220　プロパニル

220.1　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。

221　プロパルギット

221.1　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。

222　プロピコナゾール

222.1　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。

222.2　トリアゾール系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法

第 3 節 6 による。

223　プロファム

223.1　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。

224　プロフェノホス

224.1　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。

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

第 3 節 10 による。

225　プロペタンホス

225.1　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。

226　プロポキスル

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

第 3 節 2 による。

226.2　カーバメート系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法

第 3 節 4 による。

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

第 3 節 12 による。

227　プロメトリン

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

第3節14による。

228　ブロモキシニル

228.1　ガスクロマトグラフ法

A　試薬の調製

ブロモキシニル標準液　ブロモキシニル〔$C_7H_3Br_2NO$〕25 mgを0.01 mgの桁まで量り、その数値を記録し、50 mLの全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えてブロモキシニル標準原液を調製する（この液1 mLは、ブロモキシニルとして0.5 mgを含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部をアセトンで正確に希釈し、1 mL中にブロモキシニルとして1.0 μgを含有するブロモキシニル標準液を調製する。

B　定　量

抽　出　分析試料10 gを0.01 gの桁まで量り、その数値を記録し、200 mLの共栓三角フラスコに入れ、水20 mL及び塩酸（1 mol/L）5 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。200mL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た後、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5 mLまで減圧濃縮し、加水分解に供する試料溶液とする。

加水分解　試料溶液にメタノール50 mL及びアンモニア水10 mLを加え、ときどき軽く振り混ぜながら室温で60分間静置する。この液を40 °C以下の水浴で約10 mLまで減圧濃縮し、ジエチルエーテル洗浄及び転溶に供する試料溶液とする。

ジエチルエーテル洗浄及び転溶　試料溶液を300 mLの分液漏斗Aに入れ、炭酸水素ナトリウム溶液（4 w/v%）100 mL及びジエチルエーテル50 mL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、分液漏斗Bにジエチルエーテル50 mLを加え、5分間振り混ぜた後静置する。

水層を500 mLの分液漏斗Cに入れ、塩酸（6 mol/L）15 mLを少量ずつ加えてpHを2以下に調整した後、発泡が収まるまで20分程度静置する。分液漏斗Cにジエチルエーテル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Dに入れ、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。分液漏斗Dにジエチルエーテル50 mLを加え、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B）でろ過した後、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した後、アセトン 2 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　試料溶液にメタノール 1 mL 及びトリメチルシリルジアゾメタン液 0.5 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、ブロモキシニルをメチル化する。この液にアセトン－ジエチレングリコール（49+1）50 µL を加え、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。

同時に、ブロモキシニル標準液 2 mL を 50 mL のなし形フラスコに正確に入れ、以下同様にメチル化の操作を行った後、ヘキサン 10 mL を正確に加えて残留物を溶かす。この液の一部をヘキサンで正確に希釈し、1 mL 中にブロモキシニルとして 2~200 ng 相当量を含有する数点の標準液を調製する。

カラム処理　合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910 mg）[注1]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下で流出させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 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 のなし形フラスコをミニカラムの下に置き、ヘキサン－アセトン（99+1）20 mL をミニカラムに加えてブロモキシニルのメチル化物を溶出させる。溶出液にアセトン－ジエチレングリコール（49+1）50 µL 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。

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。

ガスクロマトグラフィー　試料溶液及び各標準液各 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（6 %シアノプロピルフェニル－94 %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 1.8 µm）[注2]

キャリヤーガス：He（5 mL/min）

メイクアップガス：N_2（60 mL/min）

試料導入法：スプリットレス（60 s）

試料導入部温度：250 °C

カラム槽温度：80 °C（2 min 保持）→昇温 10 °C/min→260 °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を求めて検量線を作成し、試料中のブロモキシニル量を算出する。

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

2　DB-624（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの

（参考）分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度（mg/kg）	繰返し	添加回収率（%）	繰返し精度 RSD_r（%）
成鶏飼育用配合飼料	0.02	3	106.8	2.6
	0.2	3	104.0	3.2
肉用牛肥育用配合飼料	0.02	3	98.8	11.8
	0.2	3	95.7	8.1
とうもろこし	0.02	3	98.7	7.5
	0.2	3	96.5	7.0
アルファルファ	0.01	3	97.6	9.1
	0.1	3	79.8	4.8

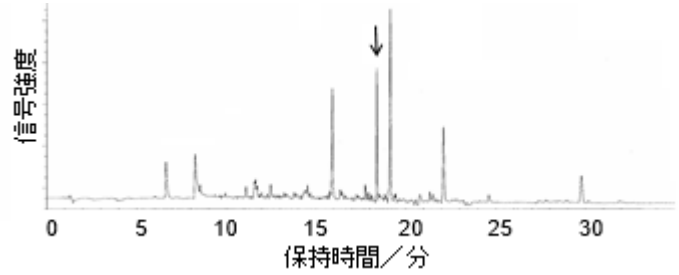
・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度（mg/kg）	添加回収率（%）	室内繰返し精度 RSD_r（%）	室間再現精度 RSD_R（%）	HorRat
とうもろこし	7	0	0.2	90.7	3.1	7.3	0.35
チモシー	7	0	0.1	95.4	4.9	12	0.56

・定量下限（単一試験室による確認）　試料中　0.005 mg/kg

・検出下限（単一試験室による確認）　試料中　0.002 mg/kg

（参考）クロマトグラム例



添加試料（アルファルファにブロモキシニルとして 0.1 mg/kg 相当量添加）のクロマトグラム

229　ブロモブチド

229.1　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。

230　ブロモブチド脱臭素体

230.1　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。

231　ブロモプロピレート

231.1　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。

232　ブロモホス

232.1　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。

233　ヘキサクロロベンゼン

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

第 2 節 3 による。

234　ヘキサコナゾール

234.1　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。

235　ベノキサコール

235.1　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。

236　ベノミル（カルベンダジム、チオファネートメチル及びベノミル）

236.1　チオファネートその他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 35 による。

236.2　液体クロマトグラフ質量分析計法[注 1]

63.2 による。

注 1　ベノミルは、カルベンダジムとしての量に換算され、カルベンダジム、カルベンダジムに換算したチオファネートメチル及びカルベンダジムに換算したベノミルの総和として定量される。

236.3　液体クロマトグラフ法

A　試薬の調製

カルベンダジム標準液　カルベンダジム〔$C_9H_9N_3O_2$〕20 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の全量フラスコに入れ、ジクロロメタン－メタノール（193+7）を加えて溶かし、更に標線までジクロロメタン－メタノール（193+7）を加えてカルベンダジム標準原液とする（この液 1 mL は、カルベンダジムとして 0.2 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部をジクロロメタン－メタノール（193+7）で正確に希釈し、1 mL 中にカルベンダジムとして 0.25~2 μg を含有する数点のカルベンダジム標準液を調製する。

B　定　　量

抽　　出　分析試料 10~20 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、300 mL の分液漏斗に入れ、メタノール－水（1+1）100 mL を加え、30 分間振り混ぜて

抽出する（ベノミルは抽出液中にカルベンダジムとして存在する。）[注1]。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、先の分液漏斗及び残さを順次メタノール－水（1+1）25 mL で 2 回洗浄し、同様に吸引ろ過する。更にメタノールを全量フラスコの標線まで加えた後、この液 50~100 mL を正確に 300 mL のなす形フラスコに入れ、50 °C 以下の水浴で約 10 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2]に入れ、試料溶液の入っていたなす形フラスコを少量の水で洗浄し、洗液をカラムに加え、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、ジクロロメタン－ヘキサン（1+1）100 mL をカラムに加えてカルベンダジムを溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮し、窒素ガスを送って乾固し、得られた残留物を精製に供する。

精　製　残留物をジクロロメタン 50 mL で 100 mL の分液漏斗 A に移し、更に、残留物の入っていたなす形フラスコを塩酸（0.1 mol/L）25 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 分間振り混ぜた後静置し、ジクロロメタン層（下層）を 100 mL の分液漏斗 B に入れ、塩酸層（上層）を 100 mL のトールビーカーに入れる。分液漏斗 A を少量の塩酸（0.1 mol/L）で洗浄し、洗液をトールビーカーに合わせる。分液漏斗 B に塩酸（0.1 mol/L）25 mL を加えて 5 分間振り混ぜた後静置し、ジクロロメタン層を捨て塩酸層を先のトールビーカーに合わせる。

塩酸層の pH を水酸化ナトリウム溶液（1 mol/L）で 6.5 に調整した後、塩酸層を 300 mL の分液漏斗 C に入れる。先のトールビーカーをジクロロメタン 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し、ジクロロメタン層（下層）を三角フラスコに入れる。分液漏斗 C にジクロロメタン 50 mL を加え、同様に操作し、ジクロロメタン層を先の三角フラスコに合わせる。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、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。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。

ジクロロメタン－メタノール（193+7）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　試料溶液及び各カルベンダジム標準液各 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：285 nm、蛍光波長：315 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3]

溶　離　液：ジクロロメタン－メタノール（193+7）

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、次式により試料中のベノミル〔$C_{14}H_{18}N_4O_3$〕量を算出する。

試料中のベノミル量（μg/kg）$=A\times1.52\times20$

A ：検量線から求めたカルベンダジムの質量（ng）

注 1　本法では、試料中にカルベンダジムが含まれている場合には、カルベンダジムがベノミルと同様に抽出され、試料中のベノミル量に含まれる可能性がある。

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

3　Nucleosil 50-5（Macherey-Nagel 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

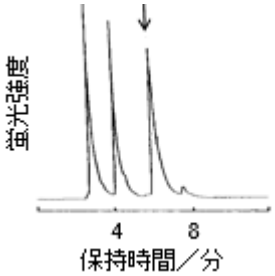
試料の種類	添加濃度（mg/kg）	繰返し	添加回収率（%）	繰返し精度 RSD_r（%）
ブロイラー肥育後期用配合飼料	0.2	3	92.0	8.0
	0.5	3	96.7	2.4
	1	3	96.1	8.8
とうもろこし	0.2	3	98.8	0.8
	0.5	3	101	1.1
	1	3	99.7	7.8
スーダングラス	0.2	3	104	5.7
	0.5	3	97.9	1.9
	1	3	90.1	11

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度（mg/kg）	添加回収率（%）	室内繰返し精度 RSD_r（%）	室間再現精度 RSD_R（%）	HorRat
ブロイラー後期用配合飼料	6	0	0.2	97.8	4.6	6.6	0.32

・定量下限（単一試験室による確認）　　試料中　0.02 mg/kg

（参考）クロマトグラム例



添加試料（配合飼料にベノミルとして 0.5 mg/kg 相当量添加）のクロマトグラム

237　ヘプタクロル（ヘプタクロル及びヘプタクロルエポキシド）

237.1　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。

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

第 2 節 3 による。

237.3　有機塩素系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法

第 3 節 7 による。

238　ヘプタクロルエポキシド

238.1　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。

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

第 2 節 3 による。

238.3　有機塩素系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法

第 3 節 7 による。

239　ペルメトリン（*cis*-ペルメトリン及び *trans*-ペルメトリン）

239.1　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。

239.2　ピレスロイド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法

第 2 節 2 による。

239.3　フェンバレレート及びペルメトリンのガスクロマトグラフによる同時分析法

第 3 節 32 による。

240　ペンコナゾール

240.1　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。

241　ペンシクロン

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 21 による。

242　ベンスルタップ（カルタップ、チオシクラム及びベンスルタップ）

242.1　液体クロマトグラフ質量分析計法[注 1]

59.1 による。

注 1　ベンスルタップは、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。

243　ベンスルフロンメチル

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

第 3 節 33 による。

244　ベンゾフェナップ

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

第 3 節 21 による。

245　ベンダイオカルブ

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

第 3 節 2 による。

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

第 3 節 3 による。

246　ベンタゾン

246.1　ガスクロマトグラフ法

A　試薬の調製

ベンタゾン標準原液　ベンタゾン〔$C_{10}H_{12}N_2O_3S$〕25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の褐色全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えてベンタゾン標準原液を調製する（この液 1 mL は、ベンタゾンとして 0.5 mg を含有する。）。

B　定　量[注1]

抽　出　分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、水 15 mL を加えて潤し、30 分間静置後、更にメタノール 100 mL を加え、60 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後、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、この液 80 mL を 200 mL のなす形フラスコに入れ、40 °C 以下の水浴で約 5 mL まで減圧濃縮し、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、塩化ナトリウム溶液（5 w/v%）50 mL、水酸化ナトリウム溶液（1 mol/L）4 mL 及びヘキサン－酢酸エチル（1+1）50 mL を分液漏斗 A に加え、穏やかに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－酢酸エチル（1+1）50 mL を加え、同様に振り混ぜた後静置する。水層を分液漏斗 C に入れ、塩酸（6 mol/L）2 mL 及びヘキサン－酢酸エチル（1+1）100 mL を加え、5 分間激しく振り混ぜた後静置する。水層を 300 mL の分液漏斗 D に入れ、ヘキサン－酢酸エチル（1+1）

層（上層）を 300 mL の褐色三角フラスコに入れる。分液漏斗 D にヘキサン－酢酸エチル（1+1）50 mL を加え、5 分間激しく振り混ぜた後静置し、ヘキサン－酢酸エチル（1+1）層を先の褐色三角フラスコに合わせる。ヘキサン－酢酸エチル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 B）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－酢酸エチル（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 まで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

メタノール 1 mL を加えて残留物を溶かし、誘導体化に供する試料溶液とする。

誘導体化　試料溶液にトリメチルシリルジアゾメタン液 0.5 mL を加えた後、試料溶液の入っているなす形フラスコを密栓して室温で 30 分間静置し、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。

標準原液の誘導体化　ベンタゾン標準原液 1 mL を 100 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した後、メタノール 1 mL を加えて残留物を溶かし、トリメチルシリルジアゾメタン液 0.5 mL を加える。先のなす形フラスコを密栓し、室温で 30 分間静置し、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、更にアセトンで正確に希釈し、1 mL 中にベンタゾンとして 0.02~1.2 μg 相当量を含有する数点の標準液を調製する。

カラム処理　シリカゲルミニカラム（690 mg）[注2]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。更にヘキサン－ジエチルエーテル（49+1）10 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－ジエチルエーテル（19+1）20 mL をミニカラムに加えてベンタゾン誘導体化物を溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

アセトン 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。

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：窒素リン検出器

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 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm）[注3]

キャリヤーガス：He（2.5 mL/min）

メイクアップガス：He（2 mL/min）

燃　料　ガ　ス：H_2（3 mL/min）

助　燃　ガ　ス：乾燥空気（60 mL/min）

試　料　導　入　法：スプリットレス（60 s）
試料導入部温度：250 °C
カ ラ ム 槽 温 度：70 °C（1 min 保持）→昇温 20 °C/min→280 °C（4 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、試料中のベンタゾン量を算出する。

注 1　定量操作は遮光した状態で行う。
2　Sep-Pak Plus Silica Cartridge（Waters 製）に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの
3　DB-5（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの

（参考）分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

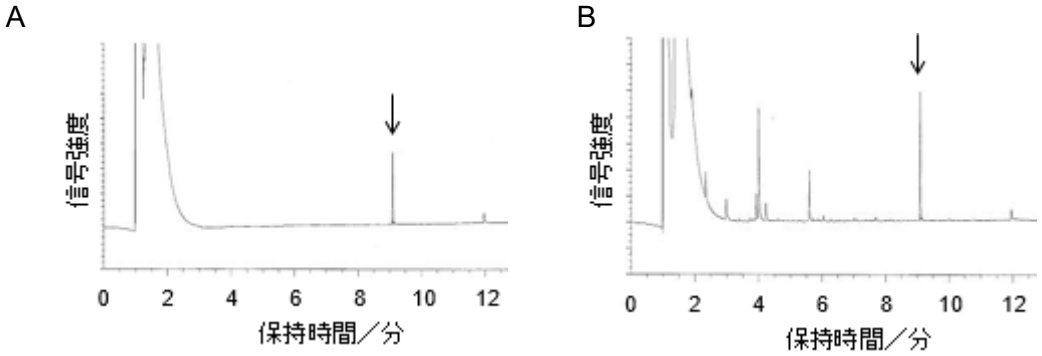
試料の種類	添加濃度（mg/kg）	繰返し	添加回収率（%）	繰返し精度 RSD_r（%）
幼すう育成用配合飼料	0.05	3	91.8	6.8
	0.5	3	89.4	7.8
ほ乳期子牛育成用配合飼料	0.05	3	91.6	7.5
	0.5	3	95.4	1.4
チモシー	0.05	3	86.4	3.7
	0.5	3	83.5	2.7
ライグラス	0.05	3	88.1	7.7
	0.5	3	85.3	5.9

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度（mg/kg）	添加回収率（%）	室内繰返し精度 RSD_r（%）	室間再現精度 RSD_R（%）	HorRat
ブロイラー肥育後期用配合飼料	7	0	0.5	96.0	12	13	0.74
ライグラス	7	0	0.5	90.3	5.4	11	0.60

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

（参考）クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A：標準液（ベンタゾンとして 0.4 µg 注入）
B：添加試料（幼すう育成用配合飼料にベンタゾンとして 0.5 mg/kg 相当量添加）

247　ペンディメタリン

247.1　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。

248　ベンフルラリン

248.1　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。

249　ベンフレセート

249.1　シハロホップブチル及びベンフレセートの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法

（適用範囲：稲発酵粗飼料）

第 3 節 29 による。

249.2　シハロホップブチル及びベンフレセートのガスクロマトグラフ質量分析計による同時分析法

（適用範囲：稲わら及び籾米）

第 3 節 30 による。

250　ホキシム

250.1　液体クロマトグラフ法

A　試薬の調製

1)　ホキシム標準液　ホキシム〔$C_{12}H_{15}N_2O_3PS$〕25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えてホキシム標準原液を調製する（この液 1 mL は、ホキシムとして 0.5 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部をメタノールで正確に希釈し、1 mL 中にホキシムとして 0.05~5 µg を含有する数点のホキシム標準液を調製する。

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））[注1]をアセトンで洗浄した後、風乾し、130 °C で 16 時間乾燥する。

B　定　量

抽　出　分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 15 mL を加えて潤した後 15 分間静置し、アセトン 80 mL（乾牧草は 120 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 以下の水浴で約 15 mL まで減圧濃縮し、塩化ナトリウム 5 g（4.5~5.4 g）を加えてカラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I　試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム（20 mL 保持用）[注2]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ホキシムを溶出させる。更にヘキサン 70 mL をカラムに加えて同様に溶出させる。

溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。シクロヘキサン－アセトン（4+1）10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター（孔径 0.5 μm）でろ過してカラム処理 II に供する試料溶液とする。

カラム処理 II　試料溶液 5.0 mL をゲル浸透クロマトグラフに注入し、ホキシムが溶出する画分を 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－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 III に供する試料溶液とする。

ゲル浸透クロマトグラフ条件　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：80~100 mL

カラム処理 III　ケイ酸マグネシウム 5 g（4.5~5.5 g）をヘキサンに懸濁させてカラム管（内径 15 mm）に流し込み、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。

200 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、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－ジエチルエーテル（9+1）5 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加える。液面が充てん剤の上端から 3 mm の高さに達するまで流下してホキシムを流出させる。更にヘキサン－ジエチルエーテル（9+1）50 mL を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。

メタノール 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、この溶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　試料溶液及び各ホキシム標準液各 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：284 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3]

溶離液：メタノール－水（7+3）

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、試料中のホキシム量を算出する。

注 1　フロリジル（Floridin 製）又はこれと同等のもの

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

3　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

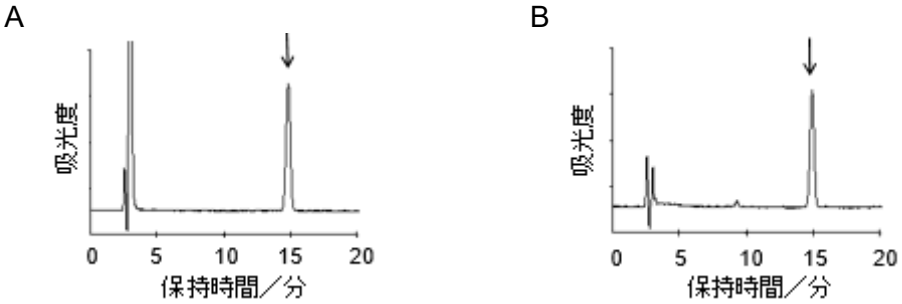
試料の種類	添加濃度（mg/kg）	繰返し	添加回収率（%）	繰返し精度 RSD_r（%）
鶏用配合飼料	0.1	3	88.8	5.1
	0.5	3	88.2	5.4
豚用配合飼料	0.1	3	91.7	4.1
	0.5	3	90.5	2.2
とうもろこし	0.1	3	90.6	4.4
	0.5	3	90.4	2.0
ライグラス	0.1	3	89.7	7.3
	0.5	3	91.6	7.3

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度（mg/kg）	添加回収率（%）	室内繰返し精度 RSD_r（%）	室間再現精度 RSD_R（%）	HorRat
肉用牛肥育用配合飼料	7	0	0.2	89.5	5.9	7.7	0.37

・定量下限（単一試験室による確認）　　試料中　0.025 mg/kg

（参考）クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A：標準液（ホキシムとして 25 ng 注入）

B：添加試料（成鶏飼育用配合飼料にホキシムとして 0.5 mg/kg 相当量添加）

251　ホサロン

251.1　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。

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

第 2 節 4 による。

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

第 2 節 5 による。

252　ホスチアゼート

252.1　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。

253　ホスメット

253.1　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。

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

第 2 節 4 による。

254　ホレート

254.1　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。

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

第 2 節 4 による。

255　マラチオン

255.1　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。

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

第 2 節 4 による。

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

第 2 節 5 による。

256　マンゼブ（ジネブ及びマンゼブ）

256.1　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）

102.1 による。

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、ジネブとしての合量又はマンゼブとしての合量として定量される。

257　ミクロブタニル

257.1　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 27 による。

258　メカルバム

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

第 2 節 4 による。

259　メタクリホス

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　メタミドホス

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

第 3 節 11 による。

261　メタラキシル

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

第 3 節 12 による。

262　メチオカルブ（メチオカルブスルホキシド及びメチオカルブスルホンを含む。）

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

第 3 節 3 による。

263　メチダチオン

263.1　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。

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

第 2 節 4 による。

264　メトキシクロール

264.1　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。

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

第 2 節 3 による。

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

第 2 節 6 による。

265　メトキシフェノジド

265.1　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 23 による。

266　メトプレン

266.1　液体クロマトグラフ法

A　試薬の調製

メトプレン標準液　メトプレン〔$C_{19}H_{34}O_3$〕20 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の全量フラスコに入れ、アセトニトリルを加えて溶かし、更に標線までアセトニトリルを加えてメトプレン標準原液を調製する（この液 1 mL は、メトプレンとして 0.2 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部をアセトニトリルで正確に希釈し、1 mL 中にメトプレンとして 0.02~0.5 μg を含有する数点のメトプレン標準液を調製する。

B　定　量

抽　出　分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリル－水（3+1）20 mL を加えて潤し、15 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 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮し、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）[注1]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 20 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メトプレンを溶出させる。更にヘキサン 60 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。

ヘキサン 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。

カラム処理 II　試料溶液 2 mL を多孔性ケイソウ土ミニカラム（3 mL 保持用）[注2]に正確に入れ、2 分間減圧して溶媒を除去する。あらかじめアセトニトリル 5 mL で洗浄したオクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（360 mg）[注3]を多孔性ケイソウ土ミニカラムの下に連結する。

100 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、ヘキサン飽和アセトニトリル 20 mL をミニカラムに加えてメトプレンを溶出させ、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。

ヘキサン－ジエチルエーテル（19+1）2 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　合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910 mg）[注4]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、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン－ジエチルエーテル（19+1）2 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出させる。更にヘキサン－ジエチルエーテル（19+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－ジエチルエーテル（17+3）10 mL をミニカラムに加えてメトプレンを溶出させる。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 4.6 mm、長さ 250 mm、粒径 5 μm）[注5]
溶　離　液：アセトニトリル－水（7+3）
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の高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のメトプレン量を算出する。

注 1　Chem Elut（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの
2　Extrelut-3（Merck 製）に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの
3　Sep-Pak Plus C_{18} Cartridge（Waters 製）に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの
4　Sep-Pak Plus Florisil Cartridge（Waters 製）に適当な容量のリザーバーを連結したもの又はこれと同等のもの
5　HAIsil C18（Higgins Analytical 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

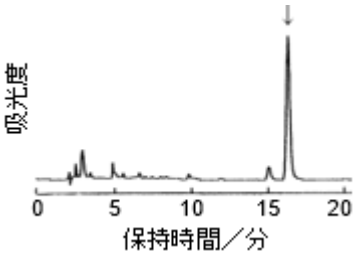
試料の種類	添加濃度（mg/kg）	繰返し	添加回収率（%）	繰返し精度 RSD_r（%）
鶏用配合飼料	0.05	3	91.7	8.5
	0.25	3	96.7	1.6
	0.5	3	99.0	6.1
肉豚肥育用配合飼料	0.05	3	86.0	7.1
	0.25	3	85.7	15
	0.5	3	85.7	0.7
アルファルファ	0.05	3	95.0	3.2
	0.25	3	92.0	3.8
	0.5	3	93.0	4.9

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度（mg/kg）	添加回収率（%）	室内繰返し精度 RSD_r（%）	室間再現精度 RSD_R（%）	HorRat
成鶏飼育用配合飼料	7	0	0.5	91.2	5.5	7.1	0.39

・定量下限（単一試験室による確認）　　試料中　0.05 mg/kg

（参考）クロマトグラム例



添加試料（配合飼料にメトプレンとして 0.5 mg/kg 相当量添加）のクロマトグラム

267　メトミノストロビン（*E* 体）

267.1　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。

268　メトラクロール

268.1　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。

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

第 2 節 3 による。

269　メトルカルブ

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

第 3 節 2 による。

269.2　カーバメート系農薬のガスクロマトグラフによる同時分析法

第 3 節 4 による。

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

第 3 節 12 による。

270　メビンホス

270.1　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。

271　メプロニル

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

第 3 節 21 による。

272　モノクロトホス

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

第 2 節 4 による。

273　モリネート

273.1　ガスクロマトグラフ質量分析計法

A　試薬の調製

モリネート標準液　モリネート〔$C_9H_{17}NOS$〕25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えて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、標準原液の一部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 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、300 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 20 mL（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 100 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[注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）[注2]の下に合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910 mg）[注3]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はずし、ヘキサン－ジエチルエーテル（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。溶出液にアセトン－ジエチレングリコール（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

（ガスクロマトグラフ部）

カラム：溶融石英製キャピラリーカラム（5 %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）[注4]

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）

カラム槽温度：80 °C（1 min 保持）→昇温 20 °C/min→280 °C（10 min 保持）→300 °C（10 min 保持）

（質量分析計部[注5]）

検出器：四重極型質量分析計

イオン化法：電子イオン化（EI）法

インターフェース温度：280 °C

イオン源温度：230 °C

イオン化電圧：70 eV

モニターイオン：定量イオン *m/z* 187、確認イオン *m/z* 126

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

4　Rtx-5ms（Restek 製）又はこれと同等のもの

5　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（%）
鶏用配合飼料	0.1	3	94.1	2.0
	0.3	3	91.9	5.2
牛用配合飼料	0.1	3	95.7	4.1
	0.3	3	90.8	1.4
稲わら	0.03	3	110	2.2
	0.05	3	111	7.6
	0.1	3	110	3.9
	0.3	3	106	3.1
稲発酵粗飼料	0.05	3	108	4.8
	0.1	3	98.5	1.2
	0.3	3	104.0	4.2
籾米	0.03	3	101	12
	0.05	3	95.5	2.4
	0.1	3	96.3	2.8
	0.3	3	96.3	0.4

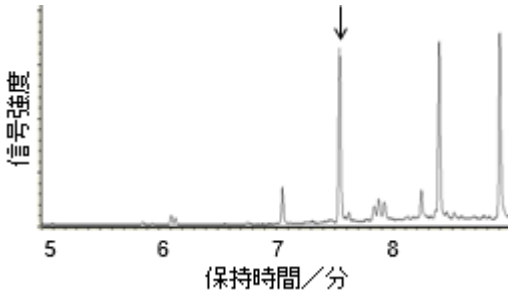
・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度（mg/kg）	添加回収率（%）	室内繰返し精度 RSD_r（%）	室間再現精度 RSD_R（%）	HorRat
乳用牛飼育用配合飼料	7	2	0.1	107	7.4	12	0.54
稲わら	7	2	0.3	105	5.1	16	0.84
籾米	7	2	0.05	103	5.6	11	0.50

・定量下限（単一試験室による確認）　　試料中　0.03 mg/kg

・検出下限（単一試験室による確認）　　試料中　0.01 mg/kg

（参考）クロマトグラム例



添加試料（稲わらにモリネートとして 0.3 mg/kg 相当量添加）
のクロマトグラム

274　リニュロン

274.1　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 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えて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、標準原液の一部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 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコにいれ、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）[注1]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、更にヘキサン 70 mL をカラムに加えて同様に溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

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

カラム処理 II　試料溶液 5.0 mL をゲル浸透クロマトグラフに注入し、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。

ヘキサン－ジエチルエーテル（19+1）10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、カラム処理 III に供する試料溶液とする。

ゲル浸透クロマトグラフィー　例

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

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

溶　離　液：シクロヘキサン-アセトン（4+1）

流　　速：5 mL/min

分 取 画 分：85~105 mL

カラム処理 III　合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910 mg）[注2]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ン－ジエチルエーテル（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、ヘキサン－ジエチルエーテル（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3]

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、試料中のリニュロン量を算出する。

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

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

3　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

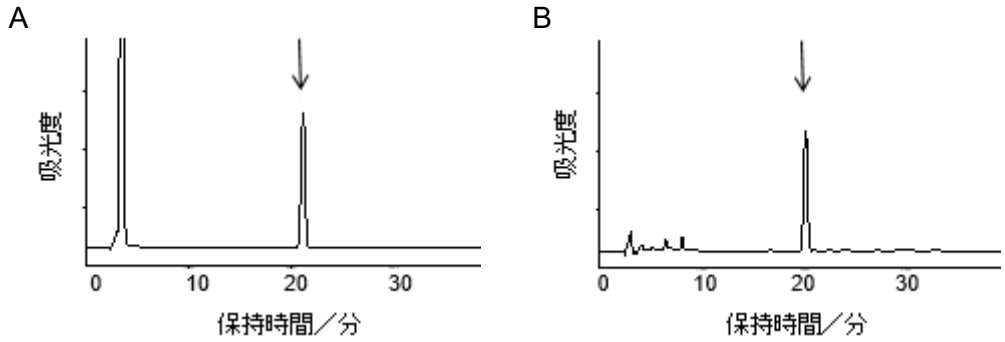
試料の種類	添加濃度（mg/kg）	繰返し	添加回収率（%）	繰返し精度 RSD_r（%）
成鶏飼育用配合飼料	0.1	3	87.9	1.1
	0.5	3	79.3	1.5
牛用配合飼料	0.1	3	79.2	6.4
	0.5	3	82.0	7.4
とうもろこし	0.1	3	85.7	2.5
	0.5	3	80.1	0.1
チモシー	0.1	3	90.5	2.8
	0.5	3	93.4	1.8

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度（mg/kg）	添加回収率（%）	室内繰返し精度 RSD_r（%）	室間再現精度 RSD_R（%）	HorRat
中すう用配合飼料	7	0	0.1	85.6	6.8	8.3	0.38
マイロ	7	0	0.1	89.7	4.4	7.8	0.35

・定量下限（単一試験室による確認）　　試料中　0.01 mg/kg

（参考）クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A：標準液（リニュロンとして 25 ng 注入）

B：添加試料（ブロイラー肥育後期用配合飼料にリニュロンとして 0.5 mg/kg 相当量添加）

275　リン化水素

275.1　吸光光度法

A　　試薬の調製

1)　リン標準液　　リン酸二水素カリウム〔KH_2PO_4〕（デシケーター中で 24 時間以上乾燥したもの）0.439 g を量り、その数値を記録し、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〕としてリン酸二水素カリウム採取量（g）に 0.2276 を乗じた量（mg）を含有する。）。

2)　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 0.1 g の桁まで量り、その数値を記録し、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、空のガス吸収管及び臭素飽和溶液それぞれ 100 mL ずつを入れた 2 本のガス吸収管を気密に連結し、ガス吸収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、ガス吸収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、各リン標準液の各一部について、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〔PH_3〕量を算出する。

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

A ：検量線から求めたリンの質量（μg）

注 1　臭素水（2~3 w/v%）（富士フイルム和光純薬製）又はこれと同等のもの

276　チオファネート

276.1　チオファネートその他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 35 による。