

## 第 6 章 農 薬

### 第 1 節 各条

#### 1 BHC ( $\alpha$ -BHC、 $\beta$ -BHC、 $\gamma$ -BHC 及び $\delta$ -BHC)

##### 1.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法

第 3 節 1 による。

##### 1.2 有機塩素系及び酸アミド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法

第 2 節 3 による。

##### 1.3 有機塩素系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法

第 3 節 7 による。

#### 2 2,4-D

##### 2.1 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計法 (その 1) <sup>注 1</sup>

(適用範囲：穀類)

#### A 試薬の調製

**2,4-D 標準液** 2,4-D [ $C_8H_6Cl_2O_3$ ] 25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えて 2,4-D 標準原液を調製する (この液 1 mL は、2,4-D として 0.5 mg を含有する。)

使用に際して、標準原液の一部をメタノール-ギ酸 (1,000+1) で正確に希釈し、1 mL 中に 2,4-D として 0.004~0.4  $\mu$ g を含有する数点の 2,4-D 標準液を調製する。

#### B 定 量

**抽 出** 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、300 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 20 mL を加え、30 分間静置後、更に塩酸 (4 mol/L) 5 mL 及びアセトン 100 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙 (5 種 B) で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線までアセトンを加え、液液分配 I に供する試料溶液とする。

**液液分配 I** 試料溶液 8 mL を、あらかじめ塩化ナトリウム溶液 (10 w/v%) 100 mL 及び酢酸エチル-ヘキサン (1+1) 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗 A に正確に加え、5 分間振り混ぜた後静置する。水層 (下層) を 300 mL の分液漏斗 B に入れ、酢酸エチル-ヘキサン層 (上層) を 300 mL の三角フラスコに入れる。分液漏斗 A を酢酸エチル-ヘキサン (1+1) 50 mL で洗浄し、洗液を分液漏斗 B に加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層を捨て、酢酸エチル-ヘキサン層を先の三角フラスコに合わせる。酢酸エチル-ヘキサン層を適量の硫酸ナトリウム (無水) で脱水し、200 mL のなす形フラスコにろ紙 (5 種 A) でろ過する。分液漏斗 B 及び先の三角フラスコを少量の酢酸エチル-ヘキサン (1+1) で洗浄し、

洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。ろ液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮し、窒素ガスを送って乾固する。メタノール 2 mL を加えて残留物を溶かし、加水分解に供する試料溶液とする。

**加水分解** 試料溶液の入った 200 mL のなす形フラスコに水酸化ナトリウム溶液 (1.5 mol/L) 1 mL を加え、冷却管を付けて 80 °C の水浴で 30 分間加熱した後放冷する。pH を塩酸 (1.5 mol/L) で 7.5~8.0 に調整<sup>注2</sup>した後、炭酸水素ナトリウム溶液 (0.1 w/v%) 16 mL を加え、カラム処理 I に供する試料溶液とする。

**カラム処理 I**<sup>注3</sup> オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1 g)<sup>注4</sup> をメタノール 10 mL 及び水 10 mL で順次洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコを炭酸水素ナトリウム溶液 (0.1 w/v%) -メタノール (1+1) 5 mL で洗浄し、洗液をミニカラムに加えて 2,4-D を溶出させ、更に炭酸水素ナトリウム溶液 (0.1 w/v%) -メタノール (1+1) 15 mL をミニカラムに加えて同様に溶出させる。この溶出液を液液分配 II に供する試料溶液とする。

**液液分配 II** 試料溶液をあらかじめ塩酸 (4 mol/L) 5 mL 及び塩化ナトリウム溶液 (10 w/v%) 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗 C に加える。試料溶液の入っていたなす形フラスコをジエチルエーテル 50 mL で洗浄し、洗液を分液漏斗 C に加え、5 分間振り混ぜた後静置する。水層 (下層) を 300 mL の分液漏斗 D に入れ、ジエチルエーテル層 (上層) を 200 mL の三角フラスコに入れる。分液漏斗 C をジエチルエーテル 50 mL で洗浄し、洗液を分液漏斗 D に加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層を捨て、ジエチルエーテル層を先の三角フラスコに合わせる。ジエチルエーテル層を適量の硫酸ナトリウム (無水) で脱水し、200 mL のなす形フラスコにろ紙 (5 種 A) でろ過する。分液漏斗 D 及び先の三角フラスコを少量のジエチルエーテルで洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。ろ液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮し、窒素ガスを送って乾固する。アセトニトリル-トルエン (3+1) 5 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

**カラム処理 II** 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)<sup>注5</sup> をアセトニトリル-トルエン (3+1) 10 mL で洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。更に、試料溶液の入っていたなす形フラスコをアセトニトリル-トルエン (3+1) 5 mL で洗浄し、洗液をミニカラムに入れ、同様に流出させる。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをアセトニトリル-トルエン-ギ酸 (75+25+1) 5 mL で洗浄し、洗液をミニカラムに加えて 2,4-D を溶出させ、更にアセトニトリル-トルエン-ギ酸 (75+25+1) 25 mL をミニカラムに加えて同様に溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮し、窒素ガスを送って乾固する。メタノール-ギ酸 (1,000+1) 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 試料溶液及び各 2,4-D 標準液各 5  $\mu$ L を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、選択反応検出クロマトグラムを得る。

測定条件 例

(液体クロマトグラフ部)

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 3  $\mu$ m) <sup>注6</sup>

溶離液 : 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 - 5 mmol/L 酢酸アンモニウムメタノール溶液 (70+30)  $\rightarrow$  10 min  $\rightarrow$  (0+100) (10 min 保持)

流速 : 0.2 mL/min

カラム槽温度 : 40  $^{\circ}$ C

(タンデム型質量分析計部<sup>注7</sup>)

検出器 : 四重極型質量分析計

イオン化法 : エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (負イオンモード)

イオン源温度 : 150  $^{\circ}$ C

デソルベーションガス : N<sub>2</sub> (800 L/h、400  $^{\circ}$ C)

キャピラリー電圧 : 0.6 kV

コーンガス : N<sub>2</sub> (50 L/h)

コーン電圧 : 下表のとおり

コリジョンガス : Ar (0.4 Pa)

コリジョンエネルギー : 下表のとおり

モニターイオン : 下表のとおり

表 2,4-D の測定条件

測定対象物質	プリカーサー	プロダクトイオン		コーン電圧 (V)	コリジョンエネルギー (eV)
	イオン (m/z)	定量用 (m/z)	確認用 (m/z)		
2,4-D	219	161	—	28	12
	221	—	163	28	12

計算 得られた選択反応検出クロマトグラムから 2,4-D のピーク面積又は高さを求めて検量線を作成し、試料中の 2,4-D 量を算出する。

注 1 本法では、試料中に 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が含まれている場合には、試料中の 2,4-D 量に含まれる。

2 pH は pH 試験紙を用いて確認する。

3 流速は 1 mL/min 程度とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。

4 Mega Bond Elut C18 (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

5 InertSep GC/PSA (ジーエルサイエンス製) 又はこれと同等のもの

6 Atlantis T3 (Waters 製) 又はこれと同等のもの

7 Xevo TQD (Waters 製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・ 添加回収率及び繰返し精度

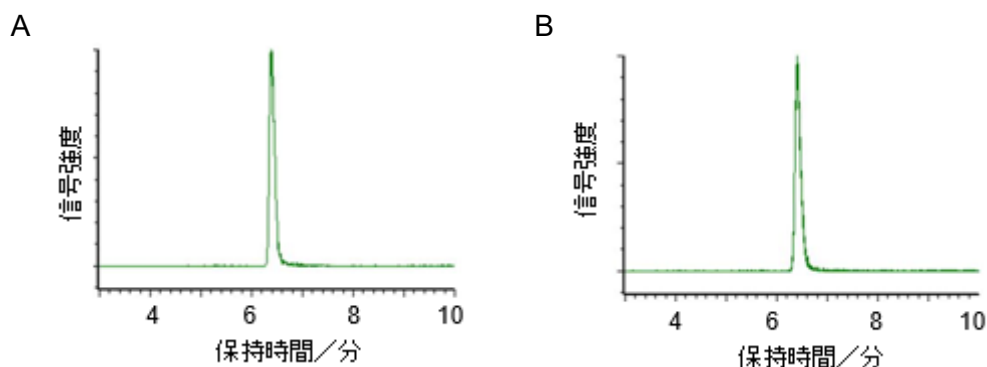
添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
2,4-D	小麦	0.05	3	90.2	1.7
		0.5	3	86.0	5.0
	とうもろこし	0.01	3	91.3	5.7
		0.05	3	78.7	2.9
	ライ麦	0.05	3	84.8	4.7
		0.5	3	93.6	1.9
2,4-Dエチル	小麦	0.05	3	94.7	1.9
		0.5	3	91.3	1.8
	とうもろこし	0.01	3	103	2.7
		0.05	3	84.0	2.4
	ライ麦	0.05	3	96.2	1.7
		0.5	3	92.1	6.8

・ 共同試験

成分名	試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
2,4-D	小麦	9	0	0.5	84.5	7.1	12	0.63
2,4-Dエチル	小麦	8	1	0.5	95.5	6.5	8.7	0.48

- ・ 定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.01 mg/kg
- ・ 検出下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.003 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

- A : 標準液 (2,4-D として 1 ng 注入)
- B : 添加試料 (小麦に 2,4-D として 0.5 mg/kg 相当量添加)

2.2 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計法 (その2) 注1

(適用範囲: 乾牧草)

A 試薬の調製

2,4-D 標準液 2,4-D [C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>3</sub>] 25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えて 2,4-D 標準原液を調製する (この液 1 mL は、2,4-D として 0.5 mg を含有する。)

使用に際して、標準原液の一部をメタノール-ギ酸 (1,000+1) で正確に希釈し、1 mL 中に 2,4-D として 0.004~0.4 µg を含有する数点の 2,4-D 標準液を調製する。

## B 定 量

抽出 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、300 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 30 mL を加え、30 分間静置後、更に塩酸 (4 mol/L) 5 mL 及びアセトン 120 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙 (5 種 B) で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線までアセトンを加える。この液をアセトンで正確に 500 倍希釈した後、希釈液 8 mL を 100 mL のなす形フラスコに正確に入れ、40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮し、窒素ガスを送って乾固する。メタノール 2 mL を加えて残留物を溶かし、加水分解に供する試料溶液とする。

加水分解 試料溶液の入った 100 mL のなす形フラスコに水酸化ナトリウム溶液 (1.5 mol/L) 1 mL を加え、冷却管を付けて 80 °C の水浴で 30 分間加熱した後放冷する。この液を液液分配に供する試料溶液とする。

液液分配 試料溶液をあらかじめ塩酸 (4 mol/L) 5 mL 及び塩化ナトリウム溶液 (10 w/v%) 100 mL を入れた 300 mL の分液漏斗 A に加える。試料溶液の入っているなす形フラスコをジエチルエーテル 50 mL で洗浄し、洗液を分液漏斗 A に加え、5 分間振り混ぜた後静置する。水層 (下層) を 300 mL の分液漏斗 B に入れ、ジエチルエーテル層 (上層) を 200 mL の三角フラスコに入れる。分液漏斗 A をジエチルエーテル 50 mL で洗浄し、洗液を分液漏斗 B に加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層を捨て、ジエチルエーテル層を先の三角フラスコに合わせる。ジエチルエーテル層を適量の硫酸ナトリウム (無水) で脱水し、200 mL のなす形フラスコにろ紙 (5 種 A) でろ過する。分液漏斗 B 及び先の三角フラスコを少量のジエチルエーテルで洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。ろ液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮し、窒素ガスを送って乾固する。メタノール-ギ酸 (1,000+1) 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 試料溶液及び各 2,4-D 標準液各 5 µL を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、選択反応検出クロマトグラムを得る。

測定条件 例

(液体クロマトグラフ部)

カ ラ ム : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 3 µm) <sup>注 2</sup>

溶 離 液 : 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 - 5 mmol/L 酢酸アンモニウムメタノール溶液 (7+3) → 10 min → (0+10) (10 min 保持)

流 速 : 0.2 mL/min

カ ラ ム 槽 温 度 : 40 °C

(タンデム型質量分析計部 <sup>注 3</sup>)

検 出 器 : 四重極型質量分析計

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化（ESI）法（負イオンモード）

イオン源温度：150 °C

デソルベーションガス：N<sub>2</sub>（800 L/h、400 °C）

キャピラリー電圧：0.6 kV

コーンガス：N<sub>2</sub>（50 L/h）

コーン電圧：下表のとおり

コリジョンガス：Ar（0.4 Pa）

コリジョンエネルギー：下表のとおり

モニターイオン：下表のとおり

表 2,4-D の測定条件

測定対象物質	プリカーサー	プロダクトイオン		コーン電圧 (V)	コリジョンエネルギー (eV)
	イオン ( <i>m/z</i> )	定量用 ( <i>m/z</i> )	確認用 ( <i>m/z</i> )		
2,4-D	219	161	—	28	12
	221	—	163	28	12

計算 得られた選択反応検出クロマトグラムから 2,4-D のピーク面積又は高さを求めて検量線を作成し、試料中の 2,4-D 量を算出する。

注 1 本法では、試料中に 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が含まれている場合には、試料中の 2,4-D 量に含まれる。

2 Atlantis T3（Waters 製）又はこれと同等のもの

3 Xevo TQD（Waters 製）による条件例

（参考）分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
2,4-D	チモシーヘイ	10	3	98.2	0.4
		260	3	105	4.2
	ライグラスヘイ	5	3	98.6	4.8
		10	3	91.7	4.0
2,4-Dエチル	チモシーヘイ	10	3	96.2	5.0
		260	3	94.9	2.6
	ライグラスヘイ	10	3	94.7	5.0
		260	3	90.0	5.7

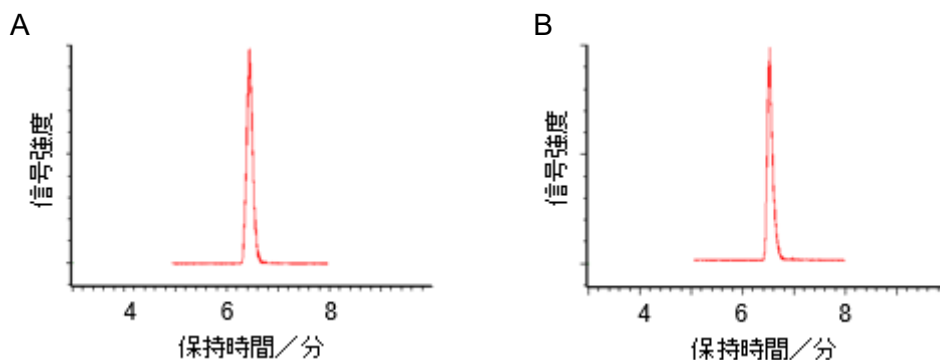
・共同試験

成分名	試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
2,4-D	オーツヘイ	9	0	52	93.5	2.7	15	1.7
	チモシーヘイ	9	0	260	94.2	3.4	11	1.5
2,4-Dエチル	オーツヘイ	9	0	52	82.4	3.2	8.0	0.86
	チモシーヘイ	9	0	260	84.8	6.9	11	1.5

・定量下限（単一試験室による確認） 試料中 5 mg/kg

・検出下限（単一試験室による確認） 試料中 2 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A : 標準液 (2,4-D として 200 ng/mL)

B : 添加試料 (チモシーヘイに 2,4-D として 260 mg/kg 相当量添加)

2.3 2,4-D 及び 2,4,5-T のガスクロマトグラフによる同時分析法  
第 3 節 8 による。

### 3 DDD (*o,p'*-DDD 及び *p,p'*-DDD)

3.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第 3 節 1 による。

3.2 有機塩素系及び酸アミド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第 2 節 3 による。

3.3 有機塩素系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法  
第 3 節 7 による。

### 4 DDE (*o,p'*-DDE 及び *p,p'*-DDE)

4.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第 3 節 1 による。

4.2 有機塩素系及び酸アミド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第 2 節 3 による。

4.3 有機塩素系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法  
第 3 節 7 による。

### 5 DDT (*o,p'*-DDD 及び *p,p'*-DDD)

5.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第 3 節 1 による。

5.2 有機塩素系及び酸アミド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節3による。

5.3 有機塩素系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法  
第3節7による。

## 6 EPN

6.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

6.2 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法（その1）  
第2節4による。

6.3 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法（その2）  
第2節5による。

## 7 EPTC

7.1 EPTC 及び二臭化エチレンのガスクロマトグラフ質量分析計による同時分析法  
第3節9による。

## 8 2,4,5-T

8.1 2,4-D 及び 2,4,5-T のガスクロマトグラフによる同時分析法  
第3節8による。

## 9 XMC

9.1 カーバメート系農薬の液体クロマトグラフによる同時分析法（その1）  
第3節2による。

9.2 カーバメート系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法  
第3節4による。

## 10 アジムスルフロン

10.1 ベンスルフロンメチルその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析  
計による同時分析法  
第3節33による。

## 11 アジンホスメチル

11.1 アジンホスメチル及びプロフェノホスのガスクロマトグラフによる同時分析法  
第3節10による。



## 12 アセトクロール

- 12.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

## 13 アセフェート

- 13.1 アセフェート及びメタミドホスの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節11による。

- 13.2 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法（その1）  
第2節4による。

## 14 アゾキシストロビン

- 14.1 アゾキシストロビンその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節12による。

## 15 アトラジン

- 15.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。
- 15.2 アトラジン及びシマジンのガスクロマトグラフによる同時分析法  
第3節13による。

## 16 アニロホス

- 16.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

## 17 アメトリン

- 17.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。
- 17.2 アメトリン、シアナジン及びプロメトリンの液体クロマトグラフ質量分析計による同時分析法  
第3節14による。

## 18 アラクロール

- 18.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

- 18.2 有機塩素系及び酸アミド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節3による。
- 18.3 アラクロール、アレスリン、クロルプロファム、ジクロラン及びメトキシクロールのガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節6による。
- 19 アリドクロール
- 19.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。
- 20 アルジカルブ（アルジカルブスルホキシドを含む。）
- 20.1 アルジカルブ（アルジカルブスルホキシドを含む）及びアルジカルブスルホンの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節15による。
- 20.2 カーバメート系農薬の液体クロマトグラフによる同時分析法（その1）  
第3節2による。
- 21 アルジカルブスルホン
- 21.1 アルジカルブ（アルジカルブスルホキシドを含む）及びアルジカルブスルホンの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節15による。
- 22 アルドリン（アルドリン及びディルドリン）
- 22.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。
- 22.2 有機塩素系及び酸アミド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節3による。
- 22.3 有機塩素系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法  
第3節7による。
- 23 アレスリン
- 23.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。
- 23.2 ピレスロイド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節2による。

23.3 アラクロール、アレスリン、クロルプロファム、ジクロラン及びメトキシクロールのガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節6による。

24 イサゾホス

24.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

25 イソフェンホス（イソフェンホス及びイソフェンホスオキソン）

25.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

25.2 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法（その1）  
第2節4による。

26 イソフェンホスオキソン

26.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

26.2 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法（その1）  
第2節4による。

27 イソプロカルブ

27.1 カーバメート系農薬の液体クロマトグラフによる同時分析法（その1）  
第3節2による。

27.2 カーバメート系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法  
第3節4による。

27.3 アゾキシストロビンその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節12による。

28 イソプロチオラン

28.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

## 29 イプロジオン（イプロジオン代謝物を含む。）

### 29.1 ガスクロマトグラフ法

#### A 試薬の調製

- 1) イプロジオン標準原液　イプロジオン  $[\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3]$  50 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えてイプロジオン標準原液を調製する（この液 1 mL は、イプロジオンとして 0.5 mg を含有する。）。
- 2) イプロジオン代謝物標準原液　イプロジオン代謝物  $[\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_3]$  50 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えてイプロジオン代謝物標準原液を調製する（この液 1 mL は、イプロジオン代謝物として 0.5 mg を含有する。）。
- 3) イプロジオン混合標準液　イプロジオン標準原液及びイプロジオン代謝物標準原液の一部を混合し、アセトンで正確に希釈し、1 mL 中にイプロジオン及びイプロジオン代謝物としてそれぞれ 0.1~5.0  $\mu\text{g}$  を含有する数点の混合標準液を調製する。

#### B 定 量

抽 出　分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 15 mL を加えて、30 分間静置後、更にアセトン 100 mL を加え、60 分間振り混ぜて抽出する。300 mL のなす形フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。ろ液を 40 °C 以下の水浴で約 15 mL まで減圧濃縮し、塩化ナトリウム 5 g（4.5~5.4 g）を加えてカラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I　試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム（20 mL 保持用）<sup>注1</sup>に入れ、5 分間静置する。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 10 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加える。液面が充てん剤の上端に達するまで流下し、イプロジオン及びイプロジオン代謝物を溶出させる。更にヘキサン 70 mL をカラムに加えて同様に溶出させ、溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。シクロヘキサン-アセトン（4+1）10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター（孔径 0.5  $\mu\text{m}$  以下）でろ過し、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

カラム処理 II　試料溶液 5.0 mL をゲル浸透クロマトグラフに注入し、イプロジオン及びイプロジオン代謝物が溶出する画分を 100 mL のなす形フラスコに分取し、40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。ヘキサン 5 mL を正確に加えて残留物を溶かし、カラム処理 III に供する試料溶液とする。

#### ゲル浸透クロマトグラフィー 例

カラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム（内径 20 mm、長さ 300 mm、粒径 15  $\mu\text{m}$ ）

ガードカラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム（内径 20 mm、長さ 100 mm、粒径 15  $\mu\text{m}$ ）

溶離液：シクロヘキサン-アセトン（4+1）

流速：5 mL/min

分取画分：90~115 mL

カラム処理 III 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910 mg）<sup>注2</sup>をジエチルエーテル 5 mL 及びヘキサン 5 mL で洗浄する。

試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させた後、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 5 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加える。更にヘキサン-ジエチルエーテル（17+3）20 mL をミニカラムに加え、ミニカラムを洗浄する。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、ヘキサン-酢酸エチル（17+3）15 mL をミニカラムに加えてイプロジオン及びイプロジオン代謝物を溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

アセトン 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフィーに供する試料溶液とする。

ガスクロマトグラフィー 試料溶液及び各混合標準液各 2  $\mu\text{L}$  をガスクロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。

#### 測定条件 例

検出器：アルカリ熱イオン化検出器

カラム：溶融石英製キャピラリーカラム（100 %ジメチルポリシロキサンコーティング、内径 0.32 mm、長さ 7 m、膜厚 0.1  $\mu\text{m}$ ）

キャリアーガス：He（1 mL/min）

メイクアップガス：He（5 mL/min）

燃料ガス：H<sub>2</sub>（3 mL/min）

助燃ガス：乾燥空気（60 mL/min）

試料導入法：スプリットレス（60 s）

試料導入部温度：250 °C

カラム槽温度：100 °C（1 min 保持）→昇温 20 °C/min→ 280 °C（2 min 保持）

検出器温度：280 °C

計算 得られたクロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のイプロジオン量及びイプロジオン代謝物量を算出し、その含量をイプロジオン量とする。

注 1 Chem Elut（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの

2 Sep-Pak Plus Florisil Cartridge（Waters 製）に適当な容量のリザーバーを連

結したものの又はこれと同等のもの  
 (参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

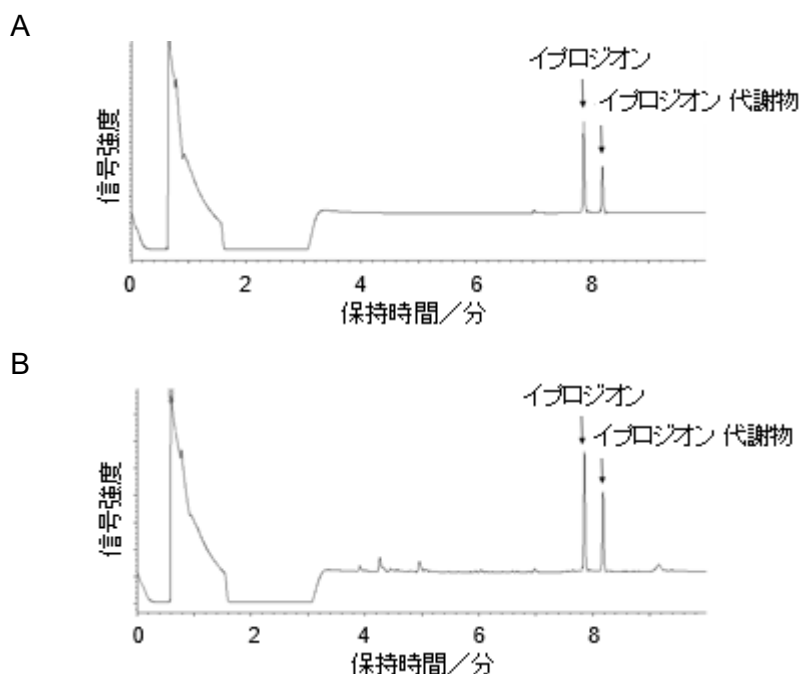
添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
イブロジオン	鶏用配合飼料	0.1	3	96.8	7.5
		0.5	3	92.3	7.3
	豚用配合飼料	0.1	3	93.6	5.3
		0.5	3	96.5	3.0
	チモシー	0.1	3	86.8	3.8
		0.5	3	83.2	5.8
フェスク	0.1	3	94.2	7.6	
	0.5	3	85.6	7.4	
イブロジオン代謝物	鶏用配合飼料	0.1	3	100.5	6.4
		0.5	3	106.2	16.2
	豚用配合飼料	0.1	3	99.1	2.3
		0.5	3	116.2	3.9
	チモシー	0.1	3	98.3	9.9
		0.5	3	94.6	10.4
	フェスク	0.1	3	92.7	2.2
		0.5	3	101.1	18.2

・共同試験

成分名	試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
イブロジオン	成鶏飼育用配合飼料	6	0	0.5	92.6	5.4	9.7	1.5
	大豆油かす	6	0	0.5	93.8	6.1	12	1.9
イブロジオン代謝物	成鶏飼育用配合飼料	6	0	0.5	102	8.6	8.6	1.4
	大豆油かす	6	0	0.5	97.8	4.2	5.0	0.79

・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 各 0.02 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A : 標準液 (各農薬として 5 ng/mL)

B : 添加試料 (鶏用配合飼料に各農薬として 0.5 mg/kg 相当量添加)

### 30 イプロベンホス

30.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

30.2 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法（その1）  
第2節4による。

### 31 イマザピック

31.1 イマザピック及びイマザピルの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節16による。

### 32 イマザピル

32.1 イマザピック及びイマザピルの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節16による。

### 33 イマズスルフロン

33.1 ベンスルフロンメチルその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節33による。

### 34 イミダクロプリド

34.1 液体クロマトグラフ質量分析計法  
（適用範囲：穀類及び乾牧草（稲わらを除く。））

#### A 試薬の調製

1) イミダクロプリド標準液 イミダクロプリド  $[\text{C}_9\text{H}_{10}\text{ClN}_5\text{O}_2]$  10 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線までメタノールを加えてイミダクロプリド標準原液を調製する（この液 1 mL は、イミダクロプリドとして 0.10 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部をメタノールで正確に希釈し、1 mL 中にイミダクロプリドとして 0.002~0.2  $\mu\text{g}$  を含有する数点のイミダクロプリド標準液を調製する。

2) 0.5 mol/L リン酸緩衝液 リン酸水素二カリウム 52.7 g (52.65~52.74 g) 及びリン酸二水素カリウム 30.2 g (30.15~30.24 g) を量って水 500 mL に溶かし、水酸化カリウム溶液 (1 mol/L) 又はリン酸 (1+10) を用いて pH を 7.0 に調整した後、更に水を加えて 1 L とする。

#### B 定 量

抽 出 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリル-水 (13+7) 50 mL (乾牧草は 100 mL)

を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL のトールビーカーをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトニトリル 25 mL（乾牧草は 50 mL）で洗浄し、同様に吸引ろ過する。ろ液を 100 mL（乾牧草は 200 mL）の全量フラスコに入れ、先のトールビーカーを少量のアセトニトリルで洗浄し、洗液を全量フラスコに加える。更に全量フラスコの標線までアセトニトリルを加え、（乾牧草は、更にアセトニトリルで正確に 10 倍希釈し、）液液分配に供する試料溶液とする<sup>注1</sup>。

液液分配 試料溶液 20 mL（乾牧草にあつては試料溶液 10 mL）を 100 mL の分液漏斗に正確に入れる。塩化ナトリウム 10 g（9.5~10.4 g）及び 0.5 mol/L リン酸緩衝液 20 mL を分液漏斗に加え、10 分間振り混ぜた後静置し、水層（下層）を捨て、アセトニトリル層（上層）をカラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）<sup>注2</sup>をアセトニトリル 10 mL で洗浄する。

100 mL の三角フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流下させてイミダクロプリドを流出させる。更にアセトニトリル 2 mL をミニカラムに加えて同様に流出させる。流出液を適量の硫酸ナトリウム（無水）で脱水し、100 mL のなす形フラスコにろ紙（5 種 B）でろ過した後、先の三角フラスコを少量のアセトニトリルで洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。

ろ液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。アセトニトリルトルエン（3+1）2 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

カラム処理 II 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）<sup>注3</sup>をアセトニトリルトルエン（3+1）10 mL で洗浄する。

50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流下してイミダクロプリドを流出<sup>注4</sup>させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコをアセトニトリルトルエン（3+1）2 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、同様に流出<sup>注4</sup>させる。更にアセトニトリルトルエン（3+1）16 mL をミニカラムに加えて同様に流出<sup>注4</sup>させる。

流出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。メタノール 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、5,000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を液体クロマトグラフ質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフ質量分析計による測定 試料溶液及び各イミダクロプリド標準液各 5 µL を液体クロマトグラフ質量分析計に注入し、選択イオン検出クロマトグラムを得る。



測定条件 例

(液体クロマトグラフ部)

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 3.0 mm、長さ 250 mm、粒径 5 μm) <sup>注5</sup>

溶離液 : 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 - 5 mmol/L 酢酸アンモニウムメタノール溶液 (17+3) → 1 min → (3+2) (2.5 min 保持) → 2.5 min → (1+1) → 2 min → (9+11) → 9.5 min → (1+19) (12.5 min 保持) → (17+3) (17 min 保持)

流速 : 0.2 mL/min

カラム槽温度 : 40 °C

(質量分析計部<sup>注6</sup>)

検出器 : 四重極型質量分析計

イオン化法 : エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (正イオンモード)

ネブライザーガス : N<sub>2</sub> (2.5 L/min)

乾燥ガス : N<sub>2</sub> (10 L/min)

ヒートブロック温度 : 200 °C

C D L 温度 : 250 °C

モニターイオン : m/z 256

計算 得られた選択イオン検出クロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のイミダクロプリド量を算出する。

注 1 試料中のイミダクロプリド含量が多い場合には、抽出液をアセトニトリルで希釈してから以後の操作を行う。

2 Supelclean LC-18 SPE (Sigma-Aldrich 製) 又はこれと同等のもの

3 Supelclean ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub> (Sigma-Aldrich 製) 又はこれと同等のもの

4 流速は 2~3 mL/min とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。

5 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

6 LCMS-2010EV (島津製作所製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・ 添加回収率及び繰返し精度

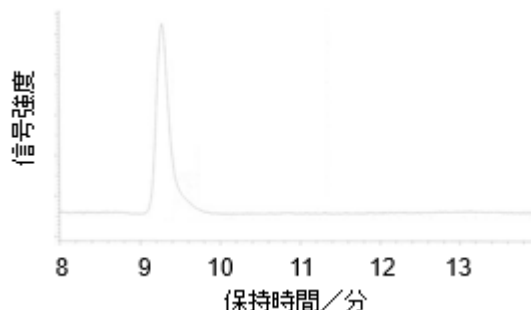
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%以下)
小麦	0.005~0.2	5	71.1~87.9	3.3
とうもろこし	0.005~0.1	3	83.4~92.6	3.1
ライグラス	0.2~6	3	89.9~92.2	1.6

・ 共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
とうもろこし	8	0	0.1	83.0	3.0	15	0.66
アルファルファ	8	0	5	84.3	3.5	12	0.96

- ・ 定量下限（単一試験室による確認） 試料中 0.005 mg/kg（乾牧草 0.2 mg/kg）
- ・ 検出下限（単一試験室による確認） 試料中 0.002 mg/kg（乾牧草 0.06 mg/kg）

（参考）クロマトグラム例



標準液（イミダクロプリドとして 500  $\mu\text{g/mL}$ ）のクロマトグラム

34.2 イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフラン及びチアメトキサムの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節17による。

### 35 インドキサカルブ

#### 35.1 液体クロマトグラフ質量分析計法

##### A 試薬の調製

インドキサカルブ標準液 インドキサカルブ MP  $[\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}_7]$  25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、アセトニトリルを加えて溶かし、更に標線までアセトニトリルを加えてインドキサカルブ標準原液を調製する（この液 1 mL は、インドキサカルブとして 0.5 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部をアセトニトリルで正確に希釈し、1 mL 中にインドキサカルブとして 0.001~1  $\mu\text{g}$  を含有する数点のインドキサカルブ標準液を調製する。

##### B 定 量

抽 出 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 20 mL（乾牧草は 30 mL）を加え、30 分間静置後、更にメタノール 100 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次メタノール 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過し、更に全量フラスコの標線までメタノールを加える。この液 20 mL（乾牧草にあっては、更にメタノールで正確に 100 倍希釈した後、その液 20 mL）を 100 mL のなす形フラスコに正確に入れ、40  $^{\circ}\text{C}$  以下の水浴で約 2 mL まで（乾牧草はほとんど乾固するまで）減圧濃縮し、カラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I 試料溶液に水 15 mL を加え、これを多孔性ケイソウ土カラム (20 mL 保持用) <sup>注1</sup> に入れ、5 分間静置する。200 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコを酢酸エチル-ヘキサン (1+1) 20 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下し、インドキサカルブを溶出させる。更に、酢酸エチル-ヘキサン (1+1) 40 mL をカラムに加えて同様に溶出させ、溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

ヘキサレンジエチルエーテル (9+1) 5 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

カラム処理 II シリカゲルミニカラム (690 mg) <sup>注2</sup> をヘキサレンジエチルエーテル (9+1) 5 mL で洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサレンジエチルエーテル (9+1) 5 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、同様に流出させる。更に、ヘキサレンジエチルエーテル (17+3) 10 mL をミニカラムに加え、洗浄する。

先のミニカラムの下に、あらかじめヘキサレンジエチルエーテル (7+3) 5 mL で洗浄した合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (910 mg) <sup>注3</sup> を連結する。ヘキサレンジエチルエーテル (7+3) 20 mL をミニカラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下<sup>注4</sup> して、インドキサカルブを合成ケイ酸マグネシウムミニカラムに移行させる。

次に、シリカゲルミニカラムをはずし、50 mL のなす形フラスコを合成ケイ酸マグネシウムミニカラムの下に置き、ヘキサノン-アセトン (17+3) 20 mL を合成ケイ酸マグネシウムミニカラムに加えてインドキサカルブを溶出させる。

溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固させる。アセトニトリル 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、5,000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を液体クロマトグラフ質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフ質量分析計による測定 試料溶液及び各インドキサカルブ標準液各 5 µL を液体クロマトグラフ質量分析計に注入し、選択イオン検出クロマトグラムを得る。

#### 測定条件 例

(液体クロマトグラフ部)

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 3.0 mm、長さ 250 mm、粒径 5 µm) <sup>注5</sup>

溶離液 : メタノール-5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 (4+1)

流速 : 0.5 mL/min

カラム槽温度 : 40 °C

(質量分析計部<sup>注6</sup>)

検出器 : 四重極型質量分析計

イオン化法 : 大気圧化学イオン化 (APCI) 法 (正イオンモード)

ネブライザーガス：N<sub>2</sub> (2.5 L/min)

インターフェース温度：400 °C

ヒートブロック温度：200 °C

C D L 温度：250 °C

モニターイオン：m/z 528

計算 得られた選択イオン検出クロマトグラムからピーク面積又は高さを求めて検量線を作成し、試料中のインドキサカルブ量<sup>注7</sup>を算出する。

注 1 Chem Elut (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

2 Sep-Pak Plus Silica Cartridge (Waters 製) に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの

3 Sep-Pak Plus Florisil Cartridge (Waters 製) に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの

4 流速は 1 mL/min 程度とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。

5 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

6 LCMS-2010EV (島津製作所) による条件例

7 インドキサカルブは、S 体と R 体が分離されず、その総和として定量される。

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
成鶏飼育用配合飼料	0.005	3	81.5	9.3
	0.05	3	85.5	3.2
	0.5	3	89.1	2.9
肉用牛肥育用配合飼料	0.005	3	83.5	4.3
	0.05	3	89.4	3.8
	0.5	3	91.7	2.5
とうもろこし	0.005	3	77.2	6.3
	0.05	3	85.0	1.6
	0.5	3	82.7	4.8
アルファルファヘイ	0.5	3	91.8	17
	5	3	77.7	3.0
	50	3	78.7	2.8

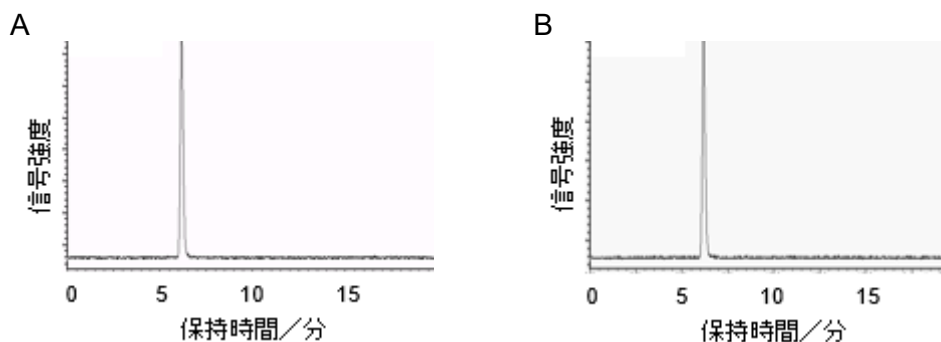
・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
肉用牛肥育用配合飼料	6	0	0.05	93.8	5.1	8.1	0.37
アルファルファヘイ	6	0	5	87.6	4.9	14	1.1

・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.005 mg/kg (乾牧草 0.5 mg/kg)

・検出下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.002 mg/kg (乾牧草 0.2 mg/kg)

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A: 標準液 (インドキサカルブとして 0.025  $\mu\text{g/mL}$ )

B: 添加試料 (成鶏飼育用配合飼料にインドキサカルブとして 0.05 mg/kg 相当量 添加)

### 36 エスプロカルブ

36.1 エスプロカルブその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法

第3節18による。

### 37 エタルフルラリン

37.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法

第3節1による。

### 38 エチオフェンカルブ (エチオフェンカルブスルホキシド及びエチオフェンカルブスルホンを含む。)

38.1 カーバメート系農薬の液体クロマトグラフによる同時分析法 (その2)

第3節3による。

### 39 エチオン

39.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法

第3節1による。

39.2 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法 (その1)

第2節4による。

### 40 エチプロール

40.1 エチプロールその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法

第3節19による。

## 41 エディフェンホス

41.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

41.2 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法（その1）  
第2節4による。

## 42 エテホン

42.1 ガスクロマトグラフ法

### A 試薬の調製

エテホン標準液 エテホン標準品〔 $C_2H_6ClO_3P$ 〕25 mg を0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えてエテホン標準原液を調製する（この液1 mL は、エテホンとして0.5 mg を含有する。）。

使用に際して、エテホン標準原液の一部をアセトンで正確に希釈し、1 mL 中にエテホンとして20  $\mu$ g を含有するエテホン標準液を調製する。

### B 定 量

抽 出 分析試料10 g を0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、酢酸エチルー塩酸（100+1）100 mL を加え、30分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5種B）で吸引ろ過する。三角フラスコ及び残さを順次酢酸エチルー塩酸（100+1）50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線まで酢酸エチルー塩酸（100+1）を加え、この液20 mL（乾牧草にあつては、更に酢酸エチルー塩酸（100+1）で正確に10倍に希釈した後、その液20 mL）を50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、40℃以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

アセトン－酢酸（99+1）0.5 mL を加えて残留物を溶かし、メチル化に供する試料溶液とする。

メチル化 試料溶液にトリメチルシリルジアゾメタン液0.5 mL を加え、試料溶液の入っているなす形フラスコを密栓し、軽く振り混ぜた後30分間静置する。アセトン－ジエチレングリコール（49+1）0.1 mL を加え、5℃以下の水浴でなす形フラスコを冷却しながら穏やかに窒素ガスを送って乾固する。更に以上の操作を2回繰り返す。ヘキサン－酢酸エチル（7+3）10 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理に供する試料溶液とする。

カラム処理 グラファイトカーボンミニカラム（500 mg）<sup>注1</sup>及びシリカゲルミニカラム（690 mg）<sup>注2</sup>をそれぞれヘキサン－酢酸エチル（7+3）5 mL で洗浄する。

グラファイトカーボンミニカラムの下にシリカゲルミニカラムを連結し、試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン－酢酸エチル（7+3）2 mL ずつで2

回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、同様に流出させる。更にヘキサン-酢酸エチル (7+3) 5 mL をミニカラムに加えてエテホンをシリカゲルミニカラムに移行させる。

次に、グラファイトカーボンミニカラムをはずし、50 mL のなす形フラスコをシリカゲルミニカラムの下に置き、ヘキサン-酢酸エチル (1+9) 10 mL をミニカラムに加えてエテホンを溶出させる。溶出液にアセトン-ジエチレングリコール (49+1) 0.1 mL を加え、40 °C 以下の水浴で約 2 mL まで減圧濃縮した後、5 °C 以下の水浴でなす形フラスコを冷却しながら穏やかに窒素ガスを送って乾固する。酢酸エチル 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフィーに供する試料溶液とする。

**標準液のメチル化** エテホン標準液 1 mL を 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、窒素ガスを送って乾固する。アセトン-酢酸 (99+1) 0.5 mL を加えて残留物を溶かし、トリメチルシリルジアゾメタン液 0.5 mL を加え、この容器を密栓し、軽く振り混ぜた後 30 分間静置する。アセトン-ジエチレングリコール (49+1) 0.1 mL を加え、5 °C 以下の水浴でなす形フラスコを冷却しながら穏やかに窒素ガスを送って乾固する。酢酸エチル 10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、更にこの液の一部を酢酸エチルで正確に希釈し、1 mL 中にエテホンとして 0.02~2 µg 相当量を含む数点の標準液を調製する。

**ガスクロマトグラフィー** 試料溶液及び各標準液各 4 µL をガスクロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。

#### 測定条件 例

検 出 器 : 炎光光度検出器 (リン検出用フィルター)  
カ ラ ム : 熔融石英製キャピラリーカラム (50 %シアノプロピルメチル-50 %ジメチルポリシロキサン化学結合型、内径 0.53 mm、長さ 30 m、膜厚 0.5 µm)

キャリアーガス : He (17 mL/min)

メイクアップガス : He (30 mL/min)

燃 料 ガ ス : H<sub>2</sub> (75 mL/min)

助 燃 ガ ス : 乾燥空気 (100 mL/min)

試 料 導 入 法 : スプリットレス (60 s)

試料導入部温度 : 230 °C

カ ラ ム 槽 温 度 : 80 °C (1 min 保持) → 昇温 10 °C/min → 175 °C → 昇温 20 °C/min → 230 °C (3 min 保持)

検 出 器 温 度 : 250 °C

計 算 得られたクロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のエテホン量を算出する。

注 1 Supelclean ENVI-Carb (Sigma-Aldrich 製) 又はこれと同等のもの

2 Sep-Pak Plus Silica Cartridge (Waters 製) に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの

3 DB-23 (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

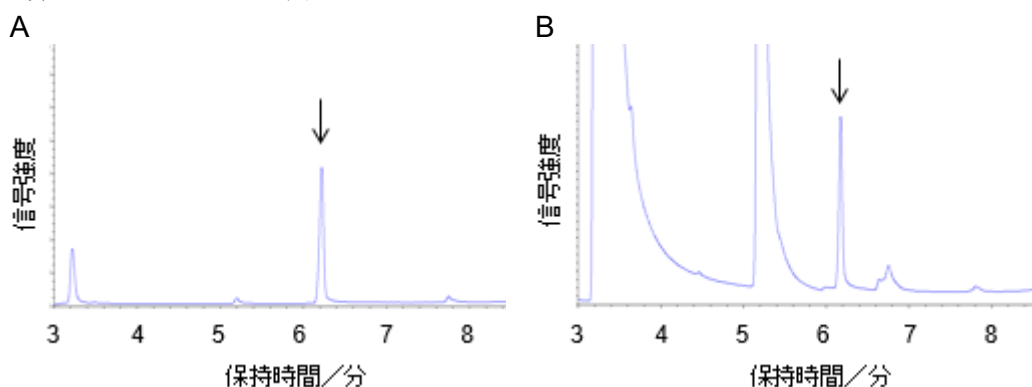
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
成鶏飼育用配合飼料	0.1	3	78.8	14
	1	3	80.2	11
肉用牛肥育用配合飼料	0.05	3	75.3	11
	0.1	3	82.0	11
	1	3	84.3	9.3
大麦	0.1	3	79.6	9.9
	1	3	81.6	5.1
とうもろこし	0.1	3	85.9	7.9
	1	3	87.1	4.5
アルファルファヘイ	0.5	3	82.2	11
	1	3	85.1	6.3
	10	3	89.3	10

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
肉用牛肥育用配合飼料	7	0	0.5	81.8	5.7	11	0.58
とうもろこし	7	0	1	89.0	6.4	10	0.63
アルファルファヘイ	7	0	10	90.8	3.7	11	0.94

- ・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.05 mg/kg (乾牧草 0.5 mg/kg)
- ・検出下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.02 mg/kg (乾牧草 0.2 mg/kg)

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A: 標準液 (エテホンとして 4 ng 注入)

B: 添加試料 (とうもろこしにエテホンとして 1 mg/kg 相当量添加)

43 エトキシスルフロン

- 43.1 ベンスルフロンメチルその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節33による。

44 エトフェンプロックス

- 44.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。



- 45 エトフメセート
  - 45.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。
  
- 46 エトプロホス
  - 46.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。
  
  - 46.2 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法（その1）  
第2節4による。
  
- 47 エトリジアゾール
  - 47.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。
  
- 48 エトリムホス
  - 48.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。
  
  - 48.2 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法（その1）  
第2節4による。
  
- 49 エンドスルファン（ $\alpha$ -エンドスルファン及び $\beta$ -エンドスルファン）
  - 49.1 有機塩素系及び酸アミド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節3による。
  
- 50 エンドスルファンスルフェート
  - 50.1 有機塩素系及び酸アミド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節3による。
  
- 51 エンドリン
  - 51.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。
  
  - 51.2 有機塩素系及び酸アミド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節3による。
  
  - 51.3 有機塩素系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法  
第3節7による。

## 52 オキサジアゾン

- 52.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

## 53 オキサジクロメホン

- 53.1 オキサジクロメホンその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節20による。

## 54 オキシクロルデン

- 54.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

- 54.2 有機塩素系及び酸アミド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節3による。

## 55 オキシロニック酸

- 55.1 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計法（その1）<sup>注1</sup>  
（適用範囲：稲発酵粗飼料及び粃米）

### A 試薬の調製

オキシロニック酸標準液　オキシロニック酸〔C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub>〕10 mgを0.01 mgの桁まで量り、その数値を記録し、100 mLの褐色全量フラスコに入れ、水酸化ナトリウム溶液（0.1 mol/L）1 mL及び水-メタノール（1+1）約50 mLを加える。超音波処理してオキシロニック酸を溶かし、更に標線まで水-メタノール（1+1）を加えてオキシロニック酸標準原液を調製する（この液1 mLは、オキシロニック酸として0.1 mgを含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部を水-メタノール（7+3）で正確に希釈し、1 mL中にオキシロニック酸として0.1~50 ngを含有する数点のオキシロニック酸標準液を調製する。

### B 定 量

抽 出　分析試料10 gを0.01 gの桁まで量り、その数値を記録し、300 mLの褐色共栓三角フラスコに入れ、水30 mL（粃米は20 mL）を加え30分間静置後、更に0.2 w/v%メタリン酸溶液-アセトニトリル（3+2）120 mL（粃米は100 mL）を加え、30分間振り混ぜて抽出する。200 mLの褐色全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をガラス繊維ろ紙<sup>注2</sup>で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次0.2 w/v%メタリン酸溶液-アセトニトリル（3+2）50 mLで洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線まで0.2 w/v%メタリン酸溶液-アセトニトリル（3+2）を加える。この液の一部を0.2 w/v%メタリン酸溶液-アセトニトリル（3+2）で正確に10倍希釈した後、希釈液4 mLを50 mLのなす形フラスコに正確に入れ、水10 mLを加えてカラム処理に供する試料溶液とす

る。

カラム処理<sup>注3</sup> 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)<sup>注4</sup> をアセトニトリル 10 mL 及び水 10 mL で順次洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコを水-アセトニトリル (9+1) 5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、水-アセトニトリル (4+1) 20 mL をミニカラムに加えてオキシリニック酸を溶出させる。溶出液を 50 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。水-メタノール (7+3) 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、5,000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 試料溶液及び各オキシリニック酸標準液各 5 µL を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、選択反応検出クロマトグラムを得る。

#### 測定条件 例

(液体クロマトグラフ部)

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 3.0 mm、長さ 150 mm、粒径 3 µm)<sup>注5</sup>  
溶離液 : 0.1 v/v% ギ酸溶液-アセトニトリル (7+3) (19 min 保持) → 1 min → (5+95) (5 min 保持)  
流速 : 0.2 mL/min

カラム槽温度 : 40 °C

(タンデム型質量分析計部<sup>注6</sup>)

検出器 : 四重極型質量分析計

イオン化法 : エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (正イオンモード)

イオン源温度 : 120 °C

デソルベーションガス : N<sub>2</sub> (800 L/h、350 °C)

キャピラリー電圧 : 2 kV

コーンガス : N<sub>2</sub> (50 L/h)

コーン電圧 : 下表のとおり

コリジョンエネルギー : 下表のとおり

モニターイオン : 下表のとおり

表 オキシリニック酸の測定条件

測定対象物質	プリカーサー イオン ( <i>m/z</i> )	プロダクトイオン		コーン 電圧 (V)	コリジョン エネルギー (eV)
		定量用 ( <i>m/z</i> )	確認用 ( <i>m/z</i> )		
オキシリニック酸	262	244	—	30	15
		—	216	30	25

計 算 得られた選択反応検出クロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のオキシリニック酸量を算出する。

注 1 定量操作は遮光した状態で行う。

2 GFP-95 (桐山製作所製) 又はこれと同等のもの

3 流速は 1~2 mL/min 程度とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。

4 Oasis HLB (Waters 製、リザーバー容量 6 mL) 又はこれと同等のもの

5 Inertsil ODS-4 (ジューエルサイエンス製) 又はこれと同等のもの

6 ACQUITY TQD (Waters 製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
稲発酵粗飼料1	0.01	3	95.5	3.4
	0.1	3	90.1	1.1
稲発酵粗飼料2	0.01	3	101	4.8
	0.1	3	92.7	0.8
粳米1	0.01	3	83.9	6.4
	0.3	3	92.4	4.2
	3	3	90.6	2.8
粳米2	0.01	3	93.7	5.6
	0.3	3	93.5	3.0
	3	3	95.5	0.4

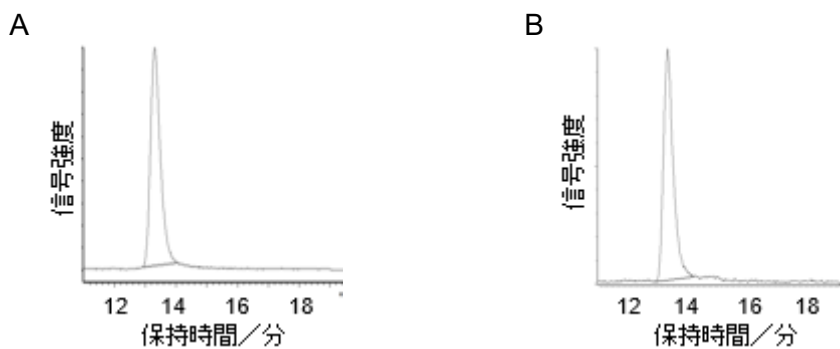
・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室間繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
稲発酵粗飼料	8	1	0.1	89.4	2.9	9.2	0.42
粳米	9	0	3	92.6	4.8	6.3	0.46

・定量下限 (単一試験室による確認) 稲発酵粗飼料 (風乾物) 中 0.02 mg/kg、粳米中 0.01 mg/kg

・検出下限 (単一試験室による確認) 稲発酵粗飼料 (風乾物) 中 0.007 mg/kg、粳米中 0.003 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A : 標準液 (オキシリニック酸として 5 ng/mL)

B : 添加試料 (粳米にオキシリニック酸として 0.3 mg/kg 相当量添加)

## 55.2 液体クロマトグラフタンデム型質量分析法（その2）<sup>注1</sup>

（適用範囲：稲わら）

### A 試薬の調製

52.1 の A による。

### B 定 量

抽出 分析試料 5.0 g を 0.001 g の桁まで量り、その数値を記録し、300 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、水 30 mL を加え、30 分間静置後、更に 0.2 w/v% メタリン酸溶液－アセトニトリル（3+2）120 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の褐色全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をガラス繊維ろ紙<sup>注2</sup>で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次 0.2 w/v% メタリン酸溶液－アセトニトリル（3+2）50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線まで 0.2 w/v% メタリン酸溶液－アセトニトリル（3+2）を加える。この液の一部を 0.2 w/v% メタリン酸溶液－アセトニトリル（3+2）で正確に 100 倍希釈した後、希釈液 4 mL を 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、水 10 mL を加えてカラム処理に供する試料溶液とする。

カラム処理<sup>注3</sup> 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）<sup>注4</sup>をメタノール 10 mL 及び水 10 mL で順次洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコを水 5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、同様に流出させる。

50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、メタノール 5 mL をミニカラムに加えてオキシソリニック酸を溶出させる。溶出液を 50 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。水－メタノール（7+3）2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、5,000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 246.1 の B の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定の項による。

計 算 246.1 の B の計算の項による。

注 1 定量操作は遮光した状態で行う。

2 GFP-95（桐山製作所製）又はこれと同等のもの

3 流速は 1~2 mL/min 程度とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。

4 Oasis HLB（Waters 製、リザーバー容量 6 mL）又はこれと同等のもの

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
稲わら1	0.6	3	92.7	3.9
	1	3	91.0	6.4
	10	3	89.8	3.0
稲わら2	0.6	3	91.0	4.1
	1	3	92.7	4.9
	10	3	91.3	2.9

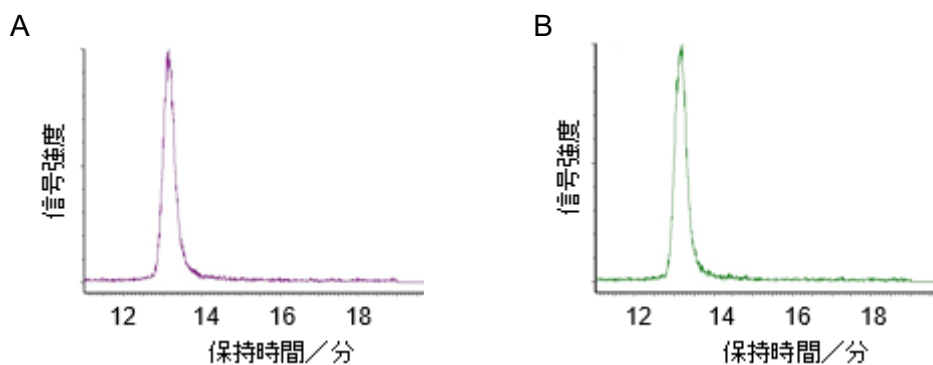
・共同試験

試料の種類	有効試 験室数	棄却試 験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
稲わら1	9	0	2	97.6	2.5	7.6	0.52
稲わら2	8	1	10	91.9	2.8	5.3	0.46

・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.6 mg/kg

・検出下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.2 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A: 標準液 (オキシロニック酸として 5 ng/mL)

B: 添加試料 (稲わらにオキシロニック酸として 10 mg/kg 相当量添加)

56 オリサストロビン (オリサストロビン 5Z 異性体を含む)

56.1 オリサストロビンその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法

第3節21による。

57 カズサホス

57.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法

第3節1による。

58 カフェンストロール

58.1 エスプロカルブその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法

第3節18による。

## 59 カルタップ (カルタップ、チオシクロラム及びベンズルタップ)

### 59.1 液体クロマトグラフ質量分析計法<sup>注1</sup>

(適用範囲：乾牧草、とうもろこし、イアコーンサイレージ)

#### A 試薬の調製

- 1) ネライストキシシン標準液      ネライストキシシンシュウ酸塩 [ $C_5H_{11}NS_2 \cdot C_2H_2O_4$ ] 64.1 mg を量り、その数値を記録し、100 mL の全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線までメタノールを加えてネライストキシシン標準原液を調製する (この液 1 mL は、ネライストキシシンとしてネライストキシシンシュウ酸塩採取量 (mg) に 0.006238 を乗じた量 (mg) を含有する。)

使用に際して、標準原液の一部をヘプタフルオロ酪酸溶液-メタノール (4+1) で正確に希釈し、1 mL 中にネライストキシシンとして 0.002~0.2 µg を含有する数点のネライストキシシン標準液を調製する。

- 2) ヘプタフルオロ酪酸溶液      ヘプタフルオロ酪酸液 10 mL を水に溶かして 1 L とする。
- 3) 抽出溶媒      L-システイン塩酸塩一水和物 10.0 g (9.95~10.04 g) を塩酸 (1+100) に溶かして 1 L とする (使用時に調製する。)
- 4) 塩化ニッケル溶液      塩化ニッケル (II) (無水) 2.0 g (1.95~2.04 g) を水に溶かして 100 mL とする。

#### B 定 量

抽 出      分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、抽出溶媒 100 mL (乾牧草は 150 mL) を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。抽出液を 50 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、650×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液 20 mL (乾牧草は 15 mL) を 200 mL の共栓三角フラスコに正確に入れ、アルカリ加水分解に供する試料溶液とする。

アルカリ加水分解      試料溶液に塩化ニッケル溶液 2 mL 及びアンモニア水 5 mL を加えた後 15 分間振り混ぜ、カルタップ、チオシクロラム及びベンズルタップをネライストキシシンに加水分解し、カラム処理に供する試料溶液とする。

カラム処理      試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム (50 mL 保持用)<sup>注2</sup> に入れ 10 分間静置する。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていた三角フラスコをヘキサン 10 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加える。液面が充てん剤の上端に達するまで流下させてネライストキシシンを溶出させ、更にヘキサン 120 mL をカラムに加えて同様に溶出させた後、溶出液にアセトノージエチレングリコール (49+1) 0.5 mL<sup>注3</sup> を加える。

溶出液を 37 °C 以下の水浴で約 2 mL まで減圧濃縮した後、乾固するまで静置する<sup>注4</sup>。ヘプタフルオロ酪酸溶液-メタノール (4+1) 4 mL を正確に加えて残留物を溶かし、5,000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を液体クロマトグラフ質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフ質量分析計による測定      試料溶液及び各ネライストキシシン標準液各 2 µL を液体クロマトグラフ質量分析計に注入し、選択イオン検出クロマトグラムを得る。

## 測定条件 例

(液体クロマトグラフ部)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム（内径 3.0 mm、長さ 250 mm、粒径 5  $\mu\text{m}$ ）<sup>注5</sup>

溶離液：ヘプタフルオロ酪酸溶液-メタノール（4+1）

流速：0.2 mL/min

カラム槽温度：40 °C

(質量分析計部<sup>注6</sup>)

検出器：四重極型質量分析計

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化（ESI）法（正イオンモード）

ネブライザーガス：N<sub>2</sub>（2.5 L/min）

乾燥ガス：N<sub>2</sub>（10 L/min）

ヒートブロック温度：200 °C

C D L 温度：250 °C

モニターイオン： $m/z$  150

計算 得られた選択イオン検出クロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のネライストキシシン量を算出し、これに 1.83 を乗じて試料中のカルタップ、カルタップに換算したチオシクラム及びカルタップに換算したベンスルタップの総量を算出する。

注 1 本法では、試料中のカルタップ〔C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>·HCl〕、チオシクラム〔C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NS<sub>3</sub>·C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub>〕及びベンスルタップ〔C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>〕をネライストキシシンに変換し、試料中のカルタップ、カルタップに換算したチオシクラム及びカルタップに換算したベンスルタップの総和として定量する。

2 Chem Elut（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの

3 共存物質の影響により回収率が低下する場合がある。この影響が確認された場合は、液量を 0.03 mL まで減らすことにより改善することがある。

4 窒素ガスを送るとネライストキシシンが損失するため、穏やかに溶媒を揮散させること。

5 ZORBAX Eclipse XDB-C18（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの

6 LCMS-2010EV（島津製作所製）による条件例



(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率<sup>注</sup>及び繰返し精度

添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
カルタップ	とうもろこし	0.02	3	90.4	4.0
		0.2	3	84.6	4.3
	ライグラス	0.04	3	86.5	5.1
		0.6	3	67.7	0.5
チオシクラム	とうもろこし	0.02	3	88.2	4.7
		0.2	3	80.1	5.8
	ライグラス	0.04	3	92.4	9.4
		0.6	3	85.1	4.9
ベンスルタップ	とうもろこし	0.06	3	61.2	1.3
		0.3	3	64.8	6.5
	ライグラス	0.12	3	57.5	2.8
		0.9	3	57.5	3.1

・共同試験

成分名	試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
カルタップ	とうもろこし	7	0	0.2	74.3	8.1	26	1.3
	チモシー	7	0	0.7	72.3	3.7	21	1.2

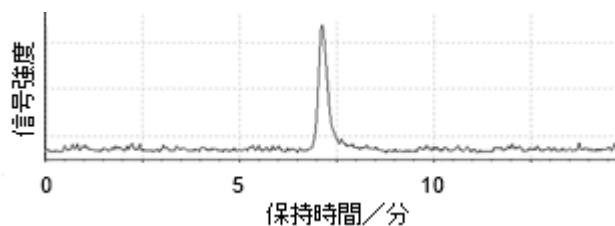
- ・定量下限（単一試験室による確認） カルタップ：とうもろこし中 0.02 mg/kg、乾牧草中 0.04 mg/kg、イアコーンサイレージ（風乾物）中 0.02 mg/kg、チオシクラム：とうもろこし中 0.02 mg/kg、乾牧草中 0.04 mg/kg、ベンスルタップ：とうもろこし中 0.06 mg/kg、乾牧草中 0.12 mg/kg

- ・検出下限（単一試験室による確認） カルタップ：とうもろこし中 0.006 mg/kg、乾牧草中 0.012 mg/kg、イアコーンサレージ（風乾物）中 0.003 mg/kg、チオシクラム：とうもろこし中 0.006 mg/kg、乾牧草中 0.012 mg/kg、ベンスルタップ：とうもろこし中 0.018 mg/kg、乾牧草中 0.036 mg/kg

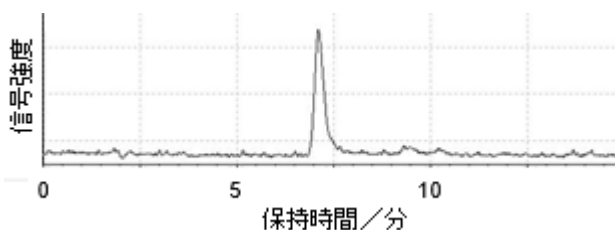
注 当該添加回収試験は、抽出溶媒を加える前に標準液を添加して実施したが、そのようにするとベンスルタップが分解し、その回収率が低下することがある。

(参考) クロマトグラム例

A



B



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A : 標準液 (ネライストキシシンとして 50 ng/mL)

B : 添加試料 (とうもろこしにカルタップとして 0.2 mg/kg 相当量添加)

## 60 カルバリル

60.1 カルバリル、カルボフラン及びフェノブカルブの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法

第3節22による。

60.2 カルバリルその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法

第3節23による。

60.3 カーバメート系農薬の液体クロマトグラフによる同時分析法 (その1)

第3節2による。

60.4 カーバメート系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法

第3節4による。

## 61 カルフェントラゾンエチル

61.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法

第3節1による。

## 62 カルプロパミド

62.1 エチプロールその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法

第3節19による。

## 63 カルベンダジム（カルベンダジム、チオファネートメチル及びベノミル）

### 63.1 液体クロマトグラフ質量分析法<sup>注1,2</sup>

#### A 試薬の調製

- 1) カルベンダジム標準液 カルベンダジム [C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>] 10 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線までメタノールを加えてカルベンダジム標準原液を調製する（この液 1 mL は、カルベンダジムとして 0.10 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部をメタノールで正確に希釈し、1 mL 中にカルベンダジムとして 20 µg を含有するカルベンダジム標準液を調製し、閉環反応に供する。

- 2) チオファネートメチル標準液（分析試料にチオファネートメチルの残留が疑われる場合に使用する） チオファネートメチル [C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>] 10 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線までメタノールを加えてチオファネートメチル標準原液を調製する（この液 1 mL は、チオファネートメチルとして 0.10 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部をメタノールで正確に希釈し、1 mL 中にチオファネートメチルとして 20 µg を含有するチオファネートメチル標準液を調製し、閉環反応に供する。

#### B 定 量

抽出 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、L-アスコルビン酸約 0.4 g 及び水 15 mL（乾牧草は 30 mL）を加えた後 30 分間静置する。更にメタノール 100 mL（乾牧草は 120 mL）を加え、30 分間振り混ぜて抽出する<sup>注3</sup>。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過する。先の三角フラスコ及び残さを順次メタノール 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線までメタノールを加えて液液分配 I に供する試料溶液とする<sup>注4</sup>。

液液分配 I 試料溶液 10 mL（乾牧草にあつては試料溶液 20 mL）を正確に 500 mL の分液漏斗 A に入れ、L-アスコルビン酸約 3 g、塩化ナトリウム溶液（10 w/v%）150 mL 及びヘキサン 100 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置する。

水層（下層）を 200 mL のトールビーカーに入れ、その pH を水酸化ナトリウム溶液（4 mol/L 及び 0.4 mol/L）で 6.7~7.1 に調整<sup>注5,6</sup>する。

pH 調整後の水層を 500 mL の分液漏斗 B に入れ、ジクロロメタン 100 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置し、ジクロロメタン層（下層）を 300 mL の共栓三角フラスコに入れる。ジクロロメタン 100 mL を分液漏斗 B に加え、同様に操作し、ジクロロメタン層を先の三角フラスコに加える。ジクロロメタン層を適量の硫酸ナトリウム（無水）で脱水し<sup>注7</sup>、300 mL のなす形フラスコにろ紙（5 種 B）でろ過する。先の三角フラスコを少量のジクロロメタンで洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。

このろ液に酢酸 0.5 mL を加え、40 °C 以下の水浴で約 0.5 mL まで減圧濃縮<sup>注8</sup>

した後、窒素ガスを送って乾固する。メタノール 2 mL を加えて残留物を溶かし、閉環反応に供する試料溶液とする。

**閉環反応** 試料溶液の入っているなす形フラスコに酢酸 (1+1) 10 mL、酢酸銅 約 0.2 g 及び沸石 2~3 個を加え、還流冷却器を接続した後、120 °C の油浴上で 30 分間加熱してチオファネートメチルをカルベンダジムに変換した後放冷する。

塩酸 (1 mol/L) 10 mL を還流冷却器の上部から加えて管壁を洗浄し、試料溶液に合わせ、液液分配 II に供する試料溶液とする。

**液液分配 II** 試料溶液を 100 mL の分液漏斗 C に入れ、試料溶液の入っていたなす形フラスコを塩酸 (1 mol/L) 20 mL で洗浄し、洗液を試料溶液に合わせる。更に分液漏斗 C に塩化ナトリウム 5 g (4.5~5.4 g) 及びヘキサン 20 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層 (下層) を 100 mL の分液漏斗 D に入れる。

分液漏斗 D にヘキサン 20 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置する。水層を 100 mL のトールビーカーに入れ、その pH を水酸化ナトリウム溶液 (10 mol/L 及び 1 mol/L) で 6.8~6.9 に調整<sup>注6,9</sup>した後、300 mL の分液漏斗 E に入れる。

分液漏斗 E に酢酸エチル 50 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層 (下層) を 300 mL の分液漏斗 F に入れ、酢酸エチル層 (上層) を 200 mL の三角フラスコに入れる。分液漏斗 F に酢酸エチル 50 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層を捨て、酢酸エチル層を先の三角フラスコに合わせる。酢酸エチル層を適量の硫酸ナトリウム (無水) で脱水し、200 mL のなす形フラスコにろ紙 (5 種 B) でろ過する。先の三角フラスコを少量の酢酸エチルで洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。

ろ液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。酢酸エチル-メタノール (19+1) 5 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理に供する試料溶液とする。

**カラム処理** 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) <sup>注10</sup> を酢酸エチル 5 mL で洗浄する。

50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流下<sup>注11</sup>し、カルベンダジムを流出させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコを酢酸エチル-メタノール (19+1) 5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、同様に流出させる。更に酢酸エチル-メタノール (19+1) 10 mL をミニカラムに加え、同様に流出させる。

流出液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。水-メタノール (1+1) 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、5,000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を液体クロマトグラフ質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

**標準液の閉環反応** カルベンダジム標準液又はチオファネートメチル標準液 (試料中にチオファネートメチルの残留が疑われる場合のみチオファネートメチル標準液を用いる。) 1 mL を 200 mL のなす形フラスコに正確に入れる。以下、試料溶液の場合と同様に閉環反応、液液分配 II 及びカラム処理を行い、ミニカラムからの流出液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮した後、窒素ガスを送っ

て乾固する。

水-メタノール (1+1) 20 mL を正確に加えて残留物を溶かし、更にこの液の一部を水-メタノール (1+1) で正確に希釈し、1 mL 中にカルベンダジム又はチオファネートメチルとして 5~200 ng 相当量の間の数点を含有する標準液を調製する。

液体クロマトグラフ質量分析計による測定 試料溶液及び各標準液各 2 µL を液体クロマトグラフ質量分析計に注入し、選択イオン検出クロマトグラムを得る。

測定条件 例

(液体クロマトグラフ部)

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 3.0 mm、長さ 250 mm、粒径 5 µm) 注<sup>12</sup>

溶離液 : 2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-メタノール (3+1)  
→ 15 min → (2+3) → 0.1 min → (1+9) (7 min 保持) → 0.1 min → (3+1) (8 min 保持)

流速 : 0.2 mL/min

カラム槽温度 : 40 °C

(質量分析計部<sup>注13</sup>)

検出器 : 四重極型質量分析計

イオン化法 : エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (正イオンモード)

フラグメンター電圧 : 100 V

ネブライザーガス : N<sub>2</sub> (340 kPa)

乾燥ガス : N<sub>2</sub> (10 L/min、350 °C)

キャピラリー電圧 : 4,000 V

モニターイオン :  $m/z$  192

計算 得られた選択イオン検出クロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のカルベンダジム (チオファネートメチル及びベノミルをカルベンダジムに変換したものを含む。) 量を算出<sup>注14</sup>する。

注 1 本法では、試料中のチオファネートメチル [C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>] 及びベノミル [C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>] をカルベンダジムに変換し、試料中のカルベンダジム、カルベンダジムに換算したチオファネートメチル及びカルベンダジムに換算したベノミルの総和として定量する。

また、本法により、同時に試料中のチオファネート [C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>] の有無を確認することができる。その場合の液体クロマトグラフ質量分析計による測定におけるモニターイオンは  $m/z$  206 である。

2 分析過程でチオファネートメチルやカルベンダジムの消失が生じやすいので操作は手早く行い、閉環反応までの操作は 1 日で終わらせた方がよい。

3 この際、抽出されたベノミルは、カルベンダジムに変換される。

4 試料中のカルベンダジム、チオファネートメチル及びベノミルの含量が多い場合には、抽出液をメタノールで希釈してから以後の操作を行う。

- 5 水酸化ナトリウム溶液 (4 mol/L) 約 4 mL を加えた後、水酸化ナトリウム溶液 (0.4 mol/L) を用いて微調整する。
- 6 pH 調整後は速やかに 1 回目の振り混ぜ操作を行う。
- 7 ジクロロメタン層の脱水に多量の硫酸ナトリウム (無水) を用いると吸着による損失の恐れがあるので必要最小量を用いる。
- 8 完全に乾固するとチオファネートメチルが分解することがあるので、0.5 mL 程度まで濃縮した後、窒素ガスを穏やかに送ってジクロロメタンを揮散させる。
- 9 水酸化ナトリウム溶液 (10 mol/L) 約 14 mL を加えた後、水酸化ナトリウム溶液 (1 mol/L) を用いて微調整する。
- 10 Bond Elut Jr. PSA (Agilent Technologies 製) に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの
- 11 流速は 1 分間に 2~3 mL とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。
- 12 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの
- 13 Agilent 1100 Series MSD SL (Agilent Technologies 製) による条件例
- 14 チオファネートメチルについては、チオファネートメチル標準液を用いるため、検量線から求めた試料中のチオファネートメチル量に 0.56 を乗じて試料中のカルベンダジム量に換算する。

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

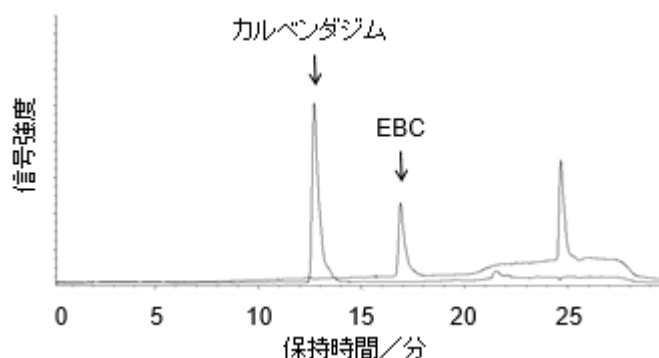
添加成分	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)以下)
カルベンダジム	とうもろこし	0.7	3	84.4	6.8
	チモシー	10	3	98.3	0.8
チオファネートメチル	とうもろこし	0.7	3	84.4	9.5
	チモシー	10	3	82.1	6.1
ベノミル	とうもろこし	1.0	3	101.4	3.2
	チモシー	15	3	105.8	5.0
チオファネート	とうもろこし	0.7	3	57.9	4.4
	チモシー	10	3	64.2	8.1

・共同試験

成分名	試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
チオファネート	とうもろこし	6	0	1.3	53.5	4.6	14	0.85
	チモシー	6	0	20	41.6	4.3	26	2.2
チオファネートメチル	とうもろこし	6	0	1.3	87.8	3.2	15	0.95
	チモシー	6	0	20	83.1	4.6	19	1.8

- ・定量下限 (単一試験室による確認) カルベンダジム : 試料中 0.05 mg/kg、チオファネートメチル : 試料中 0.04 mg/kg、ベノミル : 試料中 0.06 mg/kg
- ・検出下限 (単一試験室による確認) カルベンダジム : 試料中 0.02 mg/kg、チオファネートメチル : 試料中 0.01 mg/kg、ベノミル : 試料中 0.02 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



カルベンダジム及びEBC（チオファネートを閉環反応させて得られるエチル-2-ベンゾイミダゾールカルバマート）のクロマトグラム

## 64 カルボフェノチオン

64.1 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法（その1）  
第2節4による。

## 65 カルボフラン（カルボフラン及び3-OHカルボフラン）

65.1 カルバリル、カルボフラン及びフェノブカルブの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節22による。

65.2 カルバリルその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節23による。

65.3 カーバメート系農薬の液体クロマトグラフによる同時分析法（その1）  
第3節2による。

## 66 3-OHカルボフラン

66.1 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計法

### A 試薬の調製

3-OHカルボフラン標準液 3-OHカルボフラン [C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>] 10 mg を0.01 mgの桁まで量り、その数値を記録し、100 mLの全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線までメタノールを加えて3-OHカルボフラン標準原液を調製する（この液1 mLは、3-OHカルボフランとして0.1 mgを含有する。）。

使用に際して、3-OHカルボフラン標準原液4 mLを20 mLの全量フラスコに正確に入れ、更に標線までメタノールを加えて、1 mL中に3-OHカルボフランとして20 µgを含有する液を調製する。この液の一部を、アセトニトリルで正確に希釈し、1 mL中に3-OHカルボフランとして0.1~20 ngを含有する数点の3-OHカルボフラン標準液を調製する。

## B 定 量

抽出 分析試料 5.0 g を 0.001 g の桁まで量り、その数値を記録し、500 mL のなす形フラスコに入れ、塩酸 (1+29) 130 mL、沸騰石 3~4 粒及びシリコン油 約 1 mL を加え、還流冷却器を接続し、1 時間加熱して抽出する。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をガラス繊維ろ紙<sup>注1</sup>で吸引ろ過した後、先のなす形フラスコ及び残さを順次塩酸 (1+29) - アセトン (5+2) 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線まで塩酸 (1+29) を加えた後、この液 2 mL を 10 mL の試験管に正確に入れ、塩酸 (1+29) 2 mL を加え、カラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I 試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム (5 mL 保持用)<sup>注2</sup>に入れ、10 分間静置する。100 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていた試験管をヘキサン-酢酸エチル (1+1) 5 mL ずつで 4 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下して 3-OH カルボフランを溶出させる。更にヘキサン-酢酸エチル (1+1) 20 mL をカラムに加えて同様に溶出させ、溶出液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

酢酸エチル 1 mL を加えて残留物を溶かした後、ヘキサン 9 mL を加えて、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

カラム処理 II<sup>注3</sup> シリカゲルミニカラム (690 mg)<sup>注4</sup>を酢酸エチル 5 mL 及びヘキサン 5 mL で順次洗浄する。

試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン-酢酸エチル (3+2) 5 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下して 3-OH カルボフランを溶出させる。更にヘキサン-酢酸エチル (3+2) 5 mL をミニカラムに加えて同様に溶出させ、溶出液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。アセトニトリル 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計 試料溶液及び各 3-OH カルボフラン標準液各 2 µL を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、選択反応検出クロマトグラムを得る。

### 測定条件 例

(液体クロマトグラフ部)

カ	ラ	ム	：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 2.0 mm、長さ 150 mm、粒径 5 µm) <sup>注5</sup>	
溶	離	液	：2 mmol/L 酢酸アンモニウム-アセトニトリル (95+5) → 10 min → (10+90) (5 min 保持)	
流		速	：0.2 mL/min	
カ	ラ	ム	槽 温 度	：40 °C



(タンデム型質量分析計部<sup>注6</sup>)

検 出 器：四重極型質量分析計

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (正イオンモード)

イオン源温度：150 °C

デソルベーションガス：N<sub>2</sub> (1,000 L/h、500 °C)

キャピラリー電圧：3.1 kV

コーンガス：N<sub>2</sub> (50 L/h)

コーン電圧：下表のとおり

コリジョンガス：Ar (0.4 Pa)

コリジョンエネルギー：下表のとおり

モニターイオン：下表のとおり

表 3-OH カルボフランの測定条件

測定対象物質	プリカーサー イオン ( <i>m/z</i> )	プロダクトイオン		コーン 電圧 (V)	コリジョン エネルギー (eV)
		定量用 ( <i>m/z</i> )	確認用 ( <i>m/z</i> )		
3-OHカルボフラン	238	163	—	28	14
		—	181	28	10

計 算 得られた選択反応検出クロマトグラムからピーク高さ又は面積を求め、検量線を作成し、試料中の 3-OH カルボフラン量を算出する<sup>注7</sup>。

注 1 GFP-95 (桐山製作所製) 又はこれと同等のもの

2 InertSep K-solute (5 mL 保持用) (ジーエルサイエンス製) 又はこれと同等のもの

3 流速は 1 mL/min 程度とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。

4 Sep-Pak Plus Silica Cartridge (Waters 製) に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの

5 Mightysil RP-18 GP (関東化学製) 又はこれと同等のもの

6 Xevo TQD (Waters 製) による条件例

7 カルボフラン量に換算する場合は、これに 0.933 を乗じる。

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
肉豚肥育用配合飼料	0.01	5	87.4	4.8
	0.05	5	84.8	2.3
乳用牛飼育用配合飼料	0.01	5	83.0	4.0
	0.05	5	82.2	2.3
小麦	0.01	5	85.8	2.8
	0.1	5	91.3	4.2
とうもろこし	0.01	5	88.6	1.3
	0.05	5	88.1	2.3
アルファルファヘイ	0.01	5	86.2	4.3
	13	5	83.3	1.1
稲わら	0.01	5	88.2	6.1
	0.4	5	84.7	1.4
稲発酵粗飼料	0.004	5	83.7	6.1
	0.6	5	83.4	1.3

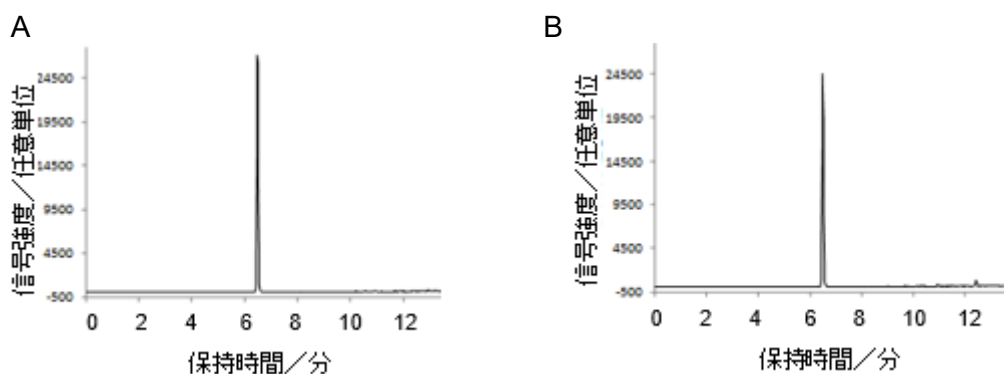
・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
乳用牛飼育用配合飼料	9	0	0.1	81.4	5.8	11	0.50
小麦	9	0	0.01	87.4	3.0	24	1.1
とうもろこし	9	0	0.05	89.5	3.4	5.8	0.27
アルファルファヘイ	9	0	10	95.7	2.8	12	1.0
稲わら	9	0	0.4	87.6	2.2	11	0.58

・定量下限 (単一試験室による確認) 試料 (稲発酵粗飼料は風乾物) 中 0.01 mg/kg

・検出下限 (単一試験室による確認) 試料 (稲発酵粗飼料は風乾物) 中 0.002 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A : 標準液 (3-OH カルボフランとして 1.25 ng/mL)

B : 添加試料 (肉豚肥育用配合飼料に 3-OH カルボフランとして 0.05 mg/kg 相当量添加)

67 キシリルカルブ

67.1 カーバメート系農薬の液体クロマトグラフによる同時分析法 (その 1)  
第 3 節 2 による。

67.2 カーバメート系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法  
第3節4による。

## 68 キナルホス

68.1 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法（その1）  
第2節4による。

## 69 キノメチオネート

69.1 ガスクロマトグラフ法

### A 試薬の調製

キノメチオネート標準液 キノメチオネート〔C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>OS<sub>2</sub>〕20 mgを0.01 mgの桁まで量り、その数値を記録し、100 mLの褐色全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えてキノメチオネート標準原液を調製する（この液1 mLは、キノメチオネートとして0.2 mgを含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部をアセトンで正確に希釈して、1 mL中にキノメチオネートとして0.05~2.5 µgを含有する数点のキノメチオネート標準液を調製する。

### B 定 量

抽 出 分析試料10 gを0.01 gの桁まで量り、その数値を記録し、200 mLの共栓三角フラスコに入れ、塩酸（1+4）2 mL及び水15 mLを加えて潤し、30分間静置後、更にアセトン80 mLを加え、30分間振り混ぜて抽出する。

300 mLのなす形フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5種B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン50 mLで洗浄し、同様に吸引ろ過する。

ろ液を40 °C以下の水浴で15 mL以下に減圧濃縮し、塩化ナトリウム5 g（4.5~5.4 g）を加えてカラム処理に供する試料溶液とする。

カラム処理 I 試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム（20 mL保持用）<sup>注1</sup>に入れ、5分間静置する。200 mLのなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン10 mLずつで3回洗浄し、洗液をカラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下してキノメチオネートを溶出させる。更にヘキサン70 mLをカラムに加えて同様に溶出させ、溶出液を40 °C以下の水浴でほとんど乾固するまで濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

シクロヘキサン-アセトン（4+1）8 mLを正確に加えて残留物を溶かす。この溶液を10 mLの共栓遠心沈殿管に入れ、1,500×gで5分間遠心分離し、上澄み液をメンブランフィルター（孔径0.5 µm以下）でろ過し、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

カラム処理 II 試料溶液4.0 mLをゲル浸透クロマトグラフに注入し、キノメチオネートが溶出する画分を50 mLのなす形フラスコに分取し、40 °C以下の水浴でほとんど乾固するまで濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

アセトン2 mLを正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフィーに供

する試料溶液とする。

ゲル浸透クロマトグラフィー 例

カラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム（内径 20 mm、長さ 300 mm、粒径 15  $\mu\text{m}$ ）

ガードカラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム（内径 20 mm、長さ 100 mm、粒径 15  $\mu\text{m}$ ）

溶離液：シクロヘキサン-アセトン（4+1）

流速：5 mL/min

分取画分：115~145 mL

ガスクロマトグラフィー 試料溶液及び各キノメチオネート標準液各 2  $\mu\text{L}$  をガスクロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。

測定条件 例

検出器：アルカリ熱イオン化検出器

カラム：溶融石英製キャピラリーカラム（5%ジフェニル-95%ジメチルポリシロキサンコーティング、内径 0.32 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ ）<sup>注2</sup>

キャリアーガス：He（1.5 mL/min）

メイクアップガス：He（30 mL/min）

燃料ガス：H<sub>2</sub>（3 mL/min）

助燃ガス：乾燥空気（90 mL/min）

試料導入法：スプリットレス（60 s）

試料導入部温度：250 °C

カラム槽温度：80 °C（1 min 保持）→ 昇温 20 °C/min → 280 °C（10 min 保持）

検出器温度：280 °C

計算 得られたクロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のキノメチオネート量を算出する。

注 1 Chem Elut（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの

2 DB-5（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの

（参考）分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

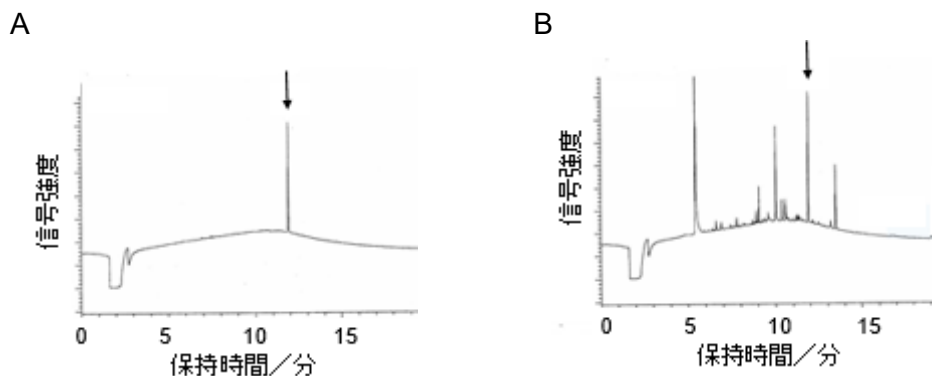
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
成鶏飼育用配合飼料	0.05	3	98.5	0.2
	0.25	3	91.1	1.0
肉用牛肥育用配合飼料	0.05	3	97.9	2.6
	0.25	3	91.9	5.6
アルファルファヘイキューブ	0.05	3	95.9	3.8
	0.25	3	82.1	1.7
オーツヘイ	0.05	3	91.1	5.5
	0.25	3	83.1	1.9

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
成鶏飼育用配合飼料	5	0	0.1	98.4	3.4	7.7	0.35

・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.01 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A: 標準液 (キノメチオネートとして 1 ng 注入)

B: 添加試料 (成鶏飼育用配合飼料にキノメチオネートとして 0.25 mg/kg 相当量添加)

70 キャプタン

70.1 ガスクロマトグラフ法

A 試薬の調製

キャプタン標準液 キャプタン [C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>S] 25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えてキャプタン標準原液を調製する (この液 1 mL は、キャプタンとして 0.5 mg を含有する。 )。

使用に際して、標準原液の一部をヘキサンで正確に希釈し、1 mL 中にキャプタンとして 0.05~1.0 µg を含有する数点のキャプタン標準液を調製する。

B 定 量

抽出 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、300 mL の共栓三角フラスコに入れ、リン酸 (1+11) 20 mL (乾牧草は 30 mL) を加え、30 分間静置後、更にアセトン 100 mL (乾牧草は 120 mL) を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙 (5 種 B) で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線までアセトンを加える。この液 40 mL を 200 mL のなす形フラスコに正確に入れ、40 °C 以下の水浴で約 4 mL (乾牧草は 6 mL) まで減圧濃縮し、カラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I 試料溶液にリン酸 (1+11) 5 mL を加えて混合した後、多孔性ケイソウ土カラム (20 mL 保持用) 注1 に入れ、10 分間静置する。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン

10 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下してキャプタンを溶出させる。更にヘキサン 70 mL をカラムに加えて同様に溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。シクロヘキサン-アセトン (4+1) 10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター (孔径 0.45 μm) でろ過し、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

カラム処理 II 試料溶液 5.0 mL をゲル浸透クロマトグラフに注入し、キャプタンが溶出する画分を 100 mL のなす形フラスコに分取し、40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。ヘキサノ-ジエチルエーテル (1+1) 5 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 III に供する試料溶液とする。

ゲル浸透クロマトグラフィー 例

カラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム (内径 20 mm、長さ 300 mm、粒径 15 μm)

ガードカラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム (内径 20 mm、長さ 100 mm、粒径 15 μm)

溶離液：シクロヘキサン-アセトン (4+1)

流速：5 mL/min

分取画分：100~120 mL

カラム処理 III グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) <sup>注2</sup> をヘキサノ-ジエチルエーテル (1+1) 5 mL で洗浄する。100 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流下してキャプタンを流出させる。次に試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサノ-ジエチルエーテル (1+1) 5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、同様に流出させる。更にヘキサノ-ジエチルエーテル (1+1) 10 mL をミニカラムに加えて同様に流出させ、流出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。ヘキサン 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフィーに供する試料溶液とする <sup>注3</sup>。

ガスクロマトグラフィー 試料溶液及び各キャプタン標準液各 1 μL をガスクロマトグラフに注入 <sup>注4</sup> し、クロマトグラムを得る。

測定条件 例

検出器：電子捕獲検出器

カラム：熔融石英製キャピラリーカラム (50%フェニル-50%メチルポリシロキサンコーティング、内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm) <sup>注5</sup>

キャリアーガス：He (1.5 mL/min)

メイクアップガス：N<sub>2</sub> (60 mL/min)

試料導入法 <sup>注6</sup>：パルスドスプリットレス (345 kPa、60 s)

試料導入部温度：140 °C

カラム槽温度：60℃（1 min 保持） → 昇温 30℃/min → 190℃ → 昇温 10℃/min → 280℃（10 min 保持）

検出器温度：300℃

計算 得られたクロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のキャプタン量を算出する。

- 注 1 Chem Elut（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの  
 2 Supelclean ENVI-Carb（Sigma-Aldrich 製）又はこれと同等のもの  
 3 試料中のキャプタン含量が多い場合は、最終試料溶液をヘキサンで希釈してからガスクロマトグラフィーに供する。  
 4 試料導入部にはガラスウールを詰めていないインサートを使用する。  
 5 DB-17（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの  
 6 GC-6890N（Agilent Technologies 製）による条件例

（参考）分析法バリデーション

- ・添加回収率及び繰返し精度

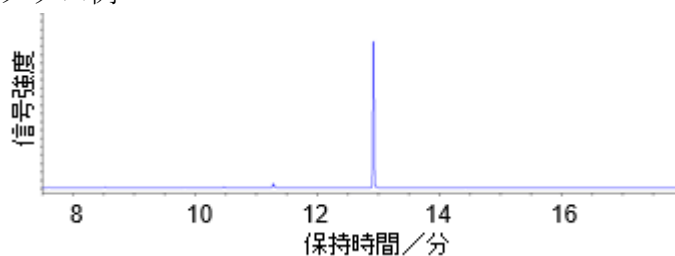
飼料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
成鶏飼育用配合飼料	1	3	97.6	11
	0.1	3	88.1	3.4
乳用牛飼育用配合飼料	1	3	103	16
	0.1	3	95.1	2.6
小麦	1	3	78.4	9.6
	0.1	3	88.9	2.6
とうもろこし	10	3	101	5.2
	0.1	3	111	3.4
コーングルテンフィード	1	3	93.1	8.8
	0.1	3	107	6.9
アルファルファヘイ	1	3	95.7	13
	0.1	3	116	8.5

- ・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
成鶏飼育用配合飼料	8	0	0.5	98.8	6.2	21	1.2
小麦	8	0	0.5	93.4	6.4	21	1.2
とうもろこし	8	0	10	88.5	7.7	17	1.5

- ・定量下限（単一試験室による確認） 試料中 0.1 mg/kg
- ・検出下限（単一試験室による確認） 試料中 0.03 mg/kg

（参考）クロマトグラム例



添加試料（成鶏飼育用配合飼料にキャプタンとして 1 mg/kg 相当量添加）  
のクロマトグラム

## 71 キントゼン

- 71.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

## 72 クミルロン

- 72.1 オリサストロビンその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節21による。

## 73 グリホサート

- 73.1 含リンアミノ酸系農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節5による。

- 73.2 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計法<sup>注1</sup>  
(適用範囲：乾牧草)

### A 試薬の調製

グリホサート標準液　グリホサート〔C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>5</sub>P〕25 mgを0.01 mgの桁まで量り、その数値を記録し、25 mLの全量フラスコに入れ、水を加えて溶かし、更に標線まで水を加えてグリホサート標準原液を調製する（この液1 mLは、グリホサートとして1 mgを含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部を水で正確に希釈し、1 mL中にグリホサートとして100 µgを含有するグリホサート標準液を調製する。

### B 定 量

抽 出　分析試料10 gを0.01 gの桁まで量り、その数値を記録し、300 mLの共栓三角フラスコに入れ、水200 mLを加え、30分間振り混ぜて抽出する。抽出液を共栓遠心沈殿管に入れ、1,500×gで10分間遠心分離し、上澄み液の一部を水で正確に1,250倍に希釈し、カラム処理Iに供する試料溶液とする。

カラム処理 I<sup>注2</sup>　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）<sup>注3</sup>の下にスルホン酸塩修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム（225 mg）<sup>注4</sup>を連結し、メタノール6 mL及び水12 mLで順次洗浄する。200 mLのなす形フラスコ<sup>注5</sup>をミニカラムの下に置き、試料溶液1 mLをミニカラムに正確に入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。更に水18 mLをミニカラムに加え、同様に流出させ、誘導体化に供する試料溶液とする。

誘導体化　試料溶液を50 °C以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。酢酸1 mL及びオルト酢酸トリメチル4 mLを加えて残留物を溶かし<sup>注6</sup>、この容器を密栓して100 °Cで2時間加熱<sup>注7</sup>した後放冷し、50 °C以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。酢酸エチル4 mLを正確に加えて残留物を溶かし<sup>注6</sup>、カラム処理IIに供



する試料溶液とする。

カラム処理 II <sup>注2</sup> アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (360 mg) <sup>注8</sup> の下にシリカゲルミニカラム (690 mg) <sup>注9</sup> を連結し、酢酸エチル 10 mL で洗浄する。試料溶液 2 mL をミニカラムに正確に入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。更に酢酸エチル 18 mL をミニカラムに加え、同様に流出させる。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、アセトン 10 mL をミニカラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下してグリホサート誘導体を溶出させる。次に、アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムをはずし、アセトン-水 (19+1) 10 mL をシリカゲルミニカラムに加えてグリホサート誘導体を溶出させる。溶出液を 50 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。0.01 v/v% ギ酸溶液 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし<sup>注6</sup>、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

標準液の誘導体化 グリホサート標準液 1 mL を 200 mL のなす形フラスコに正確に入れ、50 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

酢酸 1 mL 及びオルト酢酸トリメチル 4 mL を加えて残留物を溶かし<sup>注6</sup>、この容器を密栓して 100 °C で 2 時間加熱<sup>注7</sup>した後放冷する。この液を 50 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。0.01 v/v% ギ酸溶液 10 mL を正確に加えて残留物を溶かし<sup>注6</sup>、更に 0.01 v/v% ギ酸溶液で正確に希釈し、1 mL 中にグリホサートとしてそれぞれ 0.3~300 ng 相当量を含む数点の標準液を調製する。

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 試料溶液及び各標準液各 5 µL を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、選択反応検出クロマトグラムを得る。

測定条件 例

(液体クロマトグラフ部)

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5 µm) <sup>注10</sup>

溶離液 : 0.01 v/v% ギ酸溶液-アセトニトリル (93+7) (12 min 保持) → 3 min → (5+95) (10 min 保持)

流速 : 0.2 mL/min

カラム槽温度 : 40 °C

(タンデム型質量分析計部<sup>注11</sup>)

検出器 : 四重極型質量分析計

イオン化法 : エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (正イオンモード)

イオン源温度 : 120 °C

デソルベーションガス : N<sub>2</sub> (800 L/h、400 °C)

キャピラリー電圧 : 3 kV

コーンガス：N<sub>2</sub> (50 L/h)

コーン電圧：下表のとおり

コリジョンガス：Ar (0.2 mL/min)

コリジョンエネルギー：下表のとおり

モニターイオン：下表のとおり

表 グリホサート誘導体の測定条件

測定対象物質	プリカーサー	プロダクトイオン		コーン	コリジョン
	イオン ( <i>m/z</i> )	定量用 ( <i>m/z</i> )	確認用 ( <i>m/z</i> )	電圧 (V)	エネルギー (eV)
グリホサート誘導体	254	102	152	22	17

計算 得られた選択反応検出クロマトグラムからグリホサート誘導体のピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のグリホサート量を算出する。

注 1 本法では、試料中のグリホサート、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をグリホサート誘導体に誘導体化し、グリホサートとして定量する。

- 流速は 2~3 mL/min とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。
- Oasis HLB (Waters 製、リザーバー容量 6 mL) 又はこれと同等のもの
- Oasis MCX Plus (Waters 製) 又はこれと同等のもの
- 50 mL のなす形フラスコを用いる場合には、同様に操作した後、流出液を少量の水で 200 mL のなす形フラスコに移し、誘導体化に供する試料溶液とする。
- 必要に応じて超音波処理し、十分に拡散させる。
- 乾燥器等に入れる。乾燥器を用いる場合は十分に庫内及び実験室内を換気すること。
- Sep-Pak Plus NH<sub>2</sub> Cartridge (Waters 製) に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの
- Sep-Pak Plus Silica Cartridge (Waters 製) に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの
- ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの
- ACQUITY TQD (Waters 製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

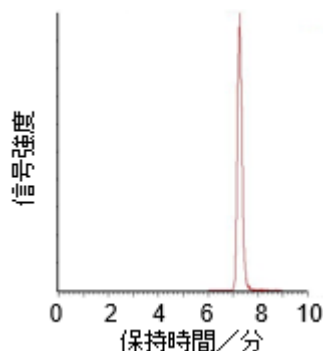
・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度	繰返し	添加回収率	繰返し精度
	(mg/kg)		RSD <sub>r</sub> (%)	RSD <sub>r</sub> (%)
アルファルファヘイ	20	3	81.4	9.4
	120	3	78.2	8.3

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
アルファルファヘイ	8	2	120	77.9	10	12	1.5

- ・ 定量下限（単一試験室による確認）      試料中 20 mg/kg
  - ・ 検出下限（単一試験室による確認）      試料中 6 mg/kg
- (参考) クロマトグラム例



標準液（グリホサートとして 100 ng/mL）のクロマトグラム

- 73.3 含リンアミノ酸系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第 2 節 1 による。
- 74 グルホシネート（3-メチルホスフィニコプロピオン酸及び*N*-アセチルグルホシネートを含む。）
- 74.1 含リンアミノ酸系農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第 3 節 5 による。
- 74.2 グルホシネート及びその代謝物の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第 3 節 24 による。
- 74.3 含リンアミノ酸系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第 2 節 1 による。
- 75 クレソキシムメチル
- 75.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第 3 節 1 による。
- 76 クロチアニジン
- 76.1 イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフラン及びチアメトキサムの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第 3 節 17 による。

## 77 クロフェンテジン

### 77.1 液体クロマトグラフ法

#### A 試薬の調製

クロフェンテジン標準液　クロフェンテジン〔C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>〕 20 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の全量フラスコに入れ、アセトニトリルを加えて溶かし、更に標線までアセトニトリルを加えてクロフェンテジンの標準原液を調製する（この液 1 mL は、クロフェンテジンとして 0.2 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部をアセトニトリルで正確に希釈し、1 mL 中にクロフェンテジンとして 0.02~1 µg を含有する数点のクロフェンテジン標準液を調製する。

#### B 定 量

抽 出　分析試料 5.0 g を 0.001 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 15 mL を加えて潤し、30 分間静置後、更にアセトン 50 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。

200 mL のビーカーをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過し、ろ液を精製に供する試料溶液とする。

精 製　試料溶液をあらかじめ塩化ナトリウム溶液（5 w/v%）150 mL 及びヘキサン 50 mL を入れた 500 mL の分液漏斗 A に加え、5 分間激しく振り混ぜた後静置し、水層（下層）を 500 mL の分液漏斗 B に入れ、ヘキサン層（上層）を三角フラスコに入れる。ヘキサン 50 mL を分液漏斗 B に加え、穏やかに振り混ぜた後静置し、ヘキサン層を先の三角フラスコに合わせる。ヘキサン層を適量の硫酸ナトリウム（無水）で脱水し、300 mL のなす形フラスコに分液ろ紙でろ過した後、先の三角フラスコ及びろ紙を順次少量のヘキサンので洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。ろ液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

シクロヘキサン-アセトン（7+3）5 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター（孔径 0.5 µm 以下）でろ過し、カラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I　試料溶液 2.0 mL をゲル浸透クロマトグラフに注入し、クロフェンテジンが溶出する画分を 100 mL のなす形フラスコに分取し、40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

ヘキサン 5 mL を正確に加えて残留物を溶かし、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

ゲル浸透クロマトグラフィー 例

カ ラ ム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム（内径 20 mm、長さ 300 mm、粒径 15 µm）

ガードカラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム（内径 20 mm、長さ 100 mm、粒径 15 µm）

溶 離 液：シクロヘキサン-アセトン (7+3)

流 速：5 mL/min

分 取 画 分：80~110 mL

カラム処理 II 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (910 mg) <sup>注1</sup> をヘキサン 5 mL で洗浄する。

試料溶液をミニカラムに入れ、そのミニカラムのリザーバー内の残量が 0.5 mL に達するまで流出させ、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 5 mL で洗浄し、洗液をミニカラムに加え、同様に流出させる。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、ヘキサン-酢酸エチル (19+1) 15 mL をミニカラムに加えてクロフェンテジンを溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

アセトニトリル 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター (孔径 0.5 µm 以下) でろ過し、液体クロマトグラフィーに供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフィー 試料溶液及び各クロフェンテジン標準液各 20 µL を液体クロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。

測定条件 例

検 出 器：紫外吸光光度検出器 (測定波長：267 nm)

カ ラ ム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 4 mm、長さ 250 mm、粒径 5 µm) <sup>注2</sup>

溶 離 液：アセトニトリル-水 (3+1)

流 速：1.0 mL/min

カラム槽温度：40 °C

計 算 得られたクロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のクロフェンテジン量を算出する。

注 1 Sep-Pak Plus Florisil Cartridge (Waters 製) に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの

2 Wakosil II 5C18HG (富士フイルム和光純薬製) 又はこれと同等のもの

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

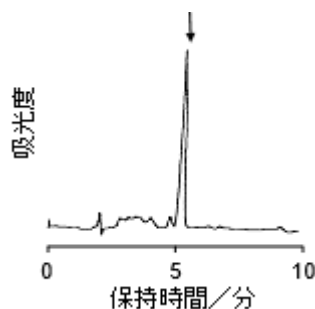
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
成鶏飼育用配合飼料	0.1	3	91.7	2.7
	0.5	3	87.7	4.6
	1	3	91.0	7.7
肉用牛肥育用配合飼料	0.1	3	96.0	4.2
	0.5	3	91.3	2.8
	1	3	91.3	2.5
アルファルファヘイ	0.1	3	95.0	3.6
	0.5	3	95.3	7.7
	1	3	94.0	4.6

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
成鶏飼育用配合飼料	6	0	0.5	90.9	3.8	5.2	0.29

- ・定量下限（単一試験室による確認） 配合飼料中 0.025 mg/kg、乾牧草中 0.05 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



添加試料（配合飼料にクロフェンテジンとして 0.5 mg/kg 相当量添加）  
のクロマトグラム

78 クロマフェノジド

- 78.1 エチプロールその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節19による。

79 クロラントラニリプロール

- 79.1 エチプロールその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節19による。

80 クロルタールジメチル

- 80.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

81 クロルデン（*cis*-クロルデン及び *trans*-クロルデン）

- 81.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。
- 81.2 有機塩素系及び酸アミド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節3による。

## 82 クロロピクリン

### 82.1 ガスクロマトグラフ法

#### A 試薬の調製

クロロピクリン標準液　　クロロピクリン [CCl<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>] 標準液<sup>注1</sup>を標準原液として用いる（この液 1 mL は、クロロピクリンを 1 mg 含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部をヘキサンで正確に希釈し、1 mL 中にクロロピクリンとして 0.025~1 µg を含有する数点のクロロピクリン標準液を調製する。

#### B 定 量

抽 出　　分析試料 10~20 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、1 L のディーン・スターク蒸留装置用フラスコに入れる。このフラスコに水<sup>注2</sup> 500 mL、塩酸 10 mL、シリコン油数滴及びヘキサン 20 mL を加えた後、蒸留装置に連結し、1 時間蒸留してクロロピクリンをヘキサンに捕集した後放冷する。

蒸留装置のトラップ内の水を除去し、水<sup>注2</sup>約 10 mL で冷却管内を洗浄した後、ヘキサン層を 20 mL の試験管に分液ろ紙でろ過し、ガスクロマトグラフィーに供する試料溶液とする。

ガスクロマトグラフィー　　試料溶液及び各クロロピクリン標準液各 1 µL をガスクロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。

#### 測定条件 例

検 出 器：電子捕獲検出器

カ ラ ム：溶融石英製キャピラリーカラム（ポリエチレングリコール（分子量 20,000）コーティング、内径 0.32 mm、長さ 30 m、膜厚 0.5 µm）<sup>注3</sup>

キャリアーガス：He (2.0 mL/min)

メイクアップガス：N<sub>2</sub> (50 mL/min)

試料導入法：スプリットレス (60 s)

試料導入部温度：200 °C

カラム槽温度：50 °C (5 min 保持) → 昇温 10 °C/min → 200 °C (10 min 保持)

検出器温度：280 °C

計 算　　得られたクロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のクロロピクリンを算出する。

注 1 水質試験用試薬（ヘキサン溶液）（富士フイルム和光純薬製）又はこれと同等のもの

2 蒸留水 1 L をヘキサン 200 mL で振り混ぜ洗浄したもの。

3 DB-WAX (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

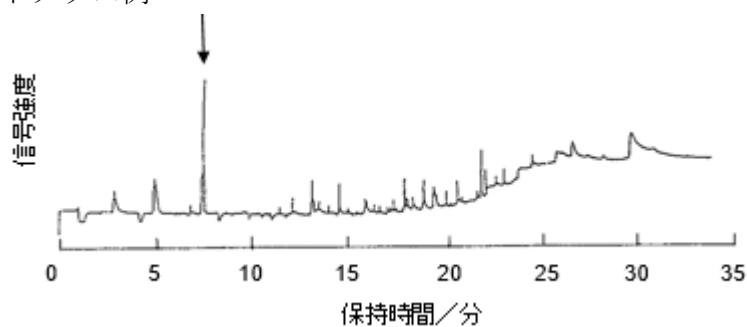
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
成鶏飼育用配合飼料	0.125	3	94.3	8.0
	0.25	3	100	4.5
	0.5	3	99.7	4.7
肉豚肥育用配合飼料	0.125	3	100	10
	0.25	3	103	4.5
	0.5	3	102	9.3
肉用牛肥育用配合飼料	0.125	3	96.7	2.4
	0.25	3	99.3	7.6
	0.5	3	102	7.2
アルファルファ	0.125	3	98.0	13
	0.25	3	106	5.0
	0.5	3	106	4.3

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
成鶏飼育用配合飼料	7	0	0.25	96.1	2.9	4.9	0.25

- ・定量下限 (単一試験室による確認) 配合飼料中 0.025 mg/kg、乾牧草中 0.05 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



添加試料 (配合飼料にクロルピクリンとして 0.25 mg/kg 相当量添加) のクロマトグラム

83 クロルピリホス

83.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

83.2 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法 (その1)  
第2節4による。

84 クロルピリホスメチル

84.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。



84.2 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法（その1）  
第2節4による。

84.3 クロルピリホスメチル及びピリミホスメチルのガスクロマトグラフによる同時  
分析法  
第3節25による。

85 クロルフェナピル

85.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

86 クロルフェンビンホス（クロルフェンビンホス（E体）及びクロルフェンビンホス  
（Z体））

86.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

86.2 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法（その1）  
第2節4による。

87 クロルフルアズロン

87.1 液体クロマトグラフ法

#### A 試薬の調製

1) クロルフルアズロン標準液 クロルフルアズロン〔C<sub>20</sub>H<sub>9</sub>Cl<sub>3</sub>F<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>〕20 mgを  
0.01 mgの桁まで量り、その数値を記録し、100 mLの褐色全量フラスコに入れ、  
アセトニトリルを加えて溶かし、更に標線までアセトニトリルを加えてクロルフ  
ルアズロン標準原液を調製する（この液1 mLは、クロルフルアズロンとして0.2  
mgを含有する。）。

使用に際して、クロルフルアズロン標準原液の一部をアセトニトリルで正確に  
希釈し、1 mL中にクロルフルアズロンとして0.1~2 µgを含有する数点のクロル  
フルアズロン標準液を調製する。

2) ケイ酸マグネシウム 合成ケイ酸マグネシウム（粒径149~250 µm（100~60  
メッシュ））<sup>注1</sup>を130 °Cで16時間乾燥する。

#### B 定 量

抽 出 分析試料5.0 gを0.001 gの桁まで量り、その数値を記録し、200 mL  
の共栓三角フラスコに入れ、ジブチルヒドロキシルエン約0.1 g及び水5 mLを  
加え、30分間静置後、更にアセトニトリル100 mLを加え、30分間振り混ぜて抽  
出する。200 mLの全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5種  
B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトニトリル50 mL  
で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線までアセトニトリルを  
加え、この液100 mLを300 mLのなす形フラスコに入れ、40 °C以下の水浴でほ

とんど乾固するまで減圧濃縮する。残留物に塩化ナトリウム飽和溶液 20 mL を加え、カラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I 試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム (20 mL 保持用)<sup>注2</sup> に入れ、5 分間静置する。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをシクロヘキサン 25 mL ずつで 4 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下してクロルフルアズロンを溶出させる。更にシクロヘキサン 50 mL をカラムに加えて同様に溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

ヘキサン-アセトン (9+1) 5 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

カラム処理 II 硫酸ナトリウム (無水) 5 g (4.5~5.5 g)、ケイ酸マグネシウム 5 g (4.5~5.5 g) 及び硫酸ナトリウム (無水) 5 g (4.5~5.5 g) をそれぞれヘキサン-アセトン (9+1) に懸濁させてカラム管 (内径 15 mm) に順次流し込み、液面が充てん剤の上端から 3 mm の高さに達するまで流出させ、カラムを調製する。

試料溶液をカラムに入れ、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン-アセトン (9+1) 5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端から 3 mm の高さに達するまで流出させる。更にヘキサン-アセトン (9+1) 35 mL をカラムに加えて洗浄した後、200 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、ヘキサン-アセトン (7+3) 100 mL をカラムに加えてクロルフルアズロンを溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

ヘキサジエチルエーテル (17+3) 3 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 III に供する試料溶液とする。

カラム処理 III シリカゲルミニカラム (690 mg)<sup>注3</sup> をヘキサジエチルエーテル (17+3) 10 mL で洗浄する。

試料溶液をミニカラムに入れ、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサジエチルエーテル (17+3) 3 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、流出させる。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、ヘキサジエチルエーテル (7+3) 10 mL をミニカラムに加えてクロルフルアズロンを溶出させ、溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

アセトニトリル 2.5 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター (孔径 0.5 µm 以下) でろ過し、液体クロマトグラフィーに供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフィー 試料溶液及び各クロルフルアズロン標準液各 20 µL を液体クロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。

測定条件 例

検出器：紫外吸光光度検出器 (波長：260 nm)

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム（内径 4.6 mm、長さ 250 mm、粒径 5 μm）<sup>注4</sup>

溶離液：アセトニトリル-水（4+1）

流速：1 mL/min

計算 得られたクロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のクロルフルアズロン量を算出する。

注 1 フロリジル（Floridin 製）又はこれと同等のもの

2 Chem Elut（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの

3 Sep-Pak Plus Silica Cartridge（Waters 製）に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの

4 Mightysil RP18（関東化学製）又はこれと同等のもの

（参考）分析法バリデーション

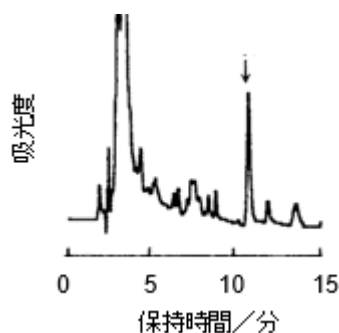
・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
豚用配合飼料	0.2	3	88.3	19
	1	3	92.7	2.5
	2	3	95.7	4.7
アルファルファ	0.2	3	78.7	4.1
	1	3	79.0	11
	2	3	86.0	8.1
綿実	0.2	3	91.3	1.3
	1	3	83.7	10
	2	3	82.7	6.7

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
豚用配合飼料	7	0	1	87.7	2.3	4.1	0.25

（参考）クロマトグラム例



添加試料（配合飼料にクロルフルアズロンとして 0.2 mg/kg 相当量添加）のクロマトグラム

## 88 クロルプロファム

### 88.1 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計法

（適用範囲：飼料）

#### A 試薬の調製

- 1) クロルプロファム標準液 クロルプロファム [C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>ClNO<sub>2</sub>] 20 mg を 0.01

mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えてクロルプロファム標準原液を調製する（この液 1 mL は、クロルプロファムとして 0.2 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部をメタノールで正確に希釈し、1 mL 中にクロルプロファムとして 1~100 ng を含有する数点のクロルプロファム標準液を調製する。

- 2) 0.5 mol/L リン酸緩衝液      リン酸水素二カリウム 52.7 g (52.65~52.74 g) 及びリン酸二水素カリウム 30.2 g (30.15~30.24 g) を量って水 500 mL に溶かし、水酸化カリウム溶液 (1 mol/L) 又はリン酸 (1+10) を用いて pH を 7.0 に調整した後、更に水を加えて 1 L とする。

## B 定 量

抽出      分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 15 mL を加え、30 分間静置後、更にアセトニトリル 100 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙 (5 種 B) で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトニトリル 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に、全量フラスコの標線までアセトニトリルを加え、液液分配に供する試料溶液とする。

液液分配      試料溶液 20 mL を、あらかじめ塩化ナトリウム 10 g (9.5~10.4 g) 及び 0.5 mol/L リン酸緩衝液 20 mL を入れた 100 mL の分液漏斗に正確に加え、10 分間振り混ぜた後静置する。水層 (下層) を捨て、アセトニトリル層 (上層) を 100 mL の三角フラスコに入れ、適量の硫酸ナトリウム (無水) で脱水し、100 mL のなす形フラスコにろ紙 (5 種 B) でろ過する。先の三角フラスコを少量のアセトニトリルで洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。ろ液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮し、窒素ガスを送って乾固する。ヘキサン 2 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理に供する試料溶液とする。

カラム処理      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) <sup>注1</sup> をアセトン 10 mL 及びヘキサン 10 mL で順次洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流下させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、同様に流出させる。

50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、ヘキサナーアセトン (4+1) 15 mL をミニカラムに加え、クロルプロファムを溶出させる。

溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。メタノール 1 mL を正確に加え、残留物を溶かし、メンブランフィルター (孔径 0.45 µm 以下) でろ過し、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定      試料溶液及び各クロルプロファム標準液各 5 µL を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、

選択反応検出クロマトグラムを得る。

(液体クロマトグラフ部)

カラム : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 2.0 mm、長さ 150 mm、粒径 3  $\mu\text{m}$ )<sup>注2</sup>

溶離液 : 2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-2 mmol/L 酢酸アンモニウム含有メタノール溶液 (7+3) (0.2 min 保持) → 12.5 min → (1+19) (2.5 min 保持) → 2 min → (7+3) (12 min 保持)

流速 : 0.2 mL/min

カラム槽温度 : 40 °C

(タンデム型質量分析計部<sup>注3</sup>)

検出器 : 四重極型質量分析計

イオン化法 : エレクトロスプレーイオン化法 (正イオンモード)

イオン源温度 : 120 °C

デソルベーションガス : N<sub>2</sub> (700 L/h、350 °C)

キャピラリー電圧 : 3.0 kV

コーンガス : N<sub>2</sub> (50 L/h)

コーン電圧 : 下表のとおり

コリジョンガス : Ar (0.25 mL/min)

コリジョンエネルギー : 下表のとおり

モニターイオン : 下表のとおり

表 クロルプロファムの測定条件

測定対象物質	プリカーサー イオン ( <i>m/z</i> )	プロダクトイオン		コーン電圧 (V)	コリジョン エネルギー (eV)
		定量用 ( <i>m/z</i> )	確認用 ( <i>m/z</i> )		
クロルプロファム	214	172	—	20	10
		—	154		20

計算 得られた選択反応検出クロマトグラムからピーク面積又は高さを求めて検量線を作成し、試料中のクロルプロファム量を算出する。

注 1 InertSep GC/PSA (ジーエルサイエンス製) 又はこれと同等のもの

2 Capcell Pak C18 MG II (大阪ソーダ製) 又はこれと同等のもの

3 ACQUITY TQD (Waters 製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

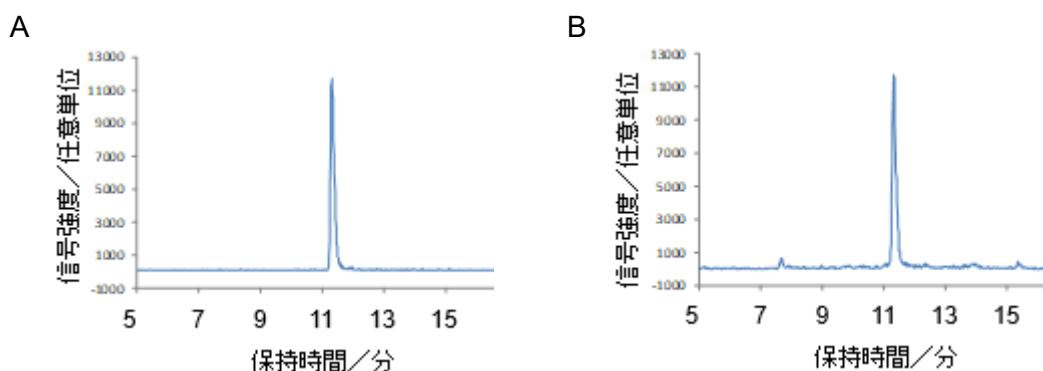
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
成鶏飼育用配合飼料	0.008	5	94.2	1.4
	0.4	5	94.7	4.7
ほ乳期子豚育成用配合飼料	0.008	5	104	4.9
	0.2	5	93.0	5.3
大麦	0.008	5	95.4	4.4
	0.04	5	95.6	3.3
小麦	0.008	5	85.2	8.5
	0.02	5	96.0	2.9
とうもろこし	0.008	5	91.8	8.0
	0.05	5	95.7	0.7

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
子豚育成用配合飼料	12	1	0.06	84.3	4.1	16	0.73
乳用牛飼育用配合飼料	12	1	0.02	75.3	7.3	33	1.5
えん麦	11	2	0.15	83.1	7.2	8.7	0.39
大麦	13	0	0.008	87.0	6.4	33	1.5
小麦	12	1	0.04	78.5	5.0	13	0.57
とうもろこし	13	0	0.08	85.3	5.5	23	1.0

- ・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.008 mg/kg
- ・検出下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.003 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A: 標準液 (クロルプロファムとして 8 ng/mL)

B: 添加試料 (とうもろこしにクロルプロファムとして 0.008 mg/kg 相当量添加)

88.2 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

88.3 アラクロール、アレスリン、クロルプロファム、ジクロラン及びメトキシクロールのガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節6による。

## 89 クロルベンジレート

### 89.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法

第3節1による。

### 89.2 有機塩素系及び酸アミド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法

第2節3による。

### 89.3 ガスクロマトグラフ法

#### A 試薬の調製

- 1) クロルベンジレート標準液　クロルベンジレート〔 $C_{16}H_{14}Cl_{12}O_3$ 〕10 mg を0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の褐色全量フラスコに入れ、2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン（4+1）を加えて溶かし、更に標線まで2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン（4+1）を加えてクロルベンジレート標準原液を調製する（この液 1 mL は、クロルベンジレートとして 0.1 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部を 2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン（4+1）で正確に希釈し、1 mL 中にクロルベンジレートとして 0.1~2  $\mu$ g を含有する数点のクロルベンジレート標準液を調製する。

- 2) ケイ酸マグネシウム　合成ケイ酸マグネシウム（粒径 149~250  $\mu$ m（100~60 メッシュ））<sup>注1</sup>を 130 °C で 5 時間乾燥し、放冷後、5 v/w%相当量の水を加えて混和し、一週間静置する（使用時に調製する。）。

#### B 定　　量

**抽　　出**　分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 30 mL を加えて潤し、30 分間静置後、更にアセトニトリル 70 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトニトリル-水（7+3）50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更にアセトニトリル-水（7+3）を全量フラスコの標線まで加え、精製に供する試料溶液とする。

**精　　製**　試料溶液 100 mL をあらかじめ塩化ナトリウム溶液（5 w/v%）250 mL 及びヘキサン 50 mL を入れた 500 mL の分液漏斗 A に加える。分液漏斗 A を 5 分間激しく振り混ぜた後静置し、水層（下層）を 500 mL の分液漏斗 B に入れ、ヘキサン層（上層）を 200 mL の三角フラスコに入れる。ヘキサン 50 mL を分液漏斗 B に加え、穏やかに振り混ぜた後静置し、ヘキサン層を先の三角フラスコに合わせる。ヘキサン層を適量の硫酸ナトリウム（無水）で脱水し、300 mL のなす形フラスコに分液ろ紙でろ過した後、先の三角フラスコ及びろ紙を順次少量のヘキサンで洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。ろ液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

残留物をヘキサン 30 mL で 100 mL の分液漏斗 C に移し、更にアセトニトリル-水（100+1）30 mL を加える。分液漏斗 C を 5 分間激しく振り混ぜた後静置し、

アセトニトリル層（下層）を 200 mL の分液漏斗 D に入れる。分液漏斗 C にアセトニトリル-水（100+1）30 mL を加え、同様に操作し、アセトニトリル層を分液漏斗 D に加える。分液漏斗 D にヘキサン 30 mL を加え、5 分間激しく振り混ぜた後静置し、アセトニトリル層を 300 mL のなす形フラスコに入れる。アセトニトリル層を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

ヘキサン 5 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理に供する試料溶液とする。  
カラム処理 ケイ酸マグネシウム 10 g (9.5~10.5 g) 及び硫酸ナトリウム（無水）2 g (1.8~2.2 g) をそれぞれヘキサンに懸濁させてカラム管（内径 15 mm）に順次流し込み、液面が充てん剤の上端から 3 mm の高さに達するまで流出させ、カラムを調製する。

試料溶液をカラムに入れ、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 5 mL ずつで 5 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端から 3 mm の高さに達するまで流出させる。ヘキサノージエチルエーテル（19+1）100 mL をカラムに加え、同様に流出させる。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、ヘキサノージエチルエーテル（4+1）100 mL をカラムに加えてクロルベンジレートを溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン（4+1）5 mL を正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフィーに供する試料溶液とする。  
ガスクロマトグラフィー 試料溶液及び各クロルベンジレート標準液各 1 µL をガスクロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。

#### 測定条件 例

検 出 器：電子捕獲検出器  
カ ラ ム：溶融石英製キャピラリーカラム（14%シアノプロピルメチル-86%ジメチルポリシロキサンコーティング、内径 0.53 mm、長さ 30 m、膜厚 0.50 µm）<sup>注2</sup>

キャリアーガス：He（5 mL/min）

メイクアップガス：N<sub>2</sub>（60 mL/min）

試料導入法：スプリットレス（60 s）

試料導入部温度：260 °C

カラム槽温度：60 °C（1 min 保持）→ 昇温 20 °C/min → 200 °C → 昇温 2 °C/min → 260 °C（2 min 保持）

検出器温度：300 °C

計 算 得られたクロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のクロルベンジレート量を算出する。

注 1 フロリジル（Floridin 製）又はこれと同等のもの

2 SPB-1701（Supelco 製（販売終了））又はこれと同等のもの



(参考) 分析法バリデーション

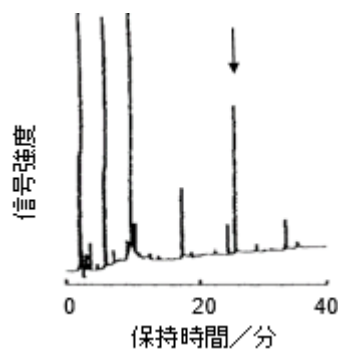
・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
成鶏飼育用配合飼料	0.2	3	102	5.6
	1	3	93.7	6.1
	2	3	84.7	5.6
子豚育成用配合飼料	0.2	3	97.7	9.7
	1	3	100	11
	2	3	92.7	6.9
チモシー	0.2	3	101	6.0
	1	3	94.7	4.3
	2	3	92.0	13

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
成鶏飼育用配合飼料	7	0	1	95.0	2.1	4.9	0.30

(参考) クロマトグラム例



添加試料 (配合飼料にクロルベンジレートとして 1 mg/kg 相当量添加) のクロマトグラム

90 クロロタロニル

90.1 ガスクロマトグラフ質量分析計法

(適用範囲：稲発酵粗飼料及び粃米)

A 試薬の調製

- 1) クロロタロニル標準液 クロロタロニル [C<sub>8</sub>Cl<sub>4</sub>N<sub>2</sub>] 25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えてクロロタロニル標準原液を調製する (この液 1 mL は、クロロタロニルとして 0.5 mg を含有する。)

使用に際して、標準原液の一部を希釈溶媒で正確に希釈し、1 mL 中にクロロタロニルとして 0.002~0.2 µg を含有する数点のクロロタロニル標準液を調製する。

- 2) 希釈溶媒 ポリエチレングリコール (平均分子量 300) 1 mL にアセトンを加えて 100 mL の溶液を調製する。更にこの溶液 1 mL にヘキサンを加えて 200 mL の希釈溶媒を調製する。

B 定 量

抽 出 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、300 mL の

共栓三角フラスコに入れ、リン酸 (1+11) 30 mL (粃米は 20 mL) を加え、30 分間静置後、更にアセトン 120 mL (粃米は 100 mL) を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙 (5 種 B) で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線までアセトンを加える。この液 40 mL を 200 mL のなす形フラスコに正確に入れ、40 °C 以下の水浴で約 5 mL まで減圧濃縮し、カラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I 試料溶液にリン酸 (1+11) 5 mL を加えた後、多孔性ケイソウ土カラム (10 mL 保持用)<sup>注1</sup>に入れ、10 分間静置する。200 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下させてクロロタロニルを溶出させる。更にヘキサン 70 mL をカラムに加えて同様に溶出させ、溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

シクロヘキサン-アセトン (4+1) 10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター (孔径 0.5 µm 以下) でろ過し、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

カラム処理 II 試料溶液 5.0 mL をゲル浸透クロマトグラフに注入し、クロロタロニルが溶出する画分を 100 mL のなす形フラスコに分取し、40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。試料が稻発酵粗飼料の場合は、ヘキサノ-ジエチルエーテル (4+1) 6 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 III に供する試料溶液とする。粃米の場合は、希釈溶媒 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフ質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

ゲル浸透クロマトグラフィ- 例

カラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム (内径 20 mm、長さ 300 mm、粒径 15 µm)

ガードカラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム (内径 20 mm、長さ 100 mm、粒径 15 µm)

溶離液：シクロヘキサン-アセトン (4+1)

流速：5 mL/min

分取画分：100~130 mL

カラム処理 III<sup>注2</sup> 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (910 mg)<sup>注3</sup> をヘキサン 5 mL で洗浄する。

試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサノ-ジエチルエーテル (4+1) 2 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、ヘキサン-酢酸エチル (9+1) 20 mL をミニカラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下してクロロタロニルを溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴で

ほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

希釈溶媒 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフ質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

ガスクロマトグラフ質量分析計による測定 試料溶液及び各クロロタロニル標準液各 2  $\mu\text{L}$  をガスクロマトグラフ質量分析計に注入し、選択イオン検出クロマトグラムを得る。

測定条件 例

(ガスクロマトグラフ部)

カラム : 熔融石英製キャピラリーカラム (5%ジフェニル-95%ジメチルポリシロキサンコーティング、内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ )<sup>注4</sup>

キャリアーガス : He (1.0 mL/min)

試料導入法 : スプリットレス (60 s)

試料導入部温度 : 250 °C

カラム槽温度 : 80 °C (1 min 保持) →昇温 20 °C/min→280 °C (10 min 保持)

(質量分析計部<sup>注5</sup>)

検出器 : 四重極型質量分析計

イオン化法 : 電子イオン化 (EI) 法

インターフェース温度 : 280 °C

イオン源温度 : 230 °C

イオン化電圧 : 70 eV

モニターイオン : 定量イオン  $m/z$  264、確認イオン  $m/z$  266

計算 得られた選択イオン検出クロマトグラムからピーク面積又は高さを求めて検量線を作成し、試料中のクロロタロニル量を算出する。

注 1 InertSep K-solute (ジールサイエンス製) 又はこれと同等のもの

2 流速は 1~2 mL/min 程度とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。

3 Sep-Pak Plus Florisil Cartridge (Waters 製) に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの

4 HP-5ms (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

5 GC7890A/5973C (Agilent Technologies 製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
稲発酵粗飼料	0.0044	3	103	8.0
	0.089	3	110	6.5
粳米	0.01	3	88.5	4.0
	0.2	3	104	4.3

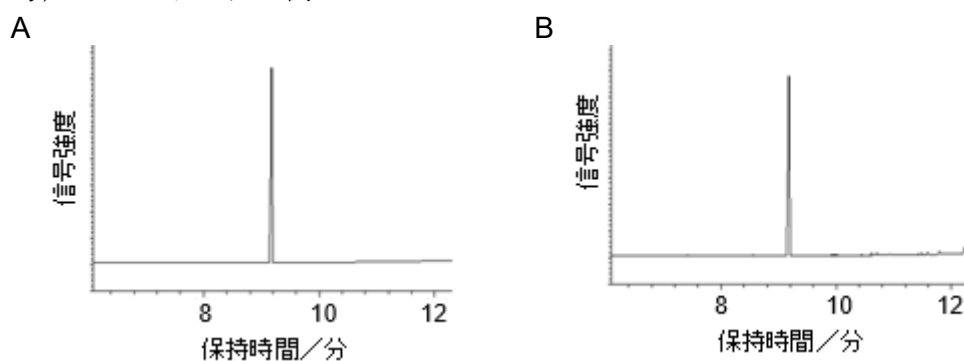
・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
稲発酵粗飼料	9	0	0.089	85.3	4.9	8.7	0.40
粳米	9	0	0.1	93.0	8.6	8.5	0.39

・ 定量下限 (単一試験室による確認) 試料 (稲発酵粗飼料は風乾物) 中 0.01 mg/kg

・ 検出下限 (単一試験室による確認) 試料 (稲発酵粗飼料は風乾物) 中 0.003 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A : 標準液 (クロロタロニルとして 50 ng/mL)

B : 添加試料 (稲発酵粗飼料にクロロタロニルとして 0.089 mg/kg 相当量添加)

91 酸化フェンブタスズ

91.1 酸化フェンブタスズ及びシヘキサチンのガスクロマトグラフによる同時分析法  
第3節26による。

92 シアナジン

92.1 アメトリン、シアナジン及びプロメトリンの液体クロマトグラフ質量分析計による同時分析法  
第3節14による。

92.2 シアナジン及びマイクロブタニルのガスクロマトグラフによる同時分析法  
第3節27による。

93 ジウロン

93.1 液体クロマトグラフ質量分析計法

A 試薬の調製

ジウロン標準液 ジウロン [C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O] 25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えてジウロン標準原液を調製する (この液 1 mL は、ジウロンとして 0.5 mg を含有する。)

使用に際して、標準原液の一部をメタノールで正確に希釈し、1 mL 中にジウロンとして 0.01~4 µg を含有する数点のジウロン標準液を調製する。

## B 定 量

### 抽 出

- 1) 乾牧草 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 30 mL を加え、30 分間静置後、更にアセトン 100 mL を加え、60 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過する。先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過し、更に全量フラスコの標線までアセトンを加える。この液 20 mL を 100 mL のなす形フラスコに正確に入れ、40 °C 以下の水浴で 3 mL 以下まで減圧濃縮し、カラム処理 I に供する試料溶液とする。
- 2) その他の飼料 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 15 mL を加え、30 分間静置後、更にアセトン 100 mL を加え、60 分間振り混ぜて抽出する。300 mL のなす形フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。ろ液を 40 °C 以下の水浴で 15 mL 以下まで減圧濃縮し、カラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I 試料溶液に塩化ナトリウム 5 g (4.5~5.4 g、乾牧草は水 10 mL 及び塩化ナトリウム 5 g) を加え、これを多孔性ケイソウ土カラム (20 mL 保持用)<sup>注 1</sup>に入れ、5 分間静置する。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 5 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下し、ジウロンを溶出させる。更に、ヘキサン 85 mL をカラムに加えて同様に溶出させ、溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

シクロヘキサン-アセトン (4+1) 10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、この液を 10 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、1,000×g で 5 分間遠心分離した後、上澄み液をメンブランフィルター (孔径 0.5 µm 以下) でろ過し、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

カラム処理 II 試料溶液 4 mL (乾牧草は 2 mL) をゲル浸透クロマトグラフに注入し、ジウロンが溶出する画分を 50 mL のなす形フラスコに分取し、40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

ヘキサン 10 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 III に供する試料溶液とする。

### ゲル浸透クロマトグラフィー 例

カラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム (内径 20 mm、長さ 300 mm、粒径 15 µm)

ガードカラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム (内径 20 mm、長さ 100 mm、粒径 15 µm)

溶 離 液：シクロヘキサン-アセトン (4+1)

流 速：5 mL/min

分 取 画 分：90~110 mL

カラム処理 III 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (910 mg) <sup>注2</sup> をヘキサン 5 mL で洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。50 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン-アセトン (17+3) 2 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、ジウロンを溶出させる。更に、ヘキサン-アセトン (17+3) 19 mL をミニカラムに加え、同様に溶出させる。

溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固させる。メタノール 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、液体クロマトグラフ質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフ質量分析計による測定 試料溶液及び各ジウロン標準液各 2 µL を液体クロマトグラフ質量分析計に注入し、選択イオン検出クロマトグラムを得る。

測定条件 例

(液体クロマトグラフ部)

カ ラ ム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5 µm) <sup>注3</sup>

溶 離 液：2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-メタノール (7+13)

流 速：0.2 mL/min

カ ラ ム 槽 温 度：40 °C

(質量分析計部<sup>注4</sup>)

検 出 器：四重極型質量分析計

イ オ ン 化 法：エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (正イオンモード)

ネブライザーガス：N<sub>2</sub> (1.5 L/min)

ヒートブロック温度：200 °C

C D L 温 度：250 °C

モニターイオン：*m/z* 233 <sup>注5</sup>

計 算 得られた選択イオン検出クロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のジウロン量を算出する。

注 1 Chem Elut (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

2 Sep-Pak Plus Florisil Cartridge (Waters 製) に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの

3 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

4 LCMS-2010EV (島津製作所製) による条件例

5 ライグラスわらについては、*m/z* 235 で定量する。

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

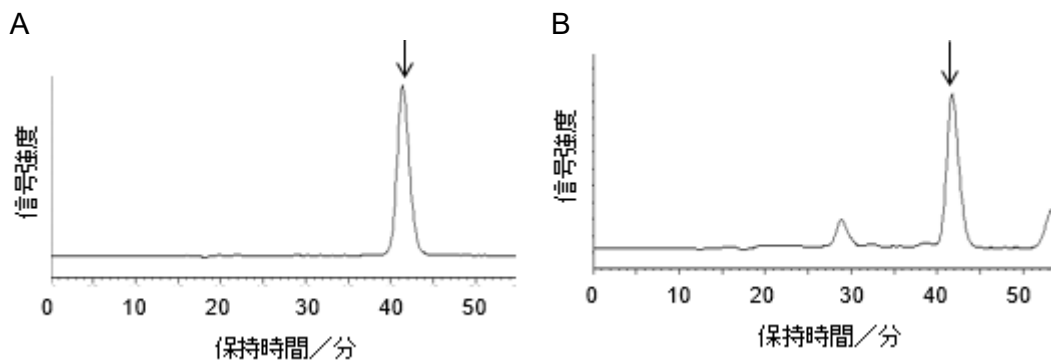
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
ブロイラー肥育後期用配合飼料	0.01	3	93.3	6.2
	0.02	3	95.0	2.6
	0.2	3	84.8	6.9
肉用牛肥育用配合飼料	0.01	3	95.0	5.3
	0.02	3	95.8	5.4
	0.2	3	88.0	4.2
とうもろこし	0.01	3	93.3	3.1
	0.02	3	94.2	3.1
	0.2	3	96.6	2.2
えん麦乾草	0.2	3	90.0	5.6
	0.4	3	97.5	2.6
	4	3	97.2	1.0
ライグラスストロー	0.2	3	95.0	3.1
	0.4	3	99.2	1.5
	1	3	90.3	5.5
	2	3	98.3	7.8

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
種鶏飼育用配合飼料	7	0	0.05	92.3	4.7	12	0.53
とうもろこし	7	0	0.05	86.9	3.3	12	0.54
えん麦乾草	7	0	4	91.0	2.6	8.3	0.63

- ・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.01 mg/kg (乾牧草 0.2 mg/kg)
- ・検出下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.003 mg/kg (乾牧草 0.06 mg/kg)

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A : 標準液 (ジウロンとして 0.4 µg/mL)

B : 添加試料 (ブロイラー肥育後期用配合飼料にジウロンとして 0.2 mg/kg 相当量添加)

94 ジカンバ (3,6-ジクロロ-2-ヒドロキシ安息香酸 (以下本節において「DCSA」という。)) 及び DCSA 抱合体を含む。)

## 94.1 ガスクロマトグラフ質量分析計法<sup>注1</sup>

### A 試薬の調製

ジカンバ標準原液　ジカンバ〔C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>3</sub>〕25 mg を0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の褐色全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加える（この液1 mL は、ジカンバとして0.5 mg を含有する。）。

使用に際して、この液の一部をアセトンで正確に希釈して、1 mL 中にジカンバとして5.0 μg を含有するジカンバ標準原液を調製する。

### B 定　　量

抽　　出　　分析試料20 g（乾牧草10 g）を0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、水30 mL 及び塩酸（6 mol/L）1 mL を加えて潤し、30 分間静置後、更にアセトン70 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する<sup>注2</sup>。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線までアセトンを加え、加水分解に供する試料溶液とする。

加水分解　　試料溶液20 mL（試料が乾牧草である場合は40 mL）を100 mL のなす形フラスコに正確に入れ、40 °C 以下の水浴で約5 mL まで減圧濃縮する。濃縮液に水酸化ナトリウム溶液（1 mol/L）5 mL を加え、ときどき軽く振り混ぜながら室温で30 分間静置し、カラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I　　試料溶液に塩酸（6 mol/L）2 mL を加え、溶液の pH が1.0 以下であることを pH 試験紙で確認した後、この液を多孔性ケイソウ土カラム（20 mL 保持用）<sup>注3</sup> に入れ、5 分間静置する。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコを酢酸エチル10 mL ずつで3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加える。液面が充てん剤の上端に達するまで流下させてジカンバを溶出させ、更に酢酸エチル70 mL をカラムに加えて同様に溶出させる。溶出液を40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

残留物をシクロヘキサン-酢酸エチル（4+1）2 mL で10 mL の全量フラスコに移し、更に残留物が入っていたなす形フラスコをシクロヘキサン-酢酸エチル（4+1）2 mL で3 回洗浄し、洗液を先の全量フラスコに合わせる。更に全量フラスコの標線までシクロヘキサン-酢酸エチル（4+1）を加えた後、メンブランフィルター（孔径0.5 μm 以下）でろ過し、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

カラム処理 II　　試料溶液5.0 mL をゲル浸透クロマトグラフに注入し、ジカンバが溶出する画分を100 mL のなし形フラスコに分取し、40 °C 以下の水浴で約4 mL まで減圧濃縮した後、20 mL の試験管に入れる。先のなし形フラスコをアセトン2 mL ずつで3 回洗浄し、洗液を先の試験管に合わせる。この液を50 °C 以下の水浴中で窒素ガスを送って乾固し、トリフルオロエチルエステル化に供する残留物を得る。



## ゲル浸透クロマトグラフィー 例

カラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム（内径 20 mm、長さ 300 mm、粒径 15  $\mu\text{m}$ ）

ガードカラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム（内径 20 mm、長さ 100 mm、粒径 15  $\mu\text{m}$ ）

溶離液：シクロヘキサン-酢酸エチル（4+1）

流速：5 mL/min

分取画分：75~125 mL

トリフルオロエチルエステル化 2,2,2-トリフルオロエタノール 1 mL 及び硫酸 0.2 mL を残留物に加えてこの容器を密栓し、ときどき振り混ぜながら、90 °C の水浴上で 30 分間静置し、ヘキサン転溶に供する試料溶液とする。

同時に、ジカンバ標準原液 1 mL を別の 20 mL の試験管に正確に入れ、窒素ガスを送って乾固した後、以下同様にトリフルオロエチルエステル化の操作を行ってジカンバをトリフルオロエチルエステル化物に誘導体化し、ヘキサン転溶に供する標準液とする。

ヘキサン転溶 試料溶液に塩化ナトリウム溶液（5 w/v%）10 mL 及びヘキサン 5 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置し、ヘキサン層（上層）をパスツールピペットで 50 mL の三角フラスコに分取する。更にヘキサン 5 mL を試験管に加えて同様に操作し、ヘキサン層を先の三角フラスコに加え、カラム処理 III に供する試料溶液とする。

同時に、標準液を試料溶液と同様に操作した後、ヘキサン層をあらかじめ脱脂綿を詰め硫酸ナトリウム（無水）約 5 g を入れた漏斗で 50 mL のなし形フラスコにろ過する。標準液の入っていた三角フラスコをヘキサン 2 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を先の漏斗を通してろ液を合わせた後、先の硫酸ナトリウムをヘキサン 2 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液をろ液に合わせる。ろ液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮した後、残留物を 5 mL の全量フラスコに移し、残留物の入っていたなし形フラスコをヘキサン 1 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を先の全量フラスコに合わせる。更に全量フラスコの標線までヘキサンを加え、1 mL 中にジカンバとして 1.0  $\mu\text{g}$  相当量を含む標準原液を調製する。この標準原液をヘキサンで正確に希釈し、1 mL 中にジカンバとして 0.002~0.5  $\mu\text{g}$  相当量を含む数点の標準液を調製する。

カラム処理 III 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910 mg）<sup>注4</sup> をヘキサン 5 mL で洗浄する。試料溶液をあらかじめ脱脂綿を詰め硫酸ナトリウム（無水）約 5 g を入れた漏斗でミニカラムにろ過する。試料溶液の入っていた三角フラスコをヘキサン 2 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を先の漏斗を通してミニカラムに加えた後、先の硫酸ナトリウムをヘキサン 2 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液をミニカラムに加える。液面が充てん剤の上端に達するまで流下で流出させた後、漏斗をとりはずす。50 mL のなし形フラスコをミニカラムの下に置き、ヘキサン-ジエチルエーテル（24+1）10 mL をミニカラムに加え、流下させてジカンバのトリフルオロエチルエステル化物を溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL ま

で減圧濃縮した後、5 mL の全量フラスコに入れ、溶出液の入っていたなし形フラスコをヘキサン 1 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を先の全量フラスコに合わせる。更に全量フラスコの標線までヘキサンを加えてガスクロマトグラフ質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

ガスクロマトグラフ質量分析計による測定 試料溶液及び各標準液各 2  $\mu\text{L}$  をガスクロマトグラフ質量分析計に注入し、選択イオン検出クロマトグラムを得る。

測定条件 例

(ガスクロマトグラフ部)

カラム : 熔融石英製キャピラリーカラム (5%ジフェニル-95%ジメチルポリシロキサンコーティング、内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ )<sup>注5</sup>

キャリアーガス : He (1.0 mL/min)

試料導入法 : スプリットレス (60 s)

試料導入部温度 : 250  $^{\circ}\text{C}$

カラム槽温度 : 80  $^{\circ}\text{C}$  (2 min 保持)  $\rightarrow$  昇温 5  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$   $\rightarrow$  180  $^{\circ}\text{C}$   $\rightarrow$  昇温 15  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$   $\rightarrow$  280  $^{\circ}\text{C}$  (5 min 保持)

(質量分析計部<sup>注6</sup>)

検出器 : 四重極型質量分析計

イオン化法 : 電子イオン化 (EI) 法

インターフェース温度 : 280  $^{\circ}\text{C}$

イオン源温度 : 200  $^{\circ}\text{C}$

イオン化電圧 : 70 eV

モニターイオン :  $m/z$  302

計算 得られた選択イオン検出クロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のジカンバ量を算出する。

注 1 本法では、試料中にジカンバイソプロピルアミン塩、ジカンバジメチルアミン塩、ジカンバカリウム塩及びジカンバナトリウム塩が含まれている場合には、試料中のジカンバ量に含まれる。

2 試料中のジカンバ含量が多い場合には、抽出液をアセトンで希釈してから以後の操作を行う。

3 Chem Elut (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

4 Sep-Pak Plus Florisil Cartridge (Waters 製) に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの

5 HP-5ms (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

6 GCMS-QP2010 (島津製作所製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

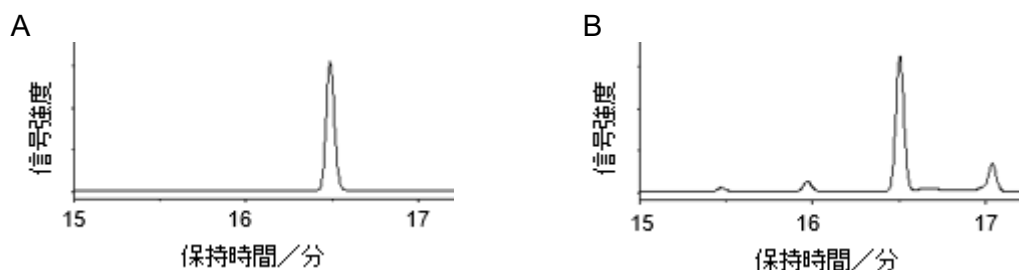
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
鶏用配合飼料	0.01	3	97.5	9.9
	0.05	3	88.8	10.6
	0.5	3	89.3	2.6
牛用配合飼料	0.05	3	100.2	6.1
	0.5	3	98.5	12.5
大麦	0.7	3	94.5	11
	7	3	87.3	4.9
小麦	0.2	3	92.2	11
	2	3	93.5	9.3
とうもろこし	0.01	3	93.8	10
ライ麦	0.01	3	98.7	6.5
チモシー	0.05	3	101.3	9.0
	0.5	3	85.7	2.3
フェスク	0.2	3	87.8	3.5
ライグラス	0.2	3	82.8	4.1
稲わら	0.05	3	104.3	8.6
	0.5	3	92.3	7.8

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
とうもろこし	6	0	0.5	88.7	4.2	8.5	0.47
フェスク	6	0	200	84.6	7.5	14	1.9

- ・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.01 mg/kg
- ・検出下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.003 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A : 標準液 (ジカンバとして 0.05 µg/mL)

B : 添加試料 (幼すう育成用配合飼料にジカンバとして 0.5 mg/kg 相当量添加)

94.2 液体クロマトグラフタンデム型質量分析法<sup>注1</sup>

(適用範囲 : 大豆及び大豆油かす)

A 試薬の調製

- 1) ジカンバ標準原液 ジカンバ [C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>3</sub>] 25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線までメタノールを加えてジカンバ標準原液を調製する (この液 1 mL は、ジカンバとして 0.5 mg を含有する。)
- 2) DCSA 標準原液 DCSA [C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>3</sub>] 25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数

値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線までメタノールを加えて DCSA 標準原液を調製する（この液 1 mL は、DCSA として 0.5 mg を含有する。）。

- 3) 安定同位体標識物質標準原液及び混合内標準液 安定同位体標識ジカンバ<sup>注2</sup>（ジカンバ-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>）及び安定同位体標識 DCSA<sup>注2</sup>（DCSA-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>）各 8 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、それぞれ 20 mL の全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線までメタノールを加えて各安定同位体標識物質標準原液を調製する（これらの液各 1 mL は、ジカンバ-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> 及び DCSA-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> として 0.4 mg をそれぞれ含有する。）。

更に、各標準原液の一部を混合し、メタノールで正確に希釈し、1 mL 中にジカンバ-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> 及び DCSA-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> としてそれぞれ 20 µg を含有する混合内標準液を調製する。

- 4) 検量線作成用混合標準液 使用に際して、ジカンバ及び DCSA 各標準原液並びにジカンバ-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> 及び DCSA-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> 各安定同位体標識物質標準原液の一部を 0.1 v/v% ギ酸溶液－メタノール（1+1）で正確に希釈し、1 mL 中にジカンバ及び DCSA としてそれぞれ 5~200 ng<sup>注3</sup> 及び 0.5~20 ng<sup>注3</sup> を含有し、かつ、ジカンバ-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> 及び DCSA-<sup>13</sup>C<sub>6</sub> としてそれぞれ 20 ng 及び 2 ng を含有する数点の検量線作成用混合標準液を調製する。

## B 定 量

抽出 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、300 mL の共栓三角フラスコに入れ、混合内標準液 1 mL 及び水 20 mL を加え、30 分間静置後、更に水－アセトニトリル（1+1）80 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。抽出液を 100 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、1,500×g で 10 分間遠心分離し、上澄み液を加水分解に供する試料溶液とする。

加水分解 試料溶液 10 mL を 100 mL の共栓遠心沈殿管に正確に入れ、塩酸（27+170）20 mL を加える。この容器を密栓し、95 °C の油浴で 1 時間加熱した後放冷する。これを 1,500×g で 10 分間遠心分離し、上澄み液を液液分配に供する試料溶液とする。

液液分配 試料溶液 3 mL をあらかじめ塩化ナトリウム溶液（10 w/v%）20 mL を入れた 100 mL の分液漏斗 A に正確に加え、更にジエチルエーテル 20 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置する。水層（下層）を 100 mL の分液漏斗 B に入れ、ジエチルエーテル層（上層）を 100 mL のなす形フラスコに入れる。分液漏斗 A をジエチルエーテル 20 mL で洗浄し、洗液を分液漏斗 B に加え、5 分間振り混ぜた後静置する。水層を捨て、ジエチルエーテル層を先のなす形フラスコに合わせ、40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮し、窒素ガスを送ってジエチルエーテルを揮散させる。0.1 v/v% ギ酸溶液－メタノール（4+1）5 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理に供する試料溶液とする。

カラム処理<sup>注4</sup> オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（1 g）<sup>注5</sup> をメタノール 10 mL 及び 0.1 v/v% ギ酸溶液 10 mL で順次洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。試料溶液の入っていた

なす形フラスコを 0.1 v/v%ギ酸溶液-メタノール (4+1) 5 mL で洗浄し、洗液をミニカラムに加え同様に流出させる。10 mL の試験管をミニカラムの下に置き、0.1 v/v%ギ酸溶液-メタノール (1+1) 10 mL をミニカラムに加えてジカンバ及びDCSA を溶出させ、溶出液をジカンバの定量に用いるための液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。更にこの試料溶液の一部を 0.1 v/v%ギ酸溶液-メタノール (1+1) で正確に 10 倍希釈し、DCSA の定量に用いるための液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 各試料溶液及び各検量線作成用混合標準液各 5  $\mu$ L を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、選択反応検出クロマトグラムを得る。

測定条件 例

(液体クロマトグラフ部)

カラム : フェネチル化シリカゲルカラム (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5  $\mu$ m) <sup>注6</sup>

溶離液 : 0.1 v/v%酢酸・5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-アセトニトリル (19+1) (5 min 保持)  $\rightarrow$  2 min  $\rightarrow$  (7+3) (8 min 保持)  $\rightarrow$  2 min  $\rightarrow$  (1+4) (5 min 保持)

流速 : 0.2 mL/min

カラム槽温度 : 40  $^{\circ}$ C

(タンデム型質量分析計部<sup>注7</sup>)

検出器 : 四重極型質量分析計

イオン化法 : エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (負イオンモード)

イオン源温度 : 150  $^{\circ}$ C

デソルベーションガス : N<sub>2</sub> (800 L/h、400  $^{\circ}$ C)

キャピラリー電圧 : 0.6 kV

コーンガス : N<sub>2</sub> (50 L/h)

コーン電圧 : 下表のとおり

コリジョンガス : Ar (0.4 Pa)

コリジョンエネルギー : 下表のとおり

モニターイオン : 下表のとおり

表 各物質の測定条件

測定対象物質	プリカーサー	プロダクトイオン		コーン	コリジョン
	イオン ( <i>m/z</i> )	定量用 ( <i>m/z</i> )	確認用 ( <i>m/z</i> )	電圧 (V)	エネルギー (eV)
ジカンバ	219	175	—	20	6
		—	145	20	10
ジカンバ- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	225	181	—	20	6
DCSA	205	161	—	26	12
		—	125	26	20
DCSA- <sup>13</sup> C <sub>6</sub>	211	167	—	26	12

計算 得られた選択反応検出クロマトグラムからジカンバ、DCSA、ジカンバ-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>及びDCSA-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>のピーク面積を求めて内標準法により検量線を作成し、試料中のジカンバ量及びDCSA量を求めた後、次式により試料中のジカンバ(DCSA及びDCSA抱合体を含む。)量を算出する。

$$\text{試料中のジカンバ (DCSA 及び DCSA 抱合体を含む。) 量 (mg/kg)} = A + 1.07 \times B$$

A : 検量線から求めた試料中のジカンバの濃度 (mg/kg)

B : 検量線から求めた試料中のDCSAの濃度 (mg/kg)

- 注 1 本法では、試料中にジカンバイソプロピルアミン塩、ジカンバジメチルアミン塩、ジカンバカリウム塩及びジカンバナトリウム塩が含まれている場合には、試料中のジカンバ量に含まれる。また、試料中のDCSA抱合体は加水分解されて、DCSAとの合量として定量される。
- 2 安定同位体標識として利用するジカンバ及びDCSAは、ジカンバ(環-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>)及びDCSA(環-<sup>13</sup>C<sub>6</sub>)又はこれらと同等のもの
- 3 この規定による定量範囲の上限は、試料中のジカンバ及びDCSAの濃度として各20 mg/kgである。
- 4 流速は1 mL/min程度とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。
- 5 Mega Bond Elut C18 (Agilent Technologies 製、粒径40 µm、リザーバー容量6 mL)又はこれと同等のもの
- 6 Inertsil Ph (ジーエルサイエンス製)又はこれと同等のもの
- 7 Xevo TQD (Waters 製)による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

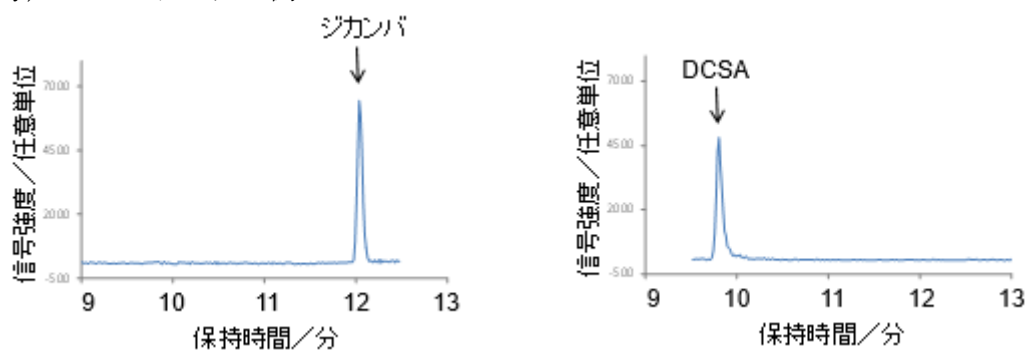
添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
ジカンバ	大豆	1	3	100	3.9
		10	3	97.1	0.9
	大豆 (加熱圧べん)	1	3	98.4	2.1
		10	3	94.7	1.4
	大豆油かす	1	3	95.0	0.9
		10	3	95.7	5.2
DCSA	大豆	1	3	101	7.6
		10	3	88.0	1.5
	大豆 (加熱圧べん)	1	3	86.5	4.2
		10	3	91.9	1.3
	大豆油かす	1	3	98.7	6.7
		10	3	93.4	3.1
エクストルーダー処 理大豆油かす	1	3	88.3	2.5	
	10	3	98.8	0.4	
DCSA	大豆	1	3	101	7.6
		10	3	88.0	1.5
	大豆 (加熱圧べん)	1	3	86.5	4.2
		10	3	91.9	1.3
	大豆油かす	1	3	98.7	6.7
		10	3	93.4	3.1
エクストルーダー処 理大豆油かす	1	3	86.2	4.0	
	10	3	91.1	2.1	

・共同試験

成分名	試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
ジカンバ	大豆	8	1	1	100	8.2	13	0.80
	大豆(蒸熱圧べん)	9	0	5	103	3.1	6.8	0.54
	大豆油かす	9	0	10	98.2	4.5	5.1	0.45
DCSA	大豆	9	0	5	101	5.6	8.6	0.68
	大豆(蒸熱圧べん)	9	0	10	100	4.7	7.4	0.65
	大豆油かす	9	0	1	103	7.9	11	0.66

- ・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 各 1 mg/kg
- ・検出下限 (単一試験室による確認) 試料中 各 0.3 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液 (ジカンバとして 0.05 ng、DCSA として 0.005 ng 注入)  
のクロマトグラム

95 ジクロシメット

- 95.1 アゾキシストロビンその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節12による。

## 96 シクロスルファミロン

- 96.1 ベンスルフロメチルその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節33による。

## 97 ジクロホップメチル

- 97.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

## 98 ジクロラン

- 98.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

- 98.2 有機塩素系及び酸アミド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節3による。

- 98.3 アラクロール、アレスリン、クロルプロファミン、ジクロラン及びメトキシクロールのガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節6による。

## 99 ジクロルボス（ジクロルボス及びナレド）

- 99.1 ガスクロマトグラフ質量分析法<sup>注1, 2</sup>

### A 試薬の調製

- 1) ジクロルボス標準液 ジクロルボス  $[\text{C}_4\text{H}_7\text{Cl}_2\text{O}_4\text{P}]$  25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の褐色全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えてジクロルボス標準原液を調製する。  
(この液 1 mL はジクロルボス 0.5 mg を含有する。)  
使用に際して、標準原液の一部をアセトンで正確に希釈し、1 mL 中にジクロルボスとして 0.01~2  $\mu\text{g}$  を含有する数点のジクロルボス標準液を調製する。
- 2) リン酸緩衝液 リン酸二水素ナトリウム二水和物 7.8 g (7.75~7.84 g) を水 500 mL に溶かした溶液 230 mL にリン酸水素二ナトリウム・12 水 17.9 g (17.85~17.94 g) を水 500 mL に溶かした溶液を加え、2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で pH 7.2 に調整する。
- 3) システイン溶液<sup>注3</sup> L-システイン塩酸塩一水和物 4.0 g (3.95~4.04 g) を水 50 mL に溶かし、2 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で pH 7.0 に調整する。

### B 定 量

抽出 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、1 mol/L 塩酸 15 mL を加え 15 分間静置する。アセトンを 50 mL (乾牧草は 150 mL) 加え、30 分間振り混ぜて抽出する。100 mL の褐色全量フラスコ (乾牧草は 200 mL の褐色全量フラスコ) をブフナー漏斗の下



に置き、抽出液をろ紙（5種 B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 30 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に褐色全量フラスコの標線までアセトンを加える。定容した抽出液 20 mL（乾牧草は 4 mL）を 100 mL のなす形フラスコに正確に入れ 40 °C 以下の水浴で 2 mL 以下まで減圧濃縮し、カラム処理 I に供する試料溶液とする。

**カラム処理 I** 試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム（20 mL 保持用）<sup>注4</sup>に入れ、試料溶液の入っていたなす形フラスコを水 5 mL で洗浄し、洗液をカラムに加え、10 分間静置する。200 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、先のなす形フラスコをヘキサン 10 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下し、ジクロロボス及びナレドを溶出させる。ヘキサン 50 mL をカラムに加えて同様に溶出させ、溶出液を 40 °C 以下の水浴で 40 mL 以下まで減圧濃縮し、ジクロロボスへの変換に供する試料溶液とする。

**ジクロロボスへの変換** 試料溶液を 200 mL の分液漏斗 A に入れ、試料溶液の入っていたなす形フラスコをリン酸緩衝液 30 mL で洗浄し、洗液を分液漏斗 A に加える。システイン溶液 4 mL 及び塩化ナトリウム 5 g（4.5~5.4 g）を分液漏斗 A に加え、5 分間振り混ぜてナレドをジクロロボスに変換する。水層（下層）を 200 mL の分液漏斗 B に入れ、ヘキサン層（上層）を 200 mL の三角フラスコに入れる。分液漏斗 B にヘキサン 40 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層を捨て、ヘキサン層を先の三角フラスコに合わせる。三角フラスコに硫酸ナトリウム（無水）適量を加えヘキサン層を脱水した後、200 mL のなす形フラスコにろ紙（5種 B）でろ過する。先の三角フラスコを少量のヘキサンので洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。アセトン—ジエチレングリコール（49+1）0.5 mL を加え、40 °C 以下の水浴で 1 mL 以下まで減圧濃縮し、窒素ガスを送って乾固する<sup>注5</sup>。ヘキサン—ジエチルエーテル（17+3）5 mL を加え、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

**カラム処理 II** シリカゲルミニカラム（690 mg）<sup>注6</sup>をヘキサン—ジエチルエーテル（17+3）5 mL で洗浄する。試料溶液をカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出<sup>注7</sup>させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン—ジエチルエーテル（17+3）5 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、同様に流出させる。50 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、ヘキサン—アセトン（19+1）20 mL をカラムに加えてジクロロボスを溶出させる。

溶出液にアセトン—ジエチレングリコール（49+1）0.5 mL を加え、40 °C 以下の水浴で 1 mL 以下まで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する<sup>注5</sup>。

アセトン 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフ質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

**ガスクロマトグラフ質量分析計による測定** 試料溶液及び各ジクロロボス標準液各 1 µL をガスクロマトグラフ質量分析計に注入し、選択イオン検出クロマトグラムを得る。

## 測定条件 例

(ガスクロマトグラフ部)

カラム：溶融石英製キャピラリーカラム（5%フェニル-95%メチルポリシルフェニレンシロキサン化学結合同型、内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ ）<sup>注8</sup>

キャリアーガス：He（1.0 mL/min）

試料導入法：スプリットレス（60 s）

試料導入部温度：250 °C

カラム槽温度：60 °C（1 min 保持）→ 昇温 15 °C/min → 280 °C（5 min 保持）

(質量分析計部<sup>注9</sup>)

検出器：四重極型質量分析計

イオン化法：電子イオン化 (EI) 法

インターフェース温度：280 °C

イオン源温度：230 °C

イオン化電圧：70 eV

モニターイオン：定量イオン  $m/z$  185、確認イオン  $m/z$  109

計算 得られた選択イオン検出クロマトグラムからピーク面積又は高さを求めて検量線を作成し、試料中のジクロロボス（ナレドをジクロロボスに変換したものを含む。）の量を算出する。

注 1 本法では、試料中のナレドをジクロロボスに変換し、試料中のジクロロボスとの総和として定量する。

2 操作は遮光した状態で行う。

3 保存できないため、用時調製する。

4 Chem Elut（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの

5 ジクロロボスは揮散しやすいので、窒素ガスを穏やかに送って乾固させること。

6 Sep-Pak Plus Silica Cartridge（Waters 製）に適切な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの

7 流速は 2~3 mL/min とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。

8 TRACE TR-5MS（Thermo Scientific 製）又はこれと同等のもの

9 GCMS-QP2010（島津製作所製）による測定条件例

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

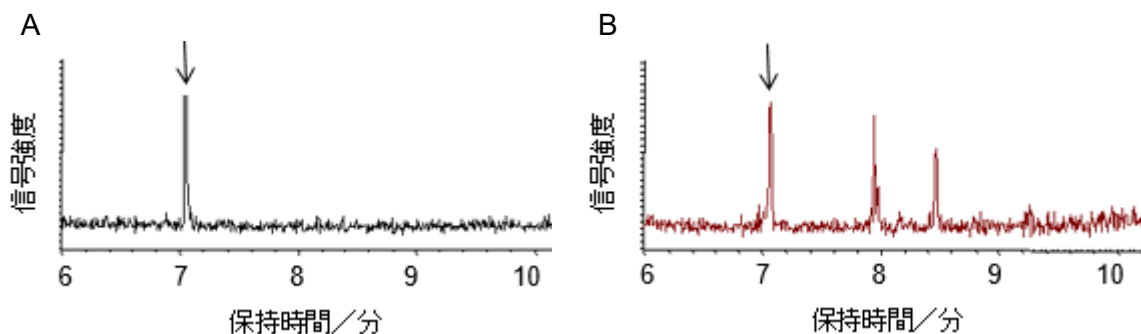
添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
ジクロルボス	成鶏飼育用配合飼料	0.04	3	85.4	11
		0.2	3	99.1	4.3
	肉用牛肥育用配合飼料	0.04	3	102	16
		0.2	3	94.1	2.5
	とうもろこし	0.04	3	93.4	11
		0.2	3	96.7	17
バミューダヘイ	1	3	73.2	2.3	
	10	3	84.1	1.1	
ナレド	成鶏飼育用配合飼料	0.04	3	83.6	12
		0.2	3	73.5	3.2
	肉用牛肥育用配合飼料	0.04	3	93.2	12
		0.2	3	86.7	3.2
	とうもろこし	0.04	3	87.9	14
		0.2	3	75.7	3.4
バミューダヘイ	1	3	77.2	6.7	
	10	3	76.3	2.8	

・共同試験

成分名	試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
ナレド	とうもろこし	9	1	0.2	92.7	4.3	12	0.54
	アルファルファ	9	1	10	83.1	4.1	12	0.96

- ・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 ジクロルボスとして 0.02 mg/kg
- ・検出下限 (単一試験室による確認) 試料中 ジクロルボスとして 0.007 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A : 標準液 (ジクロルボスとして 100 ng/mL)

B : 添加試料 (成鶏飼育用配合飼料にジクロルボスとして 0.2 mg/kg 相当量添加)

99.2 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法 (その 1)

第 2 節 4 による。

99.3 有機リン系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法 (その 2)

第 2 節 5 による。

## 100 ジクワット

### 100.1 液体クロマトグラフ法

#### A 試薬の調製

- 1) ジクワット標準原液 ジクワット [ $C_{12}H_{12}N_2Br_2$ ] 20 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の褐色全量フラスコに入れ、塩酸 (0.01 mol/L) を加えて溶かし、更に標線まで塩酸 (0.01 mol/L) を加えてジクワット標準原液を調製する (この溶液 1 mL は、ジクワットとして 0.2 mg を含有する。)
- 2) 陽イオン交換樹脂 (Na<sup>+</sup>型) 強酸性陽イオン交換樹脂<sup>注1</sup> 100 g (99.5~100.4 g) を量って、500 mL の三角フラスコに入れ、水 300 mL を加えてかき混ぜ、上澄み液を捨てる。上澄み液の pH が 6.8~7.2 になるまでこの操作を繰り返した後、水 300 mL を加えて一夜静置する。次にこの樹脂に水酸化ナトリウム溶液 (2 mol/L) 200 mL を加えてかき混ぜ、上澄み液を捨てる。上澄み液の pH が 12 以上になるまでこの操作を繰り返した後、水酸化ナトリウム溶液 (2 mol/L) 200 mL を加えて一夜静置する。次にこの樹脂に水 300 mL を加えてかき混ぜ、上澄み液を捨てる。上澄み液の pH が 6.8~7.2 になるまでこの操作を繰り返した後、水 300 mL を加えて水中に保存する。

#### B 定 量

抽出 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、500 mL のなす形フラスコに入れ、硫酸 (1+2) 90 mL、沸騰石 3~4 粒及びシリコン油 2~3 滴を加え、還流冷却器を接続し、5 時間穏やかに加熱して抽出する。

500 mL のビーカーをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をガラス繊維ろ紙<sup>注2</sup>で吸引ろ過し、先のなす形フラスコ及び残さを順次水 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更にこのろ液に水を加えて約 200 mL とし、その pH を水酸化ナトリウム溶液 (12 mol/L) で 8.9~9.1 に調整する。500 mL の三角フラスコをブフナー漏斗の下に置き、ろ液をガラス繊維ろ紙<sup>注2</sup>で吸引ろ過し、先のビーカー及びろ紙を順次少量の水で洗浄し、同様に吸引ろ過し、ろ液をカラム処理に供する試料溶液とする。

カラム処理 陽イオン交換樹脂 (Na<sup>+</sup>型) をカラム管 (内径 15 mm) に 6 cm の高さまで流し込み、水 20 mL を加えて液面が充てん剤の上端から 3 mm の高さになるまで流出させ、カラムを調製する。

試料溶液をカラムに入れ、試料溶液の入っていた三角フラスコを少量の水で洗浄し、洗液をカラムに加え、液面が充てん剤の上端から 3 mm の高さになるまで流出させる<sup>注3</sup>。水 100 mL をカラムに加え、同様に流出させ、カラムを洗浄する。以下同様に、塩酸 (2 mol/L) 50 mL、水 100 mL、塩化アンモニウム溶液 (5 w/v%) 50 mL 及び水 100 mL を順次カラムに加え、カラムを洗浄する。

100 mL の全量フラスコをカラムの下に置き、塩化アンモニウム溶液 (5 mol/L) 50 mL をカラムに加えてジクワットを溶出させる<sup>注3</sup>。更に全量フラスコの標線まで塩化アンモニウム溶液 (5 mol/L) を加え、蛍光化に供する試料溶液とする。

蛍光化 試料溶液 5 mL を 100 mL の分液漏斗に正確に入れ、水酸化ナトリウム溶液 (12 mol/L) 25 mL 及びフェリシアン化カリウム溶液 (1 w/v%) 1 mL を加えて

軽く振り混ぜる。クロロホルム 20 mL を先の分液漏斗に加え、5 分間激しく振り混ぜた後静置し、クロロホルム層（下層）を三角フラスコに入れる。残留液にクロロホルム 20 mL を加え、同様に操作し、クロロホルム層を先の三角フラスコに合わせる。クロロホルム層を適量の硫酸ナトリウム（無水）で脱水し、100 mL のなす形フラスコにろ紙（5 種 A）でろ過した後、先の三角フラスコ及びろ紙を順次少量のクロロホルムで洗浄し、先のろ紙を通してろ液を合わせる。ろ液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

水-アセトニトリル（9+1）2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター（孔径 0.5 μm 以下）でろ過し、液体クロマトグラフィーに供する試料溶液とする。

同時にジクワット標準原液 1 mL 及び塩化アンモニウム溶液（5 mol/L）5 mL を 100 mL の分液漏斗に正確に入れ、試料溶液と同一条件で蛍光化する。

水-アセトニトリル（9+1）2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター（孔径 0.5 μm 以下）でろ過し、更に水-アセトニトリル（9+1）で正確に希釈し、1 mL 中にジクワットとして 0.01~0.5 μg 相当量を含有する数点の標準液を調製する。

液体クロマトグラフィー 試料溶液及び各標準液各 20 μL を液体クロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。

#### 測定条件 例

検 出 器：蛍光検出器（励起波長：368 nm、蛍光波長：430 nm）

カ ラ ム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム（内径 4.6 mm、長さ 250 mm、粒径 5 μm）<sup>注4</sup>

溶 離 液：水-アセトニトリル（9+1）

流 速：1.0 mL/min

カラム槽温度：40 °C

計 算 得られたクロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のジクワット量を算出する。

注 1 AG 50W-X8 H<sup>+</sup>型（粒径 200~100 メッシュ）（Bio-Rad Laboratories 製）又はこれと同等のもの

2 GF/A（Whatman 製）又はこれと同等のもの

3 洗浄時の流速は 10 mL/min、溶出時の流速は 10 mL/h とする。

4 Symmetry C<sub>18</sub>（Waters 製）又はこれと同等のもの

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

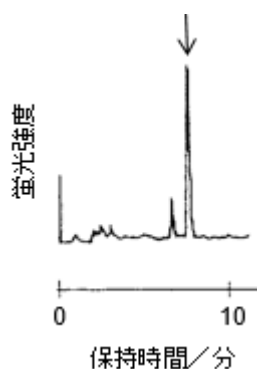
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
成鶏飼育用配合飼料	0.05	3	87.1	13.9
	0.1	3	98.4	7.9
	0.2	3	76.4	13.0
乳用牛飼育用配合飼料	0.05	3	104.3	4.3
	0.1	3	88.9	9.9
	0.2	3	79.8	7.0
スーダングラス	0.05	3	84.7	5.6
	0.1	3	91.6	10.8
	0.2	3	72.7	5.5

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
成鶏飼育用配合飼料	7	0	0.1	86.8	3.8	7.9	0.36

- ・定量下限 (単一試験室による確認) 配合飼料中 0.03 mg/kg、乾牧草中 0.05 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



添加試料 (スーダングラスにジクワットとして 0.1 mg/kg 相当量添加) のクロマトグラム

101 ジコホール

- 101.1 ジコホール及びトリフルラリンのガスクロマトグラフによる同時分析法  
第3節28による。

102 ジネブ (ジネブ及びマンゼブ)

- 102.1 液体クロマトグラフによる分析法<sup>注1</sup>

(適用範囲: 配合飼料)

A 試薬の調製

- システイン-EDTA液 L-システイン塩酸塩一水和物 50.0 g (49.95~50.04 g) 及びエチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物 50.0 g (49.95~50.04 g) に水を 800 mL 加え、水酸化ナトリウム溶液 (12 mol/L) 70 mL を加えて溶かし、更に水酸化ナトリウム溶液 (12 mol/L) で pH を 9.6 に調整する。
- ジネブ標準原液 ジネブ [(C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>ZnN<sub>2</sub>S<sub>4</sub>)<sub>n</sub>] 20 mg を 0.01 mg の桁まで量り、

その数値を記録し、100 mL の褐色全量フラスコに入れ、システイン-EDTA 液を加えて溶かし、更に標線までシステイン-EDTA 液を加えて標準原液を調製する（使用時に調製する。この液 1 mL は、ジネブとして 0.2 mg を含有する。）。

- 3) マンゼブ標準液 マンゼブ  $[(C_4H_6MnN_2S_4)_x(Zn)_y]$  20 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の褐色全量フラスコに入れ、システイン-EDTA 液を加えて溶かし、更に標線までシステイン-EDTA 液を加えて標準原液を調製する（使用時に調製する。この液 1 mL は、マンゼブとして 0.2 mg を含有する。）。
- 4) 硫酸水素テトラブチルアンモニウム溶液 硫酸水素テトラブチルアンモニウム 14.0 g (13.95~14.04 g) を水に溶かして 100 mL とする。
- 5) ヨウ化メチル試液 クロロホルム 750 mL、ヘキサン 250 mL 及びヨウ化メチル 3 mL を混合する。

## B 定 量

抽出 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、300 mL の分液漏斗に入れ、システイン-EDTA 液 80 mL 及びジクロロメタン 40 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。抽出液を 350 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、1,500×g で 5 分間遠心分離し、水層（上層）40 mL を 100 mL のビーカーに正確に入れ、メチル化に供する試料溶液とする。

メチル化 試料溶液に硫酸水素テトラブチルアンモニウム溶液 5 mL を加え、pH を塩酸（2 mol/L）で 7.5~7.8 に調整した後、100 mL の分液漏斗に入れる。試料溶液の入っていたビーカーを水で洗浄して洗液を分液漏斗に合わせる。この分液漏斗にヨウ化メチル試液 20 mL を加え、3 分間激しく振り混ぜ、ジネブ及びマンゼブをメチル化してエチレンビスメチルジチオカーバメートを生成させた後静置し、下層（ゲル状に分離した部分）を 100 mL の共栓遠心沈殿管に入れる。ヨウ化メチル試液 20 mL を先の分液漏斗に加え、穏やかに振り混ぜた後静置し、下層を先の共栓遠心沈殿管に加える。更に同様の操作を行い、下層を 1,500×g で 5 分間遠心分離する。水層（上層）を捨て、下層を適量の硫酸ナトリウム（無水）で脱水し、直ちに 200 mL のなす形フラスコにガラス繊維ろ紙<sup>註2</sup>でろ過する。先の遠心沈殿管及びろ紙を順次クロロホルムで数回洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。ろ液に L-システイン塩酸塩一水和物約 0.1 g を加え、40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

アセトニトリル 5 mL を正確に加えて残留物を溶かし、カラム処理に供する試料溶液とする。

同時にジネブ標準原液又はマンゼブ標準原液 1 mL を 100 mL のビーカーに正確に入れ、システイン-EDTA 液 40 mL を加えた後、試料溶液の場合と同様に操作する。アセトニトリル 20 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター（孔径 0.5 μm 以下）でろ過する。ろ液の一部をアセトニトリルで正確に希釈し、1 mL 中にジネブ又はマンゼブとして 0.1~2 μg 相当量を含有する数点の液体クロマトグラフィーに供する標準液を調製する。

カラム処理 中性アルミナミニカラム（1,710 mg）<sup>註3</sup>をアセトニトリル 10 mL で

洗浄する。

50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液 3 mL をミニカラムに正確に入れ、エチレンビスメチルジチオカーバメートを流出させ、更にアセトニトリル 20 mL をカラムに加えて同様に流出させる。流出液に L-システイン塩酸塩一水和物約 0.1 g を加え、40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

アセトニトリル 3 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター（孔径 0.5 μm 以下）でろ過し、液体クロマトグラフィーに供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフィー 試料溶液及び各混合標準液各 20 μL を液体クロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。

測定条件 例

検 出 器：紫外吸光光度検出器（測定波長：272 nm）

カ ラ ム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム（内径 4 mm、長さ 250 mm、粒径 5 μm）<sup>注 4</sup>

溶 離 液：水-アセトニトリル（3+2）

流 速：1.0 mL/min

計 算 得られたクロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のジネブ量又はマンゼブ量を算出する。

注 1 本法では、試料中のジネブ及びマンゼブはいずれもエチレンビスメチルジチオカーバメートに変換され、ジネブとしての含量又はマンゼブとしての含量として定量される。

また、本法では、試料中にマンネブ [(C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>MnN<sub>2</sub>S<sub>4</sub>)<sub>n</sub>] が含まれている場合には、マンネブがエチレンビスメチルジチオカーバメートに変換され、試料中のジネブ量又はマンゼブ量に含まれる可能性がある。

2 GA-100（東洋濾紙製）又はこれと同等のもの

3 Sep-Pak Plus Alumina N Plus Long Cartridge（Waters 製）又はこれと同等のもの

4 Wakosil-II 5C18 HG（富士フイルム和光純薬製）又はこれと同等のもの



(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

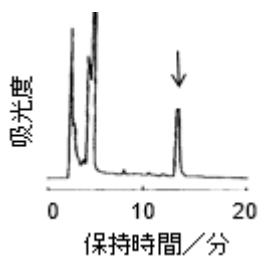
添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
ジネブ	鶏用配合飼料	0.1	3	78.6	5.8
		0.5	3	85.3	1.2
		2	3	94.0	0.3
	牛用配合飼料	0.1	3	75.9	6.0
		0.5	3	84.0	6.8
		2	3	87.2	5.3
	とうもろこし	0.1	3	81.4	6.2
		0.5	3	87.6	5.6
		2	3	86.2	1.2
マンゼブ	鶏用配合飼料	0.1	3	83.5	8.7
		0.5	3	84.2	0.6
		2	3	81.5	2.2
	牛用配合飼料	0.1	3	85.0	10
		0.5	3	77.5	2.1
		2	3	96.1	2.1
	とうもろこし	0.1	3	81.2	11
		0.5	3	84.7	1.5
		2	3	96.5	4.6

・共同試験

成分名	試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
ジネブ	種豚用配合飼料	6	0	1	82.6	7.1	11	0.70
マンゼブ	種豚用配合飼料	6	0	1	81.7	7.1	11	0.70

・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.05 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



添加試料 (鶏用配合飼料にジネブとして 0.5 mg/kg 相当量添加)  
のクロマトグラム

103 ジノテフラン

103.1 イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフラン及びチアメトキサムの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節17による。

104 シハロトリン

104.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

104.2 ピレスロイド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節2による。

105 シハロホップブチル

105.1 シハロホップブチル及びベンフレセートの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
(適用範囲：稲発酵粗飼料)  
第3節29による。

105.2 シハロホップブチル及びベンフレセートのガスクロマトグラフ質量分析計による同時分析法  
(適用範囲：稲わら及び粃米)  
第3節30による。

106 ジフェナミド

106.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

107 ジフェノコナゾール

107.1 農薬のガスクロマトグラフ質量分析計による一斉分析法  
第3節1による。

108 シフルトリン

108.1 ピレスロイド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節2による。

109 ジフルベンズロン

109.1 液体クロマトグラフ法

A 試薬の調製

1) ジフルベンズロン標準液 ジフルベンズロン [C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>ClF<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] 20 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の全量フラスコに入れ、アセトニトリルを加えて溶かし、更に標線までアセトニトリルを加えてジフルベンズロン標準原液を調製する（この液 1 mL は、ジフルベンズロンとして 0.2 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部を水-アセトニトリル (1+1) で正確に希釈し、1 mL 中にジフルベンズロンとして 0.02~2 µg を含有する数点のジフルベンズロン標準液を調製する。

2) ケイ酸マグネシウム 合成ケイ酸マグネシウム（粒径 149~250 µm（100~60 メッシュ））<sup>注1</sup>を 130 °C で 16 時間乾燥する。

## B 定 量

抽出 分析試料 5~10 g を有効数字 4 桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 15 mL を加えて潤し、30 分間静置後、更にアセトニトリル 80 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。500 mL のなす形フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトニトリル 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。ろ液を 40 °C 以下の水浴で約 15 mL まで減圧濃縮し、塩化ナトリウム 5 g（4.5~5.4 g）を加え、カラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I 試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム（20 mL 保持用）<sup>注2</sup>に入れ、5 分間静置する。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン-酢酸エチル（1+1）10 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加える。液面が充てん剤の上端に達するまで流下してジフルベンズロンを溶出させる。更にヘキサン-酢酸エチル（1+1）90 mL をカラムに加えて同様に溶出させ、溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

シクロヘキサン-アセトン（7+3）10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター（孔径 0.5 μm 以下）でろ過し、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

カラム処理 II 試料溶液 5.0 mL をゲル浸透クロマトグラフに注入し、ジフルベンズロンが溶出する画分を 100 mL のなす形フラスコに分取し、40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

ヘキサン-アセトン（9+1）5 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 III に供する試料溶液とする。

ゲル浸透クロマトグラフィー 例

カラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム（内径 20 mm、長さ 300 mm、粒径 15 μm）

ガードカラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラム（内径 20 mm、長さ 100 mm、粒径 15 μm）

溶離液：シクロヘキサン-アセトン（7+3）

流速：5 mL/min

分取画分：65~80 mL

カラム処理 III ケイ酸マグネシウム 10 g（9.5~10.5 g）及び硫酸ナトリウム（無水）2 g（1.8~2.2 g）をそれぞれヘキサンに懸濁させてカラム管（内径 15 mm）に順次流し込み、液面が充てん剤の上端から 3 mm の高さに達するまで流出させ、カラムを調製する。

試料溶液をカラムに入れ、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン-アセトン（9+1）5 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端から 3 mm の高さに達するまで流出させる。更にヘキサン-アセトン（9+1）30 mL をカラムに加え、同様に流出させる。200 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、ヘキサン-アセトン（4+1）80 mL をカラムに加えてジフル

ベンズロンを溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

水-アセトニトリル (1+1) 2.5 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター (孔径 0.5 μm 以下) でろ過し、液体クロマトグラフィーに供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフィー 試料溶液及び各ジフルベンズロン標準液各 20 μL を液体クロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。

#### 測定条件 例

検 出 器：紫外吸光光度検出器 (測定波長：254 nm)

カ ラ ム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 4.6 mm、長さ 150 mm、粒径 3 μm) <sup>注3</sup>

溶 離 液：水-アセトニトリル (11+9)

流 速：1.0 mL/min

カラム槽温度：40 °C

計 算 得られたクロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のジフルベンズロン量を算出する。

注 1 フロリジル (Floridin 製) 又はこれと同等のもの

2 Chem Elut (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

3 Capcell pak C18 UG120 S-3 (大阪ソーダ製) 又はこれと同等のもの

(参考) 分析法バリデーション

#### ・添加回収率及び繰返し精度

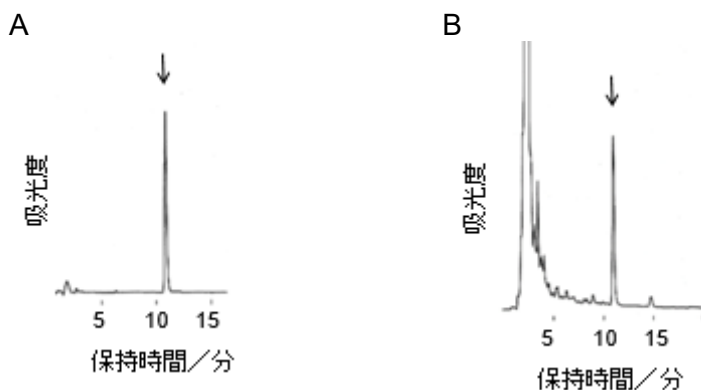
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
成鶏飼育用配合飼料	0.05	3	93.7	7.5
	0.25	3	90.7	3.4
	0.5	3	95.7	5.8
子豚育成用配合飼料	0.05	3	93.0	8.8
	0.25	3	89.3	5.0
	0.5	3	87.7	7.6
アルファルファヘイ	0.05	3	102	6.8
	0.25	3	94.3	7.8
	0.5	3	92.7	9.0

#### ・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
肉豚肥育用配合飼料	7	0	0.5	91.6	2.4	6.5	0.36

・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.02 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A : 標準液 (ジフルベンズロンとして 20 ng 注入)

B : 添加試料 (成鶏飼育用配合飼料にジフルベンズロンとして 0.5 mg/k 相当量添加)

## 110 シヘキサチン

### 110.1 酸化フェンブタズ及びシヘキサチンのガスクロマトグラフによる同時分析法

第 3 節 26 による。

## 111 シペルメトリン

### 111.1 ピレスロイド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法

第 2 節 2 による。

### 111.2 ガスクロマトグラフ法

#### A 試薬の調製

- 1) シペルメトリン標準液 シペルメトリン [ $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$ ] 25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、アセトン 10 mL を加えて溶かし、更に標線まで 2,2,4-トリメチルペンタンを加えてシペルメトリン標準原液を調製する (この液 1 mL は、シペルメトリンとして 0.5 mg を含有する。)

使用に際して、標準原液の一部を 2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン (4+1) で正確に希釈し、1 mL 中にシペルメトリンとして 0.02~1  $\mu$ g を含有する数点のシペルメトリン標準液を調製する。

- 2) ケイ酸マグネシウム 合成ケイ酸マグネシウム (粒径 149~250  $\mu$ m (100~60 メッシュ)) <sup>注1</sup> を 130 °C で 16 時間乾燥する。

#### B 定 量

抽 出 分析試料 10~20 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 30 mL を加えて潤し、30 分間静置後、更にアセトニトリル 70 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量フラスコ

をブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5種 B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトニトリル-水（7+3）50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線までアセトニトリル-水（7+3）を加え、精製に供する試料溶液とする。

**精製** 試料溶液 100 mL をあらかじめ塩化ナトリウム溶液（5 w/v%）250 mL 及びヘキサン 50 mL を入れた 500 mL の分液漏斗 A に加える。分液漏斗 A を 5 分間激しく振り混ぜた後静置し、水層（下層）を 500 mL の分液漏斗 B に入れ、ヘキサン層（上層）を 200 mL の三角フラスコに入れる。ヘキサン 50 mL を分液漏斗 B に加え、穏やかに振り混ぜた後静置し、ヘキサン層を先の三角フラスコに合わせる。ヘキサン層を適量の硫酸ナトリウム（無水）で脱水し、300 mL のなす形フラスコに分液ろ紙でろ過する。先の三角フラスコ及びろ紙を順次少量のヘキサンで洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。ろ液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

残留物をヘキサン 30 mL で 200 mL の分液漏斗に移し、更にアセトニトリル-水（100+1）30 mL を加える。分液漏斗を 5 分間激しく振り混ぜた後静置し、アセトニトリル層（下層）を 200 mL のなす形フラスコに入れる。アセトニトリル-水（100+1）30 mL を先の分液漏斗に加え、穏やかに振り混ぜた後静置し、アセトニトリル層を先のなす形フラスコに合わせる。アセトニトリル層を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

ヘキサン 5 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理に供する試料溶液とする。  
**カラム処理** ケイ酸マグネシウム 10 g（9.5~10.5 g）及び硫酸ナトリウム（無水）2 g（1.8~2.2 g）をそれぞれヘキサンに懸濁させてカラム管（内径 15 mm）に順次流し込み、液面が充てん剤の上端から 3 mm の高さに達するまで流出させ、カラムを調製する。

試料溶液をカラムに入れ、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 5 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端から 3 mm の高さに達するまで流出させる。ヘキサノージェチルエーテル（19+1）100 mL をカラムに加え、同様に流出させる。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、ヘキサノージェチルエーテル（4+1）150 mL をカラムに加えてシペルメトリンを溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン（4+1）5 mL を正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフィーに供する試料溶液とする。

**ガスクロマトグラフィー** 試料溶液及び各シペルメトリン標準液各 1 µL をガスクロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。

**測定条件 例**

検出器	電子捕獲検出器
カラム	ム：溶融石英製キャピラリーカラム（50%トリフルオロプロピルメチル-50%ジメチルポリシロキサンコーティング、内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 µm） <sup>注2</sup>

キャリアーガス：He (1.5 mL/min)

メイクアップガス：N<sub>2</sub> (60 mL/min)

試料導入法：スプリットレス (60 s)

試料導入部温度：250 °C

カラム槽温度：80 °C (2 min 保持) → 昇温 20 °C/min → 250 °C (18 min 保持)

検出器温度：300 °C

計 算 得られたクロマトグラムからシペルメトリンの3本のピーク高さ又は面積の和を求めて検量線を作成し、試料中のシペルメトリン量を算出する。

注 1 フロリジル (Floridin 製) 又はこれと同等のもの

2 Rtx-200 (Restek 製) 又はこれと同等のもの

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

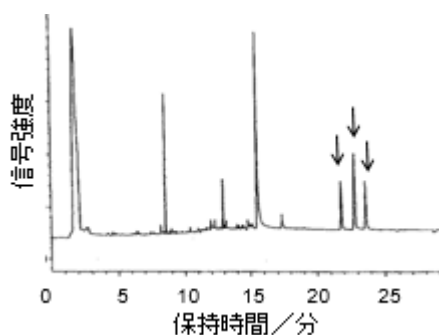
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
成鶏飼育用配合飼料	0.1	3	91.7	5.4
	0.5	3	83.3	1.8
	1	3	87.3	12
乳用牛飼育用配合飼料	0.1	3	95.0	9.2
	0.5	3	84.0	3.1
	1	3	96.3	3.0
アルファルファ	0.1	3	90.0	8.0
	0.5	3	90.0	7.3
	1	3	93.0	4.9

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
乳用牛飼育用配合飼料	7	0	0.5	96.8	7.4	7.7	0.43

・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.05 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液 (シペルメトリンとして 1 ng 注入) のクロマトグラム

## 112 シマジン

### 112.1 アトラジン及びシマジンのガスクロマトグラフによる同時分析法

第3節13による。