

○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 新旧対照表

（下線部は改正箇所）

改正後	改正前
<p>目次 第1章～第4章〔略〕</p>	<p>目次 第1章～第4章〔略〕</p>
<p>第5章 かび毒</p>	<p>第5章 かび毒</p>
<p>第1節 かび毒各条 1～24〔略〕 <u>25 ジアセトキシシルペノール</u> <u>26 デオキシニバレノール-3-グルコシド</u> 第2節〔略〕 第3節 多成分同時分析法 1～9〔略〕 <u>10 トリコテセン系かび毒の液体クロマトグラフタンデム型質量分 析計による一斉分析法</u></p>	<p>第1節 かび毒各条 1～24〔略〕 〔新設〕 〔新設〕 第2節〔略〕 第3節 多成分同時分析法 1～9〔略〕 〔新設〕</p>
<p>第6章 農薬</p>	<p>第6章 農薬</p>
<p>第1節 各条 1～72〔略〕 73 <u>ジカンバ（3,6-ジクロロ-2-ヒドロキシ安息香酸及び3,6-ジクロ ロ-2-ヒドロキシ安息香酸抱合体を含む。）</u> 74～109〔略〕 110 <u>デルタメトリン（デルタメトリン、<i>trans</i>-デルタメトリン及び トラロメトリン）</u> 111～254〔略〕 <u>255 イマザピック</u> <u>256 イマザピル</u></p>	<p>第1節 各条 1～72〔略〕 73 ジカンバ 74～109〔略〕 110 デルタメトリン（デルタメトリン及びトラロメトリン） 111～254〔略〕 〔新設〕 〔新設〕</p>

改正後	改正前
<p>257 <u>エスプロカルブ</u></p> <p>258 <u>カフェンストロール</u></p> <p>259 <u>α-R-デルタメトリン</u></p> <p>260 <u>ピラゾキシフェン</u></p> <p>261 <u>ピラゾリネート</u></p> <p>262 <u>フサライド</u></p> <p>263 <u>ブプロフェジン</u></p> <p>264 <u>メタミドホス</u></p>	<p>[新設]</p> <p>[新設]</p> <p>[新設]</p> <p>[新設]</p> <p>[新設]</p> <p>[新設]</p> <p>[新設]</p> <p>[新設]</p>
<p>第2節 [略]</p>	<p>第2節 [略]</p>
<p>第3節 多成分同時分析法</p> <p>1~27 [略]</p> <p>28 <u>アセフェート及びメタミドホスの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法</u></p> <p>29 <u>イマザピック及びイマザピルの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法</u></p> <p>30 <u>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</u></p>	<p>第3節 多成分同時分析法</p> <p>1~27 [略]</p> <p>[新設]</p> <p>[新設]</p> <p>[新設]</p>
<p>第7章~第20章 [略]</p>	<p>第7章~第20章 [略]</p>
<p>別表1</p> <p>別表2</p> <p>別表3</p> <p>別表4</p>	<p>別表1</p> <p>別表2</p> <p>[新設]</p> <p>別表3</p>
<p>第1章</p>	<p>第1章</p>

改正後	改正前
<p>1～12 〔略〕</p> <p>13 分析方法 <u>試験に用いる分析方法の妥当性確認は、別表3に準じて行う。</u> <u>本分析基準に規定する方法以外の方法であって、本分析基準に規定する方法以上の真度及び精度があると認められるものがある場合には、その方法を用いることができるものとする。ただし、その結果について疑いのある場合は、規定の方法で最終の判定を行うものとする。</u> 〔略〕</p> <p>14 不確かさ 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、<u>別表4</u>のとおりである。</p> <p style="text-align: center;">第2章 〔略〕</p> <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 2.1 ケルダール法^{注1} 〔中略〕 注1 分析値に対する不確かさは<u>別表4</u>のとおりである。 (参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>2.2 燃焼法^{注1,2} 〔中略〕</p>	<p>1～12 〔略〕</p> <p>13 分析方法 本分析基準に代わる方法であって、<u>規定の方法以上の正確さと精度があると認められるものがある場合には、その方法を用いることができるものとする。ただし、その結果について疑いのある場合は、規定の方法で最終の判定を行うものとする。</u> 〔略〕</p> <p>14 不確かさ 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、<u>別表3</u>のとおりである。</p> <p style="text-align: center;">第2章 〔略〕</p> <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 2.1 ケルダール法^{注1} 〔中略〕 注1 分析値に対する不確かさは<u>別表3</u>のとおりである。 (参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>2.2 燃焼法^{注1,2} 〔中略〕</p>

改正後	改正前
<p>注 1 〔略〕</p> <p>2 分析値に対する不確かさは別表 4 のとおりである。</p> <p>3～5 〔略〕</p> <p>(参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>3～8 〔略〕</p> <p>第 4 章 無機成分 (有機態金属化合物を含む)</p> <p>第 1 節 各条</p> <p>1 カルシウム</p> <p>1.1 シュウ酸アンモニウム法^{注1}</p> <p>〔中略〕</p> <p>注 1 分析値に対する不確かさは別表 4 のとおりである。</p> <p>(参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>1.2 原子吸光光度法^{注1,2}</p> <p>〔中略〕</p> <p>注 1 〔略〕</p> <p>2 分析値に対する不確かさは別表 4 のとおりである。</p> <p>(参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>2 りん (リン)^{注1}</p> <p>〔中略〕</p> <p>注 1 分析値に対する不確かさは別表 4 のとおりである。</p> <p>2 〔略〕</p> <p>(参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>3～20 〔略〕</p>	<p>注 1 〔略〕</p> <p>2 分析値に対する不確かさは別表 3 のとおりである。</p> <p>3～5 〔略〕</p> <p>(参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>3～8 〔略〕</p> <p>第 4 章 無機成分 (有機態金属化合物を含む)</p> <p>第 1 節 各条</p> <p>1 カルシウム</p> <p>1.1 シュウ酸アンモニウム法^{注1}</p> <p>〔中略〕</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。</p> <p>(参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>1.2 原子吸光光度法^{注1,2}</p> <p>〔中略〕</p> <p>注 1 〔略〕</p> <p>2 分析値に対する不確かさは別表 3 のとおりである。</p> <p>(参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>2 りん (リン)^{注1}</p> <p>〔中略〕</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。</p> <p>2 〔略〕</p> <p>(参考) 分析法バリデーション 〔略〕</p> <p>3～20 〔略〕</p>
3～20 〔略〕	3～20 〔略〕

改正後	改正前
<p>第2節 〔略〕</p> <p style="text-align: center;">第5章 かび毒</p> <p>第1節 かび毒各条 1～6 〔略〕</p> <p>7 HT-2 トキシン</p> <p>7.1 <u>トリコテセン系かび毒の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による一斉分析法</u> (適用範囲：飼料) 第3節10による。</p> <p>7.2 液体クロマトグラフ質量分析計による単成分分析法 〔略〕</p> <p>8 T-2 トキシン</p> <p>8.1 〔略〕</p> <p>8.2 <u>トリコテセン系かび毒の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による一斉分析法</u> (適用範囲：飼料) 第3節10による。</p> <p>8.3 〔略〕</p> <p>8.4 〔略〕</p>	<p>第2節 〔略〕</p> <p style="text-align: center;">第5章 かび毒</p> <p>第1節 かび毒各条 1～6 〔略〕</p> <p>7 HT-2 トキシン 〔新設〕</p> <p>7.1 液体クロマトグラフ質量分析計による単成分分析法 〔略〕</p> <p>8 T-2 トキシン 8.1 〔略〕</p> <p>〔新設〕</p> <p>8.2 〔略〕</p> <p>8.3 〔略〕</p>

改正後	改正前
<p>9 ネオソラニオール</p> <p>9.1 [略]</p> <p>9.2 トリコテセン系かび毒の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による一斉分析法 (適用範囲：飼料) 第3節10による。</p> <p>10 フザレノン-X</p> <p>10.1 [略]</p> <p>10.2 トリコテセン系かび毒の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による一斉分析法 (適用範囲：飼料) 第3節10による。</p> <p>10.3 [略]</p> <p>11 3-アセチルデオキシニバレノール</p> <p>11.1 トリコテセン系かび毒の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による一斉分析法 (適用範囲：飼料) 第3節10による。</p> <p>11.2 [略]</p> <p>12 15-アセチルデオキシニバレノール</p> <p>12.1 トリコテセン系かび毒の液体クロマトグラフタンデム型質</p>	<p>9 ネオソラニオール</p> <p>9.1 [略]</p> <p>[新設]</p> <p>10 フザレノン-X</p> <p>10.1 [略]</p> <p>[新設]</p> <p>10.2 [略]</p> <p>11 3-アセチルデオキシニバレノール</p> <p>[新設]</p> <p>11.1 [略]</p> <p>12 15-アセチルデオキシニバレノール</p> <p>[新設]</p>

改正後	改正前
<p><u>量分析計による一斉分析法</u> (適用範囲：飼料) <u>第3節10による。</u></p>	
<p>12.2 [略]</p>	<p>12.1 [略]</p>
<p>13 デオキシニバレノール 13.1 [略]</p>	<p>13 デオキシニバレノール 13.1 [略]</p>
<p>13.2 <u>トリコテセン系かび毒の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による一斉分析法</u> (適用範囲：飼料) <u>第3節10による。</u></p>	<p>[新設]</p>
<p>13.3 [略]</p>	<p>13.2 [略]</p>
<p>13.4 [略]</p>	<p>13.3 [略]</p>
<p>13.5 [略]</p>	<p>13.4 [略]</p>
<p>14 ニバレノール 14.1 [略]</p>	<p>14 ニバレノール 14.1 [略]</p>
<p>14.2 <u>トリコテセン系かび毒の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による一斉分析法</u> (適用範囲：飼料) <u>第3節10による。</u></p>	<p>[新設]</p>
<p>14.3 [略]</p>	<p>14.2 [略]</p>

改正後	改正前
<p>14.4 〔略〕</p> <p>14.5 〔略〕</p> <p>15～24 〔略〕</p> <p>25 <u>ジアセトキシシルペノール</u></p> <p>25.1 <u>トリコテセン系かび毒の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による一斉分析法</u> (適用範囲：飼料) 第3節10による。</p> <p>26 <u>デオキシニバレノール-3-グルコシド</u></p> <p>26.1 <u>トリコテセン系かび毒の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による一斉分析法</u> (適用範囲：飼料) 第3節10による。</p> <p>第2節 〔略〕</p> <p>第3節 多成分分析法</p> <p>1 かび毒の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による一斉分析法</p> <p>(1) 分析対象化合物 〔略〕</p> <p>(2) 適用範囲 飼料^{註1}</p> <p>(3) 分析法</p> <p style="text-align: right;">A 〔略〕</p>	<p>14.3 〔略〕</p> <p>14.4 〔略〕</p> <p>15～24 〔略〕</p> <p>〔新設〕</p> <p>〔新設〕</p> <p>第2節 〔略〕</p> <p>第3節 多成分分析法</p> <p>1 かび毒の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による一斉分析法</p> <p>(1) 分析対象化合物 〔略〕</p> <p>(2) 適用範囲 飼料</p> <p>(3) 分析法</p> <p style="text-align: right;">A 〔略〕</p>

改正後	改正前
<p style="text-align: center;">B 定 量</p> <p>抽出 分析試料 50 g を量って 300 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリル-水 (21+4) 100 mL を加え、60 分間振り混ぜて抽出する^{註2}。抽出液を共栓遠心沈殿管に入れ、650×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液をカラム処理に供する試料溶液とする。</p> <p>カラム処理 試料溶液 10 mL を多機能カラム (かび毒前処理用)^{註3}に入れ、初めの流出液 4 mL を捨てる。10 mL の褐色試験管をカラムの下に置き、その後の流出液 2 mL を受ける。流出液 1 mL を別の 10 mL の褐色試験管に正確に入れ、酢酸 (1+100) 1 mL を正確に加えて希釈する。この液の一定量をプラスチック製遠心沈殿管 (容量 1.5 mL) にとり、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。</p> <p>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 10 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>測定条件 例 (液体クロマトグラフ部)</p> <p>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 150 mm、粒径 5 µm)^{註4}</p> <p>溶 離 液 : 10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-アセトニトリル (9+1) (1 min 保持) →19 min→10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-アセト</p>	<p style="text-align: center;">B 定 量</p> <p>抽出 分析試料 50 g を量って 300 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリル-水 (21+4) 100 mL を加え、60 分間振り混ぜて抽出する^{註1}。抽出液を共栓遠心沈殿管に入れ、650×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液をカラム処理に供する試料溶液とする。</p> <p>カラム処理 試料溶液 10 mL を多機能カラム (かび毒前処理用)^{註2}に入れ、初めの流出液 4 mL を捨てる。10 mL の褐色試験管をカラムの下に置き、その後の流出液 2 mL を受ける。流出液 1 mL を別の 10 mL の褐色試験管に正確に入れ、酢酸 (1+100) 1 mL を正確に加えて希釈する。この液の一定量をプラスチック製遠心沈殿管 (容量 1.5 mL) にとり、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。</p> <p>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 10 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>測定条件 例 (液体クロマトグラフ部)</p> <p>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 150 mm、粒径 5 µm)^{註3}</p> <p>溶 離 液 : 10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-アセトニトリル (9+1) (1 min 保持) →19 min→10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-アセト</p>

改正後	改正前
<p>ニトリル (1+4) (15 min 保持)</p> <p>流速: 0.2 mL/min</p> <p>カラム槽温度: 40 °C (タンデム型質量分析計部²)</p> <p>イオン化法: エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法</p> <p>イオン源温度: 120 °C</p> <p>デソルベーション温度: 300 °C</p> <p>キャピラリー電圧: 正イオン 4.0 kV、負イオン 1.5 kV</p> <p>コーン電圧: 下表のとおり</p> <p>コリジョンエネルギー: 下表のとおり</p> <p>モニターイオン: 下表のとおり</p> <p>表 [略]</p> <p>計算 得られた選択反応検出クロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中の各かび毒量を算出する。</p> <p><u>注 1</u> <u>そうこう類及び植物性油かす類の一部で真度、精度等の低下が見られる場合があるため、必要に応じて別表 3 に定めるところにより妥当性を確認すること。</u></p> <p><u>2</u> [略]</p> <p><u>3</u> [略]</p> <p><u>4</u> [略]</p> <p><u>5</u> [略]</p> <p>(参考) 分析法バリデーション [略]</p>	<p>ニトリル (1+4) (15 min 保持)</p> <p>流速: 0.2 mL/min</p> <p>カラム槽温度: 40 °C (タンデム型質量分析計部⁴)</p> <p>イオン化法: エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法</p> <p>イオン源温度: 120 °C</p> <p>デソルベーション温度: 300 °C</p> <p>キャピラリー電圧: 正イオン 4.0 kV、負イオン 1.5 kV</p> <p>コーン電圧: 下表のとおり</p> <p>コリジョンエネルギー: 下表のとおり</p> <p>モニターイオン: 下表のとおり</p> <p>表 [略]</p> <p>計算 得られた選択反応検出クロマトグラムからピーク面積を求めて検量線を作成し、試料中の各かび毒量を算出する。</p> <p>[新設]</p> <p><u>注 1</u> [略]</p> <p><u>2</u> [略]</p> <p><u>3</u> [略]</p> <p><u>4</u> [略]</p> <p>(参考) 分析法バリデーション [略]</p>

改正後

2～9 〔略〕

10 トリコテセン系かび毒の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による一斉分析法

(1) 分析対象化合物 HT-2 トキシシン、T-2 トキシシン、ジアセトキシシルペノール、ネオソラニオール、3-アセチルデオキシニバレノール、15-アセチルデオキシニバレノール、デオキシニバレノール、デオキシニバレノール-3-グルコシド、ニバレノール及びフザレノン-X (10 成分)

(2) 適用範囲 飼料

(3) 分析法

A 試薬の調製

- 1) トリコテセン系かび毒 (9 種) 混合標準原液 HT-2 トキシシン [$C_{22}H_{32}O_8$]、T-2 トキシシン [$C_{24}H_{34}O_9$]、ジアセトキシシルペノール [$C_{19}H_{26}O_7$]、ネオソラニオール [$C_{19}H_{26}O_8$]、3-アセチルデオキシニバレノール [$C_{17}H_{22}O_7$]、15-アセチルデオキシニバレノール [$C_{17}H_{22}O_7$]、デオキシニバレノール [$C_{15}H_{20}O_6$]、ニバレノール [$C_{15}H_{20}O_7$] 及びフザレノン-X [$C_{17}H_{22}O_8$] 各 0.2 mg を正確に量って混合し^{註1}、アセトニトリル 2 mL を正確に加えて溶かし、トリコテセン系かび毒混合標準原液を調製する (この液 1 mL は、各かび毒としてそれぞれ 0.1 mg を含有する。)
- 2) デオキシニバレノール-3-グルコシド標準原液 デオキシニバレノール-3-グルコシド標準液 (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)^{註2} を標準原液とする。
- 3) かび毒混合標準液 各標準原液の一定量を混合し、アセトニトリルで正確に希釈し、1 mL 中にデオキシニバレノール

改正前

2～9 〔略〕

〔新設〕

改正後	改正前
<p><u>-3-グルコシドとして 0.5 µg、その他の各トリコテセン系かび毒としてそれぞれ 1 µg を含有するかび毒混合標準原液を調製する。</u></p> <p><u>使用に際して、標準原液 400 µL を正確にとり、窒素ガスを送って乾固した後、アセトニトリル-水 (1+9) で正確に希釈し、1 mL 中にデオキシニバレノール-3-グルコシドとして 0.5~20 ng、その他の各トリコテセン系かび毒としてそれぞれ 1~40 ng を含有する数点のかび毒混合標準液を調製する。</u></p> <p style="text-align: center;">B 定 量</p> <p><u>抽出 分析試料 50 g を量って 500 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、アセトニトリル-水 (17+3) 200 mL を加え、60 分間振り混ぜて抽出する。500 mL のビーカーをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙 (5 種 B) で吸引ろ過する。ろ紙上の残さを同溶媒 200 mL で先の三角フラスコに移し、60 分間振り混ぜて抽出する。抽出液を先のろ紙で吸引ろ過し、先の三角フラスコ及び残さを順次同溶媒 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。ろ液を同溶媒 30 mL で 500 mL の褐色全量フラスコに移す。更に全量フラスコの標線まで同溶媒を加え、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 試料溶液 8 mL を多機能カラム (かび毒分析用) ^{注3} に入れ、初めの流出液 5 mL を捨てる。10 mL の褐色試験管をカラムの下に置き、その後の流出液 2 mL を受ける。流出液 1 mL を 10 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。</u></p> <p><u>アセトニトリル-水 (1+9) 1 mL を加えて残留物を溶かし^{注4}、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 ^{注5} 10 mL のなす形フラスコをジルコニア被覆</u></p>	

改正後

シリカゲルミニカラム (30 mg) ^{注6} の下に置き、試料溶液をミニカラムに入れ、全量を流出させる。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 1 mL で洗い、洗液をミニカラムに加え同様に流出させる。流出液を 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。

アセトニトリル-水 (1+9) 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし^{注4}、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 試料溶液及び各かび毒混合標準液各 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 150 mm、粒径 3 µm) ^{注7}

溶離液 : 10 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液-アセトニトリル (19+1)
(4 min 保持) → 16 min →
(1+4) (8 min 保持)

流速 : 0.2 mL/min

カラム槽温度 : 40 °C

(タンデム型質量分析計部^{注8})

イオン化法 : 大気圧化学イオン化 (APCI) 法
ネブライザーガス : 空気 (4 L/min)

改正前

改正後

乾燥ガス：N₂ (5 L/min)

インターフェース温度：350 °C

ヒートブロック温度：200 °C

D L 温度：250 °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 各物質のモニターイオン条件

測定対象物質	測定モード	プリカーサー	プロダクトイオン		コリジョンエネルギー (eV)
		イオン (m/z)	定量用 (m/z)	確認用 (m/z)	
HT-2トキシシン	-	483	59	-	21
	+	442	-	215 263	13 15
T-2トキシシン	+	484	185	-	23
			-	305 215	16 21
ジアセトキシスシルベノール	+	384	307	-	12
			-	247	14
ネオンラニオール	+	400	305	-	14
			-	215 185	18 22
3-アセチルデオキシニバレノール	-	397	337	-	8
			-	307	13
15-アセチルデオキシニバレノール	-	397	59	-	21
			-	277	7
デオキシニバレノール	-	355	265	-	13
			-	295	10
デオキシニバレノール-3-グルコシド	-	517	427	-	21
			-	457	14
ニバレノール	-	371	281	-	13
			-	311	10
フザレノン-X	-	413	263	-	16
			-	353	10

計算 得られた選択反応検出クロマトグラムからピーク高さを求めて検量線を作成し、試料中の各トリコテセン系かび毒量を算出する。

注 1 市販の混合標準品 (Trilogy 製 (アヅマックス販売) 等) を用いてもよい。

改正前

改正後	改正前
<p>2 <u>和光純薬工業製又はこれと同等のもの</u></p> <p>3 <u>InertSep VRA-3 (ジーエルサイエンス製、リザーバー容量 6 mL) 又はこれと同等のもの</u></p> <p>4 <u>必要に応じて超音波処理し、十分に拡散させる。</u></p> <p>5 <u>流速は 1 滴/s 程度とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。</u></p> <p>6 <u>HybridSPE-Phospholipid (Sigma-Aldrich 製、リザーバー容量 1 mL) 又はこれと同等のもの</u></p> <p>7 <u>Inertsil ODS-3 (ジーエルサイエンス製、本測定条件による HT-2 トキシン、T-2 トキシン、ジアセトキシシルペノール、ネオソラニオール、3-アセチルデオキシニバレノール、15-アセチルデオキシニバレノール、デオキシニバレノール、デオキシニバレノール-3-グルコシド、ニバレノール及びフザレノン-X の保持時間はそれぞれ約 16.0 分、18.2 分、15.4 分、11.9 分、12.8 分、13.2 分、10.0 分、9.6 分、8.3 分及び 11.3 分) 又はこれと同等のもの</u></p> <p>8 <u>LCMS-8040 (島津製作所製) による条件例</u></p> <p><u>(参考) 分析法バリデーション</u></p> <p><u>・ 添加回収率及び繰返し精度</u></p>	

改正後

添加成分名	試料の種類	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 $\text{RSD}_r(\%)$
HT-2トキシシ	とうもろこし	20	3	97.7	5.4
		200	3	101	2.0
	大豆油かす	20	3	108	1.3
		200	3	106	4.3
	なたね油かす	5	3	106	5.9
		10	3	98.1	4.4
		20	3	101	7.1
		200	3	108	1.8
	大麦	10	3	104	17
		20	3	75.4	13
		200	3	103	5.1
	ブロイラー肥育 前期用配合飼料	200	3	110	5.0
	ほ乳期子豚	20	3	91.6	9.9
	育成用配合飼料	200	3	101	2.1
	肉用牛肥育用 配合飼料	20	3	89.3	10
	200	3	102	1.8	

添加成分名	試料の種類	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 $\text{RSD}_r(\%)$
T-2トキシシ	とうもろこし	20	3	96.8	9.5
		200	3	111	6.9
	大豆油かす	20	3	108	5.8
		200	3	109	12
	なたね油かす	10	3	95.2	8.9
		20	3	101	6.2
		200	3	111	4.8
		大麦	10	3	116
	20		3	101	3.7
	200		3	104	4.0
	ブロイラー肥育 前期用配合飼料	200	3	108	6.5
	ほ乳期子豚	20	3	101	11
	育成用配合飼料	200	3	105	5.6
	肉用牛肥育用 配合飼料	20	3	102	10
		200	3	94.3	4.9

改正前

改正後					改正前				
ジアセトキシル	20	3	90.9	3.0					
シルベノール	200	3	88.9	7.0					
大豆油かす	20	3	98.4	14					
	200	3	106	8.1					
なたね油かす	5	3	107	5.8					
	10	3	108	9.1					
	20	3	113	4.5					
	200	3	112	16					
大麦	10	3	98.2	9.3					
	20	3	99.2	6.3					
	200	3	109	3.0					
プロイラー肥育 前期用配合飼料	200	3	110	1.2					
ほ乳期子豚 育成用配合飼料	20	3	108	4.2					
	200	3	103	4.5					
肉用牛肥育用 配合飼料	20	3	104	9.7					
	200	3	116	2.0					

改正後						改正前					
添加成分名	試料の種類	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)						
ネオソラニ オール	とうもろこし	20	3	110	2.0						
		200	3	101	4.2						
	大豆油かす	20	3	102	1.4						
		200	3	107	6.2						
	なたね油かす	5	3	109	7.4						
		10	3	108	7.9						
		20	3	115	2.0						
		200	3	112	17						
	大麦	10	3	90.1	12						
		20	3	110	4.3						
		200	3	107	3.7						
	ブロイラー肥育 前期用配合飼料	200	3	114	2.6						
	ほ乳期子豚 育成用配合飼料	20	3	107	4.2						
	育成用配合飼料	200	3	107	7.0						
肉用牛肥育用 配合飼料	20	3	94.4	5.0							
配合飼料	200	3	116	1.1							
3-アセチルデ オキシニバレ ノール	とうもろこし	20	3	104	3.9						
		200	3	94.2	6.3						
	大豆油かす	40	3	78.5	2.9						
		200	3	90.5	3.5						
	なたね油かす	20	3	96.8	15						
		200	3	108	4.1						
	大麦	40	3	95.8	7.2						
		200	3	103	4.7						
	ブロイラー肥育 前期用配合飼料	200	3	99.3	2.5						
	ほ乳期子豚	20	3	102	8.0						
	育成用配合飼料	200	3	101	2.2						
	肉用牛肥育用 配合飼料	200	3	101	2.5						

改正後

改正前

添加成分名	試料の種類	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD(%)
15-アセチルデ オキシニパ ノール	とうもろこし	20	3	106	9.8
		200	3	103	5.4
	大豆油かす	40	3	102	3.6
		200	3	112	1.7
	なたね油かす	20	3	110	3.7
		200	3	115	1.7
	大麦	40	3	100	4.3
		200	3	102	6.3
	ブイラー肥育 前期用配合飼料	200	3	108	1.1
	ほ乳期子豚	20	3	102	6.9
	育成用配合飼料	200	3	96.6	5.0
	肉用牛肥育用 配合飼料	20	3	92.9	10
		200	3	119	3.5
	デオキシニパ レノール	とうもろこし	200	3	90.3
大豆油かす		20	3	99.0	6.0
		200	3	93.8	6.2
なたね油かす		10	3	91.0	8.3
		20	3	110	5.9
		200	3	104	3.5
大麦		200	3	92.1	3.0
ブイラー肥育 前期用配合飼料		1000	3	91.4	9.1
ほ乳期子豚		20	3	94.4	9.4
育成用配合飼料		1000	3	90.2	7.1
肉用牛肥育用 配合飼料		4000	3	111	2.4

改正後

改正前

添加成分名	試料の種類	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 $\text{RSD}_r(\%)$	
デオキシニバ レノール-3-グ ルコシド	とうもろこし	20	3	86.0	16	
		100	3	81.5	4.7	
	大豆油かす	20	3	91.1	17	
		100	3	82.2	4.4	
		なたね油かす	5	3	90.2	8.9
			10	3	90.7	13
	大麦	20	3	71.4	6.4	
		100	3	70.6	7.0	
		10	3	83.4	9.6	
	プロイター肥育 前期用配合飼料	ほ乳期子豚	20	3	95.8	3.1
			100	3	72.5	17
		肉用牛肥育用 配合飼料	20	3	104	15
100			3	98.2	2.2	
ニバレノール		とうもろこし	200	3	108	1.9
			大豆油かす	20	3	98.0
		200		3	97.2	4.3
		なたね油かす	5	3	102	5.9
			10	3	90.0	14
			20	3	82.0	2.7
大麦	200	3	107	5.2		
	200	3	98.8	3.0		
プロイター肥育 前期用配合飼料	ほ乳期子豚	200	3	95.5	1.6	
		20	3	74.6	3.2	
	肉用牛肥育用 配合飼料	200	3	89.4	3.5	
		200	3	108	4.4	

改正後

改正前

添加成分名	試料の種類	添加濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)
フザレン-X	とうもろこし	20	3	83.3	4.7
		200	3	91.1	8.0
	大豆油かす	20	3	90.8	17
200		3	97.2	9.4	
なたね油かす	10	10	3	111	13
		20	3	86.1	15
	200	3	101	8.6	
大麦	10	10	3	108	11
		20	3	89.0	1.5
	200	3	107	3.2	
	プロイラー肥育 前期用配合飼料	200	3	101	1.5
	ほ乳期子豚 育成用配合飼料	20	3	100	4.4
	育成用配合飼料	200	3	104	8.6
	肉用牛肥育用 配合飼料	20	3	84.1	5.0
	配合飼料	200	3	118	1.5

・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 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
	とうもろこし	8	0	200	103	8.3	8.3	0.41
HT-2トキシシ	大豆油かす	8	0	100	104	9.8	9.8	0.45
	ほ乳期子豚育 成用配合飼料	8	0	100	104	8.5	8.5	0.39
	とうもろこし	8	0	200	102	7.5	7.5	0.37
T-2トキシシ	大豆油かす	8	0	100	100	7.1	7.1	0.32
	ほ乳期子豚育 成用配合飼料	8	0	100	105	5.2	9.2	0.42
	とうもろこし	7	1	100	99.8	4.5	4.5	0.22
ジアセトキシス シルベノール	大豆油かす	7	1	50	101	4.3	4.3	0.19

改正後	改正前
<p>・定量下限 3-アセチルデオキシニバレノール及び 15-アセチルデオキシニバレノール 試料中 各 20 µg/kg、T-2 トキシシ、デオキシニバレノール及びフザレノン-X 試料中 各 10 µg/kg、その他のかび毒 試料中 各 5 µg/kg</p> <p>・検出下限 3-アセチルデオキシニバレノール及び 15-アセチルデオキシニバレノール 試料中 各 6 µg/kg、T-2 トキシシ、デオキシニバレノール及びフザレノン-X 試料中 各 3 µg/kg、その他のかび毒 試料中 各 2 µg/kg</p>	
第 6 章 農 薬	第 6 章 農 薬
第 1 節 各条	第 1 節 各条
1~11 〔略〕	1~11 〔略〕
12 アセフェート	12 アセフェート
12.1 アセフェート及びメタミドホスの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法 第 3 節 28 による。	〔新設〕
12.2 〔略〕	12.1 〔略〕
13~72 〔略〕	13~72 〔略〕
73 ジカンバ (3,6-ジクロロ-2-ヒドロキシ安息香酸 (以下本節において「DCSA」という。) 及び DCSA 抱合体を含む。)	73 ジカンバ
73.1 ガスクロマトグラフ質量分析計によるジカンバ分析法 ^{注 1} 〔略〕	73.1 ガスクロマトグラフ質量分析計による単成分分析法 ^{注 1} 〔略〕

改正後	改正前
<p>73.2 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計によるジカンバ^{注1}及びDCSA^{注2}分析法 (適用範囲：大豆及び大豆油かす)</p> <p style="text-align: center;">A 試薬の調製</p> <p>1) <u>ジカンバ標準原液</u> ジカンバ [C₈H₆Cl₂O₃] 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ジカンバ標準原液を調製する (この液 1 mL は、ジカンバとして 0.5 mg を含有する。)</p> <p>2) <u>DCSA 標準原液</u> DCSA [C₇H₄Cl₂O₃] 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 DCSA 標準原液を調製する (この液 1 mL は、DCSA として 0.5 mg を含有する。)</p> <p>3) <u>安定同位体元素標識物質標準原液及び混合内標準液</u> 安定同位体元素標識ジカンバ^{注3} (ジカンバ-¹³C₆) 8 mg 及び安定同位体元素標識 DCSA^{注3} (DCSA-¹³C₆) 8 mg を正確に量ってそれぞれ 20 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各安定同位体元素標識物質標準原液を調製する (これらの液各 1 mL は、ジカンバ-¹³C₆ 及び DCSA-¹³C₆ として 0.4 mg をそれぞれ含有する。) 更に、各標準原液の一定量を混合し、メタノールで正確に希釈し、1 mL 中にジカンバ-¹³C₆ 及び DCSA-¹³C₆ としてそれぞれ 20 µg を含有する混合内標準液を調製する。</p> <p>4) <u>検量線作成用混合標準液</u> 使用に際して、ジカンバ及び DCSA 各標準原液並びにジカンバ-¹³C₆ 及び DCSA-¹³C₆ 各安定同位体元素標識物質標準原液の一定量を 0.1 v/v%ギ酸溶液-メタノール (1+1) で正確に希釈し、1 mL 中にジカンバ及び DCSA としてそれぞれ 5~200 ng^{注4} 及び 0.5~20 ng^{注4} を含有</p>	<p>[新設]</p>

改正後

し、かつ、ジカンバ- $^{13}\text{C}_6$ 及び DCSA- $^{13}\text{C}_6$ としてそれぞれ 20 ng 及び 2 ng を含有する数点の検量線作成用混合標準液を調製する。

B 定 量

抽出 分析試料 10.0 g を量って 300 mL の共栓三角フラスコに入れ、混合内標準液 1 mL^{註4} 及び水 20 mL を加え、30 分間静置後、更に水-アセトニトリル (1+1) 80 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。抽出液を 100 mL の共栓遠心沈殿管に入れ、1,500×g で 10 分間遠心分離し、上澄み液を加水分解に供する試料溶液とする。

加水分解 試料溶液 10 mL を 100 mL の共栓遠心沈殿管に正確に入れ、塩酸 (27+170) 20 mL を加える。遠心沈殿管を密栓し、95 °C の油浴で 1 時間加熱した後放冷する。これを 1,500×g で 10 分間遠心分離し、上澄み液を液液分配に供する試料溶液とする。

液液分配 試料溶液 3 mL をあらかじめ塩化ナトリウム溶液 (10 w/v%) 20 mL を入れた 100 mL の分液漏斗 A に正確に加え、更にジエチルエーテル 20 mL を加え、5 分間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、ジエチルエーテル層(上層)を 100 mL のなす形フラスコに入れる。分液漏斗 A をジエチルエーテル 20 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する。水層を捨て、ジエチルエーテル層を先のなす形フラスコに合わせ、40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮し、窒素ガスを送ってジエチルエーテルを揮散させる。0.1 v/v% ギ酸溶液-メタノール (4+1) 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^{註5} オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム

改正前

改正後

(1 g) ^{註6}をメタノール 10 mL 及び 0.1 v/v%ギ酸溶液 10 mL で順次洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコを 0.1 v/v%ギ酸溶液-メタノール (4+1) 5 mL で洗浄し、洗液をミニカラムに加え同様に流出させる。10 mL の試験管をミニカラムの下に置き、0.1 v/v%ギ酸溶液-メタノール (1+1) 10 mL をミニカラムに加えてジカンバ及び DCSA を溶出させ、溶出液をジカンバの定量に用いるための液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。更にこの試料溶液の一定量を 0.1 v/v%ギ酸溶液-メタノール (1+1) で正確に 10 倍希釈し、DCSA の定量に用いるための液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定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 各試料溶液及び各検量線作成用混合標準液各 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：フェネチル化シリカゲルカラム
(内径 2.1 mm、長さ 150 mm、
粒径 5 µm) ^{註7}

溶離液：0.1 v/v%酢酸・5 mmol/L 酢酸ア
ンモニウム溶液-アセトニトリ
ル (19+1) (5 min 保持) → 2
min → (7+3) (8 min 保持) →
2 min → (1+4) (5 min 保持)

流速：0.2 mL/min

改正前

改正後

カラム槽温度: 40 °C

(タンデム型質量分析計部^{註8)})

イオン化法: エレクトロスプレーイオン化
(ESI) 法 (負イオンモード)

イオン源温度: 150 °C

デソルベーションガス: N₂ (800 L/h, 400 °C)

キャピラリー電圧: 0.6 kV

コーンガス: N₂ (50 L/h)

コーン電圧: 下表のとおり

コリジョンガス: Ar (0.4 Pa)

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 各物質のモニターイオン条件

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)	コリジョンエネルギー (eV)
	イオン (m/z)	定量用 (m/z)	確認用 (m/z)		
ジカンバ	219	175	—	20	6
		—	145	20	10
ジカンバ- ¹³ C ₆	225	181	—	20	6
DCSA	205	161	—	26	12
		—	125	26	20
DCSA- ¹³ C ₆	211	167	—	26	12

計算 得られた選択反応検出クロマトグラムからジカンバ、DCSA、ジカンバ-¹³C₆ 及び DCSA-¹³C₆ のピーク面積を求めて内標準法により検量線を作成し、試料中のジカンバ量及び DCSA 量を求めた後、次式により試料中のジカンバ (DCSA 及び DCSA 抱合体を含む。) 量を算出する。

試料中のジカンバ (DCSA 及び DCSA 抱合体を含む。) 量
(mg/kg) = A + 1.07 × B

改正前

改正後

改正前

A : 検量線から求めた試料中のジカンバの濃度
(mg/kg)

B : 検量線から求めた試料中のDCSAの濃度
(mg/kg)

注 1 本法では、試料中にジカンバイソプロピルアミン塩、
ジカンバジメチルアミン塩、ジカンバカリウム塩及びジ
カンバナトリウム塩が含まれている場合には、試料中の
ジカンバ量に含まれる。

2 本法では、試料中のDCSA抱合体は加水分解されて、
DCSAとの含量として定量される。

3 安定同位体元素標識として利用するジカンバ及び
DCSAは、ジカンバ(環-¹³C₆)及びDCSA(環-¹³C₆)又
はこれらと同等のもの

4 この規定による定量範囲の上限は、試料中のジカンバ
及びDCSAの濃度として各20 mg/kgである。

5 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。

6 Mega Bond Elut C18 (Agilent Technologies製、粒径40
µm、リザーバー容量6 mL)又はこれと同等のもの

7 Inertsil Ph (ジーエルサイエンス製、本測定条件による
ジカンバ及びDCSAの保持時間はそれぞれ約9.0分及び
9.8分)又はこれと同等のもの

8 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 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD(%)
	大豆	1	3	100	3.9
		10	3	97.1	0.9

改正後

ジカンパ	大豆 (加熱圧ぺん)	1	3	98.4	2.1
		10	3	94.7	1.4
	大豆油かす	1	3	95.0	0.9
		10	3	95.7	5.2
	エクストルーダー処 理大豆油かす	1	3	88.3	2.5
		10	3	98.8	0.4
DCSA	大豆	1	3	101	7.6
		10	3	88.0	1.5
	大豆 (加熱圧ぺん)	1	3	86.5	4.2
		10	3	91.9	1.3
	大豆油かす	1	3	98.7	6.7
		10	3	93.4	3.1
	エクストルーダー処 理大豆油かす	1	3	86.2	4.0
		10	3	91.1	2.1

・共同試験

成分名	試料の種類	有効試 験室数	棄却試 験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _B (%)	HorRat
ジカンパ	大豆	8	1	1	100	8.2	13	0.80
	大豆 (蒸熱圧ぺん)	9	0	5	103	3.1	6.8	0.54
	大豆油かす	9	0	10	98.2	4.5	5.1	0.45
DCSA	大豆	9	0	5	101	5.6	8.6	0.68
	大豆 (蒸熱圧ぺん)	9	0	10	100	4.7	7.4	0.65
	大豆油かす	9	0	1	103	7.9	11	0.66

- ・ 定量下限 試料中 各 1 mg/kg
- ・ 検出下限 試料中 各 0.3 mg/kg

74~109 [略]

110 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) [略]

111~245 [略]

改正前

74~109 [略]

110 デルタメトリン (デルタメトリン及びトラロメトリン)
[略]

111~245 [略]

改正後	改正前
<p>246 オキシリニック酸</p> <p>246.1 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による単成分分析法 (その1) ^{注1} 【略】</p> <p>246.2 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による単成分分析法 (その2) ^{注1} (適用範囲：稲わら)</p> <p style="text-align: center;">A 試薬の調製</p> <p>246.1 の A による。</p> <p style="text-align: center;">B 定 量</p> <p>抽 出 分析試料 5 g を正確に量って 300 mL の褐色共栓三角フラスコに入れ、水 30 mL を加え、30 分間静置後、更に 0.2 w/v%メタリン酸溶液-アセトニトリル (3+2) 120 mL を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の褐色全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をガラス繊維ろ紙^{注2}で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次 0.2 w/v%メタリン酸溶液-アセトニトリル (3+2) 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線まで 0.2 w/v%メタリン酸溶液-アセトニトリル (3+2) を加える。この液の一定量を 0.2 w/v%メタリン酸溶液-アセトニトリル (3+2) で正確に 100 倍希釈した後、希釈液 4 mL を 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、水 10 mL を加えてカラム処理に供する試料溶液とする。</p> <p>カラム処理^{注3} ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体ミニカラム (200 mg) ^{注4} をメタノール 10 mL 及び水 10 mL で順次洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコを水 5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順</p>	<p>246 オキシリニック酸</p> <p>246.1 液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による単成分分析法^{注1} 【略】</p> <p>〔新設〕</p>

改正後

改正前

次ミニカラムに加え、同様に流出させる。

50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、メタノール 5 mL をミニカラムに加えてオキシリニック酸を溶出させる。溶出液を 50 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。水-メタノール (7+3) 2 mL を正確に加えて残留物を溶かし、5,000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする。

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 246.1 の B の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定の項による。

計算 246.1 の B の計算の項による。

- 注 1 定量操作は遮光した状態で行う。
 2 GFP-95 (桐山製作所製) 又はこれと同等のもの
 3 流速は 1~2 mL/min 程度とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。
 4 Oasis HLB (Waters 製、リザーバー容量 6 mL) 又はこれと同等のもの

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)
稲わら1	0.6	3	92.7	3.9
	1	3	91.0	6.4
	10	3	89.8	3.0
稲わら2	0.6	3	91.0	4.1
	1	3	92.7	4.9
	10	3	91.3	2.9

改正後								改正前	
・共同試験									
試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室内再現精度 RSD _R (%)	HorRat		
稲わら1	8	1	10	91.9	2.8	5.3	0.46		
稲わら2	9	0	2	97.6	2.5	7.6	0.52		
・定量下限 試料中 0.6 mg/kg									
・検出下限 試料中 0.2 mg/kg									
247～254 [略]								247～254 [略]	
255 イマザピック								〔新設〕	
255.1 イマザピック及びイマザピルの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法 第3節29による。									
256 イマザピル								〔新設〕	
256.1 イマザピック及びイマザピルの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法 第3節29による。									
257 エスプロカルブ								〔新設〕	
257.1 エスプロカルブその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法 第3節30による。									
258 カフェンストロール								〔新設〕	
258.1 エスプロカルブその他の農薬の液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法 第3節30による。									

改正後	改正前
<p>259 <u>α-R-デルタメトリン</u></p> <p>259.1 <u>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</u> <u>第3節1による。</u></p>	〔新設〕
<p>260 <u>ピラゾキシフェン</u></p> <p>260.1 <u>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</u> <u>ム型質量分析計による同時分析法</u> <u>第3節30による。</u></p>	〔新設〕
<p>261 <u>ピラゾリネート</u></p> <p>261.1 <u>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</u> <u>ム型質量分析計による同時分析法</u> <u>第3節30による。</u></p>	〔新設〕
<p>262 <u>フサライド</u></p> <p>262.1 <u>フサライドのガスクロマトグラフ質量分析計による単成分</u> <u>分析法</u> <u>(適用範囲：稲わら、稲発酵粗飼料及び粃米)</u></p> <p style="text-align: center;">A 試薬の調製</p> <p>1) <u>フサライド標準液</u> <u>フサライド [C₈H₂Cl₄O₂] 25 mg を正</u> <u>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</u> <u>溶かし、更に標線まで同溶媒を加えてフサライド標準原液を</u> <u>調製する (この液 1 mL は、フサライドとして 0.5 mg を含有</u> <u>する。)</u></p> <p><u>使用に際して、標準原液 2 mL を 50 mL の全量フラスコに</u> <u>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</u> <u>ライドとして 20 μg を含有する液を調製する。この液の一定</u> <u>量を希釈溶媒で正確に希釈し、1 mL 中にフサライドとして</u></p>	〔新設〕

改正後	改正前
<p>0.002~0.2 μg を含有する数点のフサライド標準液を調製する。</p> <p>2) <u>希釈溶媒</u> 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。</p> <p style="text-align: center;">B 定 量</p> <p><u>抽出</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、更にアセトン 120 mL (粃米は 100 mL) を加え、30 分間振り混ぜて抽出する。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き、抽出液をろ紙 (5 種 B) で吸引ろ過した後、先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 50 mL で洗浄し、同様に吸引ろ過する。更に全量フラスコの標線までアセトンを加える。この液 4 mL を 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、40 $^{\circ}\text{C}$ 以下の水浴で約 1 mL 以下まで減圧濃縮した後、水 5 mL を加えてカラム処理 I に供する試料溶液とする。</p> <p><u>カラム処理 I</u> 試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム (10 mL 保持用)^{注1} に入れ、10 分間静置する。200 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き、試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 10 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下させてフサライドを溶出させる。更にヘキサン 70 mL をカラムに加えて同様に溶出させ、溶出液を 40 $^{\circ}\text{C}$ 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>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。</p> <p><u>カラム処理 II</u> 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (800 mg)^{注2} をヘキサン 10 mL で洗浄する。試料溶液をミニカラ</p>	

改正後

ムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。
試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 2 mL ずつ
で 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、同様に流出さ
せる。更にヘキサノージェチルエーテル (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、更にこの液の一定量を希釈溶媒
で正確に希釈 (稲わら 50 倍、稲発酵粗飼料 25 倍、粳米 4
倍) し、ガスクロマトグラフ質量分析計による測定に供する
試料溶液とする。

ガスクロマトグラフ質量分析計による測定 試料溶液及び各
フサライド標準液各 2 µL をガスクロマトグラフ質量分析計に
注入し、選択イオン検出クロマトグラムを得る。

測定条件 例

カ ラ ム : 熔融石英製キャピラリーカラム
(5%ジフェニル-95%ジメチ
ルポリシロキサンコーティン
グ、内径 0.25 mm、長さ 30 m、
膜厚 0.25 µm)

キャリヤーガス: 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: 初期温度 70 °C (2 min 保持) →
昇温 20 °C/min → 280 °C (10 min
保持)

改正前

改正後

改正前

検 出 器：四重極型質量分析計^{注3}

インターフェース温度：280 °C

イオン源温度：250 °C

イオン化電圧：70 eV

イオン化法：電子衝撃イオン化 (EI) 法

モニターイオン： m/z 243 (定量)、272 (確認)

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

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

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

3 5975C (Agilent Technologies 製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)
稲わら	6.5	3	92.1	3.4
	13	3	89.0	3.4
	130	3	88.1	0.9
稲発酵粗飼料	1.5	3	90.5	4.0
	3.0	3	92.0	2.9
	30	3	93.9	0.4
粳米	0.5	3	92.8	2.1
	10	3	102	1.4

・共同試験

試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
稲わら	9	0	130	100	2.1	6.3	0.83
稲発酵粗飼料	9	0	30	93.7	1.8	3.8	0.40
粳米	9	0	1	94.9	5.0	7.4	0.46

改正後	改正前
<p>・定量下限 稲わら：試料中 7 mg/kg、稲発酵粗飼料：試料（風乾物）中 3 mg/kg、粃米：試料中 0.5 mg/kg</p> <p>・検出下限 稲わら：試料中 2 mg/kg、稲発酵粗飼料：試料（風乾物）中 1 mg/kg、粃米：試料中 0.2 mg/kg</p>	
<p>263 <u>ブプロフェジン</u></p>	<p>〔新設〕</p>
<p>263.1 <u>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</u></p> <p>第3節 30 による。</p>	
<p>264 <u>メタミドホス</u></p>	<p>〔新設〕</p>
<p>264.1 <u>アセフェート及びメタミドホスの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法</u></p> <p>第3節 28 による。</p>	
<p>第2節 〔略〕</p>	<p>第2節 〔略〕</p>
<p>第3節 多成分同時分析法</p>	<p>第3節 多成分同時分析法</p>
<p>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</p>	<p>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</p>
<p>(1) 分析対象化合物^{註1}</p> <p>〔中略〕、<u>デルタメトリン、α-R-デルタメトリン、trans-デルタメトリン^{註2}、テルブトリン、テルブホス、トラロメトリン^{註2}、〔中略〕及びメビンホス（141成分）</u></p>	<p>(1) 分析対象化合物^{註1}</p> <p>〔中略〕、<u>デルタメトリン、テルブトリン、テルブホス、トラロメトリン^{註2}、〔中略〕及びメビンホス（139成分）</u></p>
<p>(2) 分析法</p> <p style="text-align: center;">A 〔略〕</p> <p style="text-align: center;">B 定 量</p>	<p>(2) 分析法</p> <p style="text-align: center;">A 〔略〕</p> <p style="text-align: center;">B 定 量</p>
<p>抽 出 ～ カラム処理 III 〔略〕</p> <p>ガスクロマトグラフ質量分析計による測定 〔中略〕</p>	<p>抽 出 ～ カラム処理 III 〔略〕</p> <p>ガスクロマトグラフ質量分析計による測定 〔中略〕</p>

改正後

測定条件 例

〔中略〕

モニターイオン：表1参照

表1 各農薬の測定イオン

項目名	定量イオン	確認イオン
〔中略〕		
デルタメトリン	181	253
<u>α-R-デルタメトリン</u>	<u>181</u>	<u>253</u>
テルブトリン	226	241
〔以下略〕		

計 算 〔略〕

注 1 本法は、ここに示したすべての化合物の同時分析を保証したものではない。化合物同士の相互作用による分解等及び測定への干渉等の恐れがあるので、分析対象とする化合物の組み合わせごとにあらかじめこれらの点を検証しておくこと。

2 trans-デルタメトリンは、デルタメトリンとの含量として定量する。また、トラロメトリンは、ガスクロマトグラフ質量分析計への注入によりデルタメトリンに変換されることから、デルタメトリンとの含量として定量する。

3・4 〔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) α-R-デルタメトリン及びtrans-デルタメトリン

農薬名	添加濃度 (mg/kg)	試料の種類					
		牛用配合飼料		とうもろこし			
		回収率 ^{a)}	RSD _r ^{b)}	回収率 ^{a)}	RSD _r ^{b)}	回収率 ^{a)}	RSD _r ^{b)}
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
α-R-デルタメトリン	0.2	201	8.9	176	9.9	—	—

改正前

測定条件 例

〔中略〕

モニターイオン：表1参照

表1 各農薬の測定イオン

項目名	定量イオン	確認イオン
〔中略〕		
デルタメトリン	181	253
〔新設〕		
テルブトリン	226	241
〔以下略〕		

計 算 〔略〕

注 1 本法は、ここに示したすべての化合物の同時分析を保証したものではない。化合物同士の相互作用による分解等及び測定への干渉等の恐れがあるので、分析対象とする化合物の組み合わせごとにあらかじめこれらの点を検証しておくこと。

2 トラロメトリンは、ガスクロマトグラフ質量分析計への注入によりデルタメトリンに変換されることから、デルタメトリンとの含量として定量する。

3・4 〔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

〔新設〕

改正後

	0.5	—	—	—	—	196	6.9
	1	109	11	110	5.5	—	—
	5	—	—	—	—	101	6.7
<i>trans</i> -デルタメトリン	0.2	241	9.3	208	9.8	—	—
	0.5	—	—	—	—	239	8.8
	1	140	14	144	3.6	—	—
	5	—	—	—	—	131	9.5

※ 斜字は、回収率が50~200%の範囲にないもの。

- 2) 〔略〕
- 3) 〔略〕
- 4) 〔略〕

・共同試験

1) *α*-R-デルタメトリン及び*trans*-デルタメトリン

添加成分名	試料の種類	試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
	牛用配合飼料	4	1	107	19	14	0.88
<i>α</i> -R-デルタメトリン	とうもろこし	4	1	103	14	11	1.6
	チモシー乾草	4	5	89.5	11	9.0	0.72
	牛用配合飼料	4	1	109	13	10	0.60
<i>trans</i> -デルタメトリン	とうもろこし	4	1	102	7.7	6.3	0.40
	チモシー乾草	4	5	88.9	15	11	0.89

- 2) 〔略〕
- 3) 〔略〕
- 4) 〔略〕

〔中略〕

2~27 〔略〕

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

- (1) 分析対象化合物 アセフェート及びメタミドホス (2成分)
- (2) 適用範囲 飼料
- (3) 分析法

A 試薬の調製

改正前

- 1) 〔略〕
 - 2) 〔略〕
 - 3) 〔略〕
- ・共同試験
〔新設〕

- 1) 〔略〕
- 2) 〔略〕
- 3) 〔略〕

〔中略〕

2~27 〔略〕

〔新設〕

改正後

改正前

- 1) アセフェート標準原液 アセフェート [C₄H₁₀NO₂PS] 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アセフェート標準原液を調製する (この液 1 mL は、アセフェートとして 0.5 mg を含有する。)。
- 2) メタミドホス標準原液 メタミドホス [C₂H₈NO₂PS] 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メタミドホス標準原液を調製する (この液 1 mL は、メタミドホスとして 0.5 mg を含有する。)。
- 3) 農薬混合標準液 使用に際して、各標準原液の一定量を混合し、アセトンで正確に希釈し、1 mL 中にアセフェート及びメタミドホスとしてそれぞれ 20 µg を含有する農薬混合標準原液を調製する。この標準原液 1 mL を正確にとり、窒素ガスを送って乾固した後、水で正確に希釈し、1 mL 中にアセフェート及びメタミドホスとしてそれぞれ 2.5~250 ng を含有する数点の農薬混合標準液を調製する。

B 定 量

抽 出 分析試料 10.0 g を量って 300 mL の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 (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 8 mL (乾牧草 (稻わらを除く。)) は、更にアセトンで正確に 10 倍希釈した後、その液 8 mL) を 50 mL のなす形フラスコに正確に入れ、40 °C 以下の水浴で約 1

改正後

mL まで減圧濃縮し、塩化ナトリウム 1 g 及び水 3 mL を加え、カラム処理 I に供する試料溶液とする。

カラム処理 I 試料溶液を多孔性ケイソウ土カラム (5 mL 保持用) ^{註1} に入れた後、10 分間静置する。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 4 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。

多孔性ケイソウ土カラムの下にあらかじめ酢酸エチル 5 mL で洗浄したグラファイトカーボンミニカラム (500 mg) ^{註2} を連結し、200 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置く。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 2 回洗浄し、洗液を順次カラムに加え、液面が充てん剤の上端に達するまで流下させてアセフェート及びメタミドホスを溶出させる。更に酢酸エチル 40 mL をカラムに加え、同様に溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固する。ヘキサン-アセトン (7+3) 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。

カラム処理 II シリカゲルミニカラム (690 mg) をヘキサン-アセトン (7+3) 5 mL で洗浄する。試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流出させる。試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン-アセトン (7+3) 2.5 mL ずつで 3 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、同様に流出させる。

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 (1+1) 20 mL をミニカラムに加えてアセフェート及びメタミドホスを溶出させる。溶出液を 40 °C 以下の水浴で約 1 mL まで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固す

改正前

改正後

る。水 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。

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
 溶液及び各農薬混合標準液各 2 μ L 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 5 μ m) ^{注3}

溶離液：2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液
 -メタノール (19+1)

流速：0.2 mL/min

カラム槽温度：40 °C

(タンデム型質量分析計部^{注4})

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

イオン源温度：120 °C

デソルベーションガス：N₂ (800 L/h、350 °C)

キャピラリー電圧：0.5 kV

コーンガス：N₂ (50 L/h)

コーン電圧：下表のとおり

コリジョンガス：Ar (0.20 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 各物質のモニターイオン条件

改正前

改正後

改正前

測定対象物質	プリカーサー	プロダクトイオン		コーン	コリジョン
	イオン (m/z)	定量用 (m/z)	確認用 (m/z)	電圧 (V)	エネルギー (eV)
アセフェート	184	143	—	20	5
		—	49		20
メタミドホス	142	94	—	30	15
		—	125		

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、試料中のアセフェート量及びメタミドホス量を算出する。

注 1 Chem Elut 5 mL (Agilent Technologies 製) 又はこれと同等のもの

2 ENVI-Carb (Supelco 製) 又はこれと同等のもの

3 TSKgel ODS-100V (東ソー製、本測定条件によるアセフェート及びメタミドホスの保持時間はそれぞれ約 7.2 分及び 4.8 分) 又はこれと同等のもの

4 Quattro Premier (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 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD(%)
アセフェート	成鶏飼育用配合飼料	0.01	3	78.4	1.7
		0.5	3	70.3	6.1
	乳用牛飼育用配合飼料	0.01	3	83.4	3.4
		0.5	3	83.5	5.1
	小麦	0.01	3	78.0	8.9
		0.1	3	83.0	9.9
	どうもろこし	0.01	3	77.1	8.1
		0.5	3	80.5	4.1
	稲わら	0.01	3	79.0	3.6
		0.1	3	86.9	2.4
	アルファルファ乾草	0.1	3	73.4	8.8
		3	3	79.1	2.3
	成鶏飼育用配合飼料	0.01	3	90.3	7.0
		0.1	3	83.3	7.7
	乳用牛飼育用配合飼料	0.01	3	79.6	12
		0.1	3	87.6	5.8

改正後

	0.01	3	75.8	2.1
小麦	0.02	3	84.3	12
メタミドホス	0.1	3	90.2	2.0
	0.01	3	81.9	9.5
とうもろこし	0.1	3	82.3	5.2
	0.01	3	85.7	13
稲わら	0.1	3	72.5	15
	0.1	3	89.0	13
アルファルファ乾草	3	3	73.1	5.8

・共同試験

成分名	試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室内再現精度 RSD _n (%)	HorRat
	乳用牛飼育用配合飼料	10	0	0.1	81.9	1.7	11	0.48
アセフェート	とうもろこし	10	0	0.5	82.7	4.8	8.4	0.46
	アルファルファ乾草	10	0	3	74.9	3.5	15	1.0
	乳用牛飼育用配合飼料	9	1	0.1	81.9	8.4	15	0.70
メタミドホス	とうもろこし	10	0	0.01	81.5	2.0	15	0.67
	アルファルファ乾草	10	0	0.1	100	4.5	18	0.83

・定量下限 試料中 各 0.01 mg/kg (乾牧草 (稲わらを除く。)) 中 各 0.1 mg/kg)

・検出下限 試料中 各 0.003 mg/kg (乾牧草 (稲わらを除く。)) 中 各 0.03 mg/kg)

29 イマザピック及びイマザピルの液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による同時分析法

- (1) 分析対象化合物 イマザピック及びイマザピル (2成分)
- (2) 適用範囲 飼料
- (3) 分析法

A 試薬の調製

- 1) イマザピック標準原液 イマザピック [C₁₄H₁₇N₃O₃] 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イマザピック

改正前

〔新設〕

改正後

標準原液を調製する（この液 1 mL は、イマザピックとして 0.5 mg を含有する。）。

2) イマザピル標準原液 イマザピル [C₁₃H₁₅N₃O₃] 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イマザピル標準原液を調製する（この液 1 mL は、イマザピルとして 0.5 mg を含有する。）。

3) 農薬混合標準液 各標準原液の一定量を混合し、アセトンで正確に希釈し、1 mL 中にイマザピック及びイマザピルとしてそれぞれ 20 µg を含有する農薬混合標準原液を調製する。

使用に際して、農薬混合標準原液の一定量を 0.1 v/v%ギ酸溶液-メタノール (7+3) で正確に希釈し、1 mL 中にイマザピック及びイマザピルとしてそれぞれ 0.0002~2 µg を含有する数点の農薬混合標準液を調製する。

B 定 量

抽 出 分析試料 10.0 g を量って 300 mL の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、更に塩酸（0.02 mol/L）-メタノール（2+3）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、抽出液をあらかじめケイソウ土を 1 cm の厚さに敷いたろ紙（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塩酸（0.02 mol/L）-メタノール（2+3）60 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塩酸（0.02 mol/L）-メタノール（2+3）を加える。この液 2 mL（乾牧草は、更に塩酸（0.02 mol/L）-メタノール（2+3）で正確に 10 倍希釈した後、その液 2 mL）を 20 mL 以上の試験管等のガラ

改正前

改正後

ス容器に正確に入れ、塩酸 (0.01 mol/L) 18 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^{註1} オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (1 g)^{註2} をメタノール 10 mL 及び塩酸 (0.01 mol/L) 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。先のミニカラムの下にあらかじめメタノール 10 mL 及び塩酸 (0.01 mol/L) 10 mL で順次洗浄したベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg)^{註3} を連結する。試料溶液の入っていたガラス容器を塩酸 (0.01 mol/L) -メタノール (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。

次に、オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラムを外し、メタノール 5 mL をベンゼンスルホニルプロピルシリル化シリカゲルミニカラムに加え、同様に流出させる。50 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、メタノール-アンモニア水 (99+1) 10 mL をミニカラムに加え、イマザピック及びイマザピルを溶出させる。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。0.1 v/v%ギ酸溶液-メタノール (7+3) 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。

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 試料溶液及び各農薬混合標準液各 4 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)

改正前

改正後

改正前

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 4 μm）^{註4}

溶離液：0.1 v/v%ギ酸溶液-メタノール (4+1) → 10 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^{註5})

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (正イオンモード)

イオン源温度：150 °C

デソルベーションガス：N₂ (650 L/h、500 °C)

キャピラリー電圧：1 kV

コーンガス：N₂ (50 L/h)

コーン電圧：下表のとおり

コリジョンガス：Ar (0.20 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 各物質のモニターイオン条件

測定対象物質	プリカーサー	プロダクトイオン		コーン	コリジョン
	イオン (m/z)	定量用 (m/z)	確認用 (m/z)	電圧 (V)	エネルギー (eV)
イマザピック	276	231	—	35	20
		—	163		25
イマザピル	262	217	—	35	25
		—	69		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、試料中のイマザピック量及びイマザピル量を算出する。

改正後

改正前

注 1 流速は1~2 mL/minとする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。

2 InertSep C18-C (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 Bond Elut SCX (Agilent Technologies 製) に必要に応じて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 Inertsil ODS-3 (ジーエルサイエンス製、本測定条件によるイマザピック及びイマザピルの保持時間はそれぞれ約7.5分及び6.5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

添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)
	牛用配合飼料	0.005	3	93.2	2.4
		0.01	3	96.0	6.5
		0.05	3	100	2.4
	小麦	0.005	3	82.7	3.5
		0.01	3	87.8	2.3
		0.05	3	100	2.4
	大豆	0.005	3	89.5	4.4
		0.05	3	96.3	3.3
		0.5	3	96.2	0.4
イマザピック	とうもろこし	0.005	3	87.7	1.7
		0.01	3	97.7	5.0
		0.05	3	102	1.2
	大豆油かす	0.005	3	89.9	5.1
		0.05	3	106	2.1
		0.5	3	102	1.2
	スーダングラス乾草	0.05	3	91.7	7.0
		0.5	3	99.4	1.5
		3	3	92.9	0.9
	牛用配合飼料	0.005	3	87.9	6.7
		0.01	3	93.4	3.8
		0.05	3	84.9	0.8
	小麦	0.005	3	88.9	4.9

改正後

	0.01	3	98.5	3.5
	0.05	3	105	2.2
大豆	0.005	3	90.1	6.5
	0.05	3	102	1.4
イマザビル	5	3	94.0	0.7
とうもろこし	0.005	3	95.2	6.2
	0.01	3	100	4.9
	0.05	3	85.4	0.7
大豆油かす	0.005	3	87.1	4.1
	0.05	3	107	2.1
	7	3	98.5	1.4
スーダングラス乾草	0.05	3	100	5.1
	0.5	3	109	2.3
	30	3	92.5	0.4

・共同試験

成分名	試料の種類	有効試験室数	棄却試験室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _R (%)	HorRat
	牛用配合飼料	9	0	0.01	87.6	9.3	11	0.50
	小麦	9	0	0.05	81.4	8.6	13	0.61
イマザビツク	とうもろこし	9	0	0.01	89.0	10	14	0.64
	大豆油かす	9	0	0.5	98.2	3.6	6.8	0.37
	スーダングラス乾草	9	0	3	84.4	6.7	9.1	0.65
	牛用配合飼料	9	0	0.05	76.6	7.6	19	0.85
	小麦	9	0	0.05	78.8	13	20	0.90
イマザビル	とうもろこし	9	0	0.05	83.7	8.6	19	0.85
	大豆油かす	8	1	7	89.4	2.2	6.2	0.51
	スーダングラス乾草	9	0	30	91.0	3.8	4.8	0.49

・定量下限 試料中 各 0.005 mg/kg (乾牧草中 各 0.05 mg/kg)

・検出下限 試料中 各 0.002 mg/kg (乾牧草中 各 0.02 mg/kg)

30 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

(1) 分析対象化合物 エスプロカルブ、カフェンストロール、ピラゾキシフェン、ピラゾリネート及びプロプロフェジン (5 成

改正前

〔新設〕

改正後

改正前

分)

- (2) 適用範囲 稲わら、稲発酵粗飼料及び粃米
 (3) 分析法

A 試薬の調製

農薬混合標準液 エスプロカルブ $[C_{15}H_{23}NOS]$ 、カフェン
 ストロール $[C_{16}H_{22}N_4O_3S]$ 、ピラゾキシフェン
 $[C_{20}H_{16}Cl_2N_2O_3]$ 、ピラゾリネート $[C_{19}H_{16}Cl_2N_2O_4S]$ 及び
 ププロフェジン $[C_{16}H_{23}N_3OS]$ 各 25 mg を正確に量ってそれ
 ぞれ 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各農薬標準原液を調製する
 (これらの液各 1 mL は、各農薬としてそれぞれ 0.5 mg を含
 有する。)

各農薬標準原液各 1 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 中に各農薬とし
 てそれぞれ 10 μ g を含有する農薬混合標準原液を調製する。

使用に際して、農薬混合標準原液の一定量をアセトニトリ
 ルー水 (4+1) で正確に希釈し、1 mL 中に各農薬としてそれ
 ぞれ 0.05~10 ng を含有する数点の農薬混合標準液を調製す
 る。

B 定 量

抽 出 分析試料 10.0 g を量って 300 mL の共栓三角フラ
 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 2 mL を 50 mL のなす形フラスコに正確に入

改正後

改正前

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^{註1} オクタデシルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg)^{註2} 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。更に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 (3+2) 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 (4+1) 9 mL をミニカラムに加え、各農薬を溶出させる^{註3}。更に全量フラスコの標線まで同溶媒を加え、その液の一定量を 5,000×g で 5 分間遠心分離し、上澄み液を液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定に供する試料溶液とする^{註4}。

液体クロマトグラフタンデム型質量分析計による測定 試料溶液及び各農薬混合標準液各 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 150 mm、粒径 5 µm)^{註5}

溶 離 液 : 2 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液
ニアセトニトリル (4+1) → 15 min → (1+9) (5 min 保持)

流 速 : 0.2 mL/min

カ ラ ム 槽 温 度 : 40 °C

改正後

改正前

(タンデム型質量分析計部^{註6})イオン化法：エレクトロスプレーイオン化
(ESI) 法 (正イオンモード)イオン源温度：120 °Cデソルベーションガス：N₂ (650 L/h、350 °C)キャピラリー電圧：3.5 kVコーンガス：N₂ (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 各物質のモニターイオン条件

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 エネルギー (eV)
	イオン (m/z)	定量用 (m/z)	確認用 (m/z)		
エスプロカルブ	266	91	—	35	25
		—	71		20
カフェンストール	351	100	—	20	16
		—	72		36
ピラゾキシフェン	403	91	—	45	35
		—	105		23
ピラゾリネート	439	91	—	45	37
		—	173		19
ブプロフェジン	306	201	—	35	14
		—	116		18

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、試料中の各農薬量を算出する。

注 1 流速は1~2 mL/min程度とする。必要に応じて吸引マニホールドを使用する。

2 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

改正後

改正前

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 試料中のブプロフェジン含量が多い場合には、最終試料溶液をアセトニトリル-水 (4+1) で希釈してから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。
- 5 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies 製、本測定条件によるエスプロカルブ、カフェンストロール、ピラゾキシフェン、ピラゾリネート及びブプロフェジンの保持時間はそれぞれ約 15.7 分、11.9 分、12.6 分、14.0 分及び 16.3 分) 又はこれと同等のもの
- 6 ACQUITY TQD (Waters 製) による条件例

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

添加成分名	試料の種類	添加濃度 (mg/kg)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)
エスプロカルブ	稲わら	0.01	3	93.6	5.2
		0.2	3	94.9	3.1
	稲発酵粗飼料	0.01	3	98.1	2.4
		0.2	3	103	2.1
カフェンストロール	稲わら	0.01	3	96.6	3.3
		0.02	3	98.0	4.2
	稲発酵粗飼料	0.01	3	97.0	4.7
		0.2	3	98.0	4.4
ピラゾキシフェン	稲わら	0.01	3	104	1.3
		0.2	3	103	1.9
	稲発酵粗飼料	0.01	3	94.2	6.2
		0.02	3	88.5	7.9
ブプロフェジン	稲わら	0.01	3	88.3	5.9
		0.2	3	92.6	3.1
	稲発酵粗飼料	0.01	3	97.6	2.0
		0.2	3	106	1.2
粗米	0.01	3	86.5	1.3	
	0.1	3	86.2	5.0	

改正後

ピラゾリネート	稲わら	0.01	3	97.5	1.8
		0.2	3	93.7	3.6
	稲発酵粗飼料	0.01	3	92.0	7.1
		0.2	3	90.3	6.3
	籾米	0.01	3	96.7	3.2
	0.1	3	98.8	5.3	
ブプロフェジン	稲わら	0.01	3	90.0	7.1
		25	3	99.3	5.2
	稲発酵粗飼料	0.01	3	95.0	1.7
		15	3	85.6	3.6
	籾米	0.01	3	101	3.5
	10	3	99.9	2.4	

・共同試験

成分名	試料の種類	有効試験 室数	棄却試験 室数	添加濃度 (mg/kg)	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD _r (%)	室間再現精度 RSD _d (%)	HotRat
エスプロカルブ	稲発酵粗飼料	9	0	0.2	88.4	3.3	7.3	0.35
	籾米	9	0	0.02	94.0	8.0	7.1	0.32
カフェンスト ロール	稲わら	9	0	0.2	96.1	2.5	9.4	0.46
	稲発酵粗飼料	9	0	0.2	95.8	3.0	7.7	0.38
	籾米	9	0	0.02	97.0	7.1	9.6	0.44
ピラゾキシフェ ン	稲わら	9	0	0.2	88.3	4.0	13	0.65
	稲発酵粗飼料	9	0	0.2	89.3	3.8	8.9	0.43
	籾米	9	0	0.1	94.2	3.8	8.7	0.40
ピラゾリネート	稲わら	9	0	0.2	94.1	1.8	15	0.71
	稲発酵粗飼料	9	0	0.2	91.0	5.2	13	0.65
	籾米	9	0	0.1	99.3	4.5	8.8	0.40
ブプロフェジン	稲わら	9	0	25	90.5	2.7	10	1.1
	稲発酵粗飼料	9	0	15	92.4	2.9	11	1.0
	籾米	9	0	10	97.6	4.4	7.7	0.68

・定量下限 試料（稲発酵粗飼料は風乾物）中 各 0.01
mg/kg

・検出下限 試料（稲発酵粗飼料は風乾物）中 各 0.003
mg/kg

第7章・第8章 [略]

第9章 抗生物質

第1節 [略]

改正前

第7章・第8章 [略]

第9章 抗生物質

第1節 [略]

改正後

改正前

第2節 各条

1~26 〔略〕

27 モネンシンナトリウム

27.1 〔略〕

27.2 定量試験法 (飼料)

27.2.1 〔略〕

27.2.2 平板法 (その2)

(適用範囲: 牛用飼料)

〔中略〕

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (g/力価)t	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
ほ乳期子牛育成用配合飼料1	15-45	3	98.6~105.1	5.9
ほ乳期子牛育成用配合飼料2	15-45	3	101.7~103.9	3.2
ほ乳期子牛育成用配合飼料3	15-45	3	102.0~105.0	5.3
ほ乳期子牛育成用配合飼料4	15-45	3	103.5~105.9	8.3
ほ乳期子牛育成用配合飼料5	15-45	3	91.7~99.6	4.3
肉用牛肥育用配合飼料1	15-45	3	101.6~108.7	4.5
肉用牛肥育用配合飼料2	15-45	3	102.3~110.8	10.4
肉用牛肥育用配合飼料3	15-45	3	105.9~110.9	5.5

27.2.3 〔略〕

27.3~27.5 〔略〕

28~32 〔略〕

第3節 多成分分析法

1 ポリエーテル系抗生物質の液体クロマトグラフによる定量試験法

第2節 各条

1~26 〔略〕

27 モネンシンナトリウム

27.1 〔略〕

27.2 定量試験法 (飼料)

27.2.1 〔略〕

27.2.2 平板法 (その2)

(適用範囲: 牛用飼料)

〔中略〕

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

試料の種類	添加濃度 (g/力価)t	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
生用配合飼料1	15-45	3	101.6~108.7	4.5
生用配合飼料2	15-45	3	102.3~110.8	10.4
生用配合飼料3	15-45	3	105.9~110.9	5.5

27.2.3 〔略〕

27.3~27.5 〔略〕

28~32 〔略〕

第3節 多成分分析法

1 ポリエーテル系抗生物質の液体クロマトグラフによる定量試験法

改正後

1.1 [略]

1.2 飼料

[中略]

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

添加成分	試料の種類	添加濃度 (g(力価)/t)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
サリノマイ シンナトリ ウム	幼すう育成用配合飼料	25-75	3	96.7-101.7	4.6
	ブロイラー肥育前期用配合飼料	25-75	3	96.0-98.7	2.1
	ブロイラー肥育後期用配合飼料	25-75	3	97.7-101.3	4.0
	幼令牛育成用配合飼料	7.5-22.5	3	97.0-100.7	4.6
	肉用牛肥育前期用配合飼料	7.5-22.5	3	98.3-103.3	4.6
	肉用牛肥育後期用配合飼料	7.5-22.5	3	97.7-103.0	4.0
センデュ ラマイシ ン	幼すう育成用配合飼料	12.5-37.5	3	95.6-97.8	1.3
	ブロイラー肥育前期用配合飼料	12.5-37.5	3	97.5-98.7	1.9
	ブロイラー肥育後期用配合飼料	12.5-37.5	3	97.7-98.3	1.5
ナラシン	幼すう育成用配合飼料	40-120	3	97.8-102.2	2.7
	ブロイラー肥育前期用配合飼料	40-120	3	99.4-102.5	2.7
	ブロイラー肥育後期用配合飼料	40-120	3	96.3-99.8	1.9
モネンシ ンナトリ ウム	幼すう育成用配合飼料	40-120	3	99.0-100.3	1.0
	ブロイラー肥育前期用配合飼料	40-120	3	99.3-99.7	1.2
	ブロイラー肥育後期用配合飼料	40-120	3	98.7-100.0	1.0
	ほ乳期子牛育成用配合飼料1	15-45	3	94.4-98.2	2.2
	ほ乳期子牛育成用配合飼料2	15-45	3	94.9-97.7	2.3
	ほ乳期子牛育成用配合飼料3	15-45	3	93.3-96.5	2.7
	ほ乳期子牛育成用配合飼料4	15-45	3	94.9-96.9	1.4
	ほ乳期子牛育成用配合飼料5	15-45	3	93.8-96.1	1.9
	幼令牛育成用配合飼料	15-45	3	100.3-102.0	1.2
	肉用牛肥育用(前期)配合飼料	15-45	3	98.0-99.7	1.7
	肉用牛肥育用(後期)配合飼料	15-45	3	100.7-102.0	1.7

[以下略]

2~5 [略]

第10章~第20章 [略]

改正前

1.1 [略]

1.2 飼料

[中略]

(参考) 分析法バリデーション

・添加回収率及び繰返し精度

添加成分	試料の種類	添加濃度 (g(力価)/t)	繰返し	添加回収率 (%)	繰返し精度 RSD (%以下)
サリノマイ シンナトリ ウム	幼すう育成用配合飼料	25-75	3	96.7-101.7	4.6
	ブロイラー肥育前期用配合飼料	25-75	3	96.0-98.7	2.1
	ブロイラー肥育後期用配合飼料	25-75	3	97.7-101.3	4.0
	幼令牛育成用配合飼料	7.5-22.5	3	97.0-100.7	4.6
	肉用牛肥育前期用配合飼料	7.5-22.5	3	98.3-103.3	4.6
	肉用牛肥育後期用配合飼料	7.5-22.5	3	97.7-103.0	4.0
センデュ ラマイシ ン	幼すう育成用配合飼料	12.5-37.5	3	95.6-97.8	1.3
	ブロイラー肥育前期用配合飼料	12.5-37.5	3	97.5-98.7	1.9
	ブロイラー肥育後期用配合飼料	12.5-37.5	3	97.7-98.3	1.5
ナラシン	幼すう育成用配合飼料	40-120	3	97.8-102.2	2.7
	ブロイラー肥育前期用配合飼料	40-120	3	99.4-102.5	2.7
	ブロイラー肥育後期用配合飼料	40-120	3	96.3-99.8	1.9
モネンシ ンナトリ ウム	幼すう育成用配合飼料	40-120	3	99.0-100.3	1.0
	ブロイラー肥育前期用配合飼料	40-120	3	99.3-99.7	1.2
	ブロイラー肥育後期用配合飼料	40-120	3	98.7-100.0	1.0
	幼令牛育成用配合飼料	15-45	3	100.3-102.0	1.2
	肉用牛肥育用(前期)配合飼料	15-45	3	98.0-99.7	1.7
	肉用牛肥育用(後期)配合飼料	15-45	3	100.7-102.0	1.7

[以下略]

2~5 [略]

第10章~第20章 [略]

改正後	改正前
<p>別表1</p> <p>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、<u>医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律</u>（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。</p> <p>また、CAS とあるのは、アメリカ化学会発行の <i>Chemical Abstracts</i> 誌で使用される化合物登録番号を示す。</p> <p>〔中略〕</p> <p>イプロベンホス $C_{13}H_{21}O_3PS$ (CAS : 26087-47-8)</p> <p><u>イマザピック $C_{14}H_{17}N_3O_3$ (CAS : 104098-48-8)</u></p> <p><u>イマザピル $C_{13}H_{15}N_3O_3$ (CAS : 81334-34-1)</u></p> <p>イミダクロプリド $C_9H_{10}ClN_5O_2$ (CAS : 138261-41-3)</p> <p>〔中略〕</p> <p>エオシン Y $C_{20}H_6Br_4Na_2O_5$ (CAS : 17372-87-1)</p> <p><u>エスプロカルブ $C_{15}H_{23}NOS$ (CAS : 85785-20-2)</u></p> <p>エタノール 特級 C_2H_6O (CAS : 64-17-5) 99.5%</p> <p>〔中略〕</p> <p>カドミウム Cd (CAS : 7440-43-9) 青味を帯びた銀白色の柔らかい金属であり、ナイフで容易にけずれる。</p> <p><u>カフェンストロール $C_{16}H_{22}N_4O_3S$ (CAS : 125306-83-4)</u></p> <p>過マンガン酸カリウム 特級 $KMnO_4$ (CAS : 7722-64-7)</p> <p>〔中略〕</p> <p>ジアスターゼ 黄白色の粉末で、吸湿性があり、長期保存ではその活性（アミラーゼ活性）が減少する。</p> <p><u>ジアセトキシシルペノール $C_{19}H_{26}O_7$ (CAS : 2270-40-8)</u></p> <p>シアナジン $C_9H_{13}ClN_6$ (CAS : 21725-46-2)</p>	<p>別表1</p> <p>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、<u>薬事法</u>（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。</p> <p>また、CAS とあるのは、アメリカ化学会発行の <i>Chemical Abstracts</i> 誌で使用される化合物登録番号を示す。</p> <p>〔中略〕</p> <p>イプロベンホス $C_{13}H_{21}O_3PS$ (CAS : 26087-47-8)</p> <p>〔新設〕</p> <p>〔新設〕</p> <p>イミダクロプリド $C_9H_{10}ClN_5O_2$ (CAS : 138261-41-3)</p> <p>〔中略〕</p> <p>エオシン Y $C_{20}H_6Br_4Na_2O_5$ (CAS : 17372-87-1)</p> <p>〔新設〕</p> <p>エタノール 特級 C_2H_6O (CAS : 64-17-5) 99.5%</p> <p>〔中略〕</p> <p>カドミウム Cd (CAS : 7440-43-9) 青味を帯びた銀白色の柔らかい金属であり、ナイフで容易にけずれる。</p> <p>〔新設〕</p> <p>過マンガン酸カリウム 特級 $KMnO_4$ (CAS : 7722-64-7)</p> <p>〔中略〕</p> <p>ジアスターゼ 黄白色の粉末で、吸湿性があり、長期保存ではその活性（アミラーゼ活性）が減少する。</p> <p>〔新設〕</p> <p>シアナジン $C_9H_{13}ClN_6$ (CAS : 21725-46-2)</p>

改正後	改正前
<p>〔中略〕 ジクロルボス $C_4H_7Cl_2O_4P$ (CAS : 62-73-7) 淡黄色液体 多くの有機溶媒に可溶</p>	<p>〔中略〕 ジクロルボス $C_4H_7Cl_2O_4P$ (CAS : 62-73-7) 淡黄色液体 多くの有機溶媒に可溶</p>
<p><u>3,6-ジクロロ-2-ヒドロキシ安息香酸</u> $C_7H_4Cl_2O_3$ (CAS : 3401-80-7) ジクロロメタン 特級 CH_2Cl_2 (CAS : 75-09-2)</p>	<p>〔新設〕 ジクロロメタン 特級 CH_2Cl_2 (CAS : 75-09-2)</p>
<p>〔中略〕 デオキシニバレノール $C_{15}H_{20}O_6$ (CAS : 51481-10-8) 白色粉末 で有毒である。</p>	<p>〔中略〕 デオキシニバレノール $C_{15}H_{20}O_6$ (CAS : 51481-10-8) 白色粉末 で有毒である。</p>
<p><u>デオキシニバレノール-3-グルコシド標準液</u> <u>デオキシニバレノール-3-グルコシド</u> ($C_{21}H_{30}O_{11}$ (CAS : 131180-21-7)) のアセトニトリル溶液</p>	<p>〔新設〕</p>
<p>デキストリン水和物 特級 $(C_6H_{10}O_5)_n \cdot xH_2O$ (CAS : 9004-53-9)</p>	<p>デキストリン水和物 特級 $(C_6H_{10}O_5)_n \cdot xH_2O$ (CAS : 9004-53-9)</p>
<p>〔中略〕 デルタメトリン $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$ (CAS : 52918-63-5) <u>α-R-デルタメトリン</u> <u>$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$ (CAS : 55700-99-7)</u></p>	<p>〔中略〕 デルタメトリン $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$ (CAS : 52918-63-5) 〔新設〕</p>
<p>テルブトリン $C_{10}H_{19}N_5S$ (CAS : 886-50-0)</p>	<p>テルブトリン $C_{10}H_{19}N_5S$ (CAS : 886-50-0)</p>
<p>〔中略〕 ピメトロジン $C_{10}H_{11}N_5O$ (CAS : 123312-89-0)</p>	<p>〔中略〕 ピメトロジン $C_{10}H_{11}N_5O$ (CAS : 123312-89-0)</p>
<p><u>ピラゾキシフェン</u> <u>$C_{20}H_{16}Cl_2N_2O_3$ (CAS : 71561-11-0)</u></p>	<p>〔新設〕</p>
<p><u>ピラゾリネート</u> <u>$C_{19}H_{16}Cl_2N_2O_4S$ (CAS : 58011-68-0)</u></p>	<p>〔新設〕</p>
<p>ピリジン 特級 C_5H_5N (CAS : 110-86-1)</p>	<p>ピリジン 特級 C_5H_5N (CAS : 110-86-1)</p>
<p>〔中略〕 フェンプロパトリン $C_{22}H_{23}NO_3$ (CAS : 39515-41-8)</p>	<p>〔中略〕 フェンプロパトリン $C_{22}H_{23}NO_3$ (CAS : 39515-41-8)</p>
<p><u>フサライド</u> <u>$C_8H_2Cl_4O_2$ (CAS : 27355-22-2)</u></p>	<p>〔新設〕</p>
<p>フザレノン-X $C_{17}H_{22}O_8$ (CAS : 23255-69-8)</p>	<p>フザレノン-X $C_{17}H_{22}O_8$ (CAS : 23255-69-8)</p>
<p>〔中略〕 ブドウ糖 日局 $C_6H_{12}O_6$ (CAS : 50-99-7)</p>	<p>〔中略〕 ブドウ糖 日局 $C_6H_{12}O_6$ (CAS : 50-99-7)</p>
<p><u>ブプロフェジン</u> <u>$C_{16}H_{23}N_3OS$ (CAS : 69327-76-0)</u></p>	<p>〔新設〕</p>

改正後	改正前
<p>フマル酸 C₄H₄O₄ (CAS : 110-17-8) 白色針状あるいは葉状結晶 融点</p> <p>〔中略〕</p> <p>メタノール 特級 CH₄O (CAS : 67-56-1)</p> <p>メタミドホス C₂H₈NO₂PS (CAS : 10265-92-6)</p> <p>メタラキシル C₁₅H₂₁NO₄ (CAS : 57837-19-1)</p> <p>〔略〕</p> <p>別表2 〔略〕</p> <p>別表3</p> <p style="text-align: center;"><u>試験法の妥当性確認法ガイドライン</u></p> <p>1 趣旨</p> <p><u>本ガイドラインは、飼料中に残留する農薬等有害化学物質、飼料が含有する飼料添加物等（以下「農薬等」という。）の定量を目的として試験を実施する場合に、各試験機関が使用する試験法の妥当性を評価するための手順を示すものである^{注1}。</u></p> <p><u>注1 ここに示す手順は、試験法の妥当性を確認する標準的方法の一例であり、国際的に認められた他の手順を使用することもできる。</u></p> <p>2 本ガイドラインの対象</p> <p><u>飼料のサーベイランス^{注2}又はモニタリング^{注2}に使用される機器分析による試験法（飼料分析基準本文に示す試験法及びそれ以外の方法）であって、妥当性が未確認のものを対象とする。</u></p> <p><u>注2 「サーベイランス・モニタリングの計画・実施及び結果の評価・公表に関するガイドライン」（平成19年4月10日付け18消安第13845号農林水産省消費・安全局長通知）の用語の定義による。</u></p> <p>3 用語の定義</p> <p><u>本ガイドラインにおいて、用語の定義は次のとおりとする。</u></p>	<p>フマル酸 C₄H₄O₄ (CAS : 110-17-8) 白色針状あるいは葉状結晶 融点</p> <p>〔中略〕</p> <p>メタノール 特級 CH₄O (CAS : 67-56-1)</p> <p>〔新設〕</p> <p>メタラキシル C₁₅H₂₁NO₄ (CAS : 57837-19-1)</p> <p>〔略〕</p> <p>別表2 〔略〕</p> <p>〔新設〕</p>

改正後

- (1) 「選択性」とは、試料中に存在すると考えられる物質の存在下で、分析対象物を正確に測定する能力をいう。
- (2) 「真度」とは、十分多数の試験結果から得た平均値と承認された標準値との一致の程度をいう。
- (3) 「精度」とは、指定された条件下で繰り返された独立した試験結果間の一致の程度をいう。
- (4) 「併行精度」とは、同一と見なされる試料の測定において、同一の方法を用いて、同一の試験室で、同一の実施者が同一の装置を用いて、短時間のうちに独立した試験結果を得る条件（併行条件）による測定結果の精度をいう。
- (5) 「中間精度」とは、同一と見なされる試料の測定において、同一の方法を用い、同一の試験室で、独立した試験結果を得る条件（中間条件）による測定結果の精度をいう。
- (6) 「室間再現精度」とは、同一と見なされる試料の測定において、同一の方法を用い、異なる試験室で、異なる従事者が異なる装置を用いて独立した試験結果を得る条件（室間再現条件）による測定結果の精度をいう。
- (7) 「定量下限」とは、適切な精確さをもって定量できる分析対象物の最低量又は濃度をいう。飼料分析基準本文に分析法が収載されていない成分を除き、原則として飼料分析基準本文に示された定量下限を用いる。
- (8) 「検出下限」とは、試料に含まれる分析対象物（不検出であることが基準とされる物質を除く。）の検出可能な最低量又は濃度をいう。
- (9) 「枝分かれ実験計画」とは、ある因子の全ての水準が、他の全ての因子の一つの水準だけに現れる実験の計画をいう。
- (10) 「標準物質」とは、一つ以上の特性値が十分に均一で、適切に確定されている物質をいう。

改正前

改正後

改正前

(11) 「認証標準物質」とは、一つ以上の特性値について計量学的に妥当な手順により値付けされ、特性値及びその不確かさ並びに計量学的トレーサビリティを記載した認証書付きの標準物質をいう。

4. 確認の方法

5 に規定する飼料の種類及び濃度ごとに、妥当性を確認する試験法の分析対象である農薬等を添加した試料（標準試料が入手可能であればこれを優先する。以下同じ。）を用いて試験を実施し、測定結果から以下のパラメータを求め、それぞれの目標値等に適合していることを確認する。

(1) 選択性

分析対象である農薬等を含まない試料（ブランク試料）について操作を行い、定量を妨害するピーク（妨害ピーク）がないことを確認する。

妨害ピークを認める場合は、

- i 定量下限が基準値の 1/3 以下の場合、そのピークの面積（又は高さ）が、基準値に相当するピーク面積（又は高さ）の 1/10 未満（ただし、定量下限濃度に相当するピーク面積（又は高さ）を超えないこと。）
- ii 定量下限が基準値の 1/3 を超える場合又は基準値が定められていない場合は、定量下限濃度に相当するピークの面積（又は高さ）の 1/3 未満

であることを確認する（表 1 参照）。

表 1 定量下限及び基準値の比と妨害ピークの許容範囲

<u>定量下限と基準値の関係</u>	<u>妨害ピークの許容範囲</u>
<u>定量下限 ≤ 基準値の 1/3</u>	<u>< 基準値ピークの 1/10</u>
<u>定量下限 > 基準値の 1/3</u>	<u>< 定量下限ピークの 1/3</u>

改正後

改正前

(2) 真度

以下のいずれかにより真度を確認する。

- i 認証標準物質が利用できる成分及び認証標準物質は利用できないが標準物質が利用できる成分においては、その認証標準物質又は標準物質を試験法に従って繰り返し定量し、測定値の平均値と認証値との差の絶対値が、測定の結果と認証値の合成不確かさの2倍を超えないこと。
- ii 標準物質が利用できず、かつ、妥当性の確認された分析法（以下「標準分析法」という。）が別にある成分においては、同一濃度の分析対象である農薬等を添加した試料（以下「添加試料」という。）2以上の n 個を試験法 (A) 及び標準分析法 (B) に従って3以上の p 回の中間条件で定量し、各測定値の平均値の差の絶対値が、下式により算出される s の2倍を超えないこと。

$$s = \sqrt{s_A^2 + s_B^2}$$

$$s_A^2 = \frac{s_{R_A}^2 - (1-1/n)s_{r_A}^2}{p}$$

$$s_B^2 = \frac{s_{R_B}^2 - (1-1/n)s_{r_B}^2}{p}$$

s_{r_A} : 試験法の併行標準偏差の推定値

s_{r_B} : 標準分析法の併行標準偏差の推定値

s_{R_A} : 試験法の中間標準偏差の推定値

s_{R_B} : 標準分析法の中間標準偏差の推定値

- iii 標準物質が利用できず、かつ、標準分析法のない成分においては、添加試料5個以上を試験法に従って定量し、得られた定量値の平均値の添加濃度に対する比を求め、これを真度とす

改正後

改正前

る。

真度の目標値^{注3}は、70 %以上 120 %以下（ただし、抗菌性飼料添加物の表示量に対する試験にあつては 90 %以上 110 %以下）とする。

注 3 サロゲート（真度の変動の補正を目的として、分析試料に添加する安定同位体標識標準品）を使用した場合には、サロゲートの回収率が 40 %以上であることを合わせて確認する。ただし、サロゲート添加前の分析操作の回収率が分析値に影響を及ぼす可能性に留意すること。

(3) 精度

添加試料の分析を 5 回以上繰り返し、定量値の標準偏差及び相対標準偏差を求め、併行精度を評価する。併行精度の目標値は下式から求める。

また、共同試験により室間再現精度を評価する。共同試験が実施できない場合は、複数の分析者又は分析日による中間精度を評価する。

i 共同試験を実施する場合

有効データを得る試験室は 8 以上とし、5 種類以上の試料について、非明示の 2 点併行により分析を行う。

上記の条件が困難な場合は、試験室／試料／濃度の組合せとして 16 以上×2 点併行の有効データを得ることとする。

室間再現精度の目標値は下式から求める。

ii 単一試験室内での中間精度により評価する場合

試行の回数は、併行点数 2 以上、かつ、分析者及び分析日の自由度が 4 以上となるようにする。この場合、中間精度評価のための枝分かれ実験により、併行精度と中間精度を同時に評価することが可能である。また、内部精度管理データを用いて評価することも可能である。

改正後

改正前

中間精度の目標値は下式から求める。

併行精度、室間再現精度及び中間精度の目標値

$$\text{併行精度 (RSD}_r\text{, \%)} \leq \text{PRSD}_R(C)$$

$$\text{中間精度 (RSD}_I\text{, \%)} \leq \frac{5}{4} \text{PRSD}_R(C)$$

$$\text{室間再現精度 (RSD}_R\text{, \%)} \leq 2 \text{PRSD}_R(C)$$

$$\left(\begin{array}{l} C : \text{分析対象物質の質量分率} \\ \text{PRSD}_R(C) = \begin{cases} C^{-0.5} & C > 0.138 \\ 2C^{-0.1505} & 1.2 \times 10^{-7} \leq C \leq 0.138 \\ 22 & C < 1.2 \times 10^{-7} \end{cases} \end{array} \right)$$

(4) 定量下限及び検出下限（不検出であることが基準とされる物質を除く。）

① 添加回収試験を実施し、以下の条件に該当する濃度を定量下限とする。

- i 定量下限付近濃度を添加したブランク試料を繰返し分析したときの分析値の標準偏差の10倍
- ii クロマトグラフィーによる分析では、定量下限濃度に対応する濃度から得られるピークが、 $S/N \geq 10$ となる濃度

② 同様に以下の条件に該当する濃度を検出下限とする。

- i 定量下限付近の濃度を添加したブランク試料を n 回分析したときの分析値の標準偏差に Student の t -値（片側、有意水準 0.05、自由度 $n-1$ ）を乗じた値の2倍
- ii クロマトグラフィーによる分析では、得られるピークが、 $S/N \geq 3$ となる濃度

基準値の定められた分析対象物質に係る定量下限及び検出下限の目標値は表2のとおりである。

改正後

改正前

表2 基準値に対する定量下限及び検出下限の目標値

基準値	定量下限の目標値	検出下限の目標値
0.1 mg/kg以上	基準値の1/5以下	基準値の1/10以下
0.1 mg/kg未満	基準値の2/5以下	基準値の1/5以下

5 添加を行う飼料の種類及び添加濃度

(1) 添加を行う飼料の種類

添加を行う飼料は、原則として試験法を適用しようとする飼料から選択する。全ての単体飼料について評価すること及び複数の原料の混合物である配合飼料について、あらゆるマトリックスを対象として評価することは不可能であるので、代表的な単体飼料及び配合飼料を選択して評価する。代表的な飼料としては、成分としての特性の違いを考慮して、それぞれの目的に応じて、原則として、下記に示すものを選択する。

① 単体飼料

I 穀類

- ・とうもろこし、マイロ
- ・麦類
- ・米
- ・大豆

等

II 粗飼料

- ・わら
- ・乾草
- ・サイレージ

等

III 植物性副産物

- ・そうこう類（ふすま、DDGS、米ぬか油かす等）

改正後	改正前
<p>・<u>植物性油かす類（大豆油かす、なたね油かす、コーングルテンミール等）</u> 等</p> <p>IV <u>動物質性飼料</u></p> <p>・<u>魚粉</u></p> <p>・<u>家きん、ほ乳動物由来たん白質（チキンミール、肉骨粉等）</u></p> <p>・<u>乳製品（脱脂粉乳等）</u> 等</p> <p>② <u>配合飼料</u></p> <p>・<u>鶏用又は豚用配合飼料</u></p> <p>・<u>牛用配合飼料（粗飼料を多く含むもの）</u></p> <p>・<u>ほ乳期子牛又は子豚用配合飼料（脱脂粉乳等を比較的多く含むもの）</u></p> <p>・<u>養殖水産動物用配合飼料</u> 等</p> <p>(2) <u>添加濃度に関する留意事項（表3参照）</u></p> <p>i <u>農薬等の添加濃度は原則として2種類の濃度とし、一方を「基準値又は基準値の1/2の濃度」とし、他方を「定量下限濃度（又はその2倍）」とする。基準値と定量下限が等しい場合には、添加濃度は「定量下限濃度」の1種類の濃度とする。</u> ただし、多成分分析法において、各農薬等の基準値が異なるために基準値濃度の添加が困難な場合にあつては、「各農薬等の基準値に近い一定の濃度」としてもよい。</p> <p>ii <u>2種類の濃度における評価が困難な場合は、「基準値又は基準値の1/2の濃度」による評価を優先して実施する。</u></p>	
<p>表3 <u>定量下限及び基準値の関係と添加濃度</u></p>	

改正後	改正前						
<table border="1"> <tr> <td data-bbox="280 263 571 295">定量下限と基準値の関係</td> <td data-bbox="772 263 1064 295">添加濃度</td> </tr> <tr> <td data-bbox="324 319 526 351">定量下限<基準値</td> <td data-bbox="616 295 1019 359">「基準値又は基準値の1/2の濃度」及び 「定量下限濃度（又はその2倍）」</td> </tr> <tr> <td data-bbox="324 375 526 406">定量下限=基準値</td> <td data-bbox="772 375 1064 406">定量下限</td> </tr> </table>	定量下限と基準値の関係	添加濃度	定量下限<基準値	「基準値又は基準値の1/2の濃度」及び 「定量下限濃度（又はその2倍）」	定量下限=基準値	定量下限	
定量下限と基準値の関係	添加濃度						
定量下限<基準値	「基準値又は基準値の1/2の濃度」及び 「定量下限濃度（又はその2倍）」						
定量下限=基準値	定量下限						
<p>(3) <u>添加試料の作製等に当たっての留意事項</u></p> <p>i <u>添加試料の作製に当たっては変敗のない試料を使用し、均質化して量り取った後に農薬等を添加する。添加する農薬等の標準溶液の量はできるだけ少量にとどめ 1~2 mL 程度とする。溶媒は試料と混合する又は容易に揮散する溶媒を用いる^{注4}。農薬等の添加後よく混合し、一夜静置して溶媒を揮散させた後に抽出操作を行う。ただし、化学的に不安定な農薬等にあつてはこの限りでない。</u></p> <p>ii <u>冷凍保存が必要な試料について枝分かれ実験等、数日間にわたり試験を行う場合にあっては、凍結及び融解を繰り返すことを避けるため、均質化した試料を小分けして保存し、試験を実施する日ごとに添加試料を作製すること。</u></p> <p>注4 <u>抽出溶媒と混和しない溶媒は用いないこと。</u></p>	<p>別表3 [略]</p>						
別表4 [略]							