

消 食 基 第 244 号
令 和 7 年 4 月 18 日

各

〔	都道府県知事	〕
	保健所設置市長	
	特別区長	

 殿

消 費 者 庁 次 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号厚生労
働省医薬食品局食品安全部長通知）別添について、下記のとおり改正します。

については、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
お取り計らい願います。

記

- 1 目次を別紙 1 のとおり改める。
- 2 「第 3 章 個別試験法」に、別紙 2 のとおり次の試験法に係る記載を加える。
 - ・アミノシクロピラクロル試験法（畜産物）
 - ・キザロホップエチル及びキザロホップPテフリル試験法（農産物）
 - ・グリホサート試験法Ⅱ（農産物）
 - ・シクラニリド試験法（畜産物）
 - ・スピロジクロフェン試験法（畜産物）
 - ・フェンピロキシメート試験法（畜産物）
- 3 「第 3 章 個別試験法」の「イプフェンカルバゾン試験法（畜水産物）」
及び「ホスホマイシン試験法（畜水産物）」について、それぞれ別紙 3 及

び別紙４の表のとおり改正する。

- ４ 「第３章 個別試験法」の「アシベンゾラルS-メチル試験法（農産物）」及び「スピラマイシン試験法（畜水産物）」について、それぞれ別紙５及び別紙６のとおり改める。
- ５ 「第３章 個別試験法」の「グリホサート試験法（農産物）」について、別紙７のとおり改める（試験法表題を「グリホサート試験法Ⅰ（農産物）」に改める）。

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）
- ・ LC/MS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）
- ・ 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、ビフェントリン、ピレトリン、フェンバレーレート、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）
- ・ アシュラム試験法（畜産物）
- ・ 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）
- ・ アセトクロール試験法（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）
- ・ アバメクチン試験法（農産物）
- ・ アバメクチン試験法（畜産物）
- ・ 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）
- ・ アミノシクロピラクロール試験法（畜産物）
- ・ 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）
- ・ アラクロール試験法（畜産物）
- ・ 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ロン
試験法（農産物）
- ・イソキサフルトール試験法（農産物）
- ・イソキサフルトール試験法（畜産物）
- ・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）
- ・イマズ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）
- ・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（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）
- ・エトフメセート試験法（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）

- ・エマメクチン安息香酸塩試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・オキシシン銅試験法（農産物）
- ・オキシ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）
- ・ガミスロマイシン試験法（畜産物）
- ・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）
- ・カンタキサンチン試験法（畜水産物）
- ・キザロホップエチル及びキザロホップPテフリル試験法（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）
- ・キンクロラック試験法（畜産物）
- ・クミルロン試験法（農産物）

- ・グリチルリチン酸試験法（畜水産物）
- ・グリホサート試験法Ⅰ（農産物）
- ・グリホサート試験法Ⅱ（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）
- ・クレソキシムメチル試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・クロルメコート試験法（畜産物）
- ・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）
- ・シクラニリド試験法（畜産物）
- ・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）
- ・シクロスルファムロン試験法（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）
- ・シクロプロトリン試験法（農産物）
- ・シクロプロトリン試験法（水産物）
- ・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）
- ・シフルメトフェン試験法（畜産物）
- ・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）
- ・シラフルオフエン試験法（畜水産物）
- ・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）
- ・スピロジクロフェン試験法（畜産物）
- ・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）
- ・タイロシン試験法（畜産物）
- ・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）
- ・デメトン-S-メチル及びオキシデメトンメチル試験法（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）
- ・トリネキサパッケチル試験法（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）
- ・ ビコザマイシン試験法（畜水産物）
- ・ 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）
- ・フィプロニル試験法（畜産物）
- ・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）
- ・フェンピロキシメート試験法（畜産物）
- ・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）
- ・フラボフォスフォリボール試験法（畜産物）
- ・フラメトピル試験法（農産物）
- ・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）
- ・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）
- ・フルエンスルホン試験法（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（畜産物）
- ・フルフェナセット試験法（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（畜産物）
- ・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）
- ・フルメトリン試験法（畜産物）

- ・プレドニゾロン試験法（畜産物）
- ・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）
- ・プロピリスルフロロン試験法（農産物）
- ・プロピリスルフロロン試験法（水産物）
- ・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）
- ・フロルフェニコール試験法（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）
- ・ヘキシチアゾクス試験法（畜産物）
- ・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）
- ・ベンジルアデニン試験法（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）
- ・ベントゾン試験法（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）
- ・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）
- ・メタゾスルフロロン試験法（農産物）

- ・メタフルミゾン試験法（農産物）
- ・メタベン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）
- ・ラサロシド試験法（畜産物）
- ・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
- ・ 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
- ・ ゲンチアナバイオレット試験法
- ・ 酢酸トレンボロン試験法
- ・ 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
- ・ デキサメタゾン及びベタメタゾン試験法
- ・ 二臭化エチレン試験法
- ・ ニタルソン及びロキサルソン試験法
- ・ ニトロフラゾン試験法
- ・ ニトロフランチン、フラゾリドン及びフラルタドン試験法
- ・ ニフルスチレン酸ナトリウム試験法
- ・ 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

アミノシクロピラクロル試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

アミノシクロピラクロル

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。

アミノシクロピラクロル標準品 本品はアミノシクロピラクロル95%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。

2) 精製

アクリルアミド共重合体結合グリセリルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム（360 mg）にメタノール10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1)で得られた溶液を正確に10 mL注入した後、メタノール5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで1 vol%ギ酸・メタノール溶液5 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0.1 vol%酢酸及びメタノール（9：1）混液に溶かし、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

アミノシクロピラクロル標準品をメタノールに溶かして1,000 mg/Lとし標準原液とする。標準原液を0.1 vol%酢酸及びメタノール（9：1）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0.0005 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でアミノシクロピラクロルの含量を求める。

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℃

移動相：0.1 vol%酢酸及びメタノール (9 : 1) 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214、プロダクトイオン101、68

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

アミノシクロピラクロルの試料からメタノールで抽出し、アクリルアミド共重合体結合グリセリル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 アミノシクロピラクロルの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214、プロダクトイオン68

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン214、プロダクトイオン101

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

なし

13. 類型

C

キザロホップエチル及びキザロホップPテフリル試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

キザロホップエチル（キザロホップPエチルを含む。）

キザロホップPテフリル

代謝物B【2-[4-(6-クロロキノキサリン-2-イルオキシ)フェノキシ]プロピオン酸】（キザロホップPを含む。）

加水分解により代謝物Bに変換される代謝物

2. 適用食品

豆類、種実類、果実及び野菜

3. 装置

ガスクロマトグラフ・タンデム型質量分析計（GC-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。

水酸化カリウム・メタノール試液 水酸化カリウム（特級）56 gをメタノール1 Lに溶解する。

キザロホップエチル標準品 本品はキザロホップエチル95%以上を含む。

キザロホップPテフリル標準品 本品はキザロホップPテフリル95%以上を含む。

代謝物B標準品 本品は代謝物B 95%以上を含む。

6-クロロ-2-メトキシキノキサリン標準品 本品は6-クロロ-2-メトキシキノキサリン95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 6-クロロ-2-メトキシキノキサリンへの変換

豆類及び種実類の場合は、試料10.0 gを量り採る。果実及び野菜の場合は、試料20.0 gを量り採る。これに水酸化カリウム・メタノール試液200 mL及び沸騰石を加え、還流冷却器を取り付けて、90分間加熱還流した後、氷冷する。反応液を吸引ろ過し、得られたろ液にメタノールを加えて正確に250 mLとする。

2) 転溶

① 豆類及び種実類の場合

1) で得られた溶液から正確に20 mLを分取し、1 mol/L塩酸30 mLを加え、*n*-ヘキサン40 mLで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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℃以下で約2 mLに濃縮する。

② 果実及び野菜の場合

1) で得られた溶液から正確に10 mLを分取し、1 mol/L塩酸15 mLを加え、*n*-ヘキサン20 mL

で2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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℃以下で約2 mLに濃縮する。

3) 精製

① エチレンジアミン-*N*-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

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*n*-ヘキサン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、*n*-ヘキサン10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で約2 mLに濃縮する。

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 (1,000 mg) に*n*-ヘキサン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、*n*-ヘキサン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 : 19) 混液10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で約2 mLに濃縮する。この溶液に酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 19) 混液を加えて、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

6-クロロ-2-メトキシキノキサリン標準品の酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 19) 混液の溶液を数点調製し、それぞれGC-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B換算) に相当する試験溶液中濃度は0.002 mg/L (代謝物B換算) である。

7. 定量

試験溶液をGC-MS/MSに注入し、6. の検量線で6-クロロ-2-メトキシキノキサリンの含量を求め、次式により代謝物Bの含量を求める。

$$\text{代謝物Bの含量 (ppm)} = \text{6-クロロ-2-メトキシキノキサリンの含量 (ppm)} \times 1.771$$

8. 確認試験

GC-MS/MSにより確認する。

9. 測定条件

(例)

カラム : 5% フェニル-メチルシリコン 内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 µm

カラム温度 : 50℃ (1分) - 25℃/分 - 175℃ - 10℃/分 - 225℃ - 25℃/分 - 300℃ (10分)

注入口温度 : 280℃

キャリアーガス : ヘリウム

イオン化モード (イオン化エネルギー) : EI (70 eV)

主なイオン (*m/z*) :

プリカーサーイオン194、プロダクトイオン165

プリカーサーイオン196、プロダクトイオン167

注入量：2 μ L

保持時間の目安：8分

10. 定量限界

キザロホップエチル：0.01 mg/kg（代謝物B換算）

キザロホップPテフリル：0.01 mg/kg（代謝物B換算）

代謝物B：0.01 mg/kg

加水分解により代謝物Bに変換される代謝物：0.01 mg/kg（代謝物B換算）

11. 留意事項

1）試験法の概要

試料に水酸化カリウム・メタノール試液を加えて加熱し、キザロホップエチル、キザロホップPテフリル及びそれらの代謝物（代謝物B及び加水分解により代謝物Bに変換される代謝物を含む。）を6-クロロ-2-メトキシキノキサリンに変換した後、*n*-ヘキサンに転溶し、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及びシリカゲルミニカラムで精製した後、GC-MS/MSで定量及び確認する方法である。なお、6-クロロ-2-メトキシキノキサリンの含量に換算係数を乗じて代謝物Bの含量に換算し、これを分析値とする。代謝物Bの含量には、キザロホップエチル（キザロホップPエチルを含む。）、キザロホップPテフリル、代謝物B（キザロホップPを含む。）及び加水分解により代謝物Bに変換される代謝物が含まれる。

2）注意点

- ① キザロホップエチル標準品、キザロホップPテフリル標準品及び代謝物B標準品を用いて添加回収試験を実施し、6-クロロ-2-メトキシキノキサリンへの変換が十分に行われていることを確認すること。
- ② 6-クロロ-2-メトキシキノキサリンは揮散しやすいため、加熱還流後は反応容器を氷冷し、1～30℃に冷却した後、還流冷却器を取り外すこと。
- ③ 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分間遠心分離するとよい。
- ④ 6-クロロ-2-メトキシキノキサリンは揮散しやすいため、濃縮操作の際は2 mL程度まで濃縮し、乾固しないこと。
- ⑤ 6-クロロ-2-メトキシキノキサリンのGC-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194、プロダクトイオン165

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン196、プロダクトイオン167

- ⑥ 6-クロロ-2-メトキシキノキサリンのGC-MS/MS測定で、感度が不足する場合は以下のイオンを使用するとよい。

定量イオン (m/z)：プリカーサーイオン165、プロダクトイオン111

定性イオン (m/z)：プリカーサーイオン165、プロダクトイオン138

- ⑦ 試験法開発時に検討した食品：大豆、ほうれんそう、キャベツ、ばれいしょ、りんご、

いちご

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

グリホサート試験法Ⅱ（農産物）

1. 分析対象化合物

グリホサート

N-アセチルグリホサート

2. 適用食品

大豆、とうもろこし（未成熟）及びなたね

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。

グリホサート標準品 本品はグリホサート95%以上を含む。

N-アセチルグリホサート標準品 本品は*N*-アセチルグリホサート95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 大豆の場合

試料10.0 gに水20 mLを加え30分間放置する。これにエタノール及び水（3：2）混液100 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。残留物にエタノール及び水（3：2）混液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、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせ、エタノール及び水（3：2）混液を加えて正確に200 mLとする。この溶液から正確に2 mLを分取し、エタノールを加えて正確に10 mLとする。この溶液から正確に1 mLを分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

② とうもろこし（未成熟）の場合

試料20.0 gにエタノール及び水（3：2）混液100 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。残留物にエタノール及び水（3：2）混液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、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせ、エタノール及び水（3：2）混液を加えて正確に200 mLとする。この溶液から正確に1 mLを分取し、エタノールを加えて正確に10 mLとする。この溶液から正確に1 mLを分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

③ なたねの場合

試料10.0 gに水20 mLを加え30分間放置する。これにエタノール及び水（3：7）混液100 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。残留物にエタノール及び水（3：7）混液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、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせ、エタノール及び水（3：7）混液を加えて正確に200 mLとする。この溶液から正確に2 mLを分取し、エタノールを加えて正確に10 mLとする。次いで、この溶液から正確に1 mLを

分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

2) 誘導体化

1) で得られた残留物にメタノール100 μ Lを加えた後、酢酸2 mL及びオルト酢酸トリメチル2 mLを加え、密栓して100℃で90分間加熱する。放冷後、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2 mLを加えて溶かす。

3) 精製

グラファイトカーボンミニカラム (250 mg) に酢酸エチル10 mLを注入し、流出液は捨てる。シリカゲルミニカラム (500 mg) に酢酸エチル及びトリエチルアミン (99 : 1) 混液10 mL、酢酸エチル5 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の下部にシリカゲルミニカラムを連結し、2) で得られた溶液を注入した後、酢酸エチル13 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、グラファイトカーボンミニカラムを取り外し、シリカゲルミニカラムに酢酸エチル5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及びメタノール (7 : 3) 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。この残留物をアセトニトリル及び10 mmol/Lギ酸アンモニウム溶液 (1 : 9) 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

グリホサート標準品を水に溶かして1,000 mg/Lの標準原液を調製する。標準原液をメタノールで適宜希釈した溶液を正確に100 μ L分取し、酢酸2 mL及びオルト酢酸トリメチル2 mLを加え、密栓して100℃で90分間加熱する。放冷後、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10 mmol/Lギ酸アンモニウム溶液 (1 : 9) 混液を加えて溶かし検量線用標準原液を調製する。この検量線用標準原液をアセトニトリル及び10 mmol/Lギ酸アンモニウム溶液 (1 : 9) 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0.0001 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でグリホサート (*N*-アセチルグリホサートを含む。) 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 3.0 mm、長さ150 mm、粒子径3 µm

カラム温度：40℃

移動相：アセトニトリル及び10 mmol/Lギ酸アンモニウム溶液（1：9）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 254、プロダクトイオン 102、74

注入量：5 µL

保持時間の目安：7分

10. 定量限界

0.01 mg/kg（グリホサート換算）

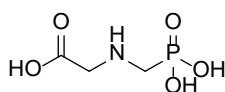
11. 留意事項

1) 試験法の概要

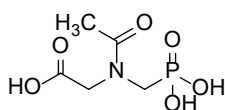
グリホサート及び*N*-アセチルグリホサートを試料から、エタノール及び水混液で抽出する。酢酸及びオルト酢酸トリメチルで誘導体化した後、グラファイトカーボンミニカラム及びシリカゲルミニカラムで精製し、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。グリホサートの分析値には、グリホサート及び*N*-アセチルグリホサートが含まれる。

2) 注意点

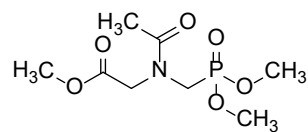
- ① 分析対象化合物は非常に極性が高い化合物であることから、抽出溶媒には水とエタノールの混液を選択した。遠心分離後の上澄液の採取の容易さと回収率を考慮し、大豆及びとうもろこし（未成熟）の場合はエタノール及び水（3：2）混液を、なたねの場合はエタノール及び水（3：7）混液を用いた。
- ② 開発時に用いた遠心分離機における毎分3,000回転は、約1,930×*g*である。
- ③ 誘導体化反応は密栓条件で実施するため、反応中の危険を回避するため、栓が飛ばないようにクリップ等で固定し、栓の上にタオルを掛け、さらにその上から平板状の重りを載せるなどの対処をすることが望ましい。
- ④ 本試験法の誘導体化で得られるグリホサート及び*N*-アセチルグリホサートの誘導体化物は、同一の化合物である（下図）。グリホサート標準品を用いて、誘導体化物に変換されることを確認すること。なお、誘導体化の際の100℃での加熱は、試験法開発時はブロックヒーターを用いて実施した。



グリホサート



N-アセチルグリホサート



誘導体化物

- ⑤ 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、誘導体化

物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。

⑥ グリホサートのLC-MS/MS測定で、試験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254、プロダクトイオン102

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン254、プロダクトイオン74

⑦ グリホサートの検量線用標準溶液は、200 mg/L以上ではメタノールに溶けないため水で希釈する。

⑧ グリホサートはガラス器具への吸着が懸念されるため、誘導体化前の操作ではポリプロピレン製の器具を用いることが望ましい。

⑨ とうもろこしの乾燥子実に適用する場合には大豆を参照する。

⑩ 試験法開発時に検討した食品：大豆、とうもろこし（未成熟）、なたね

12. 参考文献

厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部長通知 生食発0404第5号「グリホサート試験法（畜水産物）」（平成28年4月4日）

厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第0124001号「グリホサート試験法（農産物）」（平成17年1月24日）

13. 類型

C

シクラニリド試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

シクラニリド

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。

シクラニリド標準品 本品はシクラニリド95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料10.0 gに水10 mLを加え、ホモジナイズした後、アセトン50 mLを加え、さらにホモジナイズする。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し、上澄液を採る。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。この溶液から正確に5 mLを分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル5 mLずつで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。この残留物に水及びメタノール（9：1）混液1 mLを加えて溶かす。

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

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）に0.1 mol/L塩酸10 mL、メタノール5 mL及び水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、水及びメタノール（9：1）混液10 mL、水及びメタノール（1：1）混液10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで0.5 vol%ギ酸・メタノール溶液10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にメタノール1 mLを加えて溶かす。

② エチレンジアミン-*N*-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

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（1,000 mg）に0.1 mol/L塩酸及びメタノール各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、0.5 vol%ギ酸・メタノール溶液15 mLを注入し、負荷液を含む全溶出液を採り、溶出液に0.5 vol%ギ酸・メタノール溶液を加えて正確に20 mLにしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

シクラニリド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0.00025 mg/Lである。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MS に注入し、6. の検量線でシクラニリドの含量を求める。

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2.0 mm、長さ100 mm、粒子径3 µm

カラム温度：40℃

移動相：0.1 vol%ギ酸・1 mmol/L酢酸アンモニウム溶液及びメタノールの混液（1：1）から（1：9）までの濃度勾配を3分間で行い、さらに（1：49）までの濃度勾配を2分間で行い、（1：49）で3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272、プロダクトイオン228、160

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

シクラニリドを試料からアセトンで抽出し、アセトニリル/ヘキサン分配で脱脂する。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 シクラニリドの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。

定量イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 272、プロダクトイオン 160

定性イオン（ m/z ）：プリカーサーイオン 272、プロダクトイオン 228

② 開発時に用いた遠心分離機における毎分3,000回転は、約1,820×gである。

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

スピロジクロフェン試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

スピロジクロフェン

3-(2,4-ジクロロフェニル)-4-ヒドロキシ-1-オキサスピロ[4.5]デカ-3-エン-2-オン（以下「代謝物M1」という。）

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。

スピロジクロフェン標準品 本品はスピロジクロフェン95%以上を含む。

代謝物M1標準品 本品は代謝物M1 95%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及びギ酸0.1 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25 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、アセトンを加えて正確に100 mLとする。この溶液から正確に10 mLを分取し、40℃以下で約1 mLに濃縮する。これに10 w/v%塩化ナトリウム溶液10 mLを加え、酢酸エチル10 mLずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、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*n*-ヘキサン10 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル10 mLずつで3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0.1 vol%ギ酸及び0.1 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液（7：3）混液10 mLを加えて溶かす。

2) 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0.1 vol%ギ酸各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、0.1 vol%ギ酸及び0.1 vol%ギ酸・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、0.1 vol%ギ酸及び0.1 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液（1：4）混液10 mLを注入し、溶出液に0.1 vol%ギ酸及び0.1 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液（1：4）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

スピロジクロフェン標準品及び代謝物M1標準品をそれぞれアセトンに溶かして標準原液とする。各

標準原液を適宜混合して0.1 vol%ギ酸及び0.1 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液（1：4）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（代謝物M1はスピロジクロフェン換算）である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でスピロジクロフェン及び代謝物M1の含量を求める。代謝物M1を含むスピロジクロフェンの含量を求める場合には、次式により求める。

スピロジクロフェン（代謝物M1を含む。）の含量（ppm）＝ A + B × 1.313

A：スピロジクロフェンの含量（ppm）

B：代謝物M1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3 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（1：1）混液で5分間保持した後、（1：4）で8分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）

スピロジクロフェン：プリカーサーイオン 411、プロダクトイオン 313

プリカーサーイオン 413、プロダクトイオン 315

代謝物M1：プリカーサーイオン 313、プロダクトイオン 213

プリカーサーイオン 315、プロダクトイオン 215

注入量：5 µL

保持時間の目安

スピロジクロフェン：13分

代謝物M1：3分

10. 定量限界

各化合物0.01 mg/kg（代謝物M1はスピロジクロフェン換算）

11. 留意事項

1) 試験法の概要

スピロジクロフェン及び代謝物M1を試料からギ酸酸性下アセトンで抽出し、酢酸エチルに転溶した後、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂する。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、スピロジクロフェン及び代謝物M1のそれぞれについて定量を行い、代謝物M1を含むスピロジクロフェン含量を求める場合には、代謝物M1の含量に換算係数を乗じてスピロジクロフェンの含量に換算し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

- ① スピロジクロフェンから代謝物M1への変換を抑えるためにギ酸酸性下にて抽出を行う。
- ② 酢酸エチル転溶の際、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と良い。
- ③ スピロジクロフェン及び代謝物M1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。

スピロジクロフェン

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 411、プロダクトイオン 313

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 315

代謝物M1

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 313、プロダクトイオン 213

定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 315、プロダクトイオン 215

- ④ 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

フェンピロキシメート試験法（畜産物）

1. 分析対象化合物

フェンピロキシメート

(*E*)-4-[(1,3-ジメチル-5-フェノキシピラゾール-4-イル)メチレンアミノオキシメチル]安息香酸（以下「代謝物D」という。）

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。

フェンピロキシメート標準品 本品はフェンピロキシメート95%以上を含む。

代謝物D標準品 本品は代謝物D 95%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100 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。残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズし、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2 mLを分取し、40℃以下で濃縮し溶媒を除去する。この残留物に*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ずつで3回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で約2 mLに濃縮する。

2) 精製

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10 mLを注入し、負荷液を含む全溶出液を採り、フェンピロキシメート画分（溶出液I）とする。次いで、0.5 vol% 酢酸・アセトニトリル溶液10 mLを注入し、溶出液を採り、代謝物D画分（溶出液II）とする。溶出液I及び溶出液IIをそれぞれ40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。各残留物をアセトニトリルに溶かし、それぞれ正確に5 mLとしたものを試験溶液とする。

6. 検量線の作成

フェンピロキシメート標準品及び代謝物D標準品のアセトニトリ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0.005 mg/kgに相当する試験溶液中の濃度は0.0001 mg/L（フェンピロキシメート換算）である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でフェンピロキシメート及び代謝物Dの含量を求める。
代謝物Dを含むフェンピロキシメートの含量を求める場合には、次式により求める。

フェンピロキシメート（代謝物Dを含む）の含量（ppm）＝ $A + B \times 1.154$

A：フェンピロキシメートの含量（ppm）

B：代謝物D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℃

移動相：アセトニトリル及び0.1 vol%ギ酸の混液（1：9）から（9：1）までの濃度勾配を10分間で行い、10分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）

フェンピロキシメート：プリカーサーイオン422、プロダクトイオン366、138

代謝物D：プリカーサーイオン366、プロダクトイオン138、77

注入量：5 μL

保持時間の目安

フェンピロキシメート：13分

代謝物D：10分

10. 定量限界

各化合物0.005 mg/kg（代謝物Dはフェンピロキシメート換算）

11. 留意事項

1）試験法の概要

フェンピロキシメート及び代謝物D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、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、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

2）注意点

① 精製において、フェンピロキシメート画分と代謝物D画分を合わせて測定を行うと、代謝物Dの測定において夾雑物の影響を受けることがあるため別々に測定する。夾雑物の影響が無い場合には、両画分を合わせて測定することも可能である。なお、検量線の作成に用いる標準溶液は混合

して調製しても良い。

② 開発時に用いた遠心分離機における毎分3,000回転は、約1,490×*g*である。

③ フェンピロキシメート及び代謝物D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。

フェンピロキシメート

定量イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン422、プロダクトイオン366

定性イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン422、プロダクトイオン138

代謝物D

定量イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン366、プロダクトイオン138

定性イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン366、プロダクトイオン77

④ 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

(下線部は変更箇所)

改正後	改正前
イブフェンカルバゾン試験法（畜水産物） 1. ～ 5. (略) 6. 検量線の作成 イブ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、<u>本法</u>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. ～13. (略)	イブフェンカルバゾン試験法（畜水産物） 1. ～ 5. (略) 6. 検量線の作成 イブ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、<u>本</u>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. ～13. (略)

(下線部は変更箇所)

改正後	改正前
ホスホマイシン試験法（畜水産物） 1. ～ 3. (略) 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。 (略) 10 <u>mmol/L</u>酢酸アンモニウム溶液 (pH 3) 酢酸アンモニウム0.77 gを量り採り水約900 mLに溶解し、酢酸を用いてpHを 3 に調整した後、水を加えて1 Lとする。 <u>3級アミン修飾ジビニルベンゼン-<i>N</i>-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (150 mg)</u> 内径8～9 mmのポリエチレン製のカラム管に、弱塩基性陰イオン交換樹脂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。 (略) 5. 試験溶液の調製 1) (略) 2) 精製 オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (2 g) にメタノール及び水各10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。弱塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラム (150 mg) にメタノール、2 vol%ギ酸及び水各10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムの下部に弱塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラムを連結し、 1) で得られた溶液を注入し流出液を捨てる。次いで水10 mLを注入し、流出液を捨てる。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムを外し、3級アルキルアミン修飾ジビニルベンゼン-<i>N</i>-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムにメタノール及び水各10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで10 <u>mmol/L</u>酢酸アンモニウム溶液 (p H 3) 20 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアンモニア水、20 mmol/L炭酸水素アンモニウム溶液及びアセトニトリル (1 :	ホスホマイシン試験法（畜水産物） 1. ～ 3. (略) 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。 (略) 10 <u>mmol/L</u>酢酸アンモニウム溶液 (pH 3) 酢酸アンモニウム0.77 gを量り採り水約900 mLに溶解し、酢酸を用いてpHを 3 に調整した後、水を加えて1 Lとする。 <u>3級アルキルアミン修飾ジビニルベンゼン-<i>N</i>-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (150 mg)</u> 内径8～9 mmのポリエチレン製のカラム管に、弱塩基性陰イオン交換樹脂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。 (略) 5. 試験溶液の調製 1) (略) 2) 精製 オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (2 g) にメタノール及び水各10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。弱塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラム (150 mg) にメタノール、2 vol%ギ酸及び水各10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムの下部に弱塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラムを連結し、 1) で得られた溶液を注入し流出液を捨てる。次いで水10 mLを注入し、流出液を捨てる。オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムを外し、3級アルキルアミン修飾ジビニルベンゼン-<i>N</i>-ビニルピロリドン共重合体ミニカラムにメタノール及び水各10 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで10 <u>mmol/L</u>酢酸アンモニウム溶液 (p H 3) 20 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアンモニア水、20 mmol/L炭酸水素アンモニウム溶液及びアセトニトリル (1 :

250 : 250) 混液に溶かし、正確に5 mLとしたものを試験溶液とする。 6. ～ 8. (略) 9. 測定条件 (例 1) カラム : <u>カルバモイル基結合型シリカゲル</u> 内径 2.1 mm、長さ150 mm、粒子径3.5 μm (略) 10.～13. (略)	250 : 250) 混液に溶かし、正確に5 mLとしたものを試験溶液とする。 6. ～ 8. (略) 9. 測定条件 (例 1) カラム : <u>カルバモバイル基化学結合型シリカゲル</u> 内径2.1 mm、長さ150 mm、粒子径3.5 μm (略) 10.～13. (略)
---	---

アシベンゾラルS-メチル試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

アシベンゾラルS-メチル

代謝物B【ベンゾ[1,2,3]チアジアゾール-7-カルボン酸】（加水分解により代謝物Bに変換される代謝物を含む。）

2. 適用食品

穀類、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。

塩化カルシウム 塩化カルシウム（特級）

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、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。

アシベンゾラルS-メチル標準品 本品はアシベンゾラルS-メチル95%以上を含む。

代謝物B標準品 本品は代謝物B 95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 穀類の場合

試料10.0 gに0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液40 mLを加え、密栓して60℃の水浴中で時々振り混ぜながら30分間加熱する。放冷後、メタノール100 mL及び塩化カルシウム4 g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5 mLを分取し、水15 mL及び1 mol/L塩酸0.2 mLを加える。

② 果実及び野菜の場合

試料20.0 gに0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液40 mLを加え、密栓して60℃の水浴中で時々振り混ぜながら30分間加熱する。放冷後、メタノール100 mL及び塩化カルシウム4 g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5 mLを分取し、水15 mL及び1 mol/L塩酸0.2 mLを加える。

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 (150 mg) にメタノール及び水各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。アクリルアミド共重合体結合グリセリルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (360 mg) にメタノール10 mLを注入し、流出液は捨てる。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 (4 : 1) 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アクリルアミド共重合体結合グリセリルプロピルシリル化シリカゲルミニカラムを接続し、メタノール10 mLを注入し、流出液は捨てる。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を取り外し、アクリルアミド共重合体結合グリセリルプロピルシリル化シリカゲルミニカラムに0.5 vol%ギ酸・メタノール溶液5 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0.1 vol%酢酸及びメタノール (3 : 1) 混液に溶かして、穀類の場合は正確に5 mL、果実及び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

代謝物B標準品をメタノールに溶かして1,000 mg/Lとし標準原液とする。標準原液を0.1 vol%酢酸及びメタノール (3 : 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 (アシベンゾラル*S*-メチル換算) に相当する試験溶液中濃度は0.0005 mg/L (アシベンゾラル*S*-メチル換算) 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Bの含量を求め、次式によりアシベンゾラル*S*-メチル [代謝物B (加水分解により代謝物Bに変換される代謝物を含む。)] の含量を求める。

アシベンゾラル*S*-メチル [代謝物B (加水分解により代謝物Bに変換される代謝物を含む。)] の含量 (ppm) = 代謝物Bの含量 (ppm) × 1.167

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 : 0.1 vol%酢酸及びメタノール (3 : 1) 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179、プロダクトイオン135、107

注入量 : 5 µL

保持時間の目安 : 19分

10. 定量限界

0.01 mg/kg (アシベンゾラルS-メチル換算)

11. 留意事項

1) 試験法の概要

試料を塩基性条件下で加熱して、アシベンゾラルS-メチル及び加水分解により代謝物Bに変換される代謝物を代謝物Bに加水分解した後、メタノールで抽出し、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及びアクリルアミド共重合体結合グリセリル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。なお、代謝物Bについて定量を行い、代謝物Bの含量に換算係数を乗じてアシベンゾラルS-メチル〔代謝物B（加水分解により代謝物Bに変換される代謝物を含む。）を含む。〕の含量に換算し、これを分析値とする。

2) 注意点

- ① 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。
定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン179、プロダクトイオン107
定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン179、プロダクトイオン135
- ② アシベンゾラルS-メチル標準品を用いて添加回収試験を実施し、代謝物Bへの変換が十分に行われていることを確認すること。
- ③ 試料のpHが概ね4以下の場合は、試料20.0 gに1 mol/L水酸化ナトリウム溶液を加えてpH 6.5～7.5に調整し、先に加えた1 mol/L水酸化ナトリウム溶液の量と合わせて40 mLとなるように0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液を加えて加水分解を行うこと。
- ④ 試験溶液の調製における1)の操作では、抽出液を塩基性から酸性に調整するために1 mol/L塩酸0.2 mLを加える。pH試験紙等を用いて溶液のpHが2以下であることを確認し、必要に応じて添加量を調節する。
- ⑤ 試験法開発時に検討した食品：玄米、小麦、ほうれんそう、キャベツ、なす、いちご、バナナ、オレンジ

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

スピラマイシン試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

スピラマイシン I

ネオスピラマイシン I

2. 適用食品

畜産物、水産物（魚類）

ただし、畜産物の「肝臓」は適用対象外とする。

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。

スピラマイシン I 標準品 本品はスピラマイシン I 95%以上を含む。

ネオスピラマイシン I 標準品 本品はネオスピラマイシン I 95%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 筋肉、乳及び魚類の場合

試料10.0 gにメタノール50 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。残留物にメタノール25 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様に遠心分離し、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせ、メタノールを加えて正確に100 mLとする。この溶液から正確に10 mLを分取し、40℃以下で約1 mLに濃縮する。この溶液に0.5 vol%トリフルオロ酢酸9 mLを加える。

② 脂肪の場合

試料5.00 g にメタノール及び0.4 w/v%メタリン酸溶液（1：1）混液 50 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。残留物にメタノール及び0.4 w/v%メタリン酸溶液（1：1）混液 25 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様に遠心分離し、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせ、メタノールを加えて正確に100 mLとする。この溶液から正確に20 mLを分取し、40℃以下で約1 mLに濃縮する。この溶液に0.5 vol%トリフルオロ酢酸を加え、10 mLにする。

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（200 mg）にメタノール及び0.5 vol%トリフルオロ酢酸各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、水及び1 vol%トリエチルアミン各5 mLを順次注入し、各流出液は捨てる。次いで、1 vol%トリエチルアミン・メタノール溶液 5 mLを注入し、溶出液に水を加えて正確に10 mLとしたものを試験溶

液とする。

6. 検量線の作成

スピラマイシン I 標準品及びネオスピラマイシン I 標準品をメタノールに溶かしてそれぞれ1,000 mg/Lとし、標準原液とする。各標準原液を適宜混合して1 vol%トリエチルアミン・メタノール溶液及び水（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0.001 mg/L（ネオスピラマイシン I はスピラマイシン I 換算）である。

7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でスピラマイシン I 及びネオスピラマイシン I の各含量を求める。ネオスピラマイシン I を含むスピラマイシン I の含量を求める場合には、次式により求める。

スピラマイシン I（ネオスピラマイシン I を含む。）の含量（ppm）＝A + B × 1.206

A：スピラマイシン I の含量（ppm）

B：ネオスピラマイシン I 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2.0 mm、長さ150 mm、粒子径3 µm

カラム温度：40℃

移動相：0.1 vol%ギ酸及び0.1 vol%ギ酸・アセトニトリル溶液の混液（17：3）で1分間保持した後、（3：

2）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*）

スピラマイシン I：プリカーサーイオン422、プロダクトイオン174、101

ネオスピラマイシン I：プリカーサーイオン350、プロダクトイオン174、160

注入量：10 µL

保持時間の目安

スピラマイシン I：8分

ネオスピラマイシン I：7分

10. 定量限界

各化合物0.01 mg/kg（ネオスピラマイシン I はスピラマイシン I 換算）

11. 留意事項

1) 試験法の概要

スピラマイシン I 及びネオスピラマイシン I を試料からメタノール（脂肪の場合は、メタノール及び0.4 w/v%メタリン酸溶液（1：1）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/MSで定量及び確認する方法である。なお、スピラマイシン I 及びネオスピラマイシン I のそれぞれについて定量を行い、ネオスピラマイシン I を含むスピラマイシン I の含量を求める場合には、ネオスピラマイシン I の含量に換算係数を乗じてスピラマイシン I の含量に換算し、これらの和を分析値とする。

2) 注意点

- ① 開発時に用いた遠心分離機における毎分3,000回転は、約2,130×gである。
- ② 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、スピラマイシン I 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。
- ③ LC-MS/MS測定を用いて、肝臓のスピラマイシン I 及びネオスピラマイシン I を測定する場合、いずれも速やかにチアゾリジン誘導体へ変換してしまい、設定した定量イオン及び定性イオンでは測定することができない。そのため、肝臓を試験する場合、バイオアッセイによる方法を用いる。
- ④ スピラマイシン I 及びネオスピラマイシン I 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。
スピラマイシン I
定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン422、プロダクトイオン174
定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン422、プロダクトイオン101
ネオスピラマイシン I
定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン350、プロダクトイオン174
定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン350、プロダクトイオン160
- ⑤ 試験法開発時に検討した食品：豚の筋肉、豚の脂肪、牛乳、ぶり

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

グリホサート試験法 I (農産物)

1. 分析対象化合物

グリホサート、グリホサートアンモニウム塩、グリホサートイソプロピルアミン塩、グリホサートトリメシウム塩、グリホサートナトリウム塩

2. 装置

蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフを用いる。

3. 試薬、試液

総則の 3 に示すものを用いる。

4. 標準品

グリホサート 本品はグリホサート99%以上を含む。

分解点 本品の分解点は230℃である。

5. 試験溶液の調製

a 抽出法

(1) 穀類、豆類、果実、野菜、種実類及び抹茶の場合

穀類及び豆類の場合は、検体を420 μm の標準網ふるいを通して粉砕した後、その20.0 gを量り採る。

果実、野菜及び種実類の場合は、検体約1 kgを精密に量り、必要に応じ適量の水を量って加え、細切均一化した後、検体20.0 gに相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、検体20.0 gを量り採る。

これに水100 mL及びクロロホルム50 mLを加え、振とう機を用いて30分間激しく振り混ぜた後、毎分3,000回転で遠心分離を行い、水層を分取する。沈殿に50 mLの水を加え、よく振り混ぜた後、上記と同様の条件で遠心分離を行い、水層を合わせる。これをろ過した後、水を加えて正確に200 mLとし、その25 mLをすり合わせ減圧濃縮器中に移し、50℃以下で水を除去する。この残留物に水2 mLを加えて溶かす。

(2) 抹茶以外の茶の場合

検体10.0 gを100℃の水500 mLに浸し、室温で5分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液20 mLをすり合わせ減圧濃縮器中に移し、50℃以下で水を除去する。この残留物に水2 mLを加えて溶かす。

b 精製法

内径10 mm、長さ300 mmのクロマトグラフ管に、強酸性陽イオン交換樹脂（粒径37～74 μm ）12 mLを水に懸濁したものを入れ、カラムの上端に少量の水が残る程度まで水を流出

させる。このカラムに水50 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに a 抽出法で得られた溶液を注入した後、水1 mLで上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液をカラムに注入し、流出液は捨てる。このカラムに水8 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、50℃以下で水を除去する。この残留物に0.05 mol/L四ホウ酸ナトリウム溶液5 mLを加えて溶かす。これに0.1%9-フルオレニルメチルクロロホルマーアセトン溶液5 mLを加え、密栓し、よく振り混ぜた後、20分間放置する。この溶液に酢酸エチル10 mLを加え、1分間振り混ぜた後、静置し、水層を採り、これを試験溶液とする。

6. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品について 5. 試験溶液の調製の b 精製法と同様に操作して得られたものと一致しなければならない。

操作条件

カラム充填剤 強塩基性陰イオン交換樹脂を用いる（粒径10 μm）。

クロマトグラフ管 内径4.5 mm、長さ250 mmのステンレス管を用いる。

カラム温度 40℃

検出器 励起波長254 nm、蛍光波長315 nmで操作する。

移動相 アセトニトリル及び0.1 mol/Lリン酸一カリウム溶液の混液（1 : 3）を用いる。グリホサートが11～15分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

7. 定量限界

0.01 mg/kg

8. 留意事項

グリホサートの分析値には、グリホサート、グリホサートアンモニウム塩、グリホサートイソプロピルアミン塩、グリホサートトリメシウム塩及びグリホサートナトリウム塩が含まれる。

9. 参考文献

なし

10. 類型

A