

令和5年度 木材製品の消費拡大対策及び国内森林資源活用・
建築用木材供給力強化対策事業のうち
CLT建築実証支援事業のうち
CLT等木質建築部材技術開発・普及事業

木材の保存処理性能の試験方法の JAS 化のための妥当性検証事業

事業報告書

2025年（令和7年）2月

公益社団法人 日本木材保存協会

目 次

はじめに	1
第1章 事業内容	2
1.1 事業の背景	2
1.2 事業の目的と実施内容	3
1.3 事業の実施体制	5
1.4 委員会の開催	6
第2章 試験（吸収量の測定）方法に関する手順書の作成	7
2.1 手順書の作成	7
2.2 処理木材・木質材料中のシプロコナゾールの吸収量測定の手順書	7
2.2.1 適用範囲	7
2.2.2 測定方法の概要	7
2.2.3 注意事項	7
2.2.4 器具及び装置	7
2.2.5 試薬	9
2.2.6 試薬の調製	10
2.2.7 HPLC 用標準溶液の調製	11
2.2.8 測定	14
2.2.9 高速液体クロマトグラフ（HPLC）による測定	16
2.2.10 計算	17
2.3 処理木材・木質材料中のテブコナゾールの吸収量測定の手順書	19
2.3.1 適用範囲	19
2.3.2 測定方法の概要	19
2.3.3 注意事項	19
2.3.4 器具及び装置	19
2.3.5 試薬	21
2.3.6 試薬の調製	21

2.3.7	HPLC 用標準溶液の調製.....	22
2.3.8	測定	25
2.3.9	高速液体クロマトグラフ (HPLC) による測定	27
2.3.10	計算	29
2.4	処理木材・木質材料中のイミダクロプリドの吸収量測定の手順書	30
2.4.1	適用範囲	30
2.4.2	測定方法の概要	30
2.4.3	注意事項	30
2.4.4	器具及び装置	30
2.4.5	試薬	32
2.4.6	移動相等の調製	32
2.4.7	HPLC 用標準溶液の調製.....	33
2.4.8	測定	36
2.4.9	高速液体クロマトグラフ (HPLC) による測定	37
2.4.10	計算	40
第3章	配布用試料の調製と均質性の評価	41
3.1	配布用試料の調製	41
3.2	配布用試料の均質性の確認	42
3.2.1	均質性の評価方法	42
3.2.2	シプロコナゾールおよびテブコナゾールの配布用試料の均質性の評価結果	42
第4章	室間共同試験	46
4.1	実施方法	46
4.2	統計量と精度指標の算出	46
4.3	室間共同試験の結果	47
4.3.1	CYP の室間共同試験の結果.....	47
4.3.2	TEB の室間共同試験の結果.....	48
第5章	まとめ	54
	参考文献	55

はじめに

「木材保存剤の吸収量の測定方法」については、現在、林産物の JAS の中で、「製材」、「枠組壁工法構造用製材」、「合板」、「集成材」、「LVL」等の品目に個別に記載されているが、このような品目毎にその測定方法が規定されている状況で各品目の規格の改正に合わせて測定方法の改正を行うと、対象とする材料の品目間で測定方法の整合性が取れなくなるという不都合が生じている。また、新たに導入された測定方法については従来から行われていた分析試験方法の後に追記される形となるので、改正後も従来の測定方法が使える状況になっている。さらに、木材保存剤は多様化しており、また対象となる樹種も多様化しているため、従来の測定方法では、正確な分析が困難な場合も指摘されている。このような多くの不都合から、木材保存剤の吸収量の測定方法を独立して JAS 化する必要性が生まれている。

農林水産省は、平成 29 年 6 月 23 日に交付された JAS 法の改正において、それまではモノ（農林水産物・食品）の品質のみを対象にしていた JAS 規格から、強みのアピールにつながる多様な JAS 規格の戦略的な制定・活用を図るため、モノの生産方法、試験方法、事業者の取扱い方法など、「モノ」から「方法」、それを満たす「事業者」までを広く対象とすることとした。それにより、「木材保存剤の分析試験方法」についても統一的な規格化が可能となった。一方、試験方法の規格化に当たっては、国際的（IUPAC など）なガイドラインに従った試験方法の妥当性の検証が求められる等、これまでにはない新たな条件が求められるようにもなった。（公社）日本木材保存協会では、平成 29 年度から 31 年度にわたり農林水産省の新たな種類の JAS 規格調査委託事業を通じて、「木材保存剤の吸収量の測定方法」の JAS 化に向けて海外調査を含めて試験方法の妥当性の検証を共同試験のための準備を行った。その後、コロナ禍等の影響を受けたこともあり、この作業は中断されていたが、令和 4 年度から、林野庁の CLT 等木質建築部材技術開発・普及事業の委託を受けて、新たに「木材保存剤の吸収量の測定方法」の JAS 化に向けた対応を進めている。

JAS 化の対象となっている 4 つの木材保存剤有効成分のグループのうち、令和 5 年度事業では、トリアゾール/ネオニコチノイド系化合物を有効成分とする第 2 グループについて試験方法の JAS 化において必要な室間共同試験を AWPA（米国木材保存協会）による ASTM E691 による検証方法に基づき実施し、新たな測定方法の妥当性を検証した。また、令和 4 年度事業で妥当性検証が確認された第四級アンモニウム化合物を有効成分とする第 1 グループの結果と併せて、現在、「木材保存剤の吸収量の測定方法」の JAS 原案作成に向けて作業を進めており、今後、さらに他のグループについても妥当性検証を実施することで 2 年後を目途に木材保存剤の吸収量の測定方法の JAS 化に向けて活動を推進する所存である。さらに、本事業の実施にあたって、ご尽力、ご協力をいただいた各委員をはじめ、貴重なアドバイスを頂いた関係各位に心から御礼申し上げます。

令和 7 年 2 月 28 日
事業委員長 東京大学名誉教授 鮫島正浩

第1章 事業内容

1.1 事業の背景

各種木質材料の JAS では、保存処理された木材・木質材料の保存処理性能（品質基準）基準として、性能区分に応じた浸潤度と吸収量が規定されている。そのため、保存処理性能の試験方法は、浸潤度または吸収量の試験（測定）方法を指す。浸潤度の測定方法は、使用される薬剤の有効成分または浸潤度測定用に添加された物質を色素により発色させ、その面積を測定するものであり、比較的単純で実施しやすい方法である。

一方、吸収量の測定は、木材保存剤の有効成分に有機物や無機物を含む多様な化合物が用いられているため、試料調製の方法や使用する分析機器も多様で複雑である。また、有効成分によっては木材・木質材料に由来する成分が機器分析に影響するため、これを回避する試料精製方法を含めると、吸収量の測定方法はさらに複雑になる。このように多様で複雑な測定方法に関する記載内容が、現在の JAS の中でかなりのボリュームを占めており、規格書としてアンバランスで使い難いものとなっている。また、現在の JAS では、各種材料の JAS それぞれに吸収量の試験方法が記載されているため、新たな測定方法が確立されたとしても、それぞれの JAS で改正を行う必要があり、すべての JAS に迅速に反映させることが困難な状況にある。

平成 29 年の JAS 法改正により、試験方法の JAS 化が可能となった。そこで、当協会では、上記の JAS の問題点を解決することを主目的とし、木材の保存処理性能の試験方法の JAS 化に向けた取り組みを行ってきた^{1,2)}。この JAS 化については、農林水産省のホームページで「JAS の制定等に関する手続の進捗状況」として公開されている（農林水産省ホームページにて公開、https://www.maff.go.jp/j/jas/attach/pdf/jas_consul-12.pdf、最終アクセス日 2025 年 2 月 27 日）。これまで試験方法の JAS として、食品分野について 9 つの規格が制定されている。これらの JAS 化に際しては、試験方法の精度に関する情報（精度指標）を明らかにするため、国際的なガイドラインに従った、複数機関参加による室間共同試験による妥当性の検証が行われている。

妥当性の検証とは、すなわち、その試験（測定）方法による結果のばらつき（精度）に関する情報（精度指標）を明らかにし、その妥当性を評価することである。試験方法の JAS には、その試験方法について行われた室間共同試験の概要と、得られた精度指標が記載されている。そのため、木材の保存処理性能の試験方法を JAS 化する場合についても、国際的なガイドラインに従った室間共同試験により精度指標を取得し、その妥当性を検証することが求められている。

これまでに、試験方法の JAS として規格化された食品分野の 9 つの試験方法については、IUPAC（国際純正・応用化学連合）のガイドライン³⁾に準拠した室間共同試験により妥当性が検証されている^{4,5)}。しかし、我が国の木材保存分野では、国際的なガイドラインに従った妥当性の検証の実績がなく、また、IUPAC のガイドラインで必要とされる試験室数（最低 8 機関以上、通常は 10～12 程度の試験室数で実施されている）が確保できない状況にあ

った。そこで、当協会では、木材保存分野の室間共同試験の事例について国内外の調査を行い、AWPA（米国木材保存協会）では ASTM E691⁶⁾ に準拠した室間共同試験が行われていることを確認した²⁾。ASTM E691 で求められる参加試験室数は IUPA のガイドラインよりも少なく、木材保存分野でも実施可能であると考え、予備試験等を通じ、ASTM E691 に準拠した室間共同試験の実施体制を構築した。本事業では、この実施体制をベースとした室間共同試験を実施し、木材保存剤の吸収量の測定方法の妥当性を検証する。さらに、妥当性が確認された測定方法について JAS 原案を作製し、吸収量の測定方法の JAS 化を推進する

1.2 事業の目的と実施内容

本事業の目的のひとつは、木材保存剤の測定方法について室間共同試験を実施し、得られる精度指標をもとにその妥当性を検証することである。室間共同試験では、ある分析者がある試験室で対象とする測定方法を用いた場合、得られる測定値にどれだけのばらつきが生じるかを評価すること、すなわち測定方法の精度を評価することである。

室間共同試験により得られる測定値は、図 1.1 のような変量モデル式に基づいて解析される。 μ （真値）は室間共同試験で得られた測定値の総平均により、試験室内におけるばらつきを表す室内標準偏差 σ_r と試験室間のばらつきを表す室間の標準偏差 σ_L の推定値である S_r と S_L は、各試験室の測定結果をもとに算出される⁷⁾。これらの値から、ある分析者がある 1 試験室で 1 回の測定を行った時の測定値のばらつきにあたる室間再現標準偏差 S_R が算出される。実際の室間共同試験では、対象となる測定方法の手順書と測定に使う試料である配布用試料を参加試験室に配布され、集約された参加試験室の測定の結果の解析により（図 1.2）、 S_r 、 S_L 、 S_R が算出される。

本事業では、現在、JAS の対象となっている木材保存剤の有効成分を 4 つのグループに分け（表 1.1）、毎年度 1 グループの有効成分の吸収量の測定方法について ASTM E691 に準拠した室間共同試験により妥当性を検証し、検証が完了した測定方法については JAS 原案の作成に着手することを目指した。令和 4 年度事業では、グループ 1 に属する有効成分であるジデシルジメチルアンモニウムクロリド（DDAC）、N-アルキルベンジルジメチルアンモニウムクロリド（BKC）および N,N-ジデシル-N-メチル-ポリオキシエチル-アンモニウムプロピオネート（DMPAP）の吸収量の測定方法の妥当性を検証した。その結果、これらの有効成分が用いられる濃度範囲において、妥当であることを確認した。令和 5 年度事業ではグループ 2 に属するシプロコナゾール（CYP）、テブコナゾール（TEB）およびイミダクロプリド（IMD）の吸収量の測定方法の妥当性を検証するため、下記の項目を実施した。また、本事業の実施内容の確認、進捗状況の確認、成果のとりまとめを目的とした委員会を開催した。

項目 1：対象とする測定方法に関する手順書の作製（第 2 章）

項目 2：室間共同試験に用いる配布用試料の調製（第 3 章）

項目 3：室間共同試験の実施（第 4 章）

項目 4：室間共同試験の結果の解析による精度指標の整理と妥当性の評価（第 4 章）

x_{ij} （測定値）＝ μ (真値)＋(試験室間のばらつき)＋(試験室内のばらつき)

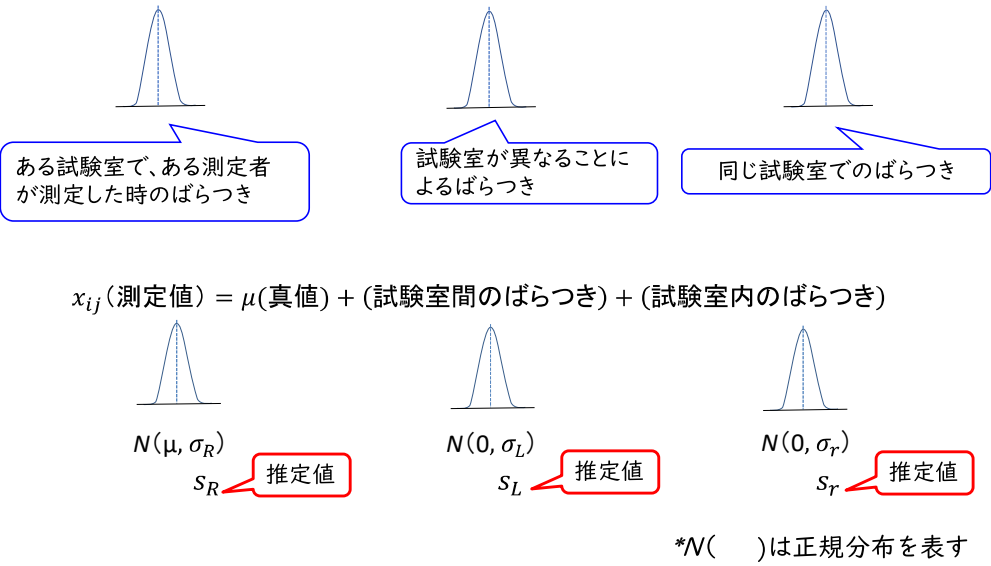


図 1.1 室内共同試験により得られる測定値のモデル

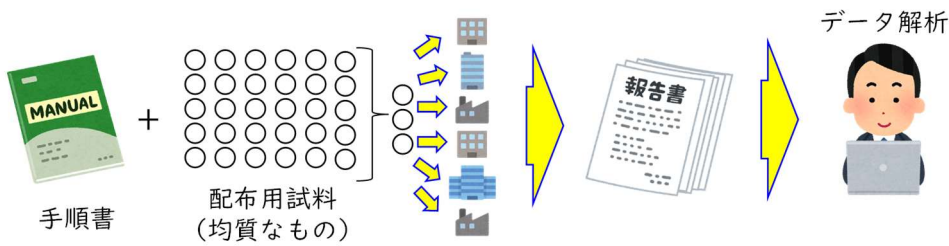


図 1.2 室間共同試験の概要

表 1.1 対象とする有効成分のグループ分け

グループ	有効成分の種類	有効成分
1	第四級アンモニウム化合物	ジデシルジメチルアンモニウムクロリド(DDAC)
		N-アルキルベンジルジメチルアンモニウムクロリド(BKC)
		N,N-ジデシル-N-メチル-ポリオキシエチル-アンモニウムプロピオネート(DMPAP)
2	トリアゾール/ ネオニコチノイド化合物	シプロコナゾール
		テブコナゾール
		イミダクロプリド
3	ピレスロイド化合物	シラフルオフェン
		ペルメトリン
4	銅/亜鉛/ほう素化合物	銅
		亜鉛
		ほう素

1.3 事業の実施体制

本事業は公益社団法人日本木材保存協会に事務局を置く，下記の構成員による委員会を組織し，下図に示した協力体制により実施した。

	氏 名	所 属 等
委員長	鮫島 正浩	東京大学名誉教授，(公社)日本木材保存協会参事
委員(主査)	宮内 輝久	(地独)北海道立総合研究機構 林産試験場
委員	藤井 義久	京都大学名誉教授，(公社)日本木材保存協会会長
委員	祇園 紘一郎	(一社)全国木材検査・研究協会
委員	南田 英樹	(一社)北海道林産物検査会
委員	小関 真琴	元(公財)日本合板検査会
委員	関澤 外喜夫	日本木材防腐工業組合
委員	佐野 敦子	(公財)日本住宅・木材技術センター
委員	伊藤 義直	(独)農林水産消費安全技術センター 試験規格調査課
委員	神原 広平	(国研)森林整備・研究機構 森林総合研究所
委員	山本 幸一	(国研)森林整備・研究機構 森林総合研究所
委員	五十嵐 盟	兼松サステック株式会社
委員	池田 学	株式会社ザイエンス
委員	久保 友治	株式会社コシイプレザービング
委員	西澤 翔太	大日本木材防腐株式会社
委員	森田 珠生	越井木材工業株式会社
オブザーバー	佐藤 秀憲	農林水産省新事業・食品産業部食品製造課 (独)農林水産消費安全技術センター
オブザーバー	今村 正輝	規格調査部規格調査課
オブザーバー	松永 浩史	(国研)森林整備・研究機構 森林総合研究所
オブザーバー	青木 謙治	東京大学大学院 農学生命科学研究科 教授
オブザーバー	高木 望	林野庁林政部木材産業課木材製品技術室
オブザーバー	立花 紀之	林野庁林政部木材産業課木材製品技術室
事務局	片桐 芳男	(公社)日本木材保存協会
	小林 理恵	

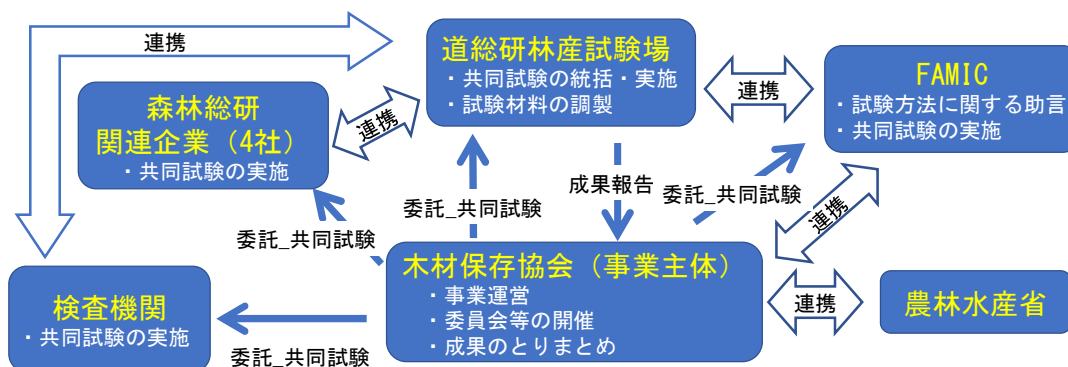


図 1.3 実施体制

1.4 委員会の開催

1) 2024 年 5 月 10 日 14:00～16:00 対面およびオンラインにて開催

事業目的の確認、実施内容および実施時期の概要を決定した。

2) 業の進捗状況の確認のため、e-mail による情報の共有・意見交換を適宜実施した。

3) 2025 年 1 月 31 日 14:00～16:00 オンラインにて開催

事業のとりまとめの委員会として下記の内容を実施した。

- ・ 室間共同試験の実施状況および結果の確認。
- ・ 今年度対象とした測定方法の精度指標などを基にした妥当性の評価。
- ・ 得られた成果の活用状況（製材の JAS 改正時の基礎資料として活用された）の確認。
- ・ 今後の事業の展開方法や課題の整理。

第2章 試験（吸収量の測定）方法に関する手順書の作成

2.1 手順書の作成

現行の製材の JAS 等で規定されている CYP, TEB, IMD の測定方法では、まず、所定の位置から切り出した試験片を粉砕し、溶媒抽出により測定対象成分を抽出する。抽出されたこれらの有効成分は高速液体クロマトグラフにより定量分析される。また、溶媒抽出時に抽出される木材・木質材料由来の成分が HPLC 分析に影響する場合があることから、これらの成分を除去する試料精製法も記載されている。トリアゾール化合物である CYP と TEB の溶媒抽出の方法、試料精製法および HPLC の分析条件は同じであるが、ネオニコチノイド化合物である IMD はこれらとは異なる。本事業では、JAS で規定されている方法など^{8, 9)}を基に吸収量の測定方法を整理し、CYP, TEB および IMD の吸収量の測定方法の手順書を作成した。

2.2 処理木材・木質材料中のシプロコナゾールの吸収量測定の手順書

2.2.1 適用範囲

この手順書は、木材・木質材料に加圧注入された木材保存剤の有効成分のうちシプロコナゾールに適用する。

2.2.2 測定方法の概要

粉砕した試料にメタノールを加えて超音波を用いた抽出を行い、得られた抽出液を固相抽出により精製する。精製後の抽出物を紫外可視吸光度検出器付の高速液体クロマトグラフ（以下、「HPLC」という。）を用いて分析し、シプロコナゾールの含有量を測定する。

2.2.3 注意事項

- (a) 試薬を取り扱う際には、適切な個人用保護具（保護手袋、保護メガネ、有機ガス用マスク、保護面等）を着用し、操作はよく換気された場所で行う。
- (b) メタノール、アセトニトリルは、引火性が高いため、火気に注意する。
- (c) メタノール、アセトニトリル、アンモニア水は環境有害性があるため、屋外に放出しない。
- (d) メタノール、アセトニトリル、アンモニア水が皮膚に付着した場合は、直ちに多量の水で洗い流す。
- (e) 測定により生じる廃液は、法令の規定に基づき適切に処分する。

2.2.4 器具及び装置

- (a) 全量ピペット：JIS R 3505 に規定するクラス A のもの又はそれと同等以上の精度を持つもので、呼び容量 1 mL, 2 mL, 3 mL, 20 mL のもの。上端にピペッターを取り付けて使用する。

- (b) パスツールピペット：長さが 7 cm～15 cm 程度のもの。
- (c) ピペット吸引器具：(a) の全量ピペット，(b) パスツールピペットに接続して使用するもの。
- (d) ピストン式ディスペンサ：JIS K 0972 に規定されるもので，20mL の分注に対応できるもの。
- (e) マイクロひょう量皿：10 mg 程度のシプロコナゾール標準品を受ける容量を持ち，200 mL の全量フラスコに口を接続することが可能なもの。
- (f) 全量フラスコ：JIS R 3505 に規定するクラス B のもの又はそれと同等以上の精度をもつもので，呼び容量 20 mL，50 mL，100 mL，500 mL，1000 mL のもの。
- (g) メスシリンダー：呼び容量 50 mL，100 mL，500 mL 及び 1000 mL のもので JIS R 3505 に規定するクラス A 又は同等以上のもの。
- (h) ピストン式ピペット：JIS K 0970 又は ISO 8655-2(最新版)に規定される性能を満たすもので可変容量が 50 μ L-100 μ L を含むもの，100 μ L-1000 μ L を含むもの及び 0.5 mL-5 mL を含むもの。
- (i) ピペットチップ：(h) のピストン式ピペットに対応し，メタノール，アセトニトリル，アンモニア水に耐性があるもの。
- (j) ねじロサンプル瓶：抽出操作に用いるもので容量 30 mL 程度のもので，ガラス製で超音波抽出時の圧力に耐性があるもの。キャップはメタノールに耐性があるもの。
超音波抽出後のろ液を保管に用いるもので，容量 20 mL 程度のガラス製で，キャップはメタノールに耐性があるもの。
- (k) 試験管：ガラス製又はメタノールに耐性のある樹脂製で，容量 5 mL～10 mL 程度のもの。
- (l) 固相抽出カートリッジ：強陽イオン交換基としてスルホン基が導入されたジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体あるいはそれと同等の保持能力を持つ物を担体とするものであること。また，担体の充填量は 1.0 meq/g が 60 mg 以上充填されている場合に相当する量であること（例えば Oasis MCX 60 mg/3 mL カートリッジ）。
- (m) カートリッジ式メンブレンフィルター：フィルター材質が親水性 PTFE で，孔径が 0.45 μ m 以下 でディスポーザブルシリンジ (n) に装着可能なもの（例：ADVANTEC 製 DISMIC25-HP，13HP045AN，GL サイエンス社製 GL クロマトディスク 13P）。
- (n) ディスポーザブルシリンジ：ポリプロピレン又はメタノールに耐性のある樹脂製で，カートリッジ式メンブレンフィルターが装着可能で容量 2.5～5mL 又は 30 mL 程度のもの。
- (o) HPLC 用バイアル：使用する HPLC に適合したもので，透明又は褐色ガラス製で容量が 2 mL 以下のもの。また，シプロコナゾールが吸着されないこと。蓋は PTFE 製又は PTFE でコーティングされた（移動相に耐性のある）セプタム付きで，上記バイアル

に対応するもの。必要があれば、プレスリットの入ったセプタム付のもの。

- (p) 電子天びん：0.1 mg の桁の精度で量る機能をもつもの。
- (q) ひょう量管：共栓のできるガラス製のもの。
- (r) 恒温器：木材試料を $103 \pm 2^\circ\text{C}$ で乾燥できるもの。
- (s) 超音波洗浄機：抽出に用いる (j) のねじ口サンプル瓶が、複数本入る大きさのもの。
- (t) 温度計： 40°C が測定可能範囲に含まれるもの。又は、超音波洗浄機に内蔵のもの。
- (u) タイマー：抽出時間（のべ 3 時間）を計測することができるもの。又は、超音波洗浄機に内蔵のもの（照射時間を設定できるもの）。
- (v) 濃縮器： 40°C に設定可能な恒温水層を含むロータリーエバポレーター、試料室内を 40°C に設定可能な遠心エバポレーターまたは窒素吹付式のもので、アンモニア水を含むメタノール溶液を濃縮乾固できるもの。
- (w) 試験管ミキサー：振動により試験管内の溶液を十分攪拌できるもの（同等の機能を有するものでも可）。
- (x) 高速液体クロマトグラフ（HPLC）：JIS K 0124 に規定するもので、送液ポンプ、オンライン脱気装置、カラムオープン、UV 検出器（若しくは PDA 検出器）、データ処理システムを備えたもの。
- (y) HPLC 用カラム：ODS 系逆相カラム（内径 3.0 mm×長さ 150 mm、粒子径 $3\ \mu\text{m}$ など）で、シプロコナゾールと試料由来のマトリクス成分が十分に分離される性能を有していること（例えば、GL サイエンス社製 Inertsil ODS-3）ガードカラムを使用する場合はこれに対応するもの。
- (z) 移動相ろ過用フィルター及び器具：移動相に耐性のある孔径 $0.45\ \mu\text{m}$ 以下のメンブレンフィルターおよびこれを装着するガラス製ファンネル。
- (aa) 全自動固相抽出装置：分注工程における性能が JIS K 0970 又は ISO 8655-2(最新版) に規定される性能と同等であること。

2.2.5 試薬

- (a) 水：イオン交換法によって精製した水又は逆浸透膜法、蒸留法、イオン交換法などを組み合わせた方法によって精製したもので、JIS K 0557 に規定する A3 以上の品質を有するもの。
- (b) りん酸：JIS K 9005 に規定する濃度 85 %で、特級又は同等以上の品質のもの。
- (c) りん酸二水素ナトリウム二水和物：JIS K 9009 に規定する純度 99 %以上のもの。
- (d) アンモニア水：JIS K 8085 に規定する純度 25～28 %の範囲で、特級又は同等以上の品質のもの。
- (e) 1N アンモニア水：(d) に対応するアンモニア水を希釈し 1 mol/L に調製したもの、又は、容量分析用滴定液として 1 mol/L に調製されたアンモニア水。
- (f) メタノール：HPLC 用のもの。

- (g) アセトニトリル：HPLC 用のもの。
- (h) シプロコナゾール：残留農薬試験用の異性体混合物でシプロコナゾール純度 95 %以上（HPLC）のもので、できるだけ純度の高いもの。
- (i) テブコナゾール：残留農薬試験用で純度 95 %以上（HPLC）のもので、できるだけ純度の高いもの。

2.2.6 試薬の調製

2.2.6.1 メタノール-アンモニア混液 A

- (a) 2.2.4(g)の 100 mL のメスシリンダーに 2.2.5(e)の 1 N アンモニア水を 80mL 量り取り，適当な容量の密栓可能な容器に移す。
- (b) 2.2.4(g)の 50mL メスシリンダーにメタノール 20mL を量り取り，(a)の密栓可能な容器に移す。
- (c) (b) の容器に栓をして，転倒混和等により均一な溶液にする。

2.2.6.2 メタノール-アンモニア混液 B

- (a) 2.2.4(g)の 100 mL のメスシリンダーにメタノールを 100 mL 量り取り，適当な容量の密栓可能な容器に移す。
- (b) 2.2.4(h)のピストン式ピペットで 2.2.5(d)のアンモニア水を 1 mL 量り取り，(a)の密栓可能な容器に移す。
- (c) (b) の密栓可能な容器に栓をして，転倒混和等により均一な溶液にする。

2.2.6.3 移動相

- (a) 2.2.5(c)のりん酸二水素ナトリウム二水和物 7.8 g を 2.2.4. (f)の 1000 mL の全量フラスコに移す。
- (b) 2.2.5(b)のりん酸 3.4 mL を 2.2.4. (h)のピストン式ピペットを用いて，(a) の全量フラスコに移す。
- (c) (b) の全量フラスコに水を加え定容した後，よく振り混ぜてりん酸二水素ナトリウム二水和物を溶解する。
- (d) 2.2.4(g)の 1000 mL のメスシリンダーに 2.2.5(g)のアセトニトリルを 600 mL 量り取り，1000 mL の密栓可能な容器に移す。
- (e) 2.2.4(g)の 500 mL のメスシリンダーに 2.2.5(a)の水を 300 mL 量り取り，(d) の密栓可能な容器に移す。
- (f) 2.2.4(g)の 100 mL のメスシリンダーに，(c)で調製した溶液を 100 mL 量り取り，(e)の密栓可能な容器に移す。
- (g) (f) の密栓可能な容器に蓋をして，混和し均一な溶液にする。この溶液の一部又は全部をメンブレンフィルターでろ過し，ろ液を密栓可能なねじ口瓶等に移し蓋をして，冷暗所で保管する。

2.2.7 HPLC 用標準溶液の調製

2.2.7.1 200 µg/mL 標準原液(標準原液 A)

- (a) 2.2.4(p)の電子天びんの上にパラフィン紙を置き、風袋引きした後、薬さじで5. (h)のシプロコナゾール 10 mg を量り取り、0.1 mg の桁までひょう量し、その値を記録する。＊マイクロひょう量皿を使用しても構わない。
- (b) 採取した試薬を2.2.4(f)の 50 mL の全量フラスコに移した後、パラフィン紙を電子天びんの上に置き、0.1 mg の桁までひょう量し、その値を記録する。(a) でひょう量した値から、その値をひいた値をひょう量した試薬の質量とする。
- (c) 2.2.6.3 の移動相を (b) の 50 mL の全量フラスコに入れ定容した後、よく混ぜてシプロコナゾールを溶解する。シプロコナゾールが溶けにくい場合は水を入れた2.2.4(s)の超音波洗浄器内に全量フラスコを浸けて超音波を発生させ、溶解する。
- (d) (c) で調製した溶液の一部又は全部を密栓可能な移動相に耐性のある容器に移し、蓋をした後、5 °C以下で保管する。
- (e) 使用前に保管庫から取り出し、室温で120分以上静置して、よく混和する。

2.2.7.2 20 µg/mL 標準原液(標準原液 B)

標準原液 A (200 µg/mL) を2 mL 量り取り、2.2.4(f)の 20 mL の全量フラスコに入れる。2 mL 量り取る操作は、2.2.4(h)のピストン式ピペットで1000 µL 量り取って全量フラスコに入れる操作を2回行う。移動相で定容した後、共栓を取り付けよく振り混ぜ混和する。この溶液の一部又は全部を密栓可能な移動相に耐性のある容器に移し、蓋をした後、5 °C以下で保管する。

2.2.7.3 2 µg/mL 標準原液(標準原液 C)

標準原液 A (200 µg/mL) を2.2.4(h)のピストン式ピペットで500 µL 量り取り、2.2.4(f)の 50 mL の全量フラスコに入れる。移動相で定容した後、共栓を取り付けよく振り混ぜ混和する。この溶液の一部又は全部を密栓可能な移動相に耐性のある容器に移し、蓋をした後、5 °C以下で保管する。

2.2.7.4 40 µg/mL 標準溶液

2.2.7.1 の標準原液 A (200 µg/mL) を2.2.4(h)のピストン式ピペットを用いて200 µL 量り取り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、2.2.6.3 の移動相を2.2.4(h)のピストン式ピペット用いて800 µL 量り取り、同じ5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を2.2.4(m)のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された2.2.4(n)のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を2.2.4(o)のバイアルに受ける。直ちにHPLC測定に用いない場合は、5 °C以下の冷蔵庫で保存する。

2.2.7.5 20 µg/mL 標準溶液

2.2.7.1 の標準原液 A (200 µg/mL) を 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて 100 µL 量り取り, 5 mL 試験管等の容器に入れる。次に, 次に, 2.2.6.3 の移動相を 2.2.4(h) のピストン式ピペット用いて 900 µL 量り取り, 同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ, 試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部, 又は全部を 2.2.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.2.4(n) のディスポーザブルシリンジに移し, ろ液を 2.2.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は, 5 °C 以下の冷蔵庫で保存する。

又は, 標準原液 B の一部を 2.2.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.2.4 (n) のディスポーザブルシリンジに移し, ろ液を 2.2.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は, 5°C 以下の冷蔵庫で保存する。

2.2.7.6 10 µg/mL 標準溶液

2.2.7.1 の標準原液 A (200 µg/mL) を 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて 50 µL 量り取り, 5 mL 試験管等の容器に入れる。次に, 2.2.6.3 の移動相を 2.2.4(h) のピストン式ピペット用いて移動相を 950 µL 量り取り, 同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ, 試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部, 又は全部を 2.2.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.2.4(n) のディスポーザブルシリンジに移し, ろ液を 2.2.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は, 5 °C 以下の冷蔵庫で保存する。

2.2.7.7 4 µg/mL 標準溶液

2.2.7.2 の標準原液 B (20 µg/mL) を 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて 200 µL 量り取り, 5 mL 試験管等の容器に入れる。次に, 2.2.6.3 の移動相を 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて移動相を 800 µL 量り取り, 同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ, 試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部, 又は全部を 2.2.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.2.4(n) のディスポーザブルシリンジに移し, ろ液を 2.2.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は, 5 °C 以下の冷蔵庫で保存する。

2.2.7.8 2 µg/mL 標準溶液

2.2.7.2 の標準原液 B (20 µg/mL) を 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて 100 µL 採り, 5 mL 試験管等の容器に入れる。次に, 2.2.6.3 の移動相を 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて移動相を 900 µL 量り取り, 同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ, 試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部, 又は全部を 2.2.4(m) のカート

リッジ式メンブランフィルターが装着された 2.2.4(n) のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.2.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5℃以下の冷蔵庫で保存する。

又は、標準原液 C の一部を 2.2.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 4. (n) のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.2.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5℃以下の冷蔵庫で保存する。

2.2.7.9 1 µg/mL 標準溶液

2.2.7.2 の標準原液 B (20 µg/mL) を 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて 50 µL 採り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、6.3 の移動相を 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて移動相を 950 µL 量り取り、同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を 2.2.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.2.4(n) のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.2.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5℃以下の冷蔵庫で保存する。

2.2.7.10 0.4 µg/mL 標準溶液

2.2.7.3 の標準原液 C (2 µg/mL) を 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて 200 µL 量り取り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、6.3 の移動相を 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて移動相を 800 µL 量り取り、同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を 2.2.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.2.4(n) のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.2.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5℃以下の冷蔵庫で保存する。

2.2.7.11 0.2 µg/mL 標準溶液

2.2.7.3 の標準原液 C (2 µg/mL) を 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて 100 µL 量り取り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、2.2.6.3 の移動相を 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて移動相を 900 µL 量り取り、同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を 2.2.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 4. (n) のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.2.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5℃以下の冷蔵庫で保存する。

2.2.8 測定

2.2.8.1 抽出

- (a) 木材試料 1 g を 2.2.4(j) の 30 mL 容のねじロサンプル瓶に 0.1 mg の桁まで量り取り、メタノールを 2.2.4(a) の 20 mL 全量ピペットまたは 2.2.4(d) のピストン式ディスペンサで正確に量り取り加える。
- (b) スクリューキャップをした後、(a) のねじロサンプル瓶の重さを量り記録する。
- (c) (b) のねじロサンプル瓶を水の入った 2.2.4(p) の超音波洗浄機に浸け、超音波を発生させた状態をのべ 2 時間継続することで抽出を行う。この際、水温が 20 °C 以上で 40°C を超えないように管理する（例えば、30 又は 45 分ごとに槽内の水を入れ替えるなど）。また、抽出中 2~3 回、ねじロサンプル瓶を激しく振り混ぜる。
- (d) 抽出後、(c) のねじロサンプル瓶を取り出し、表面についた水をふきとった後、ねじロサンプル瓶の重さを測り記録する。(c) の記録と比較し抽出前後の変化を確認し、記録する。
- (e) (d) のねじロサンプル瓶内の溶液が十分冷めたことを確認した後、一回激しく振り、5 分間静置する。
- (f) 静置後、(e) のサンプル瓶内の溶液の一部、又は全部を 2.2.4 (m) のカートリッジ式メンブレンフィルターが取り付けられた 2.2.4(n) の 30 mL のディスポーザブルシリンジに移し、上部からピストンで圧力をかけてろ過し、ろ液を 2.2.4(j) の 20 又は 30 mL 容のねじロサンプル瓶に受け、これを抽出溶液とする。
* サンプル瓶内のすべての溶液をろ過する必要はない（概ね 10mL 以上のろ液を回収できればよい。多量の木粉がシリンジ内に混入すると、ピストンに過大な圧力がかかるため、出来るだけ木粉がシリンジ内に入らないように溶液を移す）

2.2.8.2 固相抽出

- (a) 2.2.4(1) の固相抽出カートリッジに 2.2.5(f) のメタノール 2 mL、2.2.5(a) の水 2 mL を通液（流速、2 mL/min 程度）する。溶出された液は廃棄する。* 固相上部に溶液が残らない状態まで溶出させる。固相に液が残存している状態で構わない
- (b) 2.2.8.1(f) の抽出溶液 1 mL を 2.2.4(a) の全量ピペット又は 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて採り、(a) の固相抽出カートリッジに通液する（流速はおおよそ 2 mL/min 以下程度を目安とする）。溶出された液は廃棄する。* 固相上部に溶液が残らない状態まで溶出させる。固相に液が残存している状態で構わない
- (c) 2.2.5(f) のメタノール 3 mL を 2.2.4(a) の全量ピペット又は 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて採り、(b) の固相抽出カートリッジに通液する（流速、2 mL/min 程度）。溶出された液は廃棄する。* 固相上部に溶液が残らない状態まで溶出させる。固相担体に液が残存している状態で構わない
- (d) 2.2.6.1 のメタノール-アンモニア水混液 A 2 mL を 2.2.4(a) の全量ピペット又は

- 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて採り、(c) の固相抽出カートリッジに通液する（流速、2 mL/min 程度）。溶出された液は廃棄する。** 固相上部に溶液が残らない状態まで溶出させる。加圧や減圧により固相担体に残存する液を可能な限り溶出させる。*
- (e) 2.2.6.2 のメタノール-アンモニア水混液 B 3 mL を 2.2.4(a) の全量ピペット又は 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて採り、(d) の固相抽出カートリッジに通液し、カートリッジからの溶出液を 2.2.4(k) の試験管に回収する。
** 固相上部に溶液が残らない状態まで溶出させる。加圧や減圧により固相担体に残存する液を可能な限り溶出させる。*
- (f) (e) で回収した溶液を減圧濃縮又は窒素吹付けにより乾固する。
** (a) ~ (e) の工程を 2.2.4(aa) の全自動固相抽出装置を用いて実施してもよい。*

2.2.8.3 HPLC 注入用試料溶液の調製

- (a) 2.2.6.3 の移動相 1 mL を 2.2.4(a) の全量ピペット又は 2.2.4(h) のピストン式ピペットを用いて採り、乾固物を再溶解する。不溶物がある場合は、2.2.4(s) の超音波洗浄器を用いて 10 秒間程度超音波をかけて溶解させる。溶解後、試験管ミキサー等を用いて十分に攪拌する。
- (b) (a) の溶液の一部又は全部を 2.2.4(m) のカートリッジ式メンブレンフィルターが取り付けられた 2.2.4(n) のディスポーサブルシリンジでろ過し、2.2.4(o) の HPLC 用バイアルに全量受ける。これを HPLC 注入用試料溶液とする。
**HPLC 注入用試料溶液は原則として、調製した当日に HPLC による測定を行う。当日に測定を行うことができない場合は、5℃以下の冷蔵庫で保存し、調製後 3 日以内に HPLC による測定を行う。保存した HPLC 注入用試料溶液は、測定日に室温に戻し、転倒混和等によって混合する。*

2.2.8.4 含水率の測定

- (a) 木材試料 1g を 0.1 mg の桁まで量り取り、2.2.4(q) のひょう量管に入れ 103 ± 2 °C の恒温器で恒量（全乾状態）になるまで乾燥する。なお、全乾状態とは、人工乾燥を行った処理材の場合は、 103 ± 2 °C で 48 時間乾燥した状態にあること、また、人工乾燥を行っていない処理材については、 103 ± 2 °C で乾燥し、一定時間（6 時間以上とする。）ごとに測定したときの質量の差が試験片の質量の 0.1 % 以下の状態にあることをいう。
**24 時間の乾燥で十分である。*
- (b) デシケータ内で室温になるまで放置後（*30~40 分程度）、乾燥後の重さを測定する。吸湿による誤差を少なくするため、ひょう量管に蓋をしてデシケータ内に入れ、蓋をしたままデシケータから取り出し重さを測定する。
- (c) 下記の式に従い含水率を求める。配布試料につき繰返し 2 回測定し、その平均値 (Z) を求める。

$$\text{含水率(\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

m_0 : ひょう量管の容器（蓋込み）の重さ（g）

m_1 : 乾燥前の木粉試料を含む耐熱性の容器（蓋込み）の重さ（g）

m_2 : 乾燥後の木粉試料を含む耐熱性の容器（蓋込み）の重さ（g）

*含水率（Z）はウェットベース

2.2.9 高速液体クロマトグラフ（HPLC）による測定

2.2.9.1 測定条件の設定

HPLC の取扱説明書に従い、以下の測定条件を設定する。

測定条件

(a) カラム（HPLC 用）：2.2.4(y) において指定したもの

(b) ガードカラム（HPLC 用）：2.2.4(y)において指定したもの

(c) 移動相：2.2.6.3 において指定したもの

(d) カラム温度：40 °C

(e) 測定波長：221 nm

(f) 流量：0.5 mL/min（使用するシステムに応じ、分析結果に影響しない範囲で変更可とする（0.4 mL/min～1.0 mL/min））

(g) 注入量：5 μL～10 μL

*冷却機能を持つ自動試料導入装置を使用する場合、設定温度は 20°Cとする。

2.2.9.2 HPLC の性能確認

測定は、以下の項目について確認した後に行う。

(a) ベースラインの安定性

設定した測定条件で作動させたとき、ベースラインの変動が測定に支障がないことを確認する。

(b) 定量限界

0.2 μg/mL 標準溶液を測定したとき、シプロコナゾールのシグナルが、ノイズの 10 倍以上であることを確認する。10 倍未満の場合、試料導入量を 10 μL の範囲まで増やし確認し、条件を満たした試料導入量で測定を行う。

ノイズ：ピークの前後におけるベースラインの、ピーク半値幅の 20 倍の間における出力信号の最大値と最小値の差の振れ幅の 1/2 をノイズとする。

シグナル：ノイズの最大値と最小値との中間をベースラインとし、ベースラインからピークトップまでの高さをシグナルとする。JIS K 0124 を参照。

2.2.9.3 測定

(a) HPLC 用標準溶液の測定

2.2.7 の標準溶液（40 μg/mL, 20 μg/mL, 10 μg/mL, 4 μg/mL, 2 μg/mL, 1 μg/mL, 0.4

μg/mL, 0.2 μg/mL) を HPLC により測定する。得られたクロマトグラムについて、データ処理装置により積分を行う。データ処理装置の自動積分機能等によりピーク面積を求める場合は、濃度等によりベースラインの引き方やピークの切り方等が異なることがあるため、クロマトグラムの拡大機能等を用いて積分が適切に行われていることを確認する。積分が適切に行われていない場合は、手動により修正する。

(b) 検量線の作成

標準溶液の濃度を横軸 (x) に、(a)において求めた HPLC 用標準溶液のピーク面積を縦軸 (y) にして、原点を含めない直線回帰の検量線 ($y = a + bx$) を作成する。作成した検量線の直線性を目視により確認するとともに、相関係数 (R) が 0.995 以上である場合は適切な検量線であると判断し、試料溶液の濃度の算出に用いる。

(c) HPLC 注入用試料溶液の定量

(a) の HPLC 用標準溶液の測定と連続して、2.2.8.3(b) の HPLC 注入用試料溶液を HPLC により測定する。標準溶液のシプロコナゾールの保持時間と一致したピークを、シプロコナゾールと同定する。得られたクロマトグラムについてデータ処理装置により積分を行い、シプロコナゾールのピーク面積を求める。(a) の HPLC 用標準溶液と同様に、積分が適切に行われていることを確認し、必要に応じて修正する。また、分析ランの管理として、試料 5 点ごとに標準液 (10 μg/mL) を 1 回測定し、シプロコナゾールのピーク面積の最小値及び最大値が平均値 (最小値と最大値の和を 2 で除したもの) の 90 ~ 110% であることを確認する。ピーク面積の最小値及び最大値が平均値の 90 ~ 110% の範囲に入らない場合は、再測定を行う。シプロコナゾールのピークに試料由来の夾雑ピークが近接している場合は、次のとおりとする。

二つのピークの大きさがほぼ等しい場合、ピークの谷から時間軸に下ろした垂線によってベースライン上のピークを二つに分割し、ピーク面積を求める。

大きなピークのテーリング又はリーディングに重なった小さなピークの場合、ピークの谷と大きなピークの裾とを結ぶ接線上の部分をピーク面積とする。JIS K 0124 を参照。

(b) で作成した検量線を用いて(c) の HPLC 注入用試料溶液のシプロコナゾールの濃度 (μg/mL) を求める。このとき、HPLC 注入用試料溶液のシプロコナゾール濃度が、(a) の標準溶液の濃度を超えた場合は、全量ピペット又はピストン式ピペット及び全量フラスコを用いて HPLC 注入用試料溶液を標準溶液 (40 μg/mL) の濃度以下となるように希釈し、再度(a) (b)及び HPLC 注入用試料溶液の測定を行う。

2.2.10 計算

次式により、木材試料および絶乾木材試料中のシプロコナゾール量 (μg/g) を算出する (小数第 5 位を四捨五入し第 4 位まで求める)。計算はパソコンや電卓を用いて行い、計算途中では数値を丸めない。

$$\text{木材試料中のシプロコナゾール量 (}\mu\text{g/g)} = \frac{X \times 20}{Y}$$

$$\text{絶乾木材試料中シプロコナゾール量 (}\mu\text{g/g)} = \frac{X \times 20}{Y \times \left(1 - \frac{Z}{100}\right)}$$

X : HPLC 注入用試料溶液のシプロコナゾール濃度

Y : 抽出に用いた木材試料の量 (g)

Z : 木材試料の含水率 (%)

2.3 処理木材・木質材料中のテブコナゾールの吸収量測定の手順書

2.3.1 適用範囲

この手順書は、木材・木質材料に加圧注入された木材保存剤の有効成分のうちテブコナゾールに適用する。

2.3.2 測定方法の概要

粉碎した試料にメタノールを加えて超音波を用いた抽出を行い、得られた抽出液を固相抽出により精製する。精製後の抽出物を紫外可視吸光光度検出器付の高速液体クロマトグラフ（以下、「HPLC」という。）を用いて分析し、テブコナゾールの含有量を測定する。

2.3.3 注意事項

- (a) 試薬を取り扱う際には、適切な個人用保護具（保護手袋、保護メガネ、有機ガス用マスク、保護面等）を着用し、操作はよく換気された場所で行う。
- (b) メタノール、アセトニトリルは、引火性が高いため、火気に注意する。
- (c) メタノール、アセトニトリル、アンモニア水は環境有害性があるため、屋外に放出しない。
- (d) メタノール、アセトニトリル、アンモニア水が皮膚に付着した場合は、直ちに多量の水で洗い流す。
- (e) 測定により生じる廃液は、法令の規定に基づき適切に処分する。

2.3.4 器具及び装置

- (a) 全量ピペット：JIS R 3505 に規定するクラス A のもの又はそれと同等以上の精度を持つもので、呼び容量 1 mL, 2 mL, 3 mL, 20 mL のもの。上端にピペッターを取り付けて使用する。
- (b) パスツールピペット：長さが 7 cm～15 cm 程度のもの。
- (c) ピペット吸引器具：(a) の全量ピペット、(b) パスツールピペットに接続して使用するもの。
- (d) ピストン式ディスペンサ：JIS K 0972 に規定されるもので、20mL の分注に対応できるもの。
- (e) マイクロひょう量皿：10 mg 程度のシプロコナゾール標準品を受ける容量を持ち、200 mL の全量フラスコに口を接続することが可能なもの。
- (f) 全量フラスコ：JIS R 3505 に規定するクラス B のもの又はそれと同等以上の精度をもつもので、呼び容量 20 mL, 50 mL, 100 mL, 500 mL, 1000 mL のもの。
- (g) メスシリンダー：呼び容量 50 mL, 100 mL, 500 mL 及び 1000 mL のもので JIS R 3505 に規定するクラス A 又は同等以上のもの。

- (h) ピストン式ピペット：JIS K 0970 又は ISO 8655-2(最新版)に規定される性能を満たすもので可変容量が 50 μ L-100 μ L を含むもの、100 μ L-1000 μ L を含むもの及び 0.5 mL-5 mL を含むもの。
- (i) ピペットチップ：(h) のピストン式ピペットに対応し、メタノール、アセトニトリル、アンモニア水に耐性があるもの。
- (j) ねじロサンプル瓶：抽出操作に用いるもので容量 30 mL 程度のもので、ガラス製で超音波抽出時の圧力に耐性があるもの。キャップはメタノールに耐性があるもの。超音波抽出後のろ液を保管に用いるもので、容量 20 mL 程度のガラス製で、キャップはメタノールに耐性があるもの。
- (k) 試験管：ガラス製又はメタノールに耐性のある樹脂製で、容量 5 mL～10 mL 程度のもの
- (l) 固相抽出カートリッジ：強陽イオン交換基としてスルホン基が導入されたジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン共重合体あるいはそれと同等の保持能力を持つ物を担体とするものであること。また、担体の充填量は 1.0 meq/g が 60 mg 以上充填されている場合に相当する量であること。(例えば Oasis MCX 60 mg/3 mL カートリッジ)
- (m) カートリッジ式メンブレンフィルター：フィルター材質が親水性 PTFE で、孔径が 0.45 μ m 以下でディスポーザブルシリレンジ (n) に装着可能なもの(例：ADVANTEC 製 DISMIC25-HP, 13HP045AN, GL サイエンス社製 GL クロマトディスク 13P)。
- (n) ディスポーザブルシリレンジ：ポリプロピレン又はメタノールに耐性のある樹脂製で、カートリッジ式メンブレンフィルターが装着可能で容量 2.5～5mL 又は 30 mL 程度のもの。
- (o) HPLC 用バイアル：使用する HPLC に適合したもので、透明又は褐色ガラス製で容量が 2 mL 以下のもの。また、シプロコナゾールが吸着されないこと。蓋は PTFE 製又は PTFE でコーティングされた(移動相に耐性のある)セプタム付きで、上記バイアルに対応するもの。必要があれば、プレスリットの入ったセプタム付のもの。
- (p) 電子天びん：0.1 mg の桁の精度で量る機能をもつもの。
- (q) ひょう量管：共栓のできるガラス製のもの。
- (r) 恒温器：木材試料を 103 $\pm$ 2 $^{\circ}$ Cで乾燥できるもの。
- (s) 超音波洗浄機：抽出に用いる(j)のねじロサンプル瓶が、複数本入る大きさのもの。
- (t) 温度計：40 $^{\circ}$ Cが測定可能範囲に含まれるもの。又は、超音波洗浄機に内蔵のもの。
- (u) タイマー：抽出時間(のべ3時間)を計測することができるもの。又は、超音波洗浄機に内蔵のもの(照射時間を設定できるもの)。
- (v) 濃縮器：40 $^{\circ}$ Cに設定可能な恒温水層を含むロータリーエバポレーター、試料室内を40 $^{\circ}$ Cに設定可能な遠心エバポレーターまたは窒素吹付式のもので、アンモニア水を含むメタノール溶液を濃縮乾固できるもの。
- (w) 試験管ミキサー：振動により試験管内の溶液を十分攪拌できるもの(同等の機能を有

するものでも可)。

- (x) 高速液体クロマトグラフ (HPLC) : JIS K 0124 に規定するもので、送液ポンプ、オンライン脱気装置、カラムオーブン、UV 検出器 (若しくは PDA 検出器)、データ処理システムを備えたもの。
- (y) HPLC 用カラム : ODS 系逆相カラム (内径 3.0 mm× 長さ 150 mm, 粒子径 3 μ m など) で、シプロコナゾールと試料由来のマトリクス成分が十分に分離される性能を有していること (例えば、GL サイエンス社製 Inertsil ODS-3) ガードカラムを使用する場合はこれに対応するもの。
- (z) 移動相ろ過用フィルター及び器具 : 移動相に耐性のある孔径 0.45 μ m 以下のメンブレンフィルターおよびこれを装着するガラス製ファンネル。
- (aa) 全自動固相抽出装置 : 分注工程における性能が JIS K 0970 又は ISO 8655-2 (最新版) に規定される性能と同等であること。

2.3.5 試薬

- (a) 水 : イオン交換法によって精製した水又は逆浸透膜法、蒸留法、イオン交換法などを組み合わせた方法によって精製したもので、JIS K 0557 に規定する A3 以上の品質を有するもの。
- (b) りん酸 : JIS K 9005 に規定する濃度 85 %で、特級又は同等以上の品質のもの。
- (c) りん酸二水素ナトリウム二水和物 : JIS K 9009 に規定する純度 99 %以上のもの。
- (d) アンモニア水 : JIS K 8085 に規定する純度 25~28 %の範囲で、特級又は同等以上の品質のもの。
- (e) 1N アンモニア水 : (d) に対応するアンモニア水を希釈し 1 mol/L に調製したもの、又は、容量分析用滴定液として 1 mol/L に調製されたアンモニア水。
- (f) メタノール : HPLC 用のもの。
- (j) アセトニトリル : HPLC 用のもの。
- (g) シプロコナゾール : 残留農薬試験用の異性体混合物でシプロコナゾール純度 95 %以上 (HPLC) のもので、できるだけ純度の高いもの。
- (h) テブコナゾール : 残留農薬試験用で純度 95 %以上 (HPLC) のもので、できるだけ純度の高いもの。

2.3.6 試薬の調製

2.3.6.1 メタノール-アンモニア混液 A

- (a) 2.3.4(g) の 100 mL のメスシリンダーに 2.3.5(e) の 1N アンモニア水を 80mL 量り取り、適当な容量の密栓可能な容器に移す。
- (b) 2.3.4(g) の 50mL メスシリンダーにメタノール 20mL を量り取り、(a) の密栓可能な容器に移す。

(c) (b) の容器に栓をして、転倒混和等により均一な溶液にする。

2.3.6.2 メタノール-アンモニア混液 B

(a) 2.3.4(g) の 100 mL のメスシリンダーにメタノールを 100 mL 量り取り、適当な容量の密栓可能な容器に移す。

(b) 2.3.4(h) のピストン式ピペットで 2.3.5(d) のアンモニア水を 1 mL 量り取り、(a) の密栓可能な容器に移す。

(c) (b) の密栓可能な容器に栓をして、転倒混和等により均一な溶液にする。

2.3.6.3 移動相

(a) 2.3.5(c) のりん酸二水素ナトリウム二水和物 7.8 g を 2.3.4. (f) の 1000 mL の全量フラスコに移す。

(b) 2.3.5(b) のりん酸 3.4 mL を 2.3.4. (h) のピストン式ピペットを用いて、(a) の全量フラスコに移す。

(c) (b) の全量フラスコに水を加え定容した後、よく振り混ぜてりん酸二水素ナトリウム二水和物を溶解する。

(d) 2.3.4(g) の 1000 mL のメスシリンダーに 2.3.5(g) のアセトニトリルを 600 mL 量り取り、1000 mL の密栓可能な容器に移す。

(e) 2.3.4(g) の 500 mL のメスシリンダーに 2.3.5(a) の水を 300 mL 量り取り、(d) の密栓可能な容器に移す。

(f) 2.3.4(g) の 100 mL のメスシリンダーに、(c) で調製した溶液を 100 mL 量り取り、(e) の密栓可能な容器に移す。

(g) (f) の密栓可能な容器に蓋をして、混和し均一な溶液にする。この溶液の一部又は全部をメンブレンフィルターでろ過し、ろ液を密栓可能なねじ口瓶等に移し蓋をして、冷暗所で保管する。

2.3.7 HPLC 用標準溶液の調製

2.3.7.1 200 µg/mL 標準原液(標準原液 A)

(a) 2.3.4(o) の電子天びんの上にパラフィン紙を置き、風袋引きした後、薬さじで 2.3.5(h) のテブコナゾール 10 mg を量り取り、0.1 mg の桁までひょう量し、その値を記録する。
*マイクロひょう量皿を使用しても構わない。

(b) 採取した試薬を 2.3.4. (f) の 50 mL の全量フラスコに移した後、パラフィン紙を電子天びんの上に置き、0.1 mg の桁までひょう量し、その値を記録する。(a) でひょう量した値から、その値をひいた値をひょう量した試薬の質量とする。

(c) 2.3.6.3 の移動相を (b) の 50 mL の全量フラスコに入れ定容した後、よく混ぜてテブコナゾールを溶解する。テブコナゾールが溶けにくい場合は水を入れた 2.3.4(s) の超音波洗浄器内に全量フラスコを浸けて超音波を発生させ、溶解する。

(d) (c) で調製した溶液の一部又は全部を密栓可能な移動相に耐性のある容器に移し、蓋

をした後、5℃以下で保管する。

(e) 使用前に保管庫から取り出し、室温で120分以上静置して、よく混和する。

2.3.7.2 20 µg/mL 標準原液(標準原液 B)

2.3.7.1の標準原液A(200 µg/mL)を2 mL 量り取り、2.3.4(f)の20 mLの全量フラスコに入れる。2 mL 量り取る操作は、2.3.4(h)のピストン式ピペットで1000 µL 量り取って全量フラスコに入れる操作を2回行う。移動相で定容した後、共栓を取り付けよく振り混ぜ混和する。この溶液の一部又は全部を密栓可能な移動相に耐性のある容器に移し、蓋をした後、5℃以下で保管する。

2.3.7.3 100 µg/mL 標準溶液

2.3.7.1の標準原液A(200 µg/mL)を2.3.4(h)のピストン式ピペットを用いて500 µL 量り取り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、2.3.6.3の移動相を2.3.4(h)のピストン式ピペット用いて500 µL 量り取り、同じ5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を2.3.4(m)のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された2.3.4(n)のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を2.3.4(o)のバイアルに受ける。直ちにHPLC測定に用いない場合は、5℃以下の冷蔵庫で保存する。

2.3.7.4 40 µg/mL 標準溶液

2.3.7.1の標準原液A(200 µg/mL)を2.3.4(h)のピストン式ピペットを用いて200 µL 量り取り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、2.3.6.3の移動相を2.3.4(h)のピストン式ピペット用いて800 µL 量り取り、同じ5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を2.3.4(m)のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された2.3.4(n)のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を2.3.4(o)のバイアルに受ける。直ちにHPLC測定に用いない場合は、5℃以下の冷蔵庫で保存する。

2.3.7.4 20 µg/mL 標準溶液

2.3.7.1の標準原液A(200 µg/mL)を2.3.4(h)のピストン式ピペットを用いて100 µL 量り取り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、次に、6.3の移動相を2.3.4(h)のピストン式ピペット用いて900 µL 量り取り、同じ5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を2.3.4(m)のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された2.3.4(n)のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を2.3.4(o)のバイアルに受ける。直ちにHPLC測定に用いない場合は、5℃以下の冷蔵庫で保存する。

又は、標準原液 B の一部を 2.3.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.3.4. (n) のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.3.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5℃以下の冷蔵庫で保存する。

2.3.7.5 10 µg/mL 標準溶液

2.3.7.1 の標準原液 A (200 µg/mL) を 2.3.4(h) のピストン式ピペットを用いて 50 µL 量り取り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、2.3.6.3 の移動相を 2.3.4(h) のピストン式ピペット用いて移動相を 950 µL 量り取り、同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を 2.3.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.3.4(n) のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.3.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5 °C 以下の冷蔵庫で保存する。

2.3.7.6 4 µg/mL 標準溶液

2.3.7.2 の標準原液 B (20 µg/mL) を 2.3.4(h) のピストン式ピペットを用いて 200 µL 量り取り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、2.3.6.3 の移動相を 2.3.4(h) のピストン式ピペットを用いて移動相を 800 µL 量り取り、同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を 2.3.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.3.4(n) のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.3.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5 °C 以下の冷蔵庫で保存する。

2.3.7.7 2 µg/mL 標準溶液

2.3.7.2 の標準原液 B (20 µg/mL) を 2.3.4(h) のピストン式ピペットを用いて 100 µL 採り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、2.3.6.3 の移動相を 2.3.4(h) のピストン式ピペットを用いて移動相を 900 µL 量り取り、同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を 2.3.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.3.4(n) のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.3.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5 °C 以下の冷蔵庫で保存する。

又は、標準原液 C の一部を 2.3.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.3.4(n) のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.3.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5℃以下の冷蔵庫で保存する。

2.3.8 測定

2.3.8.1 抽出

- (a) 木材試料 1 g を 2.3.4(j) の 30 mL 容のねじロサンプル瓶に 0.1 mg の桁まで量り取り、メタノールを 2.3.4(a) の 20 mL 全量ピペットまたは 2.3.4(d) のピストン式ディスペンサで正確に量り取り加える。
- (b) スクリューキャップをした後、(a) のねじロサンプル瓶の重さを量り記録する。
- (c) (b) のねじロサンプル瓶を水の入った 2.3.4. (s) の超音波洗浄機に浸け、超音波を発生させた状態をのべ 2 時間継続することで抽出を行う。この際、水温が 20 °C 以上で 40°C を超えないように管理する（例えば、30 又は 45 分ごとに槽内の水を入れ替えるなど）。また、抽出中 2~3 回、ねじロサンプル瓶を激しく振り混ぜる。
- (d) 抽出後、(c) のねじロサンプル瓶を取り出し、表面についた水をふきとった後、ねじロサンプル瓶の重さを測り記録する。(c) の記録と比較し抽出前後の変化を確認し、記録する。
- (e) (d) のねじロサンプル瓶内の溶液が十分冷めたことを確認した後、一回激しく振り、5 分間静置する。
- (f) 静置後、(e) のサンプル瓶内の溶液の一部、又は全部を 2.3.4 (m) のカートリッジ式メンブレンフィルターが取り付けられた 2.3.4(n) の 30 mL のディスポーザブルシリンジに移し、上部からピストンで圧力をかけてろ過し、ろ液を 2.3.4(j) の 20 又は 30 mL 容のねじロサンプル瓶に受け、これを抽出溶液とする。

** サンプル瓶内のすべての溶液をろ過する必要はない（概ね 10mL 以上のろ液を回収できればよい。多量の本粉がシリンジ内に混入すると、ピストンに過大な圧力がかかるため、出来るだけ本粉がシリンジ内に入らないように溶液を移す）*

2.3.8.2 固相抽出

- (a) 2.3.4(1) の固相抽出カートリッジに 2.3.5(f) のメタノール 2 mL、2.3.5(a) の水 2 mL を通液（流速、2 mL/min 程度）する。溶出された液は廃棄する。** 固相上部に溶液が残らない状態まで溶出させる。固相に液が残存している状態で構わない*
- (b) 2.3.8.1(f) の抽出溶液 1 mL を 2.3.4(a) の全量ピペット又は 2.3.4(h) のピストン式ピペットを用いて採り、(a) の固相抽出カートリッジに通液する（流速、2 mL/min 以下）。溶出された液は廃棄する。** 固相上部に溶液が残らない状態まで溶出させる。固相に液が残存している状態で構わない*
- (c) 2.3.5(f) のメタノール 3 mL を 2.3.4(a) の全量ピペット又は 2.3.4(h) のピストン式ピペットを用いて採り、(b) の固相抽出カートリッジに通液する（流速、2 mL/min 程度）。溶出された液は廃棄する。** 固相上部に溶液が残らない状態まで溶出させる。固相担体に液が残存している状態で構わない*

- (d) 2.3.6.1 のメタノール-アンモニア水混液 A 2 mL を 2.3.4(a) の全量ピペット又は 2.3.4(h) のピストン式ピペットを用いて採り、(c) の固相抽出カートリッジに通液する（流速、2 mL/min 程度）。溶出された液は廃棄する。** 固相上部に溶液が残らない状態まで溶出させる。加圧や減圧により固相担体に残存する液を可能な限り溶出させる。*
- (e) 2.3.6.2 のメタノール-アンモニア水混液 B 3 mL を 2.3.4(a) の全量ピペット又は 2.3.4(h) のピストン式ピペットを用いて採り、(d) の固相抽出カートリッジに通液し、カートリッジからの溶出液を 2.3.4(k) の試験管に回収する。
** 固相上部に溶液が残らない状態まで溶出させる。加圧や減圧により固相担体に残存する液を可能な限り溶出させる。*
- (f) (e) で回収した溶液を減圧濃縮又は窒素吹付けにより乾固する。
** (a) ~ (e) の工程を 2.3.4(aa) の全自動固相抽出装置を用いて実施してもよい。*

2.3.8.3 HPLC 注入用試料溶液の調製

- (a) 2.3.6.3 の移動相 1 mL を 2.3.4(a) の全量ピペット又は 2.3.4(h) のピストン式ピペットを用いて採り、乾固物を再溶解する。不溶物がある場合は、2.3.4(s) の超音波洗浄器を用いて 10 秒間程度超音波をかけて溶解させる。溶解後、試験管ミキサー等を用いて十分に攪拌する。
- (b) (a) の溶液の一部又は全部を 2.3.4 (m) のカートリッジ式メンブレンフィルターが取り付けられた 2.3.4(n) のディスポーサブルシリンジでろ過し、2.3.4(o) の HPLC 用バイアルに全量受ける。これを HPLC 注入用試料溶液とする。
**HPLC 注入用試料溶液は原則として、調製した当日に HPLC による測定を行う。当日に測定を行うことができない場合は、5℃以下の冷蔵庫で保存し、調製後 3 日以内に HPLC による測定を行う。保存した HPLC 注入用試料溶液は、測定日に室温に戻し、転倒混和等によって混合する。*

2.3.8.4 含水率の測定

- (a) 木材試料 1g を 0.1 mg の桁まで量り取り、2.3.4(q) のひょう量管に入れ 103 ± 2 °C の恒温器で恒量（全乾状態）になるまで乾燥する。なお、全乾状態とは、人工乾燥を行った処理材の場合は、 103 ± 2 °C で 48 時間乾燥した状態にあること、また、人工乾燥を行っていない処理材については、 103 ± 2 °C で乾燥し、一定時間（6 時間以上とする。）ごとに測定したときの質量の差が試験片の質量の 0.1 % 以下の状態にあることをいう。
**24 時間の乾燥で十分である。*
- (b) デシケータ内で室温になるまで放置後（*30~40 分程度）、乾燥後の重さを測定する。吸湿による誤差を少なくするため、ひょう量管に蓋をしてデシケータ内に入れ、蓋をしたままデシケータから取り出し重さを測定する。

(c) 下記の式に従い含水率を求める。配布試料につき繰返し 2 回測定し、その平均値 (Z) を求める。

$$\text{含水率}(\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

m0 : ひょう量管の容器 (蓋込み) の重さ (g)

m1 : 乾燥前の木粉試料を含む耐熱性の容器 (蓋込み) の重さ (g)

m2 : 乾燥後の木粉試料を含む耐熱性の容器 (蓋込み) の重さ (g)

* 含水率 (Z) はウェットベース

2.3.9 高速液体クロマトグラフ (HPLC) による測定

2.3.9.1 測定条件の設定

HPLC の取扱説明書に従い、以下の測定条件を設定する。

測定条件

(a) カラム (HPLC 用) : 2.3.4(y) において指定したもの

(b) ガードカラム (HPLC 用) : 2.3.4(y) において指定したもの

(c) 移動相 : 2.3.6.3 において指定したもの

(d) カラム温度 : 40 °C

(e) 測定波長 : 221 nm

(f) 流量 : 0.5 mL/min (使用するシステムに応じ、分析結果に影響しない範囲で変更可とする (0.4 mL/min ~ 1.0 mL/min))

(g) 注入量 : 5 µL ~ 10 µL

* 冷却機能を持つ自動試料導入装置を使用する場合、設定温度は 20°C とする。

2.3.9.2 HPLC の性能確認

測定は、以下の項目について確認した後に行う。

(a) ベースラインの安定性

設定した測定条件で作動させたとき、ベースラインの変動が測定に支障がないことを確認する。

(b) 定量限界

0.2 µg/mL 標準溶液を測定したとき、テブコナゾールのシグナルが、ノイズの 10 倍以上であることを確認する。10 倍未満の場合、試料導入量を 10 µL の範囲まで増やし確認し、条件を満たした試料導入量で測定を行う。

ノイズ : ピークの前後におけるベースラインの、ピーク半値幅の 20 倍の間における出力信号の最大値と最小値の差の振れ幅の 1/2 をノイズとする。

シグナル : ノイズの最大値と最小値との中間をベースラインとし、ベースラインからピークトップまでの高さをシグナルとする。JIS K 0124 を参照。

2.3.9.3 測定

(a) HPLC 用標準溶液の測定

2.3.7 の標準溶液 (40 µg/mL, 20 µg/mL, 10 µg/mL, 4 µg/mL, 2 µg/mL, 1 µg/mL, 0.4 µg/mL, 0.2 µg/mL) を HPLC により測定する。得られたクロマトグラムについて、データ処理装置により積分を行う。データ処理装置の自動積分機能等によりピーク面積を求める場合は、濃度等によりベースラインの引き方やピークの切り方等が異なることがあるため、クロマトグラムの拡大機能等を用いて積分が適切に行われていることを確認する。積分が適切に行われていない場合は、手動により修正する。

(b) 検量線の作成

標準溶液の濃度を横軸 (x) に、(a)において求めた HPLC 用標準溶液のピーク面積を縦軸 (y) にして、原点を含めない直線回帰の検量線 ($y = a + bx$) を作成する。作成した検量線の直線性を目視により確認するとともに、相関係数 (R) が 0.995 以上である場合は適切な検量線であると判断し、試料溶液の濃度の算出に用いる。

(c) HPLC 注入用試料溶液の定量

(a) の HPLC 用標準溶液の測定と連続して、2.3.8.3(b) の HPLC 注入用試料溶液を HPLC により測定する。標準溶液のテブコナゾールの保持時間と一致したピークを、テブコナゾールと同定する。得られたクロマトグラムについてデータ処理装置により積分を行い、テブコナゾールのピーク面積を求める。(a) の HPLC 用標準溶液と同様に、積分が適切に行われていることを確認し、必要に応じて修正する。また、分析ランの管理として、試料 5 点ごとに標準液 (10 µg/mL) を 1 回測定し、テブコナゾールのピーク面積の最小値及び最大値が平均値 (最小値と最大値の和を 2 で除したもの) の 90 ~ 110%であることを確認する。ピーク面積の最小値及び最大値が平均値の 90 ~ 110%の範囲内に入らない場合は、再測定を行う。テブコナゾールのピークに試料由来の夾雑ピークが近接している場合は、次のとおりとする。

二つのピークの大きさがほぼ等しい場合、ピークの谷から時間軸に下ろした垂線によってベースライン上のピークを二つに分割し、ピーク面積を求める。

大きなピークのテーリング又はリーディングに重なった小さなピークの場合、ピークの谷と大きなピークの裾とを結ぶ接線上の部分のピーク面積とする。JIS K 0124 を参照。

(b) で作成した検量線を用いて(c)の HPLC 注入用試料溶液のテブコナゾールの濃度 (µg/mL) を求める。このとき、HPLC 注入用試料溶液のテブコナゾール濃度が、(a)の標準溶液の濃度を超えた場合は、全量ピペット又はピストン式ピペット及び全量フラスコを用いて HPLC 注入用試料溶液を標準溶液 (40 µg/mL) の濃度以下となるように希釈し、再度(a) (b)及び HPLC 注入用試料溶液の測定を行う。

2.3.10 計算

次式により、木材試料および絶乾木材試料中のテブコナゾール量 (μg/g) を算出する (小数第 5 位を四捨五入し第 4 位まで求める)。計算はパソコンや電卓を用いて行い、計算途中では数値を丸めない。

$$\text{木材試料中のテブコナゾール量 (}\mu\text{g/g)} = \frac{X \times 20}{Y}$$

$$\text{絶乾木材試料中のテブコナゾール量 (}\mu\text{g/g)} = \frac{X \times 20}{Y \times \left(1 - \frac{Z}{100}\right)}$$

X : HPLC 注入用試料溶液のテブコナゾール濃度

Y : 抽出に用いた木材試料の量 (g)

Z : 木材試料の含水率 (%)

2.4 処理木材・木質材料中のイミダクロプリドの吸収量測定の手順書

2.4.1 適用範囲

この手順書は、木材・木質材料に加圧注入された木材保存剤の有効成分のうちイミダクロプリドに適用する。

2.4.2 測定方法の概要

粉碎した試料にアセトニトリルを加えて超音波を用いた抽出を行い、得られた抽出液を分散型固相抽出により精製する。精製後の抽出物を紫外可視吸光度検出器付の高速液体クロマトグラフ（以下、「HPLC」という。）を用いて分析し、イミダクロプリドの含有量を測定する。

2.4.3 注意事項

- (a) 試薬を取り扱う際には、適切な個人用保護具（保護手袋、保護メガネ、有機ガス用マスク、保護面等）を着用し、操作はよく換気された場所で行う。
- (b) アセトニトリルは、引火性が高いため、火気に注意する。
- (c) アセトニトリルは環境有害性があるため、屋外に放出しない。
- (d) アセトニトリルが皮膚に付着した場合は、直ちに多量の水で洗い流す。
- (e) 測定により生じる廃液は、法令の規定に基づき適切に処分する。

2.4.4 器具及び装置

- (a) 全量ピペット：JIS R 3505 に規定するクラス A のもの又はそれと同等以上の精度を持つもので、呼び容量 1 mL, 2 mL, 3 mL, 20 mL のもの。上端にピペッターを取り付けて使用する。
- (b) パスツールピペット：長さが 7 cm～15 cm 程度のもの。
- (c) ピペット吸引器具：(a) の全量ピペット、(b) パスツールピペットに接続して使用するもの。
- (d) ピストン式ディスペンサ：JIS K 0972 に規定されるもので、20mL の分注に対応できるもの。
- (e) マイクロびょう量皿：10 mg 程度のイミダクロプリド標準品を受ける容量を持ち、200 mL の全量フラスコに口を接続することが可能なもの。
- (f) 全量フラスコ：JIS R 3505 に規定するクラス A のもの又はそれと同等以上の精度をもつもので、呼び容量 20 mL, 50 mL, 100 mL, 200 mL, 500 mL, 1000 mL のもの。
- (g) メスシリンダー：呼び容量 50 mL, 100 mL, 200 mL 500 mL 及び 1000 mL のもので JIS R 3505 に規定するクラス A 又は同等以上のもの。
- (h) ピストン式ピペット：JIS K 0970 又は ISO 8655-2(最新版)に規定される性能を満たすもの。

すもので可変容量が 50 μ L-100 μ L を含むもの、 100 μ L-1000 μ L を含むもの。

- (i) ピペットチップ：(g) のピストン式ピペットに対応し、アセトニトリルに耐性があるもの。
- (j) ねじロサンプル瓶：抽出操作に用いるもので容量 30 mL 程度のもので、ガラス製で超音波抽出時の圧力に耐性があるもの。キャップはアセトニトリルに耐性があるもの。超音波抽出後のろ液を保管に用いるもので、容量 20 mL 程度のガラス製で、キャップはアセトニトリルに耐性があるもの。
- (k) 試験管：ガラス製又はアセトニトリルに耐性のある樹脂製で、容量 5 mL～10 mL 程度のもの
- (l) 分散型固相抽出チューブ：ジルコニアとオクタデシル基が表面に結合した粒子径 50 μ m 程度のシリカゲルあるいはそれと同等の保持能力を持つ物粒子が 75mg 程度封入された全容 2mL のプラスチック製チューブ（例：Supelco 製 Z-Sep+ Tube, 型番 55408-U）
- (m) カートリッジ式メンブレンフィルター：フィルター材質が親水性 PTFE で、孔径が 0.45 μ m 以下 でディスポーザブルシリレンジ (m) に装着可能なもの（例：ADVANTEC 製 DISMIC25-HP, 13HP045AN, GL サイエンス社製 GL クロマトディスク 13P）
- (n) ディスポーザブルシリレンジ：ポリプロピレン又はメタノールに耐性のある樹脂製で、カートリッジ式メンブレンフィルターが装着可能で容量 2.5～5mL 又は 30 mL 程度のもの。
- (o) HPLC 用バイアル：使用する HPLC に適合したもので、透明又は褐色ガラス製で容量が 2 mL 以下のもの。また、イミダクロプリドが吸着されないこと。蓋は PTFE 製又は PTFE でコーティングされた（移動相に耐性のある）セプタム付きで、上記バイアルに対応するもの。必要があれば、プレスリットの入ったセプタム付のもの。
- (p) 電子天びん：0.1 mg の桁の精度で量る機能をもつもの。
- (q) ひょう量管：共栓のできるガラス製のもの。
- (r) 恒温器：木材試料を 103 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C で乾燥できるもの。
- (s) 超音波洗浄機：抽出に用いる (i) のねじロサンプル瓶が、複数本入る大きさのもの。
- (t) 温度計：40 $^{\circ}$ C が測定可能範囲に含まれるもの。又は、超音波洗浄機に内蔵のもの。
- (u) タイマー：抽出時間（のべ 3 時間）を計測することができるもの。又は、超音波洗浄機に内蔵のもの（照射時間を設定できるもの）。
- (v) 濃縮器：40 $^{\circ}$ C に設定可能な恒温水層を含むロータリーエバポレーター、試料室内を 40 $^{\circ}$ C に設定可能な遠心エバポレーターまたは窒素吹付式のもので、アンモニア水を含むメタノール溶液を濃縮乾固できるもの。
- (w) 試験管ミキサー：振動により試験管内の溶液を十分攪拌できるもの（同等の機能を有するものでも可）。
- (x) 高速液体クロマトグラフ（HPLC）：JIS K 0124 に規定するもので、送液ポンプ、オンライン脱気装置、カラムオープン、UV 検出器（若しくは PDA 検出器）、データ処理シス

テムを備えたもの。

- (y) HPLC 用カラム：ODS 系逆相カラム（内径 3.0 mm× 長さ 150 mm，粒子径 3 μ m など）で、イミダクロプリドと試料由来のマトリクス成分が十分に分離される性能を有していること（例えば、GL サイエンス社製 Inertsil ODS-3）ガードカラムを使用する場合はこれに対応するもの。
- (z) 移動相ろ過用フィルター及び器具：移動相に耐性のある孔径 0.45 μ m 以下のメンブレンフィルターおよびこれを装着するガラス製ファンネル。
- (aa) 遠心分離器： (l) の分散型固相抽出チューブがセットでき， 2000～3000rpm で運転できること。

2.4.5 試薬

- (a) 水：イオン交換法によって精製した水又は逆浸透膜法，蒸留法，イオン交換法などを組み合わせた方法によって精製したもので，JIS K 0557 に規定する A3 以上の品質を有するもの。
- (b) アセトニトリル：HPLC 用のもの。
- (c) イミダクロプリド：残留農薬試験用の異性体混合物でイミダクロプリド純度 98 %以上（HPLC）のもので，できるだけ純度の高いもの。

2.4.6 移動相等の調製

2.4.6.1 移動相 A

- (a) 2.4.4(g) の 1000 mL のメスシリンダーに 2.4.5(a) の水を 800 mL 量り取り，容量 1000 mL 以上のガラス製三角フラスコ等の容器に移す。
- (b) 2.4.4(g) の 200 mL のメスシリンダーに 2.4.5(b) のアセトニトリルを 200 mL 量り取り，(a) の容器に移す。
- (c) (b) の容器内の溶液を十分に混和し均一な溶液にする。この溶液の一部又は全部をメンブレンフィルターでろ過密栓可能なねじ口瓶等に移し蓋をして，冷暗所で保管する（ろ過後ただちに使用する場合は，この限りではない）。

2.4.6.2 移動相 B

- (a) 2.4.4(g) の 1000 mL のメスシリンダーに 2.4.5(b) のアセトニトリルを 900 mL 量り取り，容量 1000 mL 以上のガラス製三角フラスコ等の容器に移す。
- (b) 2.4.4(g) の 100 mL のメスシリンダーに 2.4.5(a) の水を 100 mL 量り取り，(a) の容器に移す。
- (c) (b) の容器内の溶液を十分に混和し均一な溶液にする。この溶液の一部又は全部をメンブレンフィルターでろ過し，ろ液を密栓可能なねじ口瓶等に移し蓋をして，冷暗所で保管する（ろ過後ただちに使用する場合は，この限りではない）。

2.4.6.3 HPLC 試料用溶媒の調製

- (a) 2.4.4(g)の100 mLのメスシリンダーに2.4.5(a)の水を100 mL量り取り容量500 mL以上のガラス製三角フラスコ等の容器に移す。
- (b) 2.4.4(g)の100 mLのメスシリンダーに2.4.5(b)のアセトニトリルを100 mL量り取り(a)の容器に移す。
- (c) (b)の容器内の溶液を十分に混和し均一な溶液にし、密栓可能なねじ口瓶等に移し蓋をして、冷暗所で保管する（混和後ただちに使用する場合は、この限りではない）。

2.4.7. HPLC 用標準溶液の調製

*室間共同試験で用いる標準品は純度99%以上であることから、検量線作成時の濃度は実際に量り取った量を使って計算すること、また、試薬の純度に基づく補正は行わない。

2.4.7.1 200 µg/mL 標準原液(標準原液 A)

- (a) 2.4.4(p)の電子天びんの上にパラフィン紙を置き、風袋引きした後、薬さじで2.4.5(c)のイミダクロプリド10 mgを量り取り、0.1 mgの桁までひょう量し、その値を記録する。*マイクロひょう量皿を使用しても構わない。
- (b) 採取した試薬を2.4.4(f)の50 mLの全量フラスコに移した後、パラフィン紙を電子天びんの上に置き、0.1 mgの桁までひょう量し、その値を記録する。(a)でひょう量した値から、その値をひいた値をひょう量した試薬の質量とする。
- (c) 2.4.6.3のHPLC 試料用溶媒を(b)の50 mLの全量フラスコに入れ定容した後、よく混ぜてイミダクロプリドを溶解する。イミダクロプリドが溶けにくい場合は水を入れた2.4.4(p)の超音波洗浄器内に全量フラスコを浸けて超音波を発生させ、溶解する。
- (d) (c)で調製した溶液の一部又は全部を密栓可能な移動相に耐性のある容器に移し、蓋をした後、5℃以下で保管する。
- (e) 使用前に保管庫から取り出し、室温で120分以上静置して、よく混和する。

2.4.7.2 20 µg/mL 標準原液(標準原液 B)

標準原液 A (200 µg/mL) を2 mL量り取り、2.4.4(f)の20 mLの全量フラスコに入れる。2 mL量り取る操作は、2.4.4(h)のピストン式ピペットで1000 µL量り取って全量フラスコに入れる操作を2回行う。2.4.6.3のHPLC 試料用溶媒で定容した後、共栓を取り付けよく振り混ぜ混和する。この溶液の一部又は全部を密栓可能な移動相に耐性のある容器に移し、蓋をした後、5℃以下で保管する。

2.4.7.3 2 µg/mL 標準原液(標準原液 C)

標準原液 A (200 µg/mL) を2.4.4(h)のピストン式ピペットで200 µL量り取り、2.4.4

(f)の 20 mL の全量フラスコに入れる。200 μ L 量り取る操作は、2.4.4 (h)のピストン式ピペットで 100 μ L 量り取って全量フラスコに入れる操作を 2 回行う。2.4.6.3 の HPLC 試料用溶媒で定容した後、栓を取り付けよく振り混ぜ混和する。この溶液の一部又は全部を密栓可能な移動相に耐性のある容器に移し、蓋をした後、5 $^{\circ}$ C 以下で保管する。

2.4.7.4 20 μ g/mL 標準溶液

2.4.7.1 の標準原液 A (200 μ g/mL) を 2.4.4(h)のピストン式ピペットを用いて 100 μ L 量り取り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、次に、6.3 の HPLC 試料用溶媒を 2.4.4(h)のピストン式ピペット用いて 900 μ L 量り取り、同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を 2.4.4(m)のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.4.4(n)のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.4.4(o)のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5 $^{\circ}$ C 以下の冷蔵庫で保存する。

又は、標準原液 B の一部を 2.4.4(m)のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.4.4(n)のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.4.4(o)のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5 $^{\circ}$ C以下の冷蔵庫で保存する。

2.4.7.5 10 μ g/mL 標準溶液

7.1 の標準原液 A (200 μ g/mL) を 2.4.4(h)のピストン式ピペットを用いて 50 μ L 量り取り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、6.3 の HPLC 試料用溶媒を 2.4.4(h)のピストン式ピペット用いて 950 μ L 量り取り、同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を 4. (m)のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 4. (n)のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.4.4(o)のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5 $^{\circ}$ C 以下の冷蔵庫で保存する。

2.4.7.6 4 μ g/mL 標準溶液

7.2 の標準原液 B (20 μ g/mL) を 2.4.4(h)のピストン式ピペットを用いて 200 μ L 量り取り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、2.4.6.3 の HPLC 試料用溶媒を 2.4.4(h)のピストン式ピペットを用いて 800 μ L 量り取り、同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を 2.4.4(m)のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.4.4(n)のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.4.4(o)のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5 $^{\circ}$ C 以下の冷蔵庫で保存する。

2.4.6.7 2 µg/mL 標準溶液

7.2 の標準原液 B (20 µg/mL) を 2.4.4(h) のピストン式ピペットを用いて 100 µL 採り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、6.3 の HPLC 試料用溶媒を 2.4.4(h) のピストン式ピペットを用いて 900 µL 量り取り、同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を 2.4.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.4.4(n) のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.4.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5 °C 以下の冷蔵庫で保存する。

又は、標準原液 C の一部を 2.4.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.4.4(n) のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.4.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5°C 以下の冷蔵庫で保存する。

2.4.6.8 1 µg/mL 標準溶液

2.4.7.2 の標準原液 B (20 µg/mL) を 2.4.4(h) のピストン式ピペットを用いて 50 µL 採り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、2.4.6.3 の HPLC 試料用溶媒を 2.4.4(h) のピストン式ピペットを用いて 950 µL 量り取り、同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を 2.4.4. (m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.4.4(n) のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.4.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5 °C 以下の冷蔵庫で保存する。

2.4.6.9 0.4 µg/mL 標準溶液

7.3 の標準原液 C (2 µg/mL) を 2.4.4(h) のピストン式ピペットを用いて 200 µL 量り取り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、2.4.6.3 の HPLC 試料用溶媒を 2.4.4(h) のピストン式ピペットを用いて 800 µL 量り取り、同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を 2.4.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.4.4(n) のディスポーザブルシリンジに移し、ろ液を 2.4.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5 °C 以下の冷蔵庫で保存する。

2.4.6.10 0.2 µg/mL 標準溶液

7.3 の標準原液 C (2 µg/mL) を 2.4.4(h) のピストン式ピペットを用いて 100 µL 量り取り、5 mL 試験管等の容器に入れる。次に、2.4.6.3 の HPLC 試料用溶媒を 2.4.4(h) のピストン式ピペットを用いて 900 µL 量り取り、同じ 5 mL 試験管等の容器に入れ、試験管ミキサー等を用いてよく攪拌する。得られた溶液の一部、又は全部を 2.4.4(m) のカートリッジ式メンブランフィルターが装着された 2.4.4(n) のディスポーザブルシリンジに

移し、ろ液を 2.4.4(o) のバイアルに受ける。直ちに HPLC 測定に用いない場合は、5 °C 以下の冷蔵庫で保存する。

2.4.8 測定

2.4.8.1 抽出

- (a) 木材試料 1 g を 0.1 mg の桁まで量り取り、2.4.4(j) の 30 mL 容のねじロサンプル瓶に入れる。次に、2.4.5(b) のアセトニトリルを 2.4.4(a) の 20 mL 全量ピペットまたは 2.4.4(d) のピストン式ディスペンサを用いて 20mL 量り取り、ねじロサンプル瓶に加える。
- (b) スクリューキャップをした後、(a) のねじロサンプル瓶の重さを量り記録する。
- (c) (b) のねじロサンプル瓶を水の入った 4. (s) の超音波洗浄機に浸け、超音波を発生させた状態をのべ 2 時間継続することで抽出を行う。この際、水温が 20 °C 以上で 40°C を超えないように管理する（例えば、30 又は 45 分ごとに槽内の水を入れ替えるなど）。また、抽出中、数回、ねじロサンプル瓶を激しく振り混ぜる。
- (d) 抽出後、(c) のねじロサンプル瓶を取り出し、表面についた水をふきとった後、ねじロサンプル瓶の重さを測り記録する。(c) の記録と比較し抽出前後の変化を確認し、記録する。
- (e) (d) のねじロサンプル瓶内の溶液が十分冷めたことを確認した後、一回激しく振り、5 分間静置する。
- (f) 静置後、(e) のサンプル瓶内の溶液の一部、又は全部を 2.4.4 (m) のカートリッジ式メンブレンフィルターが取り付けられた 2.4.4(n) の 30 mL のディスポーザブルシリンジに移し、上部からピストンで圧力をかけてろ過し、ろ液を 2.4.4(j) の 20 または 30 mL 容のねじロサンプル瓶に受け、これを抽出溶液とする。
** サンプル瓶内のすべての溶液をろ過する必要はない（概ね 10mL 以上のろ液を回収できればよい。多量の本粉がシリンジ内に混入すると、ピストンに過大な圧力がかかるため、出来るだけ本粉がシリンジ内に入らないように溶液を移す）*

2.4.8.2 分散型固相抽出

- (a) 2.4.8.1(f) の抽出溶液 1.6 mL を 2.4.4(h) のピストン式ピペットを用いて採り、2.4.4(1) の分散型固相抽出チューブに入れる。
** 100 μ L ~ 1000 μ L を含むピストン式ピペットを用いて、800 μ L で 2 回採るなど。*
- (b) (a) のチューブを密栓し、延べ 40 秒 ~ 1 分間振とうする。
- (c) (b) のチューブを 2.4.4(aa) の遠心分離機を用いて、3000rpm で 10 分間遠心分離を行い、2.4.4(h) のピストン式ピペットを用いて 1000 μ L を採り減圧濃縮又は窒素吹付けにより乾固する。

2.4.8.3 HPLC 注入用試料溶液の調製

- (a) 2.4.6.3 の HPLC 試料用溶媒を 2.4.4(a) の全量ピペット又は 2.4.4(h) のピストン式ピペットを用いて 1000 µL 採り，乾固物を再溶解する。不溶物がある場合は，2.4.4(s) の超音波洗浄器を用いて 10 秒間程度超音波をかけて溶解させる。溶解後，試験管ミキサー等を用いて十分に攪拌する。不溶物により白濁する場合は，この行程を 2 回以上行う。
- (b) (a) の溶液の一部又は全部を 2.4.4 (m) のカートリッジ式フィルターが取り付けられた 2.4.4(n) のディスポーサブルシリンジでろ過し，2.4.4(o) の HPLC 用バイアルに全量受ける。これを HPLC 注入用試料溶液とする。

*HPLC 注入用試料溶液は原則として，調製した当日に HPLC による測定を行う。当日に測定を行うことができない場合は，5℃以下の冷蔵庫で保存し，調製後 3 日以内に HPLC による測定を行う。保存した HPLC 注入用試料溶液は，測定日に室温に戻し，転倒混和等によって混合する。

2.4.8.4 含水率の測定

- (a) 木材試料 1g を 0.1 mg の桁まで量り取り，2.4.4(q) ひょう量管に入れ 103±2℃の恒温器で恒量（全乾状態）になるまで乾燥する。なお，全乾状態とは，人工乾燥を行った処理材の場合は，103±2℃で 48 時間乾燥した状態にあること，また，人工乾燥を行っていない処理材については，103±2℃で乾燥し，一定時間（6 時間以上とする。）ごとに測定したときの質量の差が試験片の質量の 0.1 %以下の状態にあることをいう。

*24 時間の乾燥で十分である。

- (b) デシケータ内で室温になるまで放置後（*30～40 分程度），乾燥後の重さを測定する。吸湿による誤差を少なくするため，ひょう量管に蓋をしてデシケータ内に入れ，蓋をしたままデシケータから取り出し重さを測定する。
- (c) 下記の式に従い含水率を求める。配布試料につき繰返し 2 回測定し，その平均値（Z）を求める。

$$\text{含水率}(\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100$$

m0： ひょう量管の容器（蓋込み）の重さ（g）

m1： 乾燥前の木粉試料を含む耐熱性の容器（蓋込み）の重さ（g）

m2： 乾燥後の木粉試料を含む耐熱性の容器（蓋込み）の重さ（g）

*含水率（Z）はウェットベース

2.4.9 高速液体クロマトグラフ（HPLC）による測定

2.4.9.1 測定条件の設定

HPLC の取扱説明書に従い，以下の測定条件を設定する。

測定条件

- (a) カラム（HPLC 用）： 2.4.4(y) において指定したもの

(b) ガードカラム (HPLC 用) : 2.4.4(y)において指定したもの

(c) 移動相 : 6.1 および 6.2 において指定したもの

*イミダクロプリドの溶出時間後 1 分程度までは 6.1 の移動相 A を用いる。次に、1～2 分程度かけて移動相 B に切り替えて 6 分以上送液する。次に、1～2 分程度かけて移動相 A に切り替えた後、7 分以上送液しカラムを平衡化させる。表 1 は保持時間が 10 分の場合のグラジエントプログラム例。*なお、2.4.9.3(a) HPLC 用標準溶液の測定の場合はグラジエントプログラム用いず、移動相 A を用いた分析でもよい。

表 1 イミダクロプリドの保持時間が 10 分の場合のグラジエントプログラム例		
時間 (分)	移動相 A	移動相 B
0	100%	0%
11	100%	0%
12	0%	100%
18	0%	100%
19	100%	0%
26	100%	0%

(d) カラム温度 : 40 °C

(e) 測定波長 : 270 nm

(f) 流量 : 0.5 mL/min (使用するシステムに応じ、分析結果に影響しない範囲で変更可とする (0.4 mL/min～1.0 mL/min))

(g) 注入量 : 2 μ L～5 μ L

*冷却機能を持つ自動試料導入装置を使用する場合、設定温度は 20°Cとする。

2.4.9.1 HPLC の性能確認

測定は、以下の項目について確認した後に行う。

(a) ベースラインの安定性

設定した測定条件で作動させたとき、ベースラインの変動が測定に支障がないことを確認する。

(b) 定量限界

0.2 μ g/mL 標準溶液を測定したとき、イミダクロプリドのシグナルが、ノイズの 10 倍以上であることを確認する。10 倍未満の場合、試料導入量を 10 μ L の範囲までで増やし確認し、条件を満たした試料導入量で測定を行う。

ノイズ : ピークの前後におけるベースラインの、ピーク半値幅の 20 倍の間における出力信号の最大値と最小値の差の振れ幅の 1/2 をノイズとする。

シグナル : ノイズの最大値と最小値との中間をベースラインとし、ベースラインから

ピークトップまでの高さをシグナルとする。JIS K 0124 を参照。

2.4.9.2 測定

(a) HPLC 用標準溶液の測定

2.4.7 の標準溶液 (100 µg/mL, 40 µg/mL, 20 µg/mL, 10 µg/mL, 4 µg/mL, 2 µg/mL) を HPLC により測定する。得られたクロマトグラムについて、データ処理装置により積分を行う。データ処理装置の自動積分機能等によりピーク面積を求める場合は、濃度等によりベースラインの引き方やピークの切り方等が異なることがあるため、クロマトグラムの拡大機能等を用いて積分が適切に行われていることを確認する。積分が適切に行われていない場合は、手動により修正する。

(b) 検量線の作成

標準溶液の濃度を横軸 (x) に、(a)において求めた HPLC 用標準溶液のピーク面積を縦軸 (y) にして、原点を含めない直線回帰の検量線 ($y = a + bx$) を作成する。作成した検量線の直線性を目視により確認するとともに、相関係数 (R) が 0.995 以上である場合は適切な検量線であると判断し、試料溶液の濃度の算出に用いる。

(c) HPLC 注入用試料溶液の定量

(a) の HPLC 用標準溶液の測定と連続して、8.4(b)の HPLC 注入用試料溶液を HPLC により測定する。標準溶液のイミダクロプリドの保持時間と一致したピークを、イミダクロプリドと同定する。得られたクロマトグラムについてデータ処理装置により積分を行い、イミダクロプリドのピーク面積を求める。(a)の HPLC 用標準溶液と同様に、積分が適切に行われていることを確認し、必要に応じて修正する。また、分析ランの管理として、試料 5 点ごとに標準液 (10 µg/mL) を 1 回測定し、イミダクロプリドのピーク面積の最小値及び最大値が平均値 (最小値と最大値の和を 2 で除したもの) の 90 ~ 110% であることを確認する。ピーク面積の最小値及び最大値が平均値の 90 ~ 110% の範囲に入らない場合は、再測定を行う。イミダクロプリドのピークに試料由来の夾雑ピークが近接している場合は、次のとおりとする。

二つのピークの大きさがほぼ等しい場合、ピークの谷から時間軸に下ろした垂線によってベースライン上のピークを二つに分割し、ピーク面積を求める。

大きなピークのテーリング又はリーディングに重なった小さなピークの場合、ピークの谷と大きなピークの裾とを結ぶ接線上の部分をピーク面積とする。JIS K 0124 を参照。

(b) で作成した検量線を用いて(c)の HPLC 注入用試料溶液のイミダクロプリドの濃度 (µg/mL) を求める。このとき、HPLC 注入用試料溶液のイミダクロプリド濃度が、(a)の標準溶液の濃度を超えた場合は、全量ピペット又はピストン式ピペット及び全量フラスコを用いて HPLC 注入用試料溶液を標準溶液 (40 µg/mL) の濃度以下となるように希釈し、再度(a) (b)及び HPLC 注入用試料溶液の測定を行う。

2.4.10 計算

次式により、木材試料および絶乾木材試料中のイミダクロプリド量 (μg/g) を算出する (絶乾木材試料中のイミダクロプリド量は小数第5位を四捨五入し第4位まで求める)。計算はパソコンや電卓を用いて行い、計算途中では数値を丸めない。

$$\text{木材試料中のイミダクロプリド量 (μg/g)} = \frac{X \times 20}{Y}$$

$$\text{絶乾木材試料中イミダクロプリド量 (μg/g)} = \frac{X \times 20}{Y \times \left(1 - \frac{Z}{100}\right)}$$

X : HPLC 注入用試料溶液のイミダクロプリド濃度

Y : 抽出に用いた木材試料の量 (g)

Z : 木材試料の含水率 (%)

第3章 配布用試料の調製と均質性の評価

3.1 配布用試料の調製

現行の JAS で規定されている木材保存剤のうち CYP を有効成分とするものは、銅・アゾール化合物系 (CUAZ)、アゾール・ネオニコチノイド化合物系 (AZN) である。CYP の測定用の配布用試料の作製には、これらの薬剤の加圧注入処理を行った試験材料を用いた。一方、TEB を有効成分とするものは、アゾール・第四級アンモニウム・ネオニコチノイド化合物系 (AZNA) のみであるため、これを用いて試験材料の加圧注入処理を行った。上記の木材保存剤のうち AZN と AZNA は IMD も有効成分として含んでおり、その他に IMD を有効成分とする薬剤がないことから、CYP 用のうち AZN で処理した配布用試料と TEB 用の配布用試料を組合わせて IMD 用の配布用試料とした。

配布用試料には均質性が求められることから、加圧注入処理により浸潤むらが生じにくくなるよう、試験材料にはある程度の大きさにカットしたものをを用いた。グループ 2 に属する有効成分を使用した木材保存剤は、現行の JAS における K2~K4 の性能区分について吸収量が規定されている。配布用試料の濃度レベルは K2~K4 の濃度範囲を包含することを目標に設定した。CYP は CUAZ と AZN に用いられているが、JAS で規定されている吸収量と JIS K1570 で規定されている有効成分の配合比から計算したところ、同じ性能区分の CYP の吸収量は CUAZ の方が少ない。そこで、CYP の吸収量が低い配布用試料用には 3 段階の濃度レベルで CUAZ を加圧注入処理した試験材料を、吸収量が高い配布用試料には 3 段階の濃度レベルで AZN を加圧注入処理した試験材料を用いた。

TEB を有効成分とする木材保存剤は AZNA のみであるので、これを用いて 4 段階の濃度レベルの加圧注入処理を行った。IMD としての吸収量は AZNA の方が AZN よりも低いことから、AZNA で処理した配布用試料のうち濃度が低い 3 レベルのものと AZN で処理した 3 段階の濃度レベルものを IMD 用の配布用試料とした。加圧注入処理に用いる試験体にはいくつかの樹種・木質材料を混在させた。各濃度レベルの試験材料についてマテリアル名を付した (表 3.1)。

処理後十分に乾燥させた試験材料を裁断し、カッター式ミルを用いて目開き 2 mm のふるいを通すように粉碎した (写真 3.1)。得られた粉碎物を帯電防止のジップ式袋に小分けしたものをマテリアル毎 100 個用意し、配布用試料とした。100 個の配布用試料のうちから 10 個を無作為に抽出し、配布用試料の均質性の評価に用いた。

表 3.1 配布用試料の作製のための試験材料の情報

有効成分	マテリアル名*	基材	目標レベル	処理時のおおよその形状
CYP	マテリアル C1	カラマツ合板	<K2 (CUAZ)	断面 12×78, 長さ 250 mm
	マテリアル C2	ベイツガ	K2~K3 (CUAZ)	断面 24×76, 長さ 300 mm
	マテリアル C3	ヒノキ	K3~K4 (CUAZ)	断面 25×80, 長さ 300 mm
	マテリアル C4	カラマツ合板	K2< (AZN)	断面 12×130, 長さ 300 mm
	マテリアル C5	スギ	K3~K4 (AZN)	断面 24×106, 長さ 330 mm
	マテリアル C6	ヒノキ	K4< (AZN)	断面 24×106, 長さ 290 mm
TEB	マテリアル T1	ヒノキ	<K2	断面 23×77, 長さ 300 mm
	マテリアル T2	ベイツガ	K2~K3	断面 24×76, 長さ 300 mm
	マテリアル T3	スギ	K3~K4	断面 23×78, 長さ 300 mm
	マテリアル T4	ヒノキ	K4<	断面 23×77, 長さ 300 mm

* マテリアル C4~C6 と T1~T3 は IMD の配布用試料としても使用した。

3.2 配布用試料の均質性の確認

3.2.1 均質性の評価方法

配布用試料の均質性の評価は食品分野の試験方法の JAS 等で用いられている “IUPAC の技能試験のハーモナイズドプロトコル”³⁾ に準拠して実施した。各薬剤・濃度レベルにつき抜き出した 10 個の配布用試料について、1 個当たり併行 2 回の吸収量の測定を実施し、一元配置分散分析（危険率 5%）によってその均質性を確認した。

3.2.2 シプロコナゾールおよびテブコナゾールの配布用試料の均質性の評価結果

配布用試料の均質性の確認のために行った測定のうち CYP の結果を図 3.2 に、TEB の結果を図 3.3 に示す。外れ値の検出のため、コクラン検定を行ったところ、マテリアル C1 を除き、外れ値は検出されなかった。マテリアル C1 を除き、測定結果を一元配置分散分析（危険率 5%）により評価したところ、すべて均質であると判断された。マテリアル C1 について、外れ値となった配布用試料の結果を除きコクラン検定を行ったところ、外れ値は検出されなかった。また、一元配置分散分析（危険率 5%）の結果から均質であると判断された。

目標とした濃度レベルと測定結果を比較すると、TEB 用の配布用試料の濃度レベルが目標よりも高く、最も低い濃度レベルが K3 相当であった。そのため、目標とする濃度レベルを達成するためには、新たに配布用試料を調製する必要があった。しかし、TEB を有効成分とする木材保存剤が AZNA のみであり、主に屋外で使用する木材に用いられていることを考慮し、TEB についても調製済みの配布用試料を用いて共同試験を実施することとした。



写真 3.1 加圧注入処理を行った試験材料の例（左：製材，右：合板）



図 3.1 配布用試料の調製

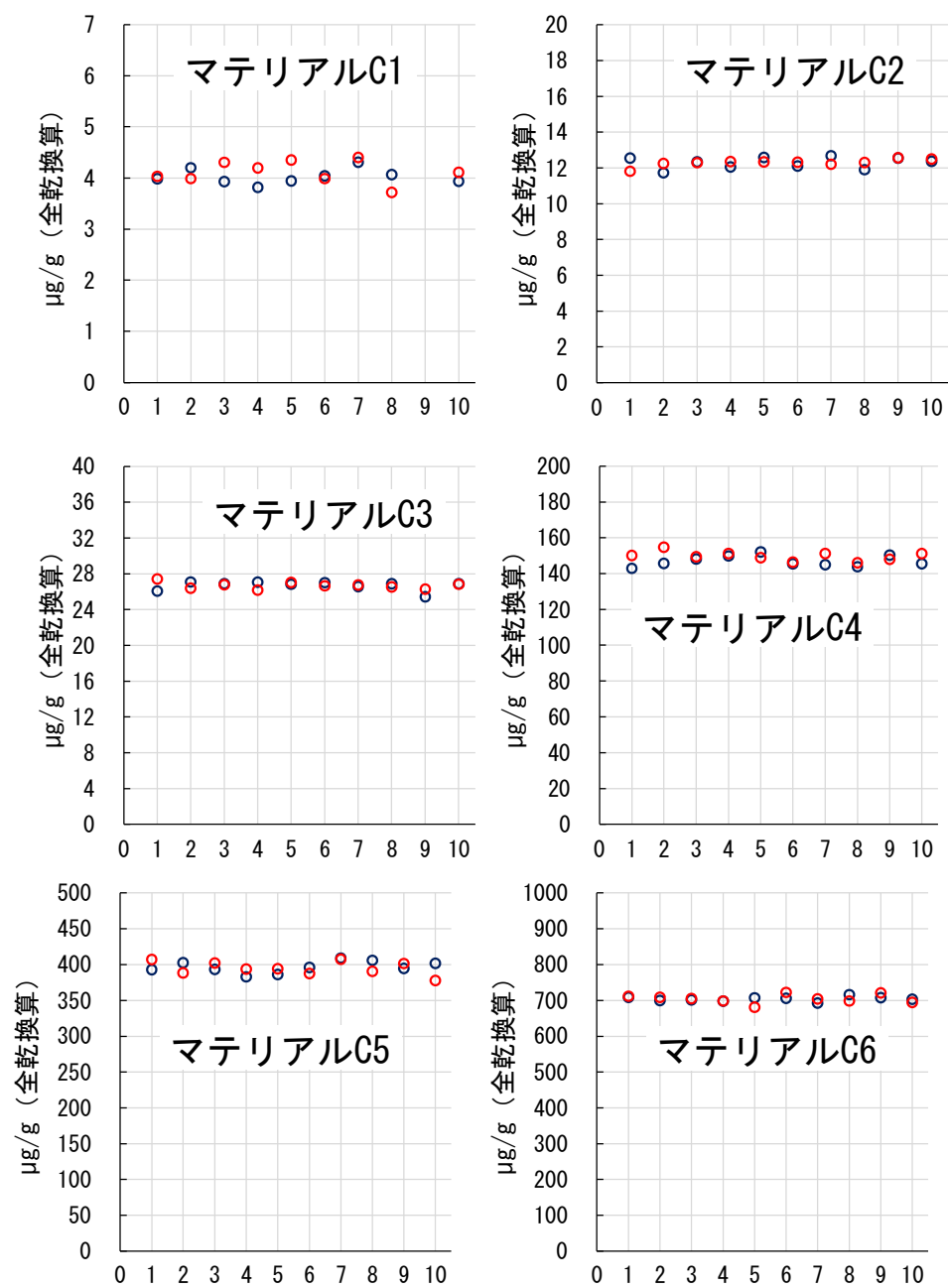


図 3.2 均質性確認のための CYP の測定結果

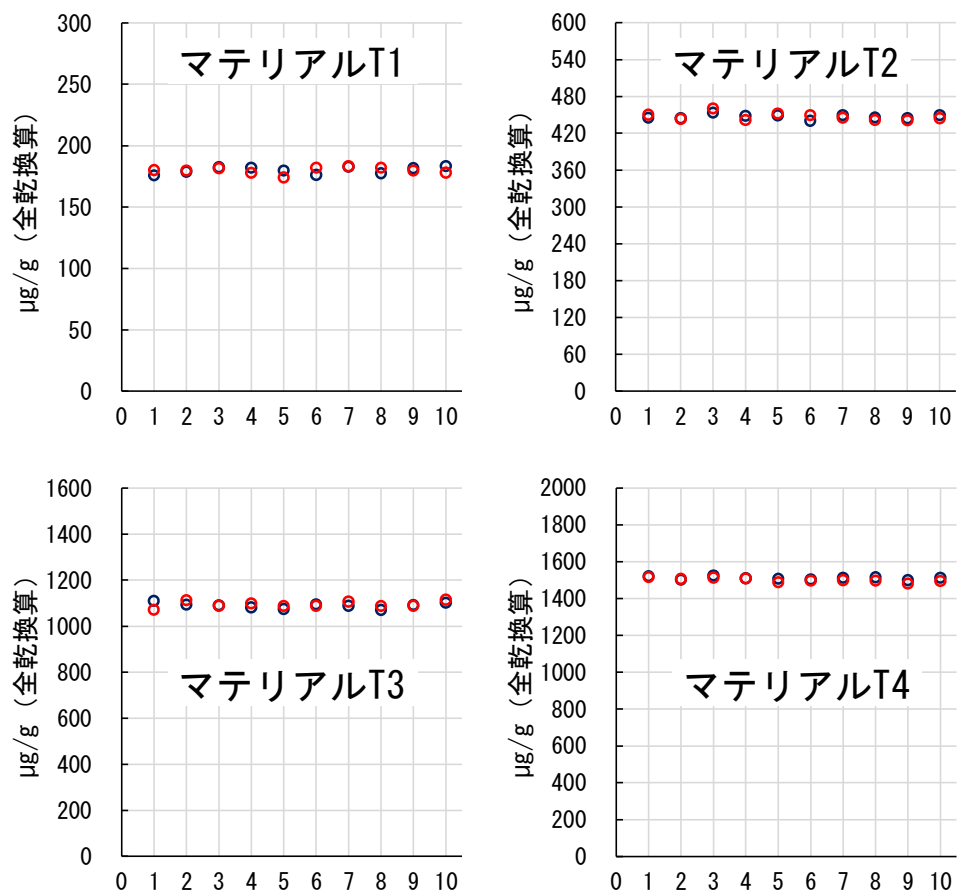


図 3.3 均質性確認のための TEB の測定結果

第4章 室間共同試験

4.1 実施方法

参加試験室（参加試験室数は9）には、CYPの測定用としてマテリアルC1～C6およびT1～T4から無作為に抽出された3袋の配布用試料を送付した。各試験室では、濃度非明示でランダムな番号を付した状態で送付されたCYP用の18袋（3袋×6濃度レベル）、TEB用の12袋（3袋×4濃度レベル）について手順書に従った測定を実施し、所定の様式を用いて報告することとした。

4.2 統計量と精度指標の算出

各試験室から報告された測定値を集約し、各種統計量を算出した^{7,9,10,11)}。ここで、あるマテリアルの配布用試料についての測定結果を x_{ij} （試験室 i における j 番目の結果）とし、下記の①～⑪を求めた。また、各試験室の結果についてマンデルの検定統計量 k （下記⑥）と h （下記⑦）を求めた。 k と h の危険率0.5%の棄却限界値により外れ値を検出し、外れ値を除いた試験室で再計算し、最終的な結果とした。なお、下記の式で n は併行回数を、 p は計算に用いた試験室数を示す。

①試験室 i の平均 $(\bar{x}_i) = \sum_j x_{ij} / n$

②試験室 i の標準偏差 $(S_i) = \sqrt{\sum_j (x_{ij} - \bar{x}_i)^2 / (n - 1)}$

③試験室の平均の平均（総平均、 $\bar{\bar{x}} = \sum_i \bar{x}_i / p$ 、

④試験室の平均の標準偏差 $(S_{\bar{x}_i}) = \sqrt{\sum_i (x_{i.} - \bar{\bar{x}})^2 / (p - 1)}$

⑤併行標準偏差 $(s_r) = \sqrt{\sum_i S_i^2 / p}$

⑥試験室 i のマンデルの k $k_i = S_i / S_r$

⑦試験室 i のマンデルの h $h_i = (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}}) / S_r$

⑧室間の標準偏差 $(S_L) = S_{\bar{x}_i}^2 - S_r^2 / n$

⑨室間再現標準偏差 $(S_R) = \sqrt{S_r^2 + S_L^2}$
($s_{\bar{x}_i}^2 - s_r^2 / n$ が負の場合は0とする)

⑩併行許容差 $= 2.8 \times S_r$

⑪室間再現許容差 $= 2.8 \times S_R$

⑫HorRat $= RSD_R / PRSD_R$ ここで、 RSD_R (室間再現相対標準偏差、%) $= S_R / \bar{\bar{x}} \times 100$

$$PRSD_R(RSD_Rの予測値、\%) = 2 \times C^{-0.1505}$$

C は $\bar{\bar{x}}$ の質量分率、上式は今回の濃度範囲の場合

以下に、上記のうちいくつかの数値について説明を加える。

⑦併行標準偏差(s_r)：併行条件*で得られた分析値又は測定結果の標準偏差

*併行条件とは同一と見なされる試料の分析において、短時間に、同じ分析者が、同じ試験室で同じ機器を用いて、同一の試験・測定項目について同じ分析法を用いて、独立した分析値・測定結果を得る観測条件。

⑨室間再現標準偏差(s_R)：再現条件**で得られた分析値・測定結果の標準偏差。

**再現条件とは同一と見なされる試料の分析において、異なる分析者が、異なる試験室で異なる機器を用いて、同一の試験・測定項目について同じ分析法を用いて、独立した分析値・測定結果を得る観測条件。

⑩併行許容差：併行条件で得られた 2 つの測定結果の差が、この値を超えると、危険率 5%で有意差ありと判定される。

⑪室間再現許容差：再現条件で得られた 2 つの測定結果の差が、この値を超えると、危険率 5%（両側）で有意差ありと判定される。

⑫HorRat：室間共同試験の国際的なガイドラインのひとつである AOAC のガイドライン¹¹⁾で、測定方法が妥当であるかどうかの判断に用いられている値で、 $0.5 < \text{HorRat} \leq 2.0$ であれば、その測定方法が妥当であると判断することとしている。IUPAC のガイドライン¹⁰⁾では、HorRat は妥当性の判断基準とされていないが、客観的な判断材料として有用であることから、食品分野の試験方法の JAS でも参考されている^{4, 5, 7)}。

4.3 室間共同試験の結果

4.3.1 CYP の室間共同試験の結果

各試験室から報告された CYP の測定結果（図 4.1）について、外れ値（試験室）の検出を行った。ASTM E691⁶⁾ではマンデルの k と h が外れ値の検討に用いられる。前者は試験室内のばらつき、すなわち、同じマテリアルの併行間での測定結果ばらつきの大きさを反映することから「室内一致性」と呼ばれる。後者は、同じマテリアルの測定結果について、他の試験室の結果（総平均）と比較してどの程度違うかを表すものであり「室間一致性」と呼ばれる。ASTM E691 では k と h について危険率 0.5%の棄却限界値が示されており、本事業でもこの棄却限界値を外れ値の判断基準とした。CYP の測定結果から算出されたマンデルの k と h を図 4.3 に示す。試験室 8 のマテリアル C1、試験室 1 のマテリアル C4 および試験室 2 のマテリアル C5 の測定結果の k が棄却限界値を超えていた（図 4.3、点線は棄却限界値）。また、試験室 2 のマテリアル C1 と C4 の測定結果の h が棄却限界値を超えていた。いくつかの測定値が外れ値として検出されたが、外れ値に該当する試験室の結果を除外した場合としない場合について、各種統計量および精度指標を算出した（表 4.1）。また、得られた精度指標について客観的な評価を行うため、食品分野の試験方法の JAS で妥当性の判断に用いられている HorRat^{4, 5, 7)}を算出した（表 4.1）。

ここで、HorRat についての説明を加える。AOAC で実施された多くの室間共同試験の結果、測定値の平均と室間再現標準偏差から算出される室間再現相対標準偏差は、分析種や定量分析方法などに関わらず濃度の変数になっていることが報告されるとともに、室間再現相

対標準偏差の予測式が示されている(4.2⑫参照)。この予測値と室間共同試験で得られた室間再現相対標準偏差の比が HorRat である(4.2⑫参照)。AOAC のガイドライン¹¹⁾では、 $0.5 < \text{HorRat} \leq 2.0$ であれば、その測定方法が妥当であると判断することとしている。IUPAC のガイドラインでは、HorRat を妥当性の判断基準とはしていないが、客観的な判断材料として有用であることから、食品分野の試験方法の JAS でも参考にされている^{4,5,7)}。

室間共同試験の結果から算出された HorRat は、マテリアル C1 の測定結果について外れ値を除かない場合以外は、 $0.5 < \text{HorRat} \leq 2.0$ を満たしていた。CYP の濃度が最も低いマテリアル C1 においても、外れ値を除いた場合の HorRat は $0.5 < \text{HorRat} \leq 2.0$ を満たしていた。また、マテリアル C4 と C5 においては、外れ値と判定された測定結果を除かずとも HorRat が上記条件を満たしていたことから、この測定方法は極端な異常値が出にくい方法であると考えられた。また、配布用試料の作製に用いた試験材料の密度から単位体積当たりの有効成分量としての吸収量を計算したところ、最も濃度の低い CUAZ の K2 から最も濃度の高い AZN の K4 の範囲を含んでいた。以上のことから、CYP の吸収量の測定方法は妥当であると判断された。

4.3.2 TEB の室間共同試験の結果

各試験室から報告された TEB の測定結果を図 4.3 に、測定結果から算出されたマンデルの k と h を図 4.4 に示す。TEB の測定結果では、マンデルの統計量が棄却限界値を超える試験室は試験室 1 のみで、マンデルの k はマテリアル T1~T4 のすべてで、 h は T2 で棄却限界値を超えていた。表 4.2 に、外れ値と判断された試験室の結果を除外した場合としない場合の各種統計量、精度指標、HorRat を示した。

室間共同試験の結果から算出された HorRat は、外れ値を除かない場合も含め、すべて $0.5 < \text{HorRat} \leq 2.0$ を満たしていた。外れ値として検出された測定値は試験室 1 の測定結果のみで、すべてのマテリアルの測定結果でマンデルの k が棄却限界値を超えていた。前述のとおりマンデルの k は併行間のばらつきに関する検定統計量であるが、図 4.3 から試験室 10 の測定結果が他の試験室のそれよりも大きい傾向が伺えた。その要因については、精査する必要があるが、外れ値を除外しない場合でも $0.5 < \text{HorRat} \leq 2.0$ を満たしていたことから、この測定方法は極端な異常値が出にくい方法であると考えられた。また、配布用試料の作製に用いた試験材料の密度から単位体積当たりの有効成分量としての吸収量を計算したところ、いずれのマテリアルも目標としていた TEB の濃度よりも高く最も濃度の低いもので、AZNA の K3 の濃度レベルであった。以上のことから、検証した TEB の吸収量の測定方法は K3 以上の濃度に対して妥当であると判断された。

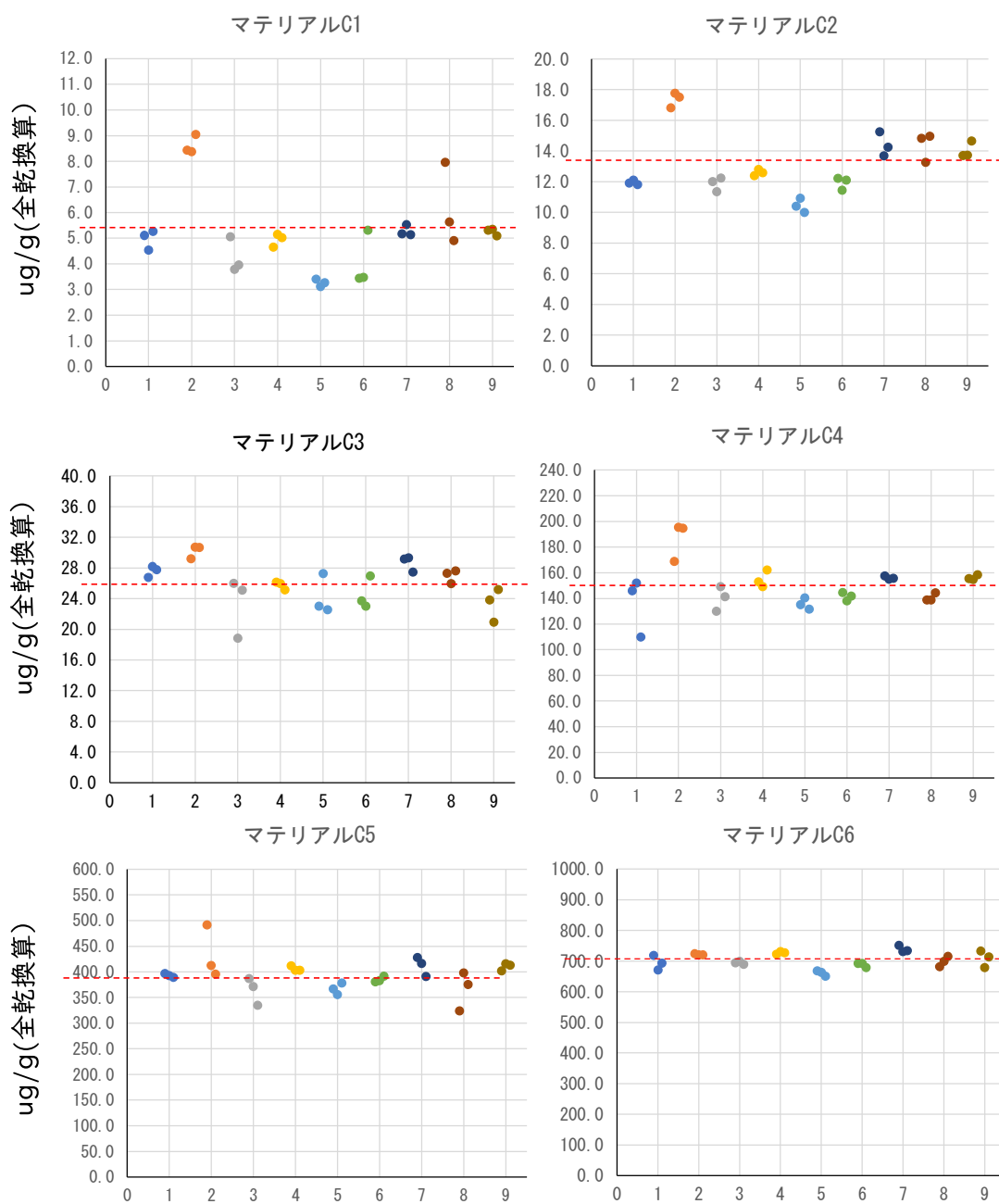


図 4.1 参加試験室による CYP の吸収量の測定結果(併行 3 回)

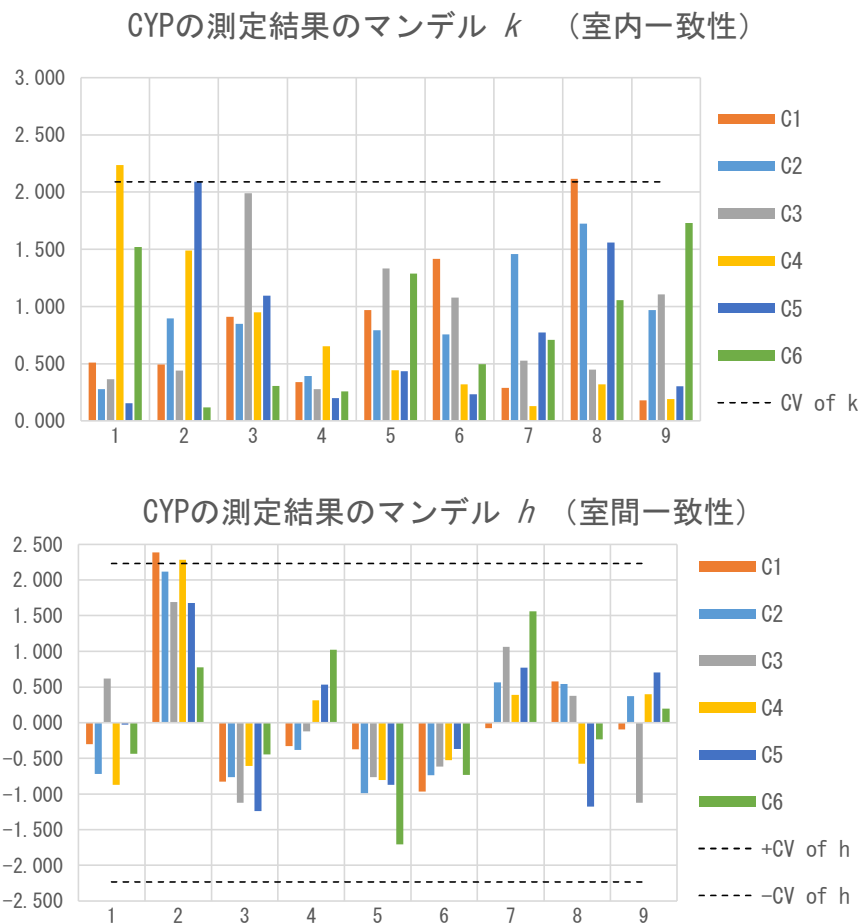


図 4.2 CYP の測定結果の各試験室のマンデルの k (上)および h (下)

*横軸に平行な点線は棄却限界値(危険率 0.5%)を示す

表 4.1 シプロコナゾール含有量試験の精度指標

マテリアル名	C1*3	C1	C2	C3	C4*3	C4	C5*3	C5	C6
参加試験室数	9	9	9	9	9	9	9	9	9
採択された試験結果の数	8	9	9	9	8	9	8	9	9
CYP 濃度の平均値, $\mu\text{g/g}$	4.98	5.4	13.4	26.0	152	150	389	394	704
併行標準偏差 S_r , $\mu\text{g/g}$	0.79	0.8	0.53	2.0	7	10	19	24	16
併行相対標準偏差 RSD_r , %	15.8	14.0	3.9	7.5	4.7	6.8	4.8	6.2	2.2
併行許容差 r ($r=2.8 S_r$), $\mu\text{g/g}$	2.2	2.1	1.5	5.5	20	28	52	68	44
室間再現標準偏差 S_R , $\mu\text{g/g}$	0.91	1.5	1.9	2.9	17	18	25	31	26
室間再現相対標準偏差 RSD_R , %	18	28	14	11	11	12.0	6.4	7.9	3.6
室間再現許容差 R ($R=2.8 S_R$), $\mu\text{g/g}$	2.5	4.2	5.2	8.2	48	50	69	87	72
Horwitz-Predicted RSD_R (%) ^{*1}	12.6	12.4	10.8	9.8	7.5	7.5	6.5	6.5	6.0
HorRat ^{*2}	1.5	2.2	1.3	1.1	1.5	1.6	1.0	1.2	0.6

*1 $\text{Horwitz-Predicted } RSD_R(\%) = 2 \times (\text{平均値} \times 10^{-6})^{-0.1505}$

*2 $RSD_R / \text{Predicted } RSD_R$

*3 外れ値を除いた場合の結果

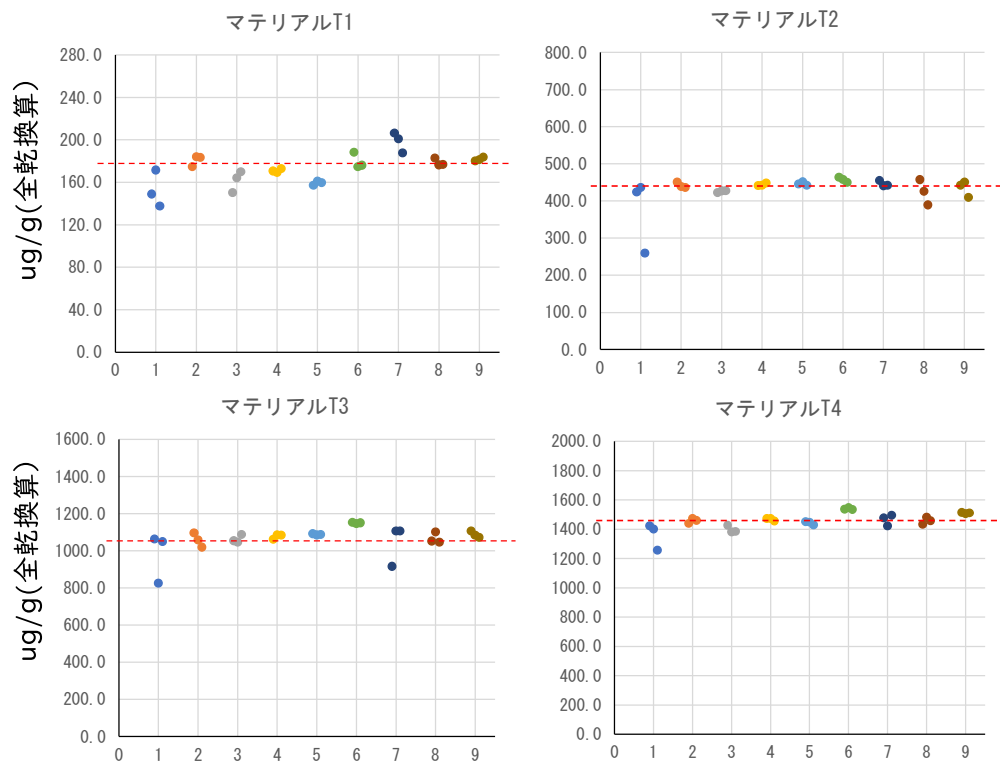


図 4.3 参加試験室による TEB の測定結果(併行 3 回)

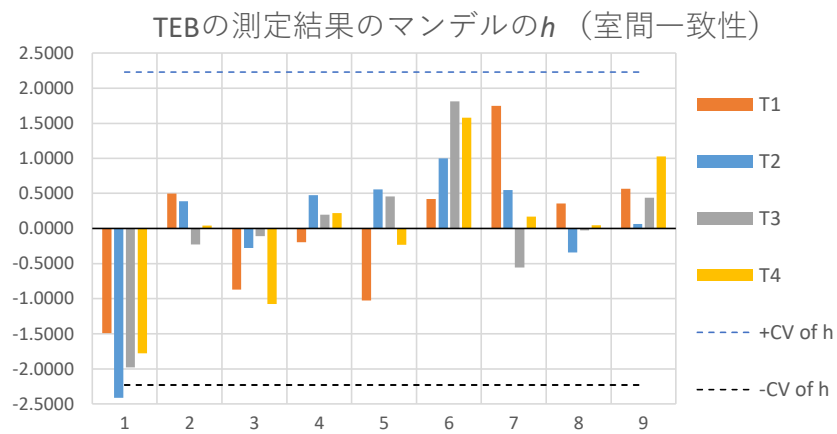
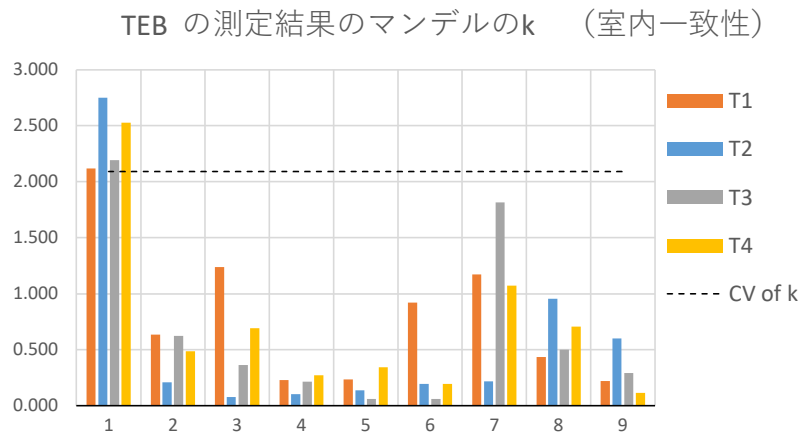


図 4.4 TEB の測定結果の各試験室のマンデルの k (左)および h (右)

*横軸に平行な直線は棄却限界値(危険率 0.5%)を示す

表 4.2 テブコナゾールの測定方法の精度指標

試料識別	T1* ³	T1	T2* ³	T2	T3* ³	T3	T4* ³	T4
参加試験室数	9	9	9	9	9	9	9	9
採択された試験結果の数	8	9	8	9	8	9	8	9
TEB 濃度の平均値, $\mu\text{g/g}$	178	176	440	433	1079	1068	1468	1456
併行標準偏差 S_r , $\mu\text{g/g}$	6.3	8.3	15	36	44	61	20	36
併行相対標準偏差 RSD_r , %	3.5	4.7	3.5	8.3	4.1	5.7	1.4	2.5
併行許容差 $r(r=2.8 S_r)$, $\mu\text{g/g}$	17.6	23.2	43	100	124	170	57	100
室間再現標準偏差 S_R , $\mu\text{g/g}$	12	15	17	38	48	67	46	61
室間再現相対標準偏差 RSD_R , %	6.6	8.4	3.8	8.8	4.5	6.3	3.1	4.2
室間再現許容差 $R(R=2.8 S_R)$, $\mu\text{g/g}$	33	41	47	107	135	188	128	171
Horwitz-Predicted $RSD_R(\%)$ * ¹	7.3	7.3	6.4	6.4	5.6	5.6	5.3	5.3
HorRat* ²	0.9	1.1	0.6	1.4	0.8	1.1	0.6	0.8

a Horwitz-Predicted $RSD_R(\%) = 2 \times (\text{平均値} \times 10^{-6})^{-0.1505}$

b $RSD_R / \text{Predicted } RSD_R$

c 外れ値を除いた場合の結果

第5章 まとめ

本事業では、木材保存剤の有効成分の吸収量の測定方法を JAS 化することを目的とし、製材の JAS 等で対象とされている木材保存剤の有効成分を 4 つのグループに分け（表 1.1）、その吸収量の測定方法について室間共同試験による妥当性の検証を実施している。令和 4 年度事業では、グループ 1 の第四級アンモニウム化合物に属する DDAC, BKC および DMPAP の測定方法について検証し、その妥当性を確認した。令和 5 年度事業では、グループ 2 のトリアゾール化合物に属するシプロコナゾール(CYP)とテブコナゾール(TEB)、ネオニコチノイド化合物に属するイミダクロプリド(IMD)の吸収量の測定方法について、室間共同試験を実施した。

CYP および TEB 用に調製した配布用試料については、すべての濃度レベルで均質性が確認された。また、配布用試料に含まれる CYP の濃度は、目標としたとおり K2~K4 濃度レベルを包含していたが、TEB の濃度は設定したレベルよりも高く、最も低いもので K3 相当の濃度レベルであった。しかし、TEB を有効成分とする木材保存剤が AZNA のみであり、主に屋外で使用する木材に用いられていること、新たに配布用試料を調製するためには長時間を要することから、TEB について調製した配布用試料を用いて共同試験を実施した。

参加試験室の測定結果を解析したところ、CYP と TEB の測定方法はいずれも妥当であると判断された。しかし、TEB については、配布用試料の濃度レベルが目標としていたものよりも高かったため、K3~K4 の濃度範囲において妥当であることが確認された。今後、K2 および K2 よりも低い濃度レベルの配布用試料を用いた室間共同試験を実施し、その妥当性を検証する必要がある。IMD については、参加試験室による測定を実施中であり、測定結果を集約・解析し妥当性を評価する予定である。

本事業の最終目的は、吸収量の測定方法を「試験方法の JAS」として新たに制定することであり、その早期実現に向けて測定方法の妥当性検証を順次進めている。そのため、通常 1 年程度を要する室間共同試験を、半年程度の期間で 3 つの測定方法に対して実施してきた。JAS 化を確実に進めるためには、これらの検証結果を基礎資料として十分に活用するとともに、これまでの検証結果を精査し、不足しているデータの有無を確認し、必要に応じて再試験を実施し、データを適切に蓄積することが不可欠である。このプロセスは、一見すると事業の進行を遅らせるように思われるかもしれない。しかし、スケジュールを適宜見直し、必要な検討を着実に進めることこそが、吸収量の測定方法の JAS 化を早期に実現するための鍵となる。本事業で得られた結果を基に、今後さらに室間共同試験を重ね、JAS 化を確実に推進していく。これにより、試験方法の統一化が進み、木材保存剤の信頼性向上と国際競争力の強化に貢献する。

参考文献

- 1) (公社)日本木材保存協会, JAS 規格化等のテーマに関する調査事業「JAS法改正に即した木材保存剤分析方法の規格化」成果報告書, 平成 30 年 2 月
- 2) (公社)日本木材保存協会, JAS 規格化等のテーマに関する調査事業「木材保存剤分析方法に関する JAS 規格策定」委託事業成果報告書, 平成 31 年 3 月
- 3) Thompson, M., et al., The International Harmonized Protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories, *Pure Appl. Chem.*, 78 (1), 145-196 (2006)
- 4) 法邑 雄司, 稗島 佑介, 児玉 貴志, 田中 真澄, 堀江 秀樹, 鈴木 忠直, 安井 明美, ベにふうき緑茶中のメチル化カテキン測定法の室間共同試験による妥当性確認, 日本食品科学工学会誌, 63(7), 312-318 (2016)
- 5) 熊谷 雅孝, 門倉 雅史, 水田 賢司, 田中 真澄, 生駒 吉識, 鈴木 忠直, 安井 明美, ウンシュウミカン中の β -クリプトキサンチン測定法の室間共同試験による妥当性確認, 日本食品科学工学会誌, 63(10), 450-454 (2016)
- 6) ASTM E691-23: Standard Practice for Conducting an Interlaboratory Study to Determine the Precision of a Test Method (2023)
- 7) 安井明美 編集委員長ほか. 食品分析法の妥当性確認ハンドブック : 最新版, サイエンスフォーラム (2010)
- 8) 宮内 輝久, 伊佐治 信一, 赤堀 裕一, 池田 学, 大澤 朋子, 中井 大二郎, 桃原 郁夫, 固相抽出-HPLC-UV 法によるタナリス CY 処理木材中のシプロコナゾールの定量分析, 木材保存, 33(5), 303-308 (2007)
- 9) (公社)日本木材保存協会, CLT 等新製品・新技術利用促進事業のうち耐久性等品質向上事業成果報告書, 平成 27 年 2 月 (2015).
- 10) Horwitz, W., Protocol for the design, conduct and interpretation of method - performance studies. *Pure Appl. Chem.*, 67, 331-343 (1995).
- 11) AOAC International., Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures to Validate Characteristics of a Method of Analysis. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL (22), AD-1-AD-12

令和5年度 林野庁補助事業

令和5年度 木材製品の消費拡大対策及び国内森林資源活用・
建築用木材供給力強化対策事業のうちCLT建築実証支援事業のうち
CLT等木質建築部材技術開発・普及事業

木材の保存処理性能の試験方法のJAS化のための妥当性検証事業
事業報告書

2025年（令和7年）2月

公益社団法人 日本木材保存協会