

## 113 シメコナゾール

- 113.1 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。

## 114 ジメタメトリン

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

## 115 ジメチピン

- 115.1 ガスクロマトグラフ法

### A 試薬の調製

ジメチピン標準液 ジメチピン標準品〔C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>〕20 mgを0.01 mgの桁まで量り、その数値を記録し、100 mLの全量フラスコに入れ、アセトン20 mLを加えて溶かし、更に標線まで2,2,4-トリメチルペンタンを加えてジメチピン標準原液を調製する（この液1 mLは、ジメチピンとして0.2 mgを含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部を2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン（4+1）で正確に希釈し、1 mL中にジメチピンとして0.2~2 µgを含有する数点のジメチピン標準液を調製する。

### B 定 量

抽 出 試料10 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、10分間静置後、更にアセトニトリル100 mLを加え、30分間振り混ぜて抽出する。

300 mLのなす形フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5種B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトニトリル50 mLで洗浄し、同様に吸引ろ過する。ろ液を40 °C以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、更に窒素ガスを送って乾固する。

シクロヘキサノン-アセトン（7+3）10 mLを正確に加えて残留物を溶かし、この液を10 mLの共栓遠心沈殿管に入れ、1,500×gで5分間遠心分離する。上澄み液をメンブランフィルター（孔径0.5 µm以下）でろ過し、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5.0 mLをゲル浸透クロマトグラフに注入し、ジメチピンが溶出する画分を100 mLのなす形フラスコに分取し、溶出液を40 °C以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン（4+1）2.5 mLを正確に加えて残留物を溶かし、カラム処理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  $\mu\text{m}$ ）

溶 離 液：シクロヘキサン-アセトン（7+3）

流 速：5 mL/min

分 取 画 分：85~125 mL

カラム処理 II 試料溶液を合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（100 mg）<sup>注1</sup>に入れ、初めの流出液 1 mL を捨て、その後の流出液 1 mL をガスクロマトグラフィーに供する試料溶液とする。

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

測定条件 例

検 出 器：炎光光度検出器（イオウ検出用フィルター）

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

キャリアーガス：He（1.8 mL/min）

メイクアップガス：N<sub>2</sub>（30 mL/min）

燃 料 ガ ス：H<sub>2</sub>（75 mL/min）

助 燃 ガ ス：乾燥空気（100 mL/min）

試 料 導 入 法：スプリットレス（60 s）

試料導入部温度：250 °C

カ ラ ム 槽 温 度：80 °C（2 min 保持）→ 昇温 10 °C/min → 250 °C（10 min 保持）

検 出 器 温 度：280 °C

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

注 1 Sep-Pak VAC Florisil Cartridge（リザーバー容量 1 mL、Waters 製）又はこれと同等のもの

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

（参考）分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

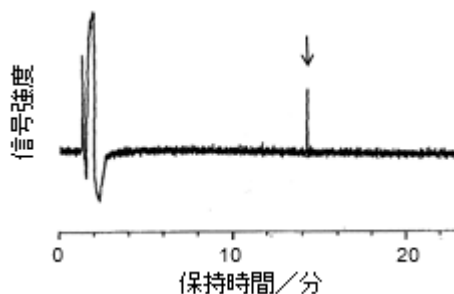
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
鶏用配合飼料	0.25	3	90.7	8.1
	0.5	3	77.3	4.0
	1	3	77.3	6.6
豚用配合飼料	0.25	3	82.7	9.2
	0.5	3	76.3	8.7
	1	3	77.7	10
アルファルファ	0.25	3	100	2.5
	0.5	3	88.7	3.4
	1	3	85.7	4.9

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
中おう育成用配合飼料	4	0	0.5	91.6	3.1	3.1	0.17

・定量下限（単一試験室による確認） 試料中 0.1 mg/kg

（参考）クロマトグラム例



添加試料（配合飼料にジメチピンとして 0.25 mg/kg 相当量添加）  
のクロマトグラム

116 ジメテナミド

116.1 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。

117 ジメトエート

117.1 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。

117.2 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。

118 シメトリン

118.1 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。

119 ジメピペレート

119.1 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。

120 臭化メチル

120.1 ガスクロマトグラフ法

A 試薬の調製

1) ジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-メチル標準液 ジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-  
メチル [C<sub>5</sub>H<sub>13</sub>PS<sub>2</sub>] 25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、量って

100 mL の全量フラスコに入れ、ヘキサンを加えて溶かし、更に標線までヘキサンを加えてジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-メチル標準原液を調製する（この液 1 mL は、ジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-メチルとして 0.25 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部をヘキサンで正確に希釈し、1 mL 中にジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-メチルとして 0.1~1.5 µg を含有する数点のジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-メチル標準液を調製する。

- 2) 捕集液　ジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-アンモニウム 10 mg (9.5~10.4 mg) を *N,N*-ジメチルホルムアミド 60 mL に溶かす（使用時に調製する。）。

### B 定 量

分離、捕集及びジチオリン酸エステル化　分析試料 25 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、500 mL の二口フラスコに入れ、捕集装置（捕集液 30 mL を入れた褐色ガス洗浄びん 2 本を連結し、60 °C の恒温水槽に浸したもの）に気密に連結する。この二口フラスコにあらかじめ硫酸で pH を 2 に調整した水 200 mL 及び 1-ブタノール 1 mL を加え、直ちに通気管を装着する。60 °C の水浴中で窒素ガスを流速 60~80 mL/min で 60 分間送って臭化メチルを分離、捕集させ、ジチオリン酸エステル化を行い、精製に供する試料溶液とする。

精 製　試料溶液を塩化ナトリウム溶液（5 w/v%）150 mL で 300 mL の分液漏斗 A に移し、ヘキサン 50 mL を加え、3 分間振り混ぜた後静置する。水層（下層）を 300 mL の分液漏斗 B に入れ、ヘキサン層（上層）を三角フラスコに入れる。ヘキサン 50 mL を分液漏斗 B に加え、同様に操作し、ヘキサン層を先の三角フラスコに合わせる。ヘキサン層を適量の硫酸ナトリウム（無水）で脱水し、200 mL のなす形フラスコにろ紙（5 種 A）でろ過した後、先の三角フラスコ及びろ紙を順次少量のヘキサンで洗浄し、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 2 mL まで減圧濃縮<sup>注1</sup>した後、少量のヘキサンで 10 mL の全量フラスコに移し、更に全量フラスコの標線までヘキサンを加え、ガスクロマトグラフィーに供する試料溶液とする。

ガスクロマトグラフィー　試料溶液及び各ジチオリン酸 *O,O*-ジエチル *S*-メチル標準液各 1 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（5%ジフェニル-95%ジメチルポリシロキサンコーティング、内径 0.32 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 µm）<sup>注2</sup>

キャリアーガス：He（1.5 mL/min）

メイクアップガス：N<sub>2</sub>（30 mL/min）

燃 料 ガ ス：H<sub>2</sub>（75 mL/min）

助 燃 ガ ス：乾燥空気（100 mL/min）

試 料 導 入 法：スプリットレス（60 s）

試料導入部温度：230 °C

カラム槽温度：60 °C (0.5 min 保持) → 昇温 20 °C/min → 80 °C (0.5 min 保持) → 昇温 10 °C/min → 160 °C (0.5 min 保持)

検出器温度：240 °C

計算 得られたクロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、次式により試料中の臭化メチル [CH<sub>3</sub>Br] 量を算出する。

試料中の臭化メチル量 (μg/kg) = A × 400 × 0.474

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

注 1 乾固させないこと。

2 DB-5 (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの  
(参考) 分析法バリデーション

・ 添加回収率及び繰返し精度

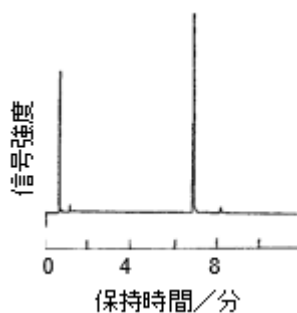
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
鶏用配合飼料	0.125	3	97.8	6.5
	0.25	3	92.6	4.3
	0.5	3	95.2	9.5
豚用配合飼料	0.125	3	90.4	4.7
	0.25	3	101	1.2
	0.5	3	97.2	5.9
牛用配合飼料	0.125	3	92.4	2.9
	0.25	3	101	7.4
	0.5	3	91.8	7.7

・ 共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
乳牛用配合飼料	5	0	0.25	92.5	6.1	6.2	0.31

・ 定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.005 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



添加試料 (配合飼料に臭化メチルとして 0.25 mg/kg 相当量添加) のクロマトグラム

## 121 シラフルオフェン

121.1 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。

## 122 水酸化トリフェニルスズ

### 122.1 ガスクロマトグラフ法

#### A 試薬の調製

塩化トリフェニルスズ標準原液 塩化トリフェニルスズ  $[\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{ClSn}]$  20 mg を 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、ヘキサンを加えて溶かし、更に標線までヘキサンを加えて塩化トリフェニルスズ標準原液を調製する（この液 1 mL は、塩化トリフェニルスズとして 0.2 mg を含有する。）。

#### B 定 量

抽 出 分析試料 5~10 g を有効数字 4 桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 10 mL を加えて潤し、5 分間静置後、更にメタノール-塩酸 (9+1) 70 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。

200 mL の三角フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙 (5 種 B) で吸引ろ過した後、試料の入っていた三角フラスコ及び残さを順次メタノール-塩酸 (9+1) 10 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過し、ろ液を精製に供する試料溶液とする。

精 製 試料溶液をあらかじめ塩化ナトリウム溶液 (10 w/v%) 50 mL 及び酢酸エチル-ヘキサン (3+2) 50 mL を入れた 500 mL の分液漏斗 A に加え、試料溶液の入っていた三角フラスコを酢酸エチル 50 mL で洗浄し、洗液を分液漏斗 A に合わせる。分液漏斗 A を 5 分間激しく振り混ぜた後静置し、水層 (下層) を 500 mL の分液漏斗 B に入れる。分液漏斗 B に酢酸エチル-ヘキサン (3+2) 50 mL を加え、5 分間激しく振り混ぜた後静置し、酢酸エチル-ヘキサン層 (上層) を分液漏斗 A に合わせる。更に分液漏斗 A にヘキサン 150 mL を加えて穏やかに振り混ぜた後 30 分間静置し、水層を捨て、酢酸エチル-ヘキサン層を三角フラスコに入れる。酢酸エチル-ヘキサン層を適量の硫酸ナトリウム (無水) で脱水し、500 mL のなす形フラスコに分液ろ紙でろ過する。先の三角フラスコ及び残さを順次少量のヘキサンで洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。ろ液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮し、更にヘキサン 10 mL ずつを加えて同様に 2 回減圧濃縮して塩酸を除去し、窒素ガスを送って乾固する。ヘキサン 10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、プロピル化反応に供する試料溶液とする。

プロピル化反応 試料溶液 1~2 mL を 50 mL の試験管に正確に入れ、*n*-プロピルマグネシウムブロミド液 1 mL を加え、30 分間静置後、更に硫酸 (0.5 mol/L) 7 mL を少量ずつ加え、過剰の *n*-プロピルマグネシウムブロミドを分解する。この試験管にメタノール 7 mL を加えた後、この液全量を 100 mL の分液漏斗 C に入れる。先の試験管を水 25 mL 及びヘキサン 20 mL で洗浄し、洗液を順次分液漏斗 C に合わせる。分液漏斗 C を 5 分間振り混ぜた後静置し、水層 (下層) を 100 mL の分液漏斗 D に入れ、ヘキサン層 (上層) を三角フラスコに入れる。分液漏斗 D にヘキサン 20 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置し、ヘキサン層を先の三角フラスコに合わせる。ヘキサン層を適量の硫酸ナトリウム (無水) で脱水し、100

mL のなす形フラスコに分液ろ紙でろ過する。先の三角フラスコ及びろ紙を順次少量のヘキサンで洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。ろ液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

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

**カラム処理** 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (910 mg) <sup>注1</sup> をヘキサン 10 mL で洗浄する。100 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液をミニカラムに入れる。試料溶液の入っていたなす形フラスコを少量のヘキサンで洗浄し、洗液をミニカラムに加え、流下してプロピル化した塩化トリフェニルスズを流出させる。更にヘキサノージエチルエーテル (99+1) 10 mL をミニカラムに加えて同様に流出させる。

流出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

ヘキサン 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフィーに供する試料溶液とする。

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

ヘキサン 10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、この液の一部をヘキサンで正確に希釈し、1 mL 中に塩化トリフェニルスズとして 0.025~1.5 µg 相当量を含む数点の標準液を調製する。

**ガスクロマトグラフィー** 試料溶液及び各標準液各 2 µL をガスクロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。

#### 測定条件 例

検 出 器：炎光光度検出器（スズ検出用フィルター）  
カ ラ ム：溶融石英製キャピラリーカラム（100%ジメチルポリシロキサンコーティング、内径 0.32 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 µm）<sup>注2</sup>

キャリアーガス：He (4 mL/min)

メイクアップガス：N<sub>2</sub> (50 mL/min)

燃 料 ガ ス：H<sub>2</sub> (75 mL/min)

助 燃 ガ ス：乾燥空気 (100 mL/min)

試 料 導 入 法：スプリットレス (60 s)

試料導入部温度：280 °C

カ ラ ム 槽 温 度：100 °C (2 min 保持) → 昇温 25 °C/min → 270 °C (5 min 保持)

検 出 器 温 度：280 °C

計 算 得られたクロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、塩化トリフェニルスズ量を算出し、更に 0.952 を乗じて試料中の水酸化トリフェニルスズ量を算出する。

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-1 (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

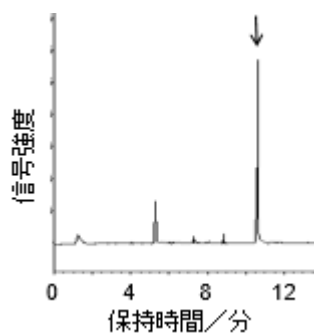
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
鶏用配合飼料	0.5	3	89.8	10
	1	3	88.8	14
	2	3	94.0	5.0
豚用配合飼料	0.5	3	87.3	1.7
	1	3	84.9	4.3
	2	3	81.0	4.1
乳用牛飼育用配合飼料	0.5	3	82.3	2.7
	1	3	81.7	2.0
	2	3	80.3	0.9
魚粉	0.5	3	91.6	3.9
	1	3	86.7	4.4
	2	3	82.5	4.9
チモシーハイ	0.5	3	79.2	4.0
	1	3	76.3	3.9
	2	3	74.2	3.9

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
子豚育成用配合飼料	6	0	1	88.4	5.8	7.6	0.47

・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 (魚粉に水酸化トリフェニルスズとして 1 mg/kg 相当量添加) のクロマトグラム

## 123 スピノサド (スピノシン A 及びスピノシン D)

### 123.1 液体クロマトグラフ質量分析計法

#### 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 [C<sub>41</sub>H<sub>65</sub>NO<sub>10</sub>] 10 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、アセトニトリルを加えて溶かし、更に標線までアセトニトリルを加えてスピノシン 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〔C<sub>42</sub>H<sub>67</sub>NO<sub>10</sub>〕 10 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、アセトニトリルを加えて溶かし、更に標線までアセトニトリルを加えてスピノシン 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 標準原液の一部を混合し、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 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 g を 0.01 g の桁まで（稲わらは 5.0 g を 0.001 g の桁まで）量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 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<sup>注1</sup>　シクロヘキシルシリル化シリカゲルミニカラム（1 g）<sup>注2</sup>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

（液体クロマトグラフ部）

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

溶　　離　　液：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

（質量分析計部<sup>注4</sup>）

検　　出　　器：四重極型質量分析計

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化（ESI）法（正イオンモード）

ネブライザーガス：N<sub>2</sub>（1.5 L/min）

ヒートブロック温度：200 °C

C D L 温度：250 °C

モニターイオン：*m/z* 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（Agilent Technologies 製）又はこれと同等のもの

3 Inertsil ODS-3（ジールサイエンス製）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

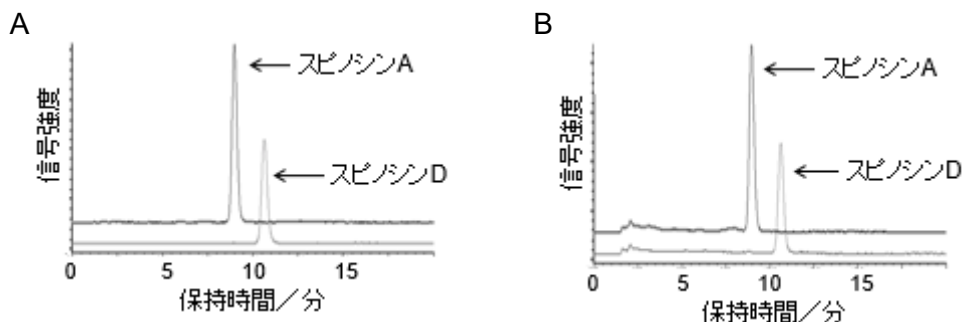
添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	
スピノシンA	成鶏飼育用配合飼料	0.01	3	91.7	5.4	
		0.1	3	106	1.6	
	若令牛育成用配合飼料	0.01	3	92.9	0.3	
		0.1	3	93.4	2.4	
	とうもろこし	0.01	3	101	2.2	
		0.1	3	95.8	1.2	
	アルファルファヘイ	0.1	3	96.8	4.2	
		1	3	91.6	1.0	
	稲わら	0.025	3	86.8	0.9	
		0.25	3	98.2	2.6	
	スピノシンD	成鶏飼育用配合飼料	0.01	3	90.1	2.4
			0.1	3	99.6	4.3
若令牛育成用配合飼料		0.01	3	95.2	4.8	
		0.1	3	94.7	2.9	
とうもろこし		0.01	3	98.9	1.4	
		0.1	3	98.0	1.7	
アルファルファヘイ		0.1	3	91.9	6.5	
		1	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	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
スピノシンA	成鶏飼育用配合飼料	8	0	0.1	96.3	2.7	11	0.49
	とうもろこし	8	0	0.1	93.2	4.5	9.2	0.42
	稲わら	8	0	0.25	90.1	1.8	8.5	0.43
スピノシンD	成鶏飼育用配合飼料	8	0	0.1	95.2	3.6	12	0.52
	とうもろこし	8	0	0.1	93.2	3.7	14	0.62
	稲わら	8	0	0.25	92.8	2.8	10	0.52

- ・ 定量下限（単一試験室による確認） 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（単一試験室による確認） スピノシン A：試料中 0.001 mg/kg  
（乾牧草 0.008 mg/kg、稲わら 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）

(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（スピノシン A 及び D として 50 ng/mL）

B：添加試料（成鶏飼育用配合飼料にスピノシン A 及び D として 0.1 mg/kg 相当量添加）

## 124 ダイアジノン

124.1 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。

124.2 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。

124.3 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。

## 125 ダイムロン

125.1 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。

## 126 ターバシル

126.1 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。

## 127 チアクロプリド

### 127.1 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。

## 128 チアベンダゾール

### 128.1 液体クロマトグラフ法

#### A 試薬の調製

- 1) チアベンダゾール標準液 チアベンダゾール [C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>S] 20 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の褐色全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線までメタノールを加えてチアベンダゾール標準原液を調製する（この液 1 mL は、チアベンダゾールとして、0.2 mg を含有する。）。  
使用に際して、標準原液の一部をメタノールで正確に希釈し、1 mL 中にチアベンダゾールとして 0.05~0.5 µg を含有する数点のチアベンダゾール標準液を調製する。
- 2) 酢酸ナトリウム緩衝液 酢酸ナトリウム（無水）33.0 g（32.95~33.04 g）及び塩化ナトリウム 200 g（199.5~200.4 g）を水に溶かして 1 L とする。

#### B 定 量

**抽 出** 分析試料 5.0 g を 0.001 g の桁まで量り、その数値を記録し、300 mL の分液漏斗に入れ、酢酸ナトリウム緩衝液 30 mL 及び酢酸エチル 100 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。トルビーカーをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後、先の分液漏斗及び残さを順次酢酸エチル 30 mL 及び水 10 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過し、ろ液を精製に供する試料溶液とする。

**精 製** 試料溶液を 300 mL の分液漏斗 A に入れ、水酸化ナトリウム溶液（1 mol/L）30 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層（下層）を捨てる。分液漏斗 A に水 30 mL を加え、同様に操作する。分液漏斗 A に塩酸（0.1 mol/L）50 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層を 500 mL の分液漏斗 B に入れる。分液漏斗 A に塩酸（0.1 mol/L）50 mL を加え、同様に操作する。分液漏斗 B に水酸化ナトリウム溶液（1 mol/L）30 mL 及び酢酸エチル 100 mL を加え、5 分間振り混ぜた後静置し、水層を 500 mL の分液漏斗 C に入れる。分液漏斗 C に酢酸エチル 100 mL を加え、同様に操作した後、酢酸エチル層（上層）を分液漏斗 B に合わせる。分液漏斗 B に水 30 mL を加え、振り混ぜた後静置し、酢酸エチル層を三角フラスコに入れる。酢酸エチル層を適量の硫酸ナトリウム（無水）で脱水し、500 mL のなす形フラスコにろ紙（5 種 A）でろ過した後、先の三角フラスコ及びろ紙を順次少量の酢酸エチルで洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせる。ろ液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

水 5 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理に供する試料溶液とする。

**カラム処理** オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム（360 mg）<sup>注1</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、流出させた後、試料溶液の入っていたなす形フラスコを水 5 mL で洗浄し、洗液をミニカラムに加え流出させる。更に水-メタノール (7+3) 5 mL をミニカラムに加えて洗浄する。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、水-メタノール (1+1) 10 mL をミニカラムに加えてチアベンダゾールを溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

メタノール 5 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター（孔径 0.5 µm 以下）でろ過し、液体クロマトグラフィーに供する試料溶液とする。  
液体クロマトグラフィー 試料溶液及び各チアベンダゾール標準液各 10 µL を液体クロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。

#### 測定条件 例

検 出 器：蛍光検出器（励起波長：300 nm、蛍光波長：355 nm）

カ ラ ム：オクタデシルシリル化シリカゲルカラム（内径 4.6 mm、長さ 250 mm、粒径 5 µm）<sup>注2</sup>

溶 離 液：メタノール-リン酸二水素カリウム溶液<sup>注3</sup> (1+1)

流 速：0.8 mL/min

カラム槽温度：40 °C

計 算 得られたクロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のチアベンダゾール量を算出する。

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

2 Sep-Pak Plus C18 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 リン酸二水素カリウム 1.36 g（1.355~1.364 g）を水に溶かして 1 L とする。

（参考）分析法バリデーション

#### ・添加回収率及び繰返し精度

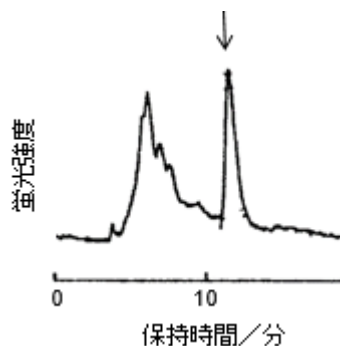
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
幼すう育成用配合飼料	0.05	3	90.1	6.1
	0.1	3	85.7	3.9
	0.5	3	85.5	3.2
肉用牛肥育用配合飼料	0.05	3	84.3	7.0
	0.1	3	83.1	6.2
	0.5	3	82.8	3.1
とうもろこし	0.05	3	82.9	4.2
	0.1	3	85.4	3.5
	0.5	3	87.2	2.2

#### ・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 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
大すう育成用配合飼料	6	0	0.1	81.7	5.1	6.5	0.30

・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



添加試料（配合飼料にチアベンダゾールとして 0.1 mg/kg 相当量添加）  
のクロマトグラム

129 チアメトキサム

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

130 チオシクラム

130.1 液体クロマトグラフ質量分析計法<sup>注1</sup>  
59.1による。

注1 チオシクラムは、カルタップとしての量に換算され、カルタップ、カルタップに換算したチオシクラム及びカルタップに換算したベンスルタップの総和として定量される。

131 チオフアネートメチル（カルベンダジム、チオフアネートメチル及びベノミル）

131.1 チオフア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。

131.2 液体クロマトグラフ質量分析計法<sup>注1</sup>  
63.2による。

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

132 チオベンカルブ

132.1 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。

- 133 チフルザミド
- 133.1 エチプロールその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節19による。
- 134 ディルドリン
- 134.1 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。
- 134.2 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。
- 134.3 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。
- 135 テクナゼン
- 135.1 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。
- 136 テトラクロルビンホス
- 136.1 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。
- 137 テトラコナゾール
- 137.1 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。
- 138 テトラジホン
- 138.1 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。
- 139 テトラメトリン
- 139.1 ピレスロイド系農薬のガスクロマトグラフによる系統的分析法  
第2節2による。
- 140 テニルクロール
- 140.1 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。

## 141 テブコナゾール

141.1 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。

141.2 テブコナゾール及びフェナリモルのガスクロマトグラフ質量分析計による同時分析法  
第3節31による。

141.3 ガスクロマトグラフ質量分析計法  
(適用範囲：乾牧草<sup>注1)</sup>)

### A 試薬の調製

1) テブコナゾール標準液 テブコナゾール [C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>3</sub>O] 25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の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テブコナゾール標準原液を調製する（この液 1 mL はテブコナゾールとして 0.5 mg を含有する。）。

使用に際して、テブコナゾール標準原液の一部を希釈溶媒で正確に希釈して、1 mL 中にテブコナゾールとして 0.001~1.5 µg を含有する数点のテブコナゾー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 50 µL を 2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン (4+1) 100 mL に加えて希釈溶媒を調製する。

### B 定 量

抽 出 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、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 を加えた後 10 分間静置し、更にアセトニトリル 100 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。

200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙 (5 種 B) で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトニトリル 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線までアセトニトリルを加え、この液 10 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、水 20 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 (20 mL 保持用)<sup>注2</sup>に入れ、5 分間静置する。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 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テブコナゾールを溶出させ、更にヘキサン 60 mL をカラムに加えて同様に溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。ヘキサン 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 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (910 mg)<sup>注3</sup> をヘキサン 5



mL で洗浄する。

試料溶液 2 mL を正確にミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。ミニカラムをヘキサン 4 mL で洗浄し、同様に流出させる。更にヘキサン-アセトン (19+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-アセトン (7+3) 15 mL をミニカラムに加えてテブコナゾールを溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

希釈溶媒 10 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 : 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化学結合型、内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 µm) <sup>注4</sup>

キャリアーガス : He (1.0 mL/min)

試料導入法 : スプリットレス (60 s)

試料導入部温度 : 250 °C

カラム槽温度 : 70 °C (2 min 保持) →昇温 20 °C/min→280 °C (10 min 保持)

(質量分析計部<sup>注5</sup>)

検出器 : 四重極型質量分析計

イオン化法 : 電子イオン化 (EI) 法

インターフェース温度 : 280 °C

イオン源温度 : 200 °C

イオン化電圧 : 70 eV

モニターイオン : 定量イオン  $m/z$  250、確認イオン  $m/z$  125

計算 得られた選択イオン検出クロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のテブコナゾール量を算出する。

注 1 本法は、試料中のテブコナゾール量がおよそ 5 mg/kg を超える場合に適用する。

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

5 GCMS-QP2010 (島津製作所製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
アルファルファ	0.5	3	93.5	5.2
	30	3	88.8	2.6
オーツヘイ	0.5	3	98.8	1.5
	30	3	93.3	2.3
チモシー	0.5	3	93.5	1.7
	30	3	94.3	8.2
バミューダストロー	0.5	3	99.4	2.8
	30	3	87.7	5.4

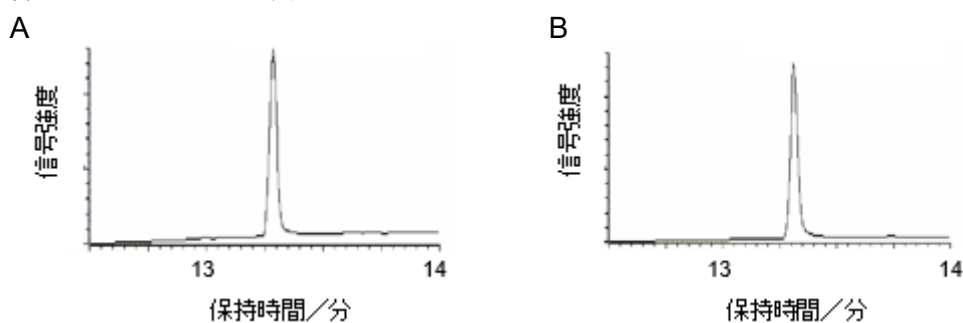
・共同試験

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 <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
オーツヘイ	10	0	20	91.5	5.8	9.7	0.94
チモシーヘイ	9	1	20	93.5	3.1	9.0	0.87

・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.5 mg/kg

・検出下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.2 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A: 標準液 (テブコナゾールとして 0.15 µg/mL)

B: 添加試料 (チモシーにテブコナゾールとして 30 mg/kg 相当量添加)

142 テブフェノジド

142.1 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。

143 テブフェンピラド

143.1 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。

144 テフルトリン

144.1 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。

- 144.2 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。
- 145 デルタメトリン（デルタメトリン、*trans*-デルタメトリン及びトラロメトリン）
- 145.1 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。
- 145.2 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。
- 146  $\alpha$ -R-デルタメトリン
- 146.1 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。
- 147 テルブトリン
- 147.1 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。
- 148 テルブホス
- 148.1 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。
- 148.2 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。
- 149 トラロメトリン
- 149.1 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<sup>注1</sup>  
第3節1による。
- 注1 トラロメトリンは、デルタメトリンに変換され、デルタメトリンとの合量として定量される。
- 150 トリアジメノール
- 150.1 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。
- 151 トリアジメホン
- 151.1 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。

151.2 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。

152 トリアレート

152.1 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。

153 トリクロロホン

153.1 ガスクロマトグラフ法

#### A 試薬の調製

トリクロロホン標準原液 トリクロロホン [C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>3</sub>O<sub>4</sub>P] 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る（この溶液 1 mL は、トリクロロホンとして 0.2 mg を含有する。）。更にこの液の一部をアセトンで正確に希釈し、1 mL 中にトリクロロホンとして 20 µg を含むトリクロロホン標準原液を調製する。

#### B 定 量

抽出 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 15 mL を加えて潤し、30 分間静置後、更にアセトン 80 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。300 mL のなす形フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。ろ液を 40 °C 以下の水浴で約 15 mL まで減圧濃縮し、塩化ナトリウム 5 g（4.5~5.4 g）を加えてカラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I 試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム（20 mL 保持用）<sup>注1</sup>に入れ、5 分間静置する。200 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコを酢酸エチル 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トリクロロホンを溶出させ、更に酢酸エチル 70 mL をカラムに加えて同様に溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

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、トリクロロホンが溶出する画分を 100 mL のなす形フラスコに分取し、40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

ヘキサン-アセトン（9+1）2 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：85~115 mL

カラム処理 III シリカゲルミニカラム（690 mg）<sup>注2</sup>をヘキサン 5 mL で洗浄する。

試料溶液をミニカラムに入れ、試料溶液の入っていたなし形フラスコをヘキサン-アセトン（9+1）2 mL ずつで2回洗浄し、洗液を順次シリカゲルミニカラムに加える。更にヘキサン-アセトン（9+1）4 mL をミニカラムに加え、ミニカラムを洗浄<sup>注3</sup>する。

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（7+3）30 mL をミニカラムに加えてトリクロロホンを溶出<sup>注3</sup>させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

アセトン 1 mL を加えて残留物を溶かし、アセチル化反応に供する試料溶液とする。

アセチル化反応 試料溶液に無水酢酸 1 mL を加え、室温で 16 時間静置する。試料溶液を 5 mL の全量フラスコに入れ、試料溶液の入っていたなし形フラスコを少量のアセトンで洗浄し、洗液を全量フラスコに合わせる。更に全量フラスコの標線までアセトンを加え、ガスクロマトグラフィーに供する試料溶液<sup>注4</sup>とする。

標準原液のアセチル化 トリクロロホン標準原液 1 mL を 50 mL のなし形フラスコに正確に入れ、無水酢酸 1 mL を加え、室温で 16 時間静置する。アセチル化した標準原液をアセトンで正確に希釈し、1 mL 中にトリクロロホンとして 0.02~2.0 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 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：炎光光度検出器（リン検出用フィルター）

カ ラ ム：溶融石英製キャピラリーカラム（50%トリフルオロプロピルメチル-50%ジメチルポリシロキサンコーティング、内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm）<sup>注5</sup>

キャリアーガス：He（1.5 mL/min）

メイクアップガス：He（30 mL/min）

燃 料 ガ ス：H<sub>2</sub>（75 mL/min）

助 燃 ガ ス：乾燥空気（100 mL/min）

試 料 導 入 法：スプリットレス（60 s）

試料導入部温度：150 °C

カ ラ ム 槽 温 度：80 °C（1 min 保持）→昇温 20 °C/min→280 °C（5 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、試料中のトリクロロホン量を算出する。

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

2 Sep-Pak Plus 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 流速は 2~3 mL/min とする。

4 必要に応じて、試料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、その上澄み液をガスクロマトグラフィーに供する。

5 Rtx-200 (Restek 製)

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

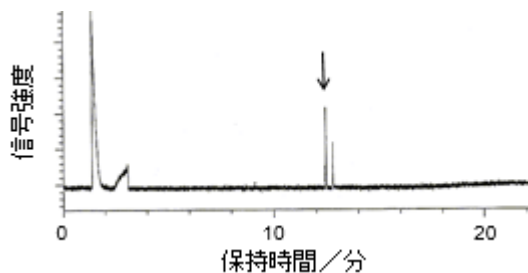
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
成鶏飼育用配合飼料	0.05	3	92.7	7.8
	0.25	3	83.4	5.1
乳用牛飼育用配合飼料	0.05	3	90.9	8.3
	0.25	3	78.9	2.4
アルファルファヘイキューブ	0.05	3	98.9	8.0
	0.25	3	85.9	4.3
オーツヘイ	0.05	3	101.9	8.8
	0.25	3	102.5	5.5

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
成鶏飼育用配合飼料	7	0	0.1	94.4	5.0	7.9	0.36
アルファルファヘイキューブ	7	0	0.1	97.9	7.1	8.9	0.41

・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 (配合飼料にトリクロロホンとして 0.1 mg/kg 相当量添加) のクロマトグラム

## 154 トリシクラゾール

### 154.1 ガスクロマトグラフ質量分析計法

#### A 試薬の調製

トリシクラゾール標準液 トリシクラゾール [C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>S] 50 mg を 0.01 g 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トリシクラゾール標準原液を調製する

(この液 1 mL は、トリシクラゾールとして 0.50 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 中にトリシクラゾールとして 0.002~0.2 µg を含有する数点のトリシクラゾール標準液を調製する。

## B 定 量

### 抽 出

- 1) 乾牧草 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリル-水 (13+7) 100 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙 (5 種 B) で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトニトリル 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線までアセトニトリルを加える<sup>注1</sup>。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 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。
- 2) その他の飼料 分析試料 10 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリル-水 (13+7) 50 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)<sup>注2</sup>に入れ、試料溶液の入っていたなす形フラスコを水 5 mL で洗浄し、洗液をミニカラムに加え、5 分間静置する。200 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン-酢酸エチル (1+1) 20 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下させてトリシクラゾールを溶出させる。更にヘキサン-酢酸エチル (1+1) 40 mL をカラムに加えて同様に溶出させ、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、この液を 10 mL の遠心沈殿管に入れ、1,000×g で 5 分間遠心分離する。上澄み液をメンブランフィルター (孔径 0.5 µm 以下) でろ過し、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、トリシクラゾー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。

ヘキサン-アセトン (1+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。

### ゲル浸透クロマトグラフィー 例

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

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

溶離液：シクロヘキサン-アセトン（4+1）

流量：5 mL/min

分取画分：150~190 mL

カラム処理 III シリカゲルミニカラム（690 mg）<sup>注3</sup>をアセトン 5 mL 及びヘキサン 5 mL で順次洗浄する。50 mL のなし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トリシクラゾールを流出<sup>注4</sup>させる。試料溶液の入っていたなし形フラスコをヘキサン-アセトン（1+1）2 mL ずつで2回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、同様に流出<sup>注4</sup>させる。更にヘキサン-アセトン（1+1）14 mL をミニカラムに加えて同様に流出<sup>注4</sup>させる。

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

ガスクロマトグラフ質量分析計による測定 試料溶液及び各トリシクラゾール標準液各 1  $\mu\text{L}$  をガスクロマトグラフ質量分析計に注入し、選択イオン検出クロマトグラムを得る。

### 測定条件 例

（ガスクロマトグラフ部）

カラム：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化学結合型、内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25  $\mu\text{m}$ ）<sup>注5</sup>

キャリアーガス：He（1.0 mL/min）

試料導入法：スプリットレス（60 s）

試料導入部温度：280 °C

カラム槽温度：70 °C（1 min 保持）→昇温 25 °C/min→200 °C→昇温 8 °C/min→280 °C（10 min 保持）

（質量分析計部<sup>注6</sup>）

検出器：四重極型質量分析計

イオン化法：電子イオン化（EI）法

インターフェース温度：250 °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  $m/z$  189、確認イオン  $m/z$  162 及び 161

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、試料中のトリシクラゾール量を算出する。



注 1 試料中のトリシクラゾール含量が多い場合には、抽出液をアセトニトリルで希釈してから以後の操作を行う。

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

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

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

5 Rtx-5MS (Restek 製) 又はこれと同等のもの

6 GCMS-QP2010 (島津製作所製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・ 添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
とうもろこし	0.004	3	116.8	0.7
	0.02	3	116.3	1.6
ライグラス	0.4	3	98.1	2.3
	5	3	81.4	2.2

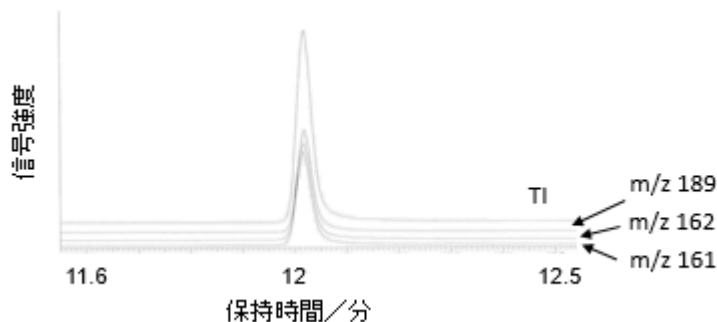
・ 共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
とうもろこし	7	1	0.02	101	7.1	16	0.72
チモシー	7	1	5	102	6.8	17	1.3

・ 定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.004 mg/kg (乾牧草 0.4 mg/kg)

・ 検出下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.001 mg/kg (乾牧草 0.1 mg/kg)

(参考) クロマトグラム例



標準液 (トリシクラゾールとして 100 µg/mL) のクロマトグラム

## 155 トリフルラリン

155.1 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。

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

- 156 トリフロキシストロビン
- 156.1 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。
- 157 トリルフルアニド
- 157.1 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。
- 158 トルクロホスメチル
- 158.1 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。
- 159 ナプロパミド
- 159.1 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。
- 160 二臭化エチレン
- 160.1 EPTC及び二臭化エチレンのガスクロマトグラフ質量分析計による同時分析法  
第3節9による。
- 161 ニトロフェン
- 161.1 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。
- 162 ノナクロール（*cis*-ノナクロール及び *trans*-ノナクロール）
- 162.1 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。
- 163 パクロブトラゾール
- 163.1 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。
- 164 パラコート
- 164.1 ジクワット及びパラコ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  
第3節34による。

## 164.2 液体クロマトグラフ法

### A 試薬の調製

- 1) パラコート標準原液　パラコート〔C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>〕20 mg を0.01 mgの桁まで量り、その数値を記録し、100 mLの全量フラスコに入れ、塩酸(0.01 mol/L)を加えて溶かし、更に標線まで塩酸(0.01 mol/L)を加えてパラコート標準原液を調製する(この液1 mLは、パラコート0.2 mgを含有する。)
- 2) 陽イオン交換樹脂(Na<sup>+</sup>型)　強酸性陽イオン交換樹脂<sup>注1</sup> 100 g(99.5~100.4 g)を量って、500 mLの三角フラスコに入れ、水300 mLを加えてかき混ぜ、上澄み液を捨てる。上澄み液のpHが6.8~7.2になるまでこの操作を繰り返した後、水300 mLを加えて一夜静置する。次にこの樹脂に水酸化ナトリウム溶液(2 mol/L)200 mLを加えてかき混ぜ、上澄み液を捨てる。上澄み液のpHが12以上になるまでこの操作を繰り返した後、水酸化ナトリウム溶液(2 mol/L)200 mLを加えて一夜静置する。次にこの樹脂に水300 mLを加えてかき混ぜ、上澄み液を捨てる。上澄み液のpHが6.8~7.2になるまでこの操作を繰り返した後、水300 mLを加えて水中に保存する。

### B 定 量

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

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

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

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

塩化アンモニウム溶液(5 mol/L)50 mLをカラムに加え、初めの流出液5 mLを捨てた後、50 mLの全量フラスコをカラムの下に置き、パラコートを溶出させる。全量フラスコの標線まで塩化アンモニウム溶液(5 mol/L)を加え、蛍光化に供する試料溶液とする。

蛍光化　試料溶液10 mLを100 mLの分液漏斗に正確に入れ、水酸化ナトリウム溶液(12 mol/L)10 mL及びフェリシアン化カリウム溶液(1 w/v%)1 mLを加えて軽く振り混ぜる。更に分液漏斗にクロロホルム20 mLを加えて5分間激しく振

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

水-アセトニトリル（93+7）4 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブレンフィルター（孔径 0.5 μm 以下）でろ過し、液体クロマトグラフィーに供する試料溶液とする。

同時にパラコート標準原液 1 mL 及び塩化アンモニウム溶液（5 mol/L）9 mL を 100 mL の分液漏斗に正確に入れ、試料溶液と同一条件で蛍光化する。

水-アセトニトリル（93+7）4 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブレンフィルター（孔径 0.5 μm 以下）でろ過し、更に水-アセトニトリル（93+7）で正確に希釈し、1 mL 中にパラコートとして 0.01~0.5 μg 相当量を含有する数点の標準液を調製する。

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

#### 測定条件 例

検 出 器：蛍光検出器（励起波長：330 nm、蛍光波長：436 nm）

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

溶 離 液：水-アセトニトリル（93+7）

流 速：1.3 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、試料中のパラコート量を算出する。

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

2 GF/A（Whatman 製）又はこれと同等のもの

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

4 Shodex C18-5B（昭和電工製（販売終了））又はこれと同等のもの

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

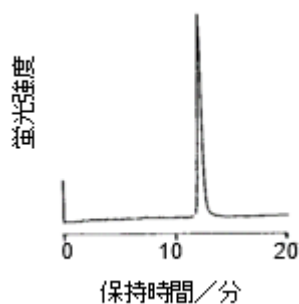
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
成鶏飼育用配合飼料	0.1	3	87.7	15
	0.2	3	96.3	19
	0.5	3	76.7	7.9
子豚育成用配合飼料	0.1	3	92.7	4.9
	0.2	3	80.7	3.1
	0.5	3	85.0	7.7
スーダングラス	0.1	3	96.0	14
	0.2	3	87.7	10
	0.5	3	79.3	11

・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 <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
プロイラー用配合飼料	7	0	0.2	88.2	6.8	7.3	0.35

- ・定量下限 (単一試験室による確認) 配合飼料中 0.05 mg/kg、乾牧草中 0.01 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



添加試料 (配合飼料にパラコートとして 0.5 mg/kg 相当量添加) のクロマトグラム

165 パラチオン

165.1 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。

165.2 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。

165.3 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。

166 パラチオンメチル

166.1 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。

166.2 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。

167 ハルフェンプロックス

167.1 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。

168 ハロスルフロンメチル

168.1 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。

169 ピコリナフェン

169.1 ガスクロマトグラフ質量分析計法

#### A 試薬の調製

1) ピコリナフェン標準液 ピコリナフェン〔C<sub>19</sub>H<sub>12</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>〕25 mgを0.01 mgの桁まで量り、その数値を記録し、50 mLの全量フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えてピコリナフェン標準原液を調製する（この液1 mLは、ピコリナフェンとして0.5 mgを含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部を希釈溶媒で正確に希釈し、1 mL中にピコリナフェンとして0.002~1 µgを含有する数点のピコリナフェン標準液を調製する。

2) 希釈溶媒 ポリエチレングリコール（平均分子量400）50 µLをアセトン100 mLに加えて希釈溶媒を調製する。

#### B 定 量

抽 出 分析試料10 gを0.01 gの桁まで量り、その数値を記録し、200 mLの共栓三角フラスコに入れ、水20 mL（乾牧草は30 mL）を加え、30分間静置後、更にアセトン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まで減圧濃縮し、カラム処理Iに供する試料溶液とする。

カラム処理I 試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム（20 mL保持用）<sup>注1</sup>に入れ、試料溶液の入っていたなす形フラスコを水5 mLで洗浄し、洗液をカラムに加えた後5分間静置する。200 mLのなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン10 mLずつで3回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下してピコリナフェンを溶出させる。更にヘキサン50 mLをカラムに加えて同様に溶出させる。溶出液を40 °C以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。

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、1,000×g で5分間遠心分離し、上澄み液をメンブランフィルター (孔径 0.45 μm) でろ過し、カラム処理 II に供する試料溶液とする。

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

ヘキサン 5 mL を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 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 : 75~105 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) <sup>注2</sup> をヘキサン 5 mL で洗浄する。

試料溶液をミニカラムに入れ、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、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。

50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、ヘキサン-アセトン (17+3) 10 mL をミニカラムに加えてピコリナフェンを溶出させる。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。

希釈溶媒 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 試料溶液及び各ピコリナフェン標準液各 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 : 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 μm) <sup>注3</sup>

キャリアガス : He (1.0 mL/min)

試料導入法 : スプリットレス (60 s)

試料導入部温度 : 250 °C

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

(質量分析計部<sup>注4)</sup>)

検 出 器：四重極型質量分析計

イオン化法：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  $m/z$  376、確認イオン  $m/z$  238

計 算 得られた選択イオン検出クロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中のピコリナフェン量を算出する。

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 Rtx-5MS (Restek 製) 又はこれと同等のもの

4 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 $RSD_r$ (%)
肉豚肥育用配合飼料	0.01	3	106	3.1
	0.1	3	97.2	3.1
乳用牛飼育用配合飼料	0.005	3	99.4	10
	0.01	3	105	6.7
	0.1	3	109	4.6
小麦	0.01	3	98.2	5.5
	0.1	3	91.5	5.2
とうもろこし	0.01	3	97.7	8.9
	0.1	3	90.0	6.9
ライグラス	0.005	3	89.0	7.7
	0.01	3	96.7	4.0
	0.1	3	101	8.7

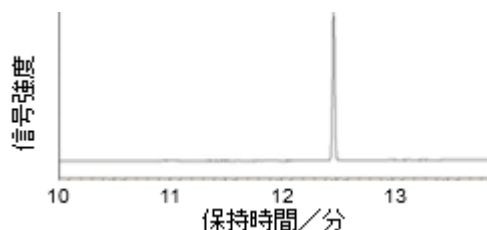
・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 $RSD_r$ (%)	室間再現精度 $RSD_R$ (%)	HorRat
乳用牛飼育用配合飼料	9	0	0.1	98.0	3.9	11	0.50
ライグラスストロー	9	0	0.1	89.6	7.0	12	0.55

・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 0.001 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



添加試料 (乳用牛飼育用配合飼料にピコリナフェンとして  
0.1 mg/kg 相当量添加) のクロマトグラム



## 170 ヒドロキシイソキサゾール

### 170.1 液体クロマトグラフ質量分析計法

(適用範囲：稲わら及び粃米)

#### 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 [ $C_4H_5NO_2$ ] 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、標準原液の一部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 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、300 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 30 mL（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、抽出液をガラス繊維ろ紙<sup>注1</sup>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 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（試料が粃米である場合は 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 (4.5~5.4 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。更に、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。この液の一部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）<sup>注2</sup>

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<sup>注3</sup>)

検出器：四重極型質量分析計

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化法（正イオンモード）

ネブライザーガス：N<sub>2</sub>（1.5 L/min）

乾燥ガス：N<sub>2</sub>（10 L/min）

ヒートブロック温度：200 °C

C D L 温度：250 °C

モニターイオン：*m/z* 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（レゾナック製）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

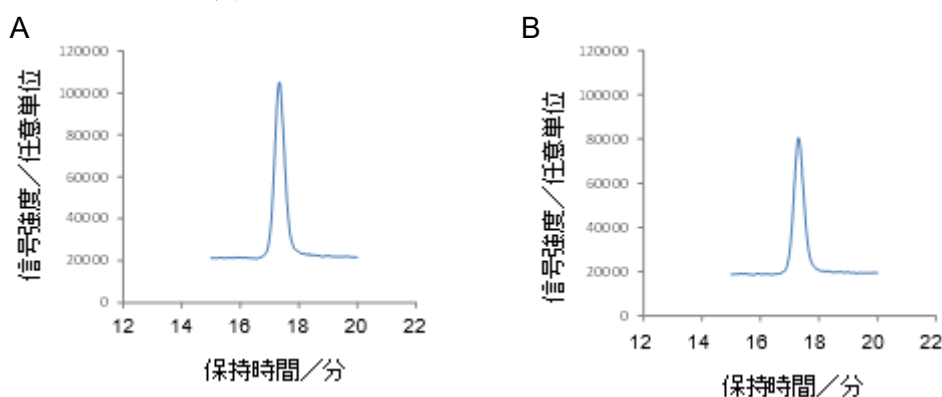
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
稲わら1	0.05	5	89.7	4.7
	1	5	71.4	9.9
稲わら2	0.05	5	78.7	9.6
	1	5	80.0	11
粳米1	0.05	5	86.9	2.9
	0.5	5	95.5	9.8
粳米2	0.05	5	94.1	7.2
	0.5	5	82.2	7.6

・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 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
稲わら1	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
籾米1	8	0	0.1	78.5	6.1	13	0.60
籾米2	8	0	0.25	78.3	5.2	9.0	0.44
籾米3	8	0	1	77.9	6.3	9.9	0.60

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

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A : 標準液 (ヒドロキシイソキサゾールとして 200 ng/mL)

B : 添加試料 (稲わらにヒドロキシイソキサゾールとして 1 mg/kg 相当量添加)

171 ビフェントリン

171.1 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。

171.2 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。

172 ピペロニルブトキシド

172.1 液体クロマトグラフ法

A 試薬の調製

- 1) ピペロニルブトキシド標準液 ピペロニルブトキシド [C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>] 20 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線までメタノールを加えてピペロニルブトキシド標準原液とする (この液 1 mL は、ピペロニルブトキシドとして 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 中にピペロニルブトキシドとして 0.5~5 μg を含有する数点のピペロニルブトキシド標準液

を調製する。

- 2) 塩基性アルミナ カラムクロマトグラフ用塩基性アルミナ（粒径 63~200  $\mu\text{m}$  (230~70 メッシュ)）<sup>注1</sup>を 105 °C で 1 時間乾燥する。
- 3) ケイ酸マグネシウム 合成ケイ酸マグネシウム（粒径 74~149  $\mu\text{m}$  (200~100 メッシュ)）<sup>注2</sup>を 105 °C で 1 時間乾燥する。

## B 定 量

**抽 出** 分析試料 40 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 100 mL を加え、1 時間振り混ぜて抽出し、ろ紙（2 種）でろ過し、精製に供する試料溶液とする。

**精 製** 試料溶液 25 mL を 100 mL のなす形フラスコに正確に入れ、50 °C 以下の水浴で 2~3 mL まで減圧濃縮し、濃縮液を 100 mL の分液漏斗 A に入れる。先のなす形フラスコを少量のメタノールで洗浄し、洗液を分液漏斗 A に合わせた後、分液漏斗 A にヘキサン 50 mL 及び塩化ナトリウム溶液（10 w/v%）50 mL を加え、激しく振り混ぜた後静置する。水層（下層）を 100 mL の分液漏斗 B に入れ、ヘキサン層（上層）を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、穏やかに振り混ぜた後静置し、水層を分液漏斗 A に合わせ、ヘキサン層を先の三角フラスコに合わせる。ヘキサン 50 mL を分液漏斗 A に加え、穏やかに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、200 mL の三角フラスコに分液ろ紙でろ過する。先の三角フラスコ及びろ紙を順次少量のヘキサンで洗浄し、洗液を先のろ紙を通してろ液を合わせ、カラム処理に供する試料溶液とする。

**カラム処理** 硫酸ナトリウム（無水）2 g (1.8~2.2 g)、塩基性アルミナ 1 g (0.9~1.1 g)、ケイ酸マグネシウム 1 g (0.9~1.1 g) 及び硫酸ナトリウム（無水）2 g (1.8~2.2 g) をそれぞれヘキサンに懸濁させてカラム管（内径 10 mm）に順次流し込み、液面が充てん剤の上端から 3 mm の高さに達するまで流出させ、カラムを調製する。

試料溶液をカラムに入れ、試料溶液の入っていた三角フラスコを少量のヘキサンので洗浄し、洗液をカラムに加え、液面が充てん剤の上端から 3 mm の高さに達するまで流出させる。100 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、ヘキサンクロロホルム（1+1）50 mL をカラムに加えてピペロニルブトキシドを溶出させる。

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、更に窒素ガスを送って乾固した後、メタノール 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  $\mu\text{m}$  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** 試料溶液及び各ピペロニルブトキシド標準液各 20  $\mu\text{L}$  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：294 nm、蛍光波長：326 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  $\mu$ m）<sup>注3</sup>

溶離液：メタノール-水（17+3）

流速：1.0 mL/min

計算 得られたクロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のピペロニルブトキシド量を算出する。

注 1 Aluminiumoxid aktiv basisch Art.1076（Merck 製）又はこれと同等のもの

2 フロリジル（Floridin 製）又はこれと同等のもの

3 UNISIL PACK 5C18-250A（ジーエルサイエンス製（販売終了））又はこれと同等のもの

（参考）分析法バリデーション

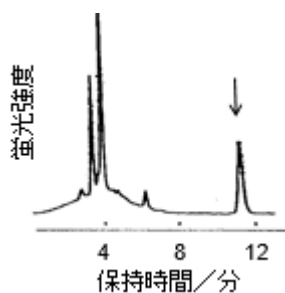
・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
ブロイラー肥育後期用配合飼料	0.05	3	84.7	7.4
	0.5	3	84.0	1.6
	1.0	3	83.0	2.2
とうもろこし	0.05	3	80.4	1.7
	0.5	3	83.3	4.0
	1.0	3	83.9	0.8
マイロ	0.05	3	84.1	2.4
	0.5	3	80.0	2.3
	1.0	3	80.1	2.5

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
ブロイラー肥育後期用配合飼料	6	0	0.5	92.4	2.9	5.0	0.28

（参考）クロマトグラム例



添加試料（配合飼料にピペロニルブトキシドとして 0.5 mg/kg 相当量添加）のクロマトグラム

### 173 ピペロホス

173.1 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。

### 174 ピメトロジン

174.1 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計法  
（適用範囲：稲わら、稲発酵粗飼料及び粃米）

## A 試薬の調製

ピメトロジン標準液　　ピメトロジン〔C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O〕 25 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、50 mL の全量フラスコに入れ、メタノールを加えて溶かし、更に標線までメタノールを加えて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、標準原液の一部を水-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 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、300 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 30 mL（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<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水-メタノール（7+3）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）<sup>注4</sup>

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<sup>注5</sup>）

検　　出　　器：四重極型質量分析計

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

イオン源温度：110 °C  
 デソルベーションガス：N<sub>2</sub> (800 kPa、400 °C)  
 キャピラリー電圧：1 kV  
 コーンガス：N<sub>2</sub> (50 kPa)  
 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 ピメトロジンの測定条件

測定対象物質	プリカーサー イオン ( <i>m/z</i> )	プロダクトイオン		コーン 電圧 (V)	コリジョン エネルギー (eV)
		定量用 ( <i>m/z</i> )	確認用 ( <i>m/z</i> )		
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) 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

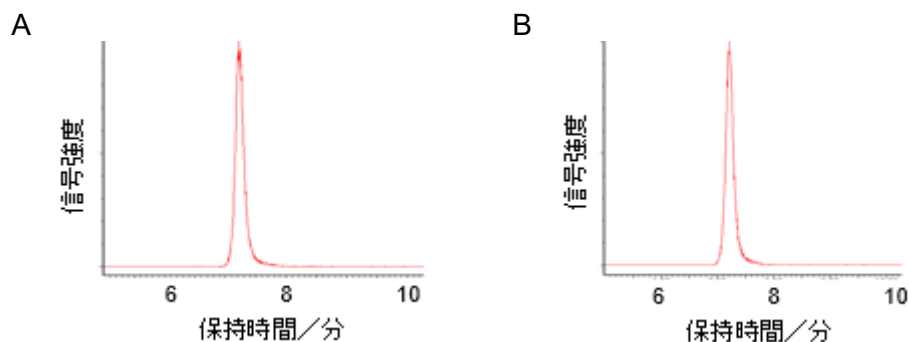
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
稲わら	0.01	3	89.3	3.0
	0.1	3	90.0	1.2
	1	3	87.1	0.7
稲発酵粗飼料	0.01	3	88.4	9.8
	0.1	3	91.2	8.5
	1	3	88.0	2.3
粳米	0.01	3	94.2	6.1
	0.1	3	96.8	3.7
	1	3	97.0	1.0

- ・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
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 (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 (ピメトロジンとして 10 ng/mL)

B: 添加試料 (稲わらにピメトロジンとして 1 mg/kg 相当量添加)

#### 175 ピラゾキシフェン

175.1 エスプロカルブその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節18による。

#### 176 ピラゾリネート

176.1 エスプロカルブその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節18による。

#### 177 ピリダフェンチオン

177.1 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。

#### 178 ピリダベン

178.1 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。

#### 179 ピリブチカルブ

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

#### 180 ピリプロキシフェン

180.1 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。



181 ピリミカーブ

- 181.1 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。

182 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））

- 182.1 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。

183 ピリミホスメチル

- 183.1 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。

- 183.2 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。

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

184 ピロキロン

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

185 ビンクロゾリン

- 185.1 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。

185.2 ガスクロマトグラフ法

A 試薬の調製

- 1) ビンクロゾリン標準液 ビンクロゾリン [C<sub>12</sub>H<sub>9</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>] 20 mg を 0.01 mg の桁まで量り、その数値を記録し、100 mL の全量フラスコに入れ、アセトン 20 mL を加えて溶かし、更に標線まで 2,2,4-トリメチルペンタンを加えてビンクロゾリン標準原液を調製する（この液 1 mL は、ビンクロゾリンとして 0.2 mg を含有する。）。

使用に際して、標準原液の一部を 2,2,4-トリメチルペンタン-アセトン（4+1）で正確に希釈し、1 mL 中にビンクロゾリンとして 0.01~2 µg を含有する数点のピ

ンクロゾリン標準液を調製する。

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

### B 定 量

抽 出 分析試料 5~10 g を有効数字 4 桁まで量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 15 mL を加えて潤し、30 分間静置後、更にアセトン 80 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。300 mL のなす形フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。ろ液を 40 °C 以下の水浴で約 15 mL まで減圧濃縮し、塩化ナトリウム 5 g（4.5~5.4 g）を加え、カラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I 試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム（20 mL 保持用）<sup>注2</sup>に入れ、5 分間静置する。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 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ビンクロゾリンを溶出させる。更にヘキサン 90 mL をカラムに加えて同様に溶出させ、溶出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。シクロヘキサン-アセトン（7+3）10 mL を正確に加えて残留物を溶かし、メンブランフィルター（孔径 5  $\mu\text{m}$  以下）でろ過した後、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、ビンクロゾリ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。

ヘキサノージェチルエーテル（49+1）5 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 III に供する試料溶液とする。

ゲル浸透クロマトグラフィ 例

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

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

溶 離 液：シクロヘキサン-アセトン（7+3）

流 速：5 mL/min

分 取 画 分：60~75 mL

カラム処理 III ケイ酸マグネシウム 10 g（9.5~10.5 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。

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ノージェチルエーテル（49+1）5 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端から 3 mm の高さに達するまで流出させる。更にヘキサノージェチルエーテル（49+1）30 mL をカラムに加え、同様に流出させる。

200 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、ヘキサノール（17+3）80 mL をカラムに加えてビンクロゾリンを溶出させ、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。

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

ガスクロマトグラフィー 試料溶液及び各ビンクロゾリン標準液各 2 µL をガスクロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得る。

#### 測定条件 例

検 出 器：アルカリ熱イオン化検出器  
 カ ラ ム：溶融石英製キャピラリーカラム（5%ジフェニル-95%ジメチルポリシロキサンコーティング、内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 µm）<sup>注3</sup>

キャリアーガス：He（1.5 mL/min）

メイクアップガス：He（30 mL/min）

燃 料 ガ ス：H<sub>2</sub>（3 mL/min）

助 燃 ガ ス：乾燥空気（140 mL/min）

試 料 導 入 法：スプリットレス（60 s）

試料導入部温度：250 °C

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

検 出 器 温 度：280 °C

計 算 得られたクロマトグラムからピーク高さ又は面積を求めて検量線を作成し、試料中のビンクロゾリン量を算出する。

注 1 フロリジル（Floridin 製）又はこれと同等のもの

2 Chem Elut（Agilent Technologies 製）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

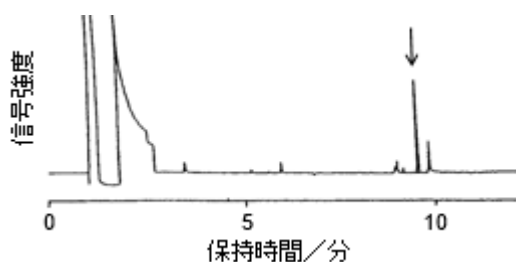
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
幼すう育成用配合飼料	0.25	3	84.0	8.3
	0.5	3	91.0	4.8
	1	3	80.3	7.6
肉豚肥育用配合飼料	0.25	3	86.0	3.5
	0.5	3	91.3	6.7
	1	3	92.0	6.1
アルファルファヘイ	0.25	3	82.3	9.1
	0.5	3	86.7	8.7
	1	3	84.0	9.7

#### ・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
肉豚肥育用配合飼料	6	0	0.5	85.5	3.3	9.4	0.51

・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（成鶏用配合飼料にピンクロリゾンとして  
0.5 mg/kg 相当量添加）のクロマトグラム

## 186 フィプロニル

### 186.1 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計法

(適用範囲：飼料)

#### A 試薬の調製

- 1) フィプロニル標準液 フィプロニル [ $C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$ ] 20 mg を 0.01 g 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フィプロニル標準原液を調製する（この液 1 mL は、フィプロニルとして 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 中にフィプロニルとして 1~100 ng を含有する数点のフィプロニル標準液を調製する。

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

#### B 定 量

抽出 分析試料 10 g (乾牧草、稲わら及び稲発酵粗飼料は 5.0 g) を 0.01 g の桁まで (乾牧草、稲わら及び稲発酵粗飼料は 0.001 g の桁まで) 量り、その数値を記録し、200 mL の共栓三角フラスコに入れ、水 15 mL を加え、30 分間静置後、更にアセトニトリル 100 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙 (5 種 B) で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトニトリル 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に、全量フラスコの標線までアセトニトリルを加え、液液分配に供する試料溶液とする。

液液分配 試料溶液 20 mL をあらかじめ塩化ナトリウム 10 g (9.5~10.4 g) 及び 0.5 mol/L リン酸緩衝液 20 mL (試料が稲わらである場合は 0.5 w/v% 水酸化ナトリウム溶液 20 mL) を入れた 100 mL の分液漏斗に正確に加え、10 分間振り混ぜた後静置する。水層 (下層) を捨て、アセトニトリル層 (上層) を 100 mL の三角フラスコに入れ、適量の硫酸ナトリウム (無水) で脱水し、100 mL のなす形フラスコに綿栓でろ過する。先の三角フラスコを少量のアセトニトリルで洗浄し、

洗液を先の綿栓を通してろ液を合わせる。ろ液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮し、窒素ガスを送って乾固する。ヘキサン 2 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理に供する試料溶液とする。

カラム処理 グラファイトカーボン/エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (500 mg/500 mg) <sup>注1</sup> をアセトン 10 mL 及びヘキサン 10 mL で順次洗浄する。

試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流下させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、同様に流出させる。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、ヘキサン-アセトン (4+1) 15 mL をミニカラムに加え、フィプ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。メタノール 1 mL (試料が乾牧草、稲わら及び稲発酵粗飼料である場合は 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 0.20 µm 以下) でろ過し、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 試料溶液及び各フィプロニル標準液各 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 2.0 mm、長さ 150 mm、粒径 3 µm) <sup>注2</sup>  
溶離液 : 2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-2 mmol/L 酢酸アンモニウム含有メタノール溶液 (7+3) (0.2 min 保持) →12.5 min→ (1+19) (2.5 min 保持) →2 min → (7+3) (12 min 保持)

流速 : 0.2 mL/min

カラム槽温度 : 40 °C

(タンデム型質量分析計部<sup>注3</sup>)

検出器 : 四重極型質量分析計

イオン化法 : エレクトロスプレーイオン化法 (負イオンモード)

イオン源温度 : 120 °C

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

キャピラリー電圧 : 2.5 kV

コーンガス : N<sub>2</sub> (50 L/h)

コーン電圧 : 下表のとおり

コリジョンガス : Ar (0.25 mL/min)

コリジョンエネルギー : 下表のとおり

モニターイオン : 下表のとおり

表 フィプロニルの測定条件

測定対象物質	プリカーサー	プロダクトイオン		コーン電圧 (V)	コリジョン
	イオン (m/z)	定量用 (m/z)	確認用 (m/z)		エネルギー (eV)
フィプロニル	435	330	—	25	15
		—	250		30

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、試料中のフィプロニル量を算出する。

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

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

3 ACQUITY TQD (Waters 製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
鶏用配合飼料	0.0008	5	102	3.9
	0.01	5	83.2	7.1
	0.02	5	81.3	7.0
小麦	0.0008	5	81.3	8.9
	0.002	5	86.2	6.7
とうもろこし	0.0008	5	91.1	12
	0.008	5	85.8	6.6
	0.02	5	90.0	1.8
アルファルファヘイ	0.01	5	81.6	5.5
	0.04	5	86.7	4.1
	0.2	5	85.8	6.7
稲わら	0.01	5	84.8	9.0
	0.2	5	76.7	2.6
稲発酵粗飼料	0.004	5	102	7.0
	0.018	5	87.5	7.2
	0.11	5	85.6	5.2

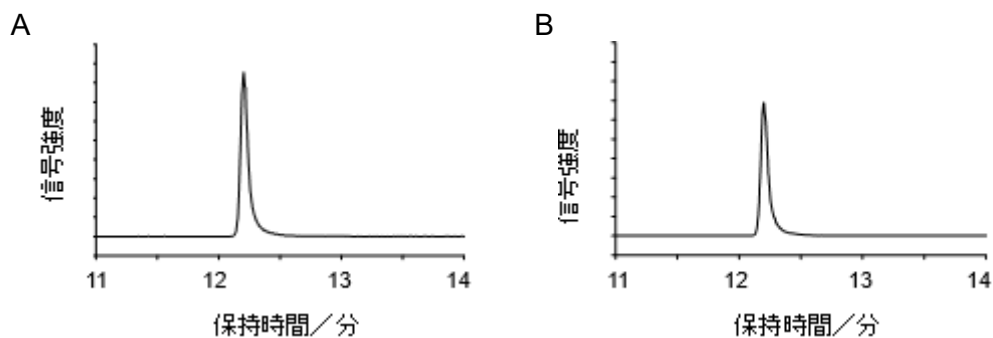
・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
鶏用配合飼料	10	0	0.01	82.4	6.2	9.0	0.41
牛用配合飼料	10	0	0.0016	75.0	8.2	9.9	0.45
小麦	10	0	0.002	77.6	7.0	8.3	0.38
アルファルファヘイ	8	2	0.18	71.3	3.5	4.1	0.19
稲わら	10	0	0.25	69.6	3.0	9.3	0.44
稲発酵粗飼料	10	0	0.11	68.8	5.5	8.0	0.38

・定量下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.0008 mg/kg (乾牧草、稲わら及び稲発酵粗飼料 (風乾物) 0.01 mg/kg)

・検出下限 (単一試験室による確認) 試料中 0.0002 mg/kg (乾牧草、稲わら及び稲発酵粗飼料 (風乾物) 0.004 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 (フィプロニルとして 10 ng/mL)

B : 添加試料 (成鶏飼育用配合飼料にフィプロニルとして 0.01 mg/kg 相当量添加)

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

187 フェナリモル

187.1 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。

187.2 テブコナゾール及びフェナリモルのガスクロマトグラフ質量分析計による同  
時分析法  
第3節31による。

188 フェニトロチオン

188.1 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。

188.2 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。

188.3 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。

189 フェノキサニル

189.1 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。

190 フェノチオカルブ

- 190.1 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。

191 フェノトリン

- 191.1 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。

192 フェノブカルブ

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

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

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

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

193 フェリムゾン（フェリムゾンE体及びフェリムゾンZ体）

- 193.1 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計法<sup>注1</sup>  
（適用範囲：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〔C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>〕を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〔C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>〕を25 mgを0.01 g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。更に、混合標準原液の一部をアセトニトリル-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 g を 0.01 g の桁まで量り、その数値を記録し、300 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、水 30 mL（粃米は 20 mL）を加え 30 分間静置後、更にアセトン 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<sup>注2</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3</sup> 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<sup>注4</sup>を溶出させる。更に、褐色全量フラスコの標線までアセトニトリル-水（3+2）を加えた後、この液の一部を 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）<sup>注4</sup>

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<sup>注5</sup>）

検 出 器 : 四重極型質量分析計

イ オ ン 化 法 : エレクトロスプレーイオン化法（正イオンモード）

ネ ブ ラ イ ザ ー ガ ス : N<sub>2</sub>（1.5 L/min）

乾 燥 ガ ス : N<sub>2</sub>（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 フェリムゾン E 体及び Z 体の測定条件

測定対象物質	プリカーサー イオン ( <i>m/z</i> )	プロダクトイオン		コリジョン エネルギー (eV)
		定量用 ( <i>m/z</i> )	確認用 ( <i>m/z</i> )	
フェリムゾン E 体及び Z 体	255	132	—	21
		—	91	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 <sub>r</sub> (%)
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

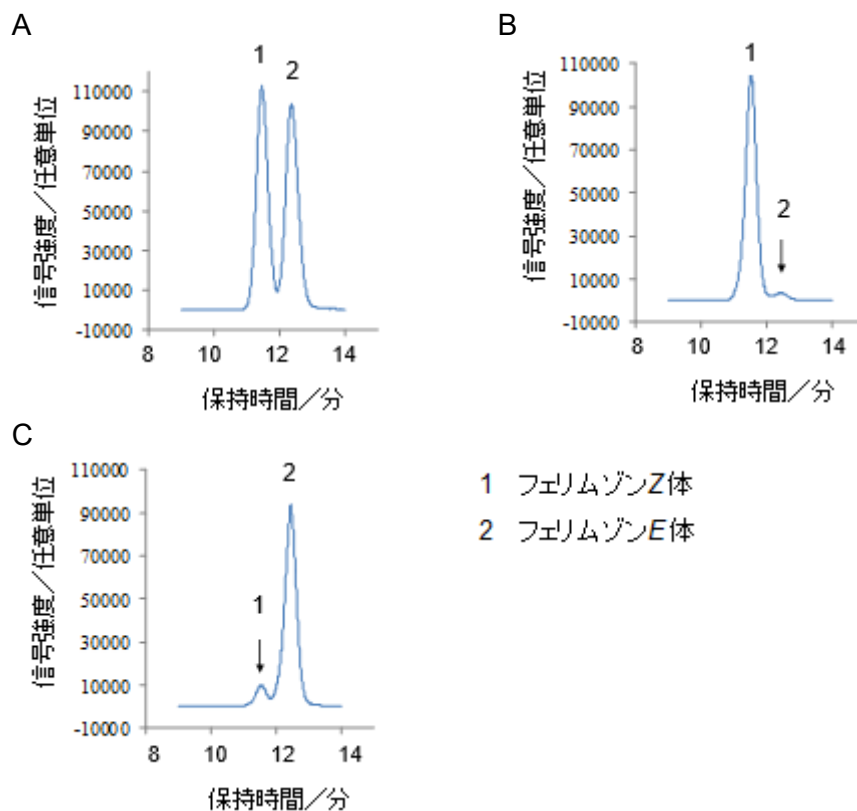
・共同試験

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 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	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 <sup>注</sup>	91.0	2.6	7.2	0.56
		10	1	30 <sup>注</sup>	92.2	1.7	6.2	0.64
		10	1	10	96.7	1.5	3.7	0.33
籾米	9	2	0.5	94.1	2.5	3.9	0.22	
	10	1	10	97.3	1.3	2.8	0.25	
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 <sup>注</sup>	96.0	2.3	6.0	0.48
		10	1	30 <sup>注</sup>	95.9	1.9	5.0	0.52
		10	1	10	97.3	1.3	2.8	0.25
籾米	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（単一試験室による確認） 試料（稲発酵粗飼料は風乾物）中 各 0.2 mg/kg
- ・ 検出下限（単一試験室による確認） 試料（稲発酵粗飼料は風乾物）中 各 0.04 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（フェリムゾンZ体及びE体として各 20 ng/mL）
- B：添加試料（稲わらにフェリムゾンZ体として 20 mg/kg 相当量添加）
- C：添加試料（稲わらにフェリムゾンE体として 20 mg/kg 相当量添加）

194 フェンスルホチオン

- 194.1 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。

195 フェンチオン

- 195.1 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。

- 195.2 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。

- 195.3 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。

196 フェントエート

- 196.1 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。

- 196.2 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。

- 196.3 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。

197 フェンバレレート

- 197.1 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。

- 197.2 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。

- 197.3 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。

198 フェンブコナゾール

- 198.1 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。

## 199 フェンプロパトリン

199.1 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。

199.2 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。

## 200 フサライド

200.1 ガスクロマトグラフ質量分析計法

(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  $\mu$ gを含有する液を調製する。この液の一部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  $\mu$ 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 gを0.01 gの桁まで量り、その数値を記録し、300 mLの共栓三角フラスコに入れ、水30 mL（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℃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）<sup>注1</sup>に入れ、10分間静置する。200 mLのなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン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℃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）<sup>注2</sup>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。更にヘキサン-ジエチルエーテル (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 °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、更にこの液の一部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 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 : 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) <sup>注3</sup>

キャリアーガス : He (1.0 mL/min)

試料導入法 : スプリットレス (120 s)

試料導入部温度 : 250 °C

カラム槽温度 : 70 °C (2 min 保持) →昇温 20 °C/min→280 °C (10 min 保持)

(質量分析計部<sup>注4</sup>)

検出器 : 四重極型質量分析計

イオン化法 : 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 : 250 °C

イオン化電圧 : 70 eV

モニターイオン : 定量イオン  $m/z$  243、確認イオン  $m/z$  272

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) (富士フィルム和光純薬製) 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

4 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

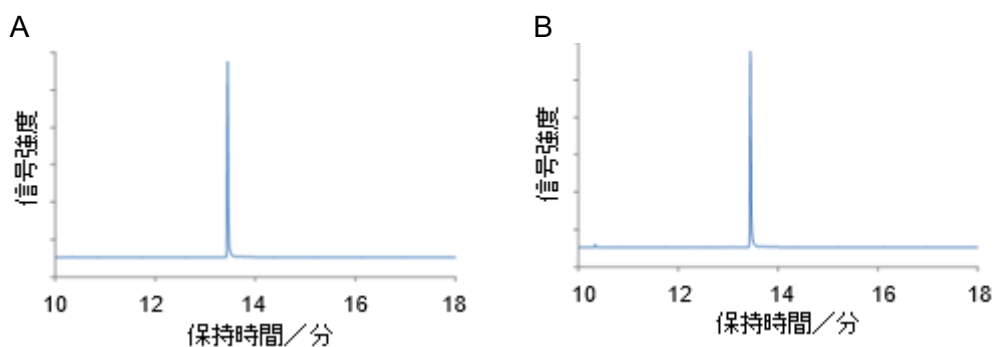
試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)
稲わら	6.5	3	92.1	3.4
	13	3	89.0	3.4
	130	3	88.1	0.9
稲発酵粗飼料	1.5	3	90.5	4.0
	3	3	92.0	2.9
	30	3	93.9	0.4
粳米	0.5	3	92.8	2.1
	10	3	102	1.4

・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 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
稲わら	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
粳米	9	0	1	94.9	5.0	7.4	0.46

- ・定量下限 (単一試験室による確認) 稲わら中 7 mg/kg、稲発酵粗飼料 (風乾物) 中 3 mg/kg、粳米中 0.5 mg/kg
- ・検出下限 (単一試験室による確認) 稲わら中 2 mg/kg、稲発酵粗飼料 (風乾物) 中 1 mg/kg、粳米中 0.2 mg/kg

(参考) クロマトグラム例



標準液及び添加試料のクロマトグラム

A : 標準液 (フサライドとして 0.1 µg/mL)

B : 添加試料 (稲わらにフサライドとして 130 mg/kg 相当量添加)

201 ブタクロール

201.1 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。

202 ブタミホス

202.1 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。

203 ブプロフェジン

- 203.1 エスプロカルブその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法  
第3節18による。

204 フラメトピル

- 204.1 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。

205 フラムプロップメチル

- 205.1 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 フルジオキシニル

- 206.1 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。

207 フルシトリネート

- 207.1 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。

- 207.2 ガスクロマトグラフによるピレスロイド系農薬の系統的分析法  
第2節4による。

208 フルセトスルフロン

- 208.1 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。

209 フルトラニル

- 209.1 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。

210 フルトリアホール

- 210.1 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。



## 211 フルバリネート

211.1 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。

211.2 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。

## 212 フルミオキサジン

212.1 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。

## 213 フルミクロラックペンチル

213.1 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。

## 214 プレチラクロール

214.1 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。

## 215 プロクロラズ

215.1 ガスクロマトグラフ質量分析計法<sup>注1</sup>

(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  
〔C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>Cl<sub>3</sub>OH〕25 mgを0.01 mgの桁まで量り、その数値を記録し、50 mLの全量  
フラスコに入れ、アセトンを加えて溶かし、更に標線までアセトンを加えて  
2,4,6-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部をアセトンで正確  
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。更にこの液の一部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<sup>注2</sup>  
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 gを0.01 gの桁まで量り、その数値を記録し、300 mLの  
共栓三角フラスコに入れ、水30 mL（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）<sup>注3</sup> 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酢酸エチル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<sup>注4</sup>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約 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）の一部を 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<sup>注2</sup> 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

（ガスクロマトグラフ部）

カラム ム：溶融石英製キャピラリーカラム（100 %ジメチルポリシロキサンコーティング、内径 0.32 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 µm）<sup>注5</sup>

キャリアーガス：He（1.5 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：50 °C（1 min 保持）→昇温 20 °C/min→280 °C（10 min 保持）

(質量分析計部<sup>注6)</sup>)

検 出 器：四重極型質量分析計

イ オ ン 化 法：電子イオン化 (EI) 法

インターフェース温度：250 °C

イ オ ン 源 温 度：230 °C

イ オ ン 化 電 圧：70 eV

モ ニ タ ー イ オ ン： $m/z$  253 (定量用)、217 (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 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 (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 DB-1 (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

6 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 <sub>r</sub> (%)
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
		1	5	114	7.6
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
		2	5	101	5.5

・共同試験

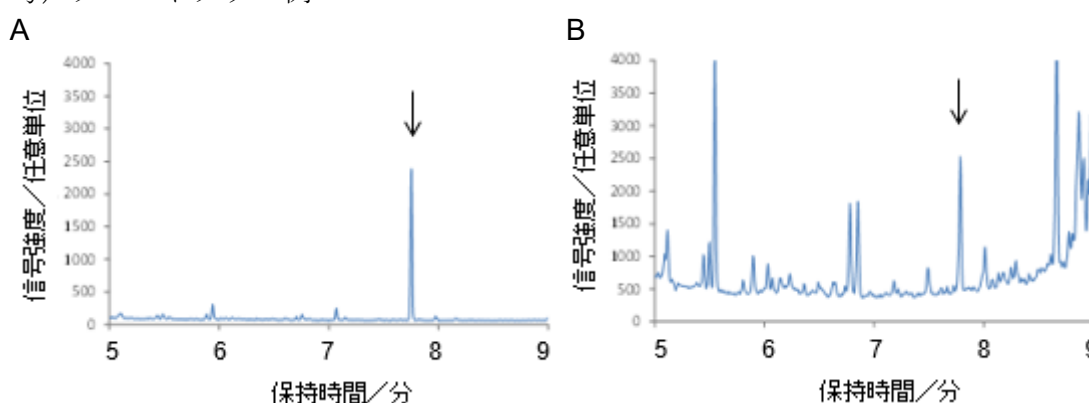
試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	室内繰返し精度 RSD <sub>r</sub> (%)	室間再現精度 RSD <sub>R</sub> (%)	HorRat
稲わら	10	1	0.2	99.1	10	14	0.68
稲発酵粗飼料	10	1	0.2 <sup>注</sup>	101	4.3	18	0.91
粳米	10	1	2	97.6	4.6	18	1.2

注 分析試料（風乾物）に対する添加濃度

・ 定量下限（単一試験室による確認） 試料（稲発酵粗飼料は風乾物）中 0.02 mg/kg

・ 検出下限（単一試験室による確認） 試料（稲発酵粗飼料は風乾物）中 0.006 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（プロクロラズとして 0.6 ng/mL）

B：添加試料（稲わらにプロクロラズとして 0.02 mg/kg 相当量添加）

216 プロシミドン

216.1 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。

217 プロチオホス

217.1 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。

218 プロパクロール

218.1 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。

219 プロパジン

219.1 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。