



食安発第1227001号  
平成18年12月27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

食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件（平成17年厚生労働省告示  
第499号）が平成17年11月29日に公布され、その内容については、同  
日付け食安発第1129001号当職通知をもって通知したところである。

これに関連して、今般、「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）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。

#### 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3章 個別試験法」の「アミトラス試験法」及び「メトプレン試験法」  
を別紙2のとおり改める。
3. 「第3章 個別試験法」の「ジクロフルアニド試験法」を別紙3に示す「ジ  
クロフルアニド及びトリルフルアニド試験法」に改める。
4. 「第3章 個別試験法」に別紙4に示す「クリスタルバイオレット及びメチ  
レンブルー試験法」及び「セファゾリン、セファピリン、セファレキシム、  
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」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（農産物）
- ・ LC/MS による農薬等の一斉試験法（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（畜水産物）
- ・ HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法（畜水産物）

## 第 3 章 個別試験法

- ・ BHC、 $\gamma$ -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ピンホス試験法
- ・ 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、ピフェントリン、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
- ・ アジムスルフロン、ハロスルフロンメチル及びフラザスルフロン試験法
- ・ 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
- ・ アゾキシストロピン試験法
- ・ アニラジン試験法
- ・ アミトラス試験法
- ・ 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、ピテルタノール、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、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、エプリノメクチン及びモキシデクチン試験法
- ・ 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、クロルプロファミ、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
- ・ エトフェンプロックス試験法
- ・ 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、オキサリニック酸、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
- ・ オキサリニック酸試験法
- ・ 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
- ・ オリサストロピン試験法
- ・ 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
- ・ クロルスルフロン及びメトスルフロンメチル試験法
- ・ クロルフェナピル及びピフェノックス試験法
- ・ クロルフルアズロン、ジフルベンスロン、テブフェノジド、テフルベンスロン、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
- ・ 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
- ・ 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 - 1 H - 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
- ・ テクロフタラム試験法
- ・ 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
- ・ トリネキサバックエチル試験法
- ・ トリフルミゾール試験法
- ・ トリブロムサラン及びピチオノール試験法
- ・ 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
- ・ 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
- ・ ピラクロストロピン試験法
- ・ 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
- ・ プリミジフェン試験法
- ・ プリメタニル試験法
- ・ 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
- ・ ベンシクロン試験法
- ・ ベンジルペニシリン試験法
- ・ ベンゾピシクロン試験法
- ・ ペンタゾン試験法
- ・ 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
- ・ メトブレン試験法
- ・ メトリブジン試験法
- ・ メバニピリム試験法
- ・ 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
- ・ 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
- ・     - トレンボロン及び     - トレンボロン試験法
- ・ 二臭化エチレン試験法
- ・ ニトロフラン類試験法
- ・ プロファム試験法
- ・ マラカイトグリーン試験法



## アミトラス試験法（農産物）

## 1．分析対象化合物

アミトラス

*N*-2,4-ジメチルフェニル-*N'*-メチルホルムアミジン（以下、代謝物という）

## 2．装置

アルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ（GC-FTD）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）

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

## 3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

アミトラス標準品 本品はアミトラス99%以上を含み、融点は87~88である。

代謝物標準品 本品は*N*-2,4-ジメチルフェニル-*N'*-メチルホルムアミジン98%以上を含み、融点は53~75である。

## 4．試験溶液の調製

## 1) アミトラスの試験溶液

抽出

．穀類、豆類及び種実類の場合

試料10.0gを量り採り、水20mLを加え、2時間放置する。

これに1mol/L水酸化ナトリウム溶液20mLを加え、pH11以上であることを確認し、さらに、アセトン100mL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50mL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、35以下で約40mLに濃縮する。

これに10%塩化ナトリウム溶液100mLを加え、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：4）混液100mL及び50mLで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、0.2mol/L酢酸溶液100mL及び50mLで2回振とう抽出する。この抽出液(a)を代謝物の抽出液とする。一方、残った酢酸エチル及び*n*-ヘキサン混液の層を、10%塩化ナトリウム溶液20mLに1mol/L水酸化ナトリウム溶液1mLを加えた溶液で洗浄した後、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。この残留物を*n*-ヘキサン30mLに溶解し、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30mLずつで3回振とう抽出する。抽出液を40以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサン（1：49）混液2mLを加えて溶かす。

．果実、野菜、ハーブ、茶及びホップの場合

果実、野菜及びハーブの場合は、検体約1kgを精密に量り、1mol/L水酸化ナトリウム溶液1,200mLを加え、細切均一化し、pH11以上であることを確認した後、検体20.0gに相当する量を量り採る。

茶及びホップの場合は、試料5.00gを量り採り、水20mLを加え、2時間放置する。

これに、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 20 mL を加え、pH 11 以上であることを確認する。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、35 以下で約 40 mL に濃縮する。

これに 10% 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、0.2 mol/L 酢酸溶液 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。この抽出液(a)を代謝物の抽出液とする。

一方、残った酢酸エチル及び *n*-ヘキサン混液の層を、10% 塩化ナトリウム溶液 20 mL に 1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 1 mL を加えた溶液で洗浄した後、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。この残留物にアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 49) 混液 2 mL を加えて溶かす。

### 精製

クロマトグラフ管 (内径 15 mm) 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 5 g をアセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 49) 混液に懸濁させて充てんし、無水硫酸ナトリウム約 5 g を積層する。このカラムに得られた溶液を注入した後、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 49) 混液 40 mL を注入する。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ンに溶解し、正確に 2 mL としたものをアミトラズの試験溶液とする。

## 2) 代謝物の試験溶液

1) で得られた代謝物を含む抽出液(a)に 5 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 20 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 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、正確に 1 mL としたものを代謝物の試験溶液とする。

## 5. 検量線の作成

アミトラズ標準品 0.05 ~ 1.0 mg/L 及び代謝物標準品 0.1 ~ 2.0 mg/L を含むアセトン溶液を数点調製し、それぞれ 2  $\mu$ L を GC 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  $\mu$ L を GC に注入し、5 の検量線でアミトラズ及び代謝物の含量を求め、次式により、代謝物を含むアミトラズの含量を求める。

$$\text{アミトラズ (代謝物を含む) の含量} = \text{アミトラズの含量} + \text{代謝物の含量} \times 1.81$$

## 7. 確認試験

GC/MS により確認する。

## 8. 測定条件

## 1) GC

検出器：FTD 又は NPD

カラム：50%フェニル - メチルシリコン 内径 0.53 mm、長さ 30m、膜厚 1.0 μm

カラム温度：100 (1分) - 10 /分 - 280 (15分)

注入口温度：240

検出器温度：280

キャリアーガス：ヘリウム

保持時間の目安：アミトラズ 17分、代謝物 8分

## 2) GC/MS

カラム：5%フェニル - メチルシリコン 内径 0.25 mm、長さ 30m、膜厚 0.25 μm

カラム温度：100 (1分) - 10 /分 - 280 (15分)

注入口温度：240

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード(電圧)：EI (70 eV)

主なイオン( $m/z$ )：アミトラズ 293、162、132、121

代謝物 162、132、106、120

注入量：1 μL

## 9. 定量限界

各化合物 0.01 mg/kg(穀類、豆類及び種実類：0.02 mg/kg、茶及びホップ：0.04 mg/kg)

## 10. 留意事項

### 1) 試験法の概要

アミトラズ及び代謝物を塩基性下で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。転溶した溶液から酢酸溶液で代謝物を抽出する。残った溶液を水酸化ナトリウム溶液で洗浄した後、果実、野菜、ハーブ、茶及びホップはそのまま、穀類、豆類及び種実類はアセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、合成ケイ酸マグネシウムカラムで精製してアミトラズの試験溶液とする。一方、代謝物を含む酢酸抽出液を塩基性にした後、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン(1:4)混液で抽出したものを代謝物の試験溶液とする。両試験溶液を GC-FTD 又は GC-NPD で測定し、GC/MS で確認する方法である。

### 2) 注意点

代謝物の抽出率を向上させるために、試料に水酸化ナトリウム溶液を加え、pH11 以上であることを確認する。pH11 より低い場合は、水酸化ナトリウム溶液を追加する。代謝物の分解を抑えるため、アセトン抽出液の濃縮は低温で短時間に終了させる。抽出液から酢酸溶液で代謝物を抽出するときは、エマルジョンの生成を防ぐために、緩やかに短時間振とうする。

酢酸溶液で代謝物を抽出した後の酢酸エチル及び *n*-ヘキサン層は、アミトラズの分解を抑えるため、速やかに水酸化ナトリウムを含む塩化ナトリウム溶液で洗浄する。

11. 参考文献  
なし

12. 類型  
C

## メトプレン試験法（農産物）

### 1．分析対象化合物

メトプレン

### 2．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）

液体クロマトグラフ・質量分析計（LC/MS）

ガスクロマトグラフ・質量分析計（GC/MS）

### 3．試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の2に示すものを用いる。

メトプレン標準品 本品はメトプレン 98%以上を含む。

### 4．試験溶液の調製

#### 1) 抽出

穀類及び豆類の場合は、試料 10.0 g を量り採り、水 20 mL を加え、2 時間放置する。

野菜の場合は、試料 20.0 g を量り採る。

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、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、塩化ナトリウム 7 g を加え、振とうした後、静置し、分離した水層を捨てる。

アセトニトリル層をアセトニトリル飽和 *n* - ヘキサン 20 mL で洗浄した後、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物を酢酸エチル 30 mL に溶かし、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。この残留物を *n* - ヘキサン 5 mL に溶かす。

#### 2) 精製

クロマトグラフ管（内径 15 mm）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 5 g をエーテル及び *n* - ヘキサン（1：19）混液に懸濁させて充てんし、無水硫酸ナトリウム約 5 g を積層する。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、エーテル及び *n* - ヘキサン（1：19）混液 40 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、エーテル及び *n* - ヘキサン（3：17）混液 80 mL を注入する。溶出液を 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、正確に 2 mL としたものを試験溶液とする。

### 5．検量線の作成

メトプレン標準品の 0.05 ~ 1.0 mg/L メタノール溶液を数点調製し、それぞれ 20  $\mu$ 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 20  $\mu$ L を HPLC に注入し、5 の検量線でメトプレンの含量を求める。

## 7. 確認試験

LC/MS 又は GC/MS により確認する。

## 8. 測定条件

### 1) HPLC

検出器：UV (265 nm)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 5  $\mu\text{m}$ ) 内径 4.6 mm、長さ 150 mm

カラム温度：40

移動相：水及びメタノール (1 : 9) 混液

移動相流速：0.8 mL/分

保持時間の目安：7 分

### 2) LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 5  $\mu\text{m}$ ) 内径 2 mm、長さ 150 mm

カラム温度：40

移動相：アセトニトリル及び水 (9 : 1) 混液

移動相流速：0.2 mL/分

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン ( $m/z$ ): 311、279

注入量：1  $\mu\text{L}$

保持時間の目安：8 分

### 3) GC/MS

カラム：5%フェニル - メチルシリコン、内径 0.25 mm、長さ 30m、膜厚 0.25  $\mu\text{m}$

カラム温度：80 (2分) - 20 /分 - 200 (2分) - 10 /分 - 260 (8分)

注入口温度：250

キャリアーガス：ヘリウム

キャリアーガス流速：1 mL/分

イオン化モード(電圧)：EI (70 eV)

主なイオン ( $m/z$ ): 175、153、111

注入量：1  $\mu\text{L}$

保持時間の目安：11 分

## 9. 定量限界

0.01 mg/kg

## 10. 留意事項

### 1) 試験法の概要

メトプレンを試料からアセトニトリルで抽出し、塩析で水層を除いた後、アセトニトリル飽和  $n$  - ヘキサンで洗浄する。合成ケイ酸マグネシウムカラムで精製した後、HPLC-UV で測定し、LC/MS 又は GC/MS で確認する方法である。

## 2) 注意点

HPLC では、メトブレンが溶出した後に、成分由来のピークが出現する。

GC/MS で確認する場合は、試験溶液を *n* - ヘキサンに置換する。精製が不十分な場合は、試験溶液を中性アルミナミニカラムに負荷し、エーテル及び *n* - ヘキサン ( 3 : 17 ) 混液 20 mL で溶出する精製法を追加するとよい。

## 11. 参考文献

斎藤 勲ら、HPLC による食品中メトブレンの分析法、食衛誌、47, 173 ( 2006 )

## 12. 類型

C

## ジクロフルアニド及びトリルフルアニド試験法（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
ジクロフルアニド	ジクロフルアニド
トリルフルアニド	トリルフルアニド

## 2. 装置

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ及びガスクロマトグラフ・質量分析計を用いる。

## 3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の 2 に示すものを用いる。

ジクロフルアニド標準品 本品はジクロフルアニド 98%以上を含み、融点は 105～106 である。

トリルフルアニド標準品 本品はトリルフルアニド 98%以上を含み、融点は 93 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

検体を 420  $\mu$ m の標準網ふるいを通して粉砕した後、その 10.0 g を量り採り、0.3 mol/L 塩酸 20 mL を加え、2 時間放置する。

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 50 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 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 を入れた 300 mL の分液漏斗に移す。*n*-ヘキサン 100 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を分液漏斗に合わせる。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 300 mL の三角フラスコに移す。水層に *n*-ヘキサン 50 mL を加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。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。*n*-ヘキサン 20 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 以下で *n*-ヘキサンを除去する。



この残留物に *n*-ヘキサン 30 mL を加え、100 mL の分液漏斗に移す。これに *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 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す。*n*-ヘキサン層に *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、上記と同様の操作を 2 回繰り返す、アセトニトリル層をその減圧濃縮器中に合わせ、40 以下でアセトニトリルを除去する。この残留物に *n*-ヘキサン 5 mL を加えて溶かす。

#### 果実、野菜、ハーブ、抹茶及びホップの場合

果実、野菜及びハーブの場合は、検体約 1 kg を精密に量り、6 mol/L 塩酸 100 mL を加える。これに必要なに応じ適量の水を量つて加え、細切均一化した後、検体 20.0 g に相当する量を量り採る。

抹茶及びホップの場合は、検体を粉碎した後、その 5.00 g を量り採り、0.3 mol/L 塩酸 20 mL を加え、2 時間放置する。

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 50 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 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 を入れた 300 mL の分液漏斗に移す。*n*-ヘキサン 100 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。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 300 mL の三角フラスコに移す。水層に *n*-ヘキサン 50 mL を加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。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 20 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 以下で約 5 mL に濃縮する。

#### 抹茶以外の茶の場合（ジクロフルアニドの試験を行う場合）

検体 9.00 g を 100 の水 540 mL に浸し、室温で 5 分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液 360 mL を 500 mL の三角フラスコに移す。これにアセトン 100 mL 及び飽和酢酸鉛溶液 2 mL を加え、室温で 1 時間静置した後、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 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。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 30 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 300 mL の三角フラスコに移す。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三角フラスコに合わせる。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 20 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 以下で約 5 mL に濃縮する。

## 2) 精製

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 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 5 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) 抽出で得られた溶液を注入した後、エーテル及び *n*-ヘキサン (3 : 47) 混液 100 mL を注入し、流出液は捨てる。次いでエーテル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 150 mL を注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40 以下でエーテル及び *n*-ヘキサンを除去する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて溶かし、正確に 5 mL として、これを試験溶液とする。

## 5. 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

カラム 内径 0.25 mm、長さ 10~30m のケイ酸ガラス製の細管に、ガスクロマトグラフィー用 5% フェニル-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 50 で 1 分間保持し、その後毎分 25 で昇温する。125 に到達後、毎分 10 で昇温し、300 に到達後 3 分間保持する。

試験溶液注入口温度 250~300

検出器 300 で操作する。

ガス流量 キャリヤーガスとしてヘリウムを用いる。ジクロフルアニドが約 15 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、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

### 3) 確認試験

1) 定性試験と同様の操作条件でガスクロマトグラフィー・質量分析を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。また、必要に応じ、ピーク高法又はピーク面積

法により定量を行う。

6 . 定量限界

ジクロフルアニド 0.01 mg/kg

トリルフルアニド 0.01mg/kg

7 . 留意事項

なし

8 . 参考文献

なし

9 . 類型

A

## クリスタルバイオレット及びメチレンブルー試験法（畜水産物）

### 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
クリスタルバイオレット	クリスタルバイオレット
メチレンブルー	メチレンブルー

### 2. 装置

可視分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ（HPLC-VIS）  
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2に示すものを用いる。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したのものを用いる。

水 液体クロマトグラフ用に製造したのものを用いる。

ギ酸アンモニウム ギ酸アンモニウム（特級）

クエン酸・リン酸緩衝液（pH3.0）

第1液：クエン酸 57.6 g を量り、水を加えて溶かして 1,000 mL とする。

第2液：リン酸三ナトリウム 228 g を量り、水を加えて溶かして 1,000 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。

クリスタルバイオレット標準品 本品はクリスタルバイオレット（ $C_{25}H_{30}ClN_3$ : 407.98）94%以上を含み、融点は 215°C である。

メチレンブルー標準品 本品はメチレンブルー（ $C_{16}H_{18}N_3SCl$ : 319.85）97%以上を含み、融点は 169~170°C である。

### 4. 試験溶液の調製

試料 5.00 g を量り採り、クエン酸・リン酸緩衝液（pH3.0）10 mL を加えて5分間細砕する。これにアセトニトリル 40 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 2,600 回転で5分間遠心分離し、アセトニトリル層を分液ロートに採る。残留物にアセトニトリル 20 mL を加え、上記と同様に操作し、得られたアセトニトリル層を先の分液ロートに合わせる。これに *n*-ヘキサン 80 mL を加えて激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を採る。これに 20%塩化ナトリウム溶液 50 mL 及びジクロロメタン 50 mL を加えて5分間振とうした後、静置し、アセトニトリル層を採る。

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し、40°C以下でアセトニトリル層を除去する。この残留物にアセトニトリル 2.0 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 10 mg/100 mL メタノール溶液を調製し、アセトニトリル及び 0.01 mol/L ギ

酸アンモニウム溶液（1：9）混液で希釈して0.0125～0.5mg/Lの標準溶液を数点調製する。それぞれ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

試験溶液をHPLCに注入し、5の検量線で各物質の含量を求める。

## 7. 確認試験

LC/MSにより確認する。

## 8. 測定条件

### HPLC

検出器：VIS（測定波長 636 nm）

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℃

移動相：アセトニトリル及び0.01 mol/Lギ酸アンモニウム溶液の混液（1：9）から  
（1：0）までの濃度勾配を20分間で行い、（1：0）で10分間保持する。

保持時間の目安：12分（メチレンブルー）

## 9. 定量限界

クリスタルバイオレット 0.005 mg/kg

メチレンブルー 0.005 mg/kg

## 10. 留意事項

### 1) 試験法の概要

クリスタルバイオレット及びメチレンブルーを試料からアセトニトリル及びクエン酸・リン酸緩衝液（pH3.0）で抽出し、ジクロロメタンに転溶した後、HPLC-VISで測定し、LC/MSで確認する方法である。

### 2) 注意点

- ① ジクロロメタン転溶の際に溶媒が乳化する場合は、遠心分離等により層を完全に分離すること。
- ② HPLC-VIS 及び 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 μL 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を検討すること。
- ③ 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。

## 11. 参考文献

春日ら、食品衛生学雑誌、32, 137（1991）

## 12. 類型

C

## 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）

### 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
セファゾリン	セファゾリン
セファピリン	セファピリン
セファレキシン	セファレキシン
セファロニウム	セファロニウム
セフォペラゾン	セフォペラゾン
セフロキシム	セフロキシム

### 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2に示すものを用いる。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したのものを用いる。

水 液体クロマトグラフ用に製造したのものを用いる。

メタノール 液体クロマトグラフ用に製造したのものを用いる。

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。

セファゾリンナトリウム標準品 本品はセファゾリンナトリウム 97%以上を含む。

セファピリンナトリウム標準品 本品はセファピリンナトリウム 90%以上を含む。

セファレキシン標準品 本品はセファレキシン 99%以上を含む。

セファロニウム標準品 本品はセファロニウム 98%以上を含む。

セフォペラゾンナトリウム標準品 本品はセフォペラゾンナトリウム 95%以上を含む。

セフロキシムナトリウム標準品 本品はセフロキシムナトリウム 99%以上を含む。

### 4. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

##### ① 筋肉の場合

試料 5.00 g を量り採り、メタノール及び 0.2% メタリン酸溶液（3 : 7）混液 100 mL を加えて細砕した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にメタノール及び 0.2% メタリン酸

溶液（3：7）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°C以下で約 30 mL に濃縮する。

## ② 脂肪の場合

試料 5.00 g を量り採り、*n*-ヘキサン 30 mL 及び 0.2% メタリン酸溶液 70 mL を加えて細砕した後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、0.2% メタリン酸溶液層を採る。

## ③ 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、メタノール及び 0.2% メタリン酸溶液（3：7）混液 100 mL を加えて細砕し、ケイソウ土 3 g を加えて混和した後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にメタノール及び 0.2% メタリン酸溶液（3：7）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°C以下で約 30 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°C以下でメタノールを除去する。この残留物に水及びメタノール（7：3）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

セファロニウム標準品は 10 mg を水 3 mL に溶解後、メタノールを加えて 100 mL とする。その他の各標準品は 10 mg/100 mL メタノール溶液を調製する。これらを水及びメタノール（7：3）混液で希釈して 0.05～5 mg/L の標準溶液を数点調製する。それぞれ 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

試験溶液を LC/MS に注入し、5 の検量線で各物質の含量を求める。

## 7. 確認試験

LC/MS により確認する。

## 8. 測定条件

### 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 0.01% ギ酸溶液の混液（1：19）から（1：1）までの濃度勾配を 20 分間で行う。

主なイオン( $m/z$ ): セファゾリン ESI+において 455  
セファピリン ESI+において 424  
セファレキシム ESI+において 348  
セファロニウム ESI+において 459  
セフォペラゾン ESI+において 646 又は ESI-において 644  
セフロキシム ESI-において 423

保持時間の目安: 10 分 (セファピリン)

## 9. 定量限界

各分析対象化合物について 0.01 mg/kg

## 10. 留意事項

### 1) 試験法の概要

セファゾリン、セファピリン、セファレキシム、セファロニウム、セフォペラゾン及びセフロキシムを試料からメタノール及び 0.2%メタリン酸溶液の混液、または、0.2%メタリン酸溶液で抽出し、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 で測定及び確認する方法である。

### 2) 注意点

- ① 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  $\mu$ 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を検討すること。
- ② 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。

## 11. 参考文献

なし

## 12. 類型

C