

3 飼料中の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の開発

榊原 良成^{*1}, 伊澤 淳修^{*1}, 桑原 正良^{*1}, 高橋 雄一^{*2}, 保田 伊世^{*3}, 青山 幸二^{*3}

Development of Simultaneous Determination Method of Diquat and Paraquat in Feed by LC-MS/MS

SAKAKIBARA Yoshinari^{*1}, IZAWA Atsunobu^{*1}, KUWABARA Masayoshi^{*1}, TAKAHASHI Yuichi^{*2},
YASUDA Iyo^{*3} and AOYAMA Koji^{*3}

(^{*1} Kobe Regional Center, Food and Agricultural Materials Inspection Center (FAMIC),

^{*2} Fertilizer and Feed Inspection Department, FAMIC (Now Sapporo Regional Center, FAMIC),

^{*3} Fertilizer and Feed Inspection Department, FAMIC)

We have developed a simultaneous quantitative determination method of the concentration of diquat and paraquat in feed using a liquid-chromatograph electrospray-ionization tandem mass spectrometer (LC-ESI-MS/MS).

Diquat and paraquat were extracted with water and sulfuric acid by heating under reflux, and the extracted solution was filtered. The filtrate was then purified with two types of solid phase extraction (SPE) columns (Oasis MCX and Oasis MAX, Waters Co.; Milford, MA, USA). Having oxidized these compounds, the sample solution was purified with an SPE column (Oasis HLB, Waters Co.), and injected into an LC-MS/MS to determine the concentration of diquat and paraquat. LC separation was then carried out on an ODS column (Inertsil ODS-3, 2.1 mm i.d. × 150 mm, 4 μm, GL Sciences Inc.; Tokyo, Japan) with a gradient of 0.1 v/v% formic acid solution and methanol as a mobile phase. In the MS/MS analysis, the positive mode electrospray ionization (ESI+) was used.

Soak washing of the used glassware with NaOH solution (1 mol/L) and nitric acid (1:10) was necessary, because diquat and paraquat have a strong tendency to remain on glassware. Of the feeds used in the present experiment, the matrix effect identified on milo and corn was successfully removed by diluting the sample solution to be injected into an LC-MS/MS.

Key words: diquat; paraquat; liquid-chromatograph tandem mass spectrometer (LC-MS/MS); electrospray ionization (ESI); feed

キーワード：ジクワット；パラコート；液体クロマトグラフタンデム型質量分析計；エレクトロスプレーイオン化法；飼料

1 緒 言

ジクワット及びパラコートは、Imperial Chemical Industries 社（現 Syngenta 社）により開発された非選択性接触型のピピリジリウム系除草剤であり、植物の光合成により、ジクワットでは過酸化物が、パラコートでは活性酸素が発生し、植物細胞を破壊することで除草効果を示すと考えられている^{1),2)}。

^{*1} 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

^{*2} 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部，現 札幌センター

^{*3} 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

ジクワットは、我が国では 1963 年に初回農薬登録されており、飼料中の基準値³⁾としては、えん麦、小麦及びマイロで 2 mg/kg、大麦で 5 mg/kg、とうもろこしで 0.05 mg/kg、ライ麦で 0.03 mg/kg、牧草で 100 mg/kg が設定されている。飼料中の管理基準値⁴⁾としては、稲わら及び稲発酵粗飼料（以下「WCRS」という。）で 0.05 mg/kg が設定されている。

パラコートは、我が国では 1965 年に初回農薬登録されており、飼料中の基準値³⁾としては、えん麦及びマイロで 0.5 mg/kg、大麦、小麦及びライ麦で 0.05 mg/kg、とうもろこしで 0.1 mg/kg、牧草で 5 mg/kg が設定されている。飼料中の管理基準値⁴⁾としては、稲わらで 0.3 mg/kg、WCRS で 0.05 mg/kg が設定されている。

飼料中のジクワット及びパラコートの分析法としては、飼料分析基準⁵⁾において液体クロマトグラフによる個別分析法が記載されているが、定量下限と基準値が一致するものがあり、また、発がんのおそれがあるクロロホルムを使用することから、分析法の改良が急務となっている。

このため今回、一般財団法人日本食品分析センターが「平成 28 年度飼料中の農薬分析法開発委託事業」において開発した飼料中の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（以下「LC-MS/MS」という。）による同時定量法⁶⁾（以下「JFRL 法」という。）について、飼料分析基準への記載の可否を検討したので、その概要を報告する。

なお、飼料分析基準では、単にジクワットと記載した場合はジクワット二臭化物を、またパラコートと記載した場合はパラコート二塩化物を指すと規定されていることから、本検討内でもジクワット又はパラコートと記載した場合には同様の扱いとした。

参考にジクワット及びパラコートの構造式等を Fig. 1 に示した。

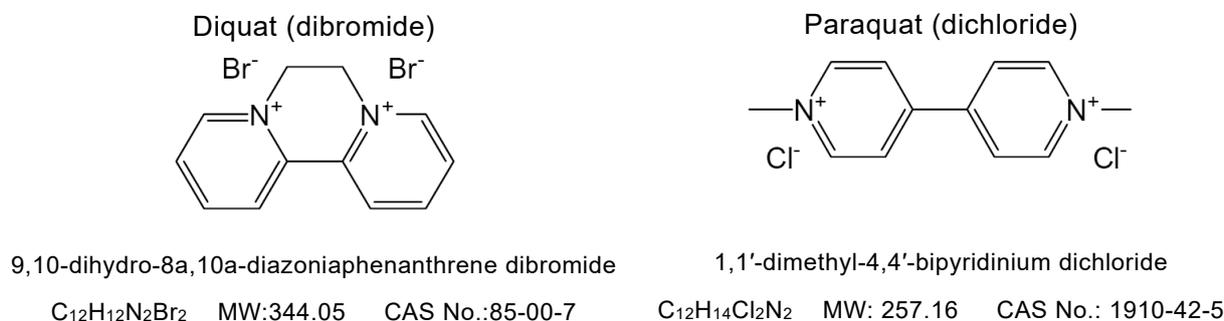


Fig. 1 Chemical structures of diquat and paraquat

2 実験方法

2.1 試料

えん麦、大麦、マイロ、小麦、とうもろこし、乾牧草（アルファルファ乾草及びライグラス乾草）及び稲わらは目開き 1 mm のスクリーンを装着した粉碎機で粉碎し、分析用試料とした。WCRS は 60 °C で 10 時間乾燥後、更に室内に静置して風乾した後、同様に粉碎し分析用試料とした。

2.2 試薬

1) アセトニトリルは残留農薬・PCB 試験用を用いた。メタノールは残留農薬・PCB 試験用（LC-MS/MS の溶離液のみ LC-MS 用（富士フィルム和光純薬製））を用いた。ギ酸（質量分率 99 %）は LC-MS 用（富士フィルム和光純薬製）を用いた。塩化アンモニウム、塩酸、水酸

化ナトリウム、フェリシアン化カリウム及び硫酸は試薬特級を用いた。水は Milli-Q Integral 5 (Merck Millipore 製) により精製した超純水 (JIS K0211 の 5218 に定義された超純水) を用いた。

2) ジクワット標準原液

二臭化ジクワット一水和物標準品 (富士フィルム和光純薬製, 純度 99.0 %) 26.31 mg を正確に量って 50 mL の全量フラスコに入れ, 塩酸 (0.01 mol/L) を加えて溶かし, 更に標線まで同溶媒を加えてジクワット標準原液を調製した (この液 1 mL は, ジクワットとして 0.5 mg を含有)。

3) パラコート標準原液

パラコートジクロリド標準品 (富士フィルム和光純薬製, 純度 98.0 %) 25 mg を正確に量って 50 mL の全量フラスコに入れ, 塩酸 (0.01 mol/L) を加えて溶かし, 更に標線まで同溶媒を加えてパラコート標準原液を調製した (この液 1 mL は, パラコートとして 0.5 mg を含有)。

4) 混合標準原液

ジクワット標準原液 1 mL 及びパラコート標準原液 1 mL を 25 mL の全量フラスコに入れて混合し, 更に標線まで塩酸 (0.01 mol/L) を加えて混合標準原液を調製した (この液 1 mL は, ジクワット及びパラコートとして各 20 µg を含有)。

2.3 装置及び器具

1) 粉碎機 :

粉碎機 1 (えん麦, 大麦, マイロ, 小麦, とうもろこし用) :

ZM 200 Retsch 製 (目開き 1 mm スクリーン, 使用時回転数 14000 rpm)

粉碎機 2 (乾牧草, 稲わら及び WCRS 用) :

SM 100 Retsch 製 (目開き 1 mm スクリーン, 回転数 (仕様) 1430 rpm)

2) 強塩基性陰イオン交換樹脂ミニカラム (以下「MAX ミニカラム」という。) : Oasis MAX (500 mg) Waters 製

3) 強酸性陽イオン交換樹脂ミニカラム (以下「MCX ミニカラム」という。) : Oasis MCX (500 mg) Waters 製

4) 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 (以下「HLB ミニカラム」という。) : Oasis HLB (60 mg) Waters 製

5) メンブランフィルター : 13HP045AN (孔径 0.45 µm, 直径 13 mm, ポリテトラフルオロエチレン) 東洋濾紙製

6) LC-MS/MS :

LC-MS/MS 1 (2.5 の検討に使用)

LC 部 : ACQUITY UPLC System Waters 製

MS/MS 部 : Xevo TQD Waters 製

LC-MS/MS 2 (2.5 以外の検討に使用)

LC 部 : Nexera X2 島津製作所製

MS/MS 部 : LCMS-8040 島津製作所製

2.4 定量方法

1) 抽出

分析試料 10.0 g を量って 300 mL のなす形フラスコに入れ、水 60 mL 及び硫酸 30 mL を加え、空冷管を付け 120 °C の油浴で 60 分間加熱還流して抽出した。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、放冷後の抽出液をろ紙（5 種 B）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、同様に吸引ろ過した。さらに、全量フラスコの標線まで水を加えた。この液 2 mL（乾牧草は、更に硫酸（3 mol/L）で正確に 25 倍希釈した後、その液 2 mL）をポリプロピレン製ビーカーに正確に分取し、水 30 mL を加え、水酸化ナトリウム溶液（12 mol/L）で pH 5.5~6.5 に調整した後、50 mL 程度となるよう水を加え、カラム処理 I に供する試料溶液とした。

2) カラム処理 I

MAX 及び MCX ミニカラムをそれぞれメタノール 5 mL 及び水 5 mL で順次洗浄し、MAX ミニカラムの下に MCX ミニカラムを連結した。試料溶液を連結ミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流下（必要に応じて流速が 1 mL/min 程度になるよう吸引した。以下同様。）した。試料溶液の入っていたポリプロピレン製ビーカーを水 5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次連結ミニカラムに加え、同様に流出させた。

MAX ミニカラムをはずし、10 mL ポリプロピレン製全量フラスコを MCX ミニカラムの下に置き、塩化アンモニウム溶液（25 w/v%）9 mL を MCX ミニカラムに加えて同様に流下し、ジクワット及びパラコートを溶出させた。さらに標線まで塩化アンモニウム溶液（25 w/v%）を加え、酸化に供する試料溶液とした。

3) 酸化

試料溶液 2 mL をあらかじめ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 を入れ混合したポリプロピレン製ビーカーに正確に加えてかき混ぜ、カラム処理 II に供する試料溶液とした。

4) カラム処理 II

HLB ミニカラムをアセトニトリル 5 mL 及び水 5 mL で洗浄した。試料溶液をミニカラムに入れ、試料溶液の入っていたポリプロピレン製ビーカーを水 10 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た。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 5 mL をミニカラムに加えて同様に流下し、ジクワット及びパラコートを溶出させた。

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した。水-メタノール（4+1）1 mL（乾牧草は 4 mL）を正確に加えて残留物を溶かし、LC-MS/MS による測定に供する試料溶液とした。

5) 標準液の酸化及びカラム処理

混合標準原液 1 mL を 20 mL の全量フラスコに入れ、標線まで塩酸（0.01 mol/L）を加えて酸化用混合標準液を調製した（この液 1 mL は、ジクワット及びパラコートとして各 1 µg を含有）。酸化用混合標準液 0.1 mL 及び塩化アンモニウム溶液（25 w/v%）2 mL をあらかじめ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 を入れ混合したポリプロピレン製ビーカーに正確に加えた。以下 3) 及び 4) の操作を試料溶液と同様

に行った後、水-メタノール (4+1) で正確に希釈し、1 mL 中にジクワット及びパラコートとして 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15 及び 20 ng 相当量を含む各混合標準液を調製した。

6) LC-MS/MS による測定

試料溶液及び各混合標準液各 10 μ L を LC-MS/MS に注入し、選択反応検出 (以下「SRM」という。) クロマトグラムを得た。なお、検討途中に LC-MS/MS が故障したため、2 台の装置を使用した。各装置の測定条件を Table 1 及び 2 に示した。

Table 1-1 Operation conditions of LC-MS/MS 1

Column	Inertsil ODS-3 (2.1 mm i.d. \times 150 mm, 4 μ m), GL Sciences
Mobile phase	0.1 v/v% formic acid aqueous solution – methanol (4:1) \rightarrow 10 min \rightarrow (3:7) (hold for 2 min) \rightarrow 5 min \rightarrow (4:1)
Flow rate	0.2 mL/min
Column temperature	40 $^{\circ}$ C
Ionization	Electrospray ionization (ESI)
Mode	Positive
Source temperature	120 $^{\circ}$ C
Desolvation gas	N ₂ (800 L/h, 400 $^{\circ}$ C)
Capillary voltage	0.6 kv
Cone gas	N ₂ (50 L/h)
Collision gas	Ar (0.1 mL/min)

Table 1-2 MS/MS parameters of LC-MS/MS 1

Target	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Product ion		Cone voltage (V)	Collision energy (eV)
		Quantifier (<i>m/z</i>)	Qualifier (<i>m/z</i>)		
Diquat oxide	215	171	—	30	19
		—	153	30	28
Paraquat oxide	217	174	—	39	25
		—	104	39	48

Table 2-1 Operation conditions of LC-MS/MS 2

Column	Inertsil ODS-3 (2.1 mm i.d. \times 150 mm, 4 μ m), GL Sciences
Mobile phase	0.1 v/v% formic acid aqueous solution – methanol (4:1) \rightarrow 10 min \rightarrow (3:7) (hold for 2 min) \rightarrow 5 min \rightarrow (4:1)
Flow rate	0.2 mL/min
Column temperature	40 $^{\circ}$ C
Ionization	Electrospray ionization (ESI)
Mode	Positive
Nebulizer gas	Air (3 L/min)
Drying gas	N ₂ (15 L/min)
Heat block temperature	500 $^{\circ}$ C
Desolvation line temperature	100 $^{\circ}$ C

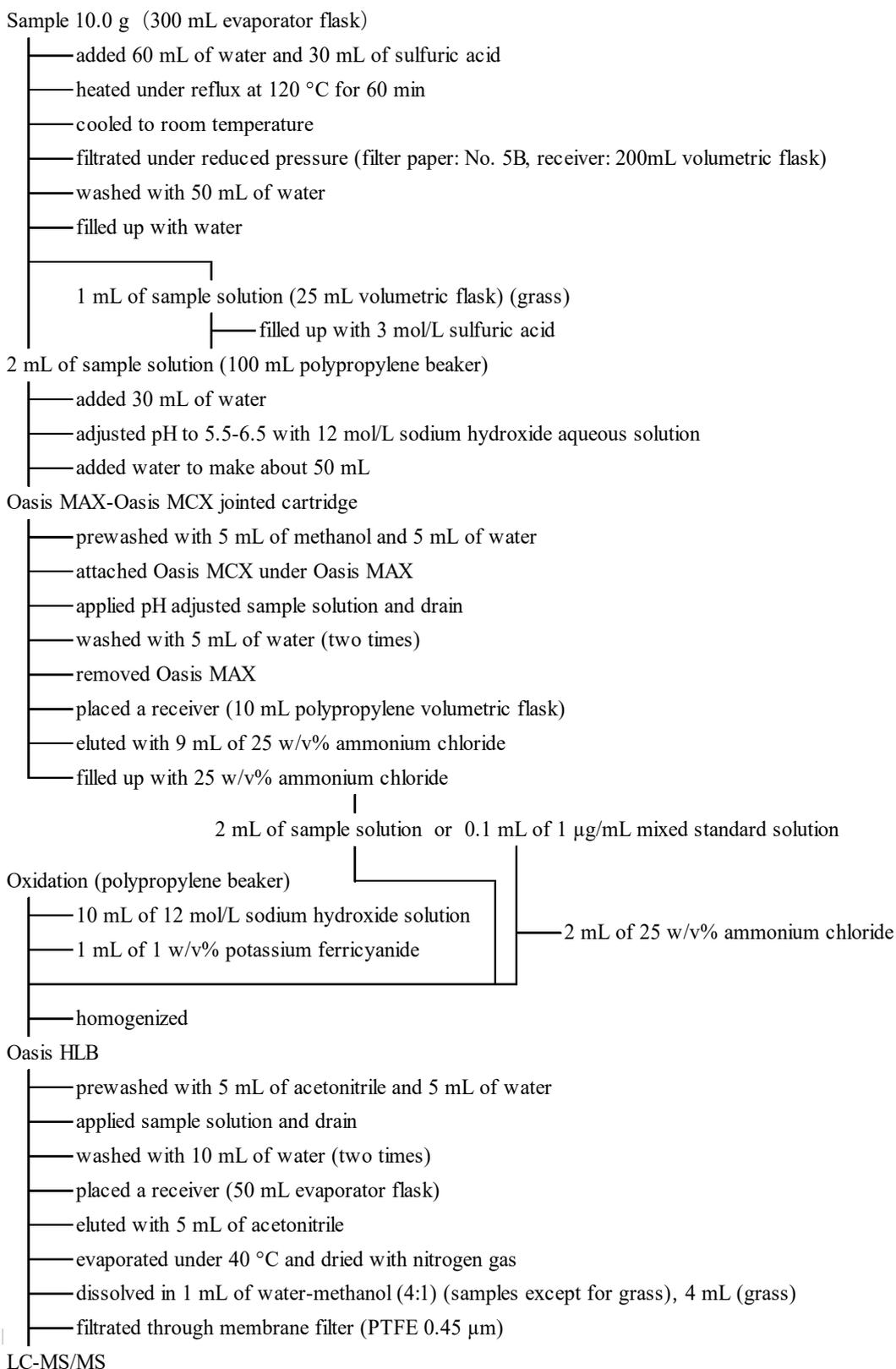
Table 2-2 MS/MS parameters of LC-MS/MS 2

Target	Precursor ion (<i>m/z</i>)	Product ion		Collision energy (eV)
		Quantifier (<i>m/z</i>)	Qualifier (<i>m/z</i>)	
Diquat oxide	215	171	—	25
		—	153	10
Paraquat oxide	217	174	—	31
		—	104	45

7) 計 算

得られた SRM クロマトグラムからピーク面積及び高さを求めて検量線を作成し、試料中のジクワット量及びパラコート量を算出した。

なお、定量法の概要を Scheme 1 に示した。



Scheme 1 Analytical procedure for diquat and paraquat in feed

2.5 ジクワット及びパラコートの残留及び洗浄方法の検討

使用するガラス器具を以下の 1), 2)及び 2) + 3) の 3 通りの方法で洗浄等を行い, それぞれの

ガラス器具を用いて 2.4 に従い、試料を用いずに試験を実施した。

- 1) 全てのガラス器具を、新しいもの（もしくは本実験で使用していないもの）を用いた。
- 2) 2.4 の 1)で抽出に用いる 300 mL なす形フラスコを、水酸化ナトリウム溶液（1 mol/L）による漬け置き洗浄（約 15 分間）して用いた。
- 3) 全てのガラス器具を、硝酸（1+10）に一晩漬け置き洗浄して用いた。

3 結果及び考察

3.1 検量線

2.4 の 5)により調製した各混合標準液各 10 μ L を LC-MS/MS に注入し、得られた SRM クロマトグラムからピーク面積及び高さを用いて検量線を作成した。

得られた検量線の一例は Fig. 2 のとおりであり、ジクワット及びパラコート各 0.1~20 ng/mL（注入量として 0.001~0.2 ng 相当量）の範囲で直線性を示した。

なお、当該検量線の濃度範囲は、ジクワット及びパラコートを 0.005~1 mg/kg 含有する分析用試料を本法に従い調製した最終試料溶液中の各農薬濃度範囲に相当する。

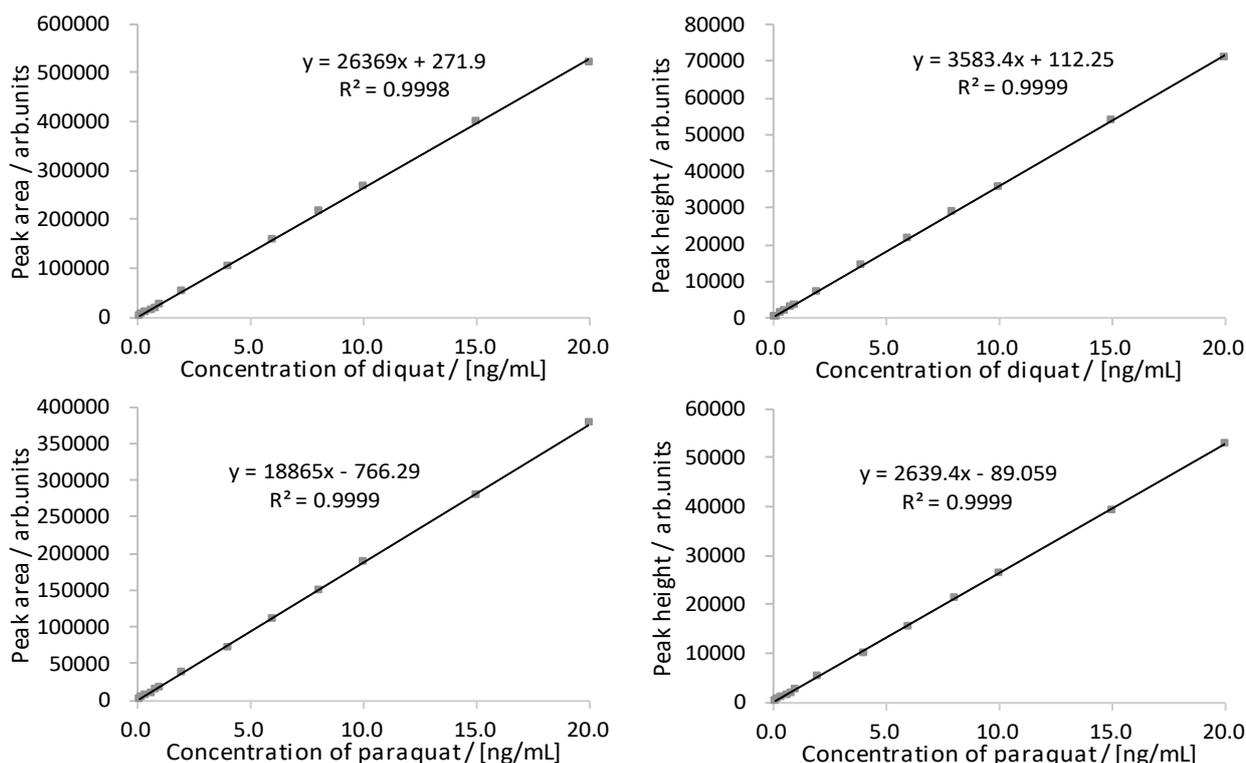


Fig. 2 Calibration curves of diquat and paraquat by peak area (left) and peak height (right)

3.2 ジクワット及びパラコートの残留及び洗浄方法の検討

2.4 の 1)から 4)により調製した各試料（えん麦、大麦、マイロ、小麦、とうもろこし、アルファアルファ乾草、ライグラス乾草、稲わら及び WCRS）のブランク試料溶液を LC-MS/MS に注入し、得られた SRM クロマトグラムを確認した。その結果、測定したほぼ全ての飼料原料からジクワット（0.00~0.61 ng/mL）及びパラコート（0.02~0.68 ng/mL）が検出されたため、試料を用いずに試験を行い確認したところ、Fig. 3 のとおりジクワット及びパラコートが検出（0.34~0.83

ng/mL) された。このため、ジクワット及びパラコートのガラス器具への吸着を疑い、2.5 に従い空試験を実施することで原因究明及びガラス器具の洗浄方法の検討を行った。

その結果、Table 3 のとおり 2.5 の 2) を実施した場合にだけジクワット及びパラコートが検出された。このことから、ジクワット及びパラコートは、洗剤や超音波による洗浄のみではガラス器具へ残留してしまうが、硝酸による漬け置き洗浄を行うことで残留を除去できることを確認した。このため、試験に使用するガラス器具については、2.4 の 1) の硫酸での抽出操作によるなす形フラスコの汚れを落とすために行っているアルカリ洗浄と合わせ、アルカリ及び硝酸による漬け置き洗浄を実施することとした。

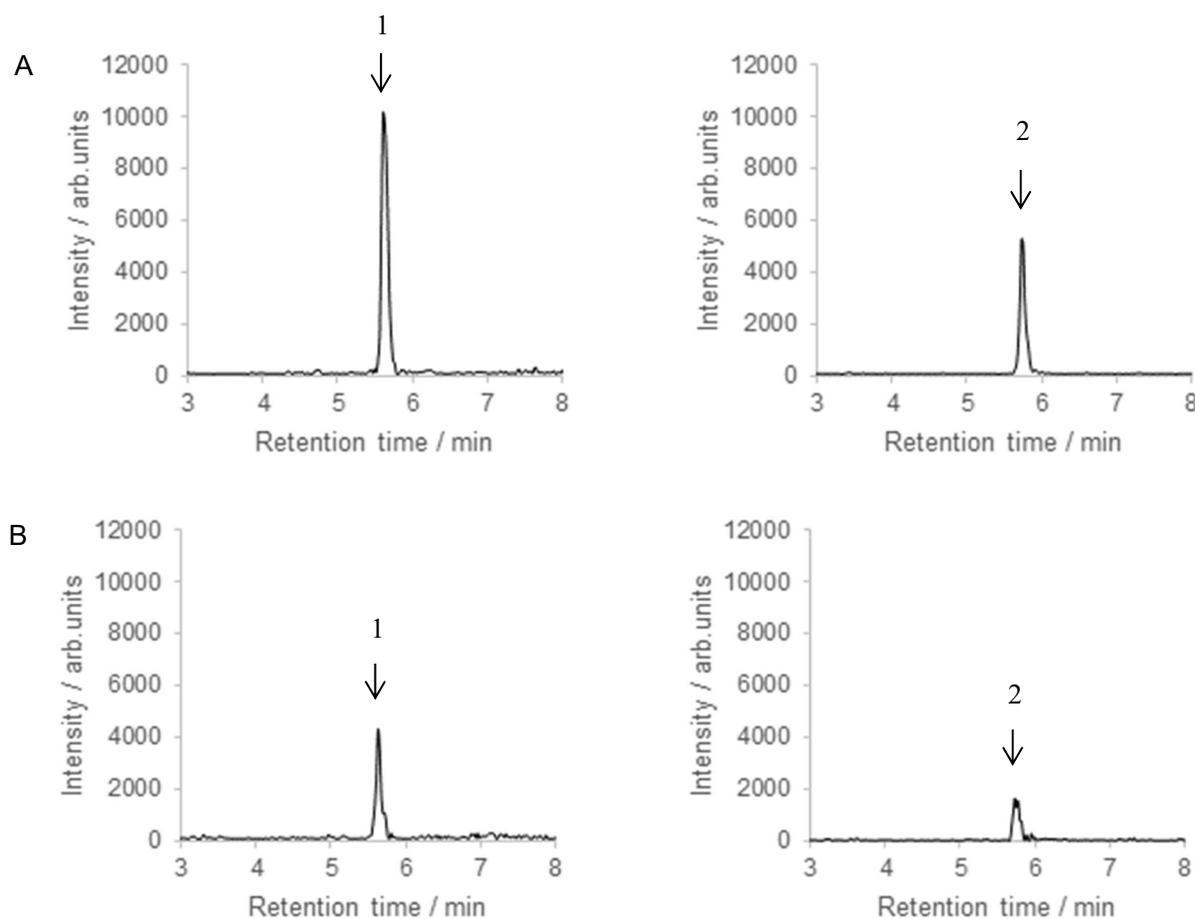


Fig. 3 Typical Selected Reaction Monitoring (SRM) chromatograms of diquat oxide and paraquat oxide in standard and reagent blank solutions

(LC-MS/MS conditions are shown in Table 1. Arrows indicate the retention times of 1: diquat oxide and 2: paraquat oxide)

A: Standard solution (The oxidative product of 1 ng/mL each as diquat and paraquat)

B: Reagent blank

Table 3 Cleaning method study

No	Cleaning method			Blank test results
	New glassware ^{a)}	Alkaline treatment ^{b)}	Nitric acid treatment ^{c)}	
1	○	—	—	Not detected
2	—	○	—	Detected
3	—	○	○	Not detected

$n = 1$, ○: Tested, —: Not tested

a) About all glassware to use, the new glassware (or the one which haven't been used by this experiment) was used.

b) 300 mL evaporator flask for extraction which was soaked by NaOH (1 mol/L) for about 15 minutes was used.

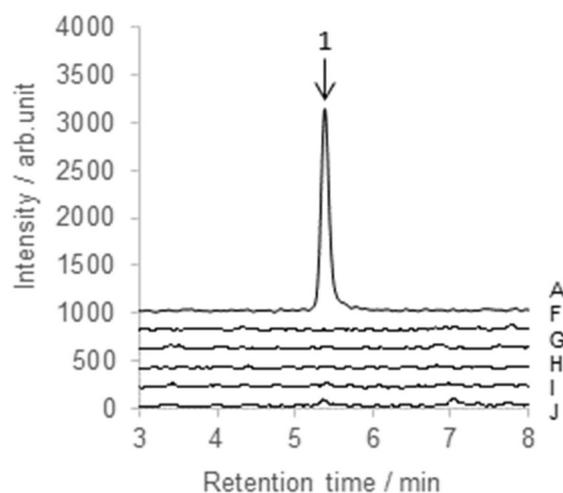
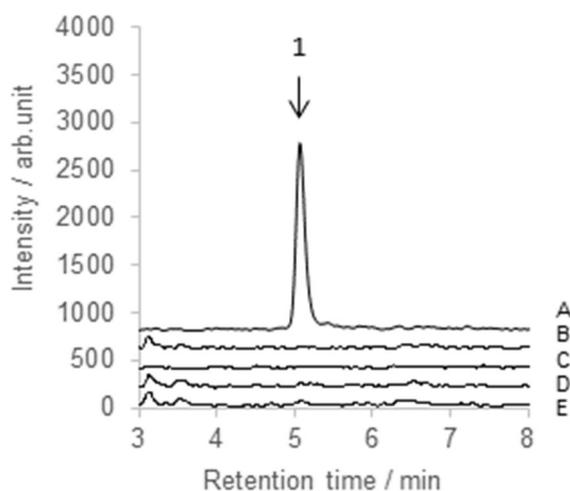
c) About all glassware to use, the glassware which was soaked in nitric acid (1:10) for one night was used.

3.3 妨害物質の検討

2.4 の 1)から 4)により調製した各試料（えん麦，大麦，マイロ，小麦，とうもろこし，アルファルファ乾草，ライグラス乾草，稲わら及び WCRS）の試料溶液を LC-MS/MS に注入し，得られた SRM クロマトグラムを確認した．その結果，いずれの試料においてもジクワット及びパラコート定量を妨げるピークは認められなかった．なお，WCRS においてジクワットと，またとうもろこし及び小麦を除く試料でパラコートと同じ保持時間にピークが認められたが，マイロ以外のピークは，妥当性ガイドラインに定められた妨害ピークの許容範囲内（基準値に相当するピーク面積の 1/10 未満）であった．マイロのピークについては，定量イオンと確認イオンの面積比を確認したところ標準液と同等であること及び当該マイロの産地であるアルゼンチンでのパラコートの使用状況⁷⁾から，パラコート（試料中濃度 0.02 mg/kg）であると判断した．

なお，得られた SRM クロマトグラムを Fig. 4 に示した．

Diquat oxide



Paraquat oxide

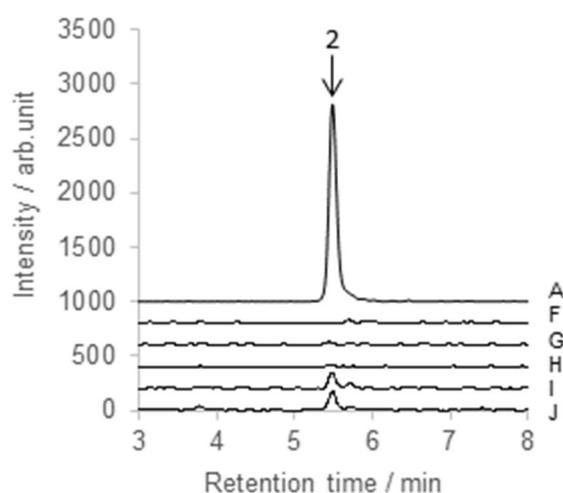
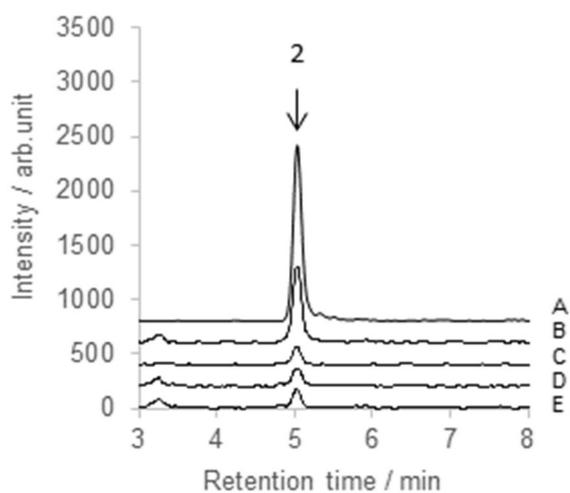


Fig. 4 Typical SRM chromatograms of diquat oxide and paraquat oxide in standard and blank sample solutions

(LC-MS/MS conditions are shown in Table 2. Arrows indicate the retention times of 1: diquat oxide and 2: paraquat oxide. The baselines were shifted for display.)

A: Standard solution (The oxidative product of 1 ng/mL each as diquat and paraquat),

B~J: Blank sample solution (B: milo, C: alfalfa hay, D: barley, E: oats, F: wheat, G: corn, H: ryegrass hay, I: rice straw and J: WCRS)

3.4 マトリックス効果の確認

2.4 の 1) から 4) により調製した各試料 (えん麦, 大麦, マイロ, 小麦, とうもろこし, アルファルファ乾草, ライグラス乾草, 稲わら及び WCRS) のブランク試料溶液に, 各試料の基準値相当量 (基準値が検量線最大濃度 20 ng/mL 以上の場合は 10 ng/mL) のジクワット及びパラコートをそれぞれ添加した各マトリックス標準液について, 2.2 の 2) から 4) 及び 2.4 の 5) に従って調製した同濃度の各農薬標準液に対するピーク面積比を確認した. その結果, Table 4 のとおりであり, とうもろこし及びマイロにおいて, イオン化を阻害するマトリックス効果が認められた. そこで, 最終試料溶液を水-メタノール (4+1) で 2 倍希釈して測定したところ, イオン化阻害を

抑制し試料マトリックスの影響を受けることなく定量が可能であった。

Table 4 Matrix effect study

Samples	Concentration				Matrix effect ^{b)}	
	Matrix standard solution (ng/mL)		Sample ^{a)} (mg/kg air-dry basis)		Matrix effect ^{b)} (%)	
	Diquat	Paraquat	Diquat	Paraquat	Diquat	Paraquat
Oats	10	10	0.5	0.5	99.2	100
Barley	10	1	0.5	0.05	97.5	96.2
Milo	10	10	0.5	0.5	62.6	56.4
Wheat	10	1	0.5	0.05	98.1	99.0
Corn	1	2	0.05	0.1	69.7	67.3
Alfalfa hay	10	1	50	5	99.9	97.5
Ryegrass hay	10	1	50	5	98.0	97.9
Rice straw	1	6	0.05	0.3	90.9	92.6
WCRS	2.25	2.25	0.1125	0.1125	96.8	103
Milo (two times dilution) ^{c)}	10	10	0.5	0.5	98.2	103
Corn (two times dilution) ^{c)}	1	2	0.05	0.1	98.1	105

$n = 1$

a) Converted from the concentration in matrix standard solution

b) Ratio of peak area of pesticides in the presence of matrix to that in the absence of matrix

c) Blank solution (milo and corn) diluted by water-methanol (4:1)

4 まとめ

飼料中のジクワット及びパラコートについて、JFRL 法を基に、LC-MS/MS を用いた同時定量法について、飼料分析基準への収載の可否を検討したところ、以下の結果が得られた。

1) 検量線は、ジクワット及びパラコート各 0.1~20 ng/mL 相当量（注入量として 0.001~0.2 ng 相当量）の範囲で直線性を示した。

なお、当該検量線の濃度範囲は、ジクワット及びパラコートを 0.005~1 mg/kg 含有する分析用試料を本法に従い調製した最終試料溶液中の各農薬濃度範囲に相当する。

2) ジクワット及びパラコートは、ガラス器具への吸着が強く、洗剤や超音波による洗浄方法では残留しやすいことから、使用の都度、ガラス器具のアルカリ及び硝酸による洗浄が必要であった。

3) 今回用いた試料について、本法に従って得られたクロマトグラムには、定量を妨げるピークは認められなかった。

4) 本法に従って得られた試料溶液についてマトリックス効果を確認した結果、マイロ及びびとうもろこしにおいてイオン化阻害が見られたが、最終試料溶液を 2 倍希釈することでイオン化阻害を抑制し、試料マトリックスによる大きな影響を受けることなく定量可能であった。

文 献

- 1) 食品安全委員会：食品健康影響評価の結果の通知について，令和元年 10 月 8 日，府食 368 号 (2019).
- 2) 水域の生活環境動植物の被害防止に係る農薬登録基準：評価書（水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定に関する資料 パラコートジクロリド（パラコート））
- 3) 農林省令：飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令，農林省令第 35 号，昭和 51 年 7 月 24 日 (1976).
- 4) 農林水産省畜産局長通知：飼料の有害物質の指導基準及び管理基準について，昭和 63 年 10 月 14 日，63 畜 B 第 2050 号 (1988).
- 5) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について，平成 20 年 4 月 1 日，19 消安第 14729 号 (2008).
- 6) 一般財団法人日本食品分析センター：平成 28 年度飼料中の農薬分析法開発委託事業報告書，平成 29 年 3 月 (2017).
- 7) SUMITOMO CHEMICAL Latin America : <https://www.sumitomochemical.com/asd/ar-en/herbicides-argentina/paraquat-276/>, cited 22 Mar. 2022.