

食安発1228第1号
平成24年12月28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の一部改正について

今般、農薬、飼料添加物及び動物用医薬品に関する試験法に係る知見の集積等を踏まえ、「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。以下「試験法通知」という。）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。

なお、改正後の試験法の実施に際しては、試験法通知別添の第1章総則部分を参考とされたい。

記

1. 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。
表題の変更については、本文に反映させること。
2. 第3章個別試験法中「アルジカルブ、アルジカルブスルホキシド、アルドキシカルブ、エチオフエンカルブ、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」に係る部分を「アルジカルブ及びアルドキシカルブ、エチオフエンカルブ、オキサミル、カルバリル、ピリミカーブ、フェノブカルブ並びにベンダイオカルブ試験法（農産物）」としてこれを別紙2とし、「ベンチアバリカルブイソプロピル試験法（農産物）」に係る部分の次に別紙3の「ペンチオピラド試験法（農産物）」を新たに加える。なお、開発に当たった1機関の結果において、「ペンチオ

ピラド試験法（農産物）」では、ばれいしょ、ほうれんそう、キャベツ、りんご、なつみかん、たまねぎ、玄米、大豆、ごまの種子及び茶について本試験法が適用可能であることが確認されており、本試験の実施に際して参考とされたい。

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Ⅰ（農産物）
- ・ LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅱ（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Ⅰ（畜水産物）
- ・ HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅱ（畜水産物）
- ・ HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅲ（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、エタルフルラリン、エトリジアゾール、エンドリン、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、トリフルラリン、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（農産物）
- ・ 2,4-D、2,4-DB及びクロプロップ試験法（農産物）
- ・ 2,2-DPA試験法（農産物）
- ・ DCIP試験法（農産物）
- ・ DBEDC試験法（農産物）
- ・ 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ビンホス試験法（農産物）
- ・ EPTC試験法（農産物）
- ・ MCPA及びジカンバ試験法（農産物）
- ・ Seebachアミン試験法（農産物）
- ・ 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、ビフェントリン、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 (農産物)
- ・アシベンゾラルSメチル試験法 (農産物)
 - ・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 (農産物)
 - ・アシュラム試験法 (農産物)
 - ・アセキノシル試験法 (農産物)
 - ・アセタミプリド試験法 (農産物)
 - ・アセフェート、オメトエート及びメタミドホス試験法 (農産物)
 - ・アゾキシストロビン試験法 (農産物)
 - ・アゾキシストロビン、クミルロン及びシメコナゾール試験法 (畜水産物)
 - ・アニラジン試験法 (農産物)
 - ・アミトラズ試験法 (農産物)
 - ・アミトロール試験法 (農産物)
 - ・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、ビテルタノール、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 (農産物)
 - ・アラニカルブ試験法 (農産物)
 - ・アルジカルブ及びアルドキシカルブ、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、フェノブカルブ並びにベンダイオカルブ試験法 (農産物)
 - ・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 (畜水産物)
 - ・アンプロリウム及びデコキネート試験法 (畜水産物)
 - ・イオドスルフロンメチル、エタメツルフロンメチル、エトキシスルフロン、シノスルフロン、スルホスルフロン、トリアスルフロン、ニコスルフロン、ピラゾスルフロンエチル、プリミスルフロンメチル、プロスルフロン及びリムスルフロン試験法 (農産物)
 - ・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 (農産物)
 - ・イソフェンホス試験法 (農産物)
 - ・イソメタミジウム試験法 (畜水産物)
 - ・イナベンフィド試験法 (農産物)
 - ・イプロジオン試験法 (農産物)
 - ・イベルメクチン、エプリノメクチン、ドラメクチン及びモキシデクチン試験法 (畜水産物)
 - ・イマザモックスアンモニウム塩試験法 (農産物)
 - ・イマザリル試験法 (農産物)
 - ・イマズスルフロン及びベンスルフロンメチル試験法 (農産物)
 - ・イミシアホス試験法 (農産物)
 - ・イミノクタジン試験法 (農産物)
 - ・イミベンコナゾール試験法 (農産物)
 - ・インダノファン試験法 (農産物)

- ・ウニコナゾールP試験法 (農産物)
- ・エスプロカルブ、クロルプロファミ、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 (農産物)
- ・エチクロゼート試験法 (農産物)
- ・エチプロール試験法 (農産物)
- ・エチプロール試験法 (水産物)
- ・エテホン試験法 (農産物)
- ・エトキサゾール試験法 (農産物)
- ・エトキシキン試験法 (農産物)
- ・エトフェンプロックス試験法 (農産物)
- ・エトベンザニド試験法 (農産物)
- ・エマメクチン安息香酸塩試験法 (農産物)
- ・エンロフロキサシン、オキシリニック酸、オフロキサシン、オルビフロキサシン、サラフロキサシン、ジフロキサシン、ダノフロキサシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン及びフルメキン試験法 (畜水産物)
- ・オキサジクロメホン及びフェノキサニル試験法 (農産物)
- ・オキシテトラサイクリン試験法 (農産物)
- ・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 (畜水産物)
- ・オキシポコナゾールフマル酸塩試験法 (農産物)
- ・オキシリニック酸試験法 (農産物)
- ・オクスフェンダゾール、フェバンテル及びフェンベンダゾール試験法 (畜水産物)
- ・オリサストロビン試験法 (農産物)
- ・オルトフェニルフェノール及びジフェニル試験法 (農産物)
- ・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 (畜水産物)
- ・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 (農産物)
- ・カルタップ、ベンスルタップ及びチオシクラム試験法 (農産物)
- ・カルプロパミド試験法 (農産物)
- ・カルベンダジム、チオフアネート、チオフアネートメチル及びベノミル試験法 (農産物)
- ・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 (農産物)
- ・カンタキサンチン試験法 (畜水産物)
- ・キザロホップエチル試験法 (農産物)
- ・キノメチオネート試験法 (農産物)
- ・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 (農産物)
- ・キンクロラック試験法 (農産物)
- ・クミルロン試験法 (農産物)
- ・クリスタルバイオレット、ブリリアントグリーン及びメチレンブルー試験法 (畜水産物)
- ・グリチルリチン酸試験法 (畜水産物)

- ・グリホサート試験法 (農産物)
- ・グルホシネート試験法 (農産物)
- ・クレトジム試験法 (農産物)
- ・クロサンテル試験法 (畜水産物)
- ・クロジナホッププロパルギル試験法 (農産物)
- ・クロチアニジン試験法 (農産物)
- ・クロチアニジン試験法 (畜産物)
- ・クロピラリド試験法 (農産物)
- ・クロフェンテジン試験法 (農産物)
- ・クロラントラニリプロール試験法 (農産物)
- ・クロリムロンエチル及びトリベヌロンメチル試験法 (農産物)
- ・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 (農産物)
- ・クロルフェナピル及びビフェノックス試験法 (農産物)
- ・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 (農産物)
- ・クロルメコート試験法 (農産物)
- ・ゲンタマイシン試験法 (畜水産物)
- ・酸化フェンブタズ試験法 (農産物)
- ・酸化プロピレン試験法 (農産物)
- ・シアゾファミド試験法 (農産物)
- ・シアナジン試験法 (農産物)
- ・ジアフェンチウロン試験法 (農産物)
- ・シアン化水素試験法 (農産物)
- ・シエノピラフェン試験法 (農産物)
- ・ジクラズリル及びナイカルバジン試験法 (畜水産物)
- ・シクロキシジム試験法 (農産物)
- ・ジクロシメット試験法 (農産物)
- ・シクロスルファミロン試験法 (農産物)
- ・ジクロフルアニド及びトリルフルアニド試験法 (農産物)
- ・ジクロベニル試験法 (農産物)
- ・ジクロメジン試験法 (農産物)
- ・ジクロルボス及びトリクロルホン試験法 (農産物)
- ・ジクワット、パラコート及びメピコートクロリド試験法 (農産物)
- ・ジチアノン試験法 (農産物)
- ・ジチオピル及びチアゾピル試験法 (農産物)
- ・ジノカップ試験法 (農産物)
- ・ジノテフラン試験法 (農産物)
- ・ジノテフラン試験法 (畜産物)
- ・シハロホップブチル及びジメテナミド試験法 (農産物)
- ・ジヒドロストレプトマイシン及びストレプトマイシン試験法 (農産物)

- ・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 (畜水産物)
- ・ジフェンゾコート試験法 (農産物)
- ・ジフルフェニカン試験法 (農産物)
- ・シフルメトフェン試験法 (農産物)
- ・シプロジニル試験法 (農産物)
- ・ジメチピン試験法 (農産物)
- ・ジメトモルフ試験法 (農産物)
- ・ジメトモルフ試験法 (畜水産物)
- ・シモキサニル試験法 (農産物)
- ・臭素試験法 (農産物)
- ・シラフルオフェン試験法 (農産物)
- ・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 (農産物)
- ・スピノサド試験法 (農産物)
- ・スピラマイシン試験法 (畜水産物)
- ・スピロメシフェン試験法 (農産物)
- ・スピロメシフェン試験法 (畜水産物)
- ・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ム、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ム及びスルフイソゾール試験法 (畜水産物)
- ・スルファジミジン試験法 (畜水産物)
- ・セトキシジム試験法 (農産物)
- ・セファゾリン、セファピリン、セファレキシン、セファロニウム、セフォペラゾン及びセフロキシム試験法 (畜水産物)
- ・セフチオフル試験法 (畜水産物)
- ・ゼラノール試験法 (畜水産物)
- ・ダイムロン試験法 (農産物)
- ・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 (農産物)
- ・ターバシル試験法 (農産物)
- ・チアジニル試験法 (農産物)
- ・チアベンダゾール及び5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン試験法 (畜水産物)
- ・チオジカルブ及びメソミル試験法 (農産物)
- ・チルミコシン試験法 (畜水産物)
- ・ツラスロマイシン試験法 (畜水産物)
- ・テクロフタラム試験法 (農産物)
- ・デスメディファム試験法 (農産物)
- ・テブラロキシジム試験法 (農産物)

- ・テレフタル酸銅試験法 (農産物)
- ・トリクラベンダゾール試験法 (畜水産物)
- ・トリクラミド試験法 (農産物)
- ・トリクロロ酢酸ナトリウム塩試験法 (農産物)
- ・トリシクラゾール試験法 (農産物)
- ・トリネキサパックエチル試験法 (農産物)
- ・トリフルミゾール試験法 (農産物)
- ・トリブロムサラン及びビチオノール試験法 (畜水産物)
- ・トルトラズリル試験法 (畜水産物)
- ・トルフェンピラド試験法 (農産物)
- ・鉛試験法 (農産物)
- ・ニコチン試験法 (農産物)
- ・ニテンピラム試験法 (農産物)
- ・ノバルロン試験法 (農産物)
- ・バミドチオン試験法 (農産物)
- ・バリダマイシン試験法 (農産物)
- ・ビオレスメトリン試験法 (農産物)
- ・ピクロラム試験法 (農産物)
- ・ビスピリバックナトリウム塩試験法 (農産物)
- ・ヒ素試験法 (農産物)
- ・ビフェナゼート試験法 (農産物)
- ・ビフェナゼート試験法 (畜産物)
- ・ヒメキサゾール試験法 (農産物)
- ・ピメトロジン試験法 (農産物)
- ・ピラクロストロビン試験法 (農産物)
- ・ピラクロストロビン試験法 (畜産物)
- ・ピラクロニル試験法 (農産物)
- ・ピラゾキシフェン試験法 (農産物)
- ・ピラフルフェンエチル試験法 (農産物)
- ・ピリダベン試験法 (農産物)
- ・ピリダリル試験法 (農産物)
- ・ピリチオバックナトリウム塩試験法 (農産物)
- ・ピリデート試験法 (農産物)
- ・ピリフェノックス試験法 (農産物)
- ・ピリミジフェン試験法 (農産物)
- ・ピリメタニル試験法 (農産物)
- ・ピルリマイシン試験法 (畜水産物)
- ・ファモキサドン試験法 (農産物)
- ・フィプロニル試験法 (農産物)
- ・フェノキサプロップエチル試験法 (農産物)

- ・ フェリムゾン試験法 (水産物)
- ・ フェンアミドン試験法 (農産物)
- ・ フェンアミドン試験法 (畜産物)
- ・ フェントラザミド試験法 (農産物)
- ・ フェンピロキシメート試験法 (農産物)
- ・ フェンヘキサミド試験法 (農産物)
- ・ フェンチン試験法 (農産物)
- ・ ブチレート試験法 (農産物)
- ・ プラジクアンテル試験法 (畜水産物)
- ・ フラメトピル試験法 (農産物)
- ・ フルアジナム試験法 (農産物)
- ・ フルアジホップ試験法 (農産物)
- ・ フルオピコリド試験法 (農産物)
- ・ フルオルイミド試験法 (農産物)
- ・ フルカルバゾンナトリウム塩試験法 (農産物)
- ・ フルシラゾール試験法 (農産物)
- ・ フルスルファミド試験法 (農産物)
- ・ フルセトスルフロニ試験法 (農産物)
- ・ フルベンジアミド試験法 (農産物)
- ・ フルベンダゾール試験法 (畜水産物)
- ・ フルミオキサジン試験法 (農産物)
- ・ プロクロラズ試験法 (農産物)
- ・ プロシミドン試験法 (農産物)
- ・ フロニカミド試験法 (農産物)
- ・ フロニカミド試験法 (畜産物)
- ・ プロパモカルブ試験法 (農産物)
- ・ プロヒドロジャスモン試験法 (農産物)
- ・ プロヘキサジオンカルシウム塩試験法 (農産物)
- ・ ヘキシチアゾクス試験法 (農産物)
- ・ ペンシクロン試験法 (農産物)
- ・ ベンジルペニシリン試験法 (畜水産物)
- ・ ベンゾビシクロン試験法 (農産物)
- ・ ベンタゾン試験法 (農産物)
- ・ ベンチアバリカルブイソプロピル試験法 (農産物)
- ・ ペンチオピラド試験法 (農産物)
- ・ ペントキサゾン試験法 (農産物)
- ・ ベンフレセート試験法 (農産物)
- ・ 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 (農産物)

- マレイン酸ヒドラジド試験法 (農産物)
- マンジプロパミド試験法 (農産物)
- マイクロブタニル試験法 (農産物)
- メタアルデヒド試験法 (農産物)
- メタベンズチアズロン試験法 (農産物)
- メタミトロン試験法 (農産物)
- メチオカルブ試験法 (農産物)
- メトコナゾール試験法 (農産物)
- メトプレン試験法 (農産物)
- メトリブジン試験法 (農産物)
- メパニピリム試験法 (農産物)
- モリネート試験法 (農産物)
- ラクトパミン試験法 (畜水産物)
- リン化水素試験法 (農産物)
- レバミゾール試験法 (畜水産物)

(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ロール試験法
- ・ 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
- ・ α -トレンボロン及び β -トレンボロン試験法
- ・ 二臭化エチレン試験法
- ・ ニトロフラゾン試験法
- ・ ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドン試験法
- ・ プロファム試験法
- ・ マラカイトグリーン試験法

アルジカルブ及びアルドキシカルブ、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、フェノブカルブ並びにベンダイオカルブ試験法（農産物）

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
アルジカルブ及びアルドキシカルブ	アルジカルブ、アルジカルブスルホキシド、アルジカルブスルホン
エチオフェンカルブ	エチオフェンカルブ
オキサミル	オキサミル
カルバリル	カルバリル
ピリミカーブ	ピリミカーブ
フェノブカルブ	フェノブカルブ
ベンダイオカルブ	ベンダイオカルブ

2. 装置

ポストカラム反応蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-FL（ポストカラム））
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3に示すものを用いる。

発蛍光液 *o*-フタルアルデヒド 10 mg 及び2-メルカプトエタノール 5 μ L に 0.05mol/L ホウ酸ナトリウム溶液を加えて 100 mL とする。

リン酸緩衝液 水約 800 mL に水酸化ナトリウム 1.75 g 及びリン酸一ナトリウム 11.7 g を加えて溶かした後、水を加え 1,000 mL とする。

4. 標準品

アルジカルブ 本品はアルジカルブ 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 98~100°Cである。

アルジカルブスルホキシド 本品はアルジカルブスルホキシド 96%以上を含む。

融点 本品の融点は 100~104°Cである。

アルジカルブスルホン 本品はアルジカルブスルホン 98%以上を含む。

融点 本品の融点は 132~142°Cである。

エチオフェンカルブ 本品はエチオフェンカルブ 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 33~34°Cである。

オキサミル 本品はオキサミル 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 100~102°Cである。

カルバリル 本品はカルバリル 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 138~140°Cである。

ピリミカーブ 本品はピリミカーブ 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 90~91°Cである。

フェノブカルブ 本品はフェノブカルブ 98%以上を含む。

融点 本品の融点は 32°Cである。

ベンダイオカルブ 本品はベンダイオカルブ 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 129~130°Cである。

5. 試験溶液の調製

a 抽出法

① 穀類、豆類、果実、野菜、種実類、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 20.0 g を量り採り、水 100 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 に相当する量を量り採る。

抹茶及びホップの場合は、試料 20.0 g を量り採る。

これにアセトン 200 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 100 mL を加え、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°C 以下で約 20 mL に濃縮する。

これをあらかじめ 5 % 塩化ナトリウム溶液 200 mL 及びジクロロメタン (特級) 100 mL を入れた 500 mL の分液漏斗に移し、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、ジクロロメタン層を 500 mL の三角フラスコに移す。水層にジクロロメタン (特級) 100 mL を加え、上記と同様に操作して、ジクロロメタン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。次いでジクロロメタン (特級) 50 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 3 回繰り返す。これらの洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C 以下で約 1 mL に濃縮し、更に室温で空気を通じて乾固する。

この残留物に *n*-ヘキサン 25 mL 及び *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加えて溶かし、これを 100 mL の分液漏斗に移す。振とう機を用いて 10 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を 200 mL の分液漏斗に移す。*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 回繰り返す。アセトニトリル層を上記の分液漏斗に合わせる。これにアセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 50 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し、40°C 以下で約 1 mL に濃縮し、更に室温で空気を通じて乾固する。この残留物にメタノールを加えて溶かし、正確に 2 mL とする。

② 抹茶以外の茶の場合

試料 9.00 g を 100°C 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 4 mL を加え、10 秒間振り混ぜた後、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 を用いて三角フラスコを洗い、その洗液で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。これにエーテル 100 mL 及び塩化ナトリウム 100 g 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 30 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 3 回繰り返す。これらの洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C 以下で約 1 mL に濃縮し、更に室温で空気を通じて乾固する。この残留物にメタノールを加えて溶かし、正確に 2 mL とする。

b 精製法

a 抽出法で得られた溶液 0.3 mL を量り採り、これを希塩酸 3 mL に加え、緩やかに振り混ぜた後、孔径 0.45 μm のメンブランフィルターを用いてろ過し、これを試験溶液とする。

6. 操作法

a 定性試験

① アルジカルブ、アルジカルブスルホキシド、アルジカルブスルホン、エチオフェンカルブ、オキサミル、カルバリル、フェノブカルブ及びベンダイオカルブの試験法を行う場合次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 $5\ \mu\text{m}$)、内径 $3.9\ \text{mm}$ 、長さ $150\ \text{mm}$

カラム温度 40°C

検出器 励起波長 $339\ \text{nm}$ 、蛍光波長 $445\ \text{nm}$

移動相 A テトラヒドロフラン B 水 C メタノール アルジカルブが約 12 分で流出する流速に調整する。

濃度勾配 水及びメタノールの混液 (22 : 3) を 0.1 分間送液した後、A : B (1 : 9) から (3 : 7) までの濃度勾配を 19.9 分間行う。次にテトラヒドロフラン及び水の混液 (3 : 7) を 10 分間送液した後、水及びメタノールの混液 (22 : 3) を 10 分間送液する。

加水分解反応槽 移動相に対し、 $0.05\ \text{mol/L}$ 水酸化ナトリウム溶液を注入する。注入量を一定に保つ。

加水分解反応槽温度 80°C

蛍光反応槽 移動相に対し、発蛍光液を注入する。注入量を一定に保つ。

② ピリミカーブの試験を行う場合

次の操作条件で試験を行う。試験溶液は 5. 試験溶液の調製の a 抽出法で得られた溶液を用い、試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 $5\ \mu\text{m}$)、内径 $4.0\sim 4.6\ \text{mm}$ 、長さ $250\ \text{mm}$

検出器 励起波長 $312\ \text{nm}$ 、蛍光波長 $382\ \text{nm}$

移動相 水、メタノール及びリン酸緩衝液 (1 : 7 : 2) 混液を用いる。ピリミカーブが約 5 分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 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。

ただし、アルジカルブ及びアルドキシカルブにあつては、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、アルジカルブ、アルジカルブスルホキシド及びアルジカルブスルホンのそれぞれについてピーク高法又はピーク面積法により定量を行い、アルジカルブ、アルジカルブスルホキシド及びアルジカルブスルホンの含量を求め、次式により、アルジカルブスルホキシド及びアルジカルブスルホンを含むアルジカルブの含量を求める。

$$\text{アルジカルブ (アルジカルブスルホキシド及びアルジカルブスルホンを含む。)} \text{の含量 (ppm)} \\ = A + B \times 0.9224 + C \times 0.8560$$

A : アルジカルブの含量 (ppm)

B : アルジカルブスルホキシドの含量 (ppm)

C : アルジカルブスルホンの含量 (ppm)

c 確認試験

次の操作条件で液体クロマトグラフィー・質量分析を行う。試験溶液は 5. 試験溶液の調製の a 抽出法で得られた溶液を用い、試験結果は標準品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。

操作条件

カラム オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 $3\sim 5\ \mu\text{m}$)、内径 $2.0\sim 4.6\ \text{mm}$ 、長さ $75\sim 150\ \text{mm}$

カラム温度 50°C

移動相 A 水及びメタノール (9 : 1) 混液、B 水及びメタノール (1 : 9) 混液

濃度勾配 A : B (9 : 1) を 0.1 分間送液した後、A : B (9 : 1) から (1 : 3) までの濃度勾配を 24.9 分間行う。次に A : B (1 : 3) から (0 : 1) までの濃度勾配を 5 分間おこなった後、A : B (9 : 1) を 5 分間送液する。

イオン化モード ESI (+)

主なイオン (m/z) アルジカルブ 213、116

アルジカルブスルホキシド 207、132

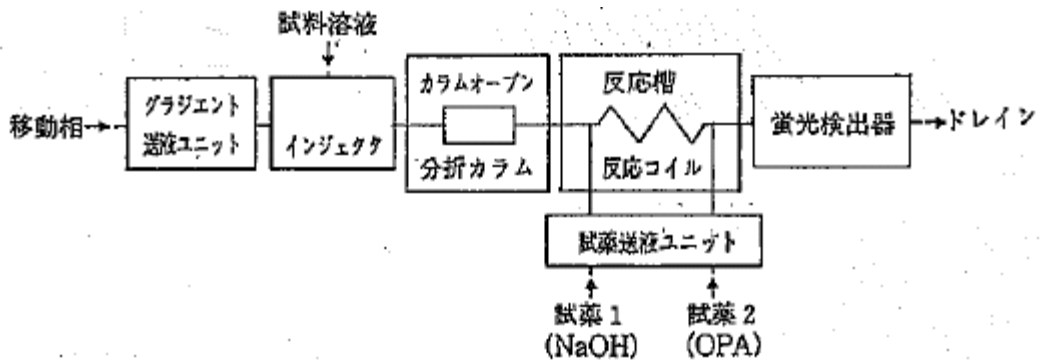
アルジカルブスルホン 223
 エチオフェンカルブ 226
 オキサミル 237
 カルバリル 202、145
 ピリミカーブ 239
 フェノブカルブ 208
 ベンダイオカルブ 224

7. 定量限界

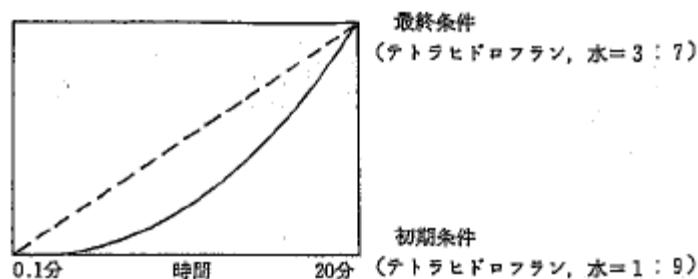
アルジカルブ 0.005 mg/kg
 アルジカルブスルホキシド 0.005 mg/kg
 アルジカルブスルホン 0.005 mg/kg
 エチオフェンカルブ 0.005 mg/kg
 オキサミル 0.005 mg/kg
 カルバリル 0.01mg/kg
 ピリミカーブ 0.005 mg/kg
 フェノブカルブ 0.01 mg/kg
 ベンダイオカルブ 0.005 mg/kg

8. 留意事項

- 1) ポストカラム蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ装置の構成は下図の通りであること。



- 2) かんきつ類の果肉等酸性の強い検体を対象としてピリミカーブを同時に抽出するときは、炭酸水素ナトリウム約 5 g を加えることにより抽出率が向上できること。
 3) アセトニトリル／ヘキサン分配は、油脂等をほとんど含まない試料では省略することができる。
 4) メンブランフィルターは、種類によって測定対象物質が吸着されることがあるので、回収できることを確認して使用する。
 5) 操作条件は、機種、カラムの種類等により異なる。アルジカルブスルホキシド及びアルジカルブスルホンは溶出が早いことから、オキサミルや他の成分と誤認しないよう留意する。
 6) 6. 操作法の a 定性試験の濃度勾配は、下図の曲線を参考にする。



- 7) 6. 操作法の c 確認試験におけるアルジカルブの主なイオンのうち m/z 213 は $[M+Na]^+$ である。
- 8) 妨害成分の多い試料では、グラファイトカーボンミニカラム (250 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 (500 mg) による精製を加えるとよい。
- 操作概要：グラファイトカーボンミニカラム (250 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 (500 mg) それぞれにアセトン 30 mL、*n*-ヘキサン 20 mL を注入し、流出液を捨て、上からグラファイトカーボンミニカラム (250 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 (500 mg) の順に連結する。試料抽出液の 0.5 mL を採り、窒素気流下でメタノールを除去し、アセトン及び *n*-ヘキサンの混液 (1 : 4) 0.5 mL に溶解して、先の連結カラムに注入する。アセトン及び *n*-ヘキサンの混液 (1 : 4) 20 mL を注入し、0.5 mL/分の速さで流出させ、溶出液を採る。次いで、グラファイトカーボンミニカラム (250 mg) 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 (500 mg) をはずし、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 (500 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサンの混液 (3 : 7) 10 mL を注入し、溶出液を合わせ、40°C 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 に溶解する。
- 9) 測定機器及び食品の種類によっては、5. 試験溶液の調製の a 抽出法で得られた溶液を、必要に応じて 8) に示したミニカラム精製を行った後、LC/MS により直接分析し、定量することも可能であるが、食品由来の成分の影響をうける場合があるので、予め適用可能であることを確認してから採用する必要がある。
- 10) アルジカルブスルホンは、アルドキシカルブと同一の化合物である。

9. 参考文献

- 永山ら、食品衛生学雑誌、35、470 (1994)
小林ら、食品衛生学雑誌、43、133 (2002)

10. 類型

C

ペンチオピラド試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

ペンチオピラド

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 3 に示すものを用いる。

ペンチオピラド標準品 本品はペンチオピラド 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。穀類、豆類及び種実類の場合は試料 10.0 g、茶の場合は 5.00 g にそれぞれ水 20 mL を加え、30 分間放置する。

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。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に 200 mL とする。

2) 精製

① 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 5 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られた抽出液（果実及び野菜の場合は 5 mL、穀類、豆類及び種実類の場合は 10 mL、茶の場合は 20 mL）を注入した後、アセトン 15 mL を注入する。全溶出液を合わせ水 10 mL を加えて、40℃以下で約 10 mL まで濃縮する。

② 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（1,000 mg）にアセトニトリル及び水各 5 mL を順次注入し、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、容器をアセトニトリル及び水（2：3）混液 10 mL で洗い、洗液をカラムに注入し、流出液は捨てる。次いでアセトニトリル及び水（7：3）混液 10 mL を注入し、溶出液をアセトニトリル及び水（7：3）混液で正確に 10 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ペンチオピラド標準品の 0.0005～0.01 mg/L 溶液（アセトニトリル及び水（7：3）混液）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 の検量線でペンチオピラドの含量を求める。

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 内径 2.0 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 μm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び 2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液（3：2）混液

イオン化モード：ESI（－）

主なイオン (m/z) : 358

保持時間の目安 : 8 分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

ペンチオピラドを試料からアセトンで抽出し、グラファイトカーボンミニカラム及びオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、LC-MS で定量し、LC-MS 又は LC-MS/MS で確認する方法である。

2) 注意点

①LC/MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物) の適用については、なつみかんについては適用できることを確認しており、事前に検証の上で一斉法を採用することは可能である。

②LC-MS (ESI (+)) を用いる場合の主なイオン (m/z) は、360 がある。

③LC-MS/MS (ESI (-)) を用いる場合の主なイオンを以下に示す。

プリカーサーイオン (m/z) : 358

プロダクトイオン (m/z) : 149、109

11. 参考文献

なし

12. 類型

C