

206 メトラクロール

206.1 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。

206.2 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。

207 メトルカルブ

207.1 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。

207.2 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。

207.3 アズ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。

208 メビンホス

208.1 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。

209 モノクロトホス

209.1 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。

210 リニュロン

210.1 液体クロマトグラフ法

A 試薬の調製

リニュロン標準液 リニュロン〔 $C_9H_{10}Cl_2N_2O_2$ 〕20 mg を正確に量って100 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線まで同溶媒を加えてリニュロン標準原液を調製する（この液1 mL は、リニュロンとして0.2 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一定量をメタノールで正確に希釈し、1 mL 中にリニュロンとして0.05~5 µg を含有する数点のリニュロ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200 mL の共栓三角フラスコにいれ、水15 mL を加えて潤し、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、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てリニュロンを溶出させ、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 0.5 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、リニュ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。

ヘキサノージェチルエーテル (19+1) 10 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：85~105 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ージェチルエーテル (19+1) 2 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。

50 mL なす形フラスコをミニカラムの下に置き、ヘキサノージェチルエーテル (7+3) 25 mL をミニカラムに加えてリニュロンを溶出させる。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をした後、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、この液をプラスチック製遠心沈殿管 (容量 1.5 mL) に入れ、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 試料溶液及び各リニュロン標準液各 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 250 mm、粒径 5 μm）^{注1}

溶離液：水-アセトニトリル-メタノール（6+4+1）

流速：1 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、試料中のリニユロン量を算出する。

注 1 Mightysil RP-18 GP（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)
成鶏用配合飼料	100~500	3	79.3~87.9	1.5
牛用配合飼料	100~500	3	79.2~82.0	7.4
とうもろこし	100~500	3	80.1~85.7	2.5
チモシー	100~500	3	90.5~93.4	2.8

・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
中おう用配合飼料	7	100	85.6	6.8	8.3	0.38
マイロ	7	100	89.7	4.4	7.8	0.35

・定量下限 試料中 10 μg/kg

211 リン化水素

211.1 吸光光度法

A 試薬の調製

- リン標準液 リン酸二水素カリウム [KH₂PO₄]（デシケーター中で 24 時間以上乾燥したもの）0.439 g を 1,000 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リン標準原液を調製する（この液 1 mL は、リン [P] として 0.1 mg を含有する。）。
- 臭素飽和溶液^{注1} 水を冷却しながら、その中に臭素を飽和するまで溶かす。

B 定 量

分離、吸収 分析試料 200 g を量って 5 L の丸底フラスコ（セパラブルカバー、三口）に入れ、リン化水素分離吸収酸化装置（リン化水素分離装置に、空のガス吸引管及び臭素飽和溶液それぞれ 100 mL ずつを入れた 2 本のガス吸引管を気密に連結し、ガス吸引管の外側を氷水で冷却したもの）に気密に連結する。この丸底フラスコに水 2 L を入れ、窒素ガスを流速 200 mL/min で 30 分間送った後、マントルヒーターで加熱しながら窒素ガスを同様に 2 時間送ってリン化水素を分離吸収させる。

次に、ガス吸尿管内の反応液を少量の水で 500 mL のビーカーに移し、熱板上で約 10 mL まで加熱濃縮して試料溶液とする。

同時に、試料を用いないで同一操作を行い、空試験溶液を調製する。

測定 試料溶液を少量の水で 25 mL の全量フラスコに移し、硫酸 (3+7) 2.5 mL、モリブデン酸アンモニウム溶液 (2.5 w/v%) 3 mL 及び硫酸ヒドラジニウム溶液 (0.15 w/v%) 1.5 mL を全量フラスコに加え、更に標線まで水を加える。この液を沸騰水浴中で 10 分間加熱して発色させた後放冷し、水を対照液として波長 820 nm の吸光度を測定する。

空試験溶液について、同様に吸光度を測定し、結果を補正する。

同時に、リン標準液の各一定量について、試料溶液の場合と同一条件で吸光度を測定する。

計算 得られた吸光度から検量線を作成し、次式により試料中のリン化水素〔PH₃〕量を算出する。

$$\text{試料中のリン化水素量 (mg/kg)} = \frac{A}{200} \times 1.0976$$

A : 検量線から求めたリンの重量 (μg)

注 1 臭素水 (2~3 w/v%) (和光純薬工業製) 又はこれと同等のもの

212 エテホン

212.1 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〔C₂H₆ClO₃P〕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定量をアセトンで正確に希釈し、1 mL 中にエテホンとして 20 μg 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 10.0 g を量って 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同溶媒 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同溶媒を加え、この液 20 mL (乾牧草にあつては、更に同溶媒で正確に 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 °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-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 °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。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) ^{注1} 及びシリカゲルミニカラム (690 mg) 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メタン液 0.5 mL を加え、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 °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、更にこの液の一定量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)

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 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 (Supelco 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 (%)
成鶏飼育用配合飼料	1	3	80.2	11
	0.1	3	78.8	14
肉用牛肥育用配合飼料	1	3	84.3	9.3
	0.1	3	82.0	11
	0.05	3	75.3	11
とうもろこし	1	3	87.1	4.5
	0.1	3	85.9	7.9
大麦	1	3	81.6	5.1
	0.1	3	79.6	9.9
アルファルファ乾草	10	3	89.3	10
	1	3	85.1	6.3
	0.5	3	82.2	11

・共同試験

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
肉用牛肥育用配合飼料	7	0.5	81.8	4.0	12	0.69
とうもろこし	7	1	89.0	4.5	12	0.74
アルファルファ乾草	7	10	90.8	2.6	13	1.1

・定量下限 試料中 0.05 mg/kg (乾牧草 0.5 mg/kg)

・検出下限 試料中 0.02 mg/kg (乾牧草 0.2 mg/kg)

213 ジウロン

213.1 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

ジウロン標準液 ジウロン [C₉H₁₀Cl₂N₂O] 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、標準原液の一定量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 10.0 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、30 分間静置後、更にアセトン 100 mL を加え、60 分間振り混

せて抽出する。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 300 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 10.0 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（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）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、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 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 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：90~110 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）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

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1}
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
検出器 : 四重極型質量分析計^{注2}
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 (1.5 L/min)
ヒートブロック温度 : 200 °C
CDL 温度 : 250 °C
モニターイオン : m/z 233 ^{注3}

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 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies 製、本測定条件によるジウロンの保持時間は約 4 分) 又はこれと同等のもの

2 LCMS-2010EV (島津製作所製) による条件例

3 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(%)
ブロイラー肥育後期用配合飼料	0.2	3	84.8	6.9
	0.02	3	95.0	2.6
	0.01	3	93.3	6.2
肉用牛肥育用配合飼料	0.2	3	88.0	4.2
	0.02	3	95.8	5.4
	0.01	3	95.0	5.3
とうもろこし	0.2	3	96.6	2.2
	0.02	3	94.2	3.1
	0.01	3	93.3	3.1
えん麦乾草	4	3	97.2	1.0
	0.4	3	97.5	2.6
	0.2	3	90.0	5.6
ライグラスわら	2	3	98.3	7.8
	1	3	90.3	5.5
	0.4	3	99.2	1.5
	0.2	3	95.0	3.1

・共同試験

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 _f (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
種鶏飼育用配合飼料	7	0.05	92.3	4.7	12	0.53
とうもろこし	7	0.05	86.9	3.3	12	0.54
えん麦乾草	7	4	91.0	2.6	8.3	0.63

- ・ 定量下限 試料中 0.01 mg/kg (乾牧草 0.2 mg/kg)
- ・ 検出下限 試料中 0.003 mg/kg (乾牧草 0.06 mg/kg)

214 スピノサド (スピノシン A 及びスピノシン D)

214.1 スピノサド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

- 1) スピノシン A 標準原液 スピノシン A 標準品 [C₄₁H₆₅NO₁₀] 10 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スピノシン A 標準原液を調製する (この液 1 mL は、スピノシン A として 0.2 mg を含有する。)
- 2) スピノシン D 標準原液 スピノシン D 標準品 [C₄₂H₆₇NO₁₀] 10 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スピノシン D 標準原液を調製する (この液 1 mL は、スピノシン D として 0.2 mg を含有する。)
- 3) 混合標準液 スピノシン A 及び D 標準原液の一定量を混合し、アセトニトリル-水 (9+1) で正確に希釈し、1 mL 中にスピノシン A 及び D としてそれぞれ

れ 0.001~1 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 (稲わらは 5 g を正確に) を量って 200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 50 mL を加えて 30 分間静置後、更にアセトニトリル 50 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 (1+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アセトニトリル-水 (1+1) を加え、カラム処理に供する試料溶液とする。

カラム処理^{注1} シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム (1 g)^{注2} をアセトニトリル 5 mL 及び水 5 mL で洗浄する。試料溶液 10 mL (稲わらを除く乾牧草では、更にアセトニトリル-水 (1+1) で正確に 10 倍希釈した後、その液 10 mL) 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。更にアセトニトリル 10 mL を加えてミニカラムを洗浄した後、50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、アセトニトリル-トリエチルアミン (49+1) 10 mL をミニカラムに加えてスピノシン A 及び D 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-水 (9+1) 1 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 試料溶液及び各混合標準液各 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 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5 µm)^{注3}

溶 離 液 : アセトニトリル-5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液 (9+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 : N₂ (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* 732 (スピノシン A) 、 746 (スピノシン D)

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、試料中のスピノシン A 及び D 量を算出し、その含量をスピノサド量とする。

注 1 流速は 1.0 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 Mega Bond Elut CH (Varian 製) 又はこれと同等のもの

3 Inertsil ODS-3 (ジーエルサイエンス製、本測定条件によるスピノシン A 及び D の保持時間はそれぞれ約 9 分及び約 10.5 分) 又はこれと同等のもの

4 LCMS-2010EV (島津製作所) 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 (%)
スピノシン A	成鶏飼育用配合飼料	0.010	3	91.7	5.4
		0.10	3	106	1.6
	若令牛育成用配合飼料	0.010	3	92.9	0.3
		0.10	3	93.4	2.4
	とうもろこし	0.010	3	101	2.2
		0.10	3	95.8	1.2
	アルファルファ乾草	0.10	3	96.8	4.2
		1.0	3	91.6	1.0
	稲わら	0.025	3	86.8	0.9
		0.25	3	98.2	2.6
スピノシン D	成鶏飼育用配合飼料	0.010	3	90.1	2.4
		0.10	3	99.6	4.3
	若令牛育成用配合飼料	0.010	3	95.2	4.8
		0.10	3	94.7	2.9
	とうもろこし	0.010	3	98.9	1.4
		0.10	3	98.0	1.7
	アルファルファ乾草	0.10	3	91.9	6.5
		1.0	3	89.2	1.6
	稲わら	0.025	3	86.5	4.0
		0.25	3	100	2.0

・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
スピノシン A	成鶏飼育用配合飼料	8	0.10	96.3	2.7	11	0.49
	稲わら	8	0.25	90.1	1.8	8.5	0.43
	とうもろこし	8	0.10	93.2	4.5	9.2	0.42
スピノシン D	成鶏飼育用配合飼料	8	0.10	95.2	3.6	12	0.52
	稲わら	8	0.25	92.8	2.8	10	0.52
	とうもろこし	8	0.10	93.2	3.7	14	0.62

・定量下限 スピノシン A : 試料中 0.0025 mg/kg (乾牧草 0.025 mg/kg、稲わら 0.0050 mg/kg)、スピノシン D : 試料中 0.0050 mg/kg (乾牧草 0.050 mg/kg、稲わら 0.010 mg/kg)

・検出下限 スピノシン A : 試料中 0.001 mg/kg (乾牧草 0.008 mg/kg、稲わら 0.001 mg/kg)

ら 0.002 mg/kg)、スピノシン D : 試料中 0.002 mg/kg (乾牧草 0.02 mg/kg、
稲わら 0.003 mg/kg)

215 クロチアニジン

215.1 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18による。

216 ジノテフラン

216.1 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18による。

217 チアメトキサム

217.1 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18による。

218 チアクロプリド

218.1 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。

219 テブフェノジド

219.1 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。

220 フラメトピル

220.1 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。

221 フルジオキサニル

221.1 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。

222 メトキシフェノジド

222.1 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。

223 アゾキシストロビン

223.1 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20による。

224 アルジカルブスルホン

224.1 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。

225 オリサストロビン（オリサストロビン 5Z 異性体を含む）

225.1 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22による。

226 クミルロン

226.1 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22による。

227 ジクロシメット

227.1 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20による。

228 シハロホップブチル

228.1 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24による。

228.2 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31による。

229 シメコナゾール

- 229.1 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22による。

230 シメトリン

- 230.1 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22による。

231 ダイムロン

- 231.1 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22による。

232 テニルクロール

- 232.1 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22による。

233 パクロブトラゾール

- 232.1 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22による。

234 ピリミカーブ

- 234.1 アズ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。

235 ピリミノバックメチル（ピリミノバックメチル（E体）及びピリミノバックメチル（Z体））

- 235.1 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22による。

236 フェノキサニル

- 236.1 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22による。

237 ペンシクロン

- 237.1 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22による。

238 ベンゾフェナップ

- 238.1 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22による。

239 ベンフレセート

- 239.1 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24による。

- 239.2 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31による。

240 メタラキシル

- 240.1 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20による。

241 メプロニル

- 241.1 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22による。

242 モリネート

- 242.1 モリネートのガス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

モリネート標準液　モリネート [C₉H₁₇NOS] 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モリネート標準原液を調製する（この液 1 mL は、モリネートとして 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 中にモリネートとして 0.03~0.5 µg を含有する数点のモリ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 300 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 20 mL（稲わら及び稲発酵粗飼料は 30 mL）を加え、30 分間静置後、更にアセトン 100 mL（稲わら及び稲発酵粗飼料は 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 20 mL を正確に 200 mL のなす形フラスコに入れ、40 °C 以下の水浴で約 3 mL まで減圧濃縮し、液液分配に供する試料溶液とする。

液液分配 試料溶液を 300 mL の分液漏斗 A に入れ、塩化ナトリウム溶液（10 w/v%）100 mL 及びヘキサン 50 mL を加える。試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 25 mL で 2 回洗浄し、洗液を分液漏斗 A に合わせる。分液漏斗 A を 5 分間振り混ぜた後静置し、水層（下層）を 300 mL の分液漏斗 B に入れ、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 B にヘキサン 50 mL を加えて 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。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 10 mL 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 以下の水浴で約 3 mL まで減圧濃縮し、カラム処理に供する試料溶液とする。

カラム処理^{註 1} 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）^{註 2} の下に合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910 mg）を連結し、ヘキサン 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、モリネートを流出させる。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、同様に流出させる。

次に、エチレンジアミン-*N*-プロピルシリル化シリカゲルカラムを外し、ヘキサノージェチルエーテル（9+1）15 mL を合成ケイ酸マグネシウムミニカラムに加えてモリネートを溶出させる。溶出液にアセトノージェチレングリコール（100+1）1 mL 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。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 試料溶液及び各モリネート標準液各 2 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

カ ラ ム：溶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 µm）

キャリヤーガス：He（1.0 mL/min、初期流量）

試料導入法：スプリットレス（60 s）

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）→300 °C（10 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 °C

イオン源温度：230 °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* 187（定量用）、126（確認用）

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、試料中のモリネート量を算出する。

注 1 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。

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

3 GCMS-QP2010 Plus（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 _r (%以下)
稲わら	0.03~0.3	3	104~117	7.6
稲発酵粗飼料	0.05~0.3	3	99.1~114	4.8
粳米	0.03~0.3	3	90.8~115	12
牛用配合飼料	0.1~0.3	3	89.4~99.8	4.1
鶏用配合飼料	0.1~0.3	3	88.2~97.3	5.2

- ・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 (µg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
稲わら	7	2	300	105	5.1	16	0.84
粳米	7	2	50	103	5.6	11	0.50
乳用牛飼育用配合飼料	7	2	100	107	7.4	12	0.54

- ・定量下限 試料中 0.03 mg/kg
- ・検出下限 試料中 0.01 mg/kg

243 ピメトロジン

243.1 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

（適用範囲：稲わら、稲発酵粗飼料及び粳米）

A 試薬の調製

ピメトロジン標準液 ピメトロジン [C₁₀H₁₁N₅O] 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ピメトロジン標準原液を調製する（この液 1 mL は、ピメトロジンとして 0.5 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一定量を水-メタノール（7+3）で正確に希釈し、1 mL 中にピメトロジンとして 0.1~20 ng を含有する数点のピメトロジ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、水 30 mL（粃米は 20 mL）を加え、30 分間静置後、更に炭酸カリウム溶液（7 w/v%）5 mL 及びメタノール 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る。この液 2 mL を 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、水 20 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^{注1} オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（500 mg）^{注2}をメタノール 5 mL 及び水 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。10 mL の全量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水-メタノール（7+3）4 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下してピメトロジンを溶出させる^{注3}。全量フラスコの標線まで同溶媒を加え、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 試料溶液及び各ピメトロジン標準液各 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4}

溶 離 液 : 2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-メタノール（4+1）
→15 min→（1+1）（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 : 110 °C

デソルベーション温度 : 400 °C

キャピラリー電圧 : 1 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)
ピメトロジン	218	105	—	35	20
		—	78	35	40

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、試料中のピメトロジン量を算出する。

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 InertSep Slim-J C18-B (ジーエルサイエンス製) 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 流速が維持できない場合は、必要に応じて二連球等により圧注する。

4 Inertsil ODS-SP (ジーエルサイエンス製、本測定条件によるピメトロジンの保持時間は約 7 分) 又はこれと同等のもの

5 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 (%)
稲わら	1	3	87.1	0.7
	0.1	3	90.0	1.2
	0.01	3	89.3	3.0
稲発酵粗飼料	1	3	88.0	2.3
	0.1	3	91.2	8.5
	0.01	3	88.4	9.8
粳米	1	3	97.0	1.0
	0.1	3	96.8	3.7
	0.01	3	94.2	6.1

・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
稲わら	8	1	0.1	90.7	1.8	6.6	0.30
粳米	9	0	0.1	92.6	2.9	6.8	0.31

・定量下限 試料中 0.01 mg/kg

・検出下限 試料中 0.003 mg/kg

244 エチプロール

244.1 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 25 による。

245 オキサジクロメホン

- 245.1 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26による。

246 オキシロニック酸

- 246.1 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：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〔C₁₃H₁₁NO₅〕10 mgを正確に量って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、標準原液の一定量を水-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10.0 gを量って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^{注2}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。この液の一定量を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^{注3}　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）^{注4}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ロ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ソ
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)^{注5}

溶離液 : 0.1 v/v% ギ酸溶液-アセトニトリル (7+3) (19
min 保持) \rightarrow 1 min \rightarrow (5+95) (5 min 保持)

流速 : 0.2 mL/min

カラム槽温度 : 40 $^{\circ}\text{C}$

(タンデム型質量分析計部)^{注6}

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

デソルベーション温度 : 350 $^{\circ}\text{C}$

キャピラリー電圧 : 2 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)
オキシソリニック酸	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、試料中のオキシソ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 (ジールサイエンス製、本測定条件によるオキシソリニッ
ク酸の保持時間は約 13.3 分) 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 _r (%)
稲発酵粗飼料1	0.1	3	90.1	1.1
	0.01	3	95.5	3.4
稲発酵粗飼料2	0.1	3	92.7	0.8
	0.01	3	101	4.8
粳米1	3	3	90.6	2.8
	0.3	3	92.4	4.2
	0.01	3	83.9	6.4
粳米2	3	3	95.5	0.4
	0.3	3	93.5	3.0
	0.01	3	93.7	5.6

・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 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	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 稲発酵粗飼料：試料（風乾物）中 0.02 mg/kg、粳米：試料中 0.01 mg/kg

・検出下限 稲発酵粗飼料：試料（風乾物）中 0.007 mg/kg、粳米：試料中 0.003 mg/kg

246.2 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：稲わら）

A 試薬の調製

246.1 の A による。

B 定 量

抽出 分析試料 5 g を正確に量って 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^{注2}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。この液の一定量を 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^{注3} 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)^{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。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 _r (%)
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 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
稲わら1	8	1	10	91.9	2.8	5.3	0.46
稲わら2	9	0	2	97.6	2.5	7.6	0.52

・定量下限 試料中 0.6 mg/kg

・検出下限 試料中 0.2 mg/kg

247 カルプロパミド

247.1 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 25 による。

248 クロマフェノジド

248.1 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

る同時分析法

第3節25による。

249 クロラントラニリプロール

249.1 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25による。

250 クロロタロニル

250.1 ガス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：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 [C₈Cl₄N₂] 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、標準原液の一定量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 10.0 g を量って 300 mL の共栓三角フラスコに入れ、リン酸（1+11）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）^{注1}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、ゲル浸透クロマトグラフィ

一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、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。試料が稲発酵粗飼料の場合は、ヘキサノージエチルエーテル (4+1) 6 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 II に供する試料溶液とする。粳米の場合は、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：100~130 mL

カラム処理 II^{注2} 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、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 (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、ヘキサノ-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 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

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 μm）

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：初期温度 80 °C (1 min 保持) →昇温 20 °C/min→280 °C (10 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 °C
 イオン源温度：230 °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 264 (定量用)、266 (確認用)

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 (ジーエルサイエンス製) 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 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 _r (%)
稲発酵粗飼料	0.089	3	110	6.5
	0.0044	3	103	8.0
粳米	0.2	3	104	4.3
	0.01	3	88.5	4.0

・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 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	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 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 0.003 mg/kg

251 ジメタメトリン

251.1 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 26 による。

252 チフルザミド

252.1 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 25 による。

253 ピリブチカルブ

253.1 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 26 による。

254 ピロキロン

- 254.1 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25による。

255 イマザピック

- 255.1 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29による。

256 イマザピル

- 256.1 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29による。

257 エスプロカルブ

- 257.1 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30による。

258 カフェンストロール

- 258.1 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30による。

259 α -R-デルタメトリン

- 259.1 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。

260 ピラゾキシフェン

- 260.1 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30による。

261 ピラゾリネート

- 261.1 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30による。

262 フサライド

262.1 フサライドのガス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：稲わら、稲発酵粗飼料及び粃米)

A 試薬の調製

- 1) フサライド標準液 フサライド [$C_8H_2Cl_4O_2$] 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フサライド標準原液を調製する（この液 1 mL は、フサライドとして 0.5 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液 2 mL を 50 mL の全量フラスコに正確に入れ、更に標線までアセトンを加えて、1 mL 中にフサライドとして 20 μ g を含有する液を調製する。この液の一定量を希釈溶媒で正確に希釈し、1 mL 中にフサライドとして 0.002~0.2 μ g を含有する数点のフサライド標準液を調製する。

- 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 とし、更にこの液 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 10.0 g を量って 300 mL の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 4 mL を 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、40 $^{\circ}$ C 以下の水浴で約 1 mL 以下まで減圧濃縮した後、水 5 mL 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（10 mL 保持用）^{注1}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 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させてフサライドを溶出させる。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 $^{\circ}$ 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 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（800 mg）^{注2}をヘキサン 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。試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 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。更にヘキサノーリエチルエーテル（24+1）20 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、ヘキサン-アセトン（19+1）10 mL を加えてフサライドを溶出させる。

溶出液を 40 $^{\circ}$ 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 5 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希釈溶媒で正確に希釈（稲わら 50 倍、稲発酵粗飼料 25 倍、粳米 4 倍）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 試料溶液及び各フサライド標準液各 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）

キャリアーガス：He（1.0 mL/min）

試料導入法：スプリットレス（120 s）

試料導入部温度：250 $^{\circ}$ C

カラム槽温度：初期温度 70 $^{\circ}$ C（2 min 保持）→昇温 20 $^{\circ}$ C/min→280 $^{\circ}$ C（10 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：250 $^{\circ}$ 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 243（定量）、272（確認）

計算 得られた選択イオン検出クロマトグラムからフサライドのピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のフサライド量を算出する。

注 1 InertSep K-Solute（10 mL 保持用）（ジーエルサイエンス製）又はこれと同等のもの

2 Presep-C Florisil Cartridge（充てん剤量 800 mg）（和光純薬工業製）又はこれと同等のもの

3 5975C（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 _r (%)
稲わら	6.5	3	92.1	3.4
	13	3	89.0	3.4
	130	3	88.1	0.9
稲発酵粗飼料	1.5	3	90.5	4.0
	3.0	3	92.0	2.9
	30	3	93.9	0.4
粳米	0.5	3	92.8	2.1
	10	3	102	1.4

・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
稲わら	9	0	130	100	2.1	6.3	0.83
稲発酵粗飼料	9	0	30	93.7	1.8	3.8	0.40
粃米	9	0	1	94.9	5.0	7.4	0.46

- ・ 定量下限 稲わら：試料中 7 mg/kg、稲発酵粗飼料：試料（風乾物）中 3 mg/kg、粃米：試料中 0.5 mg/kg
- ・ 検出下限 稲わら：試料中 2 mg/kg、稲発酵粗飼料：試料（風乾物）中 1 mg/kg、粃米：試料中 0.2 mg/kg

263 プロフェジン

263.1 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30による。

264 メタミドホス

264.1 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。

265 プロクロラズ

265.1 プロクロラズのガスクロマトグラフ質量分析計による単成分分析法^{注1}
(適用範囲：稲わら、稲発酵粗飼料及び粃米)

A 試薬の調製

- 1) 2,4,6-トリクロロフェノール標準液 2,4,6-トリクロロフェノール [C₆H₂Cl₃OH] 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 2,4,6-トリクロロフェノール標準原液を調製する（この液 1 mL は 2,4,6-トリクロロフェノールとして 0.5 mg を含有する。）。

使用に際して、2,4,6-トリクロロフェノール標準原液の一定量をアセトンで正確に希釈し、1 mL 中に 2,4,6-トリクロロフェノールとして 5 µg を含有する液を調製する。更にこの液の一定量をヘキサンで正確に希釈し、1 mL 中に 2,4,6-トリクロロフェノールとして 0.0002~0.1 µg を含有する数点の 2,4,6-トリクロロフェノール標準液を調製する。

- 2) 検量線作成用標準液 各 2,4,6-トリクロロフェノール標準液 1 mL をバイアル瓶に正確に入れ、*N,O*-ビス（トリメチルシリル）トリフルオロアセトアミド^{注2} 50 µL を加えて混合し、各検量線作成用標準液を調製する。

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（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 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 3 mL まで減圧濃縮し、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 (20 mL 保持用)^{注3} に入れた後、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酢酸エチル 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てプロクロラズを溶出させる。更に酢酸エチル 100 mL をカラムに加えて同様に溶出させる。

溶出液にアセトン-ジエチレングリコール (49+1) 1 mL を加え、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す形フラスコを酢酸エチル 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同溶媒を加えて分解に供する試料溶液とする。

分解 試料溶液 1 mL を反応管^{注4}に正確に入れ、40 °C 以下で加温しながら窒素ガスを送って乾固させる。残留物に塩化ピリジニウム 1 g を加え、反応管内を減圧した後密封する。これを 200 °C で 3 時間加熱した後放冷し、ヘキサン転溶に供する。

ヘキサン転溶 反応管に塩酸 (1+50) 5 mL を加えて内容物を溶かし、この液を 50 mL の共栓遠心沈殿管に入れる。反応管を塩酸 (1+50) 5 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次共栓遠心沈殿管に加える。ヘキサン 4 mL を共栓遠心沈殿管に正確に加え、5 分間振り混ぜる。1,000×g で 5 分間遠心分離し、更にヘキサン層 (上層) の一定量を 5,000×g で 5 分間遠心分離する。

上澄み液 1 mL をバイアル瓶に正確に入れ、*N,O*-ビス (トリメチルシリル) トリフルオロアセトアミド^{注2} 50 µL を加えて混合し、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 試料溶液及び各検量線作成用標準液各 2 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

カラム : 熔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 (1.5 mL/min、初期流量)

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 50 °C (1 min 保持) → 昇温 20 °C/min → 280 °C (10 min 保持)

検 出 器：四重極型質量分析計^{注5}

インターフェース温度：250 °C

イオン源温度：230 °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 253 (定量)、217 (確認)

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 2,4,6-トリクロロフェノール量を算出し、これに 1.91 を乗じて試料中のプロクロラズ量を算出する。

注 1 本法では、試料中のプロクロラズ、*N*-ホルミル-*N'*-1-プロピル-*N'*- [2-(2,4,6-トリクロロフェノキシ) エチル] 尿素及び *N*-プロピル-*N'*- [2-(2,4,6-トリクロロフェノキシ) エチル] 尿素を 2,4,6-トリクロロフェノールに分解し、試料中のプロクロラズ、プロクロラズに換算した *N*-ホルミル-*N'*-1-プロピル-*N'*- [2-(2,4,6-トリクロロフェノキシ) エチル] 尿素、プロクロラズに換算した *N*-プロピル-*N'*- [2-(2,4,6-トリクロロフェノキシ) エチル] 尿素及びプロクロラズに換算した 2,4,6-トリクロロフェノールの総和として定量する。

2 ガスクロマトグラフ用試薬又はこれと同等のもの

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

4 Vacuum Hydrolysis Tube (19 × 100 mm Wilmad-LabGlass 製) 又はこれと同等のもの

5 GCMS-2010 (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

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 (%)
2,4,6-トリクロロフェ ノール	稲わら	0.01	5	109	4.3
		0.1	5	99.3	3.0
	稲発酵粗飼料	0.004	5	117	6.4
		0.04	5	110	12
		0.01	5	117	6.4
プロクロラズ	稲わら	0.02	5	114	12
		0.2	5	109	11
	稲発酵粗飼料	0.009	5	108	13
		0.09	5	117	4.8
		0.02	5	102	15
0.02	5	101	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 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
稲わら	10	1	0.2	99.1	10	14	0.68
稲発酵粗飼料	10	1	0.2 ^注	101	4.3	18	0.91
粃米	10	1	2	97.6	4.6	18	1.2

注 分析試料（風乾物）に対する添加濃度

- ・定量下限 試料（稲発酵粗飼料は風乾物）中 0.02 mg/kg
- ・検出下限 試料（稲発酵粗飼料は風乾物）中 0.006 mg/kg

266 プロモブチド脱臭素体

266.1 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。

267 フェリムゾン（フェリムゾン E 体及びフェリムゾン Z 体）

267.1 フェリムゾ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^{注1}

（適用範囲：稲わら、稲発酵粗飼料及び粃米）

A 試薬の調製

- 1) フェリムゾン E 体標準原液 フェリムゾン E 体 [C₁₅H₁₈N₄] を 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てフェリムゾン E 体標準原液を調製する（この液 1 mL は、フェリムゾン E 体として 0.5 mg を含有する。）。
- 2) フェリムゾン Z 体標準原液 フェリムゾン Z 体 [C₁₅H₁₈N₄] を 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てフェリムゾン Z 体標準原液を調製する（この液 1 mL は、フェリムゾン Z 体として 0.5 mg を含有する。）。
- 3) 混合標準液 使用に際して、フェリムゾン E 体標準原液及びフェリムゾン Z 体標準原液各 1 mL を 50 mL の褐色全量フラスコに正確に入れ、更に標線までアセトンを加えて、1 mL 中にフェリムゾン E 体及び Z 体としてそれぞれ 10 µg を含有する混合標準原液を調製する。さらに、混合標準原液の一定量をアセトニトリル-水 (3+2) で正確に希釈し、1 mL 中にフェリムゾン E 体及び Z 体としてそれぞれ 0.1~50 ng を含有する各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。この液の一部をアセトンで正確に 10 倍希釈した後、希釈液 2 mL を 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、水 20 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^{注2} オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg)^{注3} をアセトニトリル 5 mL 及び水 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。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、同様に流出させる。

10 mL の褐色全量フラスコをミニカラムの下に置き、アセトニトリル-水 (3+2) 9 mL をミニカラムに加えて、フェリムゾン^Eを溶出させる。さらに、褐色全量フラスコの標線まで同溶媒を加えた後、この液の一定量を 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 : 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 100 mm、粒径 3 µm)^{注4}

溶離液 : 2 mmol/L 酢酸アンモニウム-アセトニトリル (13+7) (14 min 保持) → 1 min → (1+9) (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法 (正イオンモード)

ネブライザーガス : N₂ (1.5 L/min)

乾燥ガス : N₂ (10 L/min)

ヒートブロック温度 : 350 °C

D L 温度 : 150 °C

コリジョンガス : Ar (230 kPa)

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	モニターイオン (<i>m/z</i>)		コリジョンエネルギー (eV)
	プリカーサー	プロダクト	
フェリムゾン ^E 体及び ^Z 体	255	132 (定量)	21
		91 (確認)	35

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、試料中のフェリムゾン^E体量及びフェリムゾン^Z体量を算出し、その含量をフェリムゾン量とする。

- 注 1 定量操作は遮光した状態で行う。
 2 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。
 3 InertSep Slim-J C18-B (ジーエルサイエンス製) 又はこれと同等のもの
 4 Inertsil ODS-SP (ジーエルサイエンス製) 又はこれと同等のもの
 5 LCMS-8040 (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

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 (%)
フェリムゾンE体	稲わら	0.2	5	89.6	1.8
		20	5	83.5	2.3
	稲発酵粗飼料	0.1	5	90.9	5.2
		9	5	84.3	0.7
	粳米	0.2	5	85.4	7.4
		5	5	88.2	2.0
フェリムゾンZ体	稲わら	0.2	5	89.3	8.0
		20	5	88.9	1.3
	稲発酵粗飼料	0.1	5	94.5	3.7
		9	5	92.2	2.4
	粳米	0.2	5	90.5	4.6
		5	5	91.7	1.4

- ・ 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 _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
フェリムゾンE体	稲わら	9	2	2	85.6	3.3	3.3	0.22
		11	0	20	91.2	5.9	10	1.0
	稲発酵粗飼料	11	0	5	91.0	2.6	7.2	0.56
		10	1	30	92.2	1.7	6.2	0.64
	粳米	9	2	0.5	94.1	2.5	3.9	0.22
		11	0	10	96.0	3.7	5.0	0.43
フェリムゾンZ体	稲わら	9	2	2	91.8	3.3	3.3	0.22
		10	1	20	93.7	2.5	6.6	0.64
	稲発酵粗飼料	11	0	5	96.0	2.3	6.0	0.48
		11	0	30	96.4	4.8	5.9	0.62
	粳米	10	1	0.5	95.2	1.7	5.0	0.28
		10	1	10	97.3	1.3	2.8	0.25

注 分析試料 (風乾物) に対する添加濃度

- ・ 定量下限 試料 (稲発酵粗飼料は風乾物) 中 各 0.2 mg/kg
- ・ 検出下限 試料 (稲発酵粗飼料は風乾物) 中 各 0.04 mg/kg

268 ヒドロキシイソキサゾール

268.1 ヒドロキシイソキサゾールの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: 稲わら及び粳米)

A 試薬の調製

ヒドロキシイソキサゾール標準液 ヒドロキシイソキサゾール [C₄H₅NO₂] 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ヒドロキシイソキサゾール標準原液を調製する（この液 1 mL は、ヒドロキシイソキサゾールとして 0.5 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一定量を水で正確に希釈し、1 mL 中にヒドロキシイソキサゾールとして 5~400 ng を含有する数点のヒドロキシイソキサゾール標準液を調製する。

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（粳米は 20 mL）を加え、30 分間静置後、更にアセトン 120 mL（粳米は 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、抽出液をガラス繊維ろ紙^{注1}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。さらに、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 50 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（試料が粳米である場合は 2 mL）以下まで減圧濃縮し、液液分配に供する試料溶液とする。

液液分配 試料溶液を、あらかじめ塩化ナトリウム 5 g 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 2 %炭酸水素ナトリウム溶液 40 mL で洗浄し、洗液を分液漏斗 A に合わせる。さらに、ヘキサン 40 mL で洗浄し、同様に洗液を分液漏斗 A に合わせる。分液漏斗 A を 5 分間振り混ぜた後静置し、水層（下層）を 300 mL の分液漏斗 B に入れる。6 mol/L 塩酸適量を分析漏斗 B に加え、pH を 2 以下とした後、更にジエチルエーテル 100 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 C に、ジエチルエーテル層（上層）を 300 mL の三角フラスコに入れる。ジエチルエーテル 50 mL を分液漏斗 C に入れ、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、15 分静置した後、300 mL のなす形フラスコにろ紙（5 種 A）でろ過する。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（5 種 A）を通してろ液を合わせる。ろ液に水 2 mL を加え、40 °C 以下の水浴で約 2 mL まで減圧濃縮し、窒素ガスを送ってジエチルエーテルを除去した後、少量の水で 5 mL の全量フラスコに移す。先のなす形フラスコを少量の水で洗浄し、洗液を合わせた後、更に標線まで水を加える。この液の一定量を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 試料溶液及び各ヒドロキシイソキサゾール標準液各 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：ポリビニルアルコールカラム（内径 4.6 mm、長さ 150 mm、粒径 5 μm）^{注2}

溶 離 液：0.1 v/v%ギ酸-メタノール (3+2)

流 速：0.2 mL/min

カラム槽温度：40 °C

(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)

ネブライザーガス：窒素 (1.5 L/min)

乾燥ガス：窒素 (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 100

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、試料中のヒドロキシイソキサゾール量を算出する。

注 1 GFP-95 (桐山製作所製) 又はこれと同等のもの

2 MSpak GF-310 4D (昭和電工製) 又はこれと同等のもの

3 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 _f (%)
稲わら1	0.05	5	89.7	4.7
	1	5	71.4	9.9
稲わら2	0.05	5	78.7	9.6
	1	5	80.0	11
粳米1	0.05	5	86.9	2.9
	0.5	5	95.5	9.8
粳米2	0.05	5	94.1	7.2
	0.5	5	82.2	7.6

・ 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 (%)	繰返し精度 RSD _f (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
稲わら1	8	0	0.5	69.9	4.4	9.6	0.51
稲わら1	8	0	1	68.8	3.9	7.9	0.47
稲わら2	8	0	1.5	69.2	4.0	9.6	0.60
粳米1	8	0	0.1	78.5	6.1	13	0.60
粳米2	8	0	0.25	78.3	5.2	9.0	0.44
粳米3	8	0	1	77.9	6.3	9.9	0.60

・ 定量下限 試料中 0.05 mg/kg

・ 検出下限 試料中 0.02 mg/kg