

生食発0404第5号
平成28年4月4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・生活衛生局生活衛生・食品安全部長
(公 印 省 略)

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号食品安全部長通知。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、改正後の試験法を実施するに際しては、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のように改める。なお、改正部分を下線で示す。
2. 第3章個別試験法中「イマザモックスアンモニウム塩試験法（農産物）」を別紙2の「イマザピック、イマザピル、イマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩試験法（農産物）」に、「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（農産物）」を別紙3の「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（農産物及び畜水産物）」に改め、「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）」に係る部分の次に別紙4の「キャプタン及びクロロタロニル試験法（畜水産物）」を、

「グリホサート試験法（農産物）」に係る部分の次に別紙5の「グリホサート試験法（畜水産物）」を、「ジチアノン試験法（農産物）」に係る部分の次に別紙6の「ジチオカルバメート試験法（農産物及び畜水産物）」を、「シラフルオフエン試験法（農産物）」に係る部分の次に別紙7の「ジルパテロール試験法（畜産物）」を、「テレフタル酸銅試験法（農産物）」に係る部分の次に別紙8の「ドジン試験法（農産物）」を、「ニテンピラム試験法（農産物）」に係る部分の次に別紙9の「ノシヘプタイド試験法（畜水産物）」を加える。

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Ⅰ（畜水産物）
- ・LC/MSによる農薬等の一斉試験法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、アニコホス、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、フェニトロチオン、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）
- ・アセキノシル試験法（畜水産物）
- ・アセタミプリド試験法（農産物）
- ・アセタミプリド試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・アゾシクロチン及びシヘキサチン試験法（農産物）
- ・アゾシクロチン及びシヘキサチン試験法（畜水産物）
- ・アニラジン試験法（農産物）
- ・アミスルブロム試験法（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）
- ・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ロン試験法（農産物）
- ・イソチアニル及びプロスルホカルブ試験法（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）~~

・イマザピック、イマザピル、イマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピル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）
- ・イミドカルブ試験法（畜水産物）
- ・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（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）
- ・エトキシキン試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・オキサジアルギル試験法（農産物）
- ・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）

- ・カフェンストロール試験法（畜水産物）
- ・カルタップ、ベンスルタップ及びチオシクロラム試験法（農産物）
- ・カルプロパミド試験法（農産物）
- ・カルベンダジム、チオファネート、チオファネートメチル及びベノミル試験法（農産物及び畜水産物）
- ・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）
- ・キャプタン及びクロロタロニル試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・グリホサート試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・クロメプロップ試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・クロルスルフロン及びメトスルフロンメチル試験法（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）
- ・酸化フェンブタスズ試験法（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）
- ・ジクラズリル及びビ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）
- ・シクロスルファムロン試験法（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）
- ・ジチオカルバメート試験法（農産物及び畜水産物）
- ・ジチオピル及びチアゾピル試験法（農産物）
- ・ジニコナゾール試験法（農産物）
- ・ジニコナゾール試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・シラフルオフエン試験法（農産物）
- ・ジルパテロール試験法（畜産物）
- ・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）
- ・スピネトラム試験法（農産物）
- ・スピノサド試験法（農産物）
- ・スピノサド試験法（畜水産物）
- ・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、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（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）
- ・セフキノム試験法（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）
- ・ダズメット、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）
- ・テクロフトラム試験法（農産物）
- ・デスメディファム試験法（農産物）
- ・テプラロキシジム試験法（農産物）
- ・テフリルトリオン及びメソトリオン試験法（農産物）
- ・テレフタル酸銅試験法（農産物）
- ・**ドジン試験法（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）
- ・1-ナフタレン酢酸試験法（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）

・ノシヘプタイド試験法（畜水産物）

- ・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）
- ・ハロスルフロンメチル試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・ピリフルキナゾン試験法（農産物）
- ・ピリミジフェン試験法（農産物）
- ・ピリミスルファン試験法（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）
- ・フェンヘキサミド試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・フルシラゾール試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・プロディファコウム及びワルファリン試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・ベントゾン試験法（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）
- ・ミクロブタニル試験法（農産物）
- ・ミルベメクチン及びレピメクチン試験法（農産物）
- ・ミロサマイシン試験法（畜水産物）
- ・メタアルデヒド試験法（農産物）

- ・メタフルミゾン試験法（農産物）
- ・メタバ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）
- ・1-メチルシクロプロペン試験法（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）
- ・ヨウ化メチル試験法（農産物）
- ・ラクトパミン試験法（畜水産物）
- ・ラフォキサニド試験法（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
- ・ アルドリン、エンドリン及びディルドリン試験法
- ・ オラキンドックス及びカルバドックス試験法
- ・ カプタホール試験法
- ・ 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 -ートレンボロン及び β -ー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
- ・ ニトロフランチン、フラズ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

イマザピック、イマザピル、イマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

イマザピック
イマザピル
イマザモックス
イマゼタピル

2. 適用食品

農産物

3. 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）

4. 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。

塩酸溶液 水500 mLに1 mol/L塩酸を加えて、pH 2.5に調整する。

イマザピック標準品 本品はイマザピック98%以上を含む。

イマザピル標準品 本品はイマザピル98%以上を含む。

イマザモックス標準品 本品はイマザモックス98%以上を含む。

イマゼタピル標準品 本品はイマゼタピル98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類、豆類、種実類及び茶の場合

試料10.0 g（茶の場合は5.00 g）を量り採り、水20 mLを加え、30分間放置する。これに0.02 mol/L塩酸及びメタノール（2：3）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0.02 mol/L塩酸及びメタノール（2：3）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。得られたろ液を合わせ、0.02 mol/L塩酸及びメタノール（2：3）混液を加えて正確に200 mLとする。この溶液を正確に20 mL分取し、40℃以下で濃縮し、メタノールを除去する。この溶液に塩酸溶液を加えて約20 mLとする。

② 果実及び野菜の場合

試料20.0 gに0.02 mol/L塩酸及びメタノール（2：3）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0.02 mol/L塩酸及びメタノール（2：3）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。得られたろ液に0.02 mol/L塩酸及びメタノール（2：3）混液を加えて正確に200 mLとする。この溶液を正確に20 mL分

取し、40℃以下で濃縮し、メタノールを除去する。この溶液に塩酸溶液を加えて約20 mLとする。

2) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) にメタノール及び塩酸溶液各5 mLを順次注入し、流出液は捨てる。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) にメタノール及び塩酸溶液各5 mLを順次注入し、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に1) で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、塩酸溶液5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムの下部に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を接続し、塩酸溶液及びメタノール (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を除去した後、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メタノール10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アンモニア水及びメタノール (1 : 49) 混液15 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 : 1) 混液に溶解し、果実及び野菜の場合は正確に20 mL、穀類、豆類及び種実類の場合は正確に10 mL、茶の場合は正確に5 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

イマザピック、イマザピル、イマザモックス及びイマゼタピルの各標準品をそれぞれメタノールに溶解して200 mg/Lとし標準原液とする。各標準原液を適宜混合して水及びメタノール (1 : 1) 混液で希釈した溶液を数点調製し、それぞれ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。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.01 mg/kgに相当する試験溶液中濃度は各化合物0.001 mg/L (イマザモックス及びイマゼタピルは、それぞれイマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩換算) である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS又はLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でイマザピック、イマザピル、イマザモックス及びイマゼタピルの各含量を求める。イマザモックス及びイマゼタピルについては、次式により、それぞれイマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩の含量を求める。

$$\begin{aligned} \text{イマザモックスアンモニウム塩の含量 (ppm)} &= \text{イマザモックスの含量 (ppm)} \times 1.056 \\ \text{イマゼタピルアンモニウム塩の含量 (ppm)} &= \text{イマゼタピルの含量 (ppm)} \times 1.059 \end{aligned}$$

8. 確認試験

LC-MS又はLC-MS/MSで確認する。

9. 測定条件

(例)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2.1 mm、長さ150 mm、粒子径5 µm

カラム温度：40°C

移動相：0.1 vol%酢酸及び0.1 vol%酢酸・メタノール溶液混液（4：1）から（2：3）までの濃度勾配を20分間で行い、（2：3）で5分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）

LC-MS

イマザピック 276、イマザピル 262、イマザモックス 306、イマゼタピル 290

LC-MS/MS

イマザピック：プリカーサーイオン 276、プロダクトイオン 231、163

イマザピル：プリカーサーイオン 262、プロダクトイオン 217、149

イマザモックス：プリカーサーイオン 306、プロダクトイオン 261、193

イマゼタピル：プリカーサーイオン 290、プロダクトイオン 245、177

注入量：5 µL

保持時間の目安：イマザピック 19分、イマザピル 14分、イマザモックス 18分、イマゼタピル 23分

10. 定量限界

各化合物 0.01 mg/kg（イマザモックス及びイマゼタピルは、それぞれイマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩換算）

11. 留意事項

1) 試験法の概要

イマザピック、イマザピル、イマザモックス及びイマゼタピルを試料から0.02 mol/L塩酸及びメタノールの混液で抽出し、オクタデシ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の連結カラムで精製した後、LC-MS又はLC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

なお、イマザモックス及びイマゼタピルについては、それぞれの含量に換算係数を乗じて、イマザモックスアンモニウム塩及びイマゼタピルアンモニウム塩の含量に変換し、これらを分析値とする。

2) 注意点

① LC-MS測定での定性イオンについて

当該検討条件におけるLC-MS測定では、主なイオンに示した各農薬のプロトン付加分子以外には、いずれもナトリウムイオン付加分子が主に検出され、適切な定性イオンは認められなかった。

② LC-MS/MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

イマザピック（*m/z*）

定量イオン：プリカーサーイオン 276、プロダクトイオン 163

定性イオン：プリカーサーイオン 276、プロダクトイオン 231

イマザピル（*m/z*）

定量イオン：プリカーサーイオン 262、プロダクトイオン 217

定性イオン：プリカーサーイオン 262、プロダクトイオン 149

イマザモックス (m/z)

定量イオン：プリカーサーイオン 306、プロダクトイオン 261

定性イオン：プリカーサーイオン 306、プロダクトイオン 193

イマゼタピル (m/z)

定量イオン：プリカーサーイオン 290、プロダクトイオン 245

定性イオン：プリカーサーイオン 290、プロダクトイオン 177

- ③ 試験法開発時に検討した食品：玄米、大豆、ばれいしょ、だいこんの根、だいこんの葉、キャベツ、ねぎ、トマト、ほうれんそう、オレンジ、りんご、いちご、ぶどう、棉実及び茶

12. 参考文献

厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第0124001号「イマザモックスアンモニウム塩試験法（農産物）」（平成17年1月24日）

13. 類型

C

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 (農産物及び畜水産物)

1. 分析対象化合物

カルベンダジム
チオファネート
チオファネートメチル
ベノミル

2. 適用食品

農産物
畜水産物

3. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計 (LC-MS/MS)

4. 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。

L-アスコルビン酸ナトリウム L-アスコルビン酸ナトリウム (特級)

カルベンダジム標準品 本品はカルベンダジム98%以上を含む。

チオファネート標準品 本品はチオファネート98%以上を含む。

チオファネートメチル標準品 本品はチオファネートメチル99%以上を含む。

ベノミル標準品 本品はベノミル97%以上を含む。

エチル2-ベンズイミダゾールカルバマート (以下「EBC」という。) 標準品 本品はEBC98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類、豆類、種実類及びホップの場合

試料10.0 g (ホップは5.00 g) にL-アスコルビン酸ナトリウム1 g及び水20 mLを加え、30分間放置する。これにメタノール100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にメタノール50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、メタノールで正確に200 mLとする。

② 果実及び野菜の場合

試料を正確に量り、重量比で1/20量のL-アスコルビン酸ナトリウムを加え、磨砕均一化した後、試料20.0 gに相当する量を量り採り、メタノール100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にメタノール50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、メタノールで正確に200 mLとする。

③ 抹茶の場合

試料5.00 gにL-アスコルビン酸ナトリウム1 g及び水20 mLを加え、30分間放置する。これにメタノール100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にメタノール50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、メタノールで正確に200 mLとする。この溶液から正確に1 mLを分取し、メタノールで正確に10 mLとする。

④ 抹茶以外の茶の場合

試料9.00 gに100°C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3 mLを採り、メタノールで正確に10 mLとする。

⑤ 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、乳、卵及び魚介類の場合

試料10.0 gにL-アスコルビン酸ナトリウム1 gを加える。しじみなどの一個体が小さいものは、試料を正確に量り、重量比で1/20量のL-アスコルビン酸ナトリウムを加え、磨砕均一化した後、試料10.0 gに相当する量を量り採る。

これにメタノール100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にメタノール50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、メタノールで正確に200 mLとする。

⑥ はちみつの場合

試料10.0 gに水10 mLを加える。これにL-アスコルビン酸ナトリウム1 g及びメタノール100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にメタノール50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、メタノールで正確に200 mLとする。

2) 閉環反応

1) で得られた溶液を正確に1 mL (抹茶及び抹茶以外の茶の場合は正確に2 mL) 分取し、酢酸及び水 (1 : 1) 混液10 mL、酢酸銅 (II) 1水和物0.2 g及び沸騰石を加え、還流冷却器を取り付けて、120°Cで30分間加熱還流した後、放冷する。

これに塩化ナトリウム5 g及び1 mol/L塩酸30 mLを加え、*n*-ヘキサン20 mLずつで2回振とう洗浄する。水層に10 mol/L水酸化ナトリウム溶液 (約10 mL) を加え、pH 6.8から6.9に調整する。酢酸エチル50 mLずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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°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に溶解し、正確に2 mL (果実及び野菜の場合は4 mL、ホップ及び抹茶の場合は1 mL) としたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

カルベンダジム標準品及びEBC標準品をそれぞれメタノールに溶解して500 mg/Lとし、標準原液とする。各標準原液を適宜混合してメタノールで希釈した溶液を数点調製し、それぞ

れ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。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.01 mg/kg（カルベンダジムとして）に相当する試験溶液中濃度は0.00025 mg/Lである。ただし、茶については、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.05 mg/kg（カルベンダジムとして）に相当する試験溶液中濃度は0.00025 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でカルベンダジム及びEBCの含量を求める。EBCを含むカルベンダジムの含量を求める場合には、次式により求める。

カルベンダジム（EBCを含む）の含量（ppm） = $A + B \times 0.9317$

A：カルベンダジムの含量（ppm）

B：EBCの含量（ppm）

8. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

9. 測定条件

（例）

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°C

移動相：2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液及びメタノールの混液（3：2）で5分間保持し、（3：2）から（1:19）までの濃度勾配を5分間で行った後、（1:19）で5分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）

カルベンダジム：プリカーサーイオン192、プロダクトイオン160、132

EBC：プリカーサーイオン206、プロダクトイオン160、134

注入量：2 µL

保持時間の目安：カルベンダジム 7分

EBC 11分

10. 定量限界

0.01 mg/kg（カルベンダジムとして）

ただし、茶については0.05 mg/kg（カルベンダジムとして）

11. 留意事項

1) 試験法の概要

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を試料からメタノールで抽出する。この間にベノミルはカルベンダジムに変化する。次いで、酢酸及び酢酸銅溶液中で加熱還流（閉環反応）し、チオファネートメチルをカルベンダジムに、チオ

ファネートをEBCに変換する。カルベンダジム及びEBCを酸性下で*n*-ヘキサンで洗浄した後、中性下で酢酸エチルで抽出し、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。なお、カルベンダジム及びEBCのそれぞれについて定量を行い、EBCを含むカルベンダジムの含量を求める場合には、EBCの含量に換算係数を乗じてカルベンダジムの含量に換算し、これらの和を分析値とする。分析値は、カルベンダジム、ベノミルをカルベンダジム含量に換算したもの、チオファネート（EBCを含む）をカルベンダジム含量に換算したものと及びチオファネートメチルをカルベンダジム含量に換算したものの総和として求められる。

2) 注意点

- ① 本試験法では、閉環反応前に存在するEBCも合わせて定量されるため、EBCの含量は、閉環反応によりチオファネートから生成したEBCと閉環反応前に存在するEBCとの和として求められる。
- ② L-アスコルビン酸ナトリウムは分析操作中の酸化分解防止のため添加する。
- ③ 閉環反応における温度制御は、油浴あるいはアルミ製ヒートブロック等を用いて行うことが可能である。
- ④ 閉環反応後のpH調整以降の操作は、回収率の低下が考えられるため短時間で行うことが望ましい。
- ⑤ LC-MS/MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

カルベンダジム

定量イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 192、プロダクトイオン 160

定性イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 192、プロダクトイオン 132

EBC

定量イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 206、プロダクトイオン 160

定性イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 206、プロダクトイオン 134

- ⑥ 試験法開発時に検討した食品

農産物：玄米、大豆、ばれいしょ、キャベツ、ほうれんそう、オレンジ、りんご、
なす、コーヒー豆及び茶

畜水産物：牛の筋肉・脂肪・肝臓・乳、鶏の筋肉・卵、さけ、うなぎ、しじみ及び
はちみつ

12. 参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第0315001号「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（農産物）」（平成18年3月15日）
- 2) 農林水産省消費・安全局長通知 19消安第14729号「飼料分析基準 カルベンダジム（カルベンダジム、チオファネートメチル及びベノミル）」（平成20年4月1日）

13. 類型

C

キャプタン及びクロロタロニル試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

キャプタン
クロロタロニル

2. 適用食品

畜水産物

3. 装置

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ（GC-ECD）及びガスクロマトグラフ・質量分析計（GC-MS）

4. 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。

キャプタン標準品 本品はキャプタン 98%以上を含む。

クロロタロニル標準品 本品はクロロタロニル 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類の場合

試料10.0 g（脂肪の場合は5.00 g）を量り採る。しじみなどの一個体が小さいものは、試料を正確に量り、重量比で1/2量の10 vol%リン酸溶液を加え、磨砕均一化した後、試料10.0 gに相当する量を量り採る。

これに3 vol%リン酸溶液20 mL（しじみなどの場合は水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た後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、40°C以下で約20 mLまで濃縮する。これに10 w/v%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°C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ずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサン（1：1）混液を加えて溶かし、正確に20 mLとする。この溶液から正確に4 mL（脂肪の場合は正確に8 mL）を分取し、40°C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（1：4）混液5 mLを加えて溶かす。

② 乳、卵及びはちみつの場合

試料10.0 gに3 vol%リン酸溶液20 mL及びアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分3,000回転で5分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にアセトン50 mL（はちみつの場合は水20 mL及びアセトン50 mL）を加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心

分離し、得られた上澄液を合わせ、40℃以下で約20 mL（はちみつの場合は約50 mL）まで濃縮する。これに10 w/v%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。この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサン（1：1）混液を加えて溶かし、正確に20 mLとする。この溶液から正確に4 mLを分取し、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（1：4）混液5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

① 合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910 mg）に*n*-ヘキサン5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液を注入した後、エーテル及び*n*-ヘキサンの混液（1：4）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（1：9）混液30 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としたものをクロロタロニルの試験溶液とする。この溶液から正確に2 mLを分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトニトリル5 mLを加えて溶かす。

② 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（250 mg）にアセトニトリル5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに①で得られたアセトニトリル溶液を注入した後、アセトニトリル15 mLを注入し、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*n*-ヘキサンに溶かし、正確に2 mLとしたものをキャプタンの試験溶液とする。

6. 検量線の作成

キャプタン標準品及びクロロタロニル標準品をそれぞれアセトンに溶解して500 mg/L とし標準原液とする。各標準原液1 mL をアセトンで25 mL に定容し、20 mg/L 混合溶液（アセトン）を調製する。この溶液を *n*-ヘキサンで希釈した溶液を数点調製し、それぞれ GC-ECD 又は 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。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.01 ppm に相当する試験溶液中濃度は0.005 mg/L である。

7. 定量

キャプタンについては、試験溶液をGC-ECDに注入し、6. の検量線でキャプタンの含量を求める。

クロロタロニルについては、試験溶液をGC-MSに注入し、6. の検量線でクロロタロニルの含量を求める。

8. 確認試験

キャプタンについては、GC-ECDにより確認する。

クロロタロニルについては、GC-MSにより確認する。

9. 測定条件

(例)

1) キャプタンの場合

GC (定量用)

検出器 : ECD

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 : 50°C (1分) $-25^\circ\text{C}/\text{分}$ -125°C $-10^\circ\text{C}/\text{分}$ -300°C (5分)

注入口温度 : 230°C

検出器温度 : 300°C

キャリアーガス : ヘリウム

注入量 : 1 μL

保持時間の目安 : 15分

GC (確認用)

カラム : 35%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

保持時間の目安 : 16分

他の条件は定量用と同じ。

2) クロロタロニルの場合

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°C (1分) $-20^\circ\text{C}/\text{分}$ -280°C (10分)

注入口温度 : 250°C

キャリアーガス : ヘリウム

イオン化モード (イオン化エネルギー) : EI (70 eV)

主なイオン (m/z) : 268、266、264

注入量 : 2 μL

保持時間の目安 : 9分

10. 定量限界

キャプタン : 0.01 mg/kg

クロロタロニル : 0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

キャプタン及びクロロタロニルを試料からリン酸酸性下アセトンで抽出し、*n*-ヘキサン

に転溶する。アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、合成ケイ酸マグネシウムミニカラムで精製する。キャプタンについては、さらにグラファイトカーボンミニカラムで精製する。キャプタンについてはGC-ECDで定量及び確認し、クロロタロニルについてはGC-MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① キャプタン及びクロロタロニルは、試料中で分解されるため、リン酸酸性条件下で抽出を行う必要がある。
- ② 試料採取中の分解をできるだけ避けるために、検体を包丁などで細切したものを試料として用いる。
- ③ クロロタロニルのGC-MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。
定量イオン (m/z) : 264
定性イオン (m/z) : 268、266
- ④ 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉・脂肪・肝臓・乳、鶏卵、さけ、うなぎ、えび、しじみ及びはちみつ

12. 参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第0124004号「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）」（平成17年1月24日）
- 2) 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「カプタホール試験法」

13. 類型

C

グリホサート試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

グリホサート

2. 適用食品

畜水産物

3. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

4. 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。

強酸性陽イオン交換樹脂（粒径37～74 μm） カラムクロマトグラフィー用に製造した強酸性陽イオン交換樹脂（粒径37～74 μm）を2 mol/L水酸化ナトリウムに浸し一晩放置した後、水を用いて洗液のpHが中性になるまで洗う。次いで2 mol/L塩酸に浸し一晩放置した後、水を用いて洗液のpHが中性になるまで洗ったものを水に懸濁して冷暗所に保管する。

グリホサート標準品 本品はグリホサート95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 g（脂肪は5.00 g）に水100 mL及びジクロロメタン50 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分2,500回転で10分間遠心分離を行い、水層を採る。残留物及びジクロロメタン層に水50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離する。水層を採り、先の水層に合わせた後、水を加えて正確に200 mLとする。

2) 精製

① 強酸性陽イオン交換クロマトグラフィー

内径10 mm、長さ300 mmのクロマトグラフ管に、強酸性陽イオン交換樹脂（粒径37～74 μm）12 mLを水に懸濁したものを入れ、カラムの上端に少量の水が残る程度まで水を流出させる。このカラムに1) で得られた溶液を正確に2 mLを注入し、流出液は捨てる。さらに水2 mLを注入し流出液は捨てる。次いで水7 mLを注入し溶出液を採る。

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（500 mg）にメタノール及び水各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、さらに水5 mLを注入し、全溶出液を50℃以下で濃縮乾固する。

3) 誘導體化

2)②で得られた残留物に酢酸1 mL及びオルト酢酸トリメチル4 mLを加え、密栓し100℃で2時間加熱する。放冷後、50℃以下で濃縮乾固する。この残留物にアセトン及び酢酸エチル（3：17）混液5 mLを加えて溶かす。

4) グリホサート誘導体化物の精製

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) の下にフロリジルミニカラム (910 mg) を連結し、アセトン及び酢酸エチル各5 mLを順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに3) で得られた溶液を注入した後、さらにアセトン及び酢酸エチル (3 : 17) 混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。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外し、フロリジルミニカラムにアセトン及び酢酸エチル (1 : 1) 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 (4 : 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0.01 vol%ギ酸に溶かし、正確に2 mL (脂肪は1 mL) としたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

グリホサート標準品を水に溶解して500 mg/Lとし、標準原液とする。標準原液を水で希釈して20 mg/Lの溶液を調製する。この1 mLを分取し、50℃以下で濃縮乾固した後、酢酸1 mL及びオルト酢酸トリメチル4 mLを加え、密栓し100℃で2時間加熱する。放冷後、50℃以下で濃縮乾固する。この残留物を0.01 vol%ギ酸を加えて溶かし、さらに0.01 vol%ギ酸で希釈した溶液 (グリホサートとしての濃度) を数点調製し、それぞれを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。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.01 mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.0005 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でグリホサートの含量を求める。

8. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

9. 測定条件

(例)

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0.01 vol%ギ酸 (7 : 93) 混液

イオン化モード : ESI (+)

主なイオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 254、プロダクトイオン212、102

注入量 : 4 µL

保持時間の目安 : 8分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

グリホサートを試料からジクロロメタン存在下、水で抽出した後、強酸性陽イオン交換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する。誘導体化し、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フロリジルミニカラムで精製した後、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① グリホサートは水への溶解度が非常に高いことから、抽出溶媒には水を選択した。しかし、水のみでの抽出では、畜水産物の固体試料において、試料との混和が十分でないことから、有機溶媒を同時に加えて抽出する方法を検討した。有機溶媒として、*n*-ヘキサン、酢酸エチル及びジクロロメタンについて検討したところ、*n*-ヘキサン及び酢酸エチルでは一部の食品で有機層がゲル化し有機層と水層の分離が困難であった。一方、ジクロロメタンではゲル化が低減され、有機層と水層の分離が可能であったことから、添加する有機溶媒にはジクロロメタンを採用した。
- ② 強酸性陽イオン交換カラムに用いる樹脂はH型を用い、アルカリ溶液、水及び酸性溶液で洗浄してから使用する。
- ③ 誘導体化反応は密栓条件で実施するため、反応中の危険を回避するため、栓が飛ばないようにクランプで固定し、栓の上にタオルを掛け、さらにその上から平板状の重りを載せるなどの対処をすることが望ましい。
- ④ グリホサートのLC-MS/MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。
定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン254、プロダクトイオン102
定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン254、プロダクトイオン212
- ⑤ 試験法開発時に検討した食品 : 牛の筋肉・脂肪・肝臓・乳、鶏の筋肉・卵、さけ、うなぎ、しじみ及びはちみつ

12. 参考文献

厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第0124001号「グリホサート試験法（農産物）」（平成17年1月24日）

13. 類型

C

ジチオカルバメート試験法（農産物及び畜水産物）

1. 分析対象化合物

ジネブ
ジラム
チラム
ニッケルビス（ジチオカーバメート）
フェルバム
プロピネブ
ポリカーバメート
マンコゼブ
マンネブ

2. 適用食品

農産物
畜水産物

3. 装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC-MS）

4. 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。

システイン-エチレンジアミン四酢酸溶液（以下「システイン-EDTA溶液」という。） L-システイン塩酸塩一水和物50 g及びエチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物50 gを約500 mLの水に溶かし、12 mol/L水酸化ナトリウム溶液でpH 9.6~10.0に調整した後、水を加えて1,000 mLとする（用時調製）。

メチル化溶液 *n*-ヘキサン792 mL及びアセトン108 mLの混液にヨウ化メチル6 mLを加える。

硫酸水素テトラブチルアンモニウム溶液 硫酸水素テトラブチルアンモニウム27.2 gを水に溶解し200 mLとする。

ジラム標準品 本品はジラム 96%以上を含む。

プロピネブ標準品 本品はプロピネブ 75%以上を含む。

マンネブ標準品 本品はマンネブ 75%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類、豆類、種実類及び畜水産物の場合

試料 10.0 g（しじみなどの一個体が小さいものは、試料を正確に量り、重量比で等量のシステイン-EDTA 溶液を加え磨砕均一化した後、試料 10.0 g に相当する量を量り採る。）にシステイン-EDTA 溶液 100 mL（しじみなどの場合は 90 mL）及びジクロロメタ

ン 50 mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 2,500 回転で 5 分間遠心分離を行う。システイン-EDTA 層を採った後、残留物にシステイン-EDTA 溶液 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様に遠心分離を行い、システイン-EDTA 層を合わせる。これに硫酸水素テトラブチルアンモニウム溶液 10 mL を加え、6 mol/L 塩酸で pH 7.5~7.7 に調整し、水を加えて正確に 200 mL とする。

② 果実及び野菜の場合

試料約 1 kg を精密に量り、システイン-EDTA 溶液 1 kg を加え、ホモジナイズした後、試料 20.0 g に相当する量を量り採る。

これにシステイン-EDTA 溶液 80 mL 及びジクロロメタン 50 mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 2,500 回転で 5 分間遠心分離を行う。システイン-EDTA 層を採った後、残留物にシステイン-EDTA 溶液 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様に遠心分離を行い、システイン-EDTA 層を合わせる。これに硫酸水素テトラブチルアンモニウム溶液 10 mL を加え、6 mol/L 塩酸で pH 7.5~7.7 に調整し、水を加えて正確に 200 mL とする。

③ 茶の場合

試料 5.00 g にシステイン-EDTA 溶液 100 mL 及びジクロロメタン 50 mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 2,500 回転で 5 分間遠心分離を行う。システイン-EDTA 層を採った後、残留物にシステイン-EDTA 溶液 50 mL を加えてホモジナイズし、上記と同様に遠心分離を行い、システイン-EDTA 層を合わせる。これにシステイン-EDTA 溶液を加えて正確に 200 mL とする。この溶液を正確に 40 mL 分取し、システイン-EDTA 溶液 110 mL 及び硫酸水素テトラブチルアンモニウム溶液 10 mL を加え、6 mol/L 塩酸で pH 7.5~7.7 に調整し、水を加えて正確に 200 mL とする。

2) メチル化

1) で得られた溶液を正確に 20 mL 分取し、塩化ナトリウム 4 g を加え溶解する。この溶液を多孔性ケイソウ土カラム (20 mL 保持用) に注入し 10 分間放置した後、カラム先端にコックを開放した状態で付け、メチル化溶液 60 mL をカラムに注入する。コック先端より液滴が落ち始めたら 1 mL/分の流速となるようにコックを調節し流下する。アセトン及びジエチレングリコール (99:1) 混液 0.5 mL を加え、40°C以下で約 2 mL に濃縮し、この溶液にアセトン 5 mL を加える。

3) 精製

中性アルミナミニカラム (1,710 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 2) で得られた溶液を注入した後、アセトン 20 mL を注入し、溶出液にアセトン及びジエチレングリコール (99:1) 混液 0.5 mL を加え、40°C以下で約 2 mL に濃縮し、更に窒素を吹き付けて溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、穀類、豆類、種実類及び畜水産物の場合は正確に 2 mL、果実及び野菜の場合は正確に 4 mL、茶の場合は正確に 2 mL としたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

ジラム、プロピネブ及びマンネブ標準品各 5 mg (二硫化炭素として) を正確に量り採り、それぞれシステイン-EDTA 溶液に溶解して正確に 50 mL としたものを標準原液 (100 mg/L) とする。システイン-EDTA 溶液 150 mL に各標準原液 1 mL 及び硫酸水素テトラブチルアンモニウム溶液 10 mL を加え、6 mol/L 塩酸で pH 7.5~7.7 に調整し、水を加えて正確に 200 mL とする。この溶液を正確に 20 mL 分取し、5. 2) と同様に操作して得られた溶液をアセトンで希釈し、各農薬の混合溶液 (アセトン) を数点調製する。それぞれ 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。

ジメチルジチオカルバミン酸メチル (以下「DMDC」という。) に変換して測定するジラム、チラム、ニッケルビス (ジチオカーバメート) 及びフェルバムは、ジラムを標準品として定量する。エチレンビスジチオカルバミン酸ジメチル (以下「EBDC」という。) に変換して測定するジネブ、マンコゼブ及びマンネブは、マンネブを標準品として定量する。プロピレンビスジチオカルバミン酸ジメチル (以下「PBDC」という。) に変換して測定するプロピネブはプロピネブを標準品として定量する。DMDCとEBDCに変換して測定するポリカーバメートは、それぞれジラム及びマンネブを標準品として定量する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、茶以外では試料中0.01 mg/kg (二硫化炭素として) に相当する試験溶液中濃度は0.005 mg/L (二硫化炭素として) であり、茶では試料中0.1 mg/kg (二硫化炭素として) に相当する試験溶液中濃度は0.005 mg/L (二硫化炭素として) である。

7. 定量

試験溶液を GC-MS に注入し、6. の検量線でそれぞれ二硫化炭素としての含量を求める。

8. 確認試験

GC-MS により確認する。

9. 測定条件

(例)

1) 定量用

カラム : 50%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 : 70°C (2分) -20°C/分-280°C

注入口温度 : 240°C

キャリアーガス : ヘリウム

イオン化モード (イオン化エネルギー) : EI (70 eV)

主なイオン (m/z) : DMDC 135、88

PBDC 158

EBDC 144

注入量 : 2 μ L

保持時間の目安 : DMDC 8分

PBDC 9分

EBDC 9分

2) 確認用

① DMDC又はEBDCの場合

カラム：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：60 $^{\circ}\text{C}$ (2分) -20 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -120 $^{\circ}\text{C}$ -10 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -160 $^{\circ}\text{C}$ -20 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -280 $^{\circ}\text{C}$

注入口温度：240 $^{\circ}\text{C}$

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード (イオン化エネルギー) : EI (70 eV)

主なイオン (m/z) : DMDC 135、88

EBDC 144

注入量：2 μL

保持時間の目安：DMDC 8分

EBDC 9分

② PBDCの場合

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：60 $^{\circ}\text{C}$ (3分) -20 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -120 $^{\circ}\text{C}$ -10 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -160 $^{\circ}\text{C}$ -20 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$ -280 $^{\circ}\text{C}$

注入口温度：240 $^{\circ}\text{C}$

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード (イオン化エネルギー) : EI (70 eV)

主なイオン (m/z) : PBDC 158

注入量：2 μL

保持時間の目安：PBDC 11分

10. 定量限界

ジネブ、ジラム、チラム、ニッケルビス (ジチオカーバメート)、フェルバム、プロピネブ、ポリカーバメート、マンコゼブ及びマンネブ

二硫化炭素として各 0.01 mg/kg (茶の場合は各 0.1 mg/kg)

11. 留意事項

1) 試験法の概要

ジチオカルバメートを試料からジクロロメタン存在下でシステイン-EDTA 溶液で抽出する。抽出液を多孔性ケイソウ土カラムに負荷し、カラムにメチル化溶液を流下して、カラム内で各分析対象化合物を DMDC、EBDC 又は PBDC に変換した後、GC-MS で定量及び確認する方法である。なお、ジラム、プロピネブ及びマンネブ標準品の混合溶液について試験溶液と同様にメチル化を行ったもので検量線を作成して定量し、その総和を試料中の二硫化炭素の含量として求めこれを分析値とする。なお、各分析対象化合物と測定対象化合物の関係を下表に示した。

分析対象化合物	測定対象化合物
ジラム	DMDC
チラム	
ニッケルビス (ジチオカーバメート)	
フェルバム	

ジネブ	EBDC
マンコゼブ	
マンネブ	
プロピネブ	PBDC
ポリカーバメート	DMDC及びEBDC

2) 注意点

- ① システイン-EDTA 溶液のみの抽出では、畜水産物の固体試料において抽出溶媒と試料が十分に混和されない可能性があるため、ジクロロメタンを同時に加えて抽出及び洗浄を行うこととした。
- ② ジメチルジチオカルバメート系農薬に類似する化合物がゴム加硫促進剤として使用されているため、試料調製や分析操作中に混入する可能性があり、注意が必要である。
- ③ DMDC、EBDC 及び PBDC の GC-MS 測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。
 定量イオン (m/z) : DMDC 88、EBDC 144、PBDC 158
 定性イオン (m/z) : DMDC 135
- ④ メチラムについては、本試験法により、メチル化 (EBDC への変換) ができないため分析できない。ただし、本法により試験を行い、各食品のジチオカルバメートの基準値を超える場合には、食品衛生法における規格基準に適合しないと判断して差し支えない。
- ⑤ 試験法開発時には、プロピネブ標準品及びマンネブ標準品は高純度の標準品が入手できなかったため、4. 試薬、試液ではそれぞれ「プロピネブ標準品 本品はプロピネブ 75%以上を含む。」及び「マンネブ標準品 本品はマンネブ 75%以上を含む。」とされたが、入手可能な場合には純度 95%以上の標準品を試験に用いることが望ましい。
- ⑥ 試験法開発時に検討した食品
 農産物: 玄米、大豆、ばれいしょ、キャベツ、ほうれんそう、オレンジ、りんご、かぼちゃ、カカオ豆及び茶
 畜水産物: 牛の筋肉・脂肪・肝臓・乳、鶏卵、さけ、うなぎ、しじみ、えび及びはちみつ

12. 参考文献

木船信行ら、食品衛生学雑誌、36、p.244-251 (1995)

13. 類型

C

ジルパテロール試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

ジルパテロール

2. 適用食品

畜産物、乳、卵

3. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

4. 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。

0.6 mol/L 塩酸・エタノール及び水（1 : 1）混液溶液 塩酸 50 mL にエタノール及び水（1 : 1）混液を加えて 1000 mL とする。

ジルパテロール塩酸塩標準品 本品はジルパテロール 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び卵の場合は、試料を正確に量り、重量比で 1/2 量の 0.6 mol/L 塩酸・エタノール及び水（1 : 1）混液溶液を加え磨砕均一化した後、試料 10.0 g に相当する量を量り採る。乳の場合は試料 10.0 g を量り採り、1.2 mol/L 塩酸 2.5 mL を加える。

これに *n*-ヘキサン 50 mL を加えてホモジナイズし、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 50 mL を加えてさらにホモジナイズした後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層を採る。残留物と *n*-ヘキサン層を合わせ、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 25 mL を加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離し、得られたアセトニトリル層を合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とする。

2) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 g）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（500 mg）にそれぞれ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の下部に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を接続し、1) で得られた溶液を正確に 5 mL 注入した後、アセトニトリル及び水（1 : 1）混液 10 mL を注入し、流出液を捨てる。次いで、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムを取り外し、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

25%アンモニア水及びアセトニトリル（1：99）混液 20 mL を注入し、溶出液を 40°C 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（1：9）混液に溶解し、正確に 2 mL としたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

ジルパテロール塩酸塩標準品のアセトニトリル及び水（1：9）混液の溶液を数点調製し、それぞれ 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。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中 0.01 mg/kg に相当する試験溶液中の濃度は 0.0025 mg/L である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. の検量線でジルパテロールの含量を求める。

8. 確認試験

LC-MS/MS により確認する。

9. 測定条件

(例)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 µm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び 0.1 vol%ギ酸混液（1：49）から（4：1）までの濃度勾配を 10 分間で行い、10 分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン (*m/z*)：プリカーサーイオン 262、プロダクトイオン 244、202、185

注入量：5 µL

保持時間の目安：6 分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

ジルパテロールを試料から *n*-ヘキサンの存在下で、アセトニトリルで抽出する。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で精製した後、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。

2) 注意点

① ジルパテロールの LC-MS/MS 測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 262、プロダクトイオン 185

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 262、プロダクトイオン 244 及び 202

② ジルパテロールは、肝臓及び腎臓などの試料中では分解し易いことから、分解を防止するために試料調製時に塩酸を添加する。また、試料採取中の分解をできるだけ避けるために、検体を包丁などで細切したものを試料として用いる。エタノールは試料を均一化するために併せて添加する。なお、乳ではエタノールを添加しなくても均一な試料が得られることから、塩酸のみを添加する。内臓以外の試料では塩酸を添加しなくとも試験可能であるが、操作を統一するために全ての試料に対して塩酸を添加する方法としている。

③ 5. 1) 抽出における遠心分離操作において、アセトニトリル層を採る際に残留物が混入する場合は必要に応じて綿栓ろ過を行うと良い。

④ 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉・脂肪・肝臓・腎臓・乳、鶏卵

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

ドジン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

ドジン

2. 適用食品

農産物

3. 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）

4. 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。

ドジン標準品 本品はドジン 97%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類、豆及び種実類の場合

試料 10.0 g に水 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。この溶液を正確に 20 mL 分取し、40°C 以下で約 5 mL に濃縮する。これに *n*-ヘキサン 20 mL を加え、アセトニトリル及び 0.1 mol/L 塩酸 (9:1) 混液 40 mL ずつで 3 回振とう抽出する。アセトニトリル層を合わせ、40°C 以下で約 20 mL に濃縮する。これに 1 w/v% 炭酸水素ナトリウムを含む 10 w/v% 塩化ナトリウム溶液 50 mL を加え、酢酸エチル 50 mL 及び 25 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、40°C 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 (4:1) 混液 5 mL を加えて溶かす。

② 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。得られたろ液を合わせ、アセトンを加えて正確に 200 mL とする。この溶液を正確に 10 mL 分取し、40°C 以下で約 5 mL に濃縮する。これに 10 w/v% 塩化ナトリウム溶液 50 mL を加え、酢酸エチル 50 mL 及び 25 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、40°C 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 (4 : 1) 混液 5 mL を加えて溶かす。

③ 茶の場合

試料 5.00 g に水 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。この溶液を正確に 4 mL 分取し、10 w/v% 塩化ナトリウム溶液 50 mL を加え、酢酸エチル 50 mL 及び 25 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、40°C 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 (4 : 1) 混液 5 mL を加えて溶かす。

2) 精製

① 穀類、豆類、種実類、果実及び野菜の場合

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 (4 : 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、アセトン及び *n*-ヘキサン (4 : 1) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。アセトン及びメタノール (4 : 1) 混液 2 mL で 1) で得られた溶液が入っていた容器を洗い、洗液を先のカラムに注入する操作を 2 回繰り返す、さらにアセトン及びメタノール (4 : 1) 混液 6 mL を注入し、溶出液を 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に溶解し、正確に 2 mL としたものを試験溶液とする。

② 茶の場合

a 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 (4 : 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、アセトン及び *n*-ヘキサン (4 : 1) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。アセトン及びメタノール (4 : 1) 混液 2 mL で 1) で得られた溶液が入っていた容器を洗い、洗液を先のカラムに注入する操作を 2 回繰り返す、さらにアセトン及びメタノール (4 : 1) 混液 6 mL を注入し、溶出液を 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にギ酸、トルエン及びメタノール (1 : 25 : 75) 混液 3 mL を加えて溶かす。

b 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) にギ酸、トルエン及びメタノール (1 : 25 : 75) 混液 10 mL を注入し、溶出液は捨てる。このカラムに a で得られた溶液を注入した後、ギ酸、トルエン及びメタノール (1 : 25 : 75) 混液 7 mL を注入し、全溶出液を 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に溶解し、

正確に 1 mL としたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

ドジン標準品のメタノール溶液を数点調製し、それぞれ 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。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、茶以外の農産物では試料中 0.01 mg/kg に相当する試験溶液中濃度は 0.005 mg/L であり、茶では試料中 0.01 mg/kg に相当する試験溶液中濃度は 0.001 mg/L である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS 又は LC-MS/MS に注入し、6. の検量線でドジンの含量を求める。

8. 確認試験

LC-MS 又は LC-MS/MS により確認する。

9. 測定条件

(例)

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 100 mm、粒子径 3 µm

カラム温度：40°C

移動相：0.1 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液及び 0.1 vol%ギ酸混液 (1:3) から (1:1) までの濃度勾配を 20 分間で行う。

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (m/z)

LC-MS：229、228

LC-MS/MS：プリカーサーイオン 228、プロダクトイオン 57、43

注入量：5 µL

保持時間の目安：12 分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

ドジンを試料からアセトンで抽出し、果実、野菜及び茶はそのまま、穀類、豆類及び種実類はアセトニトリル及び塩酸混液/ヘキサン分配により脱脂した後、酢酸エチルに転溶する。茶以外の場合はエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムで、茶の場合はエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム及びグラファイトカーボンミニカラムで精製した後、LC-MS 又は LC-MS/MS で定量及び確認する方法で

ある。

2) 注意点

- ① ドジンは、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精製における洗浄溶媒であるアセトン及び *n*-ヘキサン (4 : 1) 混液への溶解が不十分なため、容器内に残留して損失の原因となる場合がある。そのため、溶出溶媒のアセトン及びメタノール (4 : 1) 混液で容器を洗い、洗液をカラムに注入する操作を行う必要がある。
- ② 茶以外の農産物で色素の除去が不十分な場合、グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) による精製を追加すると良い。
- ③ 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精製後の残留物は、LC-MS (MS) 測定に用いる移動相に対する溶解が不十分であり、また、ドジンは、アセトニトリルに対する溶解が不十分であることから、ドジンが容器に残留して損失の原因となる場合があるが、メタノールを用いれば十分に溶解することから、試験溶液はメタノール溶液とする。
- ④ ドジンの LC-MS 測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。
定量イオン (*m/z*) : 228
定性イオン (*m/z*) : 229
- ⑤ ドジンの LC-MS/MS 測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。
定量イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 228、プロダクトイオン 43
定性イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 228、プロダクトイオン 57

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

ノシヘプタイド試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

ノシヘプタイド

2. 適用食品

畜水産物

3. 装置

蛍光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-FL）

4. 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。

ノシヘプタイド標準品 純度が明らかなもの。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 筋肉、肝臓、腎臓、乳、卵、魚介類及びはちみつの場合

試料10.0 gに5 vol%酢酸20 mLを加え、混合する。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た後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に10 mLを分取し、水50 mL及び酢酸0.5 mLを加える。

② 脂肪の場合

試料5.00 gに5 vol%酢酸20 mLを加え、混合する。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た後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に20 mLを分取し、水50 mL及び酢酸0.5 mLを加える。これに、*n*-ヘキサン20 mLを加え振とうし、水層を分取する。

2) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）に、メタノール及び5 vol%酢酸各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、さらに酢酸、水及びメタノール（1：50：50）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸、水及びメタノール（1：5：95）混液5 mLを注入し、溶出液に酢酸、水及びメタノール（1：5：95）混液を加えて正確に5 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

ノシヘプタイド標準品を1 vol%酢酸・メタノール溶液に溶解して100 mg/Lとし標準原液とする。標準原液を酢酸、水及びメタノール（1：5：95）混液で希釈した溶液を数点調製し、

それぞれHPLC-FL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。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.01 mg/kgに相当する試験溶液中濃度は0.001 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をHPLC-FLに注入し、6. の検量線でノシヘプタイドの含量を求める。

8. 確認試験

HPLC-FLにより確認する。

9. 測定条件

(例)

検出器：蛍光光度型検出器（励起波長365 nm、蛍光波長515 nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル、内径4.6 mm、長さ150 mm、粒子径5 µm

カラム温度：40°C

移動相：酢酸、水及びメタノール（1：35：65）混液

注入量：20 µL

保持時間の目安：10分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

ノシヘプタイドを試料から酢酸酸性下でアセトン抽出し、脂肪はヘキサン洗浄で脱脂する。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、HPLC-FLで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

① ノシヘプタイド標準品については、純度が明らかなものとしたが、入手可能な場合には理化学的純度が95%以上の標準品を試験に用いることが望ましい。なお、ノシヘプタイドの力価は、ノシヘプタイド（ $C_{51}H_{43}O_{12}N_{13}S_6$ ）としての量を質量（力価）で示し、1 µg（力価）は、標準ノシヘプタイド1 µgに相当する。

② ノシヘプタイドは不安定であるため、試験操作は速やかに行い、検量線用標準溶液等は用時調製する。なお、標準原液は、0~4°C保存で6か月間安定である。

③ 機器測定において、調製する移動相の若干の組成違いにより保持時間にずれが生じることがある。

④ 確認条件

(例)

検出器：蛍光光度型検出器（励起波長365 nm、蛍光波長515 nm）

カラム：アミノプロピルシリル化シリカゲル、内径4.6 mm、長さ150 mm、粒子径3 μm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル、酢酸及び水（950 : 1 : 50）混液

注入量：20 μL

保持時間の目安：9分

- ⑤ 試験法開発時に検討した食品：豚の筋肉・脂肪、鶏の肝臓・卵、牛乳、さけ、うなぎ、えび、しじみ及びはちみつ

12. 参考文献

なし

13. 類型

C