	374				374	222	194	-	0.020	0.0019	-	-
ピリメタニル	ピリメタニル	1.08	200				200	107	182	-	0.007	0.0059	-	-
フェンアミドン	フェンアミドン	1.08	312				312	92	236	-	0.003	0.0003	-	-
フェンピロキシメート	フェンピロキシメート(E)	1.37	422				422	366	135	-	0.005	0.0002	-	-
	フェンピロキシメート(Z)	1.32	422				422	366	138	-	0.007	0.0003	-	-
フェンプロビモルフ	フェンプロビモルフ	1.44	304				304	147	130	-	0.001	0.0007	-	-
ブタフェナシル	ブタフェナシル	1.14	492				492	331	180	-	0.004	0.0003	-	-
ブトロキシジム	ブトロキシジム(異性体1)	1.01					400	138	354	-	-	0.1006	-	-
	ブトロキシジム(異性体2)	1.08					400	138	354	-	-	0.0003	-	-
フラムプロップメチル	フラムプロップメチル	1.13	336				336	105	77	-	0.007	0.0003	-	-
フルアズロン	フルアズロン	1.32			-504	-305	506	158	141	-	0.003	0.0004	-	-
フルフェナセット	フルフェナセット	1.15	364				364	194	152	-	0.022	0.0002	-	-
プロバキザホップ	プロバキザホップ	1.31	444				444	100	70	-	0.027	0.0007	-	-
プロメトリン	プロメトリン	1.15	242				242	158	200	-	0.005	0.0002	-	-
ヘキシチアゾクス	ヘキシチアゾクス	1.33	353				353	228	168	-	0.068	0.0009	-	-
ベナラキシル	ベナラキシル	1.22	326				326	148	294	-	0.002	0.0001	-	-
ベンフラカルブ	ベンフラカルブ	1.29	411				411	195	190	-	0.006	0.0002	-	-
ホキシム	ホキシム	1.23	299				299	129	77	-	0.007	0.0016	-	-
ボスカリド	ボスカリド	1.09	343	342			343	307	271	-	0.028	0.0008	-	-
メトキシフェノジド	メトキシフェノジド	1.11	369	313			369	149	91	-	0.015	0.0007	-	-
メフェンビルジエチル	メフェンビルジエチル	1.23	373	375			373	327	160	-	0.026	0.0002	-	-
リニユロン	リニユロン	1.07			-247	-249	249	182	160	-	0.014	0.0010	-	-
ルフエヌロン	ルフエヌロン	1.31			-509	-511	511	141	158	-	0.004	0.0013	-	-

化合物名の五十音順に示し、異性体は保持時間順に示した。

相対保持時間はイソキサフルトール(保持時間15-18分)を1とした相対値であり、2機関で求めた値の平均値を示した。

測定イオンの太字斜字体は定量イオン、その他は定性イオンを示す。

測定限界は標準溶液をLC/MSまたはLC/MS/MSに注入したときのS/N=10の値であり、LC/MSは1機関で求めた値、LC/MS/MSは1~2機関で求めた値の小さい方の値を示した。

本法に従って試験溶液を調製し、5 μLをLC/MS(/MS)に注入した場合、脂肪以外¹では0.05ngが、脂肪²では0.0125ngが試料中0.01ppmに相当する

*1 試料5g相当量を用いて試験溶液(最終液量5mL)を調製した場合。

*2 試料0.625g相当量(脂肪含量80%のとき、脂肪0.5gに相当する試料量)を用いて試験溶液(最終液量2.5mL)を調製した場合。

(別表2) LC/MSによる農薬等の一斉試験法(畜水産物)

品目名	分析対象化合物名	相対保持時間	LC/MS 測定イオン (m/z)				LC/MS/MS 測定イオン (m/z)				測定限界 (ng)			
			ポジティブ測定		ネガティブ測定		ポジティブ測定				LC/MS	LC/MS/MS		
			定量	定性	定量	定性	親	子(定量)	子(定性)					
アザメチホス	アザメチホス	0.79					325	183	139	112	-	0.0005		
アミトラス	アミトラス	1.45					294	163	253	122	-	0.0003		
アメトリン	アメトリン	1.09					228	186	96		-	0.0003		
アラマイト	アラマイト	1.36					357	191	167	105	-	0.0005		
アルジカルブ	アルジカルブ	0.70					213	208	116	89	116	89	-	0.0128
アルドキシカルブ	アルドキシカルブ	0.37					223	86	148	76	-	-	0.0089	
エトキサゾール	エトキサゾール	1.41					360	141	304	177	-	-	0.0001	
エボキシコナゾール	エボキシコナゾール	1.19					331	330	121	123	101	-	0.0002	
オキサベトリニル	オキサベトリニル	1.08					233	147	87	77	-	-	0.0020	
オキサミル	オキサミル	0.39					237	90	72	90	72	-	0.0085	
オキシデメトンメチル	オキシデメトンメチル	0.40					247	169	109	105	-	-	0.0009	
カルバリル	カルバリル	0.89					202	145	127	146	117	-	0.0023	
カルフェントラゾンエチル	カルフェントラゾンエチル	1.23					412	346	366		-	-	0.0004	
カルベタミド	カルベタミド	0.75					237	192	118	120	118	-	0.0054	
カルベンダジム	カルベンダジム	0.63					192	160	132		-	-	0.0011	
カルボスルファン	カルボスルファン	1.50					382	381	118	160		-	0.0005	
カルボフラン	カルボフラン	0.86	222				222	165	123		0.008	-	0.0005	
	3-ヒドロキシカルボフラン	0.54					238	163	181		-	-	0.0027	
キザロホップエチル	キザロホップエチル	1.34					374	300	299	272	91	-	0.0005	
	キザロホップ-p-テフリル	1.32					429	85	299		-	-	0.0008	
クレトジム	クレトジム(異性体1)	0.93					360	164	268	166	-	-	0.0060	
	クレトジム(異性体2)	1.05					360	164	268	166	-	-	0.0021	
クロキントセットメキシル	クロキントセットメキシル	1.37					337	336	239	238	193	192	-	0.0002
クロジナホッププロバルギル	クロジナホッププロバルギル	1.23					350	266	238	91	-	-	0.0002	
クロチアニジン	クロチアニジン	0.49					250	169	132		-	-	0.0022	
クロフェンテジン	クロフェンテジン	1.29					303	138	102		-	-	0.0005	
クロリダゾン	クロリダゾン	0.56					222	104	92		-	-	0.0017	
クロルブファム	クロルブファム	1.08					224	172	154		-	-	0.0006	
クロルフルアズロン	クロルフルアズロン	1.43					540	383	158		-	-	0.0007	
ジウロン	ジウロン	1.00					233	72	233		-	-	0.0091	
ジフルベンズロン	ジフルベンズロン	1.21					311	158	141		-	-	0.0005	
シプロジニル	シプロジニル	1.26					226	108	93	118	93	-	0.0021	
ジメトモルフ	ジメトモルフ(E)	1.10					388	301	165		-	-	0.0005	
	ジメトモルフ(Z)	1.13					388	301	165		-	-	0.0002	
シモキサニル	シモキサニル	0.60					199	128	111		-	-	0.0024	
セトキシジム	セトキシジム(異性体1)	0.89					328	178	220	180	-	-	0.0432	
	セトキシジム(異性体2)	1.11					328	178	220	180	-	-	0.0004	
ダイアレート	ダイアレート	1.32					270	86	143	109	-	-	0.0088	
チアクロプリド	チアクロプリド	0.62					253	126	90		-	-	0.0011	
チアベンダゾール	チアベンダゾール	0.74					202	175	131		-	-	0.0005	
チアメトキサム	チアメトキサム	0.42					292	211	246	181	-	-	0.0017	
テブチウロン	テブチウロン	0.86					229	172	116		-	-	0.0003	
テブフェノジド	テブフェノジド	1.21					353	297	133	297	133	-	0.0008	
テブラロキシジム	テブラロキシジム(異性体1)	0.57					342	250	166		-	-	0.0449	
	テブラロキシジム(異性体2)	0.79	342				342	250	166		0.080	-	0.0037	
トリフルミゾール	トリフルミゾール	1.28	346				346	278	73		0.006	-	0.0003	
	トリフルミゾール代謝物	1.12	295								0.003	-	-	
トリフルムロン	トリフルムロン	1.23	359				359	156	139		0.057	-	0.0003	
トリフロキシストロビン	トリフロキシストロビン	1.27	409				409	186	145		0.001	-	0.0002	
トリホリン	トリホリン(異性体1)	1.03	390	392			435	390	97		0.061	-	0.0163	
	トリホリン(異性体2)	1.05	390	392			435	390	97		-	-	0.0390	
ノバルロン	ノバルロン	1.28			-491		493	158	141		0.007	-	0.0012	
パーバン	パーバン	1.11	258				258	178	143		0.212	-	0.0110	
バルベンダゾール	バルベンダゾール	1.16	248				248	216	173		0.025	-	0.0001	
ピメトロジン	ピメトロジン	0.48	218				218	105	79		0.007	-	0.0004	
ピラクロストロビン	ピラクロストロビン	1.23	388				388	194	163		0.008	-	0.0004	
ピラゾホス	ピラゾホス	1.24	374				374	222	194		0.020	-	0.0019	
ピリメタニル	ピリメタニル	1.08	200				200	107	182		0.007	-	0.0059	
フェンアミドン	フェンアミドン	1.08	312				312	92	236		0.003	-	0.0003	
フェンピロキシメート	フェンピロキシメート(E)	1.37	422				422	366	135		0.005	-	0.0002	
	フェンピロキシメート(Z)	1.32	422				422	366	138		0.007	-	0.0003	
フェンプロビモルフ	フェンプロビモルフ	1.44	304				304	147	130		0.001	-	0.0007	
フェンメディファム	フェンメディファム	1.04	301	318			318	168	136		0.029	-	0.0002	
ブタフェナシル	ブタフェナシル	1.14	492				492	331	180		0.004	-	0.0003	
ブトロキシジム	ブトロキシジム(異性体1)	1.01					400	138	354		-	-	0.1006	
	ブトロキシジム(異性体2)	1.08					400	138	354		-	-	0.0003	
フラムプロップメチル	フラムプロップメチル	1.13	336				336	105	77		0.007	-	0.0003	
フルリドン	フルリドン	1.05	330				330	310	309		0.002	-	0.0001	
プロバキサホップ	プロバキサホップ	1.31	444				444	100	70		0.027	-	0.0007	
プロマシル	プロマシル	0.85	263	205			261	205	188		0.042	-	0.0017	
プロメトリン	プロメトリン	1.15	242				242	158	200		0.005	-	0.0002	

品目名	分析対象化合物名	相対保持時間	LC/MS 測定イオン (m/z)				LC/MS/MS 測定イオン (m/z)			測定限界 (ng)	
			ポジティブ測定		ネガティブ測定		ポジティブ測定			LC/MS	LC/MS/MS
			定量	定性	定量	定性	親	子(定量)	子(定性)		
ヘキシチアゾクス	ヘキシチアゾクス	1.33	353				353	228	168	0.068	0.0009
ベナラキシル	ベナラキシル	1.22	326				326	148	294	0.002	0.0001
ボスカリド	ボスカリド	1.09	343	342			343	307	271	0.028	0.0008
メトキシフェノジド	メトキシフェノジド	1.11	369	313			369	149	91	0.015	0.0007
メフェンビルジエチル	メフェンビルジエチル	1.23	373	375			373	327	160	0.026	0.0002
モノリニュロン	モノリニュロン	0.92	215				215	126	148	0.008	0.0024
リニュロン	リニュロン	1.07			-247	-249	249	182	160	0.010	0.0010
ルフェヌロン	ルフェヌロン	1.31			-509	-511	511	141	158	0.004	0.0013

化合物名の五十音順に示し、異性体は保持時間順に示した。

相対保持時間はイソキサフルトール(保持時間15-18分)を1とした相対値であり、2機関で求めた値の平均値を示した。

測定イオンの太字斜字体は定量イオン、その他は定性イオンを示す。

測定限界は標準溶液をLC/MSまたはLC/MS/MSに注入したときのS/N = 10の値であり、LC/MSは1機関で求めた値、LC/MS/MSは1~2機関で求めた値の小さい方の値を示した。

本法に従って試験溶液を調製し、5 μLをLC/MS(/MS)に注入した場合^{*1}、0.05ngが試料中0.01ppmに相当する。

*1 試料5 g相当量を用いて試験溶液(最終液量5 mL)を調製した場合。

第 3 章 個別試験法

(変更 : エチプロール試験法、ジクロルボス及びトリクロルホン試験法、シアゾファミド試験法、トルフェンピラド試験法、ノバルロン試験法、ビフェナゼート試験法、フェンアミドン試験法、プロヒドロジャスモン試験法、ボスカリド試験法)

エチプロール試験法

1．分析対象化合物

エチプロール

2．装置

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC（UV））

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

ベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg） 内径 12~13 mm のポリエチレン製のカラム管に、ベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲル 1,000 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

アセトニトリル 高速液体クロマトグラフ用に製造されたもの

エチプロール標準品 本品はエチプロール 98%以上を含む。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

穀類の場合は、試料 10.0 g を量り採り、これに水 20 mL を加え、2 時間放置する。茶の場合は、試料 5.0 g を量り採り、上記と同様に処理する。果実の場合は、試料 20.0 g を量り採る。

これにアセトン 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液にアセトンを加えて正確に 200 mL とする。穀類及び果実の場合は、この 100 mL を採り、40 以下で約 15 mL まで濃縮する。茶の場合は、この 40 mL を採り、40 以下で約 5 mL まで濃縮する。これに 10% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン(1:1)混液 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液を液相分離ろ紙を用いてろ過した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及び *n*-ヘキサン(1:1)混液 5 mL を加えて溶かす。

2) 精製

グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) に酢酸エチル及び *n*-ヘキサン(1:1)混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに、1) で得られた溶液を注入した後、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン(1:1)混液 10 mL を注入する。全溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン(1:9)混液 5 mL を加えて溶かす。

アミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (360 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサン(1:9)混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、アセトン及び *n*-ヘキサン(1:9)混液 5 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン及び *n*-ヘキサン(1:4)混液 10 mL を注入し、溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル 5 mL を加えて溶かす。

ベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

ベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にアセトン 10 mL 及び酢酸エチル 10 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに 得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、酢酸エチル 5 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン 10 mL を注入し、溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水(1:1)混液に溶解し、正確に 4 mL（穀類の場合は 2 mL、茶の場合は 1 mL）としたものを試験溶液とする。

5．検量線の作成

エチプロール標準品の 0.05 ~ 1 mg/L アセトニトリル及び水 (1 : 1) 混液 溶液を数点調製し、それぞれ 40 µL を HPLC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6．定量

試験溶液 40 µL を HPLC に注入し、5 の検量線でエチプロールの含量を求める。

7．測定条件

1) HPLC

検出器：UV (波長 275 nm)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 5 µm) 内径 4 ~ 4.6 mm、長さ 250 mm

カラム温度：40

移動相：アセトニトリル及び水 (1 : 1) 混液

保持時間の目安：9分

2) LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 5 µm) 内径 2 mm、長さ 150 mm

移動相：アセトニトリル及び水 (1 : 1) 混液

イオン化モード：ESI

主なイオン (m/z): 正イオンモード 397、399、負イオンモード 395、397

注入量：4 µL

保持時間の目安：7分

8．定量限界

0.02 mg/kg (茶にあっては 0.05 mg/kg)

9．留意事項

1) 試験法の概要

エチプロールを試料からアセトンで抽出し、酢酸エチル及び n -ヘキサン (1 : 1) 混液 に転溶する。グラファイトカーボンミニカラム、アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム及びベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム により精製した後、HPLC (UV) で測定し、LC/MS で確認する方法である。

2) 注意点

転溶溶媒を脱水するために、液相分離紙の代わりに無水硫酸ナトリウムを使用した場合は、回収率の大幅な低下を招く。

転溶操作時にエマルジョンが生成する場合がある。代替法としては、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) を利用する方法がある。[操作概要：試料抽出液 (できるだけ溶媒を除去した状態) をカラム (アセトニトリル 5 mL 及び水 5 mL で順次洗浄したもの) に負荷した後、アセトニトリル及び水 (7 : 13) 混液 10 mL で洗浄、アセトニトリル及び水 (3 : 2) 混液 10 mL 又はアセトニトリル 10 mL で溶出する。]

ベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィーは、夾雑物の少ない試料では、省略することも可能である。

10．参考文献

なし

11．類型

C

ジクロールボス及びトリクロールホン試験法

1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
ジクロールボス	ジクロールボス
トリクロールホン	トリクロールホン

2. 装置

アルカリ熱イオン化検出器，炎光光度型検出器（リン用干渉フィルター，波長 526nm）又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ及びガスクロマトグラフ・質量分析計を用いる。

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の 2 に示すものを用いる。

ジクロールボス 本品はジクロールボス 97%以上を含む。

沸点 本品の沸点は 128～129（減圧・2.5kPa）である。

トリクロールホン 本品はトリクロールホン 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 83～84 である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出法

穀類，豆類及び種実類の場合

検体を 420 μm の標準網ふるいを通して粉砕した後，その 10.0 g を量り採り，水 20 mL を加え，2 時間放置する。

これにアセトン 100 mL を加え，3 分間細砕した後，ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り，アセトン 50 mL を加え，3 分間細砕した後，上記と同様に操作して，ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ，40 以下で約 30 mL に濃縮する。

これをあらかじめ 10%塩化ナトリウム溶液 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗に移す。酢酸エチル 100 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い，洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後，静置し，酢酸エチル層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル 50 mL を加え，上記と同様に操作して，酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え，時々振り混ぜながら 15 分間放置した後，すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで酢酸エチル 20 mL を用いて三角フラスコを洗い，その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ，40 以下で酢酸エチルを除去する。

この残留物に *n*-ヘキサン 30 mL を加え，100 mL の分液漏斗に移す。これに *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え，振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後，静置し，アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。*n*-ヘキサン層に *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え，上記と同様の操作を 2 回繰り返し，アセトニトリル層をその減圧濃縮器中に合わせ，40 以下で約 1 mL に濃縮し，更に室温で窒素気流下で乾固する。この残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン（1：1）混液 5 mL を加えて溶かす。

果実，野菜，抹茶及びホップの場合

果実及び野菜の場合は，検体約 1 kg を精密に量り，必要に応じ適量の水を量つて加え，細切均一化した後，検体 20.0 g に相当する量を量り採る。

ホップの場合は，検体を粉砕した後，その 5.00 g を量り採り，水 20 mL を加え，2 時間放置する。

抹茶の場合は、検体 5.00 g を量り採り、水 20 mL を加え、2 時間放置する。

これにアセトン 100 mL を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン 50 mL を加え、3 分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で約 30 mL に濃縮する。

これをあらかじめ 10% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗に移す。酢酸エチル 100 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル 50 mL を加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで酢酸エチル 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で約 1 mL に濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。この残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 5 mL を加えて溶かす。

抹茶以外の茶の場合

検体 9.00 g を 100 の水 540 mL に浸し、室温で 5 分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液 360 mL を 500 mL の三角フラスコに移す。

これに飽和酢酸鉛溶液 2 mL を加え、室温で 1 時間放置した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ液を 1,000 mL の分液漏斗に移す。次いでアセトン 50 mL を用いてろ紙上の残留物を洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。これに塩化ナトリウム 100 g 及びエーテル 100 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、エーテル層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層にエーテル 100 mL を加え、上記と同様に操作して、エーテル層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いでエーテル 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で約 1 mL に濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。この残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 5 mL を加えて溶かす。

2) 精製法

ほうれんそう及び茶以外の作物の場合

内径 15 mm、長さ 300 mm のクロマトグラフ管にカラムクロマトグラフィー用シリカゲル (粒径 63~200 μm) 5 g をアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液に懸濁したもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約 5 g を入れ、カラムの上端に少量のアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液が残る程度までアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液を流出させる。このカラムに 1) 抽出法で得られた溶液を注入した後、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 150 mL を注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40 以下で約 1 mL に濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。この残留物にアセトンを加えて溶かし、正確に 2 mL (果実及び野菜の場合は、4 mL) とする。

ほうれんそう及び茶の場合

内径 15 mm、長さ 300 mm のクロマトグラフ管にカラムクロマトグラフィー用シリカゲル (粒径 63~200 μm) 5 g をアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液に懸濁したもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約 5 g を入れ、カラムの上端に少量のアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液が残る程度までアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液を流出させる。このカラムに 1) 抽出法で得られた溶液を注入した後、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 150 mL を注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40 以下で約 1 mL に濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。この残留物にアセトンを加えて溶かし、正確に 4 mL (抹茶の場合は、8 mL) とする。

グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) にアセトン 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記の溶液 1 mL を注入した後、アセトン 10 mL を注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40 以下で約 1 mL に濃縮する。

3) 誘導体化

10 mL のねじ共栓付き試験管に 2) 精製法で得られた溶液 1 mL (ほうれんそう及び茶の場合は全量) を採り、室温で窒素気流下でアセトン除去する。これに *N*-メチルピストリフルオロアセトアミド 100 μ L 並びにアセトン及びピリジン (1,000 : 1) 混液 900 μ L を加える。密栓して時々振り混ぜながら 60 で 2 時間加熱した後、室温になるまで放置したものを試験溶液とする。

5. 操作法

1) 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品のアセトン溶液について 4. 試験溶液の調製の 3) 誘導体化と同様に操作したものと一致しなければならない。

操作条件

カラム 内径 0.53 mm, 長さ 10 ~ 30m のケイ酸ガラス製の細管に, ガスクロマトグラフィー用 14% シアノプロピルフェニル - メチルシリコンを 1.0 μ m の厚さでコーティングしたもの。

カラム温度 50 で 1 分間保持し, その後毎分 20 で昇温し 240 に到達後 10 分間保持する。

試験溶液注入口温度 240

検出器 245 で操作する。

ガス流量 キャリヤーガスとしてヘリウムを用いる。ジクロロボスが約 3 分で流出する流速に調整する。空気及び水素の流量を至適条件に調整する。

2) 定量試験

1) 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき, ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

3) 確認試験

1) 定性試験と同様の操作条件でガスクロマトグラフィー・質量分析を行う。試験結果は標準品のアセトン溶液について 4. 試験溶液の調製の 3) 誘導体化と同様に操作したものと一致しなければならない。また, 必要に応じ, ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

6. 定量限界

ジクロロボス 0.01 mg/kg

トリクロロホン 0.01 mg/kg

7. 留意事項

1) ジクロロボスには誘導体化操作による変化がないこと。ガスクロマトグラフ注入口やカラムが汚れているとトリクロロホン誘導体が分解しやすくなること。トリクロロホンの誘導体化の加熱時間が 3 時間を超えると収率が悪くなること。検出器にアルカリ熱イオン化検出器, 高感度窒素・リン検出器を使用する場合, カラムは, 5% フェニルメチルポリシロキサンをコーティングしたもの等が望ましいこと。

8. 参考文献

なし

9. 類型

シアゾファミド試験法

1．分析対象化合物

シアゾファミド

2．装置

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC（UV））
液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

シアゾファミド標準品 本品はシアゾファミド99%以上を含み、融点は152～153 である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

穀類及び種実類の場合は、試料10.0 gを量り採り、水20 mLを加え、2時間放置する。果実及び野菜の場合は、試料20.0 gを量り採る。

これにアセトニトリル100 mLを加え、3分間ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトニトリル50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、40 以下で約30 mLに濃縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、*n*-ヘキサン100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー

クロマトグラフ管（内径15 mm）に、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム5 gを*n*-ヘキサンに懸濁させて充てんし、上に無水硫酸ナトリウム5 gを積層する。このカラムに1)で得られた溶液を注入した後、アセトン及び*n*-ヘキサン（1：19）混液50 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン及び*n*-ヘキサン（3：17）混液50 mLを注入し、溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン5 mLを加えて溶かす。

グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム(500 mg)にアセトン10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに 得られた溶液を注入した後、アセトン5 mLを注入する。全溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にエーテル及び*n*-ヘキサン（3：17）混液5 mLを加えて溶かす。

シリカゲルカラムクロマトグラフィー

シリカゲルミニカラム（690 mg）にエーテル及び*n*-ヘキサン（3：17）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに 得られた溶液を注入した後、さらに、エーテル及び*n*-ヘキサン（3：17）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、エーテル及び*n*-ヘキサン（3：7）混液20 mLを注入し、溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリルに溶解し、穀類及び種実類の場合は正確に2 mL、果実及び野菜の場合は正確に4 mLとしたものを試験溶液とする。

5．検量線の作成

シアゾファミド標準品の0.05～1 mg/Lアセトニトリル溶液を数点調製し、それぞれ20 μLをHPLCに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液20 μL をHPLCに注入し、5の検量線でシアゾファミドの含量を求める。

7. 測定条件

1) HPLC

検出器：UV（波長280 nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径5 μm ）、内径4～4.6 mm、長さ250 mm

カラム温度：40

移動相：アセトニトリル及び水（3：2）混液

保持時間の目安：12分

2) LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径5 μm)、内径2 mm、長さ150 mm

移動相：0.002 mol/L酢酸アンモニウム溶液及びメタノール混液（7：3）から（1：9）までの濃度勾配を8分間で行い、（1：9）で6分間保持する。

イオン化モード：ESI

主なイオン(m/z)：正イオンモード 325、負イオンモード 216

注入量：1 μL

保持時間の目安：14 分

8. 定量限界

0.01 mg/kg

9. 留意事項

1) 試験法の概要

シアゾファミドを試料からアセトニトリルで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。合成ケイ酸マグネシウムカラム、グラファイトカーボンミニカラム及びシリカゲルミニカラムにより精製した後、HPLC(UV)で測定し、LC/MSで確認する方法である。

2) 注意点

標準溶液及び試料溶液中のシアゾファミドは、室温で徐々に分解するため、冷蔵で保存する。

HPLC測定時において試料由来の夾雑成分のピークが、シアゾファミドの溶出位置に認められた場合、HPLCのカラムを変更することにより、シアゾファミドを試料由来の夾雑成分のピークから分離することができる。通常用いているオクタデシルシリル化シリカゲルからトリアコンチルシリル化シリカゲル(C30)あるいはフェニルシリル化シリカゲル(Ph)などの充てん剤を用いたカラムに変更することが有効である。

グラファイトカーボンミニカラムクロマトグラフィーは、夾雑物の少ない試料では、省略することもできる。

精製が不十分な場合、アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(360 mg)による追加精製が可能である。

酢酸及び*n*-ヘキサン(0.1：100)混液10 mLで予備洗浄を行う。試料溶液を酢酸及び*n*-ヘキサン(0.1：100)混液10 mLで負荷し、流出液を捨てた後、エーテル、酢酸及び*n*-ヘキサン(10：0.1：90)混液30 mLで溶出させる。

シアゾファミドはLC/MSでの測定において正イオン m/z：325[M+H]⁺または負イオン m/z：216[M-SO₂N(CH₃)₂]⁻で測定が可能であるが、後者の方が感度も良く、選択性に優れている。

10. 参考文献

平成13年環境省告示第31号「シアゾファミド試験法」

1 1 . 類型
C

トルフェンピラド試験法

1．分析対象化合物

トルフェンピラド

2．装置

アルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ（GC（FTD））又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ（GC（NPD））

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

トルフェンピラド標準品 本品はトルフェンピラド99%以上を含み、融点は87～89 である。

4 試験溶液の調製

1) 抽出

果実及び野菜の場合

試料20.0 gを量り採り、アセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、40 以下で約30 mLに濃縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、*n*-ヘキサン100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトンを加えて溶解し、正確に20 mLとする。

茶の場合

試料5.0 gを量り採り、水20 mLを加え、2時間放置する。これにアセトン100 mLを加え、3分間ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、40 以下で約30 mLに濃縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、*n*-ヘキサン100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトンを加えて溶解し、正確に10 mLとする。

2) 精製

グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム（250mg）にアセトン10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1)で得られた溶液（果実及び野菜の場合は2 mL、茶の場合は4 mL）を注入した後、アセトン35 mLを注入する。全溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサン（1：99）混液 5 mLを加えて溶かす。

合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー

クロマトグラフ管（内径15 mm）に、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム5 gを*n*-ヘキサンに懸濁させて充てんし、上に無水硫酸ナトリウム5 gを積層する。このカラムに、得られた溶液を注入した後、アセトン及び*n*-ヘキサン（1：99）混液100 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン及び*n*-ヘキサン（1：19）混液100 mLを注入し、溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

5．検量線の作成

トルフェンピラド標準品の0.01～0.5 mg/Lアセトン溶液を数点調製し、それぞれ2 µLをGCに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 2 μLをGCに注入し、5の検量線でトルフェンピラドの含量を求める。

7. 測定条件

1) GC

検出器：FTD又はNPD

カラム：5%フェニル - メチルシリコン、内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μm

カラム温度：100（1分） - 30 /分 - 300（10分）

注入口温度：250、検出器温度：280

キャリアーガス：ヘリウム

保持時間の目安：11分

2) GC/MS

カラム：5%フェニル - メチルシリコン、内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μm

カラム温度：80（1分） - 20 /分 - 300（10分）

注入口温度：240

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード（電圧）：EI（70 eV）

主なイオン（m/z）：383、197

注入量：2 μL

保持時間の目安：15分

8. 定量限界

0.01 mg/kg

9. 留意事項

1) 試験法の概要

トルフェンピラドを試料からアセトンで抽出し、*n* - ヘキサンに転溶する。グラファイトカーボンミニカラム及び合成ケイ酸マグネシウムカラムで精製した後、GC（FTD）又はGC（NPD）で測定し、GC/MSで確認する方法である。

2) 注意点

精製が不十分な場合はアセトニトリル/ヘキサン分配 [*n* - ヘキサン30 mLに溶解し、*n* - ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLで2回抽出] やシリカゲルミニカラム（690 mg）[エーテル/*n* - ヘキサン（1：9）5 mLで負荷、同混液5 mLで洗浄、エーテル/*n* - ヘキサン（3：7）20 mLで溶出] による精製を追加するとよい。

トルフェンピラドの感度が試料の注入の前後で大幅に変動する場合がある。試料を数本注入し、感度を十分に安定させてから標準溶液を注入する等の措置が必要である。

10. 参考文献

1) 平成13年厚生労働省告示第56号「アラクロール、イソプロカルブ、クレソキシムメチル、ジエトフェンカルブ、テニルクロール、テブフェンピラド、パクロブトラゾール、ピテルタノール、ピリプロキシフェン、ピリミノバックメチル、フェナリモル、ブタクロール、フルトラニル、プレチラクロール、メトラクロール、メフェナセット、メプロニル及びレナシル試験法」

2) 平成14年厚生労働省告示第94号「カフェンストロール、ジフェノコナゾール、シプロコナゾール、シメトリン、チフルザミド、テトラコナゾール、テブコナゾール、トリアジメノール、フルジオキシニル、プロピコナゾール、ヘキサコナゾール及びペンコナゾール試験法」

11. 類型

C

ノバルロン試験法

1. 分析対象化合物

ノバルロン

2. 装置

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC (UV))
液体クロマトグラフ・質量分析計 (LC/MS)

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

メタノール 高速液体クロマトグラフ用に製造されたもの

ノバルロン標準品 本品はノバルロン 99%以上を含み、融点は176~178 である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合

試料 10.0 g を量り採り、水 20 mL を加え、2時間放置する。

これにアセトン 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液にアセトンを加えて正確に 200 mL とする。この 100 mL を採り、40 以下で約 15 mL まで濃縮する。これに 10% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、*n*-ヘキサン 100 mL 及び 50 mL で2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。

この残留物に *n*-ヘキサン 50 mL を加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 50 mL ずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサン 5 mL を加えて溶かす。

果実及び野菜の場合

試料 20.0 g にアセトン 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液にアセトンを加えて正確に 200 mL とする。この 100 mL を採り、40 以下で約 15 mL まで濃縮する。これに 10% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、*n*-ヘキサン 100 mL 及び 50 mL で2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサン 5 mL を加えて溶かす。

2) 精製

グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) に *n*-ヘキサン 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに、1) で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、*n*-ヘキサン 5 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 20 mL を注入し、溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 19) 混液 5 mL を加えて溶かす。

アミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (360 mg) に酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 19) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 19) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 10 mL を注入し、溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を水及びメタノール (1 : 4) 混液に溶解し、正確に 2 mL (穀類、豆類及び種実類の場合は、1 mL) としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ノバルロン標準品の 0.1 ~ 2 mg/L 水及びメタノール (1 : 4) 混液溶液を数点調製し、それぞれ 40 µL を HPLC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 40 µL を HPLC に注入し、5 の検量線でノバルロンの含量を求める。

7. 測定条件

1) HPLC

検出器：UV (波長 252 nm)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 5 µm) 内径 4 ~ 4.6 mm、長さ 250 mm

カラム温度：40

移動相：水及びメタノール (1 : 4) 混液

保持時間の目安：8分

2) LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 5 µm) 内径 2 mm、長さ 150 mm

移動相：水及びメタノール (1 : 4) 混液

イオン化モード：ESI

主なイオン (m/z): 正イオンモード 493、515、負イオンモード 491

注入量：2 µL

保持時間の目安：5分

8. 定量限界

0.02 mg/kg

9. 留意事項

1) 試験法の概要

ノバルロンを試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。果実、野菜はそのまま、穀類、豆類、種実類はアセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、グラファイトカーボンミニカラム及びアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムにより精製した後、HPLC (UV) で測定し、LC/MS で確認する方法である。

2) 注意点

グラファイトカーボンミニカラムにおける溶出挙動は、試料の種類や試料負荷量によって影響を受けやすいので注意を要する。当該カラムは精製の初期段階で使用しているので、保持力の低下を起こしやすく、洗浄画分にノバルロンが溶出される可能性がある。その場合は、*n*-ヘキサン洗浄を省略して、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 1) 混液のみで負荷および溶出を行う必要がある。

精製が不十分な場合は、シリカゲルミニカラム (690 mg) [アセトン及び*n*-ヘキサン (1 : 19) 混液 10 mL で洗浄、アセトン及び*n*-ヘキサン (3 : 7) 混液 10 mL で溶出] やオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) [アセトニトリル及び水 (1 : 1) 混液 10 mL で洗浄、アセトニトリル及び水 (4 : 1) 混液 10 mL 又はアセトニトリル 10 mL で溶出] などによる精製を追加するとよい。

10. 参考文献

平成 13 年厚生労働省告示第 56 号「クロルフルアズロン、ジフルベンズロン、テブフェノジド、テフルベンズロン、フルフェノクスロン、ヘキサフルムロン及びルフェヌロン試験法」

1 1 . 類型
C

ビフェナゼート試験法（農産物）

1．分析対象化合物

ビフェナゼート

イソプロピル = 2 - (4 - メトキシビフェニル - 3 - イル) ジアゼニルホルマート (以下「ビフェナゼート酸化体」という。)

2．装置

蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ (H P L C (F L))

液体クロマトグラフ・質量分析計 (L C / M S)

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則 2 に示すものを用いる。

1 , 5 - ジフェニルカルボノヒドラジド (以下「DPH」という。)

ビフェナゼート標準品 本品はビフェナゼート 99%以上を含む。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

果実及び野菜の場合は、試料 20.0 g を量り採る。茶の場合は、試料 4.0 g を量り採り、これに水 20 mL を加え、2 時間放置する。

これに 0.5% DPH 含有アセトニトリル 10 mL 及びアセトニトリル及び水 (3 : 2) 混液 100 mL を加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトニトリル及び水 (3 : 2) 混液 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたる液にアセトニトリルを加えて正確に 200 mL とし、この 50 mL を採り、40 以下で約 20 mL まで濃縮する。これに 10% 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、酢酸エチル及び *n* - ヘキサン (1 : 9) 混液 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液を液相分離ろ紙でろ過した後、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に 2% アスコルビン酸及びアセトニトリル (2 : 3) 混液 10 mL を加えて溶かし、50 以下で 30 分間加温する。放冷後、0.1% DPH 含有アセトニトリル 0.5 mL を加える。

2) 精製

グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) に 0.01% DPH 含有アセトニトリル 10 mL 及び水 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに、1) で得られた溶液を注入した後、0.01% DPH 含有アセトニトリル及び水 (3 : 2) 混液 5 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、0.01% DPH 含有アセトニトリル 25 mL を注入し、溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を 0.02% アスコルビン酸及びアセトニトリル (2 : 3) 混液に溶解し、正確に 2 mL としたものを試験溶液とする。

5．検量線の作成

ビフェナゼート標準品の 0.05 ~ 1 mg/L 0.02% アスコルビン酸及びアセトニトリル (2 : 3) 混液溶液を数点調製し、それぞれ 50 μ L を HPLC に注入し、ピーク高法又はピーク面積

法で検量線を作成する。

6．定量

試験溶液 50 μ LをHPLCに注入し、5の検量線でピフェナゼートの含量を求める。

7．測定条件

1) HPLC

検出器：FL（励起波長 266 nm、蛍光波長 427 nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径 5 μ m）、内径 4 ~ 4.6 mm、長さ 250 mm

カラム温度：40

移動相：アセトニトリル及び水（1：1）混液

保持時間の目安：18分

2) LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径 5 μ m）、内径 2 mm、長さ 150 mm

移動相：アセトニトリル及び水（1：1）混液

イオン化モード：ESI

主なイオン (m/z)：正イオンモード 301

注入量：5 μ L

保持時間の目安：10分

8．定量限界

0.02 mg/kg（茶の場合は 0.1 mg/kg）

9．留意事項

1) 試験法の概要

ピフェナゼート及びピフェナゼート酸化体を試料からDPH共存下でアセトニトリル及び水（3：2）混液で抽出し、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：9）混液に転溶する。還元処理（2%アスコルビン酸及びアセトニトリル混液中、50℃で30分間反応）によりピフェナゼート酸化体をピフェナゼートに変換し、さらに、グラファイトカーボンミニカラムにより精製した後、HPLC（FL）で測定し、LC/MSで確認する方法である。

2) 注意点

回収が不良の場合は、以下の方法に変更することにより改善される場合がある。抽出液を濃縮せずに水で500 mL定容とし、その125 mLを取り、これをオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg：アセトニトリル及び水の各 5 mLで順次洗浄したもの）に負荷した後、2%アスコルビン酸及びアセトニトリル（2：3）混液10 mLで溶出し、これを50℃で30分間加熱し、放冷後、0.1%DPH含有アセトニトリル 0.5 mLを加え、以下、4.試験溶液の調製の2)の精製と同様の操作を行う。（操作内容の詳細は参考文献を参照）

精製が不十分な場合は、アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム（360 mg）によ

る精製を追加するとよい。操作概要を以下に記す。グラファイトカーボンミニカラム精製後の残留物を 0.01% D P H 含有酢酸エチル及び *n* - ヘキサン (1 : 4) 混液 5 mL に溶解し、これをミニカラム (*n* - ヘキサン 5 mL で洗浄したもの) に負荷し、さらに同混液 20 mL を流下し、全溶出液を採る。 なお、追加精製を実施しても改善が見られない場合は、 の方法に変更することも有効である。

転溶溶媒を脱水するために、液相分離紙の代わりに無水硫酸ナトリウムを使用した場合は、回収率の低下を招く。

1 0 . 参考文献

環境省告示第53号ビフェナゼート試験法 (平成12年8月17日)

1 1 . 類型

C

ピフェナゼート試験法(畜産物)

1. 分析対象化合物

ピフェナゼート

イソプロピル=2-(4-メトキシビフェニル-3-イル)ジアゼニルホルマート(以下「ピフェナゼート酸化体」という。)

4-ヒドロキシビフェニル(以下「HBP」という。)

4-スルファトビフェニル(以下「HBP硫酸抱合体」という。)

2. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計(LC/MS)

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

L(+)-アスコルビン酸(特級)

1,5-ジフェニルカルボノヒドラジド(以下「DPH」という。)(特級)

ピフェナゼート標準品 本品はピフェナゼート99%以上を含み、融点は120~121である。

HBP標準品 本品はHBP99%以上を含む。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及びその他の食用部分の場合は、20.0gを量り採る。

乳の場合は、20.0gを量り採る。

これに0.25%酢酸含有アセトニトリル及び水(7:3)混液100 mLを加え、3分間ホモジナイズした後、毎分3,000回転で5分間遠心分離を行う。上澄液をガラス繊維ろ紙で吸引る過後、遠心管内の残留物に0.25%酢酸含有アセトニトリル及び水(7:3)混液50 mLを加えホモジナイズした後、上澄液を上記と同様にろ過する。得られたろ液を200 mLのメスフラスコに合わせ、0.25%酢酸含有アセトニトリル及び水(7:3)混液を加えて200 mLに定容する。

2) 精製

a) ピフェナゼート及びピフェナゼート酸化体試験溶液

オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(500 mg)にアセトニトリル及び水各10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1)で得られた抽出溶液の20 mL(試料2 g相当)に水40 mLを加えたものを注入した後、容器をアセトニトリル及び水(3:7)混液10 mLで洗い、洗液をカラムに注入し、流出液は捨てる。次いで、2%アスコルビン酸溶液及びアセトニトリル(2:3)混液20 mLを注入し、溶出液を50 mLのナス型フラスコにとる。

還元処理

の溶出液を50 で30分間密栓加温する。放冷後、0.1%DPH含有アセトニトリル溶液1 mLを加える。

グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム(500 mg)に0.01%DPH含有アセトニトリル溶液及び水各10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに で得られた溶液を注入した後、容器を0.01%DPH含有アセトニトリル溶液及び水(3:2)混液5 mLで洗い、洗液を先のカラムに注入し、流出液は捨てる。次いで、0.01%DPH含有アセトニトリル溶液25 mLを注入し、溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に0.05%DPH含有酢酸エチル溶液2 mLを加え、残留物を完全に溶かした後、*n*-ヘキサン8 mLを加える。

アミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(360 mg)に0.05% D P H含有酢酸エチル溶液及び*n*-ヘキサン(1:4)混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに得られた溶液を注入した後、容器を0.05% D P H含有酢酸エチル溶液及び*n*-ヘキサン(1:4)混液5 mLで洗い、洗液を先のカラムに注入する操作を2回繰り返す。全溶出液を40以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を0.02%アスコルビン酸溶液及びアセトニトリル(2:3)混液に溶解し、正確に4 mLとしたものを試験溶液とする。

b H B P及びH B P硫酸抱合体試験溶液(脂肪以外)

H B Pへの変換

1)で得られた抽出溶液の20 mL(試料2 g相当)を100 mLのナス型フラスコに取り、塩酸2 mLを加えた後、50 で2時間密栓加温する。

オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー、エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー及びジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体カラムクロマトグラフィー

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(500 mg)、エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム(500 mg)及びジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム(200 mg)にそれぞれアセトニトリル及び水各10 mLを注入し、流出液は捨てる。得られた溶液に水40 mLを加えたものをオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムに注入した後、容器をアセトニトリル及び水(1:3)混液10 mLで洗い、洗液をカラムに注入し、流出液は捨てる。次いで、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムの下部にエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム及びジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムを接続し、アセトニトリル及び水(1:1)混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムを除去した後、アセトニトリル25 mLをジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムに注入し、溶出液を40以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水(1:1)混液に溶解し、正確に4 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ピフェナゼート標準品の0.004~0.08 mg/L 0.02%アスコルビン酸溶液及びアセトニトリル(2:3)混液溶液及びH B Pの0.002~0.04 mg/Lアセトニトリル及び水(1:1)混液溶液を数点調製し、それぞれ10 µLをL C / M Sに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液10 µLをL C / M Sに注入し、5の検量線でピフェナゼート及びH B Pの含量を求める。次式により、H B Pを含むピフェナゼートの含量を求める。

ピフェナゼート(H B Pを含む。)の含量(ppm) = $A + B \times 1.76$

A : ピフェナゼートの含量(ppm)

B : H B Pの含量(ppm)

7. 測定条件

検出器 : L C / M S

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径3 µm)、内径2 mm、長さ150 mm

カラム温度 : 40

移動相 : ピフェナゼート アセトニトリル及び0.1%酢酸溶液混液(1:1)から(9:

1)までの濃度勾配を5分間で行い、(9:1)で10分間保持する。

H B P アセトニトリル及び0.1%酢酸溶液混液(4:6)から(9:1)までの

濃度勾配を5分間で行い、(9:1)で10分間保持する。

イオン化モード : E S I

主なイオン(*m/z*): ビフェナゼート 正イオンモード 301.6
H B P 負イオンモード 169.0

注入量: 10 μ L

保持時間: ビフェナゼート 7.6 分、H B P 7.7 分

8. 定量限界

ビフェナゼート 0.008 mg/kg、H B P 0.004 mg/kg

9. 留意事項

分析対象は検体の種類によって異なる。脂肪ではビフェナゼート及びビフェナゼート酸化体を、脂肪以外ではビフェナゼート、ビフェナゼート酸化体、H B P 及びH B P 硫酸抱合体を分析対象とする。

1) 分析値

ビフェナゼート及びその代謝物であるH B Pのそれぞれについて定量を行い、H B Pについてはその含量に係数を乗じてビフェナゼートの含量に変換し、これらの和を分析値とすること。

2) 試験法の概要

脂肪以外は、の分析対象化合物を測定、脂肪はの分析対象化合物のみ測定。

ビフェナゼート及びビフェナゼート酸化体

試料から0.25%酢酸含有アセトニトリル及び水(7:3)混液で抽出する。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムにより精製した後、還元処理によりビフェナゼート酸化体をビフェナゼートに一括変換し、さらにグラファイトカーボンミニカラム及びアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムにより精製した後、LC/MSで測定する方法である。

H B P 及びH B P 硫酸抱合体

試料から0.25%酢酸含有アセトニトリル及び水(7:3)混液で抽出する。H B P 硫酸抱合体をH B Pに一括変換した後、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム、エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム及びジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムにより精製した後、LC/MSで測定する方法である。

3) 注意点

オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける精製時にミニカラムが目詰まりする場合は、ミニカラム上部に脱脂綿を詰めると効果的である。

ビフェナゼート精製に用いる2%アスコルビン酸溶液、0.02%アスコルビン酸溶液、0.1%DPH含有アセトニトリル溶液、0.01%DPH含有アセトニトリル溶液及び0.05%DPH含有酢酸エチル溶液は用時調製する。特にDPHを含有する溶液については調製後直ちに用いること。

ビフェナゼートの精製においてアミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行う際、ミニカラム注入前の残留物はヘキサンに難溶である。0.05%DPH含有酢酸エチル溶液に完全に溶解した後に、ヘキサンを加える必要がある。

10. 参考文献

平成12年8月17日 環境省告示第53号「ビフェナゼート試験法」

11. 類型

C

12. その他

平成17年1月24日付け厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法に係る分析上の留意事項について」の別添を参考にすること。

フェンアミドン試験法（農産物）

1．分析対象化合物

フェンアミドン

2．装置

アルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ（GC（FTD））又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ（GC（NPD））

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則 2 に示すものを用いる。

フェンアミドン標準品 本品はフェンアミドン 99%以上を含み、融点は 137 である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

試料20.0 g にアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン 50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、40 以下で約30 mLまで濃縮する。これに 10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、*n*-ヘキサン100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液 5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム（500 mg）に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液 10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに、1)で得られた溶液を注入した後、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液15 mLを注入する。全溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：19）混液 5 mLを加えて溶かす。

アミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム（360 mg）に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：19）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：19）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（3：7）混液10 mLを注入し、溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、正確に 4 mLとしたものを試験溶液とする。

5．検量線の作成

フェンアミドン標準品の 0.05～1 mg/Lアセトン溶液を数点調製し、それぞれ 2 μ LをGC

に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6．定量

試験溶液 2 μL をGCに注入し、5の検量線でフェンアミドンの含量を求める。

7．測定条件

1) GC

検出器：FTD又はNPD

カラム：50%フェニル-メチルシリコン、内径 0.53 mm、長さ 15m、膜厚 1 μm

カラム温度：255

注入口温度：280

検出器温度：280

キャリアーガス：ヘリウム

保持時間の目安：4分

2) GC/MS

カラム：5%フェニル-メチルシリコン、内径 0.25 mm、長さ 30m、膜厚 0.25 μm

カラム温度：200 (1分) - 10 /分 - 280 (5分)

注入口温度：250

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード(電圧)：EI (70 eV)

主なイオン (m/z)：311、268、238

注入量：1 μL

保持時間の目安：8分

8．定量限界

0.01 mg/kg

9．留意事項

1) 試験法の概要

フェンアミドンを試料からアセトンで抽出し、 n -ヘキサンに転溶する。グラファイトカーボンミニカラム及びアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムにより精製した後、GC (FTD又はNPD) で測定し、GC/MSで確認する方法である。

2) 注意点

精製が不十分な場合は、シリカゲルミニカラム (690 mg) による精製を追加するとよい。操作概要を以下に記す。試料溶液をカラム (n -ヘキサン 10 mLで予備洗浄) に負荷した後、酢酸エチル及び n -ヘキサン (1:9) 混液 10 mLで洗浄、酢酸エチル及び n -ヘキサン (2:3) 混液 10 mLで溶出する。

GC/MS測定では、フェンアミドンの感度が食品の品目によってはやや高まる場合がある。対策としては、追加精製やマトリックス含有標準溶液の使用等がある。

10．参考文献

なし

11．類型

C

12．その他

カラムについては、平成17年1月24日付け厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法に係る分析上の留意事項について」の別添を参考にすること。

フェンアミドン試験法（畜産物）

1．分析対象化合物

フェンアミドン

5 - メチル - 5 - フェニルイミダゾリジン - 2 , 4 - ジオン(以下「MPID」という。)

2．装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計(GC/MS)を用いる。

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則2に示すものを用いる。

フェンアミドン標準品 本品はフェンアミドン 99%以上を含み、融点は137 である。

MPID標準品 本品はMPID 99%以上を含む。

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム(500mg) 内径8~9mmのポリエチレン製のカラム管に、スチレンジビニルベンゼン共重合体 500mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するものを用いる。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及びその他の食用部分の場合は、その5.0 gを量り採る。

乳の場合は、20.0 gを量り採る。

これにアセトニトリル50 mL、アセトニトリル飽和 *n* - ヘキサン50 mL及び無水硫酸ナトリウム10 g(乳の場合は40 g)を加え、3分間ホモジナイズした後、毎分3,000回転で5分間遠心分離を行う。アセトニトリル層を採り、*n* - ヘキサン層及び残留物にアセトニトリル50 mLを加え上記と同様にホモジナイズ及び遠心分離を行う。得られたアセトニトリル層を先のアセトニトリル層に合わせ、40 以下で濃縮し溶媒を除去する。この残留物に水及びメタノール(3:2)混液10 mLを加えて溶かす。

2) 精製

スチレンジビニルベンゼン共重合体カラムクロマトグラフィー及びグラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム(500 mg)にメタノール及び水各5 mLを注入し、流出液は捨てる。グラファイトカーボンミニカラム(500 mg)にメタノール5 mLを注入し、流出液は捨てる。スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムに、1)で得られた溶液を注入した後、容器を水及びメタノール(3:2)混液10 mLで洗い、洗液を先のカラムに注入し、流出液は捨てる。次いで、スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムの下部にグラファイトカーボンミニカラムを接続し、メタノール20 mLを注入する。溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及び *n* - ヘキサン(1:19)混液5 mLを加えて溶かす。

アミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(1,000 mg)に酢酸エチル及び *n* - ヘキサン

(1 : 19) 混液 5 mLを注入し流出液は捨てる。このカラムに で得られた溶液を注入した後、容器を酢酸エチル及び *n* - ヘキサン (1 : 19) 混液 5 mLで洗い、洗液を先のカラムに注入する操作を3回繰り返す、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及び *n* - ヘキサン (3 : 7) 混液 20 mLを注入し、溶出液を分取する (溶出液)。さらにアセトン及び *n* - ヘキサン (3 : 7) 混液 10 mLを注入し、流出液を捨てた後、アセトン及び *n* - ヘキサン (3 : 7) 混液 20 mLを注入し、溶出液を分取する (溶出液)。溶出液 を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、正確に 1 mLとしたものをフェンアミドン用試験溶液とする。溶出液 を同様に濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、正確に 1 mLとしたものを M P I D 用試験溶液とする。

5 . 検量線の作成

フェンアミドン標準品の0.1 ~ 2 mg/Lアセトン溶液及び M P I D 標準品の0.05 ~ 0.5 mg/Lアセトン溶液を数点調製し、それぞれ 2 μ Lを G C / M S に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6 . 定量

試験溶液 2 μ Lを G C / M S に注入し、 5 の検量線でフェンアミドン及び M P I D の含量を求める。次式により、 M P I D を含むフェンアミドンの含量を求める。

フェンアミドン (M P I D を含む。) の含量 (ppm) = A + B \times 1.64

A : フェンアミドンの含量 (ppm)

B : M P I D の含量 (ppm)

7 . 測定条件

検出器 : G C / M S

カラム : 50%トリフルオロプロピルメチルシリコン、
内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μ m

カラム温度 : 100 (1分) - 20 /分 - 260 (10分)

注入口温度 : 250

キャリアーガス : ヘリウム

イオン化モード (電圧) : E I (70 eV)

主なイオン (*m/z*) : フェンアミドン ; 311、268、238 M P I D ; 175、104

保持時間の目安 : フェンアミドン 8.4分、 M P I D 7.4分

8 . 定量限界

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及びその他の食用部分 :

フェンアミドン 0.02 mg/kg、 M P I D 0.01 mg/kg

乳 : フェンアミドン 0.005 mg/kg、 M P I D 0.003 mg/kg

9 . 留意事項

1) 分析値

フェンアミドン及びその代謝物であるMPIDのそれぞれについて定量を行い、MPIDについてはその含量に係数を乗じてフェンアミドンの含量に変換し、これらの和を分析値とすること。

2) 試験法の概要

フェンアミドン及びMPIDを試料からアセトニトリルで抽出し、アセトニトリル飽和*n*-ヘキサンで洗浄する。スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム、グラファイトカーボンミニカラム及びアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムにより精製した後、GC/MSで測定、確認する方法である。

3) 注意点

MPID試験溶液の精製が不十分な場合は、シリカゲルミニカラム(1,000 mg)による精製を追加するとよい。操作概要を以下に記す。アセトン及び*n*-ヘキサン(3:17)混液 5 mLでコンディショニングしたカラムに、MPID画分を同混液 5 mLで負荷、同混液15 mLで洗浄、アセトン及び*n*-ヘキサン(1:1)混液10 mLで溶出する。

フェンアミドン及びMPIDの感度が試験溶液の注入前後で大幅に変動する可能性がある為、あらかじめ試験溶液を数回注入して、感度を十分に安定させた後、測定を行う等の措置が必要である。

MPIDのGC/MS測定においてマイクロシリンジ及び注入口部でキャリーオーバー(メモリー効果)が起こる。特に高濃度のMPIDを注入した後は注入口を洗浄するためにアセトンを3、4回注入し、MPIDのピークが検出しないことを確認してから次の試験溶液の測定を行う必要がある。

10. 参考文献

なし

11. 類型

C

12. その他

ミニカラムについては、平成17年1月24日付け厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法に係る分析上の留意事項について」の別添を参考にすること。

プロヒドロジャスモン試験法

1. 分析対象化合物

プロヒドロジャスモン[*n*-プロピルジヒドロジャスモネート(以下「PDJ」という。)]

2. 装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計(GC/MS)

3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

PDJ標準品 本品は、PDJ 97%以上を含み、沸点は318 である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料20.0 gを量り採り、アセトン100 mLを加え、3分間ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、40 以下で約20 mLに濃縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液50 mLを加え、*n*-ヘキサン100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物に*n*-ヘキサン20 mLを加えて溶解した後、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル40 mLずつで2回振とう抽出する。アセトニトリル層を合わせて40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に*n*-ヘキサンを加えて溶解し、正確に20 mLとする。

2) 精製

クロマトグラフ管(内径15 mm)に、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム10 gを*n*-ヘキサンに懸濁させて充てんし、無水硫酸ナトリウム5 gを積層する。このカラムに、1)で得られた溶液4 mLを注入した後、*n*-ヘキサン100 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン(1:19)混液200 mLを注入し、溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を*n*-ヘキサンに溶解し、正確に4 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

PDJ標準品をアセトンで溶解後、0.005~0.1 mg/L *n*-ヘキサン溶液を数点調製し、それぞれ2 µLをGC/MSに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液2 µLをGC/MSに注入し、5の検量線でPDJの含量を求める。

7. 測定条件

GC / MS

カラム：5 %フェニル - メチルシリコン、内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μm

カラム温度：80 (1分) - 15 /分 - 280 (10分)

注入口温度：250

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード(電圧)：EI (70 eV)

主なイオン(*m/z*)：184、153

保持時間の目安：約10.4分および約10.6分

8. 定量限界

0.005 mg/kg

9. 留意事項

1) 試験法の概要

PDJを試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。アセトニトリル/ヘキサン分配及び合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィーで精製した後、GC / MSで測定する方法である。

2) 注意点

PDJ標準品は、ヘキサンよりもアセトンに溶解性が高いため、標準原液をアセトンで調製した後、測定用標準溶液をヘキサンで調製する。なお、PDJ標準品は*trans*体87%以上及び*epi*体12%以下の混合物であり、クロマトグラム上は*trans*体および*epi*体の順に溶出する。PDJは*trans*体と*epi*体の和を分析値とする。GC / MSの測定において、PDJの感度が試験溶液の注入前後で大幅に変動する可能性があるため、あらかじめ試験溶液を数回注入して、感度を十分に安定させた後、測定を行う等の措置が必要である。また、試験溶液の夾雑物が次のクロマトグラムに影響を及ぼす可能性があるため、測定終了後カラムの焼き出しを十分に行う必要がある。

精製が不十分な場合は、以下のカラムを用いて精製を追加することができる。

a) シリカゲルミニカラム(690 mg)

エーテル及び*n*-ヘキサン各10 mLで予備洗浄を行う。試料液をエーテル及び*n*-ヘキサン(1:19)混液10 mLで負荷洗浄し、流出液を捨てた後、エーテル及び*n*-ヘキサン(3:17)混液20 mLで溶出させる。

b) グラファイトカーボンミニカラム(500 mg)

n-ヘキサン10 mLで予備洗浄を行う。試料液を*n*-ヘキサン10 mLで負荷し、*n*-ヘキサン10 mLで溶出させる。全量を採取する。

10. 参考文献

環境省告示第60号「プロヒドロジャスモン試験法」(平成15年4月10日)

11. 類型

C

ボスカリド試験法（農産物）

1．分析対象化合物

ボスカリド

2．装置

アルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ（GC（FTD））又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ（GC（NPD））

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

ボスカリド標準品 本品はボスカリド98%以上を含み、融点は143~150 である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合

試料10.0 gを量り採り、水20 mLを加え、2時間放置する。これにアセトン100 mLを加え、3分間ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、40 以下で約30 mLに濃縮する。これに10 %塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、*n* - ヘキサン100 mL及び 50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。

この残留物に *n* - ヘキサン30 mLを加え、*n* - ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLで3回振とう抽出する。抽出液を合わせて、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n* - ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

果実及び野菜の場合

試料20.0 gを量り採り、アセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、アセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、40 以下で約30 mLに濃縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、*n* - ヘキサン100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n* - ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

植物油(精製)の場合

試料2.5 gを量り採り、*n* - ヘキサン30 mLを加え、*n* - ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLで3回振とう抽出する。抽出液を合わせて、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n* - ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

干しぶどうの場合

試料に等量の水を加えて磨砕し、試料10.0 g相当を量り採る。これにアセトン100 mLを加え、3分間ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に、水10 mL及びアセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、40 以下で約30 mLに濃縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、*n* - ヘキサン100 mL及び50 mLで2回振とう抽出する。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n* - ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

クロマトグラフ管(内径15 mm)に、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム10 gを *n* - ヘキサンに懸濁させて充てんし、上に無水硫酸ナトリウム5 gを積層する。このカラムに、

1) で得られた溶液を注入した後、アセトン及び *n*-ヘキサン(1:19)混液 100 mL を注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン及び *n*-ヘキサン(3:7)混液 100 mL を注入し、溶出液を 40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、穀類、豆類及び種実類の場合は正確に 2 mL、果実及び野菜の場合は正確に 4 mL、植物油(精製)の場合は正確に 0.5 mL、干しぶどうの場合は正確に 2 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ボスカリド標準品の0.05～1 mg/Lアセトン溶液を数点調製し、それぞれ2 μLをGCに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液 2 μLをGCに注入し、5の検量線でボスカリドの含量を求める。

7. 測定条件

1) GC

検出器：FTD又はNPD

カラム：メチルシリコン、内径0.25 mm、長さ30m、膜厚0.25 μm

カラム温度：100 (1分) - 30 /分 - 250 (0分) - 6 /分 - 300 (2分)

注入口温度：250、検出器温度：280

キャリアーガス：ヘリウム

保持時間：12分

2) GC/MS

カラム：5%フェニル-メチルシリコン、内径0.25 mm、長さ30m、膜厚0.25 μm

カラム温度：100 (1分) - 30 /分 - 280 (5分)

注入口温度：250

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード(電圧)：EI (70 eV)

主なイオン(m/z)：342、140

注入量：1 μL

保持時間：10分

8. 定量限界

0.01 mg/kg

9. 留意事項

1) 試験法の概要

ボスカリドを試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィーで精製した後、GC (FTD) 又はGC (NPD) で測定し、GC/MSで確認する方法である。

穀類、豆類、種実類、果実、野菜については、平成13年厚生労働省告示第56号「カフェンストール、ジフェノコナゾール、シプロコナゾール、シメトリン、チフルザミド、テトラコナゾール、テブコナゾール、トリアジメノール、フルジオキシニル、プロピコナゾール、ヘキサコナゾール及びペンコナゾール試験法」に同じである。

2) 注意点

アセトニトリル/*n*-ヘキサン分配では、サイズでエマルジョンを形成した。綿栓ろ過や、液量を各50 mLに増量することでエマルジョンの低減が可能である。

精製が不十分な場合は以下の精製を追加することができる。

a) オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (360 mg)

メタノール及び水各10 mLで予備洗浄を行う。試料液をメタノール及び水(3:7)混液10 mL

で負荷、同混液10 mLで洗浄し、流出液を捨てた後、メタノール及び水(1:1)混液20 mLで溶出させる。

b) グラファイトカーボンミニカラム(500 mg)

アセトニトリル及びトルエン(3:1)混液 5 mLで予備洗浄を行う。試料液をアセトニトリル及びトルエン(3:1)混液 5 mLで負荷、同混液10 mLで溶出させる。全量を採取する。

c) アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(360 mg)

n-ヘキサン5 mLで予備洗浄を行う。試料液をエーテル及びn-ヘキサン(3:17)混液 5 mLで負荷、同混液 5 mLで洗浄し、流出液を捨てた後、エーテル及びn-ヘキサン(1:1)混液25 mLで溶出させる。

合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィーでは、カフェンストロール等12農薬分析法に対応できるように、溶出溶媒としてアセトン及びn-ヘキサン(3:7)混液を採用しているが、ボスカリドのみを対象とする場合は、アセトン及びn-ヘキサン(3:17)混液でも溶出可能である。

ボスカリドの感度が試験溶液の注入の前後で大幅に変動する場合がある。試験溶液を数回注入し、感度を十分に安定させてから標準溶液を注入する等の措置が必要である。

11 参考文献

平成13年厚生労働省告示第56号「カフェンストロール、ジフェノコナゾール、シプロコナゾール、シメトリン、チフルザミド、テトラコナゾール、テブコナゾール、トリアジメノール、フルジオキシニル、プロピコナゾール、ヘキサコナゾール及びベンコナゾール試験法」

12 類型

C

ボスカリド試験法（畜産物）

1．分析対象化合物

ボスカリド

2．装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計(GC/MS)

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

ボスカリド標準品 本品はボスカリド98%以上を含み、融点は143～150 である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及びその他の食用部分の場合

筋肉、肝臓、腎臓及びその他の食用部分の場合、細切均一化した後、その20.0 gを量り採る。

脂肪の場合は、細切均一化した後、その5.0 gを量り採る。

これに水20 mLを加え、ホモジナイズしたのち、アセトン・*n*-ヘキサン混液(1:2)100 mLを加え、さらにホモジナイズし、2,500回転/分で5分間遠心分離する。上澄液を200 mLの三角フラスコに分取する。遠心管内の残留物に*n*-ヘキサン50 mLを加えホモジナイズしたのち、2,500回転/分で5分間遠心分離し、上澄液を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置したのち、あらかじめ重量を測定したすり合わせ減圧濃縮器中に入過する。次いで、アセトン及び*n*-ヘキサン(1:2)混液20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液で紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で溶媒を除去したのち、残留物の重量を測定し、これを脂肪重量とする。この残留物の全量または一定量を採り、アセトン及びシクロヘキサン(1:4)混液で、抽出脂肪0.50 g/5 mLまたは試料5.0 g/5 mLになるように溶解し、これを抽出溶液とする。

乳、卵の場合

試料20.0 gを量り採り、アセトニトリル100 mLを加えてホモジナイズしたのち、2,500回転/分で5分間遠心分離する。上澄液を300 mLの分液漏斗に分取する。遠心管内の残留物にアセトニトリル50 mLを加えホモジナイズしたのち、2,500回転/分で5分間遠心分離し、上澄液を上記の分液漏斗に合わせる。これに塩化ナトリウム10 gを加え、振とう機を用いて3分間激しく振り混ぜたのち、静置し、分離した水層を除く。アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器に移し、40 以下で溶媒を除去する。この時水が残らなかった場合には、残留物に少量のアセトン及びシクロヘキサン(1:4)混液を加えて超音波抽出する操作を3回繰り返し、抽出液を合わせて試料5 g/5 mLになるようにしてこれを抽出溶液とする。また、水が残った場合には、酢酸エチル20 mLを加えて残留物を溶解したのち、無水硫酸ナトリウムを加えて超音波抽出する。抽出液をすり合わせ減圧濃縮器中に入過し、酢酸エチル10 mLを用いて先の減圧濃縮器を洗い、その洗液で紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で溶媒を除去する。この残留物をアセトン及びシクロヘキサン(1:4)混液で試料5 g/5 mLになるように溶解し、これを抽出溶液とする。

2) 精製

筋肉、脂肪、乳及び卵の場合

1) 抽出で得られた抽出溶液を3,000回転/分で5分間遠心分離し、その上澄液5 mLをゲル浸透クロマトグラフィ用カラム(ポリスチレンジビニルベンゼン共重合体カラム)に注入し、アセトン及びシクロヘキサン(1:4)混液で溶出する。58～165 mLに溶出する画分をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40 以下で溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサン(1:1)混液2 mLを加えて溶かす。この溶液をあらかじめアセトン及び*n*-ヘキサン混液(1:1)

10 mL で洗浄したエチレンジアミン - *N* - プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) に注入したのち、減圧濃縮器をアセトン及び *n* - ヘキサン (1 : 1) 混液 1 mL で洗い、洗液を先のカラムに注入する操作を 3 回繰り返す。カラムにアセトン及び *n* - ヘキサン (1 : 1) 混液 15 mL を注入し、全溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40 以下で溶媒を除去する。この残留物をアセトン及び *n* - ヘキサン (1 : 1) 混液 1 mL [脂肪の場合は 0.5 mL] に溶解し、これを試験溶液とする。

肝臓、腎臓及びその他の食用部分の場合

1) 抽出で得られた抽出溶液を 3,000 回転/分で 5 分間遠心分離し、その上澄液 5 mL をゲル浸透クロマトグラフィー用カラム(ポリスチレンジビニルベンゼン共重合体カラム)に注入し、アセトン及びシクロヘキサン (1 : 4) 混液で溶出する。58 ~ 65 mL に溶出する画分 (画分) を採り、この溶液をあらかじめアセトン及びシクロヘキサン (1 : 4) 混液 10 mL で洗浄したエチレンジアミン - *N* - プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) に注入したのち、容器をアセトン及びシクロヘキサン (1 : 4) 混液 1 mL で洗い、洗液を先のカラムに注入する操作を 3 回繰り返す。カラムにアセトン及びシクロヘキサン (1 : 4) 混液 2 mL を注入し、全溶出液を合わせてすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40 以下で溶媒を除去する。この残留物を *n* - ヘキサン 1 mL で溶解し、この溶液をあらかじめ *n* - ヘキサン 10 mL で洗浄したシリカゲルミニカラムに注入したのち、減圧濃縮器を *n* - ヘキサン 1 mL で洗い、洗液を先のカラムに注入する操作を 3 回繰り返す。カラムに *n* - ヘキサン 7 mL を注入し、この溶出液は捨てる。次いで、カラムにエーテル及び *n* - ヘキサン (1 : 19) 混液 15 mL を注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採る。また、別に 65 ~ 165 mL に溶出する画分 (画分) をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下で溶媒を除去する。この残留物をアセトン及び *n* - ヘキサン (1 : 1) 混液 1 mL に溶解し、これを試験溶液とする。

5 . 検量線の作成

ボスカリド標準品の 0.05 ~ 1 mg/L (脂肪の場合は 0.01 ~ 0.2 mg/L) アセトン及び *n* - ヘキサン (1 : 1) 混液溶液を数点調製し、それぞれ 1 μ L を GC/MS に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6 . 定量

試験溶液 1 μ L を GC/MS に注入し、5 の検量線でボスカリドの含量を求める。

7 . 測定条件

GC/MS

カラム : 5 % フェニル - メチルシリコン、内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μ m

カラム温度 : 100 (1 分) - 30 / 分 - 280 (5 分)

注入口温度 : 250

キャリアーガス : ヘリウム

イオン化モード (電圧) : EI (70 eV)

主なイオン (*m/z*) : 342、140

注入量 : 1 μ L

保持時間 : 10 分

8 . 定量限界

0.01 mg/kg

9 . 留意事項

1) 試験法の概要

ボスカリドを試料からアセトン及び *n* - ヘキサン (1 : 2) 混液で抽出 (乳、卵の場合はアセトニトリルで抽出) し、ゲル浸透クロマトグラフィーおよびエチレンジアミン - *N* - プロピルシ

リル化シリカゲルミニカラムクロマトグラフィーで精製した後、GC/MSで測定、確認する方法である。

2) 注意点

抽出時に上澄液を分取する操作で水を除かない場合は、大量の無水硫酸ナトリウムが必要である。分液漏斗を用いて水層を除去した後に無水硫酸ナトリウムによる脱水を行うとよい。

ゲル浸透クロマトグラフ条件の例

カラム：ポリスチレンジビニルベンゼン共重合体（内径20 mm、長さ300 mm）に
ガードカラム ポリスチレンジビニルベンゼン共重合体（内径20 mm、長さ100 mm）を接続したもの、または同等品

移動相：アセトン及びシクロヘキサン（1：4）混液

流速：5 mL/min

カラム温度：40

注入量：5 mL

モニター波長：254 nm

分取範囲：筋肉、脂肪、乳及び卵の場合：58～165 mL(合計107 mL)

肝臓、腎臓及びその他の食用部分の場合

画分：58～65 mL(合計7 mL)、画分：65～165 mL(合計100 mL)

ゲル浸透クロマトグラフィーは、あらかじめ使用する条件で、指標物質であるアクリナトリンおよびトリシクラゾール、ならびに対象物質ボスカリドの溶出位置を確認し、分取範囲を決定しておく。

分取範囲の確認：アクリナトリン及びトリシクラゾールの5 mg/L混合溶液を移動相で調製し、その5 mLをゲル浸透クロマトグラフに注入して254 nmでモニターし、あらかじめ分取範囲を確認する。溶出液を適当な間隔で分取してGC/MSで測定するなど他の適切な方法を用いてもよい。

a) 筋肉、脂肪、乳及び卵の場合(図1参照)

アクリナトリンの保持時間からトリシクラゾールの溶出が終了するまで。

(例)58～165 mL(合計107 mL)

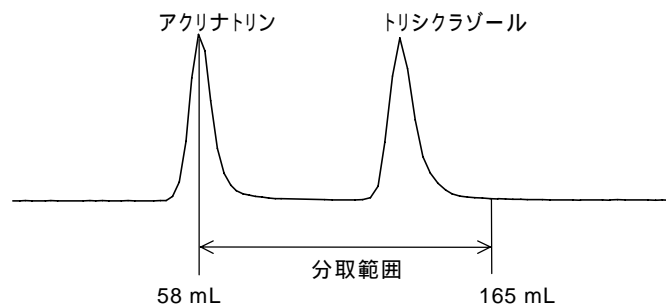


図1 筋肉、脂肪、乳及び卵の場合の分取範囲

b) 肝臓、腎臓及びその他の食用部分の場合(図2参照)

画分：アクリナトリンの保持時間からアクリナトリンの溶出が終了するまで。

画分：画分 の分取終了からトリシクラゾールの溶出が終了するまで。

(例)画分：58～65 mL(合計7 mL)、画分：65～165 mL(合計100 mL)

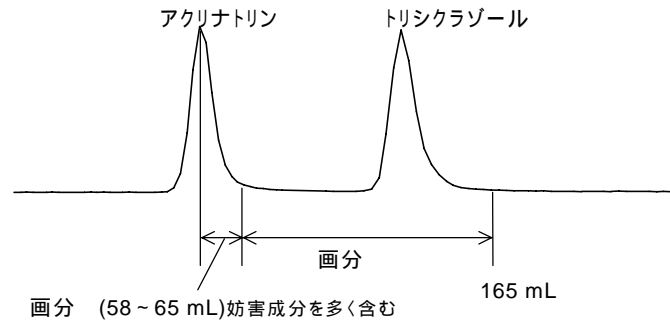


図2 肝臓、腎臓及びその他の食用部分の場合の分取範囲

ミニカラムは使用条件で検討対象農薬の溶出調査を事前に行い、溶出位置を確認してから使用する。なお、エチレンジアミン - *N* - プロピルシリル化シリカゲルミニカラムでは、ボスカリドを保持しないため、注入液から全ての溶出液を捕集する必要がある。

GC/MS測定において妨害が見られた場合には、シリカゲルミニカラム(690 mg)による 追加精製を行う。[エーテル及び *n* - ヘキサン (1 : 49) 混液 10 mL で予備洗浄。試料液をエーテル及び *n* - ヘキサン (1 : 49) 混液 3 mL で負荷、同混液 10 mL で洗浄し、次いで、アセトン及び *n* - ヘキサン (1 : 1) 混液 20 mL で溶出する。]

GC/MS測定では、ボスカリドの感度が試料の注入の前後で大幅に変動する可能性がある。試料を数本注入し、感度を十分に安定させてから標準溶液を注入する等の措置が必要である。

脂肪含有量が高い試料では、試験溶液の濃縮倍率が低くなる。その際、目標の測定感度が得られない場合には、抽出脂肪を用いてゲル浸透クロマトグラフィー以降の操作を行い、複数の検液を合わせて試験溶液とする。

11 参考文献

なし

12 類型

C

第 3 章 個別試験法

(追加：クロピラリド試験法、ジクワット、パラコート及びメピコートクロリド試験法)

クロピラリド試験法（農産物）

1 分析対象化合物

クロピラリド

2 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

3 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

クロピラリド標準品 本品はクロピラリド99%以上を含む。

4 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 gに20%塩酸10 mL及びアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて200 mLとする。抽出液の20 mLを採り、1 mol/L塩酸5 mLを加え、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。

2) 精製

多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィー

多孔性ケイソウ土カラム（20 mL保持用）に1)で得られた溶液を注入し、5分間放置する。このカラムに*n*-ヘキサン100 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル150 mLを注入し、溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノール0.5 mLに溶解し、さらに水9.5 mLを加える。

オクタデシルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(910 mg)に水及びメタノール(19:1)混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1)で得られた溶液を注入し、さらに水及びメタノール(19:1)混液5 mLを注入する。溶出液に20%塩酸1 mLを加える。

多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィー

多孔性ケイソウ土カラム（20 mL保持用）に 1)で得られた溶液を注入し、5分間放置する。このカラムに酢酸エチル150 mLを注入し、溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び1%ギ酸(1:1)混液に溶解し、正確に5 mLとしたものを試験溶液とする。

5 . 検量線の作成

クロピラリド標準品を1%ギ酸に溶解し、0.01 ~ 1 mg/L溶液を数点調製する。それぞれ10 µLをLC/MSに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6 . 定量

試験溶液10 µLをLC/MSに注入し、5の検量線でクロピラリドの含量を求める。

7 . 確認試験

LC/MSにより確認する。

8 . 操作条件

LC/MS

カラム：トリアコンチルシリル化シリカゲル(粒径5 µm)、内径2 mm、長さ250 mm

カラム温度：40

移動相：アセトニトリル及び1%ギ酸(1 : 1)混液

イオン化法：ESI(ネガティブ)

主なイオン(m/z): 190

保持時間の目安：7分

9 . 定量限界

0.05 mg/kg

10 . 留意事項

1) 試験法の概要

クロピラリドを試料から酸性条件下アセトンで抽出する。抽出液を多孔性ケイソウ土カラム、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及び多孔性ケイソウ土カラムで精製し、LC/MSで測定及び確認する方法である。

2) 注意点

一律基準レベルの分析を行う場合は、濃縮倍率を高める(抽出液の分取量を増やすか、最終試験溶液の液量を減らす)などの工夫が必要である。

11 . 参考文献

1) Lauren, D.R., Taylor, H.J., Rahman, A., Analysis of the herbicides dicamba, clopyralid and bromacil in asparagus by high-performance liquid chromatography, Journal of Chromatography,

439, 470-475, 1988

1 2 . 類型

C

ジクワット、パラコート及びメピコートクロリド試験法（農作物）

1．分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
ジクワット	ジクワット
パラコート	パラコート
メピコートクロリド	メピコートクロリド

2．装置

蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-FL）
液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

ジピクリルアミンナトリウム ジピクリルアミンナトリウム

プロピルスルホニルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg） 内径 12～13 mm のポリエチレン製のカラム管に、プロピルスルホニルシリル化シリカゲル 500 mg を充てんしたもの又はこれと同等の分離特性を有するもの。

ヘプタフルオロ-*n*-ブチル酸 ヘプタフルオロ-*n*-ブチル酸

ジクワット標準品 本品はジクワット 98%以上を含む。

パラコート標準品 本品はパラコート 99%以上を含む。

メピコートクロリド標準品 本品はメピコートクロリド 99%以上を含む。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

穀類、豆類、種実類、果実、野菜、ハーブ、抹茶及びホップの場合

穀類、豆類及び種実類の場合は試料 10.0 g を量り採る。抹茶及びホップの場合は試料 5.00 g を量り採る。果実、野菜及びハーブの場合は試料 20.0 g を量り採る。

これに水 60 mL 及び硫酸 30 mL を加え、混合する。沸騰石 2～3 粒及び消泡剤約 1 mL を加え、還流冷却器を付けて 5 時間加熱還流する。放冷後、ガラス繊維ろ紙（GFP）を用いて吸引ろ過し、ろ紙上の残留物に水 50 mL を加えて、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、水を加えて正確に 200 mL とする。その 20 mL（試料 1 g 相当、抹茶及びホップの場合は 40 mL、果実、野菜及びハーブの場合は 10 mL）を正確に取り、12 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加えて pH 7 に調整する。

抹茶以外の茶の場合

試料 9.00 g に 100 の水 540 mL を加え、室温で 5 分間放置した後、ろ過する。冷後、ろ液 60 mL を採り、硫酸 30 mL を加え、混合する。沸騰石 2 ~ 3 粒及び消泡剤約 1 mL を加え、還流冷却器を付けて 5 時間加熱還流する。放冷後、ガラス繊維ろ紙 (GFP) を用いて吸引ろ過し、ろ紙上の残留物に水 50 mL を加えて、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、水を加えて正確に 200 mL とする。その 20 mL (試料 0.1 g 相当) を正確に取り、12 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加えて pH 7 に調整する。

2) 精製

プロピルスルホニルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にメタノール 10 mL 及び水 10 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに、1) で得られた溶液を注入した後、流出液は捨てる。さらに水 10 mL 及びメタノール 10 mL を順次注入し、流出液は捨てる。次いで、飽和塩化アンモニウム・メタノール溶液 20 mL を注入し、溶出液を 40 以下で濃縮し、窒素ガスを送って乾固する (、メピコートクロリド画分)。さらに、ミニカラムに 5 mol/L 塩化アンモニウム溶液 20 mL を注入し、溶出液に 5 mol/L 塩化アンモニウム溶液を加えて正確に 20 mL とする (、ジクワット及びパラコート画分)。

3) ジクロロメタン転溶及びジクロロメタン洗浄 (メピコートクロリド画分)

() の残留物に 0.05% ジピクリルアミンナトリウム溶液 20 mL を加えて溶かし、12 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 1 mL を加え、pH 13 とする。これをジクロロメタン 30 mL ずつで 3 回振とう抽出する。ジクロロメタン層を合わせて綿栓ろ過後、40 以下で濃縮し、窒素ガスを送って乾固する。残留物に 2 mol/L 塩酸 50 mL を加えて溶かす。これを、ジクロロメタン 10 mL ずつで 2 回洗浄した後、60 以下で濃縮し、窒素ガスを送って乾固する。この残留物を 5 mmol/L ヘプタフルオロ-*n*-ブチル酸溶液に溶解し、正確に 2 mL としたものをメピコートクロリド試験溶液とする。

4) 蛍光誘導体化 (酸化) (ジクワット及びパラコート画分)

ジクワット

() の溶液 5 mL を正確に採り、12 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 25 mL 及び 1% フェリシアン化カリウム溶液 1 mL を加え、均一になるように振り混ぜた後、エーテル 20 mL ずつで 2 回振とう抽出する。エーテル層を合わせて無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で濃縮し、窒素ガスを送って乾固する。この残留物をアセトニトリル及び水 (1:9) 混液に溶解し、正確に 2 mL としたものをジクワット試験溶液とする。

パラコート

()の溶液 10 mL を正確に採り、12 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 10 mL 及び 1 % フェリシアン化カリウム溶液 1 mL を加え、均一になるように振り混ぜた後、ジクロロメタン 20 mL ずつで 2 回振とう抽出する。ジクロロメタン層を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を 40 以下で減圧濃縮し、窒素ガスを送って乾固する。この残留物をアセトニトリル及び水 (1 : 9) 混液に溶解し、正確に 2 mL としたものをパラコート試験溶液とする。

5 . 検量線の作成

1) ジクワット

ジクワット標準品の 4 mg/L 0.01 mol/L 塩酸溶液を調製し、その 0.5 mL に 5 mol/L 塩化アンモニウム溶液 5 mL を加え、以下 4 の 4) 「蛍光誘導体化 (酸化) 」に従って操作する。濃縮残留物をアセトニトリル及び水 (1 : 9) 混液に溶解し、正確に 20 mL とする (0.1 mg/L) 。これを適宜希釈して、0.00125 ~ 0.05 mg/L の溶液を調製し、それぞれ 40 μ L を HPLC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

2) パラコート

パラコート標準品の 4 mg/L 0.01 mol/L 塩酸溶液を調製し、その 0.5 mL に 5 mol/L 塩化アンモニウム溶液 10 mL を加え、以下 4 の 4) 「蛍光誘導体化 (酸化) 」に従って操作する。濃縮残留物をアセトニトリル及び水 (1 : 9) 混液に溶解し、正確に 20 mL とする (0.1 mg/L) 。これを適宜希釈して、0.0025 ~ 0.1 mg/L の溶液を調製し、それぞれ 20 μ L を HPLC に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

3) メピコートクロリド

メピコートクロリド標準品の 0.005 ~ 0.2 mg/L 5 mmol/L ヘプタフルオロ-*n*-ブチル酸溶液を数点調製し、それぞれ 10 μ L を LC/MS に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

6 . 定量

1) ジクワット

試験溶液 40 μ L を HPLC に注入し、5 . 1) の検量線でジクワットの含量を求める。

2) パラコート

試験溶液 20 μ L を HPLC に注入し、5 . 2) の検量線でパラコートの含量を求める。

3) メピコートクロリド

試験溶液 10 μ L を LC/MS に注入し、5 . 3) の検量線でメピコートクロリドの含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS により確認する。

8. 測定条件

1) HPLC (ジクワット及びパラコートの場合)

カラム: トリアコンチルシリル化シリカゲル(粒径 5 μm) 内径 4.6 mm、長さ 250 mm

カラム温度: 40

移動相: アセトニトリル及び水 (8 : 92) 混液

測定波長: 励起波長 368 nm、蛍光波長 430 nm (ジクワット)

励起波長 330 nm、蛍光波長 436 nm (パラコート)

保持時間の目安: 18.5分 (ジクワット)、20分 (パラコート)

2) LC/MS (メピコートクロリドの場合)

カラム: オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 5 μm) 内径 2 ~ 3 mm、長さ 150 mm

カラム温度: 40

移動相: 5 mmol/L ヘプタフルオロ-*n*-ブチル酸及びメタノール混液 (95 : 5) から (1 : 1) までの濃度勾配を 5 分間で行う。

イオン化モード: ESI (+)

主なイオン (m/z): 114

保持時間の目安: 9 分

3) LC/MS (ジクワット及びパラコートの場合)

カラム: オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径 5 μm) 内径 2 ~ 3 mm、長さ 150 mm

カラム温度: 40

移動相: アセトニトリル及び 0.1% 酢酸 (1 : 9) 混液

イオン化モード: ESI (+)

主なイオン (m/z): ジクワット; 215、パラコート; 217

注入量: ジクワット 10 μL 、パラコート 5 μL

保持時間の目安: ジクワット 5.7 分、パラコート 5.4 ~ 5.6 分

9. 定量限界

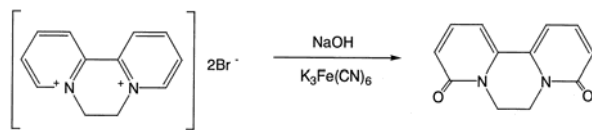
各農薬 0.01 mg/kg (抹茶以外の茶の場合は 0.1 mg/kg)

10. 留意事項

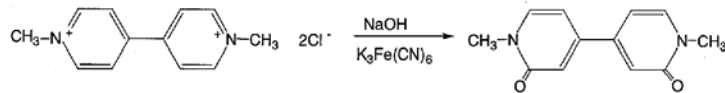
1) 試験法の概要

ジクワット、パラコート及びメピコートクロリドを試料から 6 mol/L 硫酸で加熱還流抽出し、プロピルスルホニルシリル化シリカゲルミニカラムによる精製でメピコートクロリド画分()とジクワット及びパラコート画分()に分ける。メピコートクロリド画分()についてはジクロロメタン転溶、次いで塩酸酸性下ジクロロメタン洗浄を行った後、LC/MS で測定する。ジクワット及びパラコート画分()については蛍光誘導体化(酸化)後、HPLC で測定し、LC/MS で確認する方法である。

ジクワットの蛍光誘導体化



パラコートの蛍光誘導体化



2) 注意点

0.05% ジピクリルアミンナトリウム溶液は、調製後時間が経過したものを使用すると、メピコートクロリドの転溶率が低下する。

ジクワット及びパラコートの蛍光誘導体の LC/MS における感度は、HPLC-FL 法の 1/4 である。基準値と比較して定量限界が高い場合は、蛍光誘導化に供する溶液量を適宜増加して定量限界を下げる。

1.1. 参考文献

- 1) 環境省告示第 20 号「ジクアトジプロミド試験法」(昭和 61 年 4 月 14 日)
- 2) 環境省告示第 40 号「パラクアトジクロリド試験法」(昭和 51 年 6 月 11 日)
- 3) 環境省告示第 21 号「メピコートクロリド試験法」(平成 3 年 4 月 1 日)
- 4) 飼料分析基準研究会編著「飼料分析法・解説」p.6-148 ~ 6-152 (社) 日本科学飼料協会
- 5) 赤木浩一、食品衛生学雑誌、45、197-200、2004
- 6) 大倉ら、平成元年度愛媛衛研年報、51、27-32、1990

1.2. 類型

C