

食安発 1028 第 4 号  
平成 22 年 10 月 28 日

各 検疫所長 殿

医薬食品局食品安全部長  
(公 印 省 略)

食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法の一部改正について

今般、農薬、飼料添加物及び動物用医薬品に関する試験法に係る知見の集積等を踏まえ、「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」（平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号当職通知。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 3 章個別試験法中「イマズスルフロン及びベンスルフロンメチル試験法」に係る部分の次に別紙 2 の「イミシアホス試験法（農産物）」を、「シアン化水素試験法（農産物）」に係る部分の次に別紙 3 の「シエノピラフェン試験法（農産物）」を、「フルスルファミド試験法」に係る部分の次に別紙 4 の「フルセトスルフロン試験法（農産物）」を加える。なお、「シエノピラフェン試験法（農産物）」の開発に当たっては、1 機関の結果であるが、玄米、大豆、ほうれんそう、キャベツ、ばれいしよ、なす、オレンジ、りんご、いちご、茶及びみかんの果皮について、本試験法が適用可能であることが確認されており、本試験法の実施に際しては参考とされたい。

## 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、 $\gamma$ -BHC、DDT、アルドリン及びディルドリン、エタルフルラリン、エトリジアズール、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、ハルフェンブロックス、フェンプロパトリン、ヘキサクロロベンゼン、ヘプタクロル、ベンフルラリン並びにメトキシクロール試験法（農産物）
- ・ 2,4-D、2,4-DB及びクロプロップ試験法（農産物）
- ・ 2,2-DPA試験法（農産物）
- ・ DCIP試験法
- ・ DBEDC試験法（農産物）
- ・ EPN、アニコホス、イサゾホス、イプロベンホス、エチオン、エディフェンホス、エトプロホス、エトリムホス、カズサホス、キナルホス、クロルピリホス、クロルピリホスメチル、クロルフェンビンホス、シアノホス、ジスルホトン、ジメチルビンホス、ジメトエート、スルプロホス、ダイアジノン、チオメトン、テトラクロルビンホス、テルブホス、トリアゾホス、トリブホス、トルクロホスメチル、パラチオン、パラチオンメチル、ピペロホス、ピラクロホス、ピラゾホス、ピリダフェンチオン、ピリミホスメチル、フェナミホス、フェントロチオン、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
- ・ MCPA及びジカンバ試験法
- ・ Seep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）
- ・ アシベンゾラルSメチル試験法
- ・ アジムスルフロンの、ハロスルフロンのメチル及びフラザスルフロンの試験法

- アシュラム試験法（農産物）
- アセキノシル試験法
- アセタミプリド試験法（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）
- アニラジン試験法（農産物）
- アミトラズ試験法（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、アルジカルブスルホキシド、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（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、ドラメクチン及びモキシデクチン試験法（畜水産物）
- イマザモックスアンモニウム塩試験法
- 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
- イミシアホス試験法（農産物）
- 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、クロルプロファム、チオベンカルブ、ピリブチカルブ及びペンディメタリン試験法
- エチクロゼート試験法
- エチプロール試験法（農産物）
- エチプロール試験法（水産物）
- エテホン試験法（農産物）
- エトキサゾール試験法
- 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（畜水産物）
- 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（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
- オリサストロビン試験法（農産物）
- オルトフェニルフェノール及びジフェニル試験法（農産物）
- オルメトプリム、ジアベリジン、トリメトプリム及びピリメタミン試験法（畜水産物）
- カフェンストロール、ジフェノコナゾール、シプロコナゾール、シメトリン、チフルザミド、テトラコナゾール、テブコナゾール、トリアジメノール、フルジオキサニル、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
- カルベンダジム、チオファネート、チオファネートメチル及びベノミル試験法（農産物）
- カルボスルファン、カルボフラン、フラチオカルブ及びベンフラカルブ試験法（農産物）
- カンタキサンチン試験法
- 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、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
- 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（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
- 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（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
- 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（農産物）
- ・ シアゾファミド試験法（農産物）
- ・ 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（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
- ・ 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（農産物）
- ・ ジクロベニル試験法（農産物）
- ・ 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（農産物）
- ・ ジチアノン試験法（農産物）
- ・ ジチオピル及びチアゾピル試験法（農産物）
- ・ ジノカップ試験法（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
- ・ 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
- ・ シフルメトフェン試験法（農産物）
- ・ 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（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
- ・ 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
- ・ スピロメシフェン試験法（農産物）
- ・ スピロメシフェン試験法（畜水産物）
- ・ スルファキノキサリン、スルファジアジン、スルファジミジン、スルファジメトキシシ、ス

- ルファメトキサゾール、スルファメトキシピリダジン、スルファメラジン、スルファモノメトキシシ及びスルフィソゾール試験法（畜水産物）
- ・スルファジミジン試験法
  - ・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（畜水産物）
  - ・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（農産物）
  - ・ターバシル試験法
  - ・チアジニル試験法（農産物）
  - ・チアベンダゾール及び5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン試験法
  - ・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
  - ・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
  - ・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（農産物）
  - ・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
  - ・鉛試験法
  - ・ニコチン試験法（農産物）
  - ・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（農産物）
  - ・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（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

- ・ピラクロストロビン試験法（農産物）
- ・ピラクロストロビン試験法（畜産物）
- ・ピラクロニル試験法（農産物）
- ・ピラゾキシフェン試験法
- ・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（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
- ・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
- ・フェリムゾン試験法（水産物）
- ・フェンアミドン試験法（農産物）
- ・フェンアミドン試験法（畜産物）
- ・フェントラザミド試験法
- ・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（農産物）
- ・ブチレート試験法
- ・プラジクアンテル試験法（畜水産物）
- ・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
- ・フルオピコリド試験法（農産物）
- ・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（農産物）
- ・フルシラゾール試験法
- ・フルスルファミド試験法
- ・フルセトスルフロニル試験法（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
- ・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（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
- ・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（農産物）
- 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（農産物）
- 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
- メタアルデヒド試験法（農産物）
- メタベンズチアズロン試験法
- メタミトロン試験法（農産物）
- メチオカルブ試験法
- メトコナゾール試験法（農産物）
- メトプレン試験法（農産物）
- メトリブジン試験法
- 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（農産物）
- 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
- カブタホール試験法
- 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
- $\alpha$ -トレンボロン及び $\beta$ -トレンボロン試験法
- 二臭化エチレン試験法
- ニトロフラゾン試験法
- ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドン試験法
- プロファム試験法
- マラカイトグリーン試験法

## イミシアホス試験法（農産物）

## 1. 分析対象化合物

イミシアホス

## 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3に示すものを用いる。

0.5 mol/Lリン酸緩衝液（pH7.0） リン酸水素二カリウム（ $K_2HPO_4$ ）52.7 g及びリン酸二水素カリウム（ $KH_2PO_4$ ）30.2 gを量り採り、水約500 mLに溶解し、1 mol/L水酸化ナトリウム溶液又は1 mol/L塩酸を用いてpHを7.0に調整した後、水を加えて1 Lとする。

イミシアホス標準品 本品はイミシアホス98%以上を含み、融点は $-58.8\sim-50.5^{\circ}C$ である。

## 4. 試験溶液の調製

## 1) 抽出

## ①穀類、豆类及び種実類の場合

試料10.0 gに水20 mLを加え、30分間放置する。

これにアセトニトリル50 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20 mLを加え、ホモジナイズした後、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。

抽出液20 mLを採り、塩化ナトリウム10 g及び0.5 mol/Lリン酸緩衝液（pH7.0）20 mLを加え、10分間振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1,000 mg）にアセトニトリル10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記のアセトニトリル層を注入し、さらに、アセトニトリル2 mLを注入して、全溶出液を採り、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 $40^{\circ}C$ 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物にアセトニトリル及びトルエン（3：1）混液2 mLを加えて溶かす。

## ②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、試料20.0 gを量り採る。茶及びホップの場合は、試料5.00 gに水20 mLを加え、30分間放置する。

これにアセトニトリル50 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20 mLを加え、ホモジナイズした後、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。

抽出液20 mLを採り、塩化ナトリウム10 g及び0.5 mol/Lリン酸緩衝液 (pH7.0) 20 mLを加え、振とうする。静置した後、分離した水層を捨てる。アセトニトリル層に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。残留物にアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液2 mLを加えて溶かす。

## 2) 精製

グラファイトカーボン/アミノ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、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液20 mLを注入し、全溶出液を40℃以下で1 mL以下に濃縮する。これにアセトン10 mLを加えて40℃以下で1 mL以下に濃縮し、再度アセトン5 mLを加えて濃縮し、溶媒を除去する。残留物をメタノールに溶かして、穀類、豆類及び種実類の場合は正確に4 mL、果実、野菜及びハーブの場合は正確に8 mL、茶及びホップの場合は正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

## 5. 検量線の作成

イミシアホス標準品の0.005~0.1 mg/Lメタノール溶液 (メタノール) を数点調製し、それぞれ5 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。

## 6. 定量

試験溶液5 µLをLC-MSに注入し、5の検量線でイミシアホスの含量を求める。

## 7. 確認試験

LC-MS又はLC-MS/MSにより確認する。

## 8. 測定条件

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3.5 µm

カラム温度：40℃

移動相：A液及びB液について下表の濃度勾配で送液する。

A液：5 mmol/L酢酸アンモニウム溶液

B液：5 mmol/L酢酸アンモニウム・メタノール溶液

時間 (分)	A液 (%)	B液 (%)
0	85	15
1	60	40
3.5	60	40
6	50	50
8	45	55
17.5	5	95
30	5	95
30	85	15

イオン化モード： ESI (+)

主なイオン ( $m/z$ )： 305, 306

保持時間の目安： 14分

## 9. 定量限界

0.01 mg/kg

## 10. 留意事項

### 1) 試験法の概要

イミシアホスを試料からアセトニトリルで抽出し、塩析で水を除いた後、果実、野菜等についてはそのまま、穀類、豆類及び種実類についてはオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムで精製後、いずれもグラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラムで精製し、LC-MSで定量及び確認する方法である。

### 2) 注意点

①本法は「LC/MSによる農薬等の一斉試験法 I (農産物)」に準拠したものである。

②イミシアホスのLC-MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

定量イオン ( $m/z$ )： 305

定性イオン ( $m/z$ )： 306

③LC-MS/MSを用いる場合の主なイオンの例を以下に示す。

プリカーサーイオン ( $m/z$ )： 305

プロダクトイオン ( $m/z$ )： 235, 201

## 11. 参考文献

厚生労働省通知食安発第1129002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 (一部改正)」(平成17年11月29日)、「LC/MSによる農薬等の一斉試験法 I (農産物)」

1 2. 類型  
C

## シエノピラフェン試験法（農産物）

## 1. 分析対象化合物

シエノピラフェン

## 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3に示すものを用いる。

シエノピラフェン標準品 本品はシエノピラフェン 98%以上を含み、融点は107～108℃である。

## 4. 試験溶液の調製

## 1) 抽出

果実及び野菜の場合は試料20.0 gを量り採る。穀類、豆類及び種実類の場合は試料10.0 g、茶の場合は試料5.00 gにそれぞれ水20 mLを加え、30分間放置する。

これにアセトニトリル及び水（4：1）混液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、アセトニトリル及び水（4：1）混液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、アセトニトリルを加えて正確に200 mLとする。この2 mL（茶の場合は4 mL）を採り、これに水10 mLを加えて、40℃以下で約10 mLまで濃縮する。

## 2) 精製

## ① 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及びグラファイトカーボン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（1,000 mg）にアセトニトリル及び水各5 mLを順次注入し、流出液は捨てる。グラファイトカーボンミニカラム（500 mg）にアセトニトリル及び水（4：1）混液5 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に、1) で得られた溶液を注入した後、さらにアセトニトリル及び水（3：2）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでこのカラムの下部にグラファイトカーボンミニカラムを接続し、アセトニトリル及び水（4：1）混液15 mLを注入する。溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：19）混液5 mLを加えて溶かす。

## ② シリカゲルカラムクロマトグラフィー

シリカゲルミニカラム（690 mg）に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：19）混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに①で得られた溶液を注入した後、さらに酢酸エチル及び*n*-ヘキ

サン（1：19）混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：4）混液10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水（3：1）混液に溶解し、果実及び野菜の場合は正確に4 mL、穀類、豆類、種実類及び茶の場合は正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

#### 5. 検量線の作成

シエノピラフェン標準品の0.0005～0.01 mg/L溶液（アセトニトリル及び水（3：1）混液）を数点調製し、それぞれ5 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。

#### 6. 定量

試験溶液5 μLをLC-MSに注入し、5の検量線でシエノピラフェンの含量を求める。

#### 7. 確認試験

LC-MSにより確認する。

#### 8. 測定条件

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：0.1%ギ酸及び0.1%ギ酸・アセトニトリル溶液混液（1：3）で15分間保持した後、（1：19）までの濃度勾配を0.5分間で行い、（1：19）で8分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）：394、395

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

シエノピラフェンを試料から含水アセトニトリルで抽出し、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムとグラファイトカーボンミニカラムの連結カラム及びシリカゲルミニカラムで精製した後、LC-MSで定量及び確認する方法である。

##### 2) 注意点

①みかんの果皮の場合は、試験法開発時には、試料10.0 gを用いて抽出し、試験溶液量を2 mLとした。

②大豆、茶及びみかんの果皮を用いて、試験法開発時に「LC/MSによる農薬等の一斉試験法 I（農産物）」への適用を検討したところ、適用困難であった。

1 1. 参考文献

なし

1 2. 類型

C



## フルセトスルフロン試験法（農産物）

### 1. 分析対象化合物

フルセトスルフロン

### 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3に示すものを用いる。

フルセトスルフロン標準品 本品はフルセトスルフロン98%以上を含み、融点は172～176℃である。

### 4. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

果実及び野菜の場合は試料20.0 gを量り採る。穀類、豆類及び種実類の場合は試料10.0 g、茶の場合は試料5.00 gにそれぞれ水20 mLを加え、30分間放置する。

これにアセトニトリル及び水（4：1）混液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、アセトニトリル及び水（4：1）混液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、アセトニトリル及び水（4：1）混液を加えて正確に200 mLとする。果実及び野菜の場合はこの1 mL（穀類、豆類及び種実類の場合は2 mL、茶の場合は4 mL）を採り、さらにこれにアセトニトリル及び水（4：1）混液9 mL（穀類、豆類及び種実類の場合は8 mL、茶の場合は6 mL）を加える。

#### 2) 精製

##### ①グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム（500 mg）にアセトニトリル及び水（4：1）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1)で得られた溶液を注入し、さらにアセトニトリル及び水（4：1）混液50 mLを注入し、全溶出液を採り、40℃以下で約8 gまで濃縮し、アセトニトリルを留去する。アセトニトリル留去後、水を加え約10 gとした後、酢酸0.1 mLを添加する。

##### 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（1,000 mg）に1%酢酸・アセトニトリル溶液及び1%酢酸各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、さらに1%酢酸及び1%酢酸・アセトニトリル溶液（7：3）混液10 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで1%酢酸及び1%酢酸・アセトニトリル溶液（1：1）混液10 mLを注入し、溶出液を40℃以

下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトニトリル及び水（4：1）混液10 mLを加えて溶かす。

### ③トリメチルアミノ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

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（500 mg）にアセトニトリル及び水（4：1）混液10 mLを注入し、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、さらにアセトニトリル及び水（4：1）混液10 mLを注入し、全溶出液を採り、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水（2：3）混液に溶解し、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

フルセトスルフロンの標準品の0.0005～0.01 mg/L溶液（アセトニトリル及び水（2：3）混液）を数点調製し、それぞれ5 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。

## 6. 定量

試験溶液5 µLをLC-MSに注入し、5の検量線でフルセトスルフロンの含量を求める。

## 7. 確認試験

LC-MSにより確認する。

## 8. 測定条件

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2.0 mm、長さ150 mm、粒子径5 µm

カラム温度：40℃

移動相：0.1%酢酸及び0.1%酢酸・アセトニトリル溶液（3：2）混液

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（ $m/z$ ）：488、510

保持時間の目安：12分

## 9. 定量限界

0.01 mg/kg

## 10. 留意事項

### 1) 試験法の概要

フルセトスルフロンを試料から含水アセトニトリルで抽出し、グラファイトカーボンミニカラム、オクタデシ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、LC-MSで定量及び確認する方法である。

### 2) 注意点

①フルセトスルフロンは、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニ

カラムから溶出不良であったため、「LC-MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ（農産物）」は適用できなかった。

②玄米については「LC-MSによる農薬等の一斉試験法Ⅱ（農産物）」が適用可能であったが、茶については適用困難であった。

③フルセトスルフロンのLC-MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

定量イオン ( $m/z$ ) : 488

定性イオン ( $m/z$ ) : 510

#### 1 1. 参考文献

なし

#### 1 2. 類型

C