

(別添)

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（食安発第0124001号）

(傍線部分は改正部分)

改正後						現行					
目次						目次					
(略) 第2章 一斉試験法 (略) ・LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅱ（農産物） 1. 分析対象化合物 別表						(略) 第2章 一斉試験法 (略) ・LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅱ（農産物） 1. 分析対象化合物 別表					
品目名	分析対象化合物	相対保持時間	LC/MS 測定イオン (m/z) (以下略)	LC/MS/MS 測定イオン (m/z) (以下略)	測定限界 (ng) (以下略)	品目名	分析対象化合物	相対保持時間	LC/MS 測定イオン (m/z) (以下略)	LC/MS/MS 測定イオン (m/z) (以下略)	測定限界 (ng) (以下略)
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
プロピリスルフロ ンメチル	プロピリス ルフロ ンメ チル	(略)	(略)	(略)	(略)	プロピリスルフ ロンメチル	プロピリス ルフロ ンメ チル	(略)	(略)	(略)	(略)
<u>フルアジホップ チル</u>	<u>フルアジホ ップ酸</u>	(略)	(略)	(略)	(略)	<u>フルアジホップ</u>	<u>フルアジホ ップ</u>	(略)	(略)	(略)	(略)
フルメツラム	フルメツラ ム	(略)	(略)	(略)	(略)	フルメツラム	フルメツラ ム	(略)	(略)	(略)	(略)
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
(略) ・GC/MSによる農薬等の一斉試験法（畜水産物） (略) ・LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ（畜水産物） (略) ・LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅱ（畜水産物）						(略) ・GC/MSによる農薬等の一斉試験法（畜水産物） (略) ・LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ（畜水産物） (略) ・LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅱ（畜水産物）					

1. 分析対象化合物  
別表

品目名	分析対象化合物	相対保持時間	主なイオン (以下、略)	測定限界 (ng) (以下、略)
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
フェンピロキシメート	フェンピロキシメート (Z体)	(略)	(略)	(略)
<u>フルアジホップ チル</u>	フルアジホップ P ブチル	(略)	(略)	(略)
フルベンダゾール	フルベンダゾール	(略)	(略)	(略)
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)

(略)  
(略)

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)
- (略)
- ・ 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

1. 分析対象化合物  
別表

品目名	分析対象化合物	相対保持時間	主なイオン (以下、略)	測定限界 (ng) (以下、略)
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
フェンピロキシメート	フェンピロキシメート (Z体)	(略)	(略)	(略)
<u>フルアジホップ Pブチル</u>	フルアジホップ P ブチル	(略)	(略)	(略)
フルベンダゾール	フルベンダゾール	(略)	(略)	(略)
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)

(略)  
(略)

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)
- ・ (新設)
- ・ 2, 2-DPA試験法 (農産物)
- (略)
- ・ エマメクチン安息香酸塩試験法 (農産物)
- ・ (新設)
- ・ 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、サラフロキサシ、ジフロキサシ、ダノフロキサシ、ナリジク  
ス酸、ノルフロキサシ及びフルメキン試験法（畜水産物）

（略）

・フェントラザミド試験法（農産物）

・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）

（略）

・フルアジナム試験法（農産物）

（削除）

・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）

（略）

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）

（略）

2,4-D、2,4-DB及びクロプロップ試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

2,4-D

2,4-DB

クロプロップ

2. 適用食品

農産物

サシ、サラフロキサシ、ジフロキサシ、ダノフロキサシ、ナリジク  
ス酸、ノルフロキサシ及びフルメキン試験法（畜水産物）

（略）

・フェントラザミド試験法（農産物）

（新設）

・フェンピロキシメート試験法（農産物）

（略）

・フルアジナム試験法（農産物）

・フルアジホップ試験法（農産物）

（新設）

・フルオピコリド試験法（農産物）

（略）

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）

（略）

2,4-D、2,4-DB及びクロプロップ試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
<u>2,4-D</u>	<u>2,4-D、2,4-D ナトリウム塩、2,4-D ジメチルアミ ン塩、2,4-D エチル、2,4-D イソプロピル、2,4-D ブトキシエチル、2,4-D アルカノールアミン塩</u>
<u>2,4-DB</u>	<u>2,4-DB、2,4-DB ナトリウム塩、2,4-DB ブチル、2 ,4-DB ジメチルアンモニウム塩、2,4-DB イソオク チル</u>
<u>クロプロップ</u>	<u>クロプロップ</u>

（新設）

### 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) 内径約 12 ~ 13 mm のポリエチレン製のカラム管に、上層にグラファイトカーボンを、下層にエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル各 500 mg 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。

2,4-D 標準品 本品は 2,4-D 98 % 以上を含む。

2,4-DB 標準品 本品は 2,4-DB 98 % 以上を含む。

クロプロップ標準品 本品はクロプロップ 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 4 mol/L 塩酸 5 mL 及びアセトン 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た後、上記と同様にろ過する。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 10 mL を分取し、10 w/v % 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、酢酸エチル及び n-ヘキサン (1 : 1) 混液 100 mL 及び 50 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 °C 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、アセトニトリル及び水 (99 : 1) 混液 30 mL ずつで 3 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。

### 2. 装置

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ及びガスクロマトグラフ・質量分析計を用いる。

### 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。

ブチルエステル化剤 三フッ化ホウ素エーテル錯体 10 g を n-ブタノール 25 mL に溶かす。

2,4-D 標準品 本品は 2,4-D 99 % 以上を含む。

融点 本品の融点は 138 °C である。

2,4-DB 標準品 本品は 2,4-DB 98 % 以上を含む。

融点 本品の融点は 117 ~ 119 °C である。

クロプロップ標準品 本品はクロプロップ 98 % 以上を含む。

### 4. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

##### (1) 穀類、豆類及び種実類の場合

検体を 420µm の標準網ふるいを通るように粉碎した後、その 10.0 を量り採り、水 20 mL を加え、2 時間放置する。

これにアセトン 100 mL 及び 4 mol/L 塩酸 5 mL を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン 50 mL を加え、3 分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 °C 以下で約 30 mL に濃縮する。

これをあらかじめ 10 % 塩化ナトリウム溶液 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗に移す。酢酸エチル 100 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型ラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル 50 mL を加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで酢酸エチル 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 °C 以下で約 1 mL に濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。

この残留物に n-ヘキサン 30 mL を加え、100 mL の分液漏斗に移す。これに n-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層を 200 mL の

## ② 果実及び野菜の場合

試料 20.0 g に 4 mol/L 塩酸 5 mL 及びアセトン 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た後、上記と同様にろ過する。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 5 mL を分取し、10 w/v % 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 100 mL 及び 50 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 °C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。

## ③ 茶及びホップの場合

試料 5.00 g に水 20 mL を加え、30 分間放置する。これに 4 mol/L 塩酸 5 mL 及びアセトン 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た後、上記と同様にろ過する。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 10 mL を分取し、10 w/v % 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 100 mL 及び 50 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、40 °C 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、アセトニトリル及び水 (99 : 1) 混液 30 mL ずつで 3 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。

## 2) 加水分解

1) で得られた残留物にメタノール 2 mL を加えて溶かし、1.5 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 1 mL を加える。これに還流冷却器を取り付けて、80 °C の水浴中で 30 分間加熱した後、放冷する。これに、1.5 mol/L 塩酸を加えて pH 7.5 ~ 8.0 に調整し、0.1 w/v % 炭酸水素ナトリウム溶液 16 mL を加える。

分液漏斗に移す。*n*-ヘキサン層に *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、上記と同様の操作を 2 回繰り返す、アセトニトリル層を上記の分液漏斗に合わせる。これにアセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 50 mL を加え、軽く振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移し、40 °C 以下で約 1 mL に濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。

## (2) 果実、野菜、ハーブ及びホップの場合

果実、野菜及びハーブの場合は、検体約 1 kg を精密に量り、必要に応じ適量の水を量つて加え、細切均一化した後、検体 20.0 g に相当する量を量り採る。

ホップの場合は、検体 5.00 g を量り採り、水 20 mL を加えて、2 時間放置する。

これにアセトン 100 mL 及び 4 mol/L 塩酸 5 mL を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン 50 mL を加え、3 分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 °C 以下で約 30 mL に濃縮する。

これをあらかじめ 10 % 塩化ナトリウム溶液 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗に移す。酢酸エチル 100 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル 50 mL を加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで酢酸エチル 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 °C 以下で約 1 mL に濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。

## 2) 加水分解

1) 抽出で得られた残留物にメタノール 20 mL を加えて溶かし、100 mL のナス型フラスコに移し、1.5 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 10 mL を加える。これに還流冷却器を取り付けて、80 °C の水浴中で 30 分間加熱した後、放冷する。これをすり合わせ減圧濃縮器中に移し、40 °C 以下で大部分のメタノールを除去する。この残留物をガラスろ過器 (細孔記号 G3) を用いて吸引ろ過し、ろ液を 300 mL の分液漏斗(I)に移す。ガラスろ過器上の

残留物を少量のアセトン及び水を用いて洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。これにエーテル 50 mL 及び 10 % 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、水層を 300 mL の分液漏斗(II)に移す。これに 4 mol/L 塩酸を加えて pH 1 以下に調整し、酢酸エチル 50 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル 50 mL を加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで酢酸エチル 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う。洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 °C 以下で約 1 mL に濃縮する。

### 3) ブチルエステル化

2) 加水分解で得られた溶液を 20 mL のナス型フラスコに移し、更に室温で窒素気流下で乾固した後、ブチルエステル化剤 1 mL を加える。上記のナス型フラスコに還流冷却器を取り付けて、90 °C の水浴中で 30 分間加熱した後、放冷する。これをあらかじめ 10 % 塩化ナトリウム溶液 50 mL 及び *n*-ヘキサン 50 mL を入れた 200 mL の分液漏斗に移し、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を 200 mL の三角フラスコに移す。水層に *n*-ヘキサン 50 mL を加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで *n*-ヘキサン 10 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う。洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 °C 以下で約 2 mL に濃縮する。

### 4) 精製

内径 15 mm、長さ 300 mm のクロマトグラフ管に、カラムクロマトグラフィ用合成ケイ酸マグネシウム 5 g を *n*-ヘキサンに懸濁したもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約 5 g を入れ、カラムの上端に少量の *n*-ヘキサンが残る程度まで *n*-ヘキサンを流出させる。このカラムに 3) ブチルエステル化で得られた溶液を注入した後、エーテル及び *n*-ヘキサン (3 : 17) 混液 150 mL を注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40 °C 以下で約 1 mL に濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて溶かし、正確に 2 mL として、これを試験溶液とする。

(削る)

### 3) 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

オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1,000 mg) 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。このカラムに 2) で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。次いで、0.1 w/v % 炭酸水素ナトリウム溶液及びメタノール (1 : 1) 混液 20 mL を注入し、溶出液に 4 mol/L 塩酸 5 mL を加えて pH 1 以下に調整する。これに 10 w/v % 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、エーテル 50 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 °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トルエン (3 : 1) 混液 3 mL を加えて溶かす。

② 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 7 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル、ギ酸及びトルエン (75 : 1 : 25) 混液 30 mL 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解し、茶及びホップ以外の場合は正確に 1 mL、茶及びホップの場合は正確に 0.5 mL としたものを試験溶液とする。

#### 6. 検量線の作成

2,4-D、2,4-DB 及びクロプロップ各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により検量線を作成する。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 0.005 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 2,4-D、2,4-DB 及びクロプロップの含量を求める。

#### 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：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 (7 : 3) から (1 : 9) 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)：

2,4-D プリカーサーイオン 219、プロダクトイオン 161

プリカーサーイオン 221、プロダクトイオン 163

2,4-DB プリカーサーイオン 247、プロダクトイオン 161

プリカーサーイオン 249、プロダクトイオン 163

クロプロップ プリカーサーイオン 199、プロダクトイオン 127

#### 5. 操作法

##### 1) 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、4. 試験溶液の調製の 3) ブチルエステル化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 内径 0.25 mm、長さ 30 m のケイ酸ガラス製の細管に、ガス  
クロマトグラフィー用 5 % フェニルーメチルシリコンを 0.25 µm の厚  
さでコーティングしたもの。

カラム温度 50 °C で 1 分間保持し、その後毎分 25 °C で昇温する。  
125 °C に到達後、毎分 10 °C で昇温し、300 °C に到達後 5 分間保持する。

試験溶液注入口温度 260 °C

検出器 300 °C で操作する。

ガス流量 キャリヤーガスとして窒素又はヘリウムを用いる。

##### 2) 定量試験

1) 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。

##### 3) 確認試験

1) 定性試験と同様の操作条件でガスクロマトグラフィー・質量分析を行う。試験結果は標準品について、4. 試験溶液の調製の 3) ブチルエステル化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。また、必要に応じ、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

注入量：5  $\mu$ L

保持時間の目安：

2,4-D：9分

2,4-DB：13分

クロプロップ：8分

#### 10. 定量限界

2,4-D：0.01 mg/kg

2,4-DB：0.01 mg/kg

クロプロップ：0.01 mg/kg

#### 11. 留意事項

##### 1) 試験法の概要

2,4-D、2,4-DB 及びクロプロップを試料から塩酸酸性下アセトンで抽出し、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン<sub>2</sub>の混液に転溶する。脂質等が多い試料についてはアセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂する。加水分解した後、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で精製した後、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。また、2,4,5-T も同時分析が可能な方法である。

##### 2) 注意点

① 2,4-D には、加水分解により 2,4-D に変換される化合物 (2,4-D ナトリウム塩、2,4-D ジメチルアミン塩、2,4-D エチル、2,4-D イソプロピル、2,4-D ブトキシエチル及び 2,4-D アルカノールアミン塩等) が含まれる。2,4-DB には、加水分解により 2,4-DB に変換される化合物 (2,4-DB ナトリウム塩、2,4-DB カリウム塩、2,4-DB ブチル、2,4-DB イソオクチル及び 2,4-DB ジメチルアミン塩等) が含まれる。

② 2,4-D、2,4-DB 及びクロプロップは塩基性で水溶性となるため、抽出及び転溶時には酸性に保つ必要がある。

③ 夾 (きょう) 雑成分の影響で LC-MS/MS で感度上昇あるいは感度下降が見られる時は、測定条件の濃度勾配の時間を適宜変更するなどして測定すること。

④ 2,4-D、2,4-DB 及びクロプロップの 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。

2,4-D

#### 6. 定量限界

2,4-D 0.005 mg/kg (穀類にあつては 0.01 mg/kg)

2,4-DB 及びクロプロップ 0.01 mg/kg (GC/MS 使用時)

#### 7. 留意事項

1) 本法は、2,4-D、2,4-DB 及びクロプロップを同時分析するために、既通知の 2,4-D 試験法を改良したものである。改良点は、(1)合成ケイ酸マグネシウムカラムに試料溶液を負荷した後の、エーテル及び *n*-ヘキサン (1 : 19) 混液 50 mL による洗浄操作を省いたこと、(2)最終試験溶液を 2 mL としたこと、である。

2) 2,4-D は塩基性で水溶性となるため、抽出時には酸性に保つ必要があること。また、ブチルエステル化の際には、酢酸エチルの除去を行うこと。

3) 特にクロプロップは GC-ECD における感度が低いため、定性及び定量には GC/MS の使用が推奨される。測定に用いる主なイオン (*m/z*) は、2,4-DB : 231、クロプロップ : 256。



定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 219、プロダクトイオン 161  
定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 221、プロダクトイオン 163

2,4-DB

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 247、プロダクトイオン 161  
定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 249、プロダクトイオン 163

クロプロロップ

定量イオン (m/z) : プリカーサーイオン 199、プロダクトイオン 127  
定性イオン (m/z) : プリカーサーイオン 201、プロダクトイオン 129

⑤ 試験法開発時に検討した食品：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、茶及びコーヒー豆

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 0315001 号「2,4-D、2,4-DB 及びクロプロロップ試験法（農産物）」（平成 18 年 3 月 15 日）  
平成 6 年厚生省告示第 199 号「2,4,5-T 試験法」

13. 類型

C

2, 4-D、2, 4-DB 及びクロプロロップ試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

2, 4-D

2, 4-DB

クロプロロップ

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。

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） 内径約 12 ~ 13 mm のポリエチレン製のカラム管に、上層にグラファイトカーボンを、下層にエチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル各 500 mg 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。

8. 参考文献

なし

9. 類型

A

（新設）

2,4-D 標準品 本品は 2,4-D 98 %以上を含む。

2,4-DB 標準品 本品は 2,4-DB 98 %以上を含む。

クロプロップ標準品 本品はクロプロップ 98 %以上を含む。

## 5. 試験溶液の調製

### 1) 抽出

#### ① 筋肉、肝臓、腎臓、乳、卵及び魚介類の場合

試料 10.0 g に 4 mol/L 塩酸 5 mL 及びアセトン 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た後、上記と同様にろ過する。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 10 mL を分取し、10 w/v % 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 100 mL 及び 50 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、40 °C 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、アセトニトリル及び水 (99 : 1) 混液 30 mL ずつで 3 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。

#### ② 脂肪の場合

試料 5.00 g に 4 mol/L 塩酸 5 mL 及びアセトン 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た後、上記と同様にろ過する。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 20 mL を分取し、10 w/v % 塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 100 mL 及び 50 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、40 °C 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、アセトニトリル及び水 (99 : 1) 混液 30 mL ずつで 3 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。

#### ③ はちみつの場合

試料 10.0 g に水 20 mL を加えて溶かす。これに 4 mol/L 塩酸 5 mL 及びアセトン 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た後、上記と同様にろ過する。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 10 mL を分取し、10 w/v %塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン (1 : 1) 混液 100 mL 及び 50 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、40 °C 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メタノール 2 mL を加えて溶かし、1.5 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 1 mL を加える。これに還流冷却器を取り付けて、80 °C の水浴中で 30 分間加熱した後、放冷する。これに、1.5 mol/L 塩酸を加えて pH 7.5 ~ 8.0 に調整し、0.1 w/v %炭酸水素ナトリウム溶液 16 mL を加える。

## 3) 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 (1,000 mg) 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。このカラムに 2) で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。次いで、0.1 w/v %炭酸水素ナトリウム溶液及びメタノール (1 : 1) 混液 20 mL を注入し、溶出液に 4 mol/L 塩酸 5 mL を加えて pH 1 以下に調整する。これに 10 w/v %塩化ナトリウム溶液 100 mL を加え、エーテル 50 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 °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トルエン (3 : 1) 混液 3 mL を加えて溶かす。

### ② 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 7 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトニトリル、ギ酸及びトルエン (75 : 1 : 25) 混液 30 mL 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解し、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

2,4-D、2,4-DB 及びクロプロップ各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により検量線を

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 0.005 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 2,4-D、2,4-DB 及びクロプロップの含量を求める。

#### 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  $\mu$ m

カラム温度：40  $^{\circ}$ 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 (7:3) から (1:9) 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 ( $m/z$ )：

2,4-D プリカーサーイオン 219、プロダクトイオン 161

プリカーサーイオン 221、プロダクトイオン 163

2,4-DB プリカーサーイオン 247、プロダクトイオン 161

プリカーサーイオン 249、プロダクトイオン 163

クロプロップ プリカーサーイオン 199、プロダクトイオン 127

プリカーサーイオン 201、プロダクトイオン 129

注入量：5  $\mu$ L

保持時間の目安：

2,4-D：9 分

2,4-DB：13 分

クロプロップ：8 分

#### 10. 定量限界

2,4-D：0.01 mg/kg

2,4-DB：0.01 mg/kg

クロプロップ：0.01 mg/kg

#### 11. 留意事項

##### 1) 試験法の概要

2,4-D、2,4-DB 及びクロプロップを試料から塩酸酸性下アセトンで抽出し

酢酸エチル及び *n*-ヘキサンの混液に転溶する。脂質等が多い試料についてはアセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂する。加水分解した後、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で精製した後、LC-MS/MS で定量及び確認する方法である。2,4,5-T も同時分析が可能な方法である。

## 2) 注意点

- ① 2,4-D には、加水分解により 2,4-D に変換される化合物 (2,4-D ナトリウム塩、2,4-D ジメチルアミン塩、2,4-D エチル、2,4-D イソプロピル、2,4-D ブトキシエチル及び 2,4-D アルカノールアミン塩等) が含まれる。2,4-DB には、加水分解により 2,4-DB に変換される化合物 (2,4-DB ナトリウム塩、2,4-DB カリウム塩、2,4-DB ブチル、2,4-DB イソオクチル及び 2,4-DB ジメチルアミン塩等) が含まれる。
- ② 2,4-D、2,4-DB 及びクロプロップは塩基性で水溶性となるため、抽出及び転溶時には酸性に保つ必要がある。
- ③ 夾 (きょう) 雑成分の影響で LC-MS/MS で感度上昇あるいは感度下降が見られる時は、測定条件の濃度勾配の時間を適宜変更するなどして測定すること。
- ④ 2,4-D、2,4-DB 及びクロプロップの 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。  
2,4-D  
定量イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 219、プロダクトイオン 161  
定性イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 221、プロダクトイオン 163  
2,4-DB  
定量イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 247、プロダクトイオン 161  
定性イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 249、プロダクトイオン 163  
クロプロップ  
定量イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 199、プロダクトイオン 127  
定性イオン (*m/z*) : プリカーサーイオン 201、プロダクトイオン 129
- ⑤ 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、鶏の筋肉、鶏卵、牛乳、はちみつ、うなぎ、さけ、しじみ及びはちみつ

## 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 0315001 号「2,4-D、2,4-DB 及びクロプロップ試験法 (農産物)」 (平成 18 年 3 月 15 日)

平成6年厚生省告示第199号「2,4,5-T試験法」

13. 類型

C

2,2-DPA試験法（農産物）

（略）

（略）

エマメクチン安息香酸塩試験法（農産物）

（略）

塩酸ホルメタネート試験法（農産物）

1. 分析対象化合物

塩酸ホルメタネート

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。

塩酸ホルメタネート標準品 本品は塩酸ホルメタネート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10.0gに水20mLを加え、30分間放置する。これにアセトニトリル100mL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。残留物にアセトニトリル50mL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る。

② 果実、野菜及び茶の場合

果実及び野菜の場合は、試料20.0gを量り採る。茶の場合は、試料5.00gに水20mLを加え、30分間放置する。これにアセトニトリル100mL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、

2,2-DPA試験法（農産物）

（略）

（略）

エマメクチン安息香酸塩試験法（農産物）

（略）

（新設）

上澄液を採る。残留物にアセトニトリル 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、アセトニトリルを加えて正確に 200 mL とする。

## 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) にアセトニトリル 20 mL を注入し、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 20 mL を注入し、流出液は捨てる。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の下部にグラファイトカーボンミニカラムを接続し、このカラムに 1) で得られた溶液から穀類、豆類及び種実類の場合は正確に 5 mL を、果実及び野菜の場合は正確に 2.5 mL を、茶の場合は正確に 10 mL を分取して注入した後、アセトニトリル 20 mL を注入し、全溶出液を採り、40 °C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトニトリル及び水 (1 : 1) 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. 検量線の作成

塩酸ホルメタネート標準品のアセトニトリル及び水 (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 の検量線で塩酸ホルメタネートの含量を求める。

## 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 5 µm

カラム温度：40 °C

移動相：アセトニトリル及び 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 (1 : 19) で 1 分間保持した後、(1 : 19) から (19 : 1) までの濃度勾配を 7 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 222、プロダクトイオン 165、93

注入量：5 µL

保持時間の目安：3分

10. 定量限界

0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

塩酸ホルメタネートを試料からアセトニトリルで抽出し、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とグラファイトカーボンミニカラムの連結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) 留意事項

- ① 塩酸ホルメタネートはメタノール及び水溶液中では不安定であるが、アセトニトリル中では安定である。
- ② 塩酸ホルメタネートは試験溶液中で徐々に分解しやすいので、測定は試験溶液の調製後、速やかに行う。また、測定中は試験溶液を冷却することが望ましい。
- ③ 塩酸ホルメタネートの 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 222、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 222、プロダクトイオン 93
- ④ 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、ライム、りんご、ネクタリン及び緑茶

12. 参考文献

なし

13. 類型

C

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）

(略)

(略)

フェントラザミド試験法（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）

(略)

(略)

フェントラザミド試験法（農産物）



(略)

### フェンピラザミン試験法 (農産物)

#### 1. 分析対象化合物

フェンピラザミン

#### 2. 適用食品

穀類、豆類、種実類、野菜、果実

#### 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。

フェンピラザミン標準品 本品はフェンピラザミン95%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 200 mL とする。この溶液から正確に 10 mL を分取し、水 20 mL を加える。

##### 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 5 mL を分取し、水 10 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 (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 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 (7:3) 混液 10 mL を注入し、溶出液をアセトニトリル及び水 (7:3) 混液で正確に 10 mL としたものを試験溶液とする。

(略)

(新設)

## 6. 検量線の作成

フェンピラザミン標準品のアセトニトリル及び水 (7:3) 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。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 の検量線でフェンピラザ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 3.5  $\mu$ m

カラム温度：40  $^{\circ}$ C

移動相：アセトニトリル及び 0.1 vol % ギ酸 (3:7) から (9:1) までの濃度勾配を 10 分間で行い、(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 332、プロダクトイオン 230、216、189

注入量：5  $\mu$ L

保持時間の目安：8 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

フェンピラザミンを試料からアセトンで抽出し、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。

### 2) 注意点

① フェンピラザミンの 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 332、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 332、プロダクトイオン 216、189

② 試験法開発時に検討した食品：玄米、大豆、ばれいしょ、キャベツ、なす、ほうれんそう、オレンジ及びぶどう

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 0124001 号「ピリフルキナゾン試験法（農産物）」（平成 17 年 1 月 24 日）

13. 類型

C

フェンピロキシメート試験法（農産物）

(略)  
(略)

フルアジナム試験法（農産物）

(略)

(削る)

(略)

フルアジホップブチル試験法（農産物）

フェンピロキシメート試験法（農産物）

(略)  
(略)

フルアジナム試験法（農産物）

(略)

フルアジホップ試験法（農産物）

(略)

(新設)

1. 分析対象化合物

フルアジホップブチル、フルアジホップ酸、フルアジホップ P ブチル、フルアジホップ P 酸

2. 適用食品

農産物

3. 装置

アルカリ熱イオン化検出器又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ及びガスクロマトグラフ・質量分析計を用いる。

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。

ブチルエステル化剤 三フッ化ホウ素エーテル錯体 10 g を n-ブタノール 25mL に溶かす。

フルアジホップブチル 本品はフルアジホップブチル 98 % 以上を含む。

## 5. 試験溶液の調製

### 1) 抽出

#### ① 豆類及び種実類の場合

検体を 425 $\mu$ m の標準網ふるいを通るように粉碎した後、その 10.0 g を量り採り、水 20 mL 加え、2 時間放置する。これにアセトン 100 mL 及び 4 mol/L 塩酸 5 mL を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン 50 mL を加え、3 分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 °C 以下で約 30 mL に濃縮する。これをあらかじめ 10 % 塩化ナトリウム溶液 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗に移す。酢酸エチル 100 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を 300 mL の三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル 50 mL を加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら 15 分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで酢酸エチル 20 mL を用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を 2 回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 °C 以下で約 1 mL に濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。この残留物に *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、100 mL の分液漏斗に移す。これに *n*-ヘキサン 30 mL を加え、振とう機を用いて 5 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。*n*-ヘキサン層に *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 30 mL を加え、上記と同様の操作を 2 回繰り返し、アセトニトリル層をその減圧濃縮器中に合わせ、40 °C 以下で約 1 mL に濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。

#### ② 果実、野菜及びホップの場合

果実及び野菜の場合は、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。ホップの場合は検体を粉碎した後、検体 5.00 g を量り採り、水 20 mL を加え、2 時間放置する。これにアセトン 100 mL 及び 4 mol/L 塩酸 5 mL を加え、3 分間細砕した後、ケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン 50 mL を加え、3 分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40 °C 以下で約 30 mL に濃縮する。これをあらかじめ 10 % 塩化ナトリウム溶液 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗に移す。酢酸エチル 100 mL を用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用

いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を300 mLの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル50 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで酢酸エチル20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で約1 mLに濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。

## 2) 加水分解

1) 抽出法で得られた残留物にメタノール20 mLを加えて溶かし、100 mLのナス型フラスコに移し、1.5 mol/L水酸化ナトリウム溶液10 mLを加える。これに還流冷却器を取り付けて、80℃の水浴中で30分間加熱した後、放冷する。これをすり合わせ減圧濃縮器中に移し、40℃以下で大部分のメタノールを除去する。この残留物をガラスろ過器(細孔記号G3)を用いて吸引ろ過し、ろ液を300 mLの分液漏斗(I)に移す。ガラスろ過器上の残留物を少量のアセトン及び水を用いて洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。これにエーテル50 mL及び10%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、水層を300 mLの分液漏斗(II)に移す。これに4 mol/L塩酸を加えてpH 1以下に調整し、酢酸エチル50 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、酢酸エチル層を300 mLの三角フラスコに移す。水層に酢酸エチル50 mLを加え、上記と同様に操作して、酢酸エチル層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで酢酸エチル20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で約1 mLに濃縮する。

## 3) ブチルエステル化

2) 加水分解で得られた溶液を20 mLのナス型フラスコに移し、更に室温で窒素気流下で乾固した後、ブチルエステル化剤1 mLを加える。上記のナス型フラスコに還流冷却器を取り付けて、90℃の水浴中で30分間加熱した後、放冷する。これをあらかじめ10%塩化ナトリウム溶液50 mL及び*n*-ヘキサン50 mLを入れた200 mL分液漏斗に移し、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を200 mLの三角フラスコに移す。水層に*n*-ヘキサン50 mLを加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで*n*-ヘキサン10 mLを用いて三角フラスコを洗

い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で約2 mLに濃縮する。

#### 4) 精製

内径15 mm、長さ300 mmのクロマトグラフ管に、カラムクロマトグラフィ用合成ケイ酸マグネシウム5 gをn-ヘキサンに懸濁したもの、次いでその上に無水硫酸ナトリウム約5 gを入れ、カラムの上端に少量のn-ヘキサンが残る程度までn-ヘキサンを流出させる。このカラムに3) ブチルエステル化で得られた溶液を注入した後、エーテル及びn-ヘキサンの混液(1:19) 50 mLを注入し、流出液は捨てる。次いでエーテル及びn-ヘキサンの混液(1:1) 100 mLを注入し、流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り、40℃以下で約1 mLに濃縮し、更に室温で窒素気流下で乾固する。この残留物にアセトンを加えて溶かし、正確に5 mLとして、これを試験溶液とする。

### 6. 操作方法

#### 1) 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

#### 操作条件

##### (例)

カラム 内径0.25 mm、長さ30 mのケイ酸ガラス製の細管に、ガスクロマトグラフィ用5%フェニルメチルシリコンを0.25µmの厚さでコーティングしたもの。

カラム温度 50℃で1分間保持し、その後毎分25℃で昇温する。125℃に到達後、毎分10℃で昇温し、300℃に到達後5分間保持する。

試験溶液注入口温度 260℃

検出器 300℃で操作する。

ガス流量 キャリヤーガスとしてヘリウムを用いる。フルアジホップブチルが約15分で流出する流速に調整する。空気及び水素の流量を至適条件に調整する。

#### 2) 定量試験

1) 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。

#### 3) 確認試験

2) 定性試験と同様の操作条件でガスクロマトグラフィ・質量分析を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。また、必要に応じ、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

1) フルアジホップブチルの分析値には、フルアジホップブチル、フルアジホップ酸、フルアジホップ P 酸及びフルアジホップ P ブチルが含まれる。

2) フルアジホップ酸をフルアジホップとして、フルアジホップ P 酸をフルアジホップ P として市販している標準品があるので、分析実施の際は留意すること。

9. 参考文献

なし

10. 類型

A

フルオピコリド試験法（農産物）

(略)  
(略)

フルオピコリド試験法（農産物）

(略)  
(略)