

生食発 1 2 2 2 第 4 号
平成 2 7 年 1 2 月 2 2 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）」に係る部分の次に別紙 2 の「イソチアニル及びプロスルホカルブ試験法（農産物）」を、「イミシアホス試験法（農産物）」に係る部分の次に別紙 3 の「イミドカルブ試験法（畜水産物）」を、「シンメチリン試験法（農産物）」に係る部分の次に別紙 4 の「スピネトラム試験法（農産物）」を、「テプラロキシジム試験法（農産物）」に係る部分の次に別紙 5 の「テフリトリオン及びメソトリオン試験法（農産物）」を、「メタアルデヒド試験法（農産物）」に係る部分の次に

別紙6の「メタフルミゾン試験法（農産物）」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ーロン試験法（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（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）
- ・クミルロン試験法（農産物）
- ・クリスタルバイオレット、ブリリアントグリーン及びメチレンブルー試験法（畜水産物）
- ・グリチルリチン酸試験法（畜水産物）
- ・グリホサート試験法（農産物）
- ・グルホシネート試験法（農産物）
- ・クレトジム試験法（農産物）
- ・クロサンテル試験法（畜水産物）
- ・クロジナホッププロパルギル試験法（農産物）
- ・クロチアニジン試験法（農産物）
- ・クロチアニジン試験法（畜産物）
- ・クロピラリド試験法（農産物）
- ・クロフェンテジン試験法（農産物）
- ・クロメプロップ試験法（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ピ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）
- ・ジクラズリル及びナイカルバジン試験法（畜水産物）
- ・シクロキシジム試験法（農産物）
- ・ジクロシメット試験法（農産物）
- ・シクロスルファミロン試験法（農産物）

- ・ジクロフルアニド及びトリルフルアニド試験法（農産物）
- ・ジクロベニル試験法（農産物）
- ・ジクロメジン試験法（農産物）
- ・ジクロルボス及びトリクロルホン試験法（農産物）
- ・ジクワット、パラコート及びメピコートクロリド試験法（農産物）
- ・ジチアノン試験法（農産物）
- ・ジチオピル及びチアゾピル試験法（農産物）
- ・ジ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）
- ・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）
- ・ベンタゾン試験法（農産物）
- ・ベンチアバリカルブイソプロピル試験法（農産物）
- ・ペンチオピラド試験法（農産物）
- ・ペントキサゾン試験法（農産物）
- ・ベンフレセート試験法（農産物）
- ・ボスカリド試験法（農産物）
- ・ボスカリド試験法（畜産物）
- ・ホセチル試験法（農産物）
- ・マレイン酸ヒドラジド試験法（農産物）
- ・マンジプロパミド試験法（農産物）
- ・マイクロブタニル試験法（農産物）
- ・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）
- ・メタベンズチアズロン試験法（農産物）
- ・メタミトロン試験法（農産物）
- ・メチオカルブ試験法（農産物）
- ・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）
- ・ラフオキサニド試験法（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

イソチアニル及びプロスルホカルブ試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
イソチアニル	イソチアニル
プロスルホカルブ	プロスルホカルブ

2. 適用食品

農産物

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。

イソチアニル標準品 本品はイソチアニル 99%以上を含む。

プロスルホカルブ標準品 本品はプロスルホカルブ 98%以上を含む。

5. 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、30 分間放置する。これにアセトン 100 mL を加えて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。この溶液から正確に 20 mL を分取し、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 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 3 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 : 4) 混液 2 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 を加えて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。この溶液から正確に 10 mL を分取し、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 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 3 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 : 4) 混液 2 mL を加えて溶かす。

③ 茶の場合

試料 5.00 g に水 20 mL を加えて 30 分間放置する。これにアセトン 100 mL を加えて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。この溶液から正確に 40 mL を分取し、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 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 3 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 : 4) 混液 2 mL を加えて溶かす。

2) 精製

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (910 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) で得られた溶液を注入した後、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 15 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。

6. 検量線の作成

イソチアニル標準品及びプロスルホカルブ標準品をそれぞれアセトニトリルに溶解して 1 mg/mL 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 に相当する試験溶液中濃度はイソチアニル及びプロスルホカルブともに 0.002 mg/L である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. の検量線でイソチアニル又はプロスルホカルブの含量を求める。

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% ギ酸の混液 (1 : 1) から (99 : 1) までの濃度勾配を 15 分間で行い、(99 : 1) で 10 分間保持する。

イオン化モード

イソチアニル：ESI (-)

プロスルホカルブ：ESI (+)

主なイオン (*m/z*)

イソチアニル：プリカーサーイオン 296、プロダクトイオン 152

プリカーサーイオン 298、プロダクトイオン 154

プロスルホカルブ：プリカーサーイオン 252、プロダクトイオン 128、91

注入量：5 μ L

保持時間の目安

イソチアニル：7分

プロスルホカルブ：12分

10. 定量限界

イソチアニル 0.01 mg/kg

プロスルホカルブ 0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

イソチアニル及びプロスルホカルブを試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、合成ケイ酸マグネシウムミニカラムで精製し、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① イソチアニル及びプロスルホカルブの 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。

イソチアニル

定量イオン (*m/z*)：プリカーサーイオン 296、プロダクトイオン 152

定性イオン (*m/z*)：プリカーサーイオン 298、プロダクトイオン 154

プロスルホカルブ

定量イオン (*m/z*)：プリカーサーイオン 252、プロダクトイオン 91

定性イオン (*m/z*)：プリカーサーイオン 252、プロダクトイオン 128

- ② アセトニトリル/ヘキサン分配は、果実、野菜、ハーブ及び茶等の脂肪含量の少ない試料においては、妨害ピーク等の測定影響が観察されなければ省略することができる。
- ③ 試験法開発時に検討した食品：玄米、大豆、らっかせい、ばれいしょ、キャベツ、ほうれんそう、オレンジ、りんご、茶及びコリアンダーの種子

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

イミドカルブ試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

イミドカルブ

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。

イミドカルブ標準品 本品はイミドカルブ 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、乳、卵及び魚介類の場合

試料 10.0 g（脂肪の場合は 5.00 g）に *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 50 mL、*n*-ヘキサン 50 mL、30 w/v%水酸化ナトリウム溶液 2 mL 及び無水硫酸ナトリウム 20 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、アセトニトリル層と *n*-ヘキサン層をそれぞれ採る。次いで、先の *n*-ヘキサン層を遠心分離後の残留物に加え、さらに *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 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。*n*-ヘキサン層を捨て、得られたアセトニトリル層を先のアセトニトリル層に合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とする。この溶液から正確に 10 mL（脂肪の場合は正確に 20 mL）を分取し、2-プロパノール 2 mL を加えて、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（2 : 3）混液に溶かし、正確に 1 mL としたものに *n*-ヘキサン 0.5 mL を積層する。毎分 13,000 回転で 5 分間遠心分離した後、*n*-ヘキサン層を除去し、アセトニトリル-水層を試験溶液とする。

2) はちみつの場合

試料 10.0 g に水 50 mL を加えて溶解する。30 w/v%水酸化ナトリウム 2 mL、アセトニトリル 50 mL 及び塩化ナトリウム 25 g を加え振とう抽出する。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。水層及び残留物にアセトニトリル 50 mL を加えて振とう抽出し、上記と同様に遠心分離する。得られたアセトニトリル層を先のアセトニトリル層に合わせ、アセトニトリルを加えて正確に 100 mL とする。この溶液から正確に 10 mL を分取し、2-プロパノール 1 mL を加えて、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（2：3）混液に溶解し、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

イミドカルブ標準品をメタノールに溶解して 1 mg/mL とし標準原液とする。標準原液をアセトニトリル及び水（2：3）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 0.01 mg/L である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. の検量線でイミドカルブの含量を求める。

8. 確認試験

LC-MS/MS により確認する。

9. 測定条件

(例)

カラム：親水性ビニルポリマーゲル 内径 2.0 mm、長さ 100 mm、粒子径 7 µm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び 50 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液（7：3）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 349、プロダクトイオン 188、162

注入量：5 µL

保持時間の目安：5 分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

イミドカルブを試料（はちみつを除く。）から塩基性条件下アセトニトリルで抽出し、脂質及び脂溶性きょう雑物は *n*-ヘキサンで除き、水及び水溶性きょう雑物は無水硫酸ナトリウムで除いた後、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。

はちみつについては、イミドカルブを試料から塩基性条件下アセトニトリルで抽出すると同時に、塩析により水及び水溶性きょう雑物を除いた後、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① 5. の 1) において、残留物をアセトニトリル及び水 (2:3) 混液に溶解したものに *n*-ヘキサンを積層して遠心分離し、アセトニトリル-水層を試験溶液とする操作は、脂肪等の脂質を多く含む試料では脱脂が不十分な場合があるので、脂質の除去のために実施している。また、毎分 13,000 回転の高速で遠心することにより、脂質等の浮遊物の除去効果が高くなるが、試験法の性能に影響がないことが確認できれば、他の条件 (毎分 3,000 回転等) に変更することも可能である。
- ② 残留物をアセトニトリル及び水 (2:3) 混液に溶解する際には、超音波処理をしながら溶解すると良い。
- ③ イミドカルブの 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 349、プロダクトイオン 188
定性イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 349、プロダクトイオン 162
- ④ 試験法開発時に検討した食品 : 牛の筋肉・脂肪・肝臓・腎臓、鶏卵、牛乳、はちみつ、うなぎ (蒲焼き)、さけ及びしじみ

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

スピネトラム試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

スピネトラム-J
スピネトラム-L

2. 適用食品

農産物

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。

シクロヘキシルシリル化シリカゲルカラム（500 mg） 内径8～9 mmのポリエチレン製のカラム管に、シクロヘキシルシリル化シリカゲル500 mgを充填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。

スピネトラム-J標準品 本品はスピネトラム-J 95%以上を含む。

スピネトラム-L標準品 本品はスピネトラム-L 90%以上を含む。

5. 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、30分間放置する。これに1 vol%ギ酸2 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、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に2 mLを分取し、アセトン2 mL及び水20 mLを加える。

② 果実及び野菜の場合

試料20.0 gに1 vol%ギ酸2 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、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に1 mLを分取し、アセトン3 mL及び水20 mLを加える。

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1 vol%ギ酸2 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、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に4 mLを分取し、水20 mLを加える。

2) 精製

シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）にアセトニトリル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、アセトニトリル20 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及びアンモニア水（49：1）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。この残留物をアセトニトリル及び水（1：1）混液に溶解し、正確に4 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

スピネトラム-J標準品及びスピネトラム-L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。各標準原液を適宜混合してアセトニトリル及び水（1：1）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0.00025 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でスピネトラム-J及びスピネトラム-L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°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（17：3）混液

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (*m/z*)

スピネトラム-J：プリカーサーイオン 749、プロダクトイオン 142、98

スピネトラム-L：プリカーサーイオン 761、プロダクトイオン 142、98

注入量：10 µL

保持時間の目安

スピネトラム-J：12分

スピネトラム-L：14分

10. 定量限界

スピネトラム-J：0.01 mg/kg

スピネトラム-L：0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

スピネトラム-J及びスピネトラム-Lを試料からギ酸酸性下でアセトン抽出し、シクロヘキシ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。なお、スピネトラムは、スピネトラム-J及びスピネトラム-Lのそれぞれについて定量を行い、両者の含量の和を分析値とする。

2) 注意点

① スピネトラム-J及びスピネトラム-L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。

スピネトラム-J

定量イオン (*m/z*)：プリカーサーイオン 749、プロダクトイオン 142

定性イオン (*m/z*)：プリカーサーイオン 749、プロダクトイオン 98

スピネトラム-L

定量イオン (*m/z*)：プリカーサーイオン 761、プロダクトイオン 142

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 761、プロダクトイオン 98

- ② スピネトラム-L標準品については、試験法開発時に入手可能であった標準品の純度規格が90%以上であったため、4. では「スピネトラム-L標準品 本品はスピネトラム-L 90%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のが望ましい。
- ③ 試験法開発時に検討した食品：玄米、大豆、らっかせい、ほうれんそう、キャベツ、ばいれしょ、オレンジ、りんご、メロン及び茶

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

テフリトリオン及びメソトリオン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
テフリトリオン	テフリトリオン
メソトリオン	メソトリオン

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）

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を充填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。

テフリトリオン標準品 本品はテフリトリオン98%以上を含む。

メソトリオン標準品 本品はメソトリオン98%以上を含む。

5. 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、30分間放置する。これにアセトニトリル100 mLを加えて
ホモジナイズした後、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とする。この溶液から正確に10 mLを分取し、水10 mLを加えた後、40℃以
下で約10 mLまで濃縮する。

② 果実及び野菜の場合

試料20.0 gにアセトニトリル100 mLを加えて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とする。この溶液から正確に
5 mLを分取し、水10 mLを加えた後、40℃以下で約10 mLまで濃縮する。

③ 茶の場合

試料5.00 gに水20 mLを加え、30分間放置する。これにアセトニトリル100 mLを加えて
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とする。この溶液から正確に20 mLを分取し、水10 mLを加えた後、40℃以
下で約10 mLまで濃縮する。

2) 精製

① 茶以外の場合

a スチレンジビニルベンゼン共重合体カラムクロマトグラフィー

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム（500 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。このカラムに1)で得られた溶液を注入し、

さらに、水5 mLを注入し、各流出液は捨てる。次いで、水及びアセトニトリル (1 : 1) 混液10 mLを注入し、溶出液を採る。

b 強塩基性陰イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィー

強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラム (500 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。このカラムにaで得られた溶液を注入し、さらに、アセトニトリル5 mLを注入し、各流出液は捨てる。次いで、酢酸及びアセトニトリル (1 : 50) 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0.1 vol%酢酸及びメタノール (1 : 1) 混液に溶かし、正確に2.5 mLとしたものを試験溶液とする。

② 茶の場合

a スチレンジビニルベンゼン共重合体カラムクロマトグラフィー

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム (500 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。このカラムに1)で得られた溶液を注入し、さらに、水5 mLを注入し、各流出液は捨てる。次いで、水及びアセトニトリル (1 : 1) 混液10 mLを注入し、溶出液を採る。

b 強塩基性陰イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィー

強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラム (500 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。このカラムにaで得られた溶液を注入し、さらに、アセトニトリル5 mLを注入し、各流出液は捨てる。次いで、酢酸及びアセトニトリル (1 : 50) 混液10 mLを注入し、溶出液を採る。

c ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

ベンゼンスルホンプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) に酢酸及びアセトニトリル (1 : 50) 混液5 mLを注入し、流出液を捨てる。このカラムにbで得られた溶液を注入し、さらに酢酸及びアセトニトリル (1 : 50) 混液5 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0.1 vol%酢酸及びメタノール (1 : 1) 混液に溶解し、正確に2.5 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

1) テフリトリオン

テフリトリオン標準品の0.1 vol%酢酸及びメタノール (1 : 1) 混液の溶液を数点調製し、それぞれを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。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。

2) メソトリオン

メソトリオン標準品の0.1 vol%酢酸及びメタノール (1 : 1) 混液の溶液を数点調製し、それぞれを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。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。

7. 定量

1) テフリトリオン

試験溶液をLC-MSに注入し、6. の1) の検量線でテフリトリオンの含量を求める。

2) メソトリオン

試験溶液をLC-MSに注入し、6. の2) の検量線でメソトリオンの含量を求める。

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)

1) テフリトリオン

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：0.1 vol%酢酸・メタノール溶液及び0.1 vol%酢酸 (9 : 11) 混液

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (m/z) : 445、443

注入量：10 μL

保持時間の目安：25分

2) メソトリオン

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：0.1 vol%酢酸・メタノール溶液及び0.1 vol%酢酸 (1 : 3) 混液

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (m/z) : 340

注入量：5 μL

保持時間の目安：26分

10. 定量限界

テフリトリオン：0.01 mg/kg

メソトリオン：0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

テフリトリオン及びメソトリオンを試料からアセトニトリルで抽出し、スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム及び強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラムで精製する。茶以外はそのまま、茶はさら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で精製し、LC-MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① 茶以外の試料について精製が不足する場合は、5. の2) の② のcを参照し、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 (1,000 mg) による精製を追加するとよい。
- ② テフリトリオンの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) : 443
定性イオン (m/z) : 445
- ③ LC-MS/MS測定を行う場合の主なイオンの例を以下に示す。
 - a テフリトリオン
イオン化モード：ESI (+)
主なイオン (m/z) : プリカーサーイオン 443、プロダクトイオン 341
 - b メソトリオン
イオン化モード：ESI (-)
主なイオン (m/z) : プリカーサーイオン 338、プロダクトイオン 291
- ④ 試験法開発時に検討した食品：玄米、大豆、ごま、ばれいしょ、ほうれんそう、キャベツ、りんご、オレンジ、トマト及び茶

12. 参考文献
なし

13. 類型
C

1. 分析対象化合物

メタフルミゾン (*E*-異性体)

メタフルミゾン (*Z*-異性体)

p- [*m*- (トリフルオロメチル) フェナシル] ベンズニトリル (以下「メタフルミゾン代謝物」という。)

2. 適用食品

農産物

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。

メタフルミゾン (*E*-異性体) 標準品 本品はメタフルミゾン *E* 体 98%以上を含む。

メタフルミゾン (*Z*-異性体) 標準品 本品はメタフルミゾン *Z* 体 98%以上を含む。

メタフルミゾン代謝物標準品 本品はメタフルミゾン代謝物 98%以上を含む。

5. 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、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、アセトンを加えて正確に 200 mL とする。この溶液から正確に 20 mL を分取し、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 100 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 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 : 4) 混液 2 mL を加えて溶かす。

② 果実、野菜及び茶の場合

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 を加えて 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、アセトンを加えて正確に 200 mL とする。この溶液から果実及び野菜の場合は正確に 10 mL (茶の場合は正確に 40 mL) を分取し、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 100 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 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、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 : 4) 混液 2 mL を加えて溶かす。

2) 精製

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (910 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 10 mL

を注入し、流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液を注入した後、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 4) 混液 15 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。

6. 検量線の作成

メタフルミゾン (*E*-異性体) 標準品、メタフルミゾン (*Z*-異性体) 標準品及びメタフルミゾン代謝物標準品をそれぞれアセトニトリルに溶解して 1 mg/mL 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 に相当する試験溶液中濃度は、メタフルミゾン (*E*-異性体)、メタフルミゾン (*Z*-異性体) 及びメタフルミゾン代謝物はいずれも 0.002 mg/L である。なお、メタフルミゾン代謝物については、メタフルミゾンに換算した値である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. の検量線でメタフルミゾン (*E*-異性体)、メタフルミゾン (*Z*-異性体) 及びメタフルミゾン代謝物の含量を求める。メタフルミゾン代謝物を含むメタフルミゾンの含量を求める場合には、次式により求める。

メタフルミゾン (メタフルミゾン代謝物を含む。) の含量 (ppm) = $A+B+C \times 1.751$

A : メタフルミゾン (*E*-異性体) の含量 (ppm)

B : メタフルミゾン (*Z*-異性体) の含量 (ppm)

C : メタフルミゾン代謝物の含量 (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 2.1 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%ギ酸の混液 (1 : 1) から (4 : 1) までの濃度勾配を 15 分間で行い、さらに (99 : 1) までの濃度勾配を 1 分間で行い (99 : 1) で 5 分間保持する。

イオン化モード : ESI (-)

主なイオン (*m/z*)

メタフルミゾン (*E*-異性体) 及びメタフルミゾン (*Z*-異性体) : プリカーサーイオン 505、
プロダクトイオン 302、117

メタフルミゾン代謝物 : プリカーサーイオン 288、プロダクトイオン 142、114

注入量 : 5 μL

保持時間の目安

メタフルミゾン (*E*-異性体) : 15 分

メタフルミゾン (*Z*-異性体) : 14 分

メタフルミゾン代謝物 : 9 分

10. 定量限界

各化合物 0.01 mg/kg (メタフルミゾン代謝物はメタフルミゾン換算)

11. 留意事項

1) 試験法の概要

メタフルミゾン (*E*-異性体)、メタフルミゾン (*Z*-異性体) 及びメタフルミゾン代謝物を試料からアセトンで抽出し、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1:4) 混液に転溶する。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し、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。なお、メタフルミゾン (*E*-異性体)、メタフルミゾン (*Z*-異性体) 及びメタフルミゾン代謝物のそれぞれについて定量を行い、メタフルミゾン代謝物を含むメタフルミゾンの含量を求める場合には、メタフルミゾン代謝物に換算係数を乗じてメタフルミゾンの含量に換算し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

- ① メタフルミゾン (*E*-異性体)、メタフルミゾン (*Z*-異性体) 及びメタフルミゾン代謝物の 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。

メタフルミゾン (*E*-異性体) 及びメタフルミゾン (*Z*-異性体)

定量イオン (m/z): プリカーサーイオン 505、プロダクトイオン 302

定性イオン (m/z): プリカーサーイオン 505、プロダクトイオン 117

メタフルミゾン代謝物

定量イオン (m/z): プリカーサーイオン 288、プロダクトイオン 142

定性イオン (m/z): プリカーサーイオン 288、プロダクトイオン 114

- ② 試験法開発時に検討した食品: 玄米、大豆、らっかせい、ばれいしょ、キャベツ、ほうれんそう、オレンジ、りんご、茶及びコリアンダーの種子

12. 参考文献

なし

13. 類型

C