

食安発0226第1号
平成27年2月26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
(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のとおり改める。なお、改正部分を下線で示す。
2. 第2章一斉試験法中「LC/MSによる農薬等の一斉試験法（畜水産物）」を「LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ（畜水産物）」とし、「LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ（畜水産物）」に係る部分の次に別紙2の「LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅱ（畜水産物）」を加える。
3. 第3章個別試験法中「バリダマイシン試験法（農産物）」に係る部分の次に別紙3の「ハロスルフロロンメチル試験法（畜水産物）」を加え、「チアジニル試験法（農産物）」を別紙4のとおり改定する。

なお、「LC/MS による農薬等の一斉試験法Ⅱ（畜水産物）」の開発に当たっては、牛の筋肉・脂肪・肝臓、鶏の筋肉、鶏卵、牛乳、はちみつ、うなぎ、さけ及びしじみについて3機関において適用可能であることが確認されている。また、個別試験法の開発に当たっては、「ハロスルフロンメチル試験法（畜水産物）」にあつては、牛の筋肉・脂肪・肝臓・腎臓、鶏卵、牛乳、はちみつ、うなぎ、さけ及びしじみについて、「チアジニル試験法（農産物）」にあつては、玄米、大豆、ごま、ほうれんそう、キャベツ、トマト、ばれいしょ、りんご、オレンジ及び茶について各試験法が適用可能であることが1機関において確認されている。以上について、各試験の実施に際しては参考とされたい。

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）
- ・ Seerbチルアミン試験法（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）
- ・アミトラス試験法（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）
- ・エトフェンブロックス試験法（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）

- ・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）
- ・ジクロロボス及びトリクロロホン試験法（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）
- ・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）
- ・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）
- ・ブ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）
- ・ベントザン試験法（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 -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

LC/MS による農薬等の一斉試験法 II (畜水産物)

1. 分析対象化合物

別表参照

2. 装置

液体クロマトグラフ・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 3 に示すものを用いる。

スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム (内径 12 mm) 内径 12 mm、長さ 100~300 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 (ハードタイプゲル、粒子径 16 μm 、ポアサイズ 30 \AA) 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。

各農薬等標準品 各農薬等の純度が明らかなもの。(各農薬等の個別試験法で、標準品の純度が示されている場合にはそれに従う。示されていない場合には、純度 95%以上のものを使用することが望ましい。)

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料 10.0 g (脂肪の場合は 5.00 g) を量り採る。これに 2 vol% 酢酸 15 mL (乳及び卵などの水分の多い試料は 10 mL) を加え、ホモジナイズした後、アセトン及び *n*-ヘキサン (2 : 3) 混液 60 mL を加え、さらにホモジナイズする。毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離した後、有機層及び水層を吸引ろ過する。残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン (2 : 3) 混液 40 mL を加えてホモジナイズした後、全量を吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、40°C 以下で 20 mL 以下 (18 mL 程度が望ましい) まで濃縮する。これに塩化ナトリウム 5~7 g を加えて溶解する。

2) 精製

① はちみつ以外の場合

a 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) で得られた溶液を全量注入する。このカラムを 10 分間放置した後、酢酸エチル 150 mL を注入し、溶出液を 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物の重量を測定した後、アセトン及びシクロヘキサン (3 : 17) 混液に溶かし、正確に 20 mL としたものを抽出溶液とする。

b ゲル浸透クロマトグラフィー

a で得られた抽出溶液を毎分 3,000 回転で 10 分間遠心分離し、その上澄液 2 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 (3 : 17) 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°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン 2 mL を加えて溶かす。

c トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲル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カラムクロマトグラフィー

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 (500 mg) を接続し、アセトン 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、さらにアセトン 18 mL を注入して、全溶出液を採り、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。

② はちみつの場合

a 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) で得られた溶液を全量注入する。このカラムを 10 分間放置した後、酢酸エチル 150 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ンに溶かし、正確に 20 mL とする。

b トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲル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カラムクロマトグラフィー

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 (500 mg) を接続し、アセトン 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 2 mL を注入し、さらにアセトン 18 mL を注入して、全溶出液を採り、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かし、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

各農薬等標準品をそれぞれアセトニトリルに溶解して標準原液を調製する。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、ピーク面積法又はピーク高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 0.002 mg/L である。

6. 定量

試験溶液を LC-MS/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

LC-MS/MS により確認する。

8. 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 3 μm

カラム温度：40°C

移動相：A 液及び B 液について下表の濃度勾配で送液する。

A 液：10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B 液：アセトニトリル

時間 (分)	A 液 (%)	B 液 (%)
0	90	10
20	5	95
35	5	95
35	90	10

移動相流速：0.2 mL/min

イオン化モード：ESI（+又は-）

主なイオン（ m/z ）：別表参照

注入量：3 μ L

保持時間の目安：別表参照

9. 定量限界

別表参照

10. 留意事項

1) 試験法の概要

農薬等を試料から酢酸酸性条件下アセトン及び n -ヘキサン（2：3）混液で抽出し、多孔性ケイソウ土カラム、ゲル浸透クロマトグラフィー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とエチレンジアミン- N -プロピルシリル化シリカゲルミニカラムの連結カラムで精製し（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）、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① 本試験法の対象は、 $\log Pow$ が-0.8（メタミドホスなど）程度以上であり、かつ酸性でない農薬等である。
- ② 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。
- ③ 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。
- ④ 吸引ろ過の際には、ろ過助剤（ケイソウ土）を使用する。1 回目の抽出では、遠心分離後の残留物（固形物）を遠心管に残したまま、できるだけ有機層及び水層のみを吸引ろ過する。残留物がろ過助剤上に落ちた場合には、吸引ろ過終了後にできるだけ残留物のみを採り容器に戻す。2 回目の抽出では遠心分離は行わず、全量を吸引ろ過する。また、1 回目の抽出で遠心分離後に残留物がなければ、2 回目の抽出は行わず、容器をアセトン及び n -ヘキサン（2：3）混液 40 mL で洗い、洗液を吸引ろ過する。
- ⑤ 抽出液を濃縮後に放置すると、牛の脂肪やはちみつなどは固まることがある。固まらなくても粘度が増加し、多孔性ケイソウ土カラムに負荷したときに、ケイソウ土の表面に均一に分散せず、溶出溶媒の流速が低下したり、カラムが詰まることがあるため、できるだけ速やかに以降の操作を行う。また、固まった場合には、約 40°C の水浴で温めて融解させ速やかに負荷する。
- ⑥ 濃縮後の抽出液に塩化ナトリウム（5～7 g）を加えて溶解する際には、超音波洗浄機にかけながら行うなど、十分に飽和させる必要がある。添加する塩化ナトリウム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。
- ⑦ 多孔性ケイソウ土カラムに負荷した後の容器を酢酸エチル 20 mL で 2 回洗い込み、さらに 110 mL で洗い込むと良い。洗い込む際に付着物があれば、必要に応じて適量の無水硫酸ナトリウムを加えて超音波洗浄機にかけながら洗い込むと良い。試料によっては濃縮の際に容器の内側に強固な付着物が認められることがあり、無水硫酸ナトリウムはこれを分散させるために使用する。
- ⑧ 多孔性ケイソウ土カラムからの溶出では、流速を 4～5 mL/分に調節する。カラムの出口にストップバルブ（テフロン製など汚染の可能性の少ない材質のものを使用する）をつけて調節すると

良い。

- ⑨ 多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィー後の残留物が 2 g 以下であることが明らかな場合には、残留物の重量を測定しなくても良い。
- ⑩ 多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィー後の残留物が 2 g を超える場合には、残留物のゲル浸透クロマトグラフィーカラムへの負荷量が概ね 0.2 g 以下になるように、抽出溶液をアセトン及びシクロヘキサン (3 : 17) 混液で整数倍希釈する。毎分 3,000 回転で 10 分間遠心分離し、その上澄液 2 mL をゲル浸透クロマトグラフィー用カラムに注入して溶出液を分取する操作を希釈倍数と同じ回数繰り返し、溶出液を合わせる。例えば、脂肪の場合は、残留物が 3.5 g 程度残るので、2 倍希釈してゲル浸透クロマトグラフィーによる精製を 2 回繰り返し、溶出液を合わせる。
- ⑪ 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 12 mm、長さ 300 mm、ハードタイプゲル、粒子径 16 μm 、ポアサイズ 30 \AA) 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 12 mm、長さ 100 mm、ハードタイプゲル、粒子径 16 μm 、ポアサイズ 30 \AA) 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 (3 : 17) 混液
- 流速：3 mL/min
- カラム温度：45°C
- 注入量：2 mL
- 分取範囲^{*1}：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を分取範囲とする。
- 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標準溶液 (5 mg/L^{*2}) を移動相で調製し、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^{*3}して、あらかじめ分取範囲を確認する。
- *1 精製が不十分な場合には、アクリナトリンとフルバリネートの各保持時間の中央からトリシクラゾールの溶出終了までを分取範囲とすると良い。なお、分取範囲を確認する際には、アクリナトリンとフルバリネートは分離しないので別々に測定する必要がある。
- *2 各標準溶液の濃度は、装置の感度に応じて適宜変更しても良い。
- *3 溶出液を適当な間隔で分取して画分ごとに測定するなど、他の適切な方法を用いても良い。
- ⑫ 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。
- ⑬ 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。
- ⑭ 精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。
- ⑮ 定量限界は、使用する装置や測定条件により異なるので、必要に応じて最適条件を検討する。

1 1. 参考文献

なし

1 2. 類型

C

(別表) LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅱ(畜水産物)

品目	分析対象化合物	相対保持時間	主なイオン(m/z)					定量限界(mg/kg)
アザメチホス	アザメチホス	0.74	+325→183	+325→112				0.01
アセタミプリド	アセタミプリド	0.59	+223→126	+223→99	+223→73			0.01
アセフェート	アセフェート	0.21	+184→143	+184→101	+184→95			0.01
アゾキシストロビン	アゾキシストロビン	1.00	+404→372	+404→344				0.01
アルドキシカルブ	アルドキシカルブ	0.38	+240→148	+240→86	+223→148	+223→86	+223→76	0.01
イソシンコメロン酸ニプロピル	イソシンコメロン酸ニプロピル	1.00	+252→210	+252→164	+252→140			0.004
イマザリル	イマザリル	1.04	+297→201	+297→159	+297→69			0.01
イミダクロプリド	イミダクロプリド	0.54	+256→209	+256→175				0.01
インドキサカルブ	インドキサカルブ(S体,R体)	1.21	+528→218	+528→203	+528→150			0.01
エトパベート	エトパベート	0.64	+238→206	+238→136	-236→192	-236→162		0.01
オキサミル	オキサミル	0.38	+237→90	+237→72				0.01
オキシデメトンメチル	オキシデメトンメチル	0.35	+247→169	+247→109				0.01
オメエート	オメエート	0.25	+214→183	+214→125				0.01
カルバリル	カルバリル	0.83	+202→145	+202→127				0.01
カルプロパミド	カルプロパミド	1.15	+334→196	+334→139	+334→103			0.01
カルベンダジム	カルベンダジム	0.54	+192→160	+192→132				0.01
クマホス	クマホス	1.19	+363→307	+363→227				0.01
クロチアニジン	クロチアニジン	0.52	+250→169	+250→132	-248→166	-248→58		0.01
クロマフェノジド	クロマフェノジド	1.09	+395→339	+395→175	-393→149	-393→105		0.01
クロラントラニプロール	クロラントラニプロール	0.92	+484→453	+484→286	+482→451	+482→284		0.01
クロロクスロン	クロロクスロン	0.98	+291→164	+291→75	+291→72	+291→46		0.01
ジウロン	ジウロン	0.86	+233→160	+233→72	+233→46			0.01
ジメテナミド	ジメテナミド(RSラセミ体)	0.98	+276→244	+276→168				0.01
ジメエート	ジメエート	0.58	+230→199	+230→171	+230→125			0.01
ジメモルフ	ジメモルフ(E体,Z体)	0.92	+388→301	+388→165				0.01
チアクロプリド	チアクロプリド	0.65	+253→126	+253→99	+253→90			0.01
チアベンダゾール	チアベンダゾール	0.63	+202→175	+202→131				0.01*
チアトキサム	チアトキサム	0.46	+292→211	+292→281				0.01
テブチウロン	テブチウロン	0.65	+229→172	+229→116				0.01
テブフェノジド	テブフェノジド	1.09	+353→297	+353→133	-351→149	-351→105		0.01*
トリフロキシストロビン	トリフロキシストロビン	1.24	+409→186	+409→145				0.01*
バクイノレート	バクイノレート	1.00	+362→316	+362→204				0.01
パルベンダゾール	パルベンダゾール	0.91	+248→216	+248→173	+248→145			0.01
ピテルタノール	ピテルタノール	1.05	+338→269	+338→99	+338→70			0.01
ピリダリル	ピリダリル	1.53	+492→183	+492→109	+490→164	+490→109		0.01
フェリムゾン	フェリムゾン(E体)	0.91	+255→132	+255→91				0.01
フェリムゾン	フェリムゾン(Z体)	0.86	+255→132	+255→91				0.01
フェンアミドン	フェンアミドン	1.00	+312→236	+312→92				0.01
フェントラザミド	フェントラザミド	1.17	+350→197	+350→154				0.01
フェンピロキシメート	フェンピロキシメート(E体)	1.35	+422→366	+422→138	+422→135			0.005
フェンピロキシメート	フェンピロキシメート(Z体)	1.28	+422→366	+422→138				0.005
フルアジホップPブチル	フルアジホップPブチル	1.30	+384→328	+384→282				0.01
フルベンダゾール	フルベンダゾール	0.78	+314→282	+314→123				0.01
フルミクロラックペンチル	フルミクロラックペンチル	1.28	+441→354	+441→308	+424→354	+424→308		0.01
プロバクロール	プロバクロール	0.90	+212→170	+212→94				0.01
プロボキスル	プロボキスル	0.79	+210→168	+210→111	+210→93			0.01
ベンダイオカルブ	ベンダイオカルブ	0.79	+224→167	+224→109				0.01
メソミル	メソミル	0.42	+163→106	+163→88				0.01
メタラキシル	メタラキシル	0.84	+280→220	+280→192				0.01
メトミノストロビン	メトミノストロビン(E体)	0.90	+285→196	+285→194				0.01

1) 試験法を適用できる分析対象化合物を品目の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、分析対象化合物欄に個別に示した。

2) 相対保持時間はイソキサフルトールの保持時間に対する相対値であり、検討機関の平均値で示した。

3) 主なイオンは、LC-MS/MS測定における[プリカーサーイオン→プロダクトイオン]を示し、数字の前の符号(+又は-)は、ESI測定におけるイオン化モード(ESI(+))又はESI(-))を示す。また、各イオンは、数字の大きい順に示した。

4) 定量限界は、添加濃度0.01 ppm(又は最小添加濃度)での添加回収試験における添加試料中の分析対象化合物のピークのS/N比が、一食品でも10以上の値が得られた場合には0.01 mg/kg(又は最小添加濃度)とした。添加濃度0.01 ppmでの添加回収試験の結果がない場合には、マトリックス添加標準溶液を用いて試料中0.01 mg/kgに相当する分析対象化合物のピークのS/N比が、一食品でも10以上の値が得られた場合には、定量限界の推定値を0.01 mg/kgとし『*』をつけて示した。

ハロスルフロンメチル試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

ハロスルフロンメチル

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 3 に示すものを用いる。

ハロスルフロンメチル標準品 本品はハロスルフロンメチル 97%以上を含む。

4. 試験溶液調製法

1) 抽出

試料 10.0 g（脂肪の場合は試料 5.00 g）を量り採り、アセトン及び *n*-ヘキサン（1 : 2）混液 50 mL、0.1 mol/L 塩酸 6 mL 及び塩化ナトリウム 8 g 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、上層のアセトン及び *n*-ヘキサン層を採る。下層のアセトン及び水層に *n*-ヘキサン 50 mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離する。上層のアセトン及び *n*-ヘキサン層を先のアセトン及び *n*-ヘキサン層に合わせ、正確に 100 mL とする。この 10 mL（脂肪の場合は 20 mL）を採り、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 20 mL を加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 20 mL で振とう抽出する。アセトニトリル層を 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（3 : 1）混液 5 mL を加えて溶解する。

2) 精製

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）にアセトン及びメタノール（1 : 1）混液及びアセトン及び *n*-ヘキサン（3 : 1）混液各 10 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、アセトン及び *n*-ヘキサン（3 : 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（1 : 1）混液 10 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 5 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ハロスルフロンメチル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、試料中 0.01 mg/kg に相当する試験溶液中の濃度は 0.002 mg/L である。

6. 定量

試験溶液を LC-MS 又は LC-MS/MS に注入し、5 の検量線でハロスルフロンメチルの含量を求める。

7. 確認試験

LC-MS 又は LC-MS/MS により確認する。

8. 測定条件

(例)

1) LC-MS の場合

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 100 mm、粒子径 3 μ m

カラム温度：40°C

移動相：0.01 vol% 酢酸及び 0.01 vol% 酢酸・メタノール溶液 (1:4) 混液

イオン化モード：ESI (-)

主なイオン (m/z)：433、254、252

注入量：10 μ L

保持時間の目安：5 分

2) LC-MS/MS の場合

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 100 mm、粒子径 3 μ m

カラム温度：40°C

移動相：0.01 vol% 酢酸及び 0.01 vol% 酢酸・メタノール溶液 (17:3) 混液で 0.5 分間

保持した後、(1:9) までの濃度勾配を 3.5 分間で行い、5 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 435、プロダクトイオン 254

プリカーサーイオン 433、プロダクトイオン 252

注入量：2 μ L

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

ハロスルフロンメチルを試料から塩酸酸性下アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 2) 混液で抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂する。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 ハロスルフロンメチルの測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

LC-MS 測定

定量イオン (m/z) : 252

定性イオン (m/z) : 433、254

LC-MS/MS 測定

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 433、プロダクトイオン 252

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 435、プロダクトイオン 254

- ② 抽出時に試料に塩酸を先に添加すると、鶏卵及び乳でゲル化することがあるので、アセトン及び *n*-ヘキサン混液を塩酸よりも先に試料に添加する。
- ③ はちみつ試料では、脂質をほとんど含有しないことから、アセトニトリル/ヘキサン分配による脱脂操作を省略することが可能である。

11. 参考文献

なし

12. 類型

C

チアジニル試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

チアジニル

4-メチル-1,2,3-チアジアゾール-5-カルボン酸（以下、「カルボン酸体」という。）

4-ヒドロキシメチル-1,2,3-チアジアゾール-5-カルボン酸（以下、「ヒドロキシメチルカルボン酸体」という。）

2. 装置

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3に示すものを用いる。

チアジニル標準品 本品はチアジニル98%以上を含む。

カルボン酸体標準品 本品はカルボン酸体95%以上を含む。

ヒドロキシメチルカルボン酸体標準品 本品はヒドロキシメチルカルボン酸体95%以上を含む。

強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラム（500 mg） 内径12～13 mmのポリエチレン製のカラム管に、強塩基性陰イオン交換樹脂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。

0.05%アンモニア水 アンモニア水（28%）と水を1：559の比率で混合する。

アセトニトリル及び10 mmol/L酢酸アンモニウム溶液（17：3）混液（pH 5.0） 酢酸アンモニウム0.77 gを量り採り、水約950 mLに溶解し、5 vol%酢酸を用いてpHを5.0に調整した後、水を加えて1 Lとし、その150 mLをアセトニトリル850 mLと混合する。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

穀類の場合は試料10.0 g、茶の場合は試料5.00 gを量り採り、0.1 mol/L塩酸20 mLを加え、30分間放置する。果実及び野菜の場合は試料20.0 gに0.1 mol/L塩酸20 mLを加える。これにアセトニトリル80 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（4：1）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。ろ液を合わせ、アセトニトリル及び水（4：1）混液を加えて正確に200 mLとする。穀類の場合はその4 mL、茶の場合は8 mL、果実及び野菜の場合は2 mLを採り、これにアセトニトリル及び0.05 mol/L塩酸（4：1）混液を、穀類の場合は4 mL、果実及び野菜の場合は6 mL加え、40℃以下で約2 mLに濃縮する。この濃縮液に0.05%アンモニア水4 mLを加える。

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) にメタノール及び水各5 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、さらに、水及びメタノール (4:1) 混液5 mLを注入し、全溶出液を採り、カルボン酸体及びヒドロキシメチルカルボン酸体画分 (溶出液 I) とする。次いで、水及びメタノール (1:4) 混液10 mLを注入し、溶出液を採り、チアジニル画分 (溶出液 II) とする。

① チアジニルの試験溶液

溶出液 II を40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にメタノール1 mLを加え溶解した後、酢酸エチル9 mLを加えて混合する。

アルミナ (中性) ミニカラム (1,710 mg) に酢酸エチル5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記の溶液を注入し、さらに、酢酸エチル及びメタノール (9:1) 混液10 mLを注入し、全溶出液を採り、40°C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 (3:7) 混液に溶解し、正確に20 mLとしたものを試験溶液とする。

② カルボン酸体及びヒドロキシメチルカルボン酸体の試験溶液

強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラム (500 mg) にメタノール及び水各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに溶出液 I を注入し、さらに、メタノール5 mLを注入し、各流出液は捨てる。次いで、0.01 mol/L塩酸・メタノール溶液10 mLを注入し、溶出液を採り、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10 mmol/L酢酸アンモニウム溶液 (17:3) 混液 (pH 5.0) に溶解し、正確に20 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

チアジニル標準品をアセトニトリルに溶解して標準原液とする。標準原液を水及びメタノール (3:7) 混液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に相当する試験溶液中濃度は0.0001 mg/Lである。

カルボン酸体標準品及びヒドロキシメチルカルボン酸体標準品をそれぞれアセトニトリルに溶解して標準原液とする。各標準原液を適宜混合してアセトニトリル及び10 mmol/L酢酸アンモニウム溶液 (17:3) 混液 (pH 5.0) 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0.02 mg/kgに相当する試験溶液中濃度は各化合物ともに0.0002 mg/L (チアジニル換算) である。

6. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、5の検量線でチアジニル、カルボン酸体及びヒドロキシメチルカルボン酸体の各含量を求める。カルボン酸体及びヒドロキシメチルカルボン酸体を

含むチアジニルの含量を求める場合には、次式により求める。

チアジニル（カルボン酸体及びヒドロキシメチルカルボン酸体を含む。）の含量（ppm）

$$=A+B\times 1.857+C\times 1.672$$

A：チアジニルの含量（ppm）

B：カルボン酸体の含量（ppm）

C：ヒドロキシメチルカルボン酸体の含量（ppm）

7. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

8. 測定条件

(例)

① チアジニル

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、粒径3 μm

カラム温度：40℃

移動相：0.1 vol%ギ酸及びメタノール（3:7）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 266、プロダクトイオン 238、71

注入量：5 μL

保持時間の目安：7分

② カルボン酸体及びヒドロキシメチルカルボン酸体

カラム：トリアゾール結合型シリカゲル、内径2.0 mm、長さ150 mm、粒径5 μm

移動相：アセトニトリル及び10 mmol/L酢酸アンモニウム溶液（17:3）混液（pH 5.0）

カラム温度：40℃

イオン化モード：ESI（-）

主なイオン (m/z)

カルボン酸体：プリカーサーイオン 143、プロダクトイオン 71

ヒドロキシメチルカルボン酸体：プリカーサーイオン 159、プロダクトイオン 87

注入量：5 μL

保持時間の目安：カルボン酸体 13分、ヒドロキシメチルカルボン酸体 11分

9. 定量限界

チアジニル 0.01 mg/kg

カルボン酸体 0.02 mg/kg（チアジニル換算）

ヒドロキシメチルカルボン酸体 0.02 mg/kg（チアジニル換算）

10. 留意事項

1) 試験法の概要

チアジニル、カルボン酸体及びヒドロキシメチルカルボン酸体を試料から塩酸酸性下アセトニトリルで抽出し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムでチアジニル画分並びにカルボン酸体及びヒドロキシメチルカルボン酸体画分に分画する。チアジニル画分はアルミナ（中性）ミニカラムで精製し、カルボン酸体及びヒドロキシメチルカルボン酸体画分は強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラムで精製し、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。なお、チアジニル、カルボン酸体及びヒドロキシメチルカルボン酸体のそれぞれについて定量を行い、カルボン酸体及びヒドロキシメチルカルボン酸体を含むチアジニルの含量を求める場合には、カルボン酸体及びヒドロキシメチルカルボン酸体の含量にそれぞれ換算係数を乗じてチアジニルの含量に換算し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

- ① チアジニルの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 266、プロダクトイオン 71

定性イオン(m/z) : プリカーサーイオン 266、プロダクトイオン 238

なお、カルボン酸体及びヒドロキシメチルカルボン酸体については、本法における測定条件下で適切な定性イオンを選択することは出来なかった。

- ② 一律基準値が適用される農産物を試験する際には、可能であればカルボン酸体及びヒドロキシメチルカルボン酸体を定量限界 0.01 mg/kg（チアジニル換算）で分析することが望ましい。
- ③ 試験溶液の調製における1)の操作では、濃縮液を中性から弱塩基性に調整するために0.05%アンモニア水4 mLを加える。pH試験紙等を用いて試料におけるpHを確認し、必要に応じて添加量を調節する。
- ④ アルミナ（中性）ミニカラムで精製する際、残留物は酢酸エチル及びメタノール（9:1）混液に溶解し難いので、初めにメタノール1 mLを加え溶解した後、酢酸エチル9 mLを加えて混合する。また、試料によっては残留物がメタノールに溶解し難いことがあるので、そのような場合は超音波処理を行うとよい。
- ⑤ LC-MS/MS測定において、夾雑成分の多い農産物では、各分析対象化合物溶出後に移動相を十分に流し、カラム内に残存する夾雑物を溶出させた後に、次の測定を行うとよい。

11. 参考文献

なし

12. 類型

