

生食発1225第8号
平成29年12月25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）を別添のとおり改正することとしました。

改正の概要については、下記のとおりですので、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願いいたします。

記

農薬、飼料添加物及び動物用医薬品に係る知見の集積等を踏まえ、目次を別紙1のように改め、以下に掲げる試験法について別紙2から6のとおり「第3章 個別試験法」に追加すること。

- ・アピラマイシン試験法（畜産物）
- ・カルボキシシン試験法（農産物）
- ・ノルフルラゾン試験法（農産物）
- ・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）

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）
- ・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）
- ・MCPA及びジカンバ試験法（農産物）
- ・Seebach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、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（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（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）
- ・エトフェンブロックス試験法（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）
- ・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）
- ・カンタキサシン試験法（畜水産物）
- ・キサ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ム、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ム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）
- ・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）
- ・テブ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）
- ・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）
- ・フルカルバジ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）
- ・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）
- ・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
- ・ ブロチゾラム試験法
- ・ プロファム試験法
- ・ マラカイトグリーン試験法

アピラマイシン試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

アピラマイシン

ジクロロイソエバニニック酸（加水分解によりジクロロイソエバニニック酸に変換される化合物を含む。）

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。

アピラマイシン標準品 本品はアピラマイシン98%以上を含む。

ジクロロイソエバニニック酸標準品 本品はジクロロイソエバニニック酸98%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50 mLを加え、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する。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。

2) 加水分解

1) で得られた溶液から正確に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1 mol/L水酸化ナトリウム溶液4 mLを加え、70°Cで2時間加熱する。放冷後、水10 mL及び酢酸エチル10 mLを加え振とうする。酢酸エチル層を捨て、水層にリン酸2 mLを加えた後、酢酸エチル15 mL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。この残留物にギ酸、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：100：900）混液2 mLを加えて溶かす。

3) 精製

シリカゲルミニカラム（1,000 mg）にギ酸、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：100：900）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た後、ギ酸、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：100：900）混液8 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでギ酸、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：300：700）混液15 mLを注入し、溶出液を40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶かし、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

ジクロロイソエバニニック酸標準品の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0.01 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でジクロロイソエバニニック酸の含量を求める。

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0.01 vol%ギ酸混液（1：9）から（7：3）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249、プロダクトイオン190

プリカーサーイオン251、プロダクトイオン192

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

アビラマイシン及びその代謝物を試料からアセトンで抽出し、塩基性条件下で加水分解してジクロロイソエバニニック酸に変換する。酢酸エチルで洗浄後、リン酸酸性下酢酸エチルに転溶し、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 加水分解操作については、アビラマイシン標準品を用いて、加水分解が十分に行われていることを確認すること。
- ② 加水分解後の酢酸エチルでの洗浄及び酸性条件下での酢酸エチルへの転溶の際、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こと。
- ③ ジクロロイソエバニニック酸の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249、プロダクトイオン190
定性イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン251、プロダクトイオン192
- 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、ジクロロイソエバニニック酸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。
- ⑤ 試験法開発時に検討した食品：豚の筋肉、豚の脂肪、豚の肝臓

12. 参考文献

なし

13. 類型
C

カルボキシシン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

カルボキシシン

5,6-ジヒドロ-3-カルボキシアニリド-2-メチル-1,4-オキサシン-4-オキシド（以下「カルボキシンスルホキシド」という。）

2. 適用食品

穀類、豆類、種実類、野菜

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。

0.5 mol/Lリン酸緩衝液（pH 7.0） 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。

チオ尿素 チオ尿素（特級）

カルボキシシン標準品 本品はカルボキシシン98%以上を含む。

カルボキシンスルホキシド標準品 本品はカルボキシンスルホキシド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5 w/v%チオ尿素溶液20 mLを加え、30分間放置する。

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、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200 mLとする。

この溶液から正確に20 mLを分取し、塩化ナトリウム10 g及び0.5 mol/Lリン酸緩衝液（pH 7.0）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、更に、アセトニトリル6 mLを注入して、全溶出液を採り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 野菜の場合

試料を正確に量り、重量比で等量の5 w/v%チオ尿素溶液を加えホモジナイズした後、試料20.0 gに相当する量を量り採る。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、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200 mLとする。

この溶液から正確に20 mLを分取し、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6 mLを注入して、全溶出液を採り40°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) 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、更にアセトニトリル及びトルエン (3 : 1) 混液15 mLを注入し、全溶出液を40 °C以下で溶媒を除去する。残留物にメタノールを加えて溶かし、穀類、豆類及び種実類の場合は正確に5 mL、野菜の場合は正確に10 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

カルボキシン標準品及びカルボキシンスルホキシド標準品をそれぞれアセトンに溶解して標準原液を調製する。各標準原液を適宜混合してメタノール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0.005 mg/kg (カルボキシンスルホキシドはカルボキシン換算) に相当する試験溶液中濃度は0.001 mg/L (カルボキシンスルホキシドはカルボキシン換算) である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でカルボキシン及びカルボキシンスルホキシドの各含量を求める。カルボキシンスルホキシドを含むカルボキシンの含量を求める場合には、次式により求める。

カルボキシン (カルボキシンスルホキシドを含む。) の含量 (ppm) = $A + B \times 0.9363$

A : カルボキシンの含量 (ppm)

B : カルボキシンスルホキシドの含量 (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 : 2 mmol/Lギ酸アンモニウム溶液及び2 mmol/Lギ酸アンモニウム・メタノール溶液の混液 (7 : 3) から (1 : 4) までの濃度勾配を20 分間で行う。

イオン化モード : ESI (+)

主なイオン (m/z)

カルボキシン : プリカーサーイオン 236、プロダクトイオン 143、87

カルボキシンスルホキシド：プリカーサーイオン 252、プロダクトイオン 159、131
注入量：2 μ L
保持時間の目安
カルボキシシン：17 分
カルボキシンスルホキシド：10 分

10. 定量限界

カルボキシシン：0.005 mg/kg
カルボキシンスルホキシド：0.005 mg/kg（カルボキシシン換算）

11. 留意事項

1) 試験法の概要

カルボキシシン及びカルボキシンスルホキシドを試料からチオ尿素存在下アセトニトリルで抽出し、塩析で水を除いた後、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム及び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/MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① カルボキシシン及びカルボキシンスルホキシドの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。

カルボキシシン

定量イオン (m/z)：プリカーサーイオン 236、プロダクトイオン 143

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 236、プロダクトイオン 87

カルボキシンスルホキシド

定量イオン (m/z)：プリカーサーイオン 252、プロダクトイオン 159

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 252、プロダクトイオン 131

- ② 試験法開発時には、分析操作中にカルボキシシン及びカルボキシンスルホキシドのカルボキシンスルホン（オキシカルボキシシン）への変換は見られなかったが、必要に応じてカルボキシンスルホンへの変換がないことを確認すること。
- ③ 試験法開発時に検討した食品：小麦、えだまめ、小豆、たまねぎ、未成熟いんげん

12. 参考文献

厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第1003001号「GC/MSによる農薬等の一斉試験法（農産物）」及び「LC/MSによる農薬等の一斉試験法 I（農産物）」（平成18年10月3日）

佐々木久美子ら、果実中のエトキシキン分析法の評価、食衛誌、**43**、366-370（2002）

13. 類型

C

ノルフルラゾン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

ノルフルラゾン

4-クロロ-5-（アミノ）-2-（ α,α,α -トリフルオロ-*m*-トリル）-3-（2*H*）-ピリダジノン（以下「代謝物B」という。）

2. 適用食品

穀類、豆類、種実類、果実及び野菜

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。

0.5 mol/Lリン酸緩衝液（pH 7.0） 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。

ノルフルラゾン標準品 本品はノルフルラゾン98%以上を含む。

代謝物B標準品 本品は代謝物B 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を加えて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。この溶液から正確に20 mLを分取し、塩化ナトリウム10 g及び0.5 mol/Lリン酸緩衝液（pH 7.0）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3 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°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 果実及び野菜の場合

試料20.0 g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を加えて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。この溶液から正確に20 mLを分取し、塩化ナトリウム10 g及び0.5 mol/Lリン酸緩衝液（pH 7.0）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。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°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) 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、さらに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℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をメタノールに溶かし、穀類、豆類及び種実類の場合は正確に2 mL、果実、野菜等の場合は正確に4 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

ノルフルラゾン標準品及び代謝物 B 標準品をそれぞれメタノールに溶解して標準原液を調製する。各標準原液を適宜混合してメタノール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 0.005 mg/kg に相当する試験溶液中濃度は 0.005 mg/L である。

7. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、6. の検量線でノルフルラゾン及び代謝物 B の含量を求める。代謝物 B を含むノルフルラゾンの含量を求める場合には、次式により求める。

ノルフルラゾン（代謝物 B を含む。）の含量 (ppm) = A+B×1.048

A：ノルフルラゾンの含量 (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100 mm、粒子径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

イオン化モード：ESI (+)

主なイオン (m/z)

ノルフルラゾン：プリカーサーイオン304、プロダクトイオン284、102

代謝物B：プリカーサーイオン290、プロダクトイオン270、160

注入量：5 μ L

保持時間の目安

ノルフルラゾン：11分

代謝物B：9分

10. 定量限界

各化合物 0.005 mg/kg (代謝物 B はノルフルラゾン換算)

11. 留意事項

1) 試験法の概要

ノルフルラゾン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/MS で定量及び確認する方法である。

2) 注意点

① 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。

ノルフルラゾン

定量イオン (m/z)：プリカーサーイオン 304、プロダクトイオン 284

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 304、プロダクトイオン 102

代謝物B

定量イオン (m/z)：プリカーサーイオン 290、プロダクトイオン 270

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン 290、プロダクトイオン 160

② 試験法開発時に検討した食品：らっかせい、アスパラガス、オレンジ及びりんご

12. 参考文献

厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第号0526001号の第2章一斉試験法「LC/MSによる農薬等の一斉試験法I（農産物）」（平成18年5月26日）

13. 類型

C

フェンチオン試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

フェンチオン

フェンチオンスルホキシド（以下「代謝物B」という。）

フェンチオンスルホン（以下「代謝物C」という。）

フェンチオンオキソン（以下「代謝物D」という。）

フェンチオンオキシンスルホキシド（以下「代謝物E」という。）

フェンチオンオキシンスルホン（以下「代謝物F」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。

フェンチオン標準品 本品はフェンチオン97%以上を含む。

代謝物B標準品 本品は代謝物B 98%以上を含む。

代謝物C標準品 本品は代謝物C 98%以上を含む。

代謝物D標準品 本品は代謝物D 98%以上を含む。

代謝物E標準品 本品は代謝物E 98%以上を含む。

代謝物F標準品 本品は代謝物F 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類、豆類、種実類及び茶の場合

試料10.0 g（茶は5.00 g）に2 vol%ギ酸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を加えてホモジナイズし、上記と同様に吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に2 mLを分取し、*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ずつで2回振とう抽出する。

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を加えてホモジナイズし、上記と同様に吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に2 mLを分取し、*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ずつで2回振とう抽出す

る。

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*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル10 mLを注入し流出液は捨てる。このカラムに1) で得られたアセトニトリル層を注入し、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ン2 mLを加えて溶かす。

3) 酸化反応

2) で得られた溶液に5 w/v%過マンガン酸カリウム溶液1 mLを加え、軽く振り混ぜ室温で10分間放置した後、40℃以下で約1 mLまで濃縮し水3 mLを加える。

4) 精製

多孔性ケイソウ土カラム (5 mL保持用) に3) で得られた溶液を注入し、室温で5分間放置した後、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 1) 混液40 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を水及びメタノール (1 : 1) 混液に溶かし、穀類、豆類及び種実類の場合は正確に2 mL、果実及び野菜の場合は正確に4 mL、茶の場合は正確に1 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

代謝物C標準品及び代謝物F標準品をそれぞれアセトンに溶かして500 mg/Lとし標準原液とする。各標準原液を適宜混合して水及びメタノール (1 : 1) 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. の検量線で代謝物C及び代謝物Fの各含量を求める。代謝物を含むフェンチオンの含量を求める場合には、次式により求める。

フェンチオン (代謝物を含む。) の含量 (ppm) = $A \times 0.8969 + B \times 0.9459$

A : 代謝物Cの含量 (ppm)

B : 代謝物F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℃

移動相：2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液及びメタノールの混液（7：3）から（3：7）までの濃度勾配を10分間で行った後、（3：7）で5分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（ m/z ）：

代謝物C：プリカーサーイオン 311、プロダクトイオン 125、109

代謝物F：プリカーサーイオン 295、プロダクトイオン 217、104

注入量：5 μ L

保持時間の目安

代謝物C：11分

代謝物F：6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

フェンチオン及び代謝物を試料からアセトンで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、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する。過マンガン酸カリウムで酸化して代謝物C又は代謝物Fに変換した後、多孔性ケイソウ土カラムで精製し、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

- ① 豆類の一部において、抽出時に水を加えて30分間放置した際に代謝物Fの減少が見られたため、穀類、豆類、種実類及び茶の場合は、減少防止のために水の代わりに2 vol%ギ酸を用いる。
- ② 多孔性ケイソウ土カラムによる精製時にアセトンが残っていると過マンガン酸カリウムの除去が不十分となり、紫色を呈する液が溶出するため、濃縮時には十分にアセトンを除去する。
- ③ 代謝物C及び代謝物F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。

代謝物C

定量イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 311、プロダクトイオン 125

定性イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 311、プロダクトイオン 109

代謝物F

定量イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 295、プロダクトイオン 217

定性イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 295、プロダクトイオン 104

- ④ 試験法開発に検討した食品：玄米、大豆、らっかせい、ほうれんそう、キャベツ、ばれいしょ、オレンジ、りんご、茶及びぶどう

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

フェンチオン試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

フェンチオン

フェンチオンスルホキシド（以下「代謝物B」という。）

フェンチオンスルホン（以下「代謝物C」という。）

フェンチオンオキシソン（以下「代謝物D」という。）

フェンチオンオキシソンスルホキシド（以下「代謝物E」という。）

フェンチオンオキシソンスルホン（以下「代謝物F」という。）

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。

フェンチオン標準品 本品はフェンチオン97%以上を含む。

代謝物B標準品 本品は代謝物B 98%以上を含む。

代謝物C標準品 本品は代謝物C 98%以上を含む。

代謝物D標準品 本品は代謝物D 98%以上を含む。

代謝物E標準品 本品は代謝物E 98%以上を含む。

代謝物F標準品 本品は代謝物F 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① はちみつ以外の場合

試料10.0 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を加えてホモジナイズし、上記と同様に吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に2 mLを分取し、*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ずつで2回振とう抽出する。

② はちみつの場合

試料10.0 gに水20 mLを加え溶解する。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。ろ紙上の残留物に水10 mL及びアセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様に吸引ろ過する。得られたろ液を合わせ、アセトンで正確に200 mLとする。この溶液から正確に2 mLを分取し、*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ずつで2回振とう抽出する。

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*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル10 mLを注入し流出液は捨てる。このカラムに1) で得られたアセトニトリル層を注入し、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ン2 mLを加えて溶かす。

3) 酸化反応

2) で得られた溶液に5 w/v%過マンガン酸カリウム溶液1 mLを加え、軽く振り混ぜ室温で10分間放置した後、40°C以下で約1 mLまで濃縮し水3 mLを加える。

4) 精製

多孔性ケイソウ土カラム (5 mL保持用) に3) で得られた溶液を注入し、室温で5分間放置した後、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 1) 混液40 mLを注入し、溶出液を40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を水及びメタノール (1 : 1) 混液2 mLに溶解し、試験溶液とする。

6. 検量線の作成

代謝物C標準品及び代謝物F標準品をそれぞれアセトンに溶かして500 mg/Lとし標準原液とする。各標準原液を適宜混合して水及びメタノール (1 : 1) 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. の検量線で代謝物C及び代謝物Fの各含量を求める。代謝物を含むフェンチオンの含量を求める場合には、次式により求める。

フェンチオン (代謝物を含む。) の含量 (ppm) = $A \times 0.8969 + B \times 0.9459$

A : 代謝物Cの含量 (ppm)

B : 代謝物F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：2 mmol/L酢酸アンモニウム溶液及びメタノール混液（7：3）から（3：7）までの濃度勾配を10分間で行った後、（3：7）で5分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（ m/z ）

代謝物C：プリカーサーイオン 311、プロダクトイオン 125、109

代謝物F：プリカーサーイオン 295、プロダクトイオン 217、104

注入量：5 μ L

保持時間の目安

代謝物C：11分

代謝物F：6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

フェンチオン及び代謝物を試料からアセトンで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、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する。過マンガン酸カリウムで酸化して代謝物C又は代謝物Fに変換した後、多孔性ケイソウ土カラムで精製し、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

2) 注意点

① 多孔性ケイソウ土カラムによる精製時にアセトンが残っていると過マンガン酸カリウムの除去が不十分となり、紫色を呈する液が溶出するため、濃縮時には十分にアセトンを除去する。

② 代謝物C及び代謝物F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。

代謝物C

定量イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 311、プロダクトイオン 125

定性イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 311、プロダクトイオン 109

代謝物F

定量イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 295、プロダクトイオン 217

定性イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 295、プロダクトイオン 104

③ 試験法開発に検討した食品：牛の筋肉・脂肪・肝臓・乳、鶏の筋肉・卵、はちみつ、うなぎ、

さけ及びしじみ

12. 参考文献

なし

13. 類型

C