



食安発第1228004号
平成19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章一斉試験法の「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅰ（畜水産物）」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「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅱ（畜水産物）」を別紙3のとおり改める。なお、改正部分を下線で示す。
4. 第2章一斉試験法の「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅲ（畜水産物）」を別紙4のとおり改める。なお、改正部分を下線で示す。
5. 第3章個別試験法中「スピラマイシン試験法」に係る部分の次に別紙5の「ス

ピロメシフェン試験法（農産物）」及び「スピロメシフェン試験法（畜水産物）」を加え、「トリブロムサラン及びビチオノール試験法」に係る部分の次に別紙6の「トルトラズリル試験法（畜水産物）」を加え、「ピラクロストロビン試験法」に係る部分の次に別紙7の「ピラクロニル試験法（農産物）」を加える。

6. 第3章個別試験法中「ベンチアバリカルブイソプロピル試験法」を「ベンチアバリカルブイソプロピル試験法（農産物）」とし、これを別紙8のとおり改める。なお、改正部分を下線で示す。

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、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
- ・ 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ビンホス試験法
- ・ 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、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
- ・ アシベンゾラル S メチル試験法
- ・ アジムスルフロソ、ハロスルフロソメチル及びフラザスルフロソ試験法
- ・ 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
- ・ アミトラズ試験法
- ・ 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、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
- ・ アラニカルブ試験法
- ・ 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、ピラズスルフロンエチル、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
- ・ 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、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
- ・ イマザリル試験法
- ・ イマズスルフロン及びベンスルフロンメチル試験法
- ・ 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、クロルプロファム、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
- ・ エトフェンブロックス試験法
- ・ エトベンザニド試験法
- ・ エマメクチン安息香酸塩試験法
- ・ 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

- ・ 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
- ・ オキシ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ベンダゾール試験法
- ・ オリサストロビン試験法
- ・ オルトフェニルフェノール及びジフェニル試験法
- ・ 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
- ・ 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
- ・ クリスタルバイオレット及びメチレンブルー試験法
- ・ 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ビ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
- ・ 酸化フェンブタズ試験法
- ・ 酸化プロピレン試験法
- ・ 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
- ・ シクロスルファムロン試験法
- ・ ジクロフルアニド及びトリルフルアニド試験法
- ・ 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
- ・ ジフェンゾコート試験法
- ・ ジフルフェニカン試験法
- ・ シフルメトフェン試験法（農産物）
- ・ 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（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
- ・ 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
- ・ スルファジミジン試験法
- ・ セトキシジム試験法
- ・ 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
- ・ 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-1H-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
- ・ ツラスロマイシン試験法
- ・ テクロフトラム試験法
- ・ 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ビチオノール試験法
- ・ 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
- ・ 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
- ・ バリダマイシン試験法
- ・ 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
- ・ ピラクロストロビン試験法
- ・ ピラクロニル試験法（農産物）
- ・ ピラゾキシフェン試験法
- ・ ピラフルフェンエチル試験法
- ・ ピリダベン試験法
- ・ ピリダリル試験法
- ・ ピリチオバックナトリウム塩試験法
- ・ ピリデート試験法

- ・ ピリフェノックス試験法
- ・ ピリミジフェン試験法
- ・ ピリメタニル試験法
- ・ 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
- ・ フルベンジアミド試験法
- ・ 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
- ・ フロニカミド試験法
- ・ 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
- ・ ベンゾビシクロン試験法
- ・ ペンタゾン試験法
- ・ ベンチアバリカルブイソプロピル試験法（農産物）
- ・ 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
- ・ メタアルデヒド試験法（農産物）
- ・ 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
- ・ メトコナゾール試験法
- ・ 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（農産物）
- ・ 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

HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 I (畜水産物)

1. 分析対象化合物

別表参照

2. 装置

多波長検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC-DAD) 又は蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC-FL) 又は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。

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。

水 高速液体クロマトグラフ用に製造されたもの。

各動物用医薬品等標準品 各動物用医薬品等の純度が明らかなもの。

4. 試験溶液調製法

試料 5.00 g を量り採り、アセトニトリル 30 mL、アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 20 mL 及び無水硫酸ナトリウム 10 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、有機層を採る。得られた有機層からアセトニトリル層を分取し、残った *n*-ヘキサン層を遠心分離した残留物に加え、さらにアセトニトリル 20 mL を加えて激しく振り混ぜた後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離する。*n*-ヘキサン層を捨て、得られたアセトニトリル層を合わせ、*n*-プロパノール 10 mL を加えて、40°C 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水 (4 : 6) 混液 1.0 mL を加えて溶かし、アセトニトリル飽和ヘキサン 0.5 mL を積層して、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル-水層を試験溶液とする。

5. 検量線の作成

各動物用医薬品等の標準品について、それぞれメタノール溶液を調製し、適切な濃度範囲の各動物用医薬品等を含むアセトニトリル及び水 (4 : 6) 混液溶液を数点調製する。それぞれ 10 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 10 μ L を HPLC に注入し、5 の検量線で各動物用医薬品等の含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS 又は LC/MS/MS により確認する。

8. 測定条件

検出器：別表参照

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径 3.0 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 μ m

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び 0.05% トリフルオロ酢酸溶液混液 (1 : 99) から (1 : 0) まで

の濃度勾配を 35 分間で行い、(1 : 0) で 5 分間保持する。LC/MS において ESI (-) で測定する際には、0.05% トリフルオロ酢酸溶液を 0.1% ギ酸溶液に置き換える。

検出条件：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

各動物用医薬品等を試料からアセトニトリルで抽出し、脂質及び脂溶性夾雑物は *n*-ヘキサンで除き、水及び水溶性夾雑物は無水硫酸ナトリウムで除いた後、HPLC-DAD、HPLC-FL 又は LC/MS で測定する方法である。

2) 注意点

- ① 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。
- ② 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。
- ③ 空気酸化、光分解を起こしやすい動物用医薬品等があるので、全操作は遮光下で迅速に行う。
- ④ 標準品がメタノールに溶けにくい場合は、少量の *N,N*-ジメチルホルムアミドに溶解後、メタノールで希釈する。
- ⑤ 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。
- ⑥ LC/MS 又は LC/MS/MS の感度によっては、試験溶液をさらに HPLC の移動相で希釈する。
- ⑦ 絶対検量線法により一定の真度及び精度が得られなくても、安定同位体を用いた内標準法、標準添加法により補正できる場合がある。
- ⑧ 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

- 1) 村山三徳ら，食衛誌，32，155-160（1991）
- 2) 厚生労働省監修「食品衛生検査指針（動物用医薬品・飼料添加物編）」p.26-43，（社）日本食品衛生協会（2003）

12. 類型

C

(別表)HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法 I (畜水産物)

品目名	分析対象化合物名	測定波長 (nm)	測定イオン (m/z)	定量限界 (mg/kg)
アクロミド	アクロミド		+199	0.5
アザペロン	アザペロン		+328	0.01
2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール	2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール		+186	0.01
アルトレノゲスト	アルトレノゲスト		+311	0.003
アレスリン	アレスリン		+303	0.01
アンブロリウム	アンブロリウム	245	+243	0.01
エトパベート	エトパベート		+238	0.01
エプリノメクチン	エプリノメクチンB1a		+914	0.03
エマメクチン安息香酸	エマメクチンB1a		+886	0.003
エリスロマイシン	エリスロマイシン		+716	0.01
エンロフロキサシン	エンロフロキサシン	280	+360	0.01
	シプロフロキサシン	280	+332	0.01
オキシベンダゾール	オキシベンダゾール		+250	0.01
オキシリニック酸	オキシリニック酸	260	+262	0.01
オフロキサシン	オフロキサシン		+362	0.01
オラキンドックス	オラキンドックス	260	+264	0.01
オルビフロキサシン	オルビフロキサシン		+396	0.01
オルメプリム	オルメプリム	230	+275	0.02
オレアンドマイシン	オレアンドマイシン		+688	0.01
キシラジン	キシラジン		+221	0.001
クロステボル	クロステボル		+365	0.01
クロビドール	クロビドール	230	+192	0.01
クロルスロン	クロルスロン		+380	0.01
クロールヘキシジン	クロールヘキシジン		+506	0.01
クロールマジノン	クロールマジノン		+405	0.01
ケトプロフェン	ケトプロフェン		+255	0.005
サラフロキサシン	サラフロキサシン		+386	0.01
ジアベリジン	ジアベリジン		+261	0.02
ジクラズリル	ジクラズリル	275	+382	0.01
ジシクラニル	ジシクラニル		+191	0.01
ジフルベンズロン	ジフルベンズロン		+311	0.03
ジフロキサシン	ジフロキサシン		+400	0.01
ジョサマイシン	ジョサマイシン		+829	0.01
スルファエトキシピリダジン	スルファエトキシピリダジン		+295	0.01
スルファキノキサリン	スルファキノキサリン	270	+301	0.01
スルファグアニジン	スルファグアニジン		+215	0.01
スルファクロルピリダジン	スルファクロルピリダジン		+285	0.01
スルファジアジン	スルファジアジン		+251	0.01
スルファジミジン	スルファジミジン	270	+279	0.01
スルファジメトキシ	スルファジメトキシ	275	+311	0.01
スルファセタミド	スルファセタミド		+215	0.01
スルファチアゾール	スルファチアゾール		+256	0.01
スルファドキシ	スルファドキシ		+311	0.01
スルファニトラン	スルファニトラン		+336	0.01
スルファピリジン	スルファピリジン		+250	0.01
スルファベンズアミド	スルファベンズアミド		+277	0.01
スルファメキサゾール	スルファメキサゾール		+254	0.01
スルファメキシピリダジン	スルファメキシピリダジン		+281	0.01
スルファメラジン	スルファメラジン	270	+265	0.01
スルファモノメトキシ	スルファモノメトキシ	275	+281	0.01
セフォペラゾン	セフォペラゾン		+646	0.01
セフロキシム	セフロキシム		+364	0.01
タイロシン	タイロシン		+916	0.01
ダノフロキサシン	ダノフロキサシン		+358	0.01
チアベンダゾール	チアベンダゾール	300	+202	0.01
	5-ヒドロキシチアベンダゾール	300	+218	0.01
チアムリン	チアムリン		+494	0.05
チアンフェニコール	チアンフェニコール	225	-354	0.01
チルミコシン	チルミコシン	235	+870	0.05 (筋肉、脂肪、 内臓) 0.01 (乳)
デキサメタゾン	デキサメタゾン		+393	0.01
テムホス	テムホス		+467	0.05
トリクロルホン	トリクロルホン		+258	0.1
トリベレナミン	トリベレナミン		+256	0.002-0.02
トリメプリム	トリメプリム	230	+291	0.02
トルフェナム酸	トルフェナム酸		+261	0.005

品目名	分析対象化合物名	測定波長 (nm)	測定イオン (m/z)	定量限界 (mg/kg)
酢酸トレンボロン	α-トレンボロン(肝臓)	340	+271	0.002
	β-トレンボロン(筋肉)	340	+271	0.002
ナフシリン	ナフシリン		+447	0.01
ナリジクス酸	ナリジクス酸	260	+233	0.01
ニタルゾン	ニタルゾン		+276	0.003
ニトロキシニル	ニトロキシニル		+291	0.05
バルネムリン	バルネムリン		+565	0.01
ハロフジノン	ハロフジノン	245	+416	0.01
ナイカルバジン	N,N'-ビス(4-ニトロフェニル)ウレア	350	+303	0.02
ヒドロコルチゾン	ヒドロコルチゾン		+405	0.01
ピランテル	ピランテル		+207	0.01
ピリメタミン	ピリメタミン	230	+249	0.02
ファムフル	ファムフル		+326	0.02
フェノキシメチルペニシリン	フェノキシメチルペニシリン		+383	0.002
フェノブカルブ	フェノブカルブ		+208	0.01
ブチルヒドロキシアニソール	ブチルヒドロキシアニソール		+195	0.01
ブリフィニウム	ブリフィニウム		+306	0.002
フルニキシ	フルニキシ		+297	0.005
フルベンダゾール	フルベンダゾール	315	+314	0.01
フルメキン	フルメキン		+262	0.01
ブレドニゾロン	ブレドニゾロン		+361	0.002
プロチゾラム	プロチゾラム		+395	0.0005
プロマシル	プロマシル		+207	0.005
5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	300	+240	0.01
フロルフェニコール	フロルフェニコール		+356	0.01
ベンゾカイン	ベンゾカイン		+166	0.005
マフオブラジン	マフオブラジン		+402	0.005
マルボフロキサシン	マルボフロキサシン		+363	0.01
ミロキサシン	ミロキサシン		+264	0.01
メシリナム	メシリナム		+259	0.01
メチルブレドニゾロン	メチルブレドニゾロン		+375	0.01
メベンダゾール	メベンダゾール		+296	0.01
メロキシカム	メロキシカム		+352	0.005
メンプトン	メンプトン		+241	0.001
モネンシン	モネンシン		+679	0.001
モランテル	モランテル		+221	0.01
ラサロシド	ラサロシド		+613	0.005
リファキシミン	リファキシミン		+786	0.01
リンコマイシン	リンコマイシン		+407	0.05
レバミゾール	レバミゾール	220	+205	0.01
ロベニジン	ロベニジン		+334	0.01
ワルファリン	ワルファリン		+309	0.001

◎化合物名の五十音順に示した。

◎測定波長は紫外分光光度型検出器又は多波長検出器付き高速液体クロマトグラフによるものを示す。

◎5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン及びチアベンダゾールについては蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ(ex 300 nm, em 370 nm)による測定も可能である。

◎測定イオンはLC/MSによるもので、ESIネガティブ(-)ポジティブ(+)-測定によるものを示す。

HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法 II (畜水産物)

1. 分析対象化合物

別表参照

2. 装置

多波長検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC-DAD) 又は電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC-ECD) 又は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。

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。

水 高速液体クロマトグラフ用に製造されたもの。

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。

リン酸緩衝液 (pH3.0)

第 1 液：リン酸一カリウム 27.2 g を量り、水を加えて溶かして 1,000 mL とする。

第 2 液：リン酸 2.31 g を量り、水を加えて溶かして 100 mL とする。

第 1 液に第 2 液を加えて混和し、pH を 3.0 に調整する。

リン酸緩衝液 (pH5.0)

第 1 液：リン酸一カリウム 27.2 g を量り、水を加えて溶かして 1,000 mL とする。

第 2 液：リン酸二カリウム 3.48 g を量り、水を加えて溶かして 100 mL とする。

第 1 液に第 2 液を加えて混和し、pH を 5.0 に調整する。

各動物用医薬品等標準品 各動物用医薬品等の純度が明らかなもの。

4. 試験溶液調製法

1) 抽出

① 筋肉、肝臓、腎臓、乳及びその他の食用部分の場合

試料 5.00 g を量り採り、95%アセトニトリル水溶液 30 mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 2,500 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層を採る。残留物に 95%アセトニトリル水溶液 30 mL を加えて激しく振り混ぜた後、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る。

② 脂肪の場合

試料 5.00 g を量り採り、95%アセトニトリル水溶液 30 mL 及び n-ヘキサン 30 mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 2,500 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層を採る。残留物及び n-ヘキサンに 95%アセトニトリル水溶液 30 mL を加えて激しく振り混ぜた後、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る。

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

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合成ケイ酸マグネシウム 8 g をアセトニトリルに懸濁したものを入れ、カラムの上端に少量のアセトニトリルが残る程度までアセトニトリルを流出させる。このカラムにアセトニトリル 100 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られた溶液及びアセトニトリル 30 mL を順次注入し、溶出液を採る。これに n-ヘキサン 100 mL を加え、振とう機を用いて 3 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を採り、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にリン酸緩衝液 (pH5.0) 4 mL を加えて溶かし、水 6 mL を加える。

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 (360 mg) に、メタノール 10 mL、水 10 mL 及びリン酸緩衝液 (pH5.0) 2 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、リン酸緩衝液 (pH5.0) 5 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 40%メタノール水溶液 10 mL 及び 70%アセトニトリル水溶液 10 mL を順次注入し、溶出液をそれぞれ別に採り、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。40%メタノール水溶液から得られた残留物に 5%メタノール水溶液 2.0 mL を加えて溶かし、70%アセトニトリル水溶液から得られた残留物に 35%メタノール水溶液 2.0 mL を加えて溶かし、

それぞれを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

各動物用医薬品等の標準品について、それぞれメタノール溶液を調製し、別表 C18 画分 A の動物用医薬品等については 5%メタノール水溶液、別表 C18 画分 B の動物用医薬品等については 35%メタノール水溶液で希釈して、適切な濃度範囲の検量線作成用標準溶液を数点調製する。それぞれ 200 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 200 μ L を HPLC に注入し、5 の検量線で各動物用医薬品等の含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS 又は LC/MS/MS により確認する。

8. 測定条件

検出器：別表参照

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 250 mm、粒子径 5 μ m

カラム温度：40°C

移動相

HPLC-DAD：アセトニトリル、水及びリン酸緩衝液 (pH3.0) 混液 (1 : 18 : 1) から (14 : 5 : 1) までの濃度勾配を 30 分間で行い、(14 : 5 : 1) で 10 分間保持する。

HPLC-ECD：アセトニトリル及び 0.085 mol/L リン酸一カリウム溶液 (2 : 3) 混液

検出条件：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

各動物用医薬品等を試料から 95%アセトニトリル水溶液で抽出し、合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー、アセトニトリル/ヘキサン分配、さらに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より精製した後、HPLC-DAD 又は HPLC-ECD で測定する方法である。

2) 注意点

① 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。

② 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。

③ 空気酸化、光分解を起こしやすい動物用医薬品等があるので、全操作は遮光下で迅速に行う。

④ 標準品がメタノールに溶けにくい場合は、少量の *N,N*-ジメチルホルムアミドに溶解後、メタノールで希釈する。

⑤ 4. 試験溶液調製法の 2) 精製の操作で用いる、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウムについては、総則の 3 の別表で示す、130°C で 12 時間以上の加熱処理を行わないこと。

⑥ 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。

⑦ LC/MS 又は LC/MS/MS の感度によっては、試験溶液をさらに HPLC の移動相で希釈する。

⑧ 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より得られる二種類の試験溶液における、各農薬等の画分の目安を別表に示す。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムのロット、保存状態により、溶出挙動が変化する場合があるので、標準品を用いて確認する。

⑨ 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

寺田久屋ら，名古屋市衛生研究所報，35，101-105（1989）

12. 類型
C

(別表)HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅱ(畜水産物)

品目名	分析対象化合物名	測定波長 (nm)	測定イオン (m/z)	C18画分	定量限界 (mg/kg)
2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール	2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール		-186→139	B	0.0001
アクロミド	アクロミド		+201→155	B	0.01
アザペロン	アザペロン		+328→123	A	0.01
エトパベート	エトパベート	280	+238→206	A	0.01
オキサシリン	オキサシリン		+402→160	A	0.005
オキシベンダゾール	オキシベンダゾール	300	+250→176	A,B	0.01
オルメプリム	オルメプリム	280	+175→123	A,B	0.02
オレアンドマイシン	オレアンドマイシン		+688→158	B	0.01
カラゾロール	カラゾロール		+299→116	B	0.0005
カルプロフェン	カルプロフェン		+274→228	A,B	0.01
クロキサシリン	クロキサシリン		+437→160	A	0.005
クロサンテル	クロサンテル	230		B	0.05
クロピドール	クロピドール	280	+192→101	A	0.01
クロルスロン	クロルスロン		-380→344	A	0.001
ケトプロフェン	ケトプロフェン		+255→105	A	0.005
酢酸メレンゲステロール	酢酸メレンゲステロール	300	+397→337	B	0.001
ジクラズリル	ジクラズリル	300	-405→334	B	0.01
ジニトルミド	ジニトルミド		+224→181	A	0.03
スルファキノキサリン	スルファキノキサリン	270	+301→156	A	0.01
スルファクロルピリダジン	スルファクロルピリダジン	270	+285→156	A	0.01
スルファジアジン	スルファジアジン	270	+251→92	A	0.01
スルファジミジン	スルファジミジン	270	+279→92	A	0.01
スルファジメキシシ	スルファジメキシシ	270	+311→156	A	0.01
スルファチアゾール	スルファチアゾール	270	+256→92	A	0.01
スルファドキシシ	スルファドキシシ	270	+311→156	A	0.01
スルファトロキサゾール	スルファトロキサゾール		+268→92	A	0.01
スルファニトラン	スルファニトラン	270	+336→65	A	0.01
スルファピリジン	スルファピリジン	270	+250→156	A	0.01
スルファプロモメタジンナトリウム	スルファプロモメタジンナトリウム		+357→92	A	0.01
スルファベンズアミド	スルファベンズアミド	270	+277→156	A	0.01
スルファメキサゾール	スルファメキサゾール	270	+254→92	A	0.01
スルファメキシピリダジン	スルファメキシピリダジン	270	+281→92	A	0.01
スルファメラジン	スルファメラジン	270	+265→92	A	0.01
スルファモノメキシシ	スルファモノメキシシ	270	+281→92	A	0.01
セファゾリン	セファゾリン		+455→323	A	0.01
セファピリン	セファピリン		+424→152	A	0.01
セフォペラゾン	セフォペラゾン		+646→143	A	0.01
セフロキシム	セフロキシム		+447→386	A	0.01
ゼラノール	ゼラノール	*	-321→277	A,B	0.0005
チアベンダゾール	チアベンダゾール	320	+202→175	A,B	0.01
	5-ヒドロキシチアベンダゾール	320	+218→191	A	0.01
チアムリン	チアムリン		+494→192	B	0.05
チアンフェニコール	チアンフェニコール	230	-345→185	A	0.01
トリメトプリム	トリメトプリム	280	+291→230	A	0.02
トルフェナム酸	トルフェナム酸		+262→209	B	0.001
酢酸トレンボロン	α-トレンボロン(肝臓)	350	+271→115	B	0.002
	β-トレンボロン(筋肉)	350	+271→115	B	0.002
ナイカルバジン	N,N'-ビス(4-ニトロフェニル)ウレア	300	-301→137	B	0.02
ナフシリン	ナフシリン		+415→199	A	0.01
ニフルステレン酸	ニフルステレン酸		-258→184	A	0.01
ノボビオシシ	ノボビオシシ	300	+613→189	B	0.01
ノルジェストメット	ノルジェストメット		+373→313	B	0.0001
ピチオノール	ピチオノール		-355→161	B	0.002
ピリメタミン	ピリメタミン		+249→177	B	0.02
ファミフル	ファミフル		+326→93	A	0.02
フェノキシメチルペニシリン	フェノキシメチルペニシリン		+351→160	A	0.002
ブラジクアンテル	ブラジクアンテル		+313→203	B	0.01
フルベンダゾール	フルベンダゾール	300	+314→282	B	0.002
プロチゾラム	プロチゾラム		+395→314	B	0.0005
5-フロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	5-フロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	280	+240→133	A	0.01
フロルフェニコール	フロルフェニコール		-358→185	A	0.01
ベンジルペニシリン	ベンジルペニシリン		+335→91	A	0.005(筋肉、脂肪、 内臓) 0.001(乳)
メベンダゾール	メベンダゾール		+296→264	B	0.0001
メロキシカム	メロキシカム		+352→115	A,B	0.0001
ラサロシド	ラサロシド		+592→337	B	0.005

品目名	分析対象化合物名	測定波長 (nm)	測定イオン (m/z)	C18画分	定量限界 (mg/kg)
リンコマイシン	リンコマイシン		+407→126	A,B	0.05
レバミゾール	レバミゾール	230	+205→178	A	0.002
ワルファリン	ワルファリン		+309→163	A,B	0.001

◎化合物名の五十音順に示した。

◎測定波長は紫外分光光度型検出器又は多波長検出器付き高速液体クロマトグラフによるものを示す。

◎測定イオンはLC/MS/MSIによるもので、ESIネガティブ(-)ポジティブ(+)測定によるものを示す。

◎ゼラノールについては、電気化学検出器付き高速液体クロマトグラフ(Eg 850 mV、E1 500 mV、E2 750 mV)で測定する。

◎C18画分のうち、Aは40%メタノール水画分、Bは70%アセトニトリル画分を示す。

HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法Ⅲ（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・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。

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。

水 高速液体クロマトグラフ用に製造されたもの。

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。

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（60 mg） 内径 12~13 mm のポリエチレン製のカラム管にジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体 60 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。
各動物用医薬品等標準品 各動物用医薬品等の純度が明らかなもの。

4. 試験溶液調製法

1) 抽出

試料 5.00 g を量り採り、アセトニトリル、メタノール及び 0.2%メタリン酸溶液（1 : 1 : 3）混液 100 mL を加えて細砕した後、ケイソウ土を 2~3 mm 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。ろ紙上の残留物にアセトニトリル、メタノール及び 0.2%メタリン酸（1 : 1 : 3）混液 20 mL を加えてかき混ぜた後、上記と同様に操作して、ろ液を合わせ、40℃以下で約 20 mL に濃縮する。

2) 精製

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（60 mg）に、メタノール 5 mL 及び水 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、水 5 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムにメタノール 5 mL を注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下でメタノールを除去する。この残留物にアセトニトリル及び水（1 : 9）混液 1.0 mL を加えて溶かし、これを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

各動物用医薬品等の標準品について、それぞれメタノール溶液を調製し、適切な濃度範囲の各動物用医薬品等を含むアセトニトリル及び水（1 : 9）混液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 HPLC に注入し、5 の検量線で各動物用医薬品等の含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS 又は LC/MS/MS により確認する。

8. 測定条件

検出器：別表参照

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：アセトニトリル、0.005%ギ酸溶液及び水混液（1：1：18）から（16：1：3）までの濃度勾配を 15 分間で行い、（16：1：3）で 5 分間保持する。

検出条件：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

各動物用医薬品等を試料からアセトニトリル、メタノール及び 0.2%メタリン酸溶液の混液で抽出し、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で精製した後、LC/MS 又は LC/MS/MS で測定、確認する方法である。

2) 注意点

- ① 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。
- ② 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。
- ③ 空気酸化、光分解を起こしやすい動物用医薬品等があるので、全操作は遮光下で迅速に行う。
- ④ 標準品がメタノールに溶けにくい場合は、少量の *N,N*-ジメチルホルムアミドに溶解後、メタノールで希釈する。
- ⑤ LC/MS 又は LC/MS/MS の感度によっては、試験溶液をさらに HPLC の移動相で希釈する。
- ⑥ 絶対検量線法により一定の真度及び精度が得られなくても、安定同位体を用いた内標準法、標準添加法により補正できる場合がある。
- ⑦ 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)HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅲ(畜水産物)

品目名	分析対象化合物名	測定イオン (m/z)	定量限界 (mg/kg)
エトバベート	エトバベート	+260→260	0.01
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	オキシテトラサイクリン	+461→426	0.02
	クロルテトラサイクリン	+479→462	0.03
	テトラサイクリン	+445→410	0.02
オキシベンダゾール	オキシベンダゾール	+250→218	0.01
オラキンドックス	オラキンドックス	+264→143	0.01
オルメトプリム	オルメトプリム	+275→123	0.02
クロピドール	クロピドール	+192→101	0.01
スピラマイシン	スピラマイシン I	+422→174	0.05
	ネオスピラマイシン I	+350→174	0.05
スルファキノキサリン	スルファキノキサリン	+301→156	0.01
スルファクロルピリダジン	スルファクロルピリダジン	+285→156	0.01
スルファジアジン	スルファジアジン	+251→156	0.01
スルファジミジン	スルファジミジン	+279→186	0.01
スルファジメトキシ	スルファジメトキシ	+311→156	0.01
スルファチアゾール	スルファチアゾール	+256→156	0.01
スルファドキシ	スルファドキシ	+311→156	0.01
スルファニトラン	スルファニトラン	-334→136	0.01
スルファピリジン	スルファピリジン	+250→156	0.01
スルファベンズアミド	スルファベンズアミド	+277→156	0.01
スルファメキサゾール	スルファメキサゾール	+254→92	0.01
スルファメキシピリダジン	スルファメキシピリダジン	+281→156	0.01
スルファメラジン	スルファメラジン	+265→156	0.01
スルファモノメトキシ	スルファモノメトキシ	+281→156	0.01
ゼラノール	ゼラノール	-321→321	0.01
チアンフェニコール	チアンフェニコール	-354→185	0.01
トリメトプリム	トリメトプリム	+291→123	0.02
酢酸トレンボロン	α-トレンボロン(肝臓)	+271→253	0.002
	β-トレンボロン(筋肉)	+271→253	0.002
ナイカルバジン	N,N'-ビス(4-ニトロフェニル)ウレア	-301→137	0.02
フルベンダゾール	フルベンダゾール	+314→282	0.01
5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	+240→133	0.01
レバミゾール	レバミゾール	+205→178	0.01

◎化合物名の五十音順に示した。

◎測定イオンは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、数字の前の符号はESI(-)あるいはESI(+)-測定におけるイオン化モードを示す。

スピロメシフェン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

スピロメシフェン

4-ヒドロキシ-3-メシチル-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-2-オン（以下、エノール体という。）

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3に示すものを用いる。

スピロメシフェン標準品 本品はスピロメシフェン 98%以上を含み、融点は 96~101℃である。

エノール体標準品 本品はエノール体 99%以上を含み、融点は256~258℃である。

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。穀類及び豆類の場合は試料10.0 g、茶の場合は試料5.00 gにそれぞれ水20 mLを加え、2時間放置する。

これにアセトニトリル、ギ酸及び水（80：1：20）混液100 mLを加え、ホモジナイズした後、抽出液をろ紙とガラス繊維ろ紙を敷いたロートで吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトニトリル、ギ酸及び水（80：1：20）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、アセトニトリル、ギ酸及び水（80：1：20）混液を加えて正確に200 mLとする。この50 mL（穀類及び豆類の場合は 20 mL、茶の場合は40 mL）を採り、40℃以下で約10 mL（穀類及び豆類の場合は約 4 mL、茶の場合は約 8 mL）まで濃縮する。濃縮液に水を加えて50 mLとし、これにギ酸0.1 mLを加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン（1：19）混液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10 mLを加えて溶かす。

2) 精製

①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（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た後、容器を酢酸エチル及び *n*-ヘキサン（1：19）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（1：19）混液15 mLを注入し、溶出液（I：スピロメシフェン画分）を採る。さらにギ酸、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン（0.1：25：75）混液10 mLを注入し、溶出液（II：エノール体画分）を採る。溶出液（I）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0.01%ギ酸溶液（1：1）混液に溶解し、果実及び野菜の場合は正確に10 mL、穀類、豆類及び茶の場合は正確に 2 mLとしたものをスピロメシフェンの試験溶液とする。

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 (500 mg) にギ酸、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (0.1 : 25 : 75) 混液 5 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに ① で得られた溶出液 (II) を注入する。次に、ギ酸、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (0.1 : 25 : 75) 混液 5 mL 及びアセトニトリル及びギ酸 (99 : 1) 混液 10 mL を順次注入し、全溶出液を合わせ、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び 0.01% ギ酸溶液 (1 : 1) 混液に溶解し、果実及び野菜の場合は正確に 10 mL、穀類、豆類及び茶の場合は正確に 2 mL としたものをエノール体の試験溶液とする。

5. 検量線の作成

スピロメシフェン標準品の 0.005~0.1 mg/L 及びエノール体標準品の 0.0025~0.05 mg/L を含むアセトニトリル及び 0.01% ギ酸溶液 (1 : 1) 混液の混合標準溶液を数点調製する。それぞれ 2 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 2 µL を LC/MS に注入し、5 の検量線でスピロメシフェン及びエノール体の含量を求め、次式により、エノール体を含むスピロメシフェンの含量を求める。

スピロメシフェン (エノール体を含む。) の含量 (ppm) = A + B × 1.36

A : スピロメシフェンの含量 (ppm)

B : エノール体の含量 (ppm)

7. 確認試験

LC/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 2.1 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 µm

カラム温度 : 40°C

移動相 : アセトニトリル及び 0.01% ギ酸溶液の混液 (3 : 7) から (4 : 1) までの濃度勾配を 15 分間で行い、さらに (9 : 1) までの濃度勾配を 7 分間で行う。

イオン化モード : スピロメシフェン ESI (+)、エノール体 ESI (-)

主なイオン (*m/z*) : スピロメシフェン 273、エノール体 271

保持時間の目安 : スピロメシフェン 20 分

エノール体 11 分

9. 定量限界

各化合物 0.01 mg/kg (エノール体はスピロメシフェン換算)

10. 留意事項

1) 試験法の概要

スピロメシフェン及びエノール体を試料からアセトニトリル、ギ酸及び水 (80 : 1 : 20) 混液で抽出し、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 19) 混液に転溶した後、シリカゲルミニカラムでスピロメシフェンとエノール体に分画し、エノール体はさらにグラファイトカーボンミニカラムで精製した後、LC/MS で測定及び確認する方法である。なお、スピロメシフェン及びエノール体のそれぞれについて定量を行い、エノール体についてはその含量に換算係数を乗じてスピロメシ

エンの含量に変換し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

- ①スピロメシフェンからエノール体への変換を抑えるためにギ酸酸性下にて抽出を行う。
- ②抽出液のろ過の際には、ろ紙の上にガラス繊維ろ紙を積層することにより、目詰りを防止し、ろ過を容易にする。
- ③葉緑素の少ない試料では、エノール体をエチレンジアミントリ酢酸-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (1000 mg) で精製しても良い。

操作概要を以下に示す。予めメタノール 5 mL、次いで水 5 mL で洗浄したエチレンジアミントリ酢酸-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム (1000 mg) に、シリカゲルミニカラムで精製した溶出液 (II) を注入し、流出液は捨てる。このカラムに、ギ酸、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (0.1 : 25 : 75) 混液 5 mL を注入し、流出液を捨てる。次に、メタノール 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。この残留物をアセトニトリル及び 0.01% ギ酸溶液 (1 : 1) 混液に溶解し、果実及び野菜の場合は正確に 10 mL、穀類、豆類及び茶の場合は正確に 2 mL としたものをエノール体の試験溶液とする。

1 1. 参考文献

なし

1 2. 類型

C

スピロメシフェン試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

スピロメシフェン

4-ヒドロキシ-3-メシチル-1-オキサスピロ [4.4] ノナ-3-エン-2-オン（以下、エノール体という。）

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。

スピロメシフェン標準品 本品はスピロメシフェン 98%以上を含み、融点は 96～101℃である。

エノール体標準品 本品はエノール体 99%以上を含み、融点は 256～258℃である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料 5.00 g にアセトニトリル、ギ酸及び水（80：1：20）混液 100 mL 並びに *n*-ヘキサン 10 mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 3,000 回転で5分間遠心分離を行う。アセトニトリル、ギ酸及び水混液層を採り、*n*-ヘキサン層及び残留物にアセトニトリル、ギ酸及び水（80：1：20）混液 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う。得られたアセトニトリル、ギ酸及び水混液層を合わせ、アセトニトリル、ギ酸及び水（80：1：20）混液を加えて正確に 200 mL とし、この 20 mL を採り、40℃以下で約 4 mL まで濃縮する。

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）にアセトニトリル及び水各 10 mL を順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液に水 10 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 0.01%ギ酸溶液（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 0.01%ギ酸溶液（9：1）混液 10 mL を注入し、溶出液に同混液を加えて正確に 10 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

スピロメシフェン標準品の 0.0005～0.01 mg/L 及びエノール体標準品の 0.00025～0.005 mg/L を含むアセトニトリル及び 0.01%ギ酸溶液（9：1）混液の混合標準溶液を数点調製する。それぞれ LC/MS の場合は 10 μL、LC/MS/MS の場合は 4 μL を注入し、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、又は 4 μL を LC/MS/MS に注入し、5の検量線でスピロメシフェン及びエノール体の含量を求める。次式により、エノール体を含むスピロメシフェンの含量を求める。

スピロメシフェン（エノール体を含む。）の含量（ppm）= A + B × 1.36

A：スピロメシフェンの含量（ppm）

B：エノール体の含量（ppm）

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 μ m

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び 0.01%ギ酸溶液の混液（1：1）から（9：1）までの濃度勾配を 4 分間で行い、（9：1）で 11 分間保持する。

イオン化モード：スピロメシフェン ESI（+）、エノール体 ESI（-）

主なイオン（ m/z ）：

1) LC/MS の場合

スピロメシフェン 273、エノール体 271

2) LC/MS/MS の場合

スピロメシフェン；プリカーサーイオン 273、プロダクトイオン 91、67

エノール体；プリカーサーイオン 271、プロダクトイオン 209、159

注入量：

1) LC/MS の場合 10 μ L

2) LC/MS/MS の場合 4 μ L

保持時間の目安：スピロメシフェン 9 分

エノール体 5 分

9. 定量限界

各化合物 0.01 mg/kg （エノール体はスピロメシフェン換算）

10. 留意事項

1) 試験法の概要

スピロメシフェン及びエノール体を試料からアセトニトリル、ギ酸及び水（80：1：20）混液に *n*-ヘキサンを加えた溶液で抽出する。*n*-ヘキサンを分離し、アセトニトリル、ギ酸及び水混液層を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 又は LC/MS/MS で測定及び確認する方法である。なお、スピロメシフェン及びエノール体のそれぞれについて定量を行い、エノール体についてはその含量に換算係数を乗じてスピロメシフェンの含量に変換し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

①スピロメシフェンからエノール体への変換を抑えるためにギ酸酸性下にて抽出を行う。

②精製が不十分な場合は、グラファイトカーボンミニカラム（250 mg）による精製を追加するとよい。

操作概要を以下に示す。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム精製操作で、アセトニトリル及び 0.01%ギ酸溶液（2：3）混液 10 mL をカラムに注入し、流出液を捨てた後、予めアセトニトリル及び 0.01%ギ酸溶液（9：1）混液 5 mL で洗浄したグラファイトカーボンミニカラムをオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムの下部に接続する。この連結カラムにアセトニトリル及び 0.01%ギ酸溶液（9：1）混液 10 mL を注入し、溶出液にアセトニトリル及び 0.01%ギ酸溶液（9：1）混液を加えて正確に 10 mL としたものを試験溶液とする。

11. 参考文献

なし

12. 類型

C

トルトラズリル試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

トルトラズリル
トルトラズリルスルホキシド
トルトラズリルスルホン

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。

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を用いる。

水 高速液体クロマトグラフ用に製造されたものを用いる。

強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラム（150 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 150 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。

トルトラズリル標準品 純度が明らかなもの。

トルトラズリルスルホキシド標準品 純度が明らかなもの。

トルトラズリルスルホン標準品 純度が明らかなもの。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出法

① 脂肪の場合

試料 5.00 g を量り採り、アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 20 mL 及び無水硫酸ナトリウム 10 g を加え、ホモジナイズした後、アセトニトリル 20 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離する。アセトニトリル及び *n*-ヘキサン層を採り、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採る。遠心分離した残留物にアセトニトリル 20 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離する。アセトニトリル層を採り、先に分離した *n*-ヘキサン層を加え、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、先に分離したアセトニトリル層に合わせ、アセトニトリルを加えて 50 mL とする。この溶液 10 mL を、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物に 1 mol/L アンモニア水及びメタノールの混液（1 : 1）10 mL を加えて溶かす。

② 脂肪以外の場合

試料 5.00 g を量り採り、アセトニトリル 20 mL 及び無水硫酸ナトリウム 10 g を加え、ホモジナイズした後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離する。アセトニトリル層にアセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 20 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採る。遠心分離した残留物にアセトニトリル 20 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離する。アセトニトリル層を採り、先に分離した *n*-ヘキサン層を加え、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、先に分離したアセトニトリル層に合わせ、アセトニトリルを加えて 50 mL とする。この溶液 10 mL を、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物に 1 mol/L アンモニア水及びメタノールの混液（1 : 1）10 mL を加えて溶かす。

2) 精製法

強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラム（150 mg）に、メタノール 5 mL 及び水 5 mL を順次注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) 抽出法で得られた溶液を注入した後、メタノール 5 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 2 vol% ギ酸・メタノール溶液 10 mL を注入し、溶出液を採り、40°C 以下でギ酸及びメタノールを除去する。この残留物にアセトニトリル 1.0 mL を加えて溶かし、これを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

各標準品のトルトラズリルとして 10 mg/100 mL アセトニトリル溶液を調製し、さらにアセトニトリルで希釈してトルトラズリルとして 0.001~0.1 mg/L の溶液を数点調製する。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。

6. 定量

試験溶液を LC/MS 又は LC/MS/MS に注入し、5. の検量線で各化合物のトルトラズリルとしての含量を求め、その和を求める。

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

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径 2.0~6.0 mm、長さ 100~250 mm、粒子径 2~5 μm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び0.1%ギ酸溶液混液（1：99）から（1：0）までの濃度勾配を35分間で行い、（1：0）で10分間保持する。

イオン化モード：ESI（-）

主なイオン（*m/z*）：424（トルトラズリル）
440（トルトラズリルスルホキシド）
456（トルトラズリルスルホン）

保持時間の目安：35分（トルトラズリル）
30分（トルトラズリルスルホキシド）
33分（トルトラズリルスルホン）

9. 定量限界

各化合物もトルトラズリルとして 0.001 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

トルトラズリル、トルトラズリルスルホキシド及びトルトラズリルスルホンを試料からアセトニトリルで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配後、強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラムにより精製後、LC/MSで測定及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① トルトラズリルスルホキシド 10.38 mg、トルトラズリルスルホン 10.75 mg が、トルトラズリル 10.0 mg に相当する。
- ② 試験溶液の調製中に、トルトラズリルスルホキシドの一部がトルトラズリルスルホンに酸化されることがある。
- ③ LC/MSにおける標準溶液及び試験溶液の標準的な注入量は、内径 3.0 mm のカラムにおいて 10 μ L であるが、カラム及び装置により最適な注入量が異なる場合があるので、必要に応じて最適注入量、移動相条件等を検討すること。
- ④ LC/MSにおける測定条件は用いる装置により、最適なイオン化方法、生成するイオンが異なる場合があるので、装置ごとに最適条件を検討すること。
- ⑤ 測定値が検量線の上限を超える場合は、試験溶液をアセトニトリルで適宜希釈して、検量線の範囲内で定量すること。

11. 参考文献

なし。

12. 類型

C

ピラクロニル試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

ピラクロニル

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。

ピラクロニル標準品 本品はピラクロニル98%以上を含み、融点は93～95℃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は、試料10.0 gを量り採り、水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を量り採る。茶の場合は試料5.00 gに水20 mLを加え、30分間放置する。

これにアセトニトリル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、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。得られたろ液にアセトニトリルを加えて正確に200 mLとし、穀類、豆類、種実類、果実及び野菜の場合はこの4 mL、茶の場合はこの8 mLを採り、これに水10 mLを加えて、40℃以下で約10 mLまで濃縮する。

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）にアセトニトリル及び水各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。グラフアイトカーボンミニカラム（500 mg）にアセトニトリル及び水各10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。

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、さらに、アセトニトリル及び水（3：7）混液10 mLを注入し、各流出液は捨てる。次いで、このカラムの下部にグラフアイトカーボン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を除去した後、グラフアイトカーボンミニカラムにアセトニトリル10 mLを注入し、溶出液を採り、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に溶解し、穀類、豆類、種実類及び茶の場合は正確に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

ピラクロニル標準品の0.001～0.02 mg/Lメタノール溶液を数点調製し、それぞれ5 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 5 μ LをLC/MSに注入し、5の検量線でピラクロニルの含量を求める。

7. 確認試験

LC/MSにより確認する。

8. 測定条件

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

移動相：0.005 mol/L酢酸アンモニウム溶液及び0.005 mol/L酢酸アンモニウム含有メタノール溶液の混液（3：2）で2分間維持した後、（1：4）までの濃度勾配を13分間で行い、そのまま5分間維持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（ m/z ）：315

保持時間の目安：13分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

ピラクロニルを試料から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で測定及び確認する方法である。

2) 注意点

①本試験法の他に、米については「LC/MSによる農薬等の一斉試験法 I（農産物）」が適用可能である。なお、米以外の農産物については未検討である。

② 精製が不足する場合は、シリカゲルミニカラム（690mg）による精製を追加するとよい。
操作概要：グラファイトカーボンミニカラムで精製した後の残留物を酢酸エチル及び *n*-ヘキサン（1：4）混液 5 mLに溶解し、これをカラム（同混液 5 mLで洗浄したもの）に負荷した後、同混液 5 mLで洗浄し、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン（2：3）混液 10 mLでピラクロニルを溶出する。

11. 参考文献

なし

12. 類型

C

ベンチアバリカルブイソプロピル試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

ベンチアバリカルブイソプロピル

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。

ベンチアバリカルブイソプロピル標準品 本品はベンチアバリカルブイソプロピル 98%以上を含み、融点は 152℃である。

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類、豆類及び種実類の場合

試料 10.0 g に水 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。得られたろ液を合わせて、アセトンを加え正確に 200 mL とする。この 20 mL を 40℃以下で約 1 mL まで濃縮する。

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て、アセトンを加え正確に 200 mL とする。この 10 mL を 40℃以下で約 1 mL まで濃縮する。

③ 茶の場合

試料 5.00 g に水 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。得られたろ液を合わせて、アセトンを加え正確に 200 mL とする。この 40 mL を 40℃以下で約 1 mL まで濃縮する。

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）にアセトニトリル及び水各 10 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られた濃縮液に水 10 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。次いでアセトニトリル及び水（1：1）混液 10 mL を注入し、溶出液にアセトニトリル及び水（1：1）混液を加えて正確に 10 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

ベンチアバリカルブイソプロピル標準品の 0.001～0.02 mg/L アセトニトリル及び水（1：1）混液の標準溶液を数点調製し、それぞれ 5 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 5 μL を LC/MS に注入し、5 の検量線でベンチアバリカルブイソプロピルの含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS 又は LC/MS/MS により確認する。

8. 測定条件

1) LC/MS

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 μ m

カラム温度：40°C

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（9：11）混液

イオン化モード：ESI（+）又は ESI（-）

主なイオン（ m/z ）：382（+）又は 380（-）

注入量：5 μ L

保持時間の目安：10 分

2) LC/MS/MS

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 μ m

カラム温度：40°C

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（1：1）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 382、プロダクトイオン 180、72

注入量：1 μ L

保持時間の目安：7 分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

ベンチアバリカルブイソプロピルを試料からアセトンで抽出し、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

① 精製が不十分な場合は、グラファイトカーボンミニカラム（500 mg）による精製をオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムの前に追加するとよい。

操作概要：抽出液を 10 mL（穀類の場合は 20 mL、茶の場合は 40 mL）分取し、これを予めアセトンで洗浄したグラファイトカーボンミニカラムに負荷し、アセトン 10 mL を注入する。全溶出液を濃縮し、水 10 mL を加え、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムに負荷する。

② LC/MS/MS で測定する場合はプロダクトイオンについて m/z ：180 を定量イオン、 m/z ：72 を確認イオンとする。

1 1. 参考文献

なし

1 2. 類型

C