



食安発第0713002号
平成19年7月13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1章総則の4. 試料採取 (1) 中「420 μm 」を「425 μm 」に改める。
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Ⅰ(畜水産物)」の別表を別紙2のとおり改める。なお、改正部分を下線で示す。
4. 第2章一斉試験法に別紙3のとおり「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅲ(畜水産物)」を加える。
5. 第3章個別試験法の「オキシテトラサイクリン試験法(農産物)」を別紙4のとおり改める。なお、改正部分を下線で示す。
6. 第3章個別試験法の「クリスタルバイオレット及びメチレンブルー試験法(畜産品)」を別紙5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、テトラクロロビンホス、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
- ・ Se-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
- 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、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、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、エタメツルスルフロンメチル、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
- 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
- イマゾ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
- ・ オキスポコナゾールフマル酸塩試験法
- ・ オキソリニック酸試験法
- ・ 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
- ・ 酸化フェンブタスズ試験法
- ・ 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ロン試験法
- ・ 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-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
- ・ 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
- ・ 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
- ・ クレンプテロール試験法
- ・ 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

(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
アレスリン	アレスリン		303	0.01
アンプロリウム	アンプロリウム	245	243	0.01
エトパペート	エトパペート		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
オキサシリン	オキサシリン		402	0.4
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
オルメトプリム	オルメトプリム	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
クレンブテロール	クレンブテロール		277	0.00005
クロキサシリン	クロキサシリン		436	0.1
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
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
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
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
テメホス	テメホス		467	0.05
トリクロルホン	トリクロルホン		258	0.1
トリペレナミン	トリペレナミン		256	0.002-0.02
トリメトプリム	トリメトプリム	230	291	0.02
トルフェナム酸	トルフェナム酸		261	0.005
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
ニトロキシニル	ニトロキシニル		291	0.05
ハロフジノン	ハロフジノン	245		0.01

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)
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
ファミフル	ファミフル		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	0.02
フェノブカルブ	フェノブカルブ		208	0.01
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
プレドニゾン	プレドニゾン		361	0.002
プロチゾラム	プロチゾラム		395	0.0005
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
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
メチルプレドニゾン	メチルプレドニゾン		375	0.01
メベンダゾール	メベンダゾール		296	0.01
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	0.01
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

◎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/MSIによるもので、ESIポジティブ測定によるものを示す(*チアンフェニコールのみESIネガティブ測定)。

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もの。

水 液体クロマトグラフ用に製造したもの。

メタノール 液体クロマトグラフ用に製造したもの。

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（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
クロビドール	クロビドール	+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
スルファジメキシシ	スルファジメキシシ	+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
スルファドキシシ	スルファドキシシ	+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
スルファモノメキシシ	スルファモノメキシシ	+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。

オキシテトラサイクリン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

オキシテトラサイクリン

2. 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）

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。

イミダゾール イミダゾール（特級）

イミダゾール緩衝液 イミダゾール 68.08 g、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム 0.37 g 及び酢酸マグネシウム 10.72 g を水に溶かして 800 mL とする。これに酢酸を加えて pH7.2 に調整し、水を加えて 1,000 mL とする。

エチレンジアミン四酢酸含有クエン酸緩衝液 第1液：クエン酸 21.0 g を水に溶かして 1,000 mL とする。第2液：リン酸二ナトリウム 71.6 g を水に溶かして 1,000 mL とする。エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム 1.86 g に第1液 307 mL と第2液 193 mL を混和したものを加えて溶かす。

カルボキシメチル基結合型弱酸性陽イオン交換樹脂ミニカラム（250mg） 内径 12～13mm のポリプロピレン製のカラム管に、カルボキシメチル基結合型弱酸性陽イオン交換樹脂 250mg 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。

塩酸オキシテトラサイクリン標準品 本品 1.000 mg はオキシテトラサイクリン 0.850 mg 力価以上を含む。

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 を量り採り、水 20 mL を加え、2時間放置する。これにエチレンジアミン四酢酸含有クエン酸緩衝液 50 mL を加え、3分間ホモジナイズした後、毎分 3,000 回転で 10 分間遠心分離を行い、水層を採る。残留物にエチレンジアミン四酢酸含有クエン酸緩衝液 20 mL を加え、1分間ホモジナイズした後、上記と同様に遠心分離を行い、水層を採り、先の水層に合わせ、吸引ろ過し、ろ液にエチレンジアミン四酢酸含有クエン酸緩衝液を加え、正確に 100 mL とする。

② 果実及び野菜の場合

試料 20.0 g を量り採り、エチレンジアミン四酢酸含有クエン酸緩衝液 50 mL を加え、3分間ホモジナイズした後、毎分 3,000 回転で 10 分間遠心分離を行い、水層を採る。残留物にエチレンジアミン四酢酸含有クエン酸緩衝液 20 mL を加え、1分間ホモジナイズした後、上記

と同様に遠心分離を行い、水層を採り、先の水層に合わせ、吸引ろ過し、ろ液にエチレンジアミン四酢酸含有クエン酸緩衝液を加え、正確に 100 mL とする。

2) 精製

スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム (500 mg) に、メタノール 10 mL、水 10 mL、飽和エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム溶液 5 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。また、カルボキシメチル基結合型弱酸性陽イオン交換樹脂ミニカラム (250mg) に、メタノール 10 mL、2% ギ酸溶液 10 mL、水 20 mL、メタノール 5 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムに 1) で得られた溶液 20 mL を注入した後、流出液は捨てる。さらに、水 30 mL を注入し、流出液は捨てる。その後、スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムの下に カルボキシメチル基結合型弱酸性陽イオン交換樹脂ミニカラム を接続し、メタノール 5 mL を注入し、流出液は捨てる。スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムを分離し、カルボキシメチル基結合型弱酸性陽イオン交換樹脂ミニカラム にギ酸及びメタノール (1 : 1) 混液 5 mL を注入し、溶出液を窒素気流下で濃縮し溶媒を除去する。この残留物に 1.36% リン酸一カリウム溶液を加えて溶かし、1.0 mL としたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

オキシテトラサイクリン 10.0 mg (力価) に相当する標準品をメタノールに溶解して 10 mL としたものを標準原液とする。これを 1.36% リン酸一カリウムで希釈して、0.02~1 mg/L 溶液を数点調製し、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 の検量線でオキシテトラサイクリンの含量を求める。

7. 確認試験

LC/MS により確認する。

8. 測定条件

1) HPLC

検出器 : FL (励起波長 380 nm、蛍光波長 520 nm)

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 5 μ m) 内径 4.6 mm、長さ 150~250 mm

カラム温度 : 30°C

移動相 : イミダゾール緩衝液及びメタノール (17 : 3) 混液

保持時間の目安 : 5 分

2) LC/MS

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径 3～5 μm） 内径 2.0～4.6 mm、長さ 50～250 mm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル、0.1%ギ酸溶液及び水（4：15：1）混液

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）：461、443

保持時間の目安：2.5 分

9. 定量限界

0.01 mg/kg

10. 留意事項

1) 試験法の概要

オキシテトラサイクリンを試料からエチレンジアミン四酢酸含有クエン酸緩衝液で抽出し、スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム及びカルボキシメチル基結合型弱酸性陽イオン交換樹脂ミニカラムにより精製して、HPLC-FLで測定、LC/MSで確認する方法である。

2) 注意点

- ① 遠心分離は、4℃で行うことが望ましい。
- ② キウイーなど抽出液の粘性が高い試料については、セライトを5 gほど添加して抽出操作を行うことで、回収率を向上させることが出来る場合がある。
- ③ 8の2)に示した測定条件では、低濃度時においてトータルイオンクロマトグラム上でピークが確認できない場合があるので、試験溶液をさらに濃縮して測定する等の方法で対応する。

11. 参考文献

- 1) 厚生労働省通知第 0124001 号「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」（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）（平成 17 年 1 月 24 日）
- 2) Yoshida K., Uemori H., *Chromatography*, 26, 67-69 (2005)

12. 類型

C

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ものを用いる。

水 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

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（ $C_{16}H_{18}N_3S_2Cl$: 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：クリスタルバイオレット 590 nm、メチレンブルー 665 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