

生食発0527第2号
令和元年5月27日

各 検疫所長 殿

大臣官房生活衛生・食品安全審議官
(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）を下記のとおり改正することとした。

関係者へ周知するとともに、その運用に遺漏なきよう取り計らわたい。

記

1. 目次を別紙1のとおり改め、以下に掲げる6つの試験法を「第3章 個別試験法」に別紙2のとおり追加すること。

- ・アミトラズ試験法（畜産物）
- ・イプフェンカルバゾン試験法（農産物）
- ・プロチオコナゾール試験法（畜産物）
- ・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）

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）
- ・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、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）
- ・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、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（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（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）
- ・ユニコナゾール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）
- ・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）
- ・オキスポコナゾールフマル酸塩試験法（農産物）
- ・オキソリニック酸試験法（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、フルジオキサニル、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、チオフアネート、チオフア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）
- ・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）
- ・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）
- ・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）
- ・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、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）
- ・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）
- ・トリフロキシストロビン試験法（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）
- ・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）
- ・フルアジホップブチル試験法（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（畜水産物）
- ・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）
- ・フルメツラム試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・フロルフエニコール試験法（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）
- ・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）
- ・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）
- ・メタバ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
- ・ α -トレンボロン及び β -トレンボロン試験法
- ・ 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
- ・ クロルスロン試験法
- ・ クロルプロマジン試験法
- ・ 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
- ・ 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

アミトラズ試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

アミトラズ

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 B」という。）

2. 適用食品

畜産物、乳、はちみつ

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。

アミトラズ標準品 本品はアミトラズ 98%以上を含む。

代謝物 B 塩酸塩標準品 本品は代謝物 B 塩酸塩 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

筋肉、脂肪及び内臓の場合は、試料を正確に量り、重量比で 1/2 量のエタノール及び 8 mol/L 水酸化ナトリウム溶液（1 : 1）混液を加え磨砕均一化した後、試料 10.0 g に相当する量を量り採る。乳及びはちみつの場合は、試料 10.0 g に、8 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 2.5 mL を加える。これにメタノール 100 mL を加えてホモジナイズした後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にメタノール 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し、得られた上澄液を合わせ、メタノールを加えて正確に 200 mL とする。この溶液から正確に 2 mL を分取して多孔性ケイソウ土カラム（5 mL 保持用）に注入し、10 分間放置した後、アセトニトリル 30 mL を注入し溶出液を採る。この溶出液に *n*-ヘキサン 30 mL を加えて 5 分間振とうした後、アセトニトリル層を採る。*n*-ヘキサン層は、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL ずつで 2 回振とう抽出し、抽出液を先のアセトニトリル層に合わせる。40°C 以下で濃縮し溶媒を除去する。この残留物にメタノール 2 mL 加えて溶かした後、アセトニトリル 2 mL を加えて軽く振り混ぜる。

2) 精製

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）及びエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）にそれぞれアセトニトリル 10 mL を注

入し、流出液は捨てる。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムの下部にエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムを接続し、1) で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル 10 mL を注入し、負荷液を含む全溶出液を採る。溶出液を 40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及びメタノール (1 : 1) 混液に溶かし、正確に 2 mL としたものを代謝物 B 試験溶液とする。また、代謝物 B 試験溶液から正確に 1 mL を分取し、アセトニトリル及びメタノール (1 : 1) 混液を加えて正確に 10 mL としたものをアミトラズ試験溶液とする。

6. 検量線の作成

アミトラズ標準品及び代謝物 B 塩酸塩標準品のアセトニトリル及びメタノール (1 : 1) 混液の溶液を数点調製し、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の濃度は、アミトラズにあつては 0.00005 mg/L、代謝物 B にあつては 0.0005 mg/L (アミトラズ換算) である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6 の検量線でアミトラズ及び代謝物 B の各含量を求める。代謝物 B を含むアミトラズの含量を求める場合には、次式により求める。

アミトラズ (代謝物 B を含む) の含量 (ppm) = A + B × 1.807

A : アミトラズの含量 (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 : 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 (9 : 1) で 5 分間保持し、(9 : 1) から (0 : 100) までの濃度勾配を 10 分間で行い、(0 : 100) で 10 分間保持する。

イオン化モード : ESI (+)

主なイオン (*m/z*)

アミトラズ : プリカーサーイオン 294、プロダクトイオン 163、122

代謝物 B : プリカーサーイオン 163、プロダクトイオン 122、107

注入量：10 μ L

保持時間の目安

アミトラズ：18 分

代謝物 B：14 分

10. 定量限界

各化合物 0.01 mg/kg（代謝物 B はアミトラズ換算）

11. 留意事項

1) 試験法の概要

アミトラズ及び代謝物 B を試料から塩基性条件下メタノールで抽出し、多孔性ケイソウ土カラム及びアセトニトリル／ヘキサン分配で脱脂した後、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及びエチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製を行い、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。なお、アミトラズ及び代謝物 B のそれぞれについて定量を行い、代謝物 B を含むアミトラズ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アミトラズの含量に変換し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

- ① アミトラズ及び代謝物 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。

アミトラズ

定量イオン (m/z)：プリカーサーイオン 294、プロダクトイオン 163

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 294、プロダクトイオン 122

代謝物 B

定量イオン (m/z)：プリカーサーイオン 163、プロダクトイオン 122

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 163、プロダクトイオン 107

- ② 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、はちみつ

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

イプフェンカルバゾン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

イプフェンカルバゾン

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。

イプフェンカルバゾン標準品 本品はイプフェンカルバゾン 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、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、飽和塩化ナトリウム溶液 20 mL を加え、*n*-ヘキサン 20 mL で振とう抽出した後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、上澄液を採る。水層に *n*-ヘキサン 20 mL を加えて振とう抽出し、上記と同様に遠心分離し、上澄液を採る。得られた上澄液を先の上澄液に合わせ、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（1：9）混液 5 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、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、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、飽和塩化ナトリウム溶液 10 mL を加え、*n*-ヘキサン 10 mL で振とう抽出した後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、上澄液を採る。水層に *n*-ヘキサン 10 mL を加えて振とう抽出し、上記と同様に遠心分離し、上澄液を採る。得られた上澄液を先の上澄液に合わせ、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（1：9）混液 5 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、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、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、飽和塩化ナトリウム溶液 40 mL を加え、*n*-ヘキサン 40 mL で振とう抽出した後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、上澄液を採る。水層に *n*-ヘキサン 40 mL を加えて振とう抽出し、上記と同様に遠心分離し、上澄液を採る。得られた上澄液を先の上澄液に合わせ、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 : 9) 混液 5 mL を加えて溶かす。

2) 精製

① グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層カラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (500 mg/500 mg) にアセトン及び *n*-ヘキサン各 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、アセトン及び *n*-ヘキサン (1 : 9) 混液 5 mL を注入し、負荷液を含む全溶出液を採り、40°C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトニトリル及び水 (3 : 7) 混液 5 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た後、アセトニトリル及び水 (3 : 7) 混液 5 mL を注入し、流出液は捨てる。アセトニトリル及び水 (3 : 2) 混液 10 mL を注入し、溶出液を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

イプフェンカルバゾン標準品のアセトニトリル及び水 (3 : 2) 混液の溶液を数点調製し、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 の検量線でイプフェンカルバゾンの含量を求める。

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 3.5 μm

カラム温度：40°C

移動相：0.01 vol%酢酸・アセトニトリル溶液及び 0.01 vol%酢酸の混液（1：1）で 0.5 分間保持した後、（4：1）までの濃度勾配を 7.5 分間で行い 4 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 427、プロダクトイオン 198

プリカーサーイオン 429、プロダクトイオン 198

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

イプフェンカルバゾンを試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶した後、グラファイトカーボン/エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲル積層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 イプフェンカルバゾンの 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 427、プロダクトイオン 198

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 429、プロダクトイオン 198

- ② 試験法開発時に検討した食品：玄米、大豆、ほうれんそう、キャベツ、ばれいしょ、オレンジ、りんご、及び緑茶

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

プロチオコナゾール試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

代謝物M17 [2- (1-クロロシクロプロピル) -1- (2-クロロフェニル) -3- (1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-イル) -2-プロパノール]（抱合体を含む。）

2. 適用食品

畜産物、乳

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。

代謝物M17標準品 本品は代謝物M17 98%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）を量り採る。アセトニトリル及び水（4：1）混液40 mL及び*n*-ヘキサン20 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。残留物にアセトニトリル及び水（4：1）混液40 mL及び*n*-ヘキサン20 mLを加え、ホモジナイズし、上記と同様に遠心分離し、得られた上澄液を合わせる。アセトニトリル及び水混液層を採り、消泡用シリコン3滴を加え、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

2) 加水分解

1) で得られた残留物に水10 mL及び5 mol/L塩酸20 mLを加え、還流装置に接続し、2時間加熱還流を行い、代謝物M17の抱合体を加水分解する。放冷後、反応液に水を加えて正確に100 mLとする。

3) 精製

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5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。2) で得られた溶液から正確に10 mL（脂肪の場合は20 mL）を分取し、このカラムに注入した後、アセトニトリル及び水（1：4）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでアセトニトリル及び水（4：1）混液10 mLを注入し、溶出液をアセトニトリル及び水（4：1）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

代謝物M17標準品のアセトニトリル及び水（4：1）混液の溶液を数点調製し、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、筋肉、脂肪及び内臓にあつては、試料中0.01 mg/kg（プロチオコナゾール換算）に相当する試験溶液中濃度は0.001 mg/L（プロチオコナゾール換算）である。乳にあつては、試料中0.004 mg/kg（プロチオコナゾール換算）に相当する試験溶液中濃度は0.0004 mg/L（プロチオコナゾール換算）である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6の検量線で代謝物M17の含量を求め、次式により、プロチオコナゾール（代謝物M17及びその抱合体を含む）の含量を求める。

プロチオコナゾール（代謝物M17及びその抱合体を含む）の含量（ppm）=代謝物M17の含量（ppm）×1.103

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℃

移動相：5 mmol/L酢酸アンモニウム溶液及びアセトニトリルの混液（1：1）から（1：9）

までの濃度勾配を10分間で行い、（1：9）で5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 312、プロダクトイオン 125、70

注入量：4 µL

保持時間の目安：6分

10. 定量限界

筋肉、脂肪及び内臓：0.01 mg/kg（プロチオコナゾール換算）

乳：0.004 mg/kg（プロチオコナゾール換算）

11. 留意事項

1) 試験法の概要

代謝物M17及びその抱合体を試料から n -ヘキサン存在下アセトニトリル及び水（4：1）

混液で抽出する。代謝物M17の抱合体を塩酸で加水分解して代謝物M17とし、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製した後、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

なお、代謝物M17の含量に換算係数を乗じてプロチオコナゾールの含量に変換し分析値とする。

2) 注意点

- ① 代謝物M17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 312、プロダクトイオン 70
定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 312、プロダクトイオン 125
- ② 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

12. 参考文献

- ・ JAU6476 Independent Method Validation (Battelle Study Number A4-14-01-01)
- ・ [Phenyl-UL-¹⁴C]JAU6476-desthio Absorption, Distribution, Excretion, and Metabolism in the Lactating Goat

13. 類型

C

プロポキシカルバゾン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

プロポキシカルバゾン

メチル 2- [[[[4,5-ジヒドロ-3- (2-ヒドロキシプロポキシ) -4-メチル-5-オキソ-1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-イル] カルボニル] アミノ] スルホニル] ベンゾエート (以下「代謝物A」という。)

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。

プロポキシカルバゾンナトリウム塩標準品 本品はプロポキシカルバゾンナトリウム塩98%以上を含む。

代謝物A標準品 本品は代謝物A 97%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。これにメタノール100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にメタノール50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、メタノールを加えて正確に200 mLとする。この溶液から正確に20 mLを分取し、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5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

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、水及びアセトニトリル各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た後、アセトニトリル5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及び水 (7 : 3) 混液10 mLを注入し、溶出液を採り、アセトニトリル及び水 (7 : 3) 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

プロポキシカルバゾンナトリウム塩標準品をメタノールに溶かして200 mg/L (プロポキシカルバゾン換算) とし標準原液とする。同様に代謝物A標準品をメタノールに溶かして200 mg/Lの標準原液とする。各標準原液を適宜混合してアセトニトリル及び水 (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 (代謝物Aはプロポキシカルバゾン換算) に相当する試験溶液中濃度は0.001 mg/L (代謝物Aはプロポキシカルバゾン換算) である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6の検量線でプロポキシカルバゾン及び代謝物Aの各含量を求める。

代謝物Aを含むプロポキシカルバゾンの含量を求める場合には、次式により求める。

プロポキシカルバゾン (代謝物Aを含む。) の含量 (ppm) = A + B × 0.9614

A : プロポキシカルバゾンの含量 (ppm)

B : 代謝物A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5 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 (3 : 7) から (7 : 3) までの濃度勾配を10分間で行った後、(9 : 1) で5分間保持する。

イオン化モード : ESI (-)

主なイオン (*m/z*)

プロポキシカルバゾン : プリカーサーイオン 397、プロダクトイオン 156、113

代謝物A : プリカーサーイオン 413、プロダクトイオン 172、113

注入量 : 4 µL

保持時間の目安

プロポキシカルバゾン : 9分

代謝物A : 5分

10. 定量限界

各化合物0.01 mg/kg (代謝物Aはプロポキシカルバゾン換算)

11. 留意事項

1) 試験法の概要

プロポキシカルバゾン及び代謝物Aを試料からメタノールで抽出し、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 プロポキシカルバゾン及び代謝物A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。

プロポキシカルバゾン

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 397、プロダクトイオン 156

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 397、プロダクトイオン 113

代謝物A

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 413、プロダクトイオン 172

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 413、プロダクトイオン 113

- ② プロポキシカルバゾンはアセトニトリルに溶けにくいため、標準原液調製時には作成する濃度によっては注意すること。
- ③ 試験法開発時に検討した食品：小麦

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

プロポキシカルバゾン試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

プロポキシカルバゾン

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。

プロポキシカルバゾンナトリウム塩標準品 本品はプロポキシカルバゾンナトリウム塩98%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。ろ紙上の残留物にメタノール50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせ、メタノールを加えて正確に200 mLとする。この溶液から正確に20 mLを分取し、40℃以下で約1 mLに濃縮する。これに*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で2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃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5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

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、水及びアセトニトリル各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た後、アセトニトリル5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル及び水（7：3）混液10 mLを注入し、溶出液を採り、アセトニトリル及び水（7：3）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

プロポキシカルバゾンナトリウム塩標準品をメタノールに溶かして200 mg/L（プロポキシカルバゾン換算）とし標準原液とする。標準原液をアセトニトリル及び水（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の検量線でプロポキシカルバゾンの含量を求める。

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 vol%ギ酸の混液（3：7）から（7：3）までの濃度勾配を10分間で行った後、（9：1）で5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 397、プロダクトイオン 156、113

注入量：4 μL

保持時間の目安：9分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

プロポキシカルバゾンを試料からメタノールで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、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 プロポキシカルバゾンの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 397、プロダクトイオン 156

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 397、プロダクトイオン 113

- ② プロポキシカルバゾンはアセトニトリルに溶けにくいいため、標準原液調製時には作成する濃度によっては注意すること。

③ 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

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

フロルフェニコール試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

フロルフェニコール

代謝物FFNH₂ [(1*R*,2*S*)-1-(4-メチルスルホニルフェニル)-2-アミノ-3-フルオロ-1-プロパノール]（以下「フロルフェニコールアミン」という。加水分解によりフロルフェニコールアミンに変換される化合物を含む。）

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。

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。

フロルフェニコール標準品 本品はフロルフェニコール98%以上を含む。

フロルフェニコールアミン標準品 本品はフロルフェニコールアミン97%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 加水分解及び抽出

試料10.0 gに6 mol/L塩酸20 mLを加え、密栓して100℃で3時間加熱する。放冷後、水10 mL及び*n*-ヘキサン40 mLを加え、振とう後、毎分3,000回転で5分間遠心分離する。*n*-ヘキサン層を捨て、水層にケイソウ土2 gを加えて混合した後、吸引ろ過する。容器及びろ紙上の残留物をアセトン及び水（1：1）混液10 mLで2回洗い、洗液を吸引ろ過する。ろ液を合わせ、水を加えて正確に100 mLとする。

2) 精製

① 多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィー

1) で得られた溶液から正確に2.5 mLを分取し、7.5 mol/L水酸化ナトリウム溶液1 mL及び塩化ナトリウム1 gを加えよく混合した後、多孔性ケイソウ土カラム（5

mL保持用) に注入する。このカラムを30分間放置した後、酢酸エチル30 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0.1 vol%酢酸及びメタノール (1 : 1) 混液1 mLを加えて溶かす。

② 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カラムクロマトグラフィー

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2 mL及び0.1 vol%酢酸及びメタノール (1 : 1) 混液3 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、0.1 vol%酢酸及びメタノール (1 : 1) 混液3 mL及びメタノール2 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、アンモニア水及びメタノール (1 : 99) 混液5 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 (9 : 1) 混液に溶かし、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

フロルフェニコールアミン標準品の0.1 vol%酢酸及びメタノール (9 : 1) 混液の溶液を数点調製し、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0.0025 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6の検量線でフロルフェニコールアミンの含量を求める。

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%酢酸 (1 : 99) 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248、プロダクトイオン230、130

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

試料に塩酸を加えて加熱し、フロルフェニコール及びその代謝物をフロルフェニコールアミンに加水分解後、*n*-ヘキサンで洗浄し、多孔性ケイソウ土カラム及び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 加水分解操作については、フロルフェニコール標準品を用いて、加水分解が十分に行われていることを確認すること。
- ② 加水分解においては、試料の塊がなくなり、暗褐色～黒色の溶液状態となるまで加熱すること。
- ③ 吸引ろ過の際、ろ過速度が遅い場合は、ガラス繊維ろ紙を用いると良い。
- ④ 吸引ろ過の際、気泡が発生し、定容が困難な場合は毎分3,000回転で5分間遠心分離すると良い。
- ⑤ *n*-ヘキサンで洗浄した後、浮遊物が認められない場合は、吸引ろ過を行う必要はない。吸引ろ過を行わない場合の操作を以下に示す。
n-ヘキサン層を捨て、水層にアセトン10 mLを加えた後、水を加えて正確に100 mLとする。
- ⑥ 定容の際、激しく振とうすると、試料によっては泡立つ場合があるため、穏やかに転倒混和する。
- ⑦ 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カラムクロマトグラフィーにおいて、濃縮の際に水が残る場合は、40℃以下で約0.5 mLまで濃縮した後、エタノールを2 mL程度加えて再度濃縮すると良い。
- ⑧ 多孔性ケイソウ土カラムクロマトグラフィーのみで精製が十分である場合は、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カラムクロマトグラフィーを省略してもよい。
- ⑨ 試験法開発時の基準値濃度での添加回収試験においては、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カラムクロマトグラフィーを省略した。
- ⑩ フロルフェニコールアミンの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248、プロダクトイオン230

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン248、プロダクトイオン130

- ⑪ 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、フロルフェニコールアミンが溶出した後に移動相のアセトニトリル濃度を上げてカラムを洗浄すると良い。
- ⑫ 試験法開発時に使用したフロルフェニコールのLC-MS/MS測定条件を以下に示す。

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%酢酸 (1 : 99) 混液で6分間保持した後、(1 : 99) から (19 : 1) までの濃度勾配を6分間で行い、(19 : 1) で5分間保持する。

イオン化モード : ESI (-)

主なイオン

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン356、プロダクトイオン336

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン356、プロダクトイオン185

注入量 : 5 μL

保持時間の目安 : 11分

- ⑬ 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、うなぎ

12. 参考文献

Determination and Confirmation of Florfenicol. CLG-FLOR 1.04. Revision 04. United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health Science, 2010.

13. 類型

C