

(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)					(略)						
第2章 一斉試験法					第2章 一斉試験法						
(略)					(略)						
・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Ⅰ（畜水産物）						
1. 分析対象化合物					1. 分析対象化合物						
別表					別表						
品目名	分析対象化合物名	測定波長 (nm)	測定イオン (m/z)	定量限界 (mg/kg)	品目名	分析対象化合物名	測定波長 (nm)	測定イオン (m/z)	定量限界 (mg/kg)		
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)		
アルトレノゲスト	アルトレノゲスト		311	0.003	アルトレノゲスト	アルトレノゲスト		311	0.003		
アルベンダゾール	5-プロピルスルホニル-1H- ベンズイミダゾール-2- アミン	<u>300</u>	<u>240</u>	<u>0.01</u>	新設						
アレスリン	アレスリン		303	0.01	アレスリン	アレスリン		303	0.01		
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)		
削る					5-プロピルスルホニル-1H- ベンズイミダゾール-2- アミン	5-プロピルスルホニル-1H- ベンズイミダゾール-2- アミン	<u>300</u>	<u>240</u>	<u>0.01</u>		
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)		
(略)					(略)						
・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Ⅱ（畜水産物）						
1. 分析対象化合物					1. 分析対象化合物						
別表					別表						
品目名	分析対象化合物名	測定波長 (nm)	測定イオン (m/z)	C18画分	定量限界 (mg/kg)	品目名	分析対象化合物名	測定波 (nm)	測定オン (m/z)	C18画分	定量限界 (mg/kg)
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
アザペロン	アザペロン		328→123	A	0.01	アザペロン	アザペロン		+328→123	A	0.01
アルベンダゾール	5-プロピルスルホニル-1H- ベンズイミダゾール-2- アミン	<u>280</u>	<u>240→133</u>	<u>A</u>	<u>0.01</u>	新設					

エトパベート	エトパベート	280	238→206	A	0.01
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
削る					
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)

(略)

・HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅲ（畜水産物）

1. 分析対象化合物

別表

品目名	分析対象化合物名	測定イオン (m/z)	定量限界 (mg/kg)
アルベンダゾール	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズ イミダゾール-2-アミン	+240→133	0.01
		+205→178	0.01
エトパベート	エトパベート	+260→260	0.01
削る			

(略)

第3章 個別試験法

(略)

・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）

(略)

(削る)

(略)

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）

(略)

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）

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
-------------	---------

エトパベート	エトパベート	280	+238→206	A	0.01
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)
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	5-プロピルスルホニル-1H -ベンズイミダゾール-2- アミン	280	+240→133	A	0.01
(略)	(略)	(略)	(略)	(略)	(略)

(略)

・HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅲ（畜水産物）

1. 分析対象化合物

別表

品目名	分析対象化合物名	測定イオン (m/z)	定量限界 (mg/kg)
新設			
エトパベート	エトパベート	+260→260	0.01
5-プロピルスルホニル-1H-ベ ンズイミダゾール-2-アミン	5-プロピルスルホニル-1H-ベン ズイミダゾール-2-アミン	+240→133	0.01

(略)

第3章 個別試験法

(略)

・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）

(新設)

・アンプロリウム及びデコキネート試験法（畜水産物）

(略)

・チアベンダゾール及び5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン試験法（畜水産物）

(略)

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）

(略)

(新設)

アルベンダゾール	5-プロピルスルホニル-1 <i>H</i> -ベンズイミダゾール-2-アミン
チアベンダゾール	チアベンダゾール、5-ヒドロキシチアベンダゾール

## 2. 適用食品

畜水産物

## 3. 装置

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC-UV)

蛍光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC-FL)

## 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。

5-プロピルスルホニル-1*H*-ベンズイミダゾール-2-アミン標準品 本品は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98%以上を含む。

チアベンダゾール標準品 本品はチアベンダゾール98%以上を含む。

5-ヒドロキシチアベンダゾール標準品 本品は5-ヒドロキシチアベンダゾール98%以上を含む。

## 5. 試験溶液の調製

### 1) 抽出

#### ① 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び乳の場合

試料 5.00 g に酢酸エチル 50 mL 及び 4 mol/L 炭酸カリウム溶液 1 mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 2,600 回転で 5 分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物に沈殿に酢酸エチル 50 mL を加えてホモジナイズした後、遠心分離し、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせ、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、溶媒を酢酸エチルを除去する。この残留物にアセトニトリル 50 mL を加えて溶かし、200 mL の分液漏斗 (I) 中に移す。これにアセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 50 mL を加えて振とう抽出し、アセトニトリル層を採り、200 mL の分液漏斗 (II) 中に移す。これにアセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 50 mL を加えて振とう抽出し、アセトニトリル層を採り、*n*-ヘキサン層を分液漏斗 (I) 中に合わせる。これにアセトニトリル 10 mL を加えて振とう抽出し、アセトニトリル層を先のアセトニトリル層に合わせ、40 °C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル 1 mL を加えて溶かす。

#### ② ①に掲げる食品以外の食品の場合

①の場合に準じて抽出を行う。

## 2) 精製

アルミナ (中性) ミニカラム (1,850 mg) に、酢酸エチル 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに 1) 抽出で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及びメタノール (3 : 7) 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。この残留物をアセトニトリル及び 0.025 mol/L リン酸一ナトリウム溶液 (1 : 4) 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

5-プロピルスルホニル-1*H*-ベンズイミダゾール-2-アミン標準品、チアベンダゾール標準品及び 5-ヒドロキシチアベンダゾール標準品をそれぞれメタノールに溶解して標準原液とする。各標準原液を適宜混合してアセトニトリル及び 0.025 mol/L リン酸一ナトリウム溶液 (1 : 4) 混液で希釈した溶液を数点調製し、それぞれを HPLC 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、試料中における 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 0.01 mg/kg、チアベンダゾール 0.002 mg/kg 及び 5-ヒドロキシチアベンダゾール 0.02 mg/kg に相当する試験溶液中濃度は、それぞれ 0.05 mg/mL、0.01 mg/mL 及び 0.1 mg/mL である。

## 7. 定量

試験溶液を HPLC に注入し、6. の検量線で各化合物の含量を求める。

## 8. 確認試験

HPLC-UV 及び HPLC-FL 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 4.0 ~ 6.0 mm、長さ 150 mm、粒子径 5 µm

カラム温度 : 40 °C

検出器

FL (励起波長 300 nm、蛍光波長 370nm) : 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

UV (吸収波長 298 nm) : 5-ヒドロキシチアベンダゾール

移動相 : アセトニトリル及び 0.025 mol/L リン酸一ナトリウム溶液 (1 : 4) 混液

注入量 : 20 µL

保持時間の目安 : チアベンダゾール 10 分

## 10. 定量限界

5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン 0.01 mg/kg

チアベンダゾール 0.002 mg/kg

5-ヒドロキシチアベンダゾール 0.02 mg/kg

## 11. 留意事項

### 1) 試験法の概要

5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン、チアベンダゾール及び5-ヒドロキシチアベンダゾールを試料から塩基性酢酸エチルで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配アルミナ（中性）ミニカラムで精製した後、HPLC-FL又はHPLC-UVで定量及び確認する方法である。

### 2) 留意点

以下の試験法については、本通知の試験法と同等以上の性能を有すると認められる試験法であるので、留意されたい。

本通知の試験法の5. 試験溶液の調製の1) 抽出を次の方法によるもの

### 1) 抽出

試料 5.00 g に飽和炭酸水素ナトリウム溶液及び飽和炭酸ナトリウム溶液（1：9）混液 1 mL 及び酢酸エチル 50 mL を加え、ホモジナイズした後、毎分 2,600 回転で 5 分間遠心分離し、上澄液を採る。以下 5. 試験溶液の調製の 1) 抽出と同様に操作する。

## 12. 参考文献

なし

## 13. 類型

A

アンプロリウム及びデコキネート試験法（畜水産物）

（略）

（略）

（削る）

（略）

プロヒドロジャスモン試験法（農産物）

### 1. 分析対象化合物

プロヒドロジャスモン

アンプロリウム及びデコキネート試験法（畜水産物）

（略）

（略）

チアベンダゾール及び5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン試験法（畜水産物）

（略）

プロヒドロジャスモン試験法（農産物）

### 1. 分析対象化合物

プロヒドロジャスモン[*n*-プロピルジヒドロジャスモネート（以下「PDJ」という。）]

## 2. 適用食品

### 農産物

## 3. 装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC-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。

プロヒドロジャスモン標準品 本品はプロヒドロジャスモンを97%以上を含む。

## 5. 試験溶液の調製

### 1) 抽出

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、吸引ろ過する。得られたろ液を合わせて、40 °C 以下で約 20 mL に濃縮する。これに 10 % 塩化ナトリウム溶液 50 mL を加え、*n*-ヘキサン 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 20 mL を加え *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 40 mL ずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせて、40 °C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて溶かし、正確に 20 mL とする。

### 2) 精製

クロマトグラフ管 (内径 15 mm) にカラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム 10 g を *n*-ヘキサンに懸濁させて充てんし、無水硫酸ナトリウム約 5 g を積層する。このカラムに、1) で得られた溶液から正確に 4 mL を分取して注入した後、*n*-ヘキサン 100 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及び *n*-ヘキサン混液 (1 : 19) 200 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 *n*-ヘキサンに溶解し、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

プロヒドロジャスモン標準品をアセトンに溶解して標準原液とする。*n*-ヘキサンで希釈した溶液を数点調製し、それぞれ GC/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 0.005 mg/L である。

(新設)

## 2. 装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC-MS)

## 3. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

PDJ 標準品本品は、PDJ97%以上を含み、沸点は 318 °C である。

## 4. 試験溶液の調製

### 1) 抽出

試料 20.0 g を量り採り、アセトン 100 mL を加え、3 分間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て、40 °C 以下で約 20 mL に濃縮する。これに 10 % 塩化ナトリウム溶液 50 mL を加え、*n*-ヘキサン 100 mL 及び 50 mL 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 °C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。残留物に *n*-ヘキサン 20 mL を加えて溶解した後、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル 40 mL ずつで2回振とう抽出する。アセトニトリル層を合わせて 40 °C 以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に *n*-ヘキサンを加えて溶解し、正確に 20 mL とする。

### 2) 精製

クロマトグラフ管 (内径 15 mm) に、カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム 10 g を *n*-ヘキサンに懸濁させて充てんし、無水硫酸ナトリウム 5 g を積層する。このカラムに、1) で得られた溶液 4 mL を注入した後、*n*-ヘキサン 100 mL を注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル・*n*-ヘキサン混液 (1 : 19) 200 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 *n*-ヘキサンに溶解し、正確に 4 mL としたものを試験溶液とする。

## 5. 検量線の作成

PDJ 標準品をアセトンで溶解後、0.005 ~ 0.1 mg/L *n*-ヘキサン溶液を数点調製し、それぞれ 2 µL を GC/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。

## 7. 定量

試験溶液を GC/MS に注入し、6. の検量線で プロヒドロジャスモン の含量を求める。

## 8. 確認試験

GC/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  $\mu\text{m}$

カラム温度：80  $^{\circ}\text{C}$  (1分) - 15  $^{\circ}\text{C}/\text{分}$  - 280  $^{\circ}\text{C}$  (10分)

注入口温度：250  $^{\circ}\text{C}$

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 ( $m/z$ )：184、153

注入量：2  $\mu\text{L}$

保持時間の目安：約 10.4 分及び約 10.6 分

## 10. 定量限界

0.005 mg/kg

## 11. 留意事項

### 1) 試験法の概要

プロヒドロジャスモン を試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサン に転溶する。アセトニリル/*n*-ヘキサン 分配及び 合成ケイ酸マグネシウムカラム で精製した後、GC/MS で 定量及び確認 する方法である。

### 2) 注意点

① プロヒドロジャスモン 標準品は、ヘキサンよりもアセトンに溶解性が高いため、標準原液をアセトンで調製した後、測定用標準溶液をヘキサンで調製する。なお、プロヒドロジャスモン 標準品は *trans* 体 87% 以上及び *epi* 体 12% 以下の混合物 であり、クロマトグラム上は *trans* 体及び *epi* 体の順に溶出する。プロヒドロジャスモン は *trans* 体と *epi* 体の和 を分析値とする。GC/MS の測定において、プロヒドロジャスモン の感度が試験溶液の注入前後で大幅に変動する場合があるため、あらかじめ試験溶液を数回注入して、感度を十分に安定させた後、測定を行う等の措置が必要である。また、試験溶液の夾雑物が次のクロマトグラムに影響を及ぼす可能性があるため、測定終了後カラムの焼き出しを十分に行う

## 6. 定量

試験溶液 2  $\mu\text{L}$  を GC/MS に注入し、5 の検量線で PDJ の含量を求める。

(新設)

## 7. 測定条件

GC/MS

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  $\mu\text{m}$

カラム温度：80  $^{\circ}\text{C}$  (1分) - 15  $^{\circ}\text{C}/\text{分}$  - 280  $^{\circ}\text{C}$  (10分)

注入口温度：250  $^{\circ}\text{C}$

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化モード (電圧)：EI (70 eV)

主なイオン ( $m/z$ )：184、153

(新設)

保持時間の目安：約 10.4 分および約 10.6 分

## 8. 定量限界

0.005 mg/kg

## 9. 留意事項

### 1) 試験法の概要

PDJ を試料からアセトンで抽出し、*n*-ヘキサン に転溶する。アセトニリル/*n*-ヘキサン 分配及び 合成ケイ酸マグネシウムカラム クロマトグラフィーで精製した後、GC/MS で 測定 する方法である。

### 2) 注意点

(1) PDJ 標準品は、ヘキサンよりもアセトンに溶解性が高いため、標準原液をアセトンで調製した後、測定用標準溶液をヘキサンで調製する。なお、PDJ 標準品は *trans* 体 87% 以上及び *epi* 体 12% 以下の混合物 であり、クロマトグラム上は *trans* 体および *epi* 体の順に溶出する。PDJ は *trans* 体と *epi* 体の和 を分析値とする。GC/MS の測定において、PDJ の感度が試験溶液の注入前後で大幅に変動する場合があるため、あらかじめ試験溶液を数回注入して、感度を十分に安定させた後、測定を行う等の措置が必要である。また、試験溶液の夾雑物が次のクロマトグラムに影響を及ぼす可能性があるため、測定終了後カラムの焼き出しを十分に行う必要がある。

必要がある。

② 精製が不十分な場合は、以下のカラムを用いて精製を追加することができる。

a) シリカゲルミニカラム (690 mg)

シリカゲルミニカラム (690 mg) にエーテル及び *n*-ヘキサン各 10 mL を順次注入し、各流出液は捨てる。このカラムに試料液をエーテル及び *n*-ヘキサン混液 (1 : 19) 10 mL で負荷し、流出液は捨てる。次いで、エーテル及び *n*-ヘキサン混液 (3 : 17) 20 mL を注入し溶出液を採る。

b) グラファイトカーボンミニカラム (500 mg)

グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) に *n*-ヘキサン 10 mL を注入し、流出液は捨てる。このカラムに試料液を *n*-ヘキサン 10 mL で負荷し、さらに *n*-ヘキサン 10 mL を注入して全溶出液を採る。

#### 12. 参考文献

環境省告示第 60 号「プロヒドロジャスモン試験法」 (平成 15 年 4 月 10 日)

#### 13. 類型

C

プロヘキサジオンカルシウム塩試験法 (農産物)

(略)

(略)

(2) 精製が不十分な場合は、以下のカラムを用いて精製を追加することができる。

a) シリカゲルミニカラム (690 mg)

エーテル及び *n*-ヘキサン各 10 mL で予備洗浄を行う。試料液をエーテル・*n*-ヘキサン混液 (1 : 19) 10 mL で負荷洗浄し、流出液を捨てた後、エーテル・*n*-ヘキサン混液 (3 : 17) 20 mL で溶出させる。

b) 活性炭ミニカラム (500 mg)

*n*-ヘキサン 10 mL で予備洗浄を行う。試料液を *n*-ヘキサン 10 mL で負荷し、*n*-ヘキサン 10 mL で溶出させる。全量を採取する。

#### 10. 参考文献

環境省告示第 60 号「プロヒドロジャスモン試験法」 (平成 15 年 4 月 10 日)

#### 11. 類型

C

プロヘキサジオンカルシウム塩試験法 (農産物)

(略)

(略)