

食安発第1006004号
平成18年10月6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18年厚生労働省告示第608号）が本日公布され、その内容については、本日付け食安発第1006001号当職通知をもって通知したところである。

今般、これに関連して、「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。）別添の第3章個別試験法について、農薬フロニカミドに係る試験法を別紙のとおり追加したので、関係者への周知方よろしく願います。

また、上記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。

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

厚生労働省医薬食品局食品安全部

平成 1 8 年 1 0 月

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

食品、添加物等の規格基準(昭和34年厚生省告示第370号)の第1食品の部A食品一般の成分規格の6の(1)の表の第1欄、7の(1)の表の第1欄及び9の(1)の表の第1欄に掲げる農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質(その物質が化学的に変化して生成した物質を含む。)の試験法(同表第3欄に「不検出」と定めているものに係るものを除く。)について、次のとおり定める。

第1章 総則

第2章 一斉試験法

第3章 個別試験法

「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号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知)別添

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、 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、ペンスリド、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
- ・ 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
- ・ 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、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

- ・ オキシリニック酸試験法
- ・ オクスフェンダゾール、フェバンテル及びフェンペンダゾール試験法
- ・ 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
- ・ 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
- ・ サラフロキサシン及びダノフロキサシン試験法
- ・ 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
- ・ シクロスルファミロン試験法
- ・ ジクロフルアニド試験法
- ・ 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、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
- ・ 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
- ・ プラクロストロピン試験法
- ・ プラゾキシフェン試験法
- ・ プラフルフェンエチル試験法
- ・ プリダベン試験法
- ・ プリダリル試験法
- ・ プリチオバックナトリウム塩試験法
- ・ プリデート試験法
- ・ プ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
- ・ ペンシクロン試験法
- ・ 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
- ・ メトブレン試験法
- ・ 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

第3章 個別試験法

(追加：フロニカミド試験法)

フロニカミド試験法（農産物）

1．分析対象化合物

フロニカミド

N-（4-トリフルオロメチルニコチノイル）グリシン（以下「TFNG」という。）

4-トリフルオロメチルニコチン酸（以下「TFNA」という。）

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。

フロニカミド標準品 本品はフロニカミド 96%以上を含み、融点は158 である。

TFNG標準品 本品はTFNG 95%以上を含み、融点は170 である。

TFNA標準品 本品はTFNA 94%以上を含み、融点は140 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。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、2時間放置する。

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。得られたろ液にメタノールを加えて正確に200 mLとし、この4 mLを採り、40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に1%ギ酸5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

果実、野菜及び種実類の場合

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及び1%ギ酸10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。グラファイトカーボンミニカラム（500 mg）にギ酸及びメタノール（1：99）混液10 mL及び1%ギ酸10 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)で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、1%ギ酸5 mL及びギ酸、水及びメタノール（1：90：10）混液8 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。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、ギ酸、水及びメタノール（1：30：70）混液10 mLを注入し、溶出液を採る。スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムを除去した後、グラファイトカーボンミニカラムにギ酸及びメタノール（1：99）混液10 mLを注入し、溶出液を採り、先の溶出液と合わせ、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（1：9）混液に溶解し、果実及び野菜の場合は正確に2 mL、種実類の場合は正確に1 mLとしたものを試験溶液とする。

茶の場合

1)で得られた溶液を、果実、野菜及び種実類の場合と同様に、スチレンジビニルベン

ゼン共重合体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による精製に供し、得られた残留物に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン(1:1)混液5 mLを加えて溶かす。

シリカゲルミニカラム(690 mg)に酢酸エチル5 mL及び*n*-ヘキサン5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに上記の溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン(1:1)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(4:1)混液10 mLを注入し、溶出液()を採る。さらに、アセトン10 mL及びアセトニトリル10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、アセトン、酢酸及び酢酸エチル(40:1:60)混液20 mLを注入し、溶出液()を採る。各溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。溶出液()の残留物をアセトニトリル及び水(1:9)混液に溶解し、正確に5 mLとしたものをフロニカミドの試験溶液とする。また、溶出液()の残留物をアセトニトリル及び水(1:9)混液に溶解し、正確に5 mLとしたものをTFNG及びTFNAの試験溶液とする。

5. 検量線の作成

フロニカミド及びTFNGについては0.002~0.04 mg/L、TFNAについては0.0016~0.032 mg/Lを含むアセトニトリル及び水(1:9)混液の混合標準溶液を数点調製し、それぞれ10 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10 µLをLC/MSに注入し、5の検量線でフロニカミド、TFNG及びTFNAの含量を求め、次式によりTFNG及びTFNAを含むフロニカミドの含量を求める。

$$\text{フロニカミド (TFNG 及び TFNA を含む) の含量 (ppm)} = A + B \times 0.92 + C \times 1.20$$

A: フロニカミドの含量 (ppm)

B: TFNGの含量 (ppm)

C: TFNAの含量 (ppm)

7. 確認試験

LC/MSにより確認する。

8. 測定条件

果実及び野菜の場合

LC/MS

カラム: オクタデシルシリル化シリカゲル(粒径5 µm)、内径2 mm、長さ150 mm

カラム温度: 40

移動相: アセトニトリル、酢酸及び水(10:0.1:90)混液で5分間保持し、次いで、(60:0.1:40)混液までの濃度勾配を15分間で行う。

イオン化モード: ESI(負イオンモード)

主なイオン (*m/z*): フロニカミド 228、TFNG 247、TFNA 190

保持時間の目安: フロニカミド 15分、TFNG 9分、TFNA 6分

種実類及び茶の場合

LC/MS

カラム： 多孔性グラファイトカーボン（粒径 5 μm）、内径 2 mm、長さ 150 mm

カラム温度：40

移動相： アセトニトリル、ギ酸及び水混液（20：0.1：80）から（70：0.1：30）までの濃度勾配を20分間で行い、さらに5分間保持する。

イオン化モード： ESI（負イオンモード）

主なイオン（*m/z*）： フロニカミド 228、TFNG 247、TFNA 190

保持時間の目安： フロニカミド 11分、TFNG 8分、TFNA 13分

9．定量限界

各化合物 0.01 mg/kg（TFNG及びTFNAはフロニカミド換算）

茶の場合は、各化合物 0.1 mg/kg（TFNG及びTFNAはフロニカミド換算）

10．留意事項

1) 試験法の概要

フロニカミド、TFNG及びTFNAを試料からメタノールで抽出し、スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラム及びグラファイトカーボンミニカラムで精製し、茶の場合はさらにシリカゲル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。なお、フロニカミド及びその代謝物であるTFNG及びTFNAのそれぞれについて定量を行い、TFNA及びTFNGについてはそれぞれの含量に係数を乗じてフロニカミドの含量に変換し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

茶以外の農産物において、精製が不十分な場合は、本試験法に示されているシリカゲルミニカラムによる精製を追加するとよい。

LC/MS測定でも、試料由来の妨害ピークが検出されることがある。このような場合は、測定条件の変更やLC/MS/MSの使用により確認することが望ましい。

果実、野菜及び種実類の場合は、スチレンジビニルベンゼン共重合体ミニカラムで精製し、溶出液を合わせて測定するが、茶の場合はさらにシリカゲルミニカラムで精製し、溶出液（ ）と溶出液（ ）を分けて測定する。

茶では、シリカゲルミニカラムによる精製を省略すると、イオン化抑制と思われる現象が、特にフロニカミドにおいて顕著に認められる。茶以外の農産物においても、回収率が著しく低い場合は、精製不足を考慮する必要がある。

種実類では夾雑ピークによる影響を低減し、茶ではイオン化抑制が原因と思われる低回収を効果的に軽減するため、「8．測定条件 種実類及び茶の場合」の条件で測定する。

11．参考文献

12．類型

C

フロニカミド試験法（畜産物）

1．分析対象化合物

フロニカミド

4 - トリフルオロメチルニコチン酸（以下「TFNA」という。）

4 - トリフルオロメチルニコチンアミド（以下「TFNA - AM」という。）

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。

フロニカミド標準品 本品はフロニカミド 96%以上を含み、融点は158 である。

TFNA 標準品 本品はTFNA 94%以上を含み、融点は140 である。

TFNA - AM 標準品 本品はTFNA - AM 97%以上を含み、融点は166 である。

4．試験溶液の調製

1) 抽出

筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及びその他の食用部分の場合は、試料 20.0 g を量り採る。卵の場合は、殻を除き十分均一化した後、試料 20.0 g を量り採る。乳の場合は、試料 20.0 g を量り採る。

これにアセトニトリル及び水（4：1）混液100 mL並びに*n*-ヘキサン50 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分3,000回転で5分間遠心分離を行う。アセトニトリル及び水混液層を採り、*n*-ヘキサン層及び残留物にアセトニトリル及び水（4：1）混液50 mLを加え上記と同様に抽出する。得られたアセトニトリル及び水混液層を200 mLのメスフラスコに合わせ、アセトニトリル及び水（4：1）混液を加え正確に200 mLとする。この4 mLを分取し、10%塩化ナトリウム溶液30 mL及びリン酸0.3 mLを加え、酢酸エチル30 mLずつで2回振とう抽出する。抽出液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。この残留物に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

シリカゲルミニカラム（690 mg）に酢酸エチル5 mL及び*n*-ヘキサン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、流出液は捨てる。さらに、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：1）混液5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン、酢酸及び酢酸エチル（40：1：60）混液20 mLを注入し、溶出液を40 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物をアセトニトリル及び水（1：9）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

フロニカミド標準品、TFNA標準品及びTFNA - AM標準品のアセトニトリル溶液を調製し、それらを混合し、フロニカミドについては0.002～0.04 mg/L、TFNA及びTFNA - AMについては0.0016～0.032 mg/Lを含むアセトニトリル及び水（1：9）混液の混合標準溶液を数点調製し、それぞれ10 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10 µLをLC/MSに注入し、5の検量線でフロニカミド、TFNA及びTFNA - AMの含量を求め、次式により、TFNA及びTFNA - AMを含むフロニカミドの含量を求める。

フロニカミド（TFNA及びTFNA - AMを含む。）の含量（ppm）= A + B × 1.20 + C × 1.21

A：フロニカミドの含量（ppm）

B：TFNAの含量（ppm）

C：TFNA - AMの含量（ppm）

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（粒径3～5 μm）、内径2.0～2.1 mm、長さ150 mm

カラム温度：40

移動相：A液及びB液について下の表の濃度勾配で送液する。

移動相流量：0.2 mL/分

A液：アセトニトリル

B液：0.1%酢酸溶液

時間（分）	A液（％）	B液（％）
0	10	90
4	10	90
10	60	40
13	60	40
13	10	90

イオン化モード：ESI

主なイオン（*m/z*）：フロニカミド 負イオンモード 228

TFNA 負イオンモード 190

TFNA-AM 正イオンモード 191

注入量：10 μL

保持時間の目安：フロニカミド 12分、TFNA 6分、TFNA-AM 7分

9. 定量限界

各化合物 0.01 mg/kg（TFNA及びTFNA-AMはフロニカミド換算）

10. 留意事項

1) 試験法の概要

フロニカミド、TFNA及びTFNA-AMを試料からアセトニトリル及び水（4：1）混液で抽出と同時に*n*-ヘキサン洗浄する。酢酸エチルに転溶し、水を除いた後、シリカゲルミニカラムにより精製し、LC/MSで測定及び確認する方法である。なお、フロニカミド及びその代謝物であるTFNA及びTFNA-AMのそれぞれについて定量を行い、TFNA及びTFNA-AMについてはそれぞれの含量に換算係数を乗じてフロニカミドの含量に変換し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

TFNAは、アセトニトリル溶液中低濃度ではガラス容器などに吸着する傾向がある。低濃度の溶液はアセトニトリル及び水（1：9）混液で調製する。

イオン化モードを分析途中で変更して同時に測定を行う場合、TFNA及びTFNA-AMの保持時間が近接しているため、各ピークの測定が適切に行われるよう留意する。

11. 参考文献

なし

12. 類型

C