

○飼料分析基準（平成 20 年 4 月 1 日付け 19 消安第 14729 号農林水産省消費・安全局長通知）一部改正案 新旧対照表

（下線部は改正箇所）

| 改正後   | 現 行                   |
|---|-----------------------|
| 目 次   | 目 次                   |
| 第 1 章 通則                                      | 第 1 章 通則              |
| 1～13 〔略〕<br>14 <u>不確かさ</u>                    | 1～13 〔略〕<br>〔新設〕      |
| 第 2 章～第 5 章 〔略〕                               | 第 2 章～第 5 章 〔略〕       |
| 第 6 章 農 薬                                     | 第 6 章 農 薬             |
| 第 1 節 各条<br>1～242 〔略〕                         | 第 1 節 各条<br>1～242 〔略〕 |
| 243 <u>ピメトロジン</u>                             | 〔新設〕                  |
| 第 2 節・第 3 節 〔略〕                               | 第 2 節・第 3 節 〔略〕       |
| 第 7 章～第 20 章 〔略〕                              | 第 7 章～第 20 章 〔略〕      |
| 別表 1  | 別表 1                  |
| 別表 2  | 別表 2                  |
| 別表 3  | 〔新設〕                  |
| 第 1 章 通 則                                     | 第 1 章 通 則             |
| 1～13 〔略〕<br>14 <u>不確かさ</u>                    | 1～13 〔略〕<br>〔新設〕      |
| 本分析基準による分析値に対して不確かさが設定されている成分等は、別表 3 のとおりである。 |                       |
| 第 2 章 〔略〕                                     | 第 2 章 〔略〕             |

| 改正後  | 現 行   |
|--|---|
| <p style="text-align: center;">第 3 章 一般成分及びデタージェント繊維</p> <p>1 〔略〕</p> <p>2 粗たん白質</p> <p>2.1 ケルダール法<sup>注1</sup></p> <p style="padding-left: 40px;">A 試薬の調製 〔略〕</p> <p style="padding-left: 40px;">B 試料溶液の調製 〔略〕</p> <p style="padding-left: 40px;">C 定 量 〔略〕</p> <p>注 1 分析値に対する不確かさは別表 3 のとおりである。<br/>(参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>2.2 燃焼法<sup>注1,2</sup></p> <p style="text-align: center;">定 量</p> <p>分析試料<sup>注3</sup> 100~500 mg を量って、窒素（たん白質）分析装置<sup>注4</sup>に入れ、分析装置を作動させ窒素ガスの検出器応答ピークを得る。</p> <p>同様に検量線作成用試薬<sup>注5</sup>を正確に量って装置に入れ、窒素ガスの検出器応答ピークを得る。得られた応答ピークから面積を求めて検量線を作成し、試料中の窒素〔N〕量を算出し、窒素〔N〕量に 6.25（乳製品及び乳製品の配合割合が 50 %以上のほ乳期子牛育成用代用乳用配合飼料にあつては、6.38）を乗じて試料中の粗たん白質量とする。</p> <p>分析装置の必要条件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>i) 酸素ガス（純度 99.9 %以上）中で試料を熱分解し、反応炉温度が最低 870 °C を保持できる装置</li> <li>ii) 遊離した窒素ガスを他の燃焼生成物から分離可能な装置</li> <li>iii) 窒素酸化物（NO<sub>x</sub>）を窒素ガス（N<sub>2</sub>）に変換する機構を持つこと。もしくは、窒素を NO<sub>2</sub> として測定可能な装置</li> <li>iv) 熱伝導度検出器により、窒素ガスを測定可能な装置</li> </ol> | <p style="text-align: center;">第 3 章 一般成分及びデタージェント繊維</p> <p>1 〔略〕</p> <p>2 粗たん白質</p> <p>2.1 ケルダール法</p> <p style="padding-left: 40px;">A 試薬の調製 〔略〕</p> <p style="padding-left: 40px;">B 試料溶液の調製 〔略〕</p> <p style="padding-left: 40px;">C 定 量 〔略〕</p> <p>〔新設〕</p> <p>(参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>2.2 燃焼法<sup>注1</sup></p> <p style="text-align: center;">定 量</p> <p>分析試料<sup>注2</sup> 100~500 mg を量って、窒素（たん白質）分析装置<sup>注3</sup>に入れ、分析装置を作動させ窒素ガスの検出器応答ピークを得る。</p> <p>同様に検量線作成用試薬<sup>注4</sup>を正確に量って装置に入れ、窒素ガスの検出器応答ピークを得る。得られた応答ピークから面積を求めて検量線を作成し、試料中の窒素〔N〕量を算出し、窒素〔N〕量に 6.25（乳製品及び乳製品の配合割合が 50 %以上のほ乳期子牛育成用代用乳用配合飼料にあつては、6.38）を乗じて試料中の粗たん白質量とする。</p> <p>分析装置の必要条件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>i) 酸素ガス（純度 99.9 %以上）中で試料を熱分解し、反応炉温度が最低 870 °C を保持できる装置</li> <li>ii) 遊離した窒素ガスを他の燃焼生成物から分離可能な装置</li> <li>iii) 窒素酸化物（NO<sub>x</sub>）を窒素ガス（N<sub>2</sub>）に変換する機構を持つこと。もしくは、窒素を NO<sub>2</sub> として測定可能な装置</li> <li>iv) 熱伝導度検出器により、窒素ガスを測定可能な装置</li> </ol> |

| 改正後  | 現 行  |
|--|--|
| <p>注 1 〔略〕<br/> <u>2 分析値に対する不確かさは別表 3 のとおりである。</u><br/> <u>3 〔略〕</u><br/> <u>4 〔略〕</u><br/> <u>5 〔略〕</u><br/> (参考) 分析法バリデーション 〔略〕<br/> 3～8 〔略〕</p> | <p>注 1 〔略〕<br/> 〔新設〕<br/> <u>2 〔略〕</u><br/> <u>3 〔略〕</u><br/> <u>4 〔略〕</u><br/> (参考) 分析法バリデーション 〔略〕<br/> 3～8 〔略〕</p> |
| <p style="text-align: center;">第 4 章 無機成分<br/> (有機態金属化合物を含む)</p>   | <p style="text-align: center;">第 4 章 無機成分<br/> (有機態金属化合物を含む)</p>   |
| <p>第 1 節 各条</p>  | <p>第 1 節 各条</p>  |
| <p>1 カルシウム</p>   | <p>1 カルシウム</p>   |
| <p>1.1 シュウ酸アンモニウム法<sup>注1</sup><br/> A 試薬の調製 〔略〕<br/> B 試料溶液の調製 〔略〕<br/> C 定 量 〔略〕</p>   | <p>1.1 シュウ酸アンモニウム法<br/> A 試薬の調製 〔略〕<br/> B 試料溶液の調製 〔略〕<br/> C 定 量 〔略〕</p>  |
| <p><u>注 1 分析値に対する不確かさは別表 3 のとおりである。</u><br/> (参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p>   | <p>〔新設〕<br/> (参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p>   |
| <p>1.2 原子吸光度光度法<sup>注1,2</sup><br/> A 試薬の調製 〔略〕<br/> B 試料溶液の調製 〔略〕<br/> C 定 量 〔略〕</p>  | <p>1.2 原子吸光度光度法<sup>注1</sup><br/> A 試薬の調製 〔略〕<br/> B 試料溶液の調製 〔略〕<br/> C 定 量 〔略〕</p>                                  |
| <p>注 1 〔略〕<br/> <u>2 分析値に対する不確かさは別表 3 のとおりである。</u><br/> (参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p>  | <p>注 1 〔略〕<br/> 〔新設〕<br/> (参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p>  |
| <p>2 りん (リン) <sup>注1</sup></p>   | <p>2 りん (リン)</p>   |

| 改正後   | 現 行  |
|---|--|
| <p style="text-align: center;">A 試薬の調製〔略〕</p> <p style="text-align: center;">B 試料溶液の調製</p> <p>分析試料 2~10 g を正確に量って<sup>注2</sup> 100 mL のホウケイ酸ガラス製トールビーカーに入れ、穏やかに加熱して炭化させた後、550~600 °C で加熱して灰化した後放冷する。</p> <p>残留物を少量の水で潤し、塩酸 10 mL を徐々に加え、更に水を加えて 30 mL とし、時計皿で覆って 30 分間煮沸した後放冷する。これを水で 250 mL の全量フラスコに移し、標線まで水を加え、ろ紙（6 種）でろ過して試料溶液とする。</p> <p style="text-align: center;">C 定 量〔略〕</p> <p><u>注 1 分析値に対する不確かさは別表 3 のとおりである。</u></p> <p style="text-align: center;">2 〔略〕</p> <p>（参考）分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>3~20 〔略〕</p> <p>第 2 節 〔略〕</p> <p style="text-align: center;">第 5 章 〔略〕</p> <p style="text-align: center;">第 6 章 農 薬</p> <p>第 1 節 各条</p> <p>1 〔略〕</p> <p>2 2,4-D</p> <p>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<sup>注1</sup></p> <p style="text-align: center;">（適用範囲：穀類）</p> <p style="text-align: center;">A 試薬の調製</p> <p>2,4-D 標準液 2,4-D <math>[\text{C}_8\text{H}_6\text{Cl}_2\text{O}_3]</math> 25 mg を正確に量って 50</p> | <p style="text-align: center;">A 試薬の調製〔略〕</p> <p style="text-align: center;">B 試料溶液の調製</p> <p>分析試料 2~10 g を正確に量って<sup>注1</sup> 100 mL のホウケイ酸ガラス製トールビーカーに入れ、穏やかに加熱して炭化させた後、550~600 °C で加熱して灰化した後放冷する。</p> <p>残留物を少量の水で潤し、塩酸 10 mL を徐々に加え、更に水を加えて 30 mL とし、時計皿で覆って 30 分間煮沸した後放冷する。これを水で 250 mL の全量フラスコに移し、標線まで水を加え、ろ紙（6 種）でろ過して試料溶液とする。</p> <p style="text-align: center;">C 定 量〔略〕</p> <p style="text-align: center;">〔新設〕</p> <p><u>注 1 〔略〕</u></p> <p>（参考）分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>3~20 〔略〕</p> <p>第 2 節 〔略〕</p> <p style="text-align: center;">第 5 章 〔略〕</p> <p style="text-align: center;">第 6 章 農 薬</p> <p>第 1 節 各条</p> <p>1 〔略〕</p> <p>2 2,4-D</p> <p style="text-align: center;">〔新設〕</p> |

| 改正後   | 現行 |
|---|----|
| <p><u>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。）。</u></p> <p><u>使用に際して、標準原液の一定量をメタノールーギ酸（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。</u></p> <p style="text-align: center;"><b>B 定 量</b></p> <p><u>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。</u></p> <p><u>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 及び酢酸エチルーヘキサン（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、酢酸エチルーヘキサン層（上層）を 300 mL の三角フラスコに入れる。分液漏斗 A を酢酸エチルーヘキサン（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、酢酸エチルーヘキサン層を先の三角フラスコに合わせる。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、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ーヘキサン（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</u></p> |    |

| 改正後   | 現 行 |
|---|-----|
| <p><u>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。</u></p> <p><u>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<sup>注2</sup>した後、炭酸水素ナトリウム溶液 (0.1 w/v%) 16 mL を加え、カラム処理 I に供する試料溶液とする。</u></p> <p><u>カラム処理 I <sup>注3</sup> オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1 g) <sup>注4</sup>をメタノール 10 mL 及び水 10 mL で順次洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコを炭酸水素ナトリウム溶液 (0.1 w/v%) -メタノール (1+1) 5 mL で洗浄し、洗液をミニカラムに加えて 2,4-D を溶出させ、更に同溶媒 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。</u></p> <p><u>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</u></p> |     |

| 改正後   | 現 行 |
|---|-----|
| <p><u>(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。</u></p> <p><u>カラム処理 II</u> <u>グラファイトカーボン/エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (500 mg/500 mg) <sup>注5</sup> をアセトニトリル-トルエン (3+1) 10 mL で洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。更に、試料溶液の入っていたなす形フラスコをアセトニトリル-トルエン (3+1) 5 mL で洗浄し、洗液をミニカラムに入れ、同様に流出させる。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをアセトニトリル-トルエン-ギ酸 (75+25+1) 5 mL で洗浄し、洗液をミニカラムに加えて 2,4-D を溶出させ、更に同溶媒 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。</u></p> <p><u>液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定</u> <u>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。</u></p> <p><u>測定条件 例</u></p> |     |

| 改正後   | 現 行                         |                             |                            |                         |                             |                             |       |     |     |   |    |    |     |   |     |    |    |  |
|---|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------|-----|-----|---|----|----|-----|---|-----|----|----|--|
| <p>(液体クロマトグラフ部)</p> <p><u>カラム</u> : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 3 μm) <sup>注6</sup></p> <p><u>溶離液</u> : 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)</p> <p><u>流速</u> : 0.2 mL/min</p> <p><u>カラム槽温度</u> : 40 °C</p> <p>(タンデム型質量分析計部<sup>注7</sup>)</p> <p><u>イオン化法</u> : エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (負イオンモード)</p> <p><u>イオン源温度</u> : 150 °C</p> <p><u>デゾルベーション温度</u> : 400 °C</p> <p><u>キャピラリー電圧</u> : 0.6 kV</p> <p><u>コーン電圧</u> : 下表のとおり</p> <p><u>コリジョンエネルギー</u> : 下表のとおり</p> <p><u>モニターイオン</u> : 下表のとおり</p> <p><u>表 モニターイオン条件</u></p> <table border="1" data-bbox="353 1082 1088 1273"> <thead> <tr> <th>測定対象物質</th> <th>プリカーサーイオン<br/>(<u>m/z</u>)</th> <th>プロダクトイオン<br/>(<u>m/z</u>)</th> <th>確認イオン<br/>(<u>m/z</u>)</th> <th>コーン電圧<br/>(<u>V</u>)</th> <th>コリジョンエネルギー<br/>(<u>eV</u>)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">2,4-D</td> <td>219</td> <td>161</td> <td>—</td> <td>28</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>221</td> <td>—</td> <td>163</td> <td>28</td> <td>12</td> </tr> </tbody> </table> <p>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。</p> | 測定対象物質                      | プリカーサーイオン<br>( <u>m/z</u> ) | プロダクトイオン<br>( <u>m/z</u> ) | 確認イオン<br>( <u>m/z</u> ) | コーン電圧<br>( <u>V</u> )       | コリジョンエネルギー<br>( <u>eV</u> ) | 2,4-D | 219 | 161 | — | 28 | 12 | 221 | — | 163 | 28 | 12 |  |
| 測定対象物質  | プリカーサーイオン<br>( <u>m/z</u> ) | プロダクトイオン<br>( <u>m/z</u> )  | 確認イオン<br>( <u>m/z</u> )    | コーン電圧<br>( <u>V</u> )   | コリジョンエネルギー<br>( <u>eV</u> ) |                             |       |     |     |   |    |    |     |   |     |    |    |  |
| 2,4-D   | 219                         | 161                         | —                          | 28                      | 12                          |                             |       |     |     |   |    |    |     |   |     |    |    |  |
|   | 221                         | —                           | 163                        | 28                      | 12                          |                             |       |     |     |   |    |    |     |   |     |    |    |  |

改正後

現行

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<br>(mg/kg) | 繰返し | 添加回収率<br>(%) | 繰返し精度<br>RSD(%) |
|----------|--------|-----------------|-----|--------------|-----------------|
| 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

| 改正後   |        |            |                 |              |                               |                                |        | 現                          | 行 |
|---|--------|------------|-----------------|--------------|-------------------------------|--------------------------------|--------|----------------------------|---|
| 成分名   | 試料の種類  | 有効試<br>験室数 | 添加濃度<br>(mg/kg) | 添加回収率<br>(%) | 繰返し精度<br>RSD <sub>r</sub> (%) | 室間再現精度<br>RSD <sub>R</sub> (%) | 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 [略]   |        |            |                 |              |                               |                                |        | 2.1 [略]                    |   |
| 3～54 [略]  |        |            |                 |              |                               |                                |        | 3～54 [略]                   |   |
| 55 キャプタン  |        |            |                 |              |                               |                                |        | 55 キャプタン                   |   |
| [削る。]   |        |            |                 |              |                               |                                |        | 55.1 <u>ガスクロマトグラフ法</u> [略] |   |
| 55.1 <u>ガスクロマトグラフ法</u>  |        |            |                 |              |                               |                                |        | [新設]                       |   |
| <b>A 試薬の調製</b>  |        |            |                 |              |                               |                                |        |                            |   |
| <u>キャプタン標準液</u> <u>キャプタン [C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>S] 25 mg を正確に量って 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。）。</u>                               |        |            |                 |              |                               |                                |        |                            |   |
| <u>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。</u>   |        |            |                 |              |                               |                                |        |                            |   |
| <b>B 定 量</b>  |        |            |                 |              |                               |                                |        |                            |   |
| <u>抽 出</u> <u>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</u> |        |            |                 |              |                               |                                |        |                            |   |

| 改正後  | 現 行 |
|--|-----|
| <p><u>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。</u></p> <p><u>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) <sup>注1</sup> に入れ、10 分間静置する。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていた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。</u></p> <p><u>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。ヘキサレンジエチルエーテル (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。</u></p> <p><u>ゲル浸透クロマトグラフィー 例</u></p> <p><u>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)</u></p> <p><u>ガードカラム：スチレンジビニルベンゼン共重合体カラ</u></p> |     |

| 改正後   | 現 行 |
|---|-----|
| <p><u>ム (内径 20 mm、長さ 100 mm、粒径 15 <math>\mu\text{m}</math>)</u></p> <p><u>溶 離 液：シクロヘキサン-アセトン (4+1)</u></p> <p><u>流 速：5 mL/min</u></p> <p><u>分 取 画 分：100~120 mL</u></p> <p><u>カラム処理 II グラファイトカーボンミニカラム (500 mg) <sup>注</sup></u><br/> <sup>2</sup> をヘキサン-ジエチルエーテル (1+1) 5 mL で洗浄する。<br/> <u>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ン-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。更にヘキサン-ジエチルエーテル (1+1) 10 mL をミニカラムに加えて同様に流出させ、流出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。ヘキサン 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフィーに供する試料溶液とする<sup>注3</sup>。</u></p> <p><u>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 <math>\mu\text{L}</math> をガスクロマトグラフに注入<sup>注4</sup>し、クロマトグラムを得る。</u></p> <p><u>測定条件 例</u></p> <p><u>検 出 器：電子捕獲検出器</u></p> <p><u>カ ラ ム：溶融石英製キャピラリーカラム</u><br/> <u>(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 <math>\mu\text{m}</math>)</u></p> <p><u>キャリアーガス：He (1.5 mL/min)</u></p> <p><u>メイクアップガス：N<sub>2</sub> (60 mL/min)</u></p> |     |

| 改正後   | 現 行             |                 |              |                               |                               |           |   |   |      |    |     |   |      |     |            |   |   |     |    |     |   |      |     |  |
|---|-----------------|-----------------|--------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------|---|---|------|----|-----|---|------|-----|------------|---|---|-----|----|-----|---|------|-----|--|
| <p><u>試料導入法<sup>注5</sup>：パルスドスプリットレス（345 kPa、60 s）</u></p> <p><u>試料導入部温度：140 °C</u></p> <p><u>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）</u></p> <p><u>検出器温度：300 °C</u></p> <p><u>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。</u></p> <p><u>注 1 Chem Elut、20 mL（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの</u></p> <p><u>2 Envi-Carb（Supelco 製）又はこれと同等のもの</u></p> <p><u>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。</u></p> <p><u>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。</u></p> <p><u>5 GC-6890N（Agilent Technologies 製）による条件例</u><br/> <u>（参考）分析法バリデーション</u><br/> <u>・添加回収率及び繰返し精度</u></p> <table border="1" data-bbox="264 1136 1077 1324"> <thead> <tr> <th>飼料の種類</th> <th>添加濃度<br/>(mg/kg)</th> <th>繰返し</th> <th>添加回収率<br/>(%)</th> <th>繰返し精度<br/>RSD<sub>t</sub>(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">成鶏飼育用配合飼料</td> <td>1</td> <td>3</td> <td>97.6</td> <td>11</td> </tr> <tr> <td>0.1</td> <td>3</td> <td>88.1</td> <td>3.4</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">乳用牛飼育用配合飼料</td> <td>1</td> <td>3</td> <td>103</td> <td>16</td> </tr> <tr> <td>0.1</td> <td>3</td> <td>95.1</td> <td>2.6</td> </tr> </tbody> </table> | 飼料の種類           | 添加濃度<br>(mg/kg) | 繰返し          | 添加回収率<br>(%)                  | 繰返し精度<br>RSD <sub>t</sub> (%) | 成鶏飼育用配合飼料 | 1 | 3 | 97.6 | 11 | 0.1 | 3 | 88.1 | 3.4 | 乳用牛飼育用配合飼料 | 1 | 3 | 103 | 16 | 0.1 | 3 | 95.1 | 2.6 |  |
| 飼料の種類   | 添加濃度<br>(mg/kg) | 繰返し             | 添加回収率<br>(%) | 繰返し精度<br>RSD <sub>t</sub> (%) |                               |           |   |   |      |    |     |   |      |     |            |   |   |     |    |     |   |      |     |  |
| 成鶏飼育用配合飼料   | 1               | 3               | 97.6         | 11                            |                               |           |   |   |      |    |     |   |      |     |            |   |   |     |    |     |   |      |     |  |
|   | 0.1             | 3               | 88.1         | 3.4                           |                               |           |   |   |      |    |     |   |      |     |            |   |   |     |    |     |   |      |     |  |
| 乳用牛飼育用配合飼料  | 1               | 3               | 103          | 16                            |                               |           |   |   |      |    |     |   |      |     |            |   |   |     |    |     |   |      |     |  |
|   | 0.1             | 3               | 95.1         | 2.6                           |                               |           |   |   |      |    |     |   |      |     |            |   |   |     |    |     |   |      |     |  |

| 改正後  |  | 現 行                  |  |
|--|--|----------------------|--|
| 小麦   | <u>1</u><br><u>0.1</u>                     | <u>3</u><br><u>3</u> | <u>78.4</u><br><u>88.9</u><br><u>9.6</u><br><u>2.6</u> |
| とうもろこし   | <u>10</u><br><u>0.1</u>                    | <u>3</u><br><u>3</u> | <u>101</u><br><u>111</u><br><u>5.2</u><br><u>3.4</u>   |
| コーングルテンフィード  | <u>1</u><br><u>0.1</u>                     | <u>3</u><br><u>3</u> | <u>93.1</u><br><u>107</u><br><u>8.8</u><br><u>6.9</u>  |
| アルファルファ乾草  | <u>1</u><br><u>0.1</u>                     | <u>3</u><br><u>3</u> | <u>95.7</u><br><u>116</u><br><u>13</u><br><u>8.5</u>   |
| ・ 共同試験   |  |                      |  |
| 試験の種類  | 有効試験室数                                     | 添加濃度 (mg/kg)         | 添加回収率 (%)  |
|  |  |                      | 繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)                             |
|  |  |                      | 室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)                            |
|  |  |                      | HorRat   |
| 成鶏飼育用配合飼料  | 8  | 0.5                  | 98.8   |
| 小麦   | 8  | 0.5                  | 93.4   |
| とうもろこし   | 8  | 10                   | 88.5   |
| 繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)   |  |                      | 6.2  |
| 室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)  |  |                      | 21   |
| HorRat   |  |                      | 1.2  |
| 検出下限   | 試料中  | 0.1 mg/kg            |  |
| 検出下限   | 試料中  | 0.03 mg/kg           |  |
| 56   | 〔略〕  | 56                   | 〔略〕  |
| 57   | グリホサート                                     | 57                   | グリホサート   |
| 57.1   | 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 <sup>注1</sup> |                      | 〔新設〕   |
| (適用範囲：穀類、稲わら及び稲発酵粗飼料)  |  |                      |  |
| A 試薬の調製  |  |                      |  |
| グリホサート標準液 グリホサート [C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> NO <sub>5</sub> P] 25 mg を正確に量って 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。  |  |                      |  |

| 改正後  | 現 行 |
|--|-----|
| <p style="text-align: center;"><u>B 定 量</u></p> <p><u>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 2.5 倍に希釈し、カラム処理 I に供する試料溶液とする。</u></p> <p><u>カラム処理 I <sup>注2</sup> ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (500 mg) <sup>注3</sup> の下にスルホン酸修飾ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (225 mg) <sup>注4</sup> を連結し、メタノール 6 mL 及び水 12 mL で順次洗浄する。200 mL のなす形フラスコ<sup>注5</sup> をミニカラムの下に置き、試料溶液 1 mL をミニカラムに正確に入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。更に水 18 mL をミニカラムに加え、同様に流出させ、誘導体化に供する試料溶液とする。</u></p> <p><u>誘導体化 試料溶液を 50 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。酢酸 1 mL 及びオルト酢酸トリメチル 4 mL を加えて残留物を溶かし<sup>注6</sup>、この容器を密栓して 100 °C で 2 時間加熱<sup>注7</sup> した後放冷し、50 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。酢酸エチル 4 mL を正確に加えて残留物を溶かし<sup>注6</sup>、カラム処理 II に供する試料溶液とする。</u></p> <p><u>カラム処理 II <sup>注2</sup> アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (360 mg) 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</u></p> |     |

| 改正後  | 現 行 |
|--|-----|
| <p><u>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<sup>注6</sup>、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。</u></p> <p><u>標準液の誘導体化</u> 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。</p> <p><u>酢酸 1 mL 及びオルト酢酸トリメチル 4 mL を加えて残留物を溶かし<sup>注6</sup>、なす形フラスコを密栓して 100 °C で 2 時間加熱<sup>注7</sup>した後放冷する。この液を 50 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。0.01 v/v%ギ酸溶液 10 mL を正確に加えて残留物を溶かし<sup>注6</sup>、更に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 相当量を含む数点の標準液を調製する。</u></p> <p><u>液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定</u> 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。</p> <p><u>測定条件 例</u><br/> <u>(液体クロマトグラフ部)</u><br/> <u>カ           ラ           ム : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5 µm) <sup>注8</sup></u><br/> <u>溶           離           液 : 0.01 v/v%ギ酸溶液-アセトニトリル (93+7) (12 min 保持) →</u></p> |     |

改正後

現行

3 min → (5+95) (10 min 保持)

流速：0.2 mL/min

カラム槽温度：40 °C

(タンデム型質量分析計部<sup>注9</sup>)

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

デゾルベーション温度：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<br>イオン<br>( <i>m/z</i> ) | プロダクト<br>イオン<br>( <i>m/z</i> ) | 確認<br>イオン<br>( <i>m/z</i> ) | コーン<br>電圧<br>(V) | コリジョン<br>エネルギー<br>(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

## 改正後

## 現 行

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<br>(mg/kg) | 繰返し | 添加回収率<br>(%) | 繰返し精度<br>RSD <sub>r</sub> (%) |
|--------|-----------------|-----|--------------|-------------------------------|
| 大麦     | 20              | 3   | 74.2         | 6.8                           |
|        | 2               | 3   | 77.5         | 1.1                           |
|        | 0.04            | 3   | 99.0         | 7.1                           |
| 小麦     | 5               | 3   | 80.9         | 7.7                           |
|        | 0.5             | 3   | 92.8         | 8.0                           |
| とうもろこし | 1               | 3   | 79.1         | 7.6                           |
|        | 0.1             | 3   | 102          | 9.7                           |
| 稲わら    | 0.2             | 3   | 98.7         | 11                            |
|        | 0.04            | 3   | 89.0         | 13                            |
| 稲発酵粗飼料 | 0.2             | 3   | 93.3         | 8.2                           |
|        | 0.04            | 3   | 88.2         | 10                            |

・ 共同試験

| 試料の種類  | 有効試験室数 | 棄却試験室数 | 添加濃度<br>(mg/kg) | 添加回収率<br>(%) | 繰返し精度<br>RSD <sub>r</sub> (%) | 室間再現精度<br>RSD <sub>R</sub> (%) | HorRat |
|--------|--------|--------|-----------------|--------------|-------------------------------|--------------------------------|--------|
| とうもろこし | 10     | 0      | 1               | 98.1         | 9.2                           | 13                             | 0.79   |
| 稲わら    | 8      | 2      | 0.2             | 92.5         | 7.5                           | 13                             | 0.61   |

| 改正後  | 現 行                                       |
|--|---|
| <p>・ 定量下限 試料中 0.04 mg/kg<br/> ・ 検出下限 試料中 0.01 mg/kg</p> <p>57.2 [略]<br/> 58～242 [略]<br/> 243 <u>ピメトロジン</u></p> <p>243.1 <u>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</u><br/> (適用範囲：稲わら、稲発酵粗飼料及び粃米)</p> <p style="text-align: center;"><b>A 試薬の調製</b></p> <p><u>ピメトロジン標準液</u> <u>ピメトロジン [C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub>O] 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。)</u></p> <p><u>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。</u></p> <p style="text-align: center;"><b>B 定 量</b></p> <p><u>抽 出</u> <u>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</u></p> | <p>57.1 [略]<br/> 58～242 [略]<br/> 〔新設〕</p> |

| 改正後  | 現 行 |
|--|-----|
| <p><u>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。</u></p> <p><u>カラム処理<sup>注1</sup> オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg)<sup>注2</sup> をメタノール 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<sup>注3</sup>。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。</u></p> <p><u>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。</u></p> <p><u>測定条件 例</u></p> <p><u>(液体クロマトグラフ部)</u></p> <p><u>カ ラ ム : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5 µm)<sup>注4</sup></u></p> <p><u>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)</u></p> <p><u>流 速 : 0.2 mL/min</u></p> <p><u>カ ラ ム 槽 温 度 : 40 °C</u></p> <p><u>(タンデム型質量分析計部<sup>注5</sup>)</u></p> <p><u>イ オ ン 化 法 : エレクトロスプレーイオン化</u></p> |     |

改正後

現行

(ESI) 法 (正イオンモード)

イオン源温度: 110 °C

デゾルベーション温度: 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<br>イオン<br>( <u>m/z</u> ) | プロダクト<br>イオン<br>( <u>m/z</u> ) | 確認<br>イオン<br>( <u>m/z</u> ) | コーン<br>電圧<br>( <u>V</u> ) | コリジョン<br>エネルギー<br>( <u>eV</u> ) |
|--------|---------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------------|
| ピメトロジン | 218                             | 105                            | 二                           | 35                        | 20                              |
|        |                                 | 二                              | 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

| 改正後 |   |                        |               |                        | 現 行                                  |                                      |                                       |               |  |
|-----|---|------------------------|---------------|------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------|--|
|     | <u>試料の種類</u>  | <u>添加濃度</u><br>(mg/kg) | <u>繰返し</u>    | <u>添加回収率</u><br>(%)    | <u>繰返し精度</u><br>RSD <sub>r</sub> (%) |                                      |                                       |               |  |
|     | 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  |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
|     | <u>試料の種類</u>  | <u>有効試験室数</u>          | <u>棄却試験室数</u> | <u>添加濃度</u><br>(mg/kg) | <u>添加回収率</u><br>(%)                  | <u>繰返し精度</u><br>RSD <sub>r</sub> (%) | <u>室間再現精度</u><br>RSD <sub>R</sub> (%) | <u>HorRat</u> |  |
|     | 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  |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
| 第2節 | 〔略〕   |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
| 第3節 | 多成分同時分析法  |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
| 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   |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
| (1) | 〔略〕   |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
| (2) | 分析法   |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
|     | A 試薬の調製   |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
|     | 農薬混合標準液 各農薬標準品 25 mg を正確に量ってそれぞれ 50 mL の褐色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各農薬標準原液を調製する（これらの液 1 mL は、各農薬として 0.5 mg を含有する。）。 |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
| 第2節 | 〔略〕   |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
| 第3節 | 多成分同時分析法  |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
| 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   |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
| (1) | 〔略〕   |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
| (2) | 分析法   |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
|     | A 試薬の調製   |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |
|     | 農薬混合標準液 各農薬標準品 25 mg を正確に量ってそれぞれ 50 mL の褐色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各農薬標準原液を調製する（これらの液 1 mL は、各農薬として 0.5 mg を含有する。）。 |                        |               |                        |                                      |                                      |                                       |               |  |

改正後

使用に際して、各標準原液の一定量を混合し、2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン（4+1）で正確に希釈して、1 mL 中に各農薬として 0.02~0.5 µg を含有する数点の各農薬混合標準液を調製する。

また、フィプロニルは、上記農薬混合標準液に加えて、別途 1 mL 中にフィプロニルとして 0.005~0.01 µg を含有する数点のフィプロニル標準液を調製する。

更に、ペンディメタリンは、上記農薬混合標準液に加えて、別途 1 mL 中にペンディメタリンとして 0.01 µg を含有するペンディメタリン標準液を調製する。

B 定 量 [略]

(参考) 分析法バリデーション

- ・添加回収率及び繰返し精度

1) [略]

2) ペンディメタリン

| 試料の種類     | 添加濃度<br>(µg/kg) | 繰返し | 添加回収率<br>(%) | 繰返し精度<br>RSD <sub>r</sub> (%) |
|-----------|-----------------|-----|--------------|-------------------------------|
| アルファルファ乾草 | 1500            | 3   | 111          | 7.9                           |
|           | 15000           | 3   | 97.8         | 7.7                           |
| スーダングラス乾草 | 1500            | 3   | 103          | 4.9                           |
|           | 15000           | 3   | 104          | 4.6                           |
| 稲わら       | 20              | 3   | 115          | 8.7                           |

3) [略]

- ・共同試験 [略]

・定量下限 フィプロニル：試料中 10 µg/kg、デルタメトリン及びトラロメトリン：試料中 100 µg/kg（乾牧草 150 µg/kg）、ペンディメタリン：試料中 50 µg/kg（稲わら 20 µg/kg）、その他の農薬：試料中 各 50 µg/kg

現 行

使用に際して、各標準原液の一定量を混合し、2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン（4+1）で正確に希釈して、1 mL 中に各農薬として 0.02~0.5 µg を含有する数点の各農薬混合標準液を調製する。

また、フィプロニルは、上記農薬混合標準液に加えて、別途 1 mL 中にフィプロニルとして 0.005~0.01 µg を含有する数点のフィプロニル標準液を調製する。

B 定 量 [略]

(参考) 分析法バリデーション

- ・添加回収率及び繰返し精度

1) [略]

[新設]

2) [略]

- ・共同試験 [略]

・定量下限 フィプロニル：試料中 10 µg/kg、デルタメトリン及びトラロメトリン：試料中 100 µg/kg（乾牧草 150 µg/kg）、その他の農薬：試料中 各 50 µg/kg

| 改正後   | 現 行  |
|---|--|
| <p>・検出下限 フィプロニル：試料中 3 µg/kg、デルタメトリン及びピトラロメトリン：試料中 30 µg/kg（乾牧草 50 µg/kg）、ペンディメタリン：試料中 20 µg/kg（稲わら 6 µg/kg）、その他の農薬：試料中 各 20 µg/kg</p>   | <p>・検出下限 フィプロニル：試料中 3 µg/kg、デルタメトリン及びピトラロメトリン：試料中 30 µg/kg（乾牧草 50 µg/kg）、その他の農薬：試料中 各 20 µg/kg</p> |
| <p>表 2-1～表 3-2 〔略〕<br/>2～24 〔略〕</p>   | <p>表 2-1～表 3-2 〔略〕<br/>2～24 〔略〕</p>  |
| <p>第 7 章・第 8 章 〔略〕</p>  | <p>第 7 章・第 8 章 〔略〕</p>   |
| <p>第 9 章 抗生物質</p>   | <p>第 9 章 抗生物質</p>  |
| <p>第 1 節 〔略〕</p>  | <p>第 1 節 〔略〕</p>   |
| <p>第 2 節 各条</p>   | <p>第 2 節 各条</p>  |
| <p>1～18 〔略〕</p>   | <p>1～18 〔略〕</p>  |
| <p>19 ノシヘプタイド</p>   | <p>19 ノシヘプタイド</p>  |
| <p>19.1 〔略〕</p>   | <p>19.1 〔略〕</p>  |
| <p>19.2 定量試験法（飼料）</p>   | <p>19.2 定量試験法（飼料）</p>  |
| <p>19.2.1 〔略〕</p>   | <p>19.2.1 〔略〕</p>  |
| <p>19.2.2 液体クロマトグラフ法</p>  | <p>〔新設〕</p>  |
| <p>A 試薬の調製</p>  |  |
| <p>1) 希釈溶媒 酢酸（1+19）250 mL をアセトン 750 mL に加えたもの</p>   |  |
| <p>2) ノシヘプタイド標準液 常用標準ノシヘプタイド適量を減圧下（0.67 kPa 以下）、60 °C で 3 時間乾燥した後、20 mg(力価)相当量を正確に量って 100 mL の褐色全量フラスコに入れ、アセトン約 50 mL を加える。超音波処理してノシヘプタイドを溶かし、更に標線まで同溶媒を加えてノシヘプタイド標準原液を調製する（この液 1 mL は、ノシヘプタイドとして 200 µg(力価)相当量を含有する。）。</p> |  |

| 改正後   | 現 行 |
|---|-----|
| <p>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 中にノシヘプタイドとして 2 ~ 0.025 µg(力価)相当量を含む数点のノシヘプタイド標準液を調製する。</p> <p style="text-align: center;"><u>B 定 量</u></p> <p><u>抽出</u> 分析試料 5.0 g を量って 200 mL の共栓三角フラスコに入れ、酢酸 (1+19) 25 mL を加えて、10 分間かき混ぜる。更にアセトン 75 mL を加え、20 分間かき混ぜた後、10 分間超音波処理して抽出する。</p> <p><u>抽出液の一定量を 5000×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。</u></p> <p><u>液体クロマトグラフィー 試料溶液及び各ノシヘプタイド標準液各 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。</u></p> <p><u>測定条件 例</u></p> <p><u>検 出 器</u> : 蛍光検出器 (励起波長 : 360 nm、蛍光波長 : 530 nm)</p> <p><u>カ ラ ム</u> : オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (内径 4.6 mm、長さ 250 mm、粒径 5 µm) <sup>注1</sup></p> <p><u>溶 離 液</u> : アセトニトリル-水-酢酸 (50+49+1)</p> <p><u>流 速</u> : 1.0 mL/min</p> <p><u>カ ラ ム 槽 温 度</u> : 40 °C</p> <p><u>計 算</u> 得られた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、試料中のノシヘプタイド量を算出する。</p> <p><u>注 1</u> ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies 製、本測定条件によるノシヘプタイドの保持時間は約 7 分)</p> |     |

## 改正後

## 現 行

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<br>(g(力価)/t) | 繰返し | 添加回収率<br>(%) | 繰返し精度<br>RSD <sub>r</sub> (%) |
|------------|-------------------|-----|--------------|-------------------------------|
| 子豚育成用配合飼料  | 20.0              | 3   | 97.3         | 2.3                           |
|            | 10.0              | 3   | 94.2         | 1.8                           |
|            | 5.0               | 3   | 93.2         | 2.5                           |
|            | 2.5               | 3   | 94.3         | 1.6                           |
| ほ乳期子豚育成用   | 20.0              | 3   | 98.2         | 1.5                           |
| 人工乳前期用     | 10.0              | 3   | 97.7         | 2.4                           |
| 配合飼料       | 5.0               | 3   | 101          | 0.44                          |
|            | 2.5               | 3   | 92.7         | 2.1                           |
| ブロイラー肥育前期用 | 10.0              | 3   | 94.1         | 2.6                           |
| 配合飼料       | 5.0               | 3   | 93.7         | 1.7                           |
|            | 2.5               | 3   | 91.4         | 1.5                           |

## ・ 共同試験

| 試料の種類              | 添加濃度<br>(g(力価)/t) | 有効<br>試験室数 | 棄却<br>試験室数 | 添加回収率<br>(%) | 繰返し精度<br>RSD <sub>r</sub> (%) | 室間再現精度<br>RSD <sub>R</sub> (%) | HorRat |
|--------------------|-------------------|------------|------------|--------------|-------------------------------|--------------------------------|--------|
| 子豚育成用配合飼料          | 2.5               | 12         | 2          | 99.8         | 4.3                           | 5.4                            | 0.38   |
| ほ乳期子豚育成用人工乳前期用配合飼料 | 5.0               | 11         | 3          | 98.4         | 2.7                           | 2.7                            | 0.21   |
| ブロイラー肥育前期用配合飼料     | 10                | 13         | 1          | 102          | 3.1                           | 3.8                            | 0.34   |
| 子豚育成用配合飼料          | 20                | 13         | 1          | 101          | 2.3                           | 2.9                            | 0.28   |

## 19.3 微量定量試験法 (飼料)

## 19.3.1 [略]

## 19.3.2 液体クロマトグラフ法

## A 試薬の調製

19.2.2 の A による。

## B 定 量

19.2.2 の B による。

(参考) 分析法バリデーション

## 19.3 微量定量試験法 (飼料)

## 19.3.1 [略]

## [新設]

改正後

・添加回収率及び繰返し精度

| 試料の種類     | 添加濃度<br>(g(力価)/t) | 繰返し | 添加回収率<br>(%) | 繰返し精度<br>RSD <sub>r</sub> (%) |
|-----------|-------------------|-----|--------------|-------------------------------|
| 成鶏飼育用配合飼料 | 0.5               | 3   | 103          | 4.5                           |
| 肉豚肥育用配合飼料 | 0.5               | 3   | 102          | 7.4                           |
| 種豚飼育用配合飼料 | 0.5               | 3   | 98.9         | 7.8                           |

・共同試験

| 試料の種類     | 添加濃度<br>(g(力価)/t) | 有効<br>試験室数 | 棄却<br>試験室数 | 添加回収率<br>(%) | 繰返し精度<br>RSD <sub>r</sub> (%) | 室内再現精度<br>RSD <sub>R</sub> (%) | HorRat |
|-----------|-------------------|------------|------------|--------------|-------------------------------|--------------------------------|--------|
| 成鶏飼育用配合飼料 | 0.5               | 14         | 0          | 108          | 8.1                           | 13                             | 0.75   |

・検出下限 試料中 0.5 g(力価)/t

20～32 〔略〕

第3節 〔略〕

第10章～第20章 〔略〕

別表1

試薬で特級とあるのは、工業標準化法（昭和24年法律第185号）に基づく日本工業規格の一般試薬の特級の規格に該当するものを、また、日局とあるのは、薬事法（昭和35年法律第145号）に基づく日本薬局方の規格に該当するものを示す。

また、CASとあるのは、アメリカ化学会発行の *Chemical Abstracts* 誌で使用される化合物登録番号を示す。

〔中略〕

脱脂綿 日局

炭酸カリウム 特級  $K_2CO_3$  (CAS : 584-08-7)

炭酸カルシウム 特級  $CaCO_3$  (CAS : 471-34-1)

現行

20～32 〔略〕

第3節 〔略〕

第10章～第20章 〔略〕

別表1

試薬で特級とあるのは、工業標準化法（昭和24年法律第185号）に基づく日本工業規格の一般試薬の特級の規格に該当するものを、また、日局とあるのは、薬事法（昭和35年法律第145号）に基づく日本薬局方の規格に該当するものを示す。

また、CASとあるのは、アメリカ化学会発行の *Chemical Abstracts* 誌で使用される化合物登録番号を示す。

〔中略〕

脱脂綿 日局

〔新設〕

炭酸カルシウム 特級  $CaCO_3$  (CAS : 471-34-1)

## 改正後

## 現行

〔中略〕

ピペロホス  $C_{14}H_{28}NO_3PS_2$  (CAS : 24151-93-7)ピメトロジン  $C_{10}H_{11}N_5O$  (CAS : 123312-89-0)ピリジン 特級  $C_2H_5N$  (CAS : 110-86-1)

〔略〕

別表2〔略〕

別表3

## 不確かさ

共通試料による共同試験で得られた室間再現標準偏差から求めた拡張不確かさを参考として定めた値。

| 成分名   | 適用範囲  | 分析値<br>(%)       | 不確かさ    |         |
|-------|---|------------------|---------|---------|
|       |   |                  | 絶対値 (%) | 相対値 (%) |
| 粗たん白質 | 魚粉、大豆油かす及び配合飼料<br>(乳製品の配合割合が50%以上のほ乳期子牛育成用代用乳用配合飼料を除く。) | 9.0以上<br>20.0未満  | 0.5     | ＝       |
|       |   | 20.0以上<br>64.0未満 | ＝       | 2.5     |
|       |   | 64.0以上<br>71.0未満 | 1.6     | ＝       |
|       |   |                  |         |         |
| カルシウム | 配合飼料  | 0.30以上<br>0.60未満 | 0.05    | ＝       |
|       |   | 0.60以上<br>3.50未満 | ＝       | 8.4     |
|       |   | 3.50以上<br>4.30未満 | 0.30    | ＝       |
| りん    | 配合飼料  | 0.30以上<br>0.50未満 | 0.03    | ＝       |
|       |   | 0.50以上<br>2.50未満 | ＝       | 6.4     |
|       |   | 2.50以上<br>2.80未満 | 0.16    | ＝       |
|       |   |                  |         |         |

〔中略〕

ピペロホス  $C_{14}H_{28}NO_3PS_2$  (CAS : 24151-93-7)

〔新設〕

ピリジン 特級  $C_2H_5N$  (CAS : 110-86-1)

〔略〕

別表2〔略〕

〔新設〕