

健 生 発 0326 第 6 号
令 和 6 年 3 月 26 日

各

都道府県知事
保健所設置市長
特別区長

 殿

厚生労働省健康・生活衛生局長
(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について」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号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知）別添について、下記のとおり改正します。

については、関係者への周知をお願いするとともに、その運用に遺漏なきようお取り計らい願います。

記

- 1 目次を別紙1のとおり改める。
- 2 「第3章 個別試験法」に、別紙2のとおり次の試験法に係る記載を加える。
 - ・アラクロール試験法（畜産物）
 - ・イソキサフルトール試験法（農産物）
 - ・ガミスロマイシン試験法（畜産物）
 - ・プロピリスルフロン試験法（農産物）
 - ・プロピリスルフロン試験法（水産物）
- 3 「第3章 個別試験法」の「イソキサフルトール試験法（畜産物）」について、別紙3のとおり改める。
- 4 「第3章 個別試験法」の「フルベンダゾール試験法（畜産物）」について、別紙4のとおり改める。

- 5 「第3章 個別試験法」の「イプロジオン試験法（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）」及び「グルホシネート試験法（農産物）」について、別紙5、6及び7に差し替える。

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）
- ・LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅲ（畜水産物）
- ・LC/MS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）
- ・2,4-D、2,4-DB及びクロプロップ試験法（畜水産物）
- ・2,2-DPA試験法（農産物）
- ・DCIP試験法（農産物）
- ・DBEDC試験法（農産物）
- ・EPN、アニロホス、イサゾホス、イプロベンホス、エチオン、エディフェンホス、エトプロホス、エトリムホス、カズサホス、キナルホス、クロルピリホス、クロルピリホスメチル、クロルフェンビンホス、シアノホス、ジスルホトン、ジメチルビンホス、ジメトエート、スルプロホス、ダイアジノン、チオメトン、テトラクロルビンホス、テルブホス、トリアゾホス、トリブホス、トルクロホスメチル、パラチオン、パラチオンメチル、ピペロホス、ピラクロホス、ピラゾホス、ピリダフェンチオン、ピリミホスメチル、フェナミホス、フェントロチオン、フェンスルホチオン、フェンチオン、フェントエート、ブタミホス、プロチオホス、プロパホス、プロフェノホス、プロモホス、ベンスリド、ホキシム、ホサロン、ホスチアゼート、ホスファミドン、ホスメット、ホレート、マラチオン、メカルバム、メタクリホス、メチダチオン及びメビンホス試験法（農産物）
- ・EPTC試験法（農産物）
- ・EPTC試験法（畜水産物）
- ・MCPA及びジカンバ試験法（農産物）

- S e c ーブチルアミン試験法（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）
- アザペロン試験法（畜水産物）
- 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）
- アシュラム試験法（畜産物）
- 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）
- アセトクロール試験法（農産物）
- アセフェート、オメトエート及びメタミドホス試験法（農産物）
- アゾキシストロビン試験法（農産物）
- アゾキシストロビン、クミルロン及びシメコナゾール試験法（畜水産物）
- ア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）
- アバメクチン試験法（農産物）
- アバメクチン試験法（畜産物）
- アビラマイシン試験法（畜産物）
- アミスルブロム試験法（農産物）
- アミトラズ試験法（農産物）
- アミトラズ試験法（畜産物）
- 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、メフェナセツト、メプロニル及びレナシル試験法（農産物）
- アラクロール試験法（畜産物）
- 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）
- アルベンダゾール試験法（畜産物）
- 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）
- アルベンダゾール及びチア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、ピラゾスルフロリエチル、
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）

・イソキサフルトール試験法（農産物）

- ・イソキサフルトール試験法（畜産物）
- ・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）
- ・イプフェンカルバゾン試験法（農産物）
- ・イプフェンカルバゾン試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・イマゾ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）
- ・イミダクロプリド試験法（畜水産物）
- ・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（畜水産物）
- ・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）
- ・エトフメセート試験法（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）
- ・エマメクチン安息香酸塩試験法（畜水産物）

- ・塩酸ホルメタネート試験法（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）
- ・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、フルメキン及びマルボフロキサシン試験法（はちみつ）
- ・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）
- ・オキシシン銅試験法（農産物）
- ・オキス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）
- ・カスガマイシン試験法（農産物）
- ・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）
- ・**ガミスロマイシン試験法（畜産物）**
- ・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（農産物及び畜水産物）
- ・カルボキシシン試験法（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）
- ・キンクロラック試験法（畜産物）
- ・クミルロン試験法（農産物）
- ・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）
- ・クレソキシムメチル試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・クロルメコート試験法（畜産物）
- ・ゲンタマイシン試験法（畜水産物）
- ・酢酸イソ吉草酸タイロシン試験法（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）
- ・シクロプロトリン試験法（農産物）
- ・シクロプロトリン試験法（水産物）
- ・ジクロベニル試験法（魚介類）
- ・ジクロベニル及びフルオピコリド試験法（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）
- ・ジフェニルアミン試験法（農産物）
- ・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）
- ・シフルメトフェン試験法（畜産物）
- ・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）
- ・シラフルオフエン試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・スピネトラム試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・スピロテトラマト試験法（農産物）
- ・スピロテトラマト試験法（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
ノメトキシシ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）
 - ・タイロシン試験法（畜産物）
 - ・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）
 - ・デメトン-S-メチル及びオキシデメトンメチル試験法（農産物）
 - ・テレフタル酸銅試験法（農産物）
 - ・ドキシサイクリン試験法（畜水産物）
 - ・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）
 - ・トリクラベンダゾール試験法（畜産物）
 - ・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）
 - ・トリネキサパッケチル試験法（農産物）
 - ・トリフルミゾール試験法（農産物）
 - ・トリフロキシストロピン試験法（畜水産物）
 - ・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）
 - ・ナラシン試験法（畜産物）
 - ・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）
- ・ノルフルラゾン試験法（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）
- ・ピコザマイシン試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・ピラスルホトール試験法（農産物）
- ・ピラスルホトール試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・ピンドン試験法（農産物）
- ・ピンドン試験法（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）
- ・フィプロニル試験法（畜産物）
- ・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）
- ・フェンチオン試験法（農産物）
- ・フェンチオン試験法（畜水産物）
- ・フェントラザミド試験法（農産物）
- ・フェントラザミド試験法（畜水産物）
- ・フェンピラザミン試験法（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）
- ・フラボフォスフォリボール試験法（畜産物）
- ・フラメトピル試験法（農産物）
- ・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）
- ・フルアジナム試験法（農産物）
- ・フルアジホップブチル試験法（農産物）
- ・フルエンスルホン試験法（農産物）
- ・フルオピコリド試験法（農産物）
- ・フルオピコリド試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・フルチアニル試験法（農産物）
- ・フルトラニル試験法（畜産物）
- ・フルフェナセット試験法（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（畜産物）
- ・フルミオキサジン試験法（農産物）
- ・フルメツラム試験法（畜水産物）
- ・フルメトリン試験法（畜産物）
- ・プレドニゾロン試験法（畜産物）
- ・プロクロラズ試験法（農産物）
- ・プロシミドン試験法（農産物）
- ・プロチオコナゾール試験法（畜産物）
- ・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）
- ・プロパモカルブ試験法（畜水産物）
- ・プロヒドロジャスモン試験法（農産物）
- ・プロピリスルフロン試験法（農産物）
- ・プロピリスルフロン試験法（水産物）
- ・プロヘキサジオンカルシウム塩試験法（農産物）
- ・プロポキシカルバゾン試験法（農産物）
- ・プロポキシカルバゾン試験法（畜産物）
- ・フロルフェニコール試験法（畜水産物）
- ・ヘキサジノン試験法（畜産物）
- ・ヘキシチアゾクス試験法（農産物）
- ・ヘキシチアゾクス試験法（畜産物）
- ・ベダプロフェン試験法（畜水産物）
- ・ペンシクロン試験法（農産物）
- ・ベンジルアデニン試験法（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）
- ・ホスホマイシン試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・メタゾスルフロン試験法（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）
- ・メトブレン試験法（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）
- ・メベンダゾール試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・ラサロシド試験法（畜産物）
- ・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
- ・ イプロニダゾール、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
- ・ 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
- ・ クレブテロール試験法
- ・ クロラムフェニコール試験法
- ・ クロルスロン試験法
- ・ クロルプロマジン試験法
- ・ ゲンチアナバイオレット試験法
- ・ 酢酸トレンボロン試験法
- ・ 酢酸メレンゲステロール試験法
- ・ ジエチルスチルベストロール試験法
- ・ ダミノジッド試験法
- ・ デキサメタゾン及びベタメタゾン試験法
- ・ 二臭化エチレン試験法
- ・ ニタルソン及びロキサルソン試験法
- ・ 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
- ・ ニフルスチレン酸ナトリウム試験法
- ・ パラチオン試験法
- ・ プロチゾラム試験法
- ・ プロファム試験法
- ・ マラカイトグリーン試験法

アラクロール試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

アラクロール

加水分解によりDEA【2,6-ジエチルアニリン】へ変換される代謝物

加水分解によりHEEA【2-エチル-6-(1-ヒドロキシエチル)アニリン】へ変換される代謝物

2. 適用食品

畜産物

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）

水蒸気蒸留装置（本装置はガラス製であり、その概略は次の図による。）

A：1,000 mLの丸底フラスコ（水蒸気発生用）

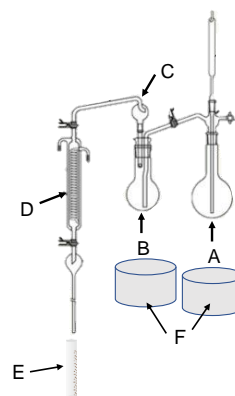
B：500 mLの丸底フラスコ（蒸留用）

C：蒸留トラップ

D：冷却管

E：100 mLのメスシリンダー

F：マントルヒーター



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。

窒素含有極性基修飾メタクリレート-スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム（200 mg） 内径12～13 mmポリプロピレン製のカラム管に、窒素含有極性基修飾メタクリレート-スチレンジビニルベンゼン共重合体200 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。

アラクロール標準品 本品はアラクロール95%以上を含む。

DEA標準品 本品はDEA95%以上を含む。

HEEA標準品 本品はHEEA95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 gにメタノール50 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分3,000回転で10分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にメタノール25 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様に遠心分離し、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせ、メタノールで正確に100 mLとする。この溶液から正確に50 mLを丸底フラスコ（蒸留用）に分取し、40℃以下で約3 mLに濃縮する。

2) 加水分解

1) で得られた濃縮液に50 w/v%水酸化ナトリウム溶液50 mLを加える。これに消泡用シリコン1~2滴及び沸騰石を加えた後、丸底フラスコ（蒸留用）を直ちに蒸留装置に取り付ける。別に、冷却管を10℃以下に冷却し、流止め連結管の下端を水（捕集液）10 mLを入れた100 mLのメスシリンダー（氷冷）の液中に浸す。また、丸底フラスコ（水蒸気発生用）に水1,000 mLを入れ、沸騰石を加えた後、水蒸気蒸留装置に取り付けて100℃に加熱しておく。丸底フラスコ（蒸留用）を100℃に加熱し、30分間加水分解を行った後に水蒸気蒸留を開始する。留液が75 mL（捕集液と合わせた液量）になるまで水蒸気蒸留し、留液が中性であることをpH試験紙で確認する。捕集した留液に2 vol%トリエチルアミンを加え、100 mLとする。

3) 精製

窒素含有極性基修飾メタクリレート-スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム（200 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2) 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。次いで、アセトニトリル10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で約1 mLに濃縮し、水及びメタノール（3：2）混液で正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

DEA標準品及びHEEA標準品をそれぞれメタノールに溶かして標準原液を調製する。各標準原液を適宜混合して水及びメタノール（3：2）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0.002 mg/kg（アラクロール換算）に相当する試験溶液中の濃度は0.001 mg/L（アラクロール換算）である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でDEA及びHEEAの含量を求める。加水分解によりDEA及びHEEAに変換される代謝物を含むアラクロールの含量を求める場合には、次式により求める。

アラクロール（加水分解によりDEA及びHEEAに変換される代謝物を含む。）の含量（ppm）= $A \times 1.808 + B \times 1.633$

A：DEAの含量（ppm）

B：HEEA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3 μm

カラム温度：40℃

移動相：0.1 vol%ギ酸及び0.1 vol%ギ酸・メタノール溶液の混液（11：9）で1分間保持した後、（1：49）

までの濃度勾配を13分間で行う。

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (m/z)

DEA：プリカーサーイオン 150、プロダクトイオン105、77

HEEA：プリカーサーイオン 166、プロダクトイオン148、118

注入量：5 μ L

保持時間の目安：

DEA：8分

HEEA：4分

10. 定量限界

アラクロール（加水分解によりDEAへ変換。）：0.002 mg/kg（アラクロール換算）

DEA（加水分解によりDEAへ変換される代謝物を含む。）：0.002 mg/kg（アラクロール換算）

HEEA（加水分解によりHEEAへ変換される代謝物を含む。）：0.002 mg/kg（アラクロール換算）

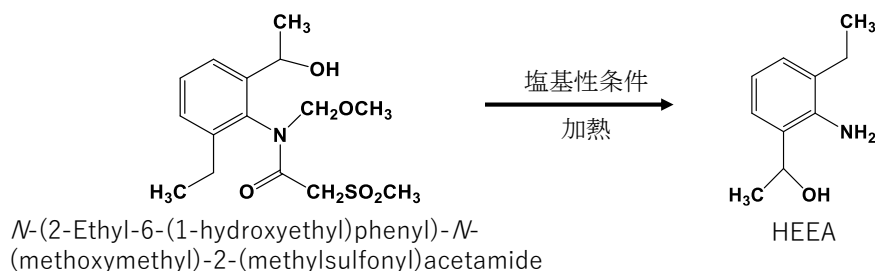
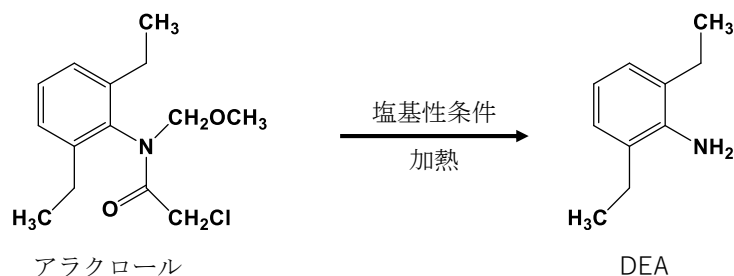
11. 留意事項

1) 試験法の概要

アラクロール及びその代謝物を試料からメタノールで抽出し、水酸化ナトリウム溶液中で加熱してDEA及びHEEAに加水分解した後、水蒸気蒸留によりDEA及びHEEAを捕集する。窒素含有極性基修飾メタクリレート-スチレンジビニルベンゼン共重合体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、DEA及びHEEAのそれぞれについて定量を行い、水酸化ナトリウム溶液中でDEA及びHEEAに加水分解される代謝物を含むアラクロールの含量を求める場合には、DEA及びHEEAの含量にそれぞれ換算係数を乗じてアラクロールの含量に換算し、これらの和を分析値とする。DEAの含量には、アラクロール及び加水分解によりDEAへ変換される代謝物が含まれる。

2) 注意点

- ① 開発時に用いた遠心分離機における毎分3,000回転は、約 $2,130 \times g$ である。
- ② アラクロール標準品を用いて添加回収試験を実施し、DEAへの変換が十分に行われていることを確認すること。アラクロールからDEAへ十分に変換すれば、HEEAへの変換も行われると考えられる。



DEA 及び HEHA への変換

N-(2-Ethyl-6-(1-hydroxyethyl)phenyl)-*N*-(methoxymethyl)-2-(methylsulfonyl)acetamide は、HEEA に変換される代謝物の一例として示した。

- ③ 捕集液に流止め連結管の先端（流止め連絡管の先端が破損しないように先端にシリコンチューブを付け、その先にガラス管を接続する）が浸るようにする。蒸留速度は約5～10 mL/分とする。
- ④ LC-MS/MS測定では、試料中の夾雑成分のキャリーオーバーの影響を軽減させるため、DEAが溶出した後に移動相のメタノール濃度を上げてカラムを洗浄すると良い。
- ⑤ 蒸留に用いる丸底フラスコ（蒸留用）は、50 w/v%水酸化ナトリウム溶液を用いるため、使用前にヒビや破損がないか確認する。また、繰り返し使用することによりガラスが劣化するため、ヒビや破損が無くても10回程度で必要に応じて新しいものに交換する。
- ⑥ 留液が中性であることをpH試験紙で確認するが、塩基性になった場合、分析対象化合物の捕集が不十分になる可能性があるため、再試験する必要がある。
- ⑦ DEAは揮発しやすいため、5. 試験溶液の調製の「2）加水分解」における加水分解操作及び水蒸気蒸留操作では、操作中の揮散に注意する。また、実験器具の汚染にも注意する。
- ⑧ DEA及びHEEA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。

DEA

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 150、プロダクトイオン 105

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 150、プロダクトイオン 77

HEEA

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 166、プロダクトイオン 148

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 166、プロダクトイオン 118

- ⑨ 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳、鶏卵

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

イソキサフルトール試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

イソキサフルトール

2-シアノ-3-シクロプロピル-4-(2-メチルスルホニル-4-トリフルオロメチルフェニル)プロパン-1,3-ジオン（以下「代謝物B」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。

イソキサフルトール標準品 本品はイソキサフルトール95%以上を含む。

代謝物B標準品 本品は代謝物B 95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類及び豆類の場合

試料10.0 gに2 mol/L塩酸20 gを加えて、30分間放置する。これにアセトニトリル50 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30 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、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4 mLを分取し、0.1 mol/L塩酸16 mL及び塩化ナトリウム2 gを加え、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（3：7）混液20 mLを加えて振とう抽出した後、毎分3,000回転で5分間遠心分離し、有機層を採る。水層に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（3：7）混液20 mLを加えて振とう抽出した後、上記と同様に遠心分離し、得られた有機層を合わせ、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸、水及びメタノール（1：20：30）混液2 mLを加えて溶かす。

② とうもろこし（未成熟）及びさとうきびの場合

試料を正確に量り、重量比で1/2量の2 mol/L塩酸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る。これにアセトニトリル50 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30 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様に吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、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4 mLを分取し、0.1 mol/L塩酸16 mL及び塩化ナトリウム2 gを加え、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（3：7）混液20 mLを加えて振とう抽出した後、毎分3,000回転で5分間遠心分離し、有機層を採る。水層に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（3：7）混液20 mLを加えて振とう抽出した後、上記と同様に遠心分離し、得られた有機層を合わせ、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。こ

の残留物に酢酸、水及びメタノール（1：20：30）混液2 mLを加えて溶かす。

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（500 mg）に、メタノール5 mL、次いで酢酸、水及びメタノール（1：20：30）混液5 mLを注入し、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た後、酢酸、水及びメタノール（1：20：30）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（1：5：45）混液20 mLを注入し、溶出液を40°C以下で約1 mLに濃縮し、0.05 vol%酢酸及び0.05 vol%酢酸・アセトニトリル溶液（7：3）混液で正確に4 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

イソキサフルトール標準品は1 vol%酢酸・アセトニトリル溶液に、代謝物B標準品は、アセトニトリルに溶かして標準原液を調製する。各標準原液を適宜混合して0.05 vol%酢酸及び0.05 vol%酢酸・アセトニトリル溶液（7：3）混液で適宜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、穀類及び豆類の場合は各化合物0.001 mg/L、とうもろこし（未成熟）及びさとうきびの場合には0.002 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でイソキサフルトール及び代謝物Bの含量を求める。代謝物Bを含むイソキサフルトールの含量を求める場合には、次式により求める。

イソキサフルトール（代謝物Bを含む）の含量（ppm）= A + B × 1.000

A：イソキサフルトールの含量（ppm）

B：代謝物B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：0.05 vol%酢酸及び0.05 vol%酢酸・アセトニトリル溶液（7：3）混液で5分間保持した後、（7：3）から（9：11）までの濃度勾配を15分間で行う。

イオン化モード：ESI（-）

主なイオン（*m/z*）

イソキサフルトール：プリカーサーイオン358、プロダクトイオン278、79

代謝物B：プリカーサーイオン358、プロダクトイオン278、79

注入量：5 μL

保持時間の目安

イソキサフルトール：19分

代謝物B：5分

10. 定量限界

各化合物0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

イソキサフルトール及び代謝物Bを2 mol/L塩酸で磨砕均一化した試料から、アセトニトリルで抽出し、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（3：7）混液に転溶した後、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、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。なお、イソキサフルトール及び代謝物Bのそれぞれについて定量を行い、代謝物Bを含むイソキサフルトールの含量を求める場合には、代謝物Bの含量に換算係数を乗じてイソキサフルトールの含量に換算し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

- ① イソキサフルトール及び代謝物Bは光に対して不安定なため、褐色のガラス器具を使用するなど、可能な限り遮光下で操作する。
- ② 開発時に用いた遠心分離機における毎分3,000回転は、約1,930×gである。
- ③ カラムからの溶出液を、減圧濃縮後に窒素ガスを吹き付けて溶媒を完全に除去すると、代謝物Bが損失することがある。このため、溶出液の濃縮操作においては1 mL程度残すこと。
- ④ イソキサフルトール及び代謝物B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。

イソキサフルトール

定量イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 358、プロダクトイオン 79

定性イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 358、プロダクトイオン 278

代謝物B

定量イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 358、プロダクトイオン 79

定性イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 358、プロダクトイオン 278

- ⑤ 試験法開発時に検討した食品：大豆、ひよこ豆、とうもろこし（乾燥子実、未成熟）、さとうきび

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

ガミスロマイシン試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

ガミスロマイシン

2. 適用食品

畜産物

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。

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（150 mg） 内径12～13 mmのポリエチレン製のカラム管に、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体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。

5 mmol/L酢酸アンモニウム溶液（pH 4.0） 酢酸アンモニウム0.39 gを量り採り水約950 mLに溶解し、酢酸を用いてpH 4.0に調整した後、水を加えて1 Lとする。

ガミスロマイシン標準品 本品はガミスロマイシン95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 g（脂肪の場合は5.00 g）にアセトン50 mLを加え、ホモジナイズする。毎分4,000回転で10分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にアセトン25 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様に遠心分離し、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせ、アセトンを加えて正確に100 mLとする。この溶液から正確に5 mLを分取し、酢酸12.5 μ L、1 mol/L酢酸アンモニウム溶液25 μ Lを加えてよく混合する。

2) 精製

スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（150 mg）にメタノール10 mL及びアセトン10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに、1) で得られた溶液を注入した後、水10 mL、メタノール10 mL及びアセトニトリル10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及びアンモニア水（20 : 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5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液に溶かし、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

ガミスロマイシン標準品の5 mmol/L酢酸アンモニウム・メタノール溶液を数点調製し、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筋肉及び肝臓にあつては0.005 mg/L、脂肪にあつては0.0025 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でガミスロマイシンの含量を求める。

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100 mm、粒子径3 µm

カラム温度：40°C

移動相：5 mmol/L酢酸アンモニウム溶液 (pH 4.0) 及び5 mmol/L酢酸アンモニウム・メタノール溶液 (9 : 1) で1分間保持した後、(1 : 19) までの濃度勾配を8分間で行う。

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (m/z)：プリカーサーイオン778、プロダクトイオン620、158、116、83

注入量：5 µL

保持時間の目安：7分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

ガミスロマイシンを試料からアセトンで抽出し、スルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-*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/MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

① ガミスロマイシンの測定で、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 778、プロダクトイオン 620

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 778、プロダクトイオン 158、116、83

② ガミスロマイシンは、溶解する溶媒によってはガラス容器に吸着する。このため、可能な限りポリプロピレン製やポリテトラフルオロエチレン製などプラスチック製の容器を用いるのが望ましい。

③ 開発時に用いた遠心分離機における毎分4,000回転は、約3,430×gである。

④ 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉、豚の肝臓、牛の脂肪

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

プロピリスルフロンの試験法（水産物）

1. 分析対象化合物

プロピリスルフィン

2. 適用食品

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。

プロピリスルフィン標準品 本品はプロピリスルフィン95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 gにアセトン及び*n*-ヘキサン（1：2）混液70 mL、1 mol/L塩酸6 mL及び塩化ナトリウム8 gを加え、ホモジナイズする。毎分3,000回転で5分間遠心分離し、有機層を採る。残留物及び水層に、アセトン及び*n*-ヘキサン（1：2）混液30 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様に遠心分離し、有機層を採る。得られた有機層を合わせ、アセトン及び*n*-ヘキサン（1：2）混液を加えて正確に100 mLとする。この溶液から正確に10 mLを分取し、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ずつで2回振とう抽出し、抽出液を合わせる。

2) 精製

① 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）にアセトン及びアセトニトリル各10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに1)で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル5 mLを注入し、さらにアセトン10 mLを注入し、各流出液は捨てる。次いで、1 vol%ギ酸・アセトン溶液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。この残留物にアセトニトリル及び水（3：7）混液10 mLを加えて溶かす。

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で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及び水（3：2）混液10 mLを注入し、溶出液を採り、アセトニトリル及び水（3：2）混液を加えて正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

プロピリスルフロンの標準品をアセトンに溶解して標準原液とする。標準原液をアセトニトリル及び水(3:2)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0.001 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6.の検量線でプロピリスルフロンの含量を求める。

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100 mm、粒子径3 µm

カラム温度：40℃

移動相：0.01 vol%酢酸及び0.01 vol%酢酸・アセトニトリル溶液(7:3)混液で0.5分間保持した後、(1:

4)までの濃度勾配を2.5分間で行い、(1:4)で6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 456、プロダクトイオン 261、196

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

プロピリスルフロンを試料から塩酸性下、飽和量の塩化ナトリウムを添加してアセトン及び*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。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/MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① 開発時に用いた遠心分離機における毎分3,000回転は、約1,710×gである。
- ② エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム(500 mg)及びオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム(500 mg)は、内径12~13 mmのカラムも使用可能である。
- ③ マトリックスの影響によりオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム溶出状況が変動する可

能性がある。

④ プロピリスルフロンの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 456、プロダクトイオン 261

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 456、プロダクトイオン 196

⑤ 試験法開発時に検討した食品：うなぎ、しじみ

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

プロピリスルフロンの試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

プロピリスルフィン

2. 適用食品

穀類

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。

プロピリスルフィン標準品 本品はプロピリスルフィン95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

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及び1 mol/L塩酸2 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。この溶液から正確に10 mLを分取し、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物に飽和塩化ナトリウム溶液10 mLを加え、酢酸エチル10 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ニトリル10 mLを加えて溶かす。

2) 精製

① 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）にアセトン及びアセトニトリル各10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル5 mL及びアセトン10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、1 vol %ギ酸・アセトン溶液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。この残留物にアセトニトリル及び水（1：4）混液10 mLを加えて溶かす。

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で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及び水（3：2）混液10 mLを注入し、溶出液を採り、アセトニトリル及び水（3：2）混液で正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

プロピリスルフィン標準品をアセトンに溶解して標準原液とする。標準原液をアセトニトリル及び水（3：2）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0.0005 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でプロピリスルフロンの含量を求める。

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100 mm、粒子径3 μm

カラム温度：40℃

移動相：0.01 vol %酢酸及び0.01 vol %酢酸・アセトニトリル溶液（7：3）混液で0.5分間保持した後、（1：4）までの濃度勾配を2.5分間で行い、（1：4）で6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 456、プロダクトイオン 261、196

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

プロピリスルフロンを試料から塩酸酸性下アセトンで抽出し、酢酸エチルに転溶した後、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オクタデシルシリル化シリカゲル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 開発時に用いた遠心分離機における毎分3,000回転は、約1,710×gである。
- ② エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）及びオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）は、内径12~13 mmのカラムも使用可能である。
- ③ 酢酸エチルに転溶する際、エマルジョンが生成した場合は、毎分3,000回転で5分間遠心分離を行うと良い。
- ④ マトリックスの影響によりオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム溶出状況が変動する可能性がある。
- ⑤ プロピリスルフロンの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456、プロダクトイオン261
定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン456、プロダクトイオン196
- ⑥ 試験法開発時に検討した食品：玄米

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

(下線部は変更箇所)

改正後	改正前
<p>イソキサフルトール試験法（畜産物）</p> <p>1. ～ 3. (略)</p> <p>4. 試薬、試液</p> <p>次に示すもの以外は、総則の 3 に示すものを用いる。</p> <p>イソキサフルトール標準品 本品はイソキサフルトール<u>95%</u>以上を含む。</p> <p>代謝物B標準品 本品は代謝物B<u>95%</u>以上を含む。</p> <p>5. ～13. (略)</p>	<p>イソキサフルトール試験法（畜産物）</p> <p>1. ～ 3. (略)</p> <p>4. 試薬、試液</p> <p>次に示すもの以外は、総則の 3 に示すものを用いる。</p> <p>イソキサフルトール標準品 本品はイソキサフルトール<u>98%</u>以上を含む。</p> <p>代謝物B標準品 本品は代謝物B<u>98%</u>以上を含む。</p> <p>5. ～13. (略)</p>

(下線部は変更箇所)

改正後	改正前
<p>フルベンダゾール試験法（畜産物）</p> <p>1. ～3. (略)</p> <p>4. 試薬、試液</p> <p>次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。</p> <p>フルベンダゾール標準品 本品はフルベンダゾール<u>95%</u>以上を含む。</p> <p>代謝物R35475標準品 本品は代謝物R35475 <u>95%</u>以上を含む。</p> <p>9. 測定条件</p> <p>(略)</p> <p>移動相：5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液及び5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液の混液 (<u>3:2</u>) から (1:19) までの濃度勾配を20分間で行う。</p> <p>(略)</p> <p>10. ～13. (略)</p>	<p>フルベンダゾール試験法（畜産物）</p> <p>1. ～3. (略)</p> <p>4. 試薬、試液</p> <p>次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。</p> <p>フルベンダゾール標準品 本品はフルベンダゾール<u>98%</u>以上を含む。</p> <p>代謝物R35475標準品 本品は代謝物R35475 <u>98%</u>以上を含む。</p> <p>9. 測定条件</p> <p>(略)</p> <p>移動相：5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液及び5 mmol/L 酢酸アンモニウム・メタノール溶液の混液 (<u>2:3</u>) から (1:19) までの濃度勾配を20分間で行う。</p> <p>(略)</p> <p>10. ～13. (略)</p>

イプロジオン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

イプロジオン

2. 適用食品

農産物

3. 装置

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-UV）

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。

イプロジオン標準品 本品はイプロジオン95%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

検体を420 μm の標準網ふるいを通して粉砕した後、その20.0 gを量り採る。

これにアセトニトリル100 mLを加え、1時間放置した後、3分間細砕し、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ液を500 mLの分液漏斗(I)に移す。次いでろ紙上の残留物を採り、アセトニトリル100 mLを加え、3分間細砕し、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ液を分液漏斗(I)に合わせる。これにアセトニトリル飽和*n*-ヘキサン50 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移し、40°C以下で約30 mLに濃縮する。

これをあらかじめ10%塩化ナトリウム溶液100 mL及び酢酸エチル100 mLを入れた500 mLの分液漏斗(II)に移し、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を500 mLの分液漏斗(III)に移す。水層に酢酸エチル100 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を分液漏斗(III)に合わせる。これに10%塩化ナトリウム溶液50 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を500 mLの三角フラスコに移す。

これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで酢酸エチル50 mLを用いて上記の三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で酢酸エチルを除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

② 果実、野菜及び抹茶の場合

果実及び野菜の場合は、検体約1 kgを精密に量り、必要に応じ適量の水を量って加え、細切均一化した後、検体20.0 gに相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、検体10.0 gを量り採る。

これにアセトン100 mLを加え、3分間細砕した後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン100 mLを加え、3分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で約50 mLに濃縮する。

これに5 mol/L水酸化ナトリウム溶液を加えてpH 6~7に調整し、あらかじめ10%塩化ナトリウム溶液100 mL及び酢酸エチル100 mLを入れた500 mLの分液漏斗(I)に移す。振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を500 mLの分液漏斗(II)に移す。水層に酢酸エチル100 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を分液漏斗(II)に合わせる。

これに10%塩化ナトリウム溶液50 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を500 mLの三角フラスコに移す。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで酢酸エチル50 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で酢酸エチルを除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

③ 抹茶以外の茶の場合

検体10.0 gを100°Cの水600 mLに浸し、室温で5分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液300 mLを500 mLの三角フラスコ(I)に移す。これにアセトン100 mL及び飽和酢酸鉛溶液2 mLを加え、15分間緩やかに振り混ぜた後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ液を1,000 mLの分液漏斗に移す。次いでアセトン及び水の混液(1:1) 50 mLを用いて三角フラスコ(I)を洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う。洗液を上記の分液漏斗に合わせる。

これに塩化ナトリウム20 g及び*n*-ヘキサン100 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、*n*-ヘキサン層を500 mLの分液漏斗に移す。水層に*n*-ヘキサン100 mLを加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の分液漏斗に合わせる。

これに10%塩化ナトリウム溶液50 mLを加え、振とう機を用いて5分間振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を500 mLの三角フラスコ(II)に移す。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで*n*-ヘキサン50 mLを用いて三角フラスコ(II)を洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗

う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で*n*-ヘキサンを除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

内径20 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10 gを*n*-ヘキサンに懸濁したもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約8 gを入れ、カラムの上端に少量の*n*-ヘキサンが残る程度まで*n*-ヘキサンを流出させる。このカラムに1) 抽出法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(1:1) 100 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン及び*n*-ヘキサンの混液(3:17) 100 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40°C以下でアセトン及び*n*-ヘキサンを除去する。この残留物にアセトニトリルを加えて溶かし、正確に5 mLとして、これを試験溶液とする。

6. 操作法

1) 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

(例)

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル(粒子径5 µm)を用いる。

クロマトグラフ管 内径4.5 mm, 長さ150 mmのステンレス管を用いる。

カラム温度 25°C

検出器 波長230 nmで操作する。

移動相 アセトニトリル及び水の混液(3:2)を用いる。イプロジオンが約9分で流出する流速に調整する。

2) 定量試験

1) 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、イプロジオンについてピーク高法又はピーク面積法により定量を行い、イプロジオンの含量を求める。

7. 定量限界

0.05 mg/kg

8. 参考文献

なし

9. 類型

A

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）

1. 分析対象化合物

ジクワット

パラコート

メピコートクロリド

2. 適用食品

農産物

3. 装置

蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-FL）

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。

ジピクリルアミンナトリウム 純度98.0%以上（乾燥後）の試薬を用いる。

プロピルスルホニルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg） 内径12～13 mmのポリエチレン製のカラム管に、プロピルスルホニルシリル化シリカゲル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。

ヘptaフルオロ-n-酪酸 純度99.0%以上の試薬を用いる。

ジクワット標準品 本品はジクワット95%以上を含む。

パラコート標準品 本品はパラコート95%以上を含む。

メピコートクロリド標準品 本品はメピコートクロリド95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類、豆類、種実類、果実、野菜、ハーブ、抹茶及びホップの場合

穀類、豆類及び種実類の場合は試料10.0 gを量り採る。抹茶及びホップの場合は試料5.00 gを量り採る。果実、野菜及びハーブの場合は試料20.0 gを量り採る。これに水60 mL及び硫酸30 mLを加え、混合する。沸騰石2～3粒及び消泡剤約1 mLを加え、還流冷却器を付けて5時間加熱還流する。放冷後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ紙上の残留物に水50 mLを加えて、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、水を加えて正確に200 mLとする。その20 mL（試料1 g相当、抹茶及びホップの場合は40 mL、果実、野菜及びハーブの場合は10 mL）を正確に採り、12 mol/L水酸化ナトリウム溶液を加えてpH 7に調整する。

② 抹茶以外の茶の場合

試料9.00 gを100℃の水540 mLに浸し、室温で5分間放置した後、ろ過する。冷後、ろ液60 mLを採り、硫酸30 mLを加え、混合する。沸騰石2～3粒及び消泡剤約1 mLを加え、還流冷却器を付けて5時間加熱還流する。放冷後、ガラス繊維ろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ紙上の残留物に水50 mLを加えて、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、水を加えて正確に200 mLとする。その20 mL（試料0.1 g相当）を正確に採り、12 mol/L水酸化ナトリウム溶液を加えてpH 7に調整する。

2) 精製

プロピルスルホニルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）にメタノール10 mL及び水10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液を注入した後、流出液は捨てる。さらに水10 mL及びメタノール10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、飽和塩化アンモニウム・メタノール溶液20 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、窒素ガスを送って乾固する（I、メピコートクロリド画分）。さらに、ミニカラムに5 mol/L塩化アンモニウム溶液20 mLを注入し、溶出液に5 mol/L塩化アンモニウム溶液を加えて正確に20 mLとする（II、ジクワット及びパラコート画分）。

3) ジクロロメタン転溶及びジクロロメタン洗浄（メピコートクロリド画分）

(I) の残留物に0.05%ジピクリルアミンナトリウム溶液20 mLを加えて溶かし、12 mol/L水酸化ナトリウム溶液1 mLを加え、pH 13とする。これをジクロロメタン30 mLずつで3回振とう抽出する。ジクロロメタン層を合わせて綿栓ろ過後、40℃以下で濃縮し、窒素ガスを送って乾固する。残留物に2 mol/L塩酸50 mLを加えて溶かす。これを、ジクロロメタン10 mLずつで2回洗浄した後、60℃以下で濃縮し、窒素ガスを送って乾固する。この残留物を5 mmol/Lヘプタフルオロ-n-酪酸溶液に溶かし、正確に2 mLとしたものをメピコートクロリド試験溶液とする。

4) 蛍光誘導体化（酸化）（ジクワット及びパラコート画分）

① ジクワット

(II) の溶液5 mLを正確に採り、12 mol/L水酸化ナトリウム溶液25 mL及び1%フェリシアン化カリウム溶液1 mLを加え、均一になるように振り混ぜた後、エーテル20 mLずつで2回振とう抽出する。エーテル層を合わせて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、窒素ガスを送って乾固する。この残留物をアセトニトリル及び水（1 : 9）混液に溶かし、正確に2 mLとしたものをジクワット試験溶液とする。

② パラコート

(II) の溶液10 mLを正確に採り、12 mol/L水酸化ナトリウム溶液10 mL及び1%フェリシアン化カリウム溶液1 mLを加え、均一になるように振り混ぜた後、ジクロロメタン20 mLずつで2回振とう抽出する。ジクロロメタン層を合わせ、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℃以下で減圧濃縮し、窒素ガスを送って乾固する。この残留物をアセトニトリル及び水(1:9)混液に溶かし、正確に2 mLとしたものをパラコート試験溶液とする。

6. 検量線の作成

1) ジクワット

ジクワット標準品の4 mg/L 0.01 mol/L塩酸溶液を調製し、その0.5 mLに5 mol/L塩化アンモニウム溶液5 mLを加え、以下5の4)「蛍光誘導体化(酸化)」①に従って操作する。濃縮残留物をアセトニトリル及び水(1:9)混液に溶かし、正確に20 mLとする(0.1 mg/L)。これを適宜希釈して、0.00125~0.05 mg/Lの溶液を調製し、それぞれ40 µLを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。

2) パラコート

パラコート標準品の4 mg/L 0.01 mol/L塩酸溶液を調製し、その0.5 mLに5 mol/L塩化アンモニウム溶液10 mLを加え、以下5の4)「蛍光誘導体化(酸化)」②に従って操作する。濃縮残留物をアセトニトリル及び水(1:9)混液に溶かし、正確に20 mLとする(0.1 mg/L)。これを適宜希釈して、0.0025~0.1 mg/Lの溶液を調製し、それぞれ20 µLを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。

3) メピコートクロリド

メピコートクロリド標準品の0.005~0.2 mg/L 5 mmol/Lヘプタフルオロ-n-酪酸溶液を数点調製し、それぞれ10 µLをLC-MSに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

7. 定量

1) ジクワット

試験溶液40 µLをHPLC-FLに注入し、6. 1) の検量線でジクワットの含量を求める。なお、ジクワットの含量を求める場合にはイオン換算とし、次式により求める。

$$\text{ジクワットイオンの含量 (ppm)} = A \times 0.5355$$

A : ジクワットの含量 (ppm)

2) パラコート

試験溶液20 μL をHPLCに注入し、6. 2)の検量線でパラコートの含量を求める。なお、パラコートの含量を求める場合にはイオン換算とし、次式により求める。

$$\text{パラコートイオンの含量 (ppm)} = A \times 0.7243$$

A : パラコートの含量 (ppm)

3) メピコートクロリド

試験溶液10 μL をLC-MSに注入し、6. 3)の検量線でメピコートクロリドの含量を求める。

8. 確認試験

LC-MSにより確認する。

9. 測定条件

(例)

1) HPLC-FL (ジクワット及びパラコートの場合)

カラム : トリアコンチルシリル化シリカゲル 内径4.6 mm、長さ250 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水 (2 : 23) 混液

測定波長

ジクワット : 励起波長368 nm、蛍光波長430 nm

パラコート : 励起波長330 nm、蛍光波長436 nm

保持時間の目安

ジクワット : 18.5分

パラコート : 20分

2) LC-MS (メピコートクロリドの場合)

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2~3 mm、長さ150 mm、粒子径5 μm

カラム温度 : 40°C

移動相 : 5 mmol/Lヘプタフルオロ-n-酪酸及びメタノール混液 (19 : 1) から (1 : 1) までの濃度勾配を5分間で行う。

イオン化モード : ESI (+)

主なイオン (m/z) : 114

保持時間の目安 : 9分

3) LC-MS (ジクワット及びパラコートの場合)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2～3 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0.1%酢酸（1：9）混液

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）

ジクワット：215

パラコート：217

注入量

ジクワット：10 μL

パラコート：5 μL

保持時間の目安

ジクワット：5.7分

パラコート：5.4～5.6分

10. 定量限界

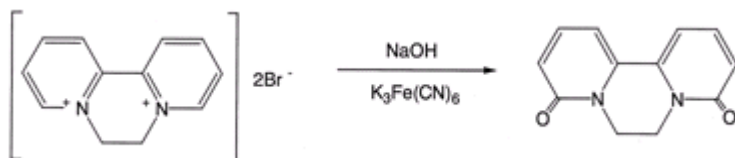
各化合物 0.01 mg/kg（抹茶以外の茶の場合は0.1 mg/kg）

11. 留意事項

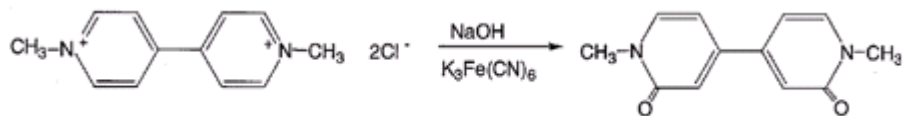
1) 試験法の概要

ジクワット、パラコート及びメピコートクロリドを試料から6 mol/L硫酸で加熱還流抽出し、プロピルスルホニルシリル化シリカゲルミニカラムによる精製でメピコートクロリド画分（I）とジクワット及びパラコート画分（II）に分ける。メピコートクロリド画分（I）についてはジクロロメタン転溶、次いで塩酸酸性下ジクロロメタン洗浄を行った後、LC-MSで定量及び確認する方法である。ジクワット及びパラコート画分（II）については蛍光誘導体化（酸化）後、HPLC-FLで定量し、LC-MSで確認する方法である。

ジクワットの蛍光誘導体化



パラコートの蛍光誘導体化



2) 注意点

- ① 本試験法において、ジクワットはジクワット二臭化物 [C₁₂H₁₂Br₂N₂] のことを、またパラコートはパラコート二塩化物 [C₁₂H₁₄Cl₂N₂] のことをいう。
- ② 0.05%ジピクリルアミンナトリウム溶液は、調製後時間が経過したものを使用すると、メピコートクロリドの転溶率が低下する。
- ③ ジクワット及びパラコートの蛍光誘導体のLC/MSにおける感度は、HPLC-FL法の1/4である。基準値と比較して定量限界が高い場合は、蛍光誘導化に供する溶液量を適宜増加して定量限界を下げる。

12. 参考文献

- 1) 環境省告示第20号「ジクアトジプロミド試験法」(昭和61年4月14日)
- 2) 環境省告示第40号「パラクアトジクロリド試験法」(昭和51年6月11日)
- 3) 環境省告示第21号「メピコートクロリド試験法」(平成3年4月1日)
- 4) 飼料分析基準研究会編著「飼料分析法・解説」p.6-148～6-152(社)日本科学飼料協会
- 5) 赤木浩一、食品衛生学雑誌、45、197-200、2004
- 6) 大倉ら、平成元年度愛媛衛研年報、51、27-32、1990

13. 類型

C

グルホシネート試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

グルホシネート（D体及びL体）（代謝物Z【N-アセチルグルホシネート】を含む。）
代謝物B【3-メチルホスフィニコプロピオン酸】

2. 適用食品

農産物

3. 装置

穀類、豆類、種実類及びてんさいの場合は、炎光光度型検出器（リン用干渉フィルター）付きガスクロマトグラフ（GC-FPD (P)）及びガスクロマトグラフ・質量分析計（GC-MS）を用い、果実、てんさいを除く野菜及び茶の場合は、アルカリ熱イオン化検出器（GC-FTD）、GC-FPD (P)又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ（GC-NPD）及びGC-MSを用いる。

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。

カラムクロマトグラフィー用シリカゲル カラムクロマトグラフィー用に製造したシリカゲル（粒形63～200 μm ）130℃で12時間以上加熱した後、デシケーター中で放冷する。これに対して水を5%加える。

グルホシネートアンモニウム標準品 本品はグルホシネートアンモニウム標準品95%以上を含む。

代謝物B標準品 本品は代謝物B 95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 穀類、豆類、種実類及びてんさいの場合

① 抽出

穀類、豆類及び種実類の場合は、検体を420 μm の標準網ふるいを通して粉砕した後、その10.0 gを量り採る。これに水70 mLを加え、3分間細砕した後、水を加えて正確に150 mLとし、よく振り混ぜた後、静置し、水層20 mLを100 mLの分液漏斗に移す。

てんさいの場合は、検体約1 kgを精密に量り、必要に応じ適量の水を量って加え、細切均一化した後、検体20.0 gに相当する量を量り採る。これに水70 mLを加え、3分間細砕した後、水を加えて正確に150 mLとし、よく振り混ぜた後、静置し、水層20 mLを100 mLの分液漏斗に移す。

これにエーテル30 mLを加え、1分間緩やかに振り混ぜた後、静置し、エーテル層を捨てる。水層にエーテル30 mLを加え、1分間よく振り混ぜた後、静置し、水層15 mLを分取する。これに飽和酢酸鉛溶液1 mLを加え、時々振り混ぜながら5分間放置した後、毎分3,000回転で約5分間遠心分離を行い、上澄液を採る。

② 精製

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム (265 mg) の下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 (500 mg) を、次いでその下に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 (1,000 mg) を連結する。これにアセトニトリル10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで水10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに① 抽出で得られた上澄液を注入し、水10 mLを注入し、流出液を捨てた後、スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム (265 mg) 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) を分離して捨てる。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 (1,000 mg) に酢酸及び水の混液 (1 : 1) 10 mLを注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器に採り、50℃以下で酢酸及び水を除去する。

③ 誘導体化

② 精製で得られた残留物に酢酸0.2 mL、オルト酢酸トリメチル0.8 mLを加えて溶かし、密栓をして100℃で2時間加熱した後、放冷し、窒素気流下で乾固する。この残留物にアセトンを加えて溶かし、正確に0.5 mLとして、これを試験溶液とする。

2) 果実、てんさいを除く野菜及び茶の場合

① グルホシネート試験溶液

a 抽出

果実及びてんさいを除く野菜の場合は、検体約1 kgを精密に量り、必要に応じ適量の水を量って加え、細切均一化した後、検体20.0 gに相当する量を量り採る。これにジクロロメタン50 mL及び水150 mLを加え、振とう機を用いて30分間激しく振り混ぜた後、毎分3,000回転で約5分間遠心分離を行い、上澄液を300 mLの三角フラスコに移す。沈殿に水50 mLを加え、よく振り混ぜた後、上記と同様の条件で遠心分離を行い、上澄液を上記の三角フラスコに合わせる。これをろ過し、ろ液に水を加えて500 mLとする。

抹茶の場合は、検体5.00 gを量り採る。これに水100 mLを加え、振とう機を用いて30分間激しく振り混ぜた後、毎分3,000回転で約5分間遠心分離を行い、上澄液を300 mLの三角フラスコに移す。沈殿に水50 mLを加え、よく振り混ぜた後、上記と同様の条件で遠心分離を行い、上澄液を上記の三角フラスコに合わせる。これに飽和酢酸鉛溶液4 mLを加え、時々振り混ぜながら5分間放置した後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて1,000 mLのナス型フラスコに吸引ろ過する。次いで水50 mLを用いて三角フラスコを洗い、

その洗液でろ紙上の残留物を洗う。洗液を上記のナス型フラスコに合わせる。これを1,000 mLの分液漏斗に移し、ジクロロメタン100 mLを加え、1分間緩やかに振り混ぜた後、静置し、ジクロロメタン層を捨てる。水層にジクロロメタン100 mLを加え、上記と同様に操作して、ジクロロメタン層を捨てる。水層に酢酸エチル100 mLを加え、1分間緩やかに振り混ぜた後、静置し、水層を採り、水を加えて500 mLとする。

抹茶以外の茶の場合は、検体10.0 gを100°Cの水600 mLに浸し、室温で5分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液300 mLを500 mLの三角フラスコに移す。これに飽和酢酸鉛溶液4 mLを加え、時々振り混ぜながら5分間放置した後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いて1,000 mLのナス型フラスコに吸引ろ過する。次いで水50 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う。洗液を上記のナス型フラスコに合わせる。これを1,000 mLの分液漏斗に移し、ジクロロメタン100 mLを加え、1分間緩やかに振り混ぜた後、静置し、ジクロロメタン層を捨てる。水層にジクロロメタン100 mLを加え、上記と同様に操作して、ジクロロメタン層を捨てる。これに酢酸エチル100 mLを加え、1分間緩やかに振り混ぜた後、静置し、水層を採り、水を加えて500 mLとする。

b 誘導体化

内径15 mm、長さ300 mmのクロマトグラフ管に、強塩基性陰イオン交換樹脂（粒径149～297 μm）20 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 mol/L水酸化ナトリウム溶液40 mLを注入し、さらに流出液のpHが8～9になるまで水を注入する。流出液は捨てる。次いで酢酸及び水の混液（1：9）40 mLを注入し、さらに流出液のpHが5になるまで水を注入する。流出液は捨てる。続いて酢酸及び水の混液（1：1）80 mLを注入し、さらに水100 mLを注入する。流出液は捨てる。このカラムにa 抽出で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。次いで酢酸及び水の混液（1：9）200 mLを注入し、最初の流出液50 mLは捨て、次の溶出液150 mLをすり合わせ減圧濃縮器中に採り、50°C以下で酢酸及び水を除去する。この残留物に酢酸1 mLを、次いでオルト酢酸トリメチル4 mLを加え、100°Cで2時間加熱する。冷後これをすり合わせ減圧濃縮器中に移し、40°C以下で約1 mLに濃縮し、さらに室温で窒素を通じて乾固する。この残留物にアセトン10 mLを加えて溶かす。

c 精製

内径10 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シリカゲル3 gをアセトンに懸濁したものを入れ、カラムの上端に少量のアセトンが残る程度までアセトンを流出させる。このカラムにb 誘導体化で得られた溶液を注入した後、アセトン70 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトン及び水の混液（19：1）80 mLを注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40°C以下でアセトン及び水を除去する。

この残留物に酢酸エチルを加えて溶かし、正確に2 mLとして、これをグルホシネート試験溶液とする。

② 代謝物B試験溶液

a 抽出

① グルホシネート試験溶液のa 抽出を準用する。

b メチル化

内径15 mm、長さ300 mmのクロマトグラフ管に、強塩基性陰イオン交換樹脂（粒径149～297 μm）20 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 mol/L水酸化ナトリウム溶液40 mLを注入し、さらに流出液のpHが8～9になるまで水を注入する。流出液は捨てる。次いで酢酸及び水の混液（1：9）40 mLを注入し、さらに流出液のpHが5になるまで水を注入する。流出液は捨てる。続いて酢酸及び水の混液（1：1）80 mLを注入し、さらに水100 mLを注入する。流出液は捨てる。このカラムにa 抽出で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。次いで酢酸及び水の混液（1：9）200 mLを注入し、さらに酢酸及び水の混液（3：7）50 mLを注入し、流出液は捨てる。続いて酢酸及び水の混液（1：1）150 mLを注入し、溶出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、50℃以下で酢酸及び水を除去する。この残留物に酢酸1 mLを、次いでオルト酢酸トリメチル4 mLを加え、100℃で2時間加熱する。冷後これをすり合わせ減圧濃縮器中に移し、40℃以下で約1 mLに濃縮し、さらに室温で窒素を通じて乾固する。この残留物にアセトン10 mLを加えて溶かす。

c 精製

内径10 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シリカゲル3 gをアセトンに懸濁したものを入れ、カラムの上端に少量のアセトンが残る程度までアセトンを流出させる。このカラムにb メチル化で得られた溶液を注入した後、アセトン100 mLを注入し、最初の流出液20 mLは捨て、次の溶出液80 mLをすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下でアセトンを除去する。この残留物に酢酸エチルを加えて溶かし、正確に4 mLとして、これを代謝物B試験溶液とする。

6. 検量線の作成

1) 穀類、豆類、種実類及びてんさいの場合

グルホシネートアンモニウム及び代謝物Bの各標準品について、5. 試験溶液の調製の1) 穀類、豆類、種実類及びてんさいの場合の② 精製及び③ 誘導体化と同様に操作したものを検量線用標準溶液として、それぞれGC-FPD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。

2) 果実、てんさいを除く野菜及び茶の場合

グルホシネートアンモニウム標準品について5. 試験溶液の調製の2) 果実、てんさいを除く野菜及び茶の場合の① グルホシネート試験溶液のb 誘導体化及びc 精製と同様に操作して得られたもの、並びに代謝物B標準品について、5. 試験溶液の調製の2) 果実、てんさいを除く野菜及び茶の場合の②代謝物B試験溶液のb メチル化及びc 精製と同様に操作して得られたものを検量線用標準溶液として、それぞれGC-FTD、GC-FPD、GC-NPD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。

7. 定量

穀類、豆類、種実類及びてんさいの場合は、試験溶液をGC-FPD又はGC-MSに注入し、果実、てんさいを除く野菜及び茶の場合は、試験溶液をGC-FTD、GC-FPD、GC-NPD又はGC-MSに注入し、6. の検量線でグルホシネートアンモニウム（代謝物Zを含む。）及び代謝物Bの含量を求め、次式により、代謝物Z及び代謝物Bを含むグルホシネート（D体及びL体）の含量を求める。

$$\text{グルホシネート（D体及びL体）（代謝物Z及び代謝物Bを含む。）の含量（ppm）} = A \times 0.9141 + B \times 1.191$$

A：グルホシネートアンモニウム（代謝物Zを含む。）の含量（ppm）

B：代謝物Bの含量（ppm）

8. 確認試験

GC-MSにより確認する。

9. 測定条件

(例)

カラム：内径0.25 mm、長さ30 mのケイ酸ガラス製の細管に、ガスクロマトグラフィー用50%フェニルーメチルシリコンを0.25 μmの厚さでコーティングしたもの。

カラム温度：100℃で1分間保持し、その後毎分10℃で昇温し、260℃に到達後3分間保持する。

注入口温度：250℃

注入方法：スプリットレス

検出器温度：270℃

ガス流量：キャリアーガスとしてヘリウムを用いる。2-アセチルアミノ-4-[メトキシ（メチル）ホスフィノイル]プロピオナートが約14分で流出する流速に調整する。空気及び水素の流量を至適条件に調整する。

10. 定量限界

0.01 mg/kg (穀類、豆類、種実類及びてんさいにあつては0.05 mg/kg)

11. 留意事項

1) 試験法の概要

穀類、豆類、種実類及びてんさいの場合は、グルホシネート (D体及びL体) (代謝物Zを含む) 及び代謝物Bを試料から水で抽出し、エーテルで洗浄した後、飽和酢酸鉛溶液で精製する。スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム、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で精製した後、オルト酢酸トリメチルで誘導体化し、GC-FPD又はGC-MSにより定量し、GC-MSで確認する方法である。

果実及びてんさいを除く野菜の場合は、グルホシネート (D体及びL体) (代謝物Zを含む) 及び代謝物Bを試料からジクロロメタン存在下水で抽出する。抹茶の場合は、試料から水で抽出し、抹茶以外の茶の場合は、試料から100℃の水で浸出し、飽和酢酸鉛溶液で精製した後、ジクロロメタン、次いで酢酸エチルで洗浄する。強塩基性陰イオン交換樹脂で精製し、オルト酢酸トリメチルで誘導体化した後、シリカゲルカラムで精製し、GC-FTD、GC-FPD、GC-NPD又はGC-MSにより定量し、GC-MSで確認する方法である。

2) 注意点

① 分析値

グルホシネートアンモニウム (代謝物Zを含む。) 及び代謝物Bのそれぞれについて定量を行い、グルホシネートアンモニウム (代謝物Zを含む。) の含量及び代謝物Bの含量にそれぞれ換算係数を乗じてグルホシネート (D体及びL体) (代謝物Z及び代謝物Bを含む。) の含量に換算し、これらの和を分析値とする。なお、グルホシネートには、グルホシネートアンモニウム塩が含まれる。

② 穀類、豆類、種実類及びてんさいを試験する際に用い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 (500 mg) には、粒径120 µmのものを用いることが望ましい。またガスクロマトグラフ検出器に炎光光度型検出器を用いる場合は、カラムに内径0.53 mm、長さ30 m、膜厚1.0 µmのものを用いることも可能である。

12. 参考文献

なし

13. 類型

A