

第6章 農薬

第1節 各条

1 BHC (α -BHC、 β -BHC、 γ -BHC 及び δ -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1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2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による単成分分析法 (その1) ^{注1}
(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 を正確に量って 50 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加えて 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、標準原液の一定量をメタノール-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 μ 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 10.0 g を量って 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 分間加温した後放冷する。pH を塩酸 (1.5 mol/L) で 7.5~8.0 に調整^{注2}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^{注3} オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1 g)^{注4} 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、更に同溶媒 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)^{注5} 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、更に同溶媒 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 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) ^{注6}

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) → 10 min → (0+100) (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^{注7})

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

デソルベーション温度 : 400 °C

キャピラリー電圧 : 0.6 kV

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 モニターイオン条件

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 (<i>m/z</i>)	確認 イオン (<i>m/z</i>)	コーン 電圧 (V)	コリジョン エネルギー (eV)
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、本測定条件による 2,4-D の保持時間は約 6.5 分) 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 _r (%)
2,4-D	小麦	0.5	3	86.0	5.0
		0.05	3	90.2	1.7
	ライ麦	0.5	3	93.6	1.9
		0.05	3	84.8	4.7
	とうもろこし	0.05	3	78.7	2.9
		0.01	3	91.3	5.7
2,4-Dエチル	小麦	0.5	3	91.3	1.8
		0.05	3	94.7	1.9
	ライ麦	0.5	3	92.1	6.8
		0.05	3	96.2	1.7
	とうもろこし	0.05	3	84.0	2.4
		0.01	3	103	2.7

・共同試験

成分名	試料の種類	有効試 験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
2,4-D	小麦	9	0.5	84.5	7.1	12	0.63
2,4-Dエチル	小麦	8	0.5	95.5	6.5	8.7	0.48

- ・定量下限 試料中 0.01 mg/kg
- ・検出下限 試料中 0.003 mg/kg

2.2 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による単成分分析法 (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 [C₈H₆Cl₂O₃] 25 mg を正確に量って 50 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加えて 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、標準原液の一定量をメタノール-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 10.0 g を量って 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 分間加温した後放冷する。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 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) ^{注 2}

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^{注 3})

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

デソルベーション温度 : 400 °C

キャピラリー電圧 : 0.6 kV

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 モニターイオン条件

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 (<i>m/z</i>)	確認 イオン (<i>m/z</i>)	コーン 電圧 (V)	コリジョン エネルギー (eV)
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、本測定条件による 2,4-D の保持時間は約 6.5 分) 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 _r (%)
2,4-D	チモシー乾草	260	3	105	4.2
		10	3	98.2	0.4
	ライグラス乾草	260	3	93.1	1.9
		10	3	91.7	4.0
		5	3	98.6	4.8
2,4-Dエチル	チモシー乾草	260	3	94.9	2.6
		10	3	96.2	5.0
	ライグラス乾草	260	3	90.0	5.7
		10	3	94.7	5.0

・ 共同試験

成分名	試料の種類	有効試 験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
2,4-D	チモシー乾草	9	260	94.2	3.4	11	1.5
	オーツ乾草	9	52	93.5	2.7	15	1.7
2,4-Dエチル	チモシー乾草	9	260	84.8	6.9	11	1.5
	オーツ乾草	9	52	82.4	3.2	8.0	0.86

・ 定量下限 試料中 5 mg/kg

・ 検出下限 試料中 2 mg/kg

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 7 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1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2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1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2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1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2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2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3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8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 7 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
第 3 節 3 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 5 による。

10 アジンホスメチル

- 10.1 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 9 による。

11 アセトクロール

- 11.1 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。

12 アセフェート

- 12.1 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 28 による。

- 12.2 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 2 による。

13 アトラジン

- 13.1 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。

- 13.2 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 10 による。

14 アニロホス

- 14.1 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 アメトリン

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11による。

16 アラクロール

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。

16.2 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1による。

16.3 アラクロール、アレスリン、クロルプロフェム、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5による。

17 アリドクロール

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。

18 アルジカルブ（アルジカルブスルホキシドを含む。）

18.1 アルジカルブ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21による。

18.2 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
第3節3による。

19 アルドリン（アルドリン及びディルドリン）

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。

19.2 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1による。

19.3 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2による。

20 アレスリン

20.1 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。

20.2 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4による。

20.3 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5による。

21 イサゾホス

21.1 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 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）

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2による。

23 イソフェンホスオキソン

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 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2による。

24 イソプロカルブ

24.1 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3による。

24.2 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5による。

24.3 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20による。

25 イソプロチオラン

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。

26 イプロジオン（イプロジオン代謝物を含む。）

26.1 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〔C₁₃H₁₃Cl₂N₃O₃〕50 mgを正確に量って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〔C₁₃H₁₃Cl₂N₃O₃〕50 mgを正確に量って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定量を混合し、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 µg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10.0 gを量って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）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 µm以下）でろ過し、ゲル浸透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　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（4+1）

流速：5 mL/min

分取画分：90~115 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）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。更にヘキサンのジエチルエーテル（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 $^{\circ}\text{C}$ 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 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：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 μm ）

キャリアーガス：He（1 mL/min）

メイクアップガス：He（5 mL/min）

水素：3 mL/min

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 $^{\circ}\text{C}$

カラム槽温度：初期温度 100 $^{\circ}\text{C}$ （1 min 保持）→昇温 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ →280 $^{\circ}\text{C}$ （2 min 保持）

検出器温度：280 $^{\circ}\text{C}$

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。

(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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
イプロジオン	鶏用配合飼料	100~500	3	92.3~96.8	7.5
	豚用配合飼料	100~500	3	93.6~96.5	5.3
	フェスク	100~500	3	85.6~94.2	7.6
	チモシー	100~500	3	83.2~86.8	5.8
イプロジオン代謝物	鶏用配合飼料	100~500	3	100.5~106.2	16.2
	豚用配合飼料	100~500	3	99.1~116.2	3.9
	フェスク	100~500	3	92.7~101.1	18.2
	チモシー	100~500	3	94.6~98.3	10.4

・共同試験

成分名	試料の種類	試験室 数	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
イプロジオン	成鶏飼育用配合飼料	6	500	92.6	5.4	9.7	1.53
	大豆油かす	6	500	93.8	6.1	12.2	1.92
イプロジオン代謝物	成鶏飼育用配合飼料	6	500	101.6	8.6	8.6	1.37
	大豆油かす	6	500	97.8	4.2	5.0	0.79

- ・定量下限 試料中 イプロジオン及びイプロジオン代謝物 各 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$

27 イプロベンホス

27.1 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。

27.2 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2による。

28 イミダクロプリド

28.1 液体クロマトグラフ質量分析計による単成分分析法

(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 を正確に量って 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、標準原液の一定量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 μg 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 及びリン酸二水素カリウム 30.2 g を量って水 500 mL に溶かし、水酸化ナトリウム溶液 (1 mol/L) 又は塩酸 (1 mol/L) 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 10.0 g を量って 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^{注1}。

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 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)^{注2} 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自然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ミニカラム (500 mg/500 mg)^{注3} 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^{注4}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^{注4}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^{注4}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

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 μ m) ^{注5}

溶 離 液 : 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液^{注6}—5 mmol/L 酢酸アンモニウムメタノール溶液^{注7} (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

検 出 器 : 四重極型質量分析計^{注8}

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 : N₂ (2.5 L/min)

乾 燥 ガ ス : N₂ (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 (注射筒容量 : 6 mL、Supelco 製) 又はこれと同等のもの

3 ENVI-Carb/LC-NH₂ (Supelco 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 酢酸アンモニウム 7.7 g を水に溶かして 1 L とし、更にその液 50 mL を水で希釈して 1 L とする。

7 酢酸アンモニウム 7.7 g をメタノールに溶かして 1 L とし、更にその液 50 mL をメタノールで希釈して 1 L とする。

8 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 (μ g/kg)	繰返 し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
小麦	5~200	5	71.1~87.9	3.3
とうもろこし	5~100	3	83.4~92.6	3.1
ライグラス	200~6,000	3	89.9~92.2	1.6

・共同試験

試料の種類	試験室数	添加濃度 (μg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
とうもろこし	8	100	83.0	3.0	14.6	0.66
アルファルファ	8	5,000	84.3	3.5	12.1	0.96

- ・定量下限 試料中 5 μg/kg (乾牧草 200 μg/kg)
- ・検出下限 試料中 2 μg/kg (乾牧草 60 μg/kg)

28.2 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18による。

29 インドキサカルブ

29.1 インドキサカルブの液体クロマトグラフ質量分析計による単成分分析法

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 [C₂₂H₁₇ClF₃N₃O₇] 25 mg を正確に量って 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、更に標線まで同溶媒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、標準原液の一定量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 μg 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 10.0 g を量って 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（乾牧草にあつては、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 °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）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ーヘキサン（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、酢酸エチルーヘキサン（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。

ヘキサノージエチルエーテル（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) をヘキサノージエチルエーテル (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ノージエチルエーテル (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、ヘキサノージエチルエーテル (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、あらかじめヘキサノージエチルエーテル (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) を連結する。ヘキサノージエチルエーテル (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^{注1}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、ヘキサノーアセトン (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

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2}
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
検	出	器：四重極型質量分析計 ^{注3}
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 ₂ (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^{注4}を算出する。

注 1 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。

2 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies 製、本測定条件によるインドキサカルブの保持時間は約 6 分) 又はこれと同等のもの

3 LCMS-2010EV（島津製作所）による条件例

4 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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD(%以下)
成鶏飼育用配合飼料	5~500	3	81.5~89.1	9.3
肉用牛肥育用配合飼料	5~500	3	83.5~91.7	4.3
とうもろこし	5~500	3	77.2~85.0	6.3
アルファルファヘイ	0.5~50 mg/kg	3	77.7~91.8	17

・共同試験

試料の種類	試験室 数	添加濃度	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _f (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
肉用牛肥育用配合飼料	6	50 $\mu\text{g}/\text{kg}$	93.8	5.1	8.1	0.37
アルファルファ乾草	6	5 mg/kg	87.6	4.9	14	1.1

・定量下限 試料中 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (乾牧草 0.5 mg/kg)

・検出下限 試料中 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (乾牧草 0.2 mg/kg)

30 エタルフルラリン

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。

31 エチオフエンカルブ（エチオフエンカルブスルホキシド及びエチオフエンカルブスルホンを含む。）

31.1 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
第3節4による。

32 エチオン

32.1 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。

32.2 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2による。

33 エディフェンホス

33.1 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。

33.2 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2による。

- 34 エトフェンプロックス
 - 34.1 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。

- 35 エトフメセート
 - 35.1 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。

- 36 エトプロホス
 - 36.1 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。

 - 36.2 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2による。

- 37 エトリジアゾール
 - 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 エトリムホス
 - 38.1 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。

 - 38.2 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2による。

- 39 エンドスルファン（ α -エンドスルファン及び β -エンドスルファン）
 - 39.1 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1による。

- 40 エンドスルファンスルフェート
 - 40.1 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1による。

- 41 エンドリン
 - 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1による。

41.3 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2による。

42 オキサジアゾン

42.1 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。

43 オキシクロルデン

43.1 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。

43.2 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1による。

44 カズサホス

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 カルタップ（カルタップ、チオシクラム及びベンスルタップ）

45.1 カルタップ、チオシクラム及びベンスルタップの液体クロマトグラフ質量分析計による分析法^{注1}

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 を量って 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 0.40 mg を含有する。）。
使用に際して、標準原液の一定量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 μ g 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 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 g を水に溶かして 100 mL とする。

B 定 量

抽 出 分析試料 10.0 g を量って 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、チオシクラム及びベンス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) 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シ 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自然流下させてネライストキシシンを溶出させ、更にヘキサシ 120 mL をカラムに加えて同様に溶出させた後、溶出液にアセトニージエチレングリコール (49+1) 0.5 mL 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^{注 2}。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

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 3}
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
検	出	器 : 四重極型質量分析計 ^{注 4}
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 ₂ (2.5 L/min)
乾	燥	ガ ス : N ₂ (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 [C₇H₁₅N₃O₂S₂·HCl]、チオシクラム [C₅H₁₁NS₃·C₂H₂O₄] 及びベンスルタップ [C₁₇H₂₁NO₂S₂] 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 窒素ガスを送るとネライストキシンが損失するため、穏やかに溶媒を揮散させること。
- 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

(参考) 分析法バリデーション

- ・ 添加回収率^注及び繰返し精度

添加成分	試料の種類	繰返し	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
カルタップ	とうもろこし	3	20~200	84.6~90.4	4.3
	ライグラス	3	40~600	67.7~86.5	5.1
チオシクラム	とうもろこし	3	20~200	80.1~88.2	5.8
	ライグラス	3	40~600	85.1~92.4	9.4
ベンスルタップ	とうもろこし	3	60~300	61.2~64.8	6.5
	ライグラス	3	120~900	57.5~57.5	3.1

- ・ 共同試験

成分名	試料の種類	試験室数	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
カルタップ	とうもろこし	7	200	74.3	8.1	25.8	1.27
	チモシー	7	700	72.3	3.7	21.0	1.25

- ・ 定量下限

カルタップ及びチオシクラム 試料中 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (乾牧草 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

ベンスルタップ 試料中 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (乾牧草 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

- ・ 検出下限

カルタップ及びチオシクラム 試料中 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (乾牧草 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

ベンスルタップ 試料中 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (乾牧草 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

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。

46 カルバリル

46.1 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32による。

46.2 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19による。

46.3 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 3 による。

46.4 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 5 による。

47 カルフェントラゾンエチル

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 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）

48.1 カルベンダジム、チオファネートメチル及びベノミルの液体クロマトグラフ質量分析計による分析法^{註1,2}

A 試薬の調製

1) カルベンダジム標準液 カルベンダジム [C₉H₉N₃O₂] 10 mg を正確に量って 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、標準原液の一定量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 [C₁₂H₁₄N₄O₄S₂] 10 mg を正確に量って 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、標準原液の一定量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 10.0 g を量って 200 mL の共栓三角フラスコに入れ、L-アスコルビン酸 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^{註3}。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^{註4}。

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 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^{注5,6}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^{注7}、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^{注8}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 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 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^{注6,9}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）^{注10}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^{注11}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アネートメチル標準液 (試料中にチオフアネートメチルの残留が疑われる場合のみチオフア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、更にこの液の一定量を同溶媒で正確に希釈し、1 mL 中にカルベンダジム又はチオフア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

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 ¹²
溶	離	液 : 2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液注 ¹³ -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
検	出	器 : 四重極型質量分析計注 ¹⁴
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 ₂ (340 kPa)
		乾 燥 ガ ス : N ₂ (10 L/min、350 °C)
		キャピラリー電圧 : 4,000 V
		モニターイオン : <i>m/z</i> 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 (チオフア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。) 量を算出注¹⁵する。

注 1 本法では、試料中のチオフアネートメチル [C₁₂H₁₄N₄O₄S₂] 及びベノミル [C₁₄H₁₈N₄O₃] 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ア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アネート [C₁₄H₁₈N₄O₄S₂] 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、同溶液 (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、同溶液 (1 mol/L) を用いて微調整する。
- 10 Bond Elut Jr. PSA (Varian 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、本測定条件によるカルベンダジムの保持時間は約 13 分) 又はこれと同等のもの
- 13 酢酸アンモニウム 7.7 g を水に溶かして 1 L とし、更にその液 20 mL を水で希釈して 1 L とする。
- 14 Agilent 1100 Series MSD SL (Agilent Technologies 製) による条件例
- 15 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 (%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	試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
チオファネートメチル	とうもろこし	6	1.3	87.8	3.2	15.0	0.95
	チモシー	6	20	83.1	4.6	18.5	1.77
チオファネート	とうもろこし	6	1.3	53.5	4.6	14.3	0.85
	チモシー	6	20	41.6	4.3	26.1	2.25

・定量下限

カルベンダジム 試料中 50 µg/kg
 チオファネートメチル 試料中 40 µg/kg
 ベノミル 試料中 60 µg/kg

・検出下限

カルベンダジム 試料中 20 µg/kg
 チオファネートメチル 試料中 10 µg/kg
 ベノミル 試料中 20 µg/kg

49 カルボフェノチオン

49.1 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2による。

50 カルボフラン（カルボフラン及び3-OHカルボフラン）

50.1 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32による。

50.2 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19による。

50.3 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3による。

51 3-OHカルボフラン

51.1 3-OHカルボフランの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による単成分分析法

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 [C₁₂H₁₅NO₄] 10 mg を正確に量って 100 mL の全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加えて 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。この液の一定量を、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 g を正確に量って 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^{注1}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)^{注2}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。更に同溶媒 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^{注3} シリカゲルミニカラム (690 mg) 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。更に同溶媒 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)^{注4}

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^{注5})

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：N₂ (1,000 L/h、500 °C)

キャピラリー電圧：3.1 kV

コーン電圧：下表のとおり

コーンガス：N₂ (50 L/h)

コリジョンエネルギー：下表のとおり

コリジョンガス：Ar (0.4 Pa)

モニターイオン：下表のとおり

表 モニターイオン条件

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て検量線を作成し、試料中の 3-OH カルボフラン量を算出する^{注6}。

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 Mightysil RP-18 GP (関東化学製、本測定条件による 3-OH カルボフランの保持時間は約 6 分) 又はこれと同等のもの

5 Xevo TQD (Waters 製) による条件例

6 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 _r (%)
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
アルファルファ乾草	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 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	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
アルファルファ乾草	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 試料（稲発酵粗飼料は風乾物）中 0.01 mg/kg
- ・検出下限 試料（稲発酵粗飼料は風乾物）中 0.002 mg/kg

52 キシリルカルブ

52.1 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
第3節3による。

52.2 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5による。

53 キナルホス

53.1 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2による。

54 キノメチオネート

54.1 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 [C₁₀H₆N₂OS₂] 20 mg を正確に量つ

て 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、更に標線まで同溶媒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、標準原液の一定量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 10.0 g を量って 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 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 試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム (20 mL 保持用) 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、ゲル浸透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 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 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：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 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：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 μm）

キャリアーガス：He（1.5 mL/min）

メイクアップガス：He（30 mL/min）

水 素：3 mL/min

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：初期温度 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。

（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 (μg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
成鶏飼育用配合飼料	50~250	3	91.1~98.5	1.0
肉用牛肥育用配合飼料	50~250	3	91.9~97.9	5.6
オーツヘイ	50~250	3	83.1~91.1	3.8
アルファルファヘイキューブ	50~250	3	82.1~95.9	5.5

- ・共同試験

試料の種類	試験室 数	添加濃度 (μg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _t (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
成鶏飼育用配合飼料	5	100	98.4	3.4	7.2	0.83

- ・定量下限 試料中 10 μg/kg

55 キャプタン

55.1 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 [C₉H₈Cl₃NO₂S] 25 mg を正確に量って 50 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒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、標準原液の一定量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 10.0 g を量って 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。更に同溶媒 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、ゲル浸透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 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 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 (4+1)

流速：5 mL/min

分取画分：100~120 mL

カラム処理 II グラファイトカーボンミニカラム (500 mg)^{注2}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

注3。

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^{注4}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（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）

キャリアーガス：He（1.5 mL/min）

メイクアップガス：N₂（60 mL/min）

試料導入法^{注5}：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：初期温度 60 °C（1 min 保持） → 昇温 30 °C/min → 190 °C → 昇温 10 °C/min → 280 °C（10 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、試料中のキャプタン量を算出する。

注 1 Chem Elut、20 mL（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの

2 Envi-Carb（Supelco 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 試料導入部にはグラスウールを詰めていないインサートを使用する。

5 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 _r (%)
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
アルファルファ乾草	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	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
成鶏飼育用配合飼料	8	0.5	98.8	6.2	21	1.2
小麦	8	0.5	93.4	6.4	21	1.2
とうもろこし	8	10	88.5	7.7	17	1.5

- ・定量下限 試料中 0.1 mg/kg
- ・検出下限 試料中 0.03 mg/kg

56 キントゼン

56.1 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。

57 グリホサート

57.1 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27による。

57.2 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による単成分分析法^{注1}
(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 [C₃H₈NO₅P] 25 mg を正確に量って 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、標準原液の一定量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 10.0 g を量って 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、上澄み液の一定量を水で正確に 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 ^{注2} 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) ^{注3} の下にスルホン酸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) ^{注4} 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^{注5} 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^{注6}、この容器を密栓して 100 °C で 2 時間加熱^{注7}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^{注6}、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

カラム処理 II ^{注2} アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (360 mg) の下にシリカゲルミニカラム (690 mg) 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外し、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^{注6}、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^{注6}、なす形フラスコを密栓して 100 °C で 2 時間加熱^{注7}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^{注6}、更に同溶媒で正確に希釈し、1 mL 中にグリホサートとしてそれぞれ 0.3~300 ng 相当量を含有する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) ^{注8}

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^{注9})

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

デソルベーション温度：400 °C
 キャピラリー電圧：3 kV
 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 モニターイオン条件

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 (<i>m/z</i>)	確認 イオン (<i>m/z</i>)	コーン 電圧 (V)	コリジョン 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。

- 2 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。
- 3 Oasis HLB (Waters 製、リザーバー容量 6 mL) 又はこれと同等のもの
- 4 Oasis Plus MCX (Waters 製) 又はこれと同等のもの
- 5 50mL 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。
- 6 必要に応じて超音波処理し、十分に拡散させる。
- 7 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。
- 8 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies 製、本測定条件によるグリホサート誘導体の保持時間は約 7.5 分) 又はこれと同等のもの
- 9 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 _r (%)
アルファルファ乾草	120	3	78.2	8.3
	20	3	81.4	9.4

・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 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
アルファルファ乾草	8	2	120	77.9	10	12	1.5

- ・定量下限 試料中 20 mg/kg
- ・検出下限 試料中 6 mg/kg

57.3 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6による。

58 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。）

58.1 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27による。

58.2 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23による。

58.3 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6による。

59 クレソキシムメチル

59.1 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。

60 クロフェンテジン

60.1 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 [C₁₄H₈Cl₂N₄] 20 mg を正確に量って 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、更に標線まで同溶媒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、標準原液の一定量をアセトニトリルで正確に希釈し、1 mL 中にクロル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 g を正確に量って 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、ゲル浸透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 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 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910 mg）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）^{注1}

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 Wakosil II5C18 HG (和光純薬工業製) 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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
成鶏飼育用配合飼料	100~1,000	3	87.7~91.7	7.7
肉用牛肥育用配合飼料	100~1,000	3	91.3~96.0	4.2
アルファルフアヘイ	100~1,000	3	94.0~95.3	7.7

・ 共同試験

試料の種類	試験室 数	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
成鶏飼育用配合飼料	6	500	90.9	3.8	5.7	0.32

・ 定量下限 配合飼料：試料中 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、乾牧草：試料中 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$

61 クロルタールジメチル

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 クロルデン (*cis*-クロルデン及び *trans*-クロルデン)

62.1 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。

62.2 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1による。

63 クロルピクリン

63.1 ガスクロマトグラフ法

A 試薬の調製

クロルピクリン標準液 クロルピクリン [CCl_3NO_2] 標準液^{注1}を標準原液として用いる (この液 1 mL は、クロルピクリンを 1 mg 含有する。)

使用に際して、標準原液の一定量をヘキサンで正確に希釈し、1 mL 中にクロルピクリンとして 0.025~1 μg を含有する数点のクロルピクリン標準液を調製する。

B 定 量

抽 出 分析試料 10.0~20.0 g を量って 1 L のディーン・スターク蒸留装置用

フラスコに入る。このフラスコに水^{注2} 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 時間蒸留してクロル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^{注2} 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ルピクリン標準液各 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）

キャリアーガス：He (2.0 mL/min)

メイクアップガス：N₂ (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：初期温度 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、試料中のクロルピクリンを算出する。

注 1 水質試験用試薬（ヘキサン溶液）（和光純薬工業製）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。

(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 (µg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
成鶏飼育用配合飼料	125~500	3	94.3~100.3	8.0
肉豚肥育用配合飼料	125~500	3	100.0~102.7	10.1
肉用牛肥育用配合飼料	125~500	3	96.7~102.3	7.6
アルファルファ	125~500	3	98.0~106.0	13.3

・共同試験

試料の種類	試験室 数	添加濃度 (µg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
成鶏飼育用配合飼料	7	250	96.1	2.9	5.6	0.28

・定量下限 配合飼料：試料中 25 µg/kg、乾牧草：試料中 50 µg/kg

64 クロルピリホス

64.1 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。

64.2 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2による。

65 クロルピリホスメチル

65.1 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。

65.2 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2による。

65.3 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9による。

66 クロルフェナピル

66.1 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。

67 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））

67.1 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。

67.2 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2による。

68 クロルフルアズロン

68.1 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〔C₂₀H₉Cl₃F₅N₃O₃〕 20 mg
を正確に量って 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、更に標線まで同溶媒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定量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））を 130 $^{\circ}\text{C}$ で 16 時間乾燥する。

B 定 量

抽出 分析試料 5 g を正確に量って 200 mL の共栓三角フラスコに入れ、ジブチルヒドロキシトルエン 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 $^{\circ}\text{C}$ 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）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ロ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 $^{\circ}\text{C}$ 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、ケイ酸マグネシウム 5 g 及び硫酸ナトリウム（無水）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ロフルアズロンを溶出させる。溶出液を 40 $^{\circ}\text{C}$ 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。

ヘキサングエチルエーテル（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）をヘキサングエチルエーテル（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ングエチルエーテル（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、ヘキサングエチルエーテル（7+3）10 mL をミニカラムに加えてクロロフルアズロン

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）^{注1}

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 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 (μg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
豚用配合飼料	200~2,000	3	88.3~95.7	18.8
アルファルファ	200~2,000	3	78.7~86.0	11.3
綿実	200~2,000	3	82.7~91.3	10.0

- ・共同試験

試料の種類	試験室 数	添加濃度 (μg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
豚用配合飼料	7	1,000	87.7	2.3	4.8	0.28

69 クロルプロファミン

69.1 クロルプロファミンの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による単成分分析法

（適用範囲：飼料）

A 試薬の調製

- 1) クロルプロファミン標準液 クロルプロファミン [C₁₀H₁₂ClNO₂] 20 mg を正確に量って 100 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加えてクロルプロファミン標準原液を調製する（この液 1 mL は、クロルプロファミンとして 0.2 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一定量をメタノールで正確に希釈し、1 mL 中にクロルプロファミンとして 1~100 ng を含有する数点のクロルプロファミン標準液を調製する。

- 2) 0.5 mol/L リン酸緩衝液 リン酸水素二カリウム 52.7 g 及びリン酸二水素カリウム 30.2 g を量って水 500 mL に溶かし、水酸化ナトリウム溶液 (6 mol/L) 又は塩酸 (6 mol/L) 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 10.0 g を量って 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。さらに、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 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) ^{註1} 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、ヘキサン-アセトン (4+1) 15 mL をミニカラムに加え、クロルプロファミを溶出させる。

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 を正確に加えて残留物を溶かし、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ミ標準液各 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 µm) ^{註2}

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℃

(タンデム型質量分析計部^{注3})

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℃

デソルベーションガス：N₂（700 L/h、350℃）

キャピラリー電圧：3.0 kV

コーン電圧：下表のとおり

コーンガス：N₂（50 L/h）

コリジョンエネルギー：下表のとおり

コリジョンガス：Ar（0.25 mL/min）

モニターイオン：下表のとおり

表 モニターイオン条件

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 _r (%)
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 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	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	試料中		0.008 mg/kg				
・ 検出下限	試料中		0.003 mg/kg				

69.2 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。

69.3 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5による。

70 クロルベンジレート

70.1 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。

70.2 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1による。

70.3 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 [C₁₆H₁₄Cl₂O₃] 10 mg を正確に量って 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、更に標線まで同溶媒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、標準原液の一定量を 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 µg 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 µm (100~60 メッシュ)) 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 10.0 g を量って 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。

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 及び硫酸ナトリウム（無水）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。ヘキサンのジエチルエーテル（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、ヘキサンのジエチルエーテル（4+1）100 mL をカラムに加えてクロロベンジレートを出させる。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ロ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）

キャリアーガス：He（5 mL/min）

メイクアップガス：N₂（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：初期温度 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。

(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 (μg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
成鶏飼育用配合飼料	200~2,000	3	84.7~102.3	6.1
子豚育成用配合飼料	200~2,000	3	92.7~100.0	10.8
チモシー	200~2,000	3	92.0~101.3	13.2

- ・共同試験

試料の種類	試験室 数	添加濃度 (μg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
成鶏飼育用配合飼料	7	1,000	95.0	2.1	5.8	0.36

71 酸化フェンブタスズ

71.1 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13による。

72 シアナジン

72.1 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11による。

72.2 シアナジン及びミ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14による。

73 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。)

73.1 ガスクロマトグラフ質量分析計によるジカンバ分析法^{註1}

A 試薬の調製

ジカンバ標準原液 ジカンバ [$C_8H_6Cl_2O_3$] 25 mg を正確に量って 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、更に標線まで同溶媒を加える (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、この液の一定量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 μ g 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 20.0 g (乾牧草 10.0 g) を量って 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^{註2}。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) 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自然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 μ m 以下) でろ過し、ゲル浸透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 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 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-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 を残留物に加えて試験管を密栓し、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 II 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 50 mL のなし形フラスコにあらかじめ脱脂綿を詰め、硫酸ナトリウム（無水）5 g を入れた漏斗でろ過する。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、残留物が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 μg 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 μg 相当量を含む数点の標準液を調製する。

カラム処理 II 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910 mg）をヘキサン 5 mL で洗浄する。試料溶液をミニカラムにあらかじめ脱脂綿を詰め硫酸ナトリウム（無水）5 g を入れた漏斗でろ過する。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自然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、自然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 μ 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

カ ラ ム : 熔融石英製キャピラリーカラム (5%ジフェニルー
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 μ m)

キャリヤーガス: 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 $^{\circ}$ C

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

検 出 器: 四重極型質量分析計^{注3}

インターフェース温度: 280 $^{\circ}$ C

イオン源温度: 200 $^{\circ}$ C

イオン化電圧: 70 eV

イオン化法: 電子衝撃イオン化 (EI) 法

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 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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD_r (%以下)
とうもろこし	10	3	93.8	10
ライ麦	10	3	98.7	6.5
鶏用配合飼料	10~500	3	88.8~97.5	10.6
牛用配合飼料	50~500	3	98.5~100.2	12.5
チモシー	50~500	3	85.7~101.3	9.0
稲わら	50~500	3	92.3~104.3	8.6
小麦	200~2,000	3	92.2~93.5	11
大麦	700~7,000	3	87.3~94.5	11
フェスク	200 mg/kg	3	87.8	3.5
ライグラス	200 mg/kg	3	82.8	4.1

・共同試験

試料の種類	試験室 数	添加濃度	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD_r (%)	室間再現精度 RSD_R (%)	HorRat
フェスク	6	200 mg/kg	84.6	7.5	13.6	1.85
とうもろこし	6	500 $\mu\text{g}/\text{kg}$	88.7	4.2	8.5	0.47

- ・定量下限 試料中 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$
- ・検出下限 試料中 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$

73.2 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計によるジカンバ^{注1}及びDCSA^{注2}分析法

(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 [$\text{C}_8\text{H}_6\text{Cl}_2\text{O}_3$] 25 mg を正確に量って 50 mL の全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒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 [$\text{C}_7\text{H}_4\text{Cl}_2\text{O}_3$] 25 mg を正確に量って 50 mL の全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加えて 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) 安定同位体元素標識物質標準原液及び混合内標準液 安定同位体元素標識ジカンバ^{注3} (ジカンバ- $^{13}\text{C}_6$) 8 mg 及び安定同位体元素標識 DCSA^{注3} (DCSA- $^{13}\text{C}_6$) 8 mg を正確に量ってそれぞれ 20 mL の全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加えて各安定同位体元素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- $^{13}\text{C}_6$ 及び DCSA- $^{13}\text{C}_6$ として 0.4 mg をそれぞれ含有する。)

更に、各標準原液の一定量を混合し、メタノールで正確に希釈し、1 mL 中にジカンバ- $^{13}\text{C}_6$ 及び DCSA- $^{13}\text{C}_6$ 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- $^{13}\text{C}_6$ 及び DCSA- $^{13}\text{C}_6$ 各安定同位体元素標識物質標準原液の一定量を 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^{注4} 及び 0.5~20 ng^{注4} を含有し、かつ、ジカンバ- $^{13}\text{C}_6$ 及び DCSA- $^{13}\text{C}_6$ 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 10.0 g を量って 300 mL の共栓三角フラスコに入れ、混合内標準液 1 mL^{注4} 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。遠心沈殿管を密栓し、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^{注5} オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1 g)^{注6} 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定量を 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 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：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 μm）^{注7}
 溶離液：0.1 v/v%酢酸・5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液ーアセトニトリル（19+1）（5 min 保持）→ 2 min →（7+3）（8 min 保持）→ 2 min →（1+4）（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^{注8})

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：N₂（800 L/h、400 °C）

キャピラリー電圧：0.6 kV

コーンガス：N₂（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 各物質のモニターイオン条件

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)		
ジカンバ	219	175	—	20	6
		—	145	20	10
ジカンバ- ¹³ C ₆	225	181	—	20	6
DCSA	205	161	—	26	12
		—	125	26	20
DCSA- ¹³ C ₆	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-¹³C₆ 及び DCSA-¹³C₆ 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。

- 2 本法では、試料中の DCSA 抱合体は加水分解されて、DCSA との含量として定量される。
- 3 安定同位体元素標識として利用するジカンバ及び DCSA は、ジカンバ（環-¹³C₆）及び DCSA（環-¹³C₆）又はこれらと同等のもの
- 4 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。
- 5 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。
- 6 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
- 7 Inertsil Ph（ジーエルサイエンス製、本測定条件によるジカンバ及び DCSA の保持時間はそれぞれ約 9.0 分及び 9.8 分）又はこれと同等のもの
- 8 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 _t (%)	
ジカンバ	大豆	1	3	100	3.9	
		10	3	97.1	0.9	
	大豆（加熱圧ぺん）	1	3	98.4	2.1	
		10	3	94.7	1.4	
	大豆油かす	大豆油かす	1	3	95.0	0.9
			10	3	95.7	5.2
		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（加熱圧ぺん）	1	3	86.5	4.2	
		10	3	91.9	1.3	
	大豆油かす	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 数	棄却試験 数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _t (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
ジカンバ	大豆	8	1	1	100	8.2	13	0.80
	大豆（蒸熱圧ぺん）	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（蒸熱圧ぺん）	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 試料中 各 1 mg/kg
- ・ 検出下限 試料中 各 0.3 mg/kg

74 ジクロホップメチル

- 74.1 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。

75 ジクロラン

- 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。

- 75.2 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1による。

- 75.3 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5による。

76 ジクロルボス（ジクロルボス及びナレド）

- 76.1 ジクロルボス及びナレドのガスクロマトグラフ質量分析計による分析法^{注1、2}

A 試薬の調製

- 1) ジクロルボス標準液 ジクロルボス [C₄H₇Cl₂O₄P] 25 mg を正確に 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、標準原液の一定量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 µg 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 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 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^{注3} L-システイン塩酸塩一水和物 4 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 10.0 g を量って 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^{注4}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）に入れ、試

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

インターフェース温度：280 °C

検出器：四重極型質量分析計^{注7}

イオン源温度：230 °C

イオン化法：電子衝撃イオン化 (EI) 法

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 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。

5 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。

6 Thermo 製 TR-5MS (本測定条件によるジクロロボスの保持時間は約 7 分) 又はこれと同等のもの

7 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	試料の種類	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	平均回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
ジクロロボス	肉用牛肥育用配合飼料	40~200	3	94.1~101.7	16
	成鶏飼育用配合飼料	40~200	3	85.4~99.1	11
	とうもろこし	40~200	3	93.4~96.7	17
	バミューダヘイ	1,000~10,000	3	73.2~84.1	2.3
ナレド	肉用牛肥育用配合飼料	40~200	3	86.7~93.2	13
	成鶏飼育用配合飼料	40~200	3	73.5~83.6	12
	とうもろこし	40~200	3	75.7~87.9	14
	バミューダヘイ	1,000~10,000	3	76.3~77.2	6.7

・共同試験

成分名	試料の種類	試験室 数	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
ナレド	とうもろこし	9	200	92.7	4.3	12	0.54
	アルファルファ	9	10,000	83.1	4.1	12	0.96

・定量下限 試料中 ジクロロボスとして 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$

・検出下限 試料中 ジクロロボスとして 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$

76.2 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2による。

76.3 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3による。

77 ジクワット

77.1 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〔C₁₂H₁₂N₂Br₂〕20 mgを正確に量って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、更に標線まで同溶媒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⁺型） 強酸性陽イオン交換樹脂^{註1} 100 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10.0 gを量って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^{註2}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^{註2}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⁺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の高さに達するまで流出させる^{註3}。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^{注3}。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、更に同溶媒で正確に希釈し、1 mL 中にジクワットとして 0.01~0.5 µg 相当量を含む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)^{注4}

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⁺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 C₁₈ (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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
成鶏飼育用配合飼料	50~200	3	76.4~98.4	13.9
乳用牛飼育用配合飼料	50~200	3	79.8~104.3	9.9
スーダングラス	50~200	3	72.7~91.6	10.8

・共同試験

試料の種類	試験室 数	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
成鶏飼育用配合飼料	7	100	86.8	3.8	9.3	0.42

・定量下限 配合飼料：試料中 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、乾牧草：試料中 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$

78 ジコホール

78.1 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15による。

79 ジネブ

79.1 ジネブ及びマンゼブの液体クロマトグラフによる分析法^{注1}

(適用範囲：配合飼料)

A 試薬の調製

- 1) システイン-EDTA液 L-システイン塩酸塩一水和物 50 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 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。
- 2) ジネブ標準原液 ジネブ $[(\text{C}_4\text{H}_6\text{ZnN}_2\text{S}_4)_n]$ 20 mg を正確に量って 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、更に標線まで同溶媒を加えて標準原液を調製する (この液 1 mL は、ジネブとして 0.2 mg を含有する。) (使用時に調製する。)
- 3) マンゼブ標準液 マンゼブ $[(\text{C}_4\text{H}_6\text{MnN}_2\text{S}_4)_x(\text{Zn})_y]$ 20 mg を正確に量って 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、更に標線まで同溶媒を加えて標準原液を調製する (この液 1 mL は、マンゼブとして 0.2 mg を含有する。)(使用時に調製する。)
- 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 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 10.0 g を量って 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^{注2}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 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。ろ液の一定量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 相当量を含む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）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 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）^{注3}

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 [(C₄H₆MnN₂S₄)_n] 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 Wakosil-II 5C18 HG (和光純薬工業製) 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

成分名	試料の種類	添加濃度 (µg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
ジネブ	鶏用配合飼料	100~2,000	3	78.6~94.0	5.8
	牛用配合飼料	100~2,000	3	75.9~87.2	6.8
	とうもろこし	100~2,000	3	81.4~87.6	6.2
マンゼブ	鶏用配合飼料	100~2,000	3	81.5~84.2	8.7
	牛用配合飼料	100~2,000	3	77.5~96.1	9.6
	とうもろこし	100~2,000	3	81.2~96.5	10.7

・ 共同試験

成分名	試料の種類	試験室 数	添加濃度 (µg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
ジネブ	種豚用配合飼料	6	1,000	82.6	7.1	13.1	0.80
マンゼブ	種豚用配合飼料	6	1,000	81.7	7.1	13.2	0.80

・ 定量下限 試料中 50 µg/kg

80 シハロトリン

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。

80.2 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4による。

81 ジフェナミド

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。

82 ジフェノコナゾール

- 82.1 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 シフルトリン

- 83.1 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4による。

84 ジフルベンズロン

- 84.1 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 [$C_{14}H_9ClF_2N_2O_2$] 20 mg を正確に量って 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、更に標線まで同溶媒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、標準原液の一定量を水-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)）を 130 °C で 16 時間乾燥する。

B 定 量

抽出 分析試料 5~10 g を正確に量って 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 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）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、ゲル浸透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 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 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：65~80 mL

カラム処理 II ケイ酸マグネシウム 10 g 及び硫酸ナトリウム（無水）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）^{注1}

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 Capcell pak C18 UG120 S-3（資生堂製）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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
成鶏飼育用配合飼料	50~500	3	90.7~95.7	7.5
肉用牛肥育用配合飼料	50~500	3	87.7~93.0	8.8
アルファルファヘイ	50~500	3	92.7~102.0	9.0

・共同試験

試料の種類	試験室 数	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
肉豚肥育用配合飼料	7	500	91.6	2.4	7.7	0.43

・定量下限 試料中 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$

85 シヘキサチン

85.1 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13による。

86 シペルメトリン

86.1 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4による。

86.2 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 [$\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{Cl}_2\text{NO}_3$] 25 mg を正確に量
って 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、標準原液の一定量を 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 μg 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 μm (100~60
メッシュ)）を 130 °C で 16 時間乾燥する。

B 定 量

抽 出 分析試料 10.0~20.0 g を量って 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
トニトリルー水（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ー水（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 及び硫酸ナトリウム（無水）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）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：熔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）

キャリアーガス：He（1.5 mL/min）

メイクアップガス：N₂（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：初期温度 80 °C（2 min 保持）→昇温 20 °C/min→250 °C（18 min 保持）

検出器温度：300℃

計算 得られたクロマトグラムから3個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。

(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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
成鶏飼育用配合飼料	100~1,000	3	83.3~91.7	11.6
乳用牛飼育用配合飼料	100~1,000	3	84.0~96.3	9.2
アルファルファ	100~1,000	3	90.0~93.0	8.0

・共同試験

試料の種類	試験室 数	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
乳用牛飼育用配合飼料	7	500	96.8	7.4	7.9	0.44

・定量下限 試料中 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$

87 シマジン

87.1 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10による。

88 ジメチピン

88.1 ガスクロマトグラフ法

A 試薬の調製

ジメチピン標準液 ジメチピン標準品 [$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4\text{S}_2$] 20 mg を正確に量って 100 mL の全量フラスコに入れ、アセトン 20 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ジメチピン標準原液を調製する（この液 1 mL は、ジメチピンとして 0.2 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一定量を 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 中にジメチピンとして 0.2~2 μg を含量する数点のジメチピン標準液を調製する。

B 定 量

抽出 試料 10.0 g を量って 200 mL の共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリル-水 (3+1) 20 mL を加えて潤し、10 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。

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ニトリル 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。ろ液を 40℃ 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、更に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、この液を 10 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、1,500×g で 5 分間遠心分離する。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、ゲル浸透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 試料溶液 5.0 mL をゲル浸透クロマトグラフに注入し、ジメチピンが溶出する画分を 100 mL のなす形フラスコに分取し、溶出液を 40 $^{\circ}\text{C}$ 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) 2.5 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。

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：85~125 mL

カラム処理 試料溶液を合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（100 mg）^{注1} に入れ、初めの流出液 1 mL を捨て、その後の流出液 1 mL を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 試料溶液及び各ジメチピン標準液各 2 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（イオウ検出用フィルター）

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 μm ）

キャリアーガス：He（1.8 mL/min）

メイクアップガス：N₂（30 mL/min）

水素：75 mL/min

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：250 $^{\circ}\text{C}$

カラム槽温度：初期温度 80 $^{\circ}\text{C}$ （2 min 保持）→昇温 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ →250 $^{\circ}\text{C}$ （10 min 保持）

検出器温度：280 $^{\circ}\text{C}$

計算 得られたクロマトグラムからピーク面積又はピーク高さの平方根を求めて検量線を作成し、試料中のジメチピン量を算出する。

注1 Sep-Pak VAC Florisil Cartridge（リザーバー容量 1 mL、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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
鶏用配合飼料	250~1,000	3	77.3~90.7	8.1
豚用配合飼料	250~1,000	3	76.3~82.7	10.4
アルファルファ	250~1,000	3	85.7~100.3	4.9

・共同試験

試料の種類	試験室 数	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
中ずう育成用配合飼料	4	500	91.6	3.1	2.7	0.15

・定量下限 試料中 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$

89 ジメテナミド

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。

90 ジメトエート

90.1 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。

90.2 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2による。

91 ジメピペレート

91.1 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。

92 臭化メチル

92.1 ガスクロマトグラフ法

A 試薬の調製

- 1) ジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-メチル標準液 ジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-メチル [$\text{C}_5\text{H}_{13}\text{PS}_2$] 25 mg を正確に量って 100 mL の全量フラスコに入れ、ヘキサンを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加えてジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-メチル標準原液を調製する (この液 1 mL は、ジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-メチルとして 0.25 mg を含有する。)

使用に際して、標準原液の一定量をヘキサンで正確に希釈し、1 mL 中にジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-メチルとして 0.1~1.5 μg を含有する数点のジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-メチル標準液を調製する。

- 2) 捕集液 ジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-アンモニウム 10 mg を *N,N*-ジメチル

ホルムアミド 60 mL に溶かす（使用時に調製する。）。

B 定 量

分離、捕集及びジチオリン酸エステル化 分析試料 25.0 g を量って 500 mL の二口フラスコに入れ、捕集装置（捕集液 30 mL を入れた褐色ガス洗淨びん 2 本を連結し、60 °C の恒温水槽に浸したもの）に気密に連結する。この二口フラスコにあらかじめ硫酸で pH を 2 に調整した水 200 mL 及び 1-ブタノール 1 mL を加え、直ちに通気管を装着する。60 °C の水浴中で窒素ガスを流速 60~80 mL/min で 60 分間送って臭化メチルを分離、捕集させ、ジチオリン酸エステル化を行い、精製に供する試料溶液とする。

精 製 試料溶液を塩化ナトリウム溶液（5 w/v%）150 mL で 300 mL の分液漏斗 A に移し、ヘキサン 50 mL を加え、3 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、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、同様に操作し、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、200 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ヘキサンで洗淨し、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 2 mL まで減圧濃縮^{註1}した後、少量のヘキサンの 10 mL の全量フラスコに移し、更に全量フラスコの標線まで同溶媒を加え、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 試料溶液及び各ジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-メチル標準液各 1 μ 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：炎光光度検出器（リン検出用フィルター）

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 μ m）

キャリアーガス：He（1.5 mL/min）

メイクアップガス：N₂（30 mL/min）

水 素：75 mL/min

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：初期温度 60 °C（0.5 min 保持）→昇温 20 °C/min→80 °C（0.5 min 保持）→昇温 10 °C/min→160 °C（0.5 min 保持）

検 出 器 温 度：240 °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、次式により試料中の臭化メチル [CH₃Br] 量を算出する。

試料中の臭化メチル量 (μ g/kg) = $A \times 400 \times 0.474$

A：検量線から求めた試料溶液 1 μ L 中のジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-メチルの重量 (ng)

注 1 乾固させないこと。

(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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
鶏用配合飼料	125~500	3	92.6~97.8	9.5
豚用配合飼料	125~500	3	90.4~100.9	5.9
牛用配合飼料	125~500	3	91.8~100.6	7.7

・ 共同試験

試料の種類	試験室 数	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
乳牛用配合飼料	5	250	92.4	6.1	6.2	0.31

・ 定量下限 試料中 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$

93 シラフルオフェン

93.1 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。

94 水酸化トリフェニルスズ

94.1 ガスクロマトグラフ法

A 試薬の調製

塩化トリフェニルスズ標準原液 塩化トリフェニルスズ [$\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{ClSn}$] 20 mg を正確に量って 100 mL の全量フラスコに入れ、ヘキサンを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加えて塩化トリフェニルスズ標準原液を調製する（この液 1 mL は、塩化トリフェニルスズとして 0.2 mg を含有する。）。

B 定 量

抽 出 分析試料 5~10 g を正確に量って 200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 10 mL を加えて潤し、5 分間静置後、更にメタノール-塩酸 (9+1) 70 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。

200 mL の三角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、試料の入っていた三角フラスコ及び残さを順次メタノール-塩酸 (9+1) 10 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 (10 w/v%) 50 mL 及び酢酸エチル-ヘキサン (3+2) 50 mL を入れた 500 mL の分液漏斗 A に加え、試料溶液の入っていた三角フラスコを酢酸エチル 50 mL で洗浄し、洗液を分液漏斗 A に合わせる。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 に入れる。分液漏斗 B に酢酸エチル-ヘキサン (3+2) 50 mL を加え、5 分間激しく振り混ぜた後静置し、酢酸エチル-ヘキサン層 (上層) を分液漏斗 A に合わせる。更に分液漏斗 A にヘキサン 150 mL を加えて穩

やかに振り混ぜた後 30 分間静置し、水層を捨て、酢酸エチルーヘキサン層を三角フラスコに入れる。酢酸エチルーヘキサン層を適量の硫酸ナトリウム（無水）で脱水し、500 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残さ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、更にヘキサン 10 mL ずつを加えて同様に 2 回減圧濃縮して塩酸を除去し、窒素ガスを送って乾固する。ヘキサン 10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、プロピル化反応に供する試料溶液とする。

プロピル化反応 試料溶液 1~2 mL を 50 mL の試験管に正確に入れ、*n*-プロピルマグネシウムブロミド液 1 mL を加え、30 分間静置後、更に硫酸（0.5 mol/L）7 mL を少量ずつ加え、過剰の *n*-プロピルマグネシウムブロミドを分解する。この試験管にメタノール 7 mL を加えた後、この液全量を 100 mL の分液漏斗 C に入れる。先の試験管を水 25 mL 及びヘキサン 20 mL で洗浄し、洗液を順次分液漏斗 C に合わせる。分液漏斗 C を 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、ヘキサン層（上層）を三角フラスコに入れる。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、100 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。

ヘキサン 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 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910 mg）をヘキサン 10 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る。試料溶液の入っていたなす形フラスコを少量のヘキサンで洗浄し、洗液をミニカラムに加え、流下してプロピル化した塩化トリフェニルスズを流出させる。更にヘキサノージエチルエーテル（99+1）10 mL をミニカラムに加えて同様に流出させる。

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。

ヘキサン 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。

標準液のプロピル化 塩化トリフェニルスズ標準原液 1 mL を 50 mL の試験管に正確に入れ、プロピル化反応の項と同一条件でプロピル化する。

ヘキサン 10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、この液の一定量をヘキサンで正確に希釈し、1 mL 中に塩化トリフェニルスズとして 0.025~1.5 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 2 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（スズ検出用フィルター）
 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 30 m、膜
 厚 0.25 μm）

キャリアーガス：He（4 mL/min）

メイクアップガス：N₂（50 mL/min）

水 素：75 mL/min

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：280 °C

カ ラ ム 槽 温 度：初期温度 100 °C（2 min 保持）→昇温 25 °C/min→270 °C
 （5 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、塩
 化トリフェニルスズ量を算出し、更に 0.952 を乗じて試料中の水酸化トリフェニ
 ルスズ量を算出する。

（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 (μg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
鶏用配合飼料	500~2,000	3	86.5~94.0	13.9
豚用配合飼料	500~2,000	3	81.0~87.3	4.3
乳用牛飼育用配合飼料	500~2,000	3	80.3~82.3	2.7
魚粉	500~2,000	3	82.5~91.6	4.9
チモシーヘイ	500~2,000	3	74.2~79.2	4.0

- ・共同試験

試料の種類	試験室 数	添加濃度 (μg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
子豚育成用配合飼料	6	1,000	88.0	5.8	8.3	0.51

- ・定量下限 試料中 50 μg/kg

95 ダイアジノン

95.1 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。

95.2 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2による。

95.3 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3による。

96 ターバシル

96.1 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。

97 チアベンダゾール

97.1 液体クロマトグラフ法

A 試薬の調製

- 1) チアベンダゾール標準液 チアベンダゾール [C₁₀H₇N₃S] 20 mg を正確に量って 100 mL の褐色全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加えてチアベンダゾール標準原液を調製する（この液 1 mL は、チアベンダゾールとして、0.2 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一定量をメタノールで正確に希釈し、1 mL 中にチアベンダゾールとして 0.05~0.5 µg を含有する数点のチアベンダゾール標準液を調製する。

- 2) 酢酸ナトリウム緩衝液 酢酸ナトリウム（無水）33 g 及び塩化ナトリウム 200 g を水に溶かして 1 L とする。

B 定 量

抽 出 分析試料 5 g を正確に量って 300 mL の分液漏斗に入れ、酢酸ナトリウム緩衝液 30 mL 及び酢酸エチル 100 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。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、先の分液漏斗及び残さを順次酢酸エチル 30 mL 及び水 10 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 300 mL の分液漏斗 A に入れ、水酸化ナトリウム溶液（1 mol/L）30 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層（下層）を捨てる。分液漏斗 A に水 30 mL を加え、同様に操作する。分液漏斗 A に塩酸（0.1 mol/L）50 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層を 500 mL の分液漏斗 B に入れる。分液漏斗 A に塩酸（0.1 mol/L）50 mL を加え、同様に操作する。分液漏斗 B に水酸化ナトリウム溶液（1 mol/L）30 mL 及び酢酸エチル 100 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層を 500 mL の分液漏斗 C に入れる。分液漏斗 C に酢酸エチル 100 mL を加え、同様に操作した後、酢酸エチル層（上層）を分液漏斗 B に合わせる。分液漏斗 B に水 30 mL を加え、振り混ぜた後静置し、酢酸エチル層を三角フラスコに入れる。酢酸エチル層を適量の硫酸ナトリウム（無水）で脱水し、500 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 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 オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（360 mg）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、流出させた後、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、洗液をミニカラムに加え流出させる。更に水-メタノール (7+3) 5 mL をミニカラムに加えて洗浄する。50 mL のなす形ラスコをミニカラムの下に置き、水-メタノール (1+1) 10 mL をミニカラムに加えてチアベンダゾールを溶出させる。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。

メタノール 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 試料溶液及び各チアベンダゾール標準液各 10 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：300 nm、蛍光波長：355 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）^{注1}
- 溶 離 液：メタノール-リン酸二水素カリウム溶液^{注2} (1+1)
- 流 速：0.8 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、試料中のチアベンダゾール量を算出する。

注 1 Finepak SIL C₁₈ T-5（日本分光製）又はこれと同等のもの

2 リン酸二水素カリウム 1.36 g を水に溶かして 1 L とする。

(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 (µg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
とうもろこし	50~500	3	82.9~87.2	4.2
幼うす育成用配合飼料	50~500	3	85.5~90.1	6.1
肉用牛肥育用配合飼料	50~500	3	82.8~84.3	7.0

- ・共同試験

試料の種類	試験室 数	添加濃度 (µg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
大うす育成用配合飼料	6	100	81.7	5.1	7.1	0.32

- ・定量下限 試料中 10 µg/kg

98 チオシクラム

98.1 カルタップ、チオシクラム及びベンスルタップの液体クロマトグラフ質量分析計による分析法^{注1}

45.1 による。

注 1 チオシクラムは、カルタップとしての量に換算され、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される。