

※本報告書は、試験法開発における検討結果をまとめたものであり、試験法の実施に際して参考として下さい。  
なお、報告書の内容と通知または告示試験法との間に齟齬がある場合には、通知または告示試験法が優先することをご留意ください。

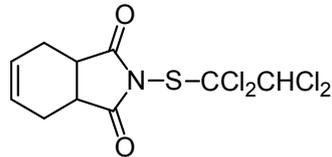
平成 20 年度

残留農薬等個別試験法開発  
カプタホール、キャプタン及びクロロタロニル 一式

カプタホール、キャプタン及びビクロタロニルに関する試験法（検討内容）

1. 構造式等

カプタホール



化学式：C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>Cl<sub>4</sub>NO<sub>2</sub>S

分子量：349.1

化学名（IUPAC）：N- (1,1,2,2-tetrachloroethylthio) cyclohex-4-ene-1,2-dicarboximide

外 観：無色結晶

融 点：159～161℃

溶解性：水 1.4 mg/L (20℃)

イソプロパノール 13、ベンゼン 25、トルエン 17、キシレン 100、

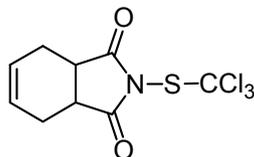
アセトン 43、メチルエチルケトン 44、ジメチルスルホキシド 170 (g/kg)

安定性：水懸濁液中で徐々に加水分解。酸、アルカリ存在下で急速に加水分解。

融点付近で徐々に分解。

(出典：The e-Pesticide Manual 14th ed.,ver.4.0)

キャプタン



化学式：C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>S

分子量：300.6

化学名（IUPAC）：N- (trichloromethylthio) cyclohex-4-ene-1,2-dicarboximide

外 観：無色結晶

融 点：173～175℃

蒸気圧：<1.3 mPa (25℃)

溶解性：水 3.3 mg/L (25℃)

キシレン 20、クロロホルム 70、アセトン 21、シクロヘキサノン 23、

ジオキサソ 47、ベンゼン 21、トルエン 6.9、イソプロパノール 1.7、

エタノール 2.9、エーテル 2.5 (g/kg、26℃)

石油に不溶

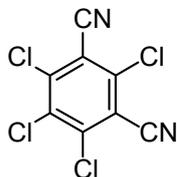
安定性：中性で徐々に加水分解、アルカリ性で急速に加水分解。

半減期 32.4時間 (pH5)、8.3時間 (pH7)、<2分 (pH10) (20℃)、>4年 (80℃)、14.2日

(120°C)

(出典：The e-Pesticide Manual 14th ed.,ver.4.0)

クロロタロニル



化学式：C<sub>8</sub>Cl<sub>4</sub>N<sub>2</sub>

分子量：265.9

化学名（IUPAC）：tetrachloroisophthalonitrile

外 観：無色結晶

融 点：250～251°C

蒸気圧：0.076 mPa (25°C)

溶解性：水 0.81 mg/L (25°C)

キシレン 80、シクロヘキサノン、ジメチルホルムアミド 30、

アセトン、ジメチルスルホキシド 20、ケロセン <10 (g/kg、25°C)

安定性：熱に安定。水溶液及び結晶状態でUVに対し安定。酸性及び弱アルカリ性水溶液で安定。  
pH9以上で徐々に加水分解。

(出典：The e-Pesticide Manual 14th ed.,ver.4.0)

## 2. 基準値

カプタホール：不検出

キャプタン：牛の筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、食用部分 0.05 ppm

豚の筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、食用部分 0.05 ppm

鶏の筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、食用部分 0.02 ppm

乳 0.01 ppm

クロロタロニル：牛、豚の筋肉 0.02 ppm、牛、豚の肝臓 0.03 ppm

牛、豚の腎臓 0.3 ppm、牛、豚の食用部分 0.03 ppm

牛の脂肪 0.1 ppm、豚の脂肪 0.06 ppm

鶏の筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、食用部分 0.01 ppm

乳 0.06 ppm

## 3. 分析対象化合物

農薬等の成分である物質	分析対象化合物
カプタホール	カプタホール
キャプタン	キャプタン
クロロタロニル	クロロタロニル

#### 4. 試薬・試液

##### 1) 標準品

カプタホール標準品：純度99.0%（和光純薬工業製）

キャプタン標準品：純度99.4%（和光純薬工業製）

クロロタロニル標準品：純度99.5%（関東化学製）

##### 2) 試薬

アセトニトリル、アセトン、エーテル、*n*-ヘキサン；残留農薬試験用（関東化学製）

リン酸；試薬特級（小宗化学製）

塩化ナトリウム；試薬特級（関東化学製）

ケイソウ土；セライト 545（関東化学製）

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム；Sep-Pak plus Florisil（充てん量 910 mg、Waters 製）

グラファイトカーボンミニカラム；Supelclean ENVI-Carb（充てん量250 mg、SUPELCO製）

##### 3) 標準溶液・試液の調製方法

###### ①標準溶液の調製方法

標準原液；カプタホール、キャプタン及びクロロタロニル標準品25 mgを精秤し、アセトン50 mLに溶解して500 mg/L溶液をそれぞれ調製した。

検量線用標準溶液；各標準原液1 mLを採り、アセトンで25 mLに定容し、20 mg/L混合標準溶液を調製し、この溶液を*n*-ヘキサンで希釈し、混合溶液を数点調製した。

添加用標準溶液；各標準原液1 mLを採り、アセトンで25 mLに定容し、20 mg/L標準溶液をそれぞれ調製し、この溶液をアセトンで希釈し、カプタホールは1 mg/L、キャプタンは2.5及び1 mg/L、クロロタロニルは3、2.5及び1 mg/Lの濃度の溶液を調製した。

###### ②試液の調製方法

10 vol%リン酸溶液；リン酸10 mLに水を加えて混合し100 mLとした。

3 vol%リン酸溶液；リン酸3 mLに水を加えて混合し100 mLとした。

10 w/v%塩化ナトリウム溶液；塩化ナトリウム100 gに水を加えて溶解し、1000 mLとした。

アセトン及び*n*-ヘキサン（1：1）混液；アセトン50 mL及び*n*-ヘキサン50 mLを混合した。

エーテル及び*n*-ヘキサン（1：4）混液；エーテル10 mL及び*n*-ヘキサン40 mLを混合した。

酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：9）混液；酢酸エチル10 mL及び*n*-ヘキサン90 mLを混合した。

#### 5 装置

ホモジナイザー（ポリトロン）；ウルトラタラックス T-25 ベーシック（イカ・ジャパン製）

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ；6890（Agilent Technologies 社製）

ガスクロマトグラフ・質量分析計；6890/5973N（Agilent Technologies社製）

#### 6. 試験法の検討内容

農作物においてカプタホールは告示試験法、キャプタン及びクロロタロニルについては通知試験法が公定法として出されているが畜水産物の試験法は検討されていない。畜水産物において、農作物の通知試験法の各操作について再確認を行い、グラファイトカーボンミニカラム精製を追加したところ、良好な結果が得られた。

## 7. 試験法の分析操作

概要：リン酸酸性下アセトン抽出、*n*-ヘキサン転溶した後、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂を行った。その後、合成ケイ酸マグネシウムミニカラムで精製し、クロロタロニルについてGC-MSで測定する。カプタホール及びキャプタンについては、さらにグラファイトカーボンミニカラムで精製した後、GC-ECDで測定する。

### 1) 分析法フローシート

#### 秤 取

- | 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類の場合
  - | 包丁で細切した試料10.0 g (脂肪の場合は5.00 g)
  - | しじみの場合は試料500 gを精密に量り、10 vol%リン酸溶液250 gを加え、ホモジナイズした後
  - | 試料10.0 gに相当する量を量り採る。
- ↓ 乳、卵及びはちみつの場合：試料10.0 g

#### アセトン抽出

##### ①筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類の場合

- | 3 vol%リン酸溶液20 mL (しじみの場合は水10 mL) 及びアセトン100 mLを加え、
  - | ホモジナイズ、抽出後・ろ過
  - | 残留物をアセトン50 mLで同様に抽出・ろ過
- ↓ ろ液を合わせ、約20 mLまで減圧濃縮

##### ②乳、卵及びはちみつの場合

- | 3 vol%リン酸溶液20 mL及びアセトン100 mLを加え、ホモジナイズ
- | 抽出・遠心分離
- | 残留物にアセトン50 mL (はちみつ：水20 mL及びアセトン50 mL) を加え、
- | ホモジナイズ、抽出・遠心分離
- | 液層を合わせ、約20 mL (はちみつ：約50 mL) まで減圧濃縮

↓

#### *n*-ヘキサン転溶

- | 10 w/v%塩化ナトリウム溶液100 mL及び
- | *n*-ヘキサン100 mLを加え、5分間振とう
- | 水層に*n*-ヘキサン50 mLを加え、5分間振とう
- | 抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過、減圧濃縮、窒素乾固

↓

#### アセトニトリル/ヘキサン分配

- | *n*-ヘキサン30 mLを加え、
- | *n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLずつで2回振とう抽出
- | 抽出液を合わせ、減圧濃縮、窒素乾固
- | アセトン及び*n*-ヘキサン (1 : 1) 混液で正確に20 mLとする
- | この4 mL (脂肪は8 mL) 分取、減圧濃縮、窒素乾固
- | エーテル及び*n*-ヘキサン (1 : 4) 混液5 mLに溶解

↓

**合成ケイ酸マグネシウムミニカラム精製**

- | 合成ケイ酸マグネシウムミニカラム (910 mg) を*n*-ヘキサン5 mLで洗淨
- | 試料溶液を負荷
- | エーテル及び*n*-ヘキサン (1 : 4) 混液5 mLで洗淨
- | 酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1 : 9) 混液30 mLで溶出
- | 溶出液を減圧濃縮、窒素乾固
- | *n*-ヘキサンに溶解、4 mLに定容 (I)
- | この2 mL分取、減圧濃縮、窒素乾固
- ↓ アセトニトリル5 mLに溶解 (II)

(I) クロロタロニル

**GC-MS定量**

2  $\mu$  L注入

(II) カプタホール及びキャプタン

**グラファイトカーボンミニカラム精製**

- | グラファイトカーボンミニカラム250 mgをアセトニトリル5 mLで洗淨
- | 試料溶液 (II) を負荷
- | アセトニトリル15 mLで溶出
- | 全溶出液を減圧濃縮、窒素乾固
- | *n*-ヘキサン2 mLに定容

↓

**GC-ECD定量**

1  $\mu$  L注入

2) ガスクロマトグラフ (GC-ECD) 操作条件

①GC-ECD (定量用)

機 種 : 6890 [Agilent Technologies]

検 出 器 : ECD

カ ラ ム : DB-5 [J&W SCIENTIFIC]

内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25  $\mu$  m

カラム温度 : 50 $^{\circ}$ C (1分) -25 $^{\circ}$ C/分-125 $^{\circ}$ C-10 $^{\circ}$ C/分-300 $^{\circ}$ C (5分)

注入口温度 : 230 $^{\circ}$ C

検出器温度 : 300 $^{\circ}$ C

注入方法 : スプリットレス

ガス流量 : ヘリウム(キャリアーガス) 2.0 mL/min

窒素(追加ガス) 30 mL/min

注 入 量 : 1  $\mu$  L

保持時間の目安 : キャプタン 15分

カプタホール 18分

②GC-ECD (確認用)

カラム : DB-35MS [J&W SCIENTIFIC]

内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μm

保持時間の目安 : キャプタン 16分

カプタホール 19分

他の条件は定量用と同様。

3) ガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC-MS) 操作条件

カラム : DB-5MS [J&W SCIENTIFIC]

内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μm

機種 : GC部 : 6890 [Agilent Technologies]

検出器 : MS部 : 5973 [Agilent Technologies]

注入方法 : スプリットレス

カラム温度 : 80°C (1分) -20°C/分-280°C (10分)

注入口温度 : 250°C

インターフェイス温度 : 280°C

ガス流量 : ヘリウム(キャリアーガス) 1.0 mL/min

注入量 : 2 μL

イオン化モード (電圧) : EI (70 eV)

設定質量数 (m/z) : 268、266 (確認用)、264 (定量用)

保持時間の目安 : 9分

4) 定量限界

[残留基準値 (案) 0.01~0.3 ppm]

カプタホール : 0.01 mg/kg (検出限界)

キャプタン : 0.01 mg/kg (定量限界)

クロロタロニル : 0.01 mg/kg (定量限界)

カプタホール及びキャプタン : 0.01 mg/kg [ (2 mL/1.00 g<sup>\*1</sup>) × (0.005 ng/1 μL) ]

\*1 10.0 g × 4 mL/20 mL × 2 mL/4 mL

5.00 g × 8 mL/20 mL × 2 mL/4 mL (脂肪の場合)

クロロタロニル : 0.01 mg/kg [ (4 mL/2.00 g<sup>\*2</sup>) × (0.01 ng/2 μL) ]

\*2 10.0 g × 4 mL/20 mL

5.00 g × 8 mL/20 mL (脂肪の場合)

## 8. 検討結果

通知試験法の各操作について再確認を行い、その結果を以下に示した。

### 1) アセトン抽出

本試験法では、現行のカプタホール告示試験法及びキャプタン、クロロタロニル他2成分の通知試験法同様にリン酸酸性下でのアセトン抽出を採用した。また、添加回収試験においては、鶏卵、エビなどの一部の試料において3 vol%リン酸溶液20 mLを加える前に分析対象化合物を添加すると回収率の低下(5割以下)が見られたため、リン酸溶液添加後の試料に分析対象化合物を添加して行った。なお、この時の添加方法は採取した試料10.0 gに添加用標準溶液を加え、30分間放置した後に3 vol%リン酸溶液20 mL及びアセトン100 mLを加えるといった方法であった。

### 1) *n*-ヘキサンへの転溶

カプタホール、キャプタン及びクロロタロニル各0.5 µgに10 w/v%塩化ナトリウム溶液100 mLを加え、*n*-ヘキサン100 mL及び50 mLで2回振とう抽出を行い、結果をTable 1に示した。Table 1より、カプタホール、キャプタン及びクロロタロニルは150 mLで完全にヘキサンに移行したため、100 mL+50 mLの2回で抽出することとした。

Table 1 *n*-ヘキサンへの転溶 (%)

	<i>n</i> -ヘキサン			合計
	100 mL (1回目)	50 mL (2回目)	50 mL (3回目)	
カプタホール	79	10	0	89
キャプタン	79	11	0	90
クロロタロニル	79	11	0	90

添加量：0.5 µg

### 2) アセトニトリル/ヘキサン分配

カプタホール、キャプタン及びクロロタロニル0.5 µgに*n*-ヘキサン30 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLで3回抽出を行い、結果をTable 2に示した。Table 2より、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLで2回抽出することとした。なお、本操作より得られた抽出液を濃縮した残留物がアセトン、ヘキサンに溶解しなかったため、アセトン及び*n*-ヘキサンの混液(1:1)を用いて溶解することとした。

Table 2 アセトニトリル/ヘキサン分配 (%)

	<i>n</i> -ヘキサン飽和アセトニトリル			合計
	30 mL (1回目)	30 mL (2回目)	30 mL (3回目)	
カプタホール	92	12	0	104
キャプタン	96	10	0	106
クロロタロニル	87	7	0	94

添加量：0.5 µg

### 3) 合成ケイ酸マグネシウムミニカラムによる精製

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム(910 mg)からの溶出状況をTable 3に示した。ミニカラムでも十分な精製効果を得られた。Table 3より、合成ケイ酸マグネシウムミニカラムから酢酸エチル及び*n*-ヘキサン(1:9)混液30 mLで溶出することとした。

Table 3 合成ケイ酸マグネシウムミニカラムの溶出状況 (%)

	エーテル及び <i>n</i> -ヘキサン		酢酸エチル及び <i>n</i> -ヘキサン		合計
	(1:4) 混液		(1:9) 混液		
	10 mL	0-20 mL	20-30 mL	30-40 mL	
カプタホール	0	81	5	0	86
キャプタン	0	88	3	0	91
クロロタロニル	0	90	2	0	92

Sep-Pak plus Florisil (充てん量 910 mg)

添加量 : 0.5  $\mu$ g

## 4) グラファイトカーボンミニカラムによる精製

グラファイトカーボンミニカラム (250 mg) からの溶出状況をTable 4に示した。Table 4より、カプタホール及びキャプタンについて、グラファイトカーボンミニカラムからアセトニトリル15 mLで溶出することが確認されたが、しじみ等の試料において15-20 mL画分でも溶出したため、20 mLで溶出することとした。

Table 4 グラファイトカーボンミニカラムの溶出状況 (%)

	アセトニトリル			合計
	0-10 mL	10-15 mL	15-20 mL	
カプタホール	89	5	0	94
キャプタン	92	6	0	98
クロロタロニル	0	0	0	0

Envi-Carb (充てん量 250 mg)

添加量 : 0.5  $\mu$ g

## 5) その他のカラム検討

Inertsep GC/NH<sub>2</sub> (500 mg/500 mg) ミニカラムSep-Pak plus NH<sub>2</sub> (360 mg) ミニカラム

Sep-Pak plus Silica (690 mg) ミニカラム

VARIAN MEGA BOND ELUT SAX (1,000 mg) ミニカラム

VARIAN BOND ELUT SCX (500 mg) ミニカラム

VARIAN BOND ELUT PSA (500 mg) ミニカラム

Florisil PR

上記の各カラムで溶出状況の確認を行ったところ、VARIAN BOND ELUT PSAでは分析対象化合物が溶出しなかった。Inertsep GC/NH<sub>2</sub>、Sep-Pak plus NH<sub>2</sub>、VARIAN MEGA BOND ELUT SAX、VARIAN BOND ELUT SCX及びSep-Pak plus Silicaについて、特に夾雑物の多かったしじみ及びうなぎの試料を用いて精製効果を確認したが、いずれのカラムにおいても夾雑物の除去効果は認められなかった。

3) の結果より、クロマトグラフ管 (内径15 mm) にFlorisil PR5 gを充てんし、エーテル及び*n*-ヘキサン (1:9) 混液50 mLで負荷した後、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン (1:9) 混液100 mLで溶出したところ、ミニカラムと精製効果に差異が認められなかったため、ミニカラムを採用した。Sep-Pak Florisilにおいてカプタホール及びキャプタンとクロロタロニルの分画について検討し、結果をTable 5に示した。しかし、

試料共存下で溶出ずれが見られたため、分画する方法は採用しなかった。

Table 5 合成ケイ酸マグネシウムミニカラムの溶出検討 (%)

	エーテル及び <i>n</i> -ヘキサン	エーテル及び <i>n</i> -ヘキサン	酢酸エチル及び <i>n</i> -ヘキサン		合計
	(1:4) 混液	(2:3) 混液	(1:9) 混液		
	10 mL	30 mL	20-30 mL	30-40 mL	
カプタホール	0	107	0	0	107
キャプタン	0	104	2	0	106
クロタロニル	0	0	97	2	99

Sep-Pak plus Florisil (充てん量 910 mg)

添加量 : 0.5  $\mu$ g

#### 6) ガスクロマトグラフ (GC-ECD) 操作条件

試料の夾雑物と十分な分離が確認されたため、カプタホール及びキャプタンについては測定機器にガスクロマトグラフ (GC-ECD) を採用した。ECDは選択性が悪く、クロタロニルは一部の試料について夾雑物と十分な分離が得られなかったため、測定に使用しなかった。

#### ガスクロマトグラフ操作条件

##### ①GC-ECD (定量用)

機 種 : 6890 [Agilent Technologies]

検 出 器 : ECD

カ ラ ム : DB-5 [J&W SCIENTIFIC]

内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25  $\mu$ m

カラム温度 : 50°C (1分) -25°C/分-125°C-10°C/分-300°C (5分)

注入口温度 : 230°C

検出器温度 : 300°C

注入方法 : スプリットレス

ガス流量 : ヘリウム(キャリアーガス) 2.0 mL/min

窒素(追加ガス) 30 mL/min

注 入 量 : 1  $\mu$ L

保持時間の目安 : キャプタン 15分

カプタホール 18分

##### ②GC-ECD (確認用)

カ ラ ム : DB-35MS [J&W SCIENTIFIC]

内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25  $\mu$ m

保持時間の目安 : キャプタン 16分

カプタホール 19分

他の条件は定量用と同様。

a 検量線の直線性 (図3-1、図4-1)

6) ①及び②の測定条件において、濃度0.0025 mg/L (0.0025 ng) ~0.1 mg/L (0.1 ng) の範囲で良好な直線性を示した。

b 検出感度 (図3-2、図4-2)

検出限界相当の検出量 : 0.0025 ng (0.0025 mg/L×1 μL) のピークのS/N比は10以上であった。

c 分析カラム

農産物の通知試験法及び告示試験法ではガスクロマトグラフのカラムに5%フェニル-メチルシリコン及びメチルシリコンを液相とするキャピラリーカラムを使用している。本試験法でも同様に、汎用性の高いDB-5を分析カラムに用いたところ、試料の夾雑物と十分な分離が確認されたため、定量条件に使用することとした。DB-1、DB-1701及びDB-35MSのカラムにおいて上記と同様の操作条件で用いたところ、DB-35MSにおいても試料の夾雑物と十分な分離が確認されたため、確認条件として使用することとした。DB-1及びDB-1701については夾雑物と分離が悪く、検量線の直線性が悪かったため、分析カラムには適さないと判断した。

7) ガスクロマトグラフ・質量分析計 (GC-MS) 操作条件

①GC-MS (EI)

クロロタロニルについてGC-ECDで測定を行ったところ、一部の試料において妨害ピークが認められたため、GC-MSについて検討した。マススペクトルを図3-1に示した。選択性のよい $m/z=264$ を定量条件、 $m/z=266$ を確認条件とした。またカプタホール及びキャプタンについてGC-MSで測定を行ったところ、試料由来の妨害物質のため測定ができず、また定量性も悪かったため測定機器には適さないと判断した。

ガスクロマトグラフ・質量分析計操作条件

機 種 : GC部 : 6890 [Agilent Technologies]

検 出 器 : MS部 : 5973 [Agilent Technologies]

カ ラ ム : DB-5MS [J&W SCIENTIFIC]

内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μm

注入方法 : スプリットレス

カラム温度 : 80°C (1分) -20°C/分-280°C (10分)

注入口温度 : 250°C

インターフェイス温度 : 280°C

ガス流量 : ヘリウム(キャリアーガス) 1.0 mL/min

注 入 量 : 2 μL

イオン化モード (電圧) : EI (70 eV)

設定質量数 ( $m/z$ ) カプタホール : 79

キャプタン : 149、79

クロロタロニル : 268、266 (確認)、264 (定量)

保持時間の目安 カプタホール : 12分

キャプタン：10分  
クロタロニル：9分

a. 検量線の直線性 (図5-2、図6-1)

7) ①の測定条件において、濃度0.0025 mg/L (0.005 ng) ~0.1 mg/L (0.2 ng) の範囲で良好な直線性を示した。

b. 検出感度 (図5-3、図6-2)

検出限界相当の検出量：0.005 ng (0.0025 mg/L×2 μL) のピークのS/N比は10以上であった。

②GC-MS (NCI)

カプタホール及びキャプタンについてGC-MS (EI) での測定が困難であったことから、GC-MS (NCI) について検討した。うなぎ及びしじみの試験溶液についてGC-MS (NCI) でカプタホール及びキャプタンを測定したところ、試料由来成分の影響で感度変動が生じ、定量性はあまり良くなかった。ただし、選択性はGC-ECDと同等またはそれ以上であり、キャプタン及びカプタホールにおける定性条件として十分使用できることが確認できた。カプタホール及びキャプタンのマススペクトルを図1及び2に示した。

ガスクロマトグラフ・質量分析計操作条件

機 種：GC部：6890 [Agilent Technologies]

検 出 器：MS部：5975 [Agilent Technologies]

カ ラ ム：HP-5MS [Agilent Technologies]

内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μm

注入方法：スプリットレス

温 度：試料注入口 250 °C

カラム 100 °C(2 min保持)→20 °C/min→280 °C(10 min保持)

ガス流量：ヘリウム(キャリアーガス) 1.0 mL/min

注 入 量：1 μL

イオン源温度：150 °C

イオン化法：NCI

反応ガス：メタン 2.0 mL/min

設定質量数 (m/z) カプタホール：314、217、150

キャプタン：336、150

保持時間の目安 カプタホール：11分

キャプタン：10分

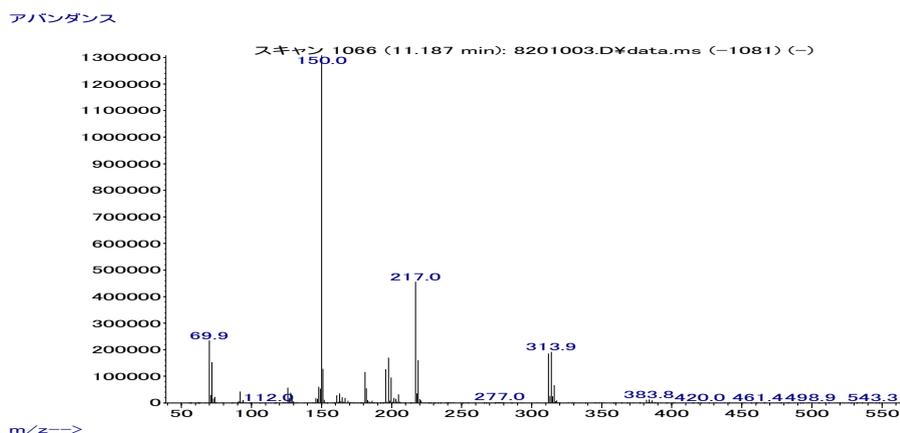


図1 カプタホルのマススペクトル

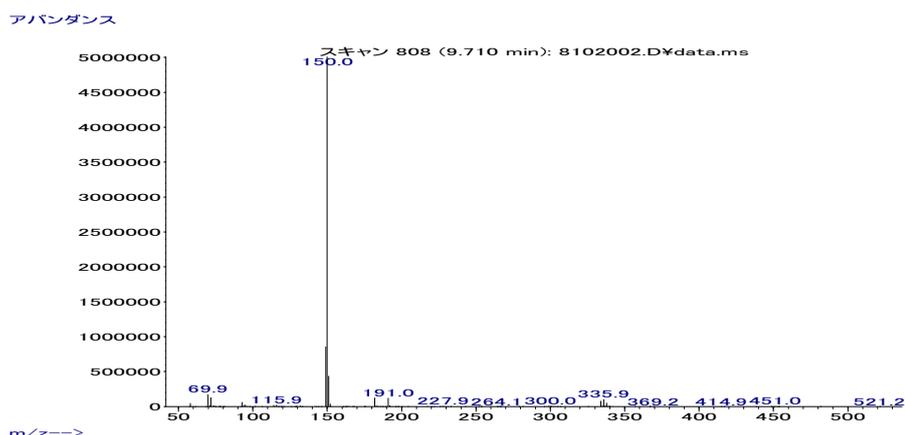


図2 キャプタンのマススペクトル

## 9. 添加回収試験

試料にカプタホル、キャプタン及びクロロタロニルを各濃度でそれぞれ添加し、5. 1) の分析法に従って試験溶液を調製し、GC-ECD及びGC-MSに注入した。得られた添加回収試験の結果をTable 6～8に示した。なお、添加試料の調製方法（各成分同時添加）は以下の通り調製した。

### ①カプタホル

牛の筋肉、牛の肝臓、えび、さけ、うなぎ、しじみ、牛乳、卵及びはちみつ（添加濃度：0.02 ppm相当）：試料 10.0 g に添加用標準溶液 1 mg/L を 0.2 mL 添加しよく混合した後、30 分間放置した。

牛の脂肪（添加濃度：0.02 ppm）：試料 5.00 g に添加用標準溶液 1 mg/L を 0.1 mL 添加しよく混合した後、30 分間放置した。

### ②キャプタン

牛の筋肉、牛の肝臓（添加濃度：0.05 ppm 相当）：試料 10.0 g に添加用標準溶液 2.5 mg/L を 0.2 mL 添加しよく混合した後、30 分間放置した。

牛の脂肪（添加濃度：0.05 ppm）：試料 5.00 g に添加用標準溶液 2.5 mg/L を 0.1 mL 添加しよく混合

した後、30分間放置した。

えび、さけ、うなぎ、しじみ、牛乳、卵及びはちみつ（添加濃度：0.02 ppm 相当）：試料 10.0 g に添加用標準溶液 1 mg/L を 0.2 mL 添加しよく混合した後、30分間放置した。

③クロロタロニル

牛の筋肉、えび、さけ、うなぎ、しじみ、卵及びはちみつ（添加濃度：0.02 ppm 相当）：試料 10.0 g に添加用標準溶液 1 mg/L を 0.2 mL 添加しよく混合した後、30分間放置した。

牛の脂肪（添加濃度：0.1 ppm）：試料 5.00 g に添加用標準溶液 2.5 mg/L を 0.2 mL 添加しよく混合した後、30分間放置した。

牛の肝臓（添加濃度：0.03 ppm 相当）：試料 10.0 g に添加用標準溶液 3 mg/L を 0.1 mL 添加しよく混合した後、30分間放置した。

牛乳（添加濃度：0.06 ppm 相当）：試料 10.0 g に添加用標準溶液 3 mg/L を 0.2 mL 添加しよく混合した後、30分間放置した。

Table 6 カプタホール添加回収試験結果（単位：％）

試料	添加濃度	回収率					平均	相対標準偏差
		1	2	3	4	5		
牛の筋肉	0.02 ppm	106	105	104	100	99	103	3.0
牛の脂肪	0.02 ppm	96	94	91	90	85	91	4.6
牛の肝臓	0.02 ppm	103	102	96	94	92	97	5.0
えび	0.02 ppm	103	102	99	94	93	98	4.6
さけ	0.02 ppm	118	113	113	111	107	112	3.5
うなぎ	0.02 ppm	110	107	103	102	98	104	4.5
しじみ	0.02 ppm	106	101	99	98	97	100	3.6
牛乳	0.02 ppm	101	100	98	98	96	99	2.0
卵	0.02 ppm	100	90	89	88	87	91	5.8
はちみつ	0.02 ppm	92	92	88	87	86	89	3.2

Table 7 キャプタン添加回収試験結果（単位：％）

試料	添加濃度	回収率					平均	相対標準偏差
		1	2	3	4	5		
牛の筋肉	0.05 ppm	93	93	86	85	83	88	5.3
牛の脂肪	0.05 ppm	97	82	82	82	77	82	4.3
牛の肝臓	0.05 ppm	86	81	81	78	76	80	4.7
えび	0.02 ppm	105	104	98	92	87	97	8.0
さけ	0.02 ppm	116	112	110	109	107	111	3.1
うなぎ	0.02 ppm	116	112	107	105	101	108	5.5
しじみ	0.02 ppm	98	95	93	91	89	93	3.8
牛乳	0.02 ppm	101	99	99	98	95	98	2.2
卵	0.02 ppm	103	96	91	90	85	93	7.3
はちみつ	0.02 ppm	93	89	89	87	87	89	2.8

Table 8 クロロタロニル添加回収試験結果（単位：％）

試料	添加濃度	回収率					平均	相対標準偏差
		1	2	3	4	5		
牛の筋肉	0.02 ppm	107	106	104	99	99	103	3.7
牛の脂肪	0.1 ppm	90	86	85	84	83	86	3.1
牛の肝臓	0.03 ppm	100	97	97	96	94	97	2.2
えび	0.02 ppm	110	108	107	102	101	106	3.7
さけ	0.02 ppm	101	99	95	91	90	95	5.1
うなぎ	0.02 ppm	108	107	107	101	96	104	5.0
しじみ	0.02 ppm	110	109	107	105	101	106	3.4
牛乳	0.06 ppm	106	106	104	100	97	103	3.9
卵	0.02 ppm	118	109	103	98	97	105	8.3
はちみつ	0.02 ppm	107	105	102	99	98	102	3.8

#### 10. ブランク試料の妨害状況

ブランク試料のGC-ECD及びGC-MSにおいて、いずれの測定においても妨害ピークは認められなかった。

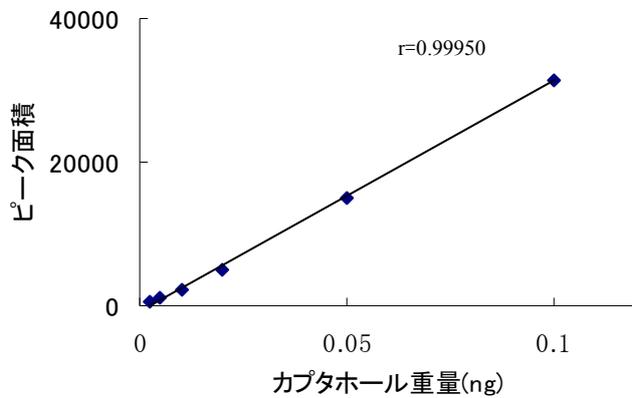
#### 11. 結論

本試験法はカプタホール、キャプタン及びクロロタロニルを試料からリン酸酸性下アセトンで抽出し、*n*-ヘキサンに転溶する。アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、合成ケイ酸マグネシウムミニカラムで精製する。カプタホール及びキャプタンについては、さらにグラファイトカーボンミニカラムで精製する。カプタホール及びキャプタンについてはGC-ECDで定量及び確認し、クロロタロニルについてはGC-MSで定量及び確認する方法である。本分析法を牛の筋肉、脂肪、肝臓、えび、さけ、うなぎ、しじみ、牛乳、卵及びはちみつの10種類の畜水産食品に適用した場合、平均回収率はカプタホール89～112%、キャプタン80～111%、クロロタロニル86～106%であり、定量限界はそれぞれ0.01 mg/kgが可能であることが確認された。

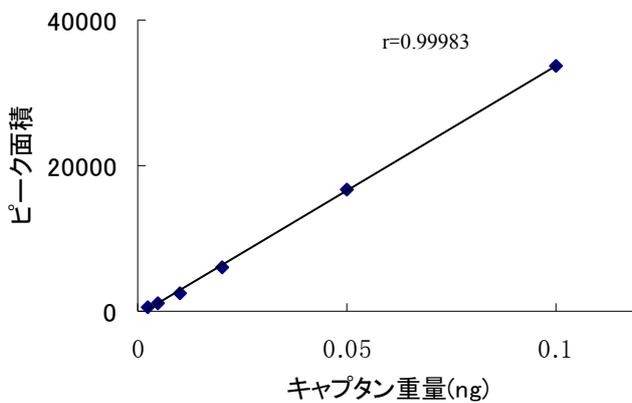
#### 12. 文献

食品に残留する農薬等の試験法 キャプタン、クロルベンジレート、クロロタロニル及びホルペット  
試験法

食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号）に規定する試験法 カプタホール試験法



データ処理装置設定条件の一例  
 機種（メーカー）：Chemstation（Agilent technologies製）  
 ピークの定量方法：ピーク面積法  
 検量線の種類：最小二乗法  
 検量線基準ピークの重量：0.0025 ng～0.1 ng  
 検量線傾き (a) : a=321149.5238  
 検量線切片 (b) : b=-849.5107865



データ処理装置設定条件の一例  
 機種（メーカー）：Chemstation（Agilent technologies製）  
 ピークの定量方法：ピーク面積法  
 検量線の種類：最小二乗法  
 検量線基準ピークの重量：0.0025 ng～0.1 ng  
 検量線傾き (a) : a=343058.7712  
 検量線切片 (b) : b=-596.7886013

図3-1 検量線の一例（GC-ECD（定量用））

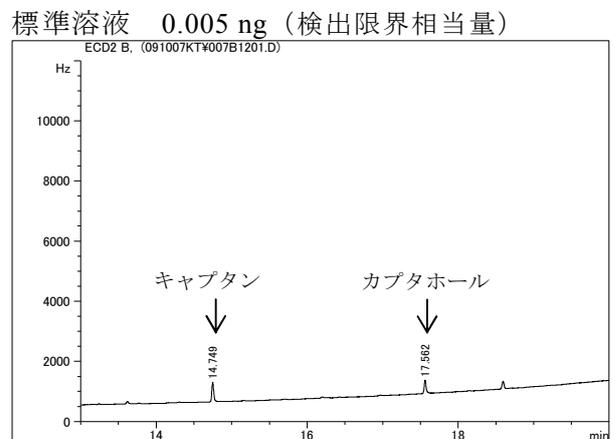
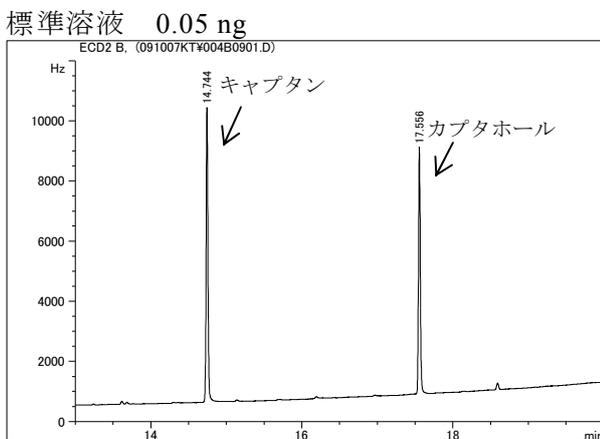
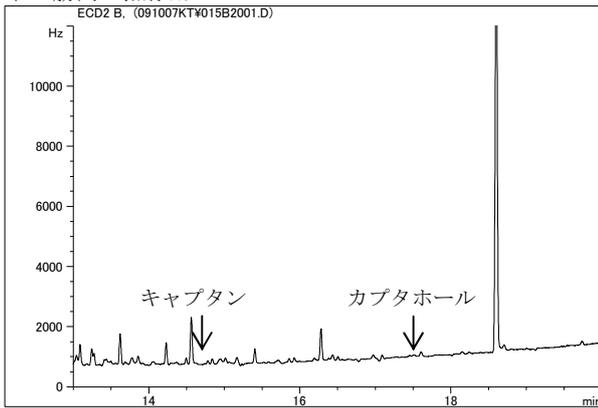
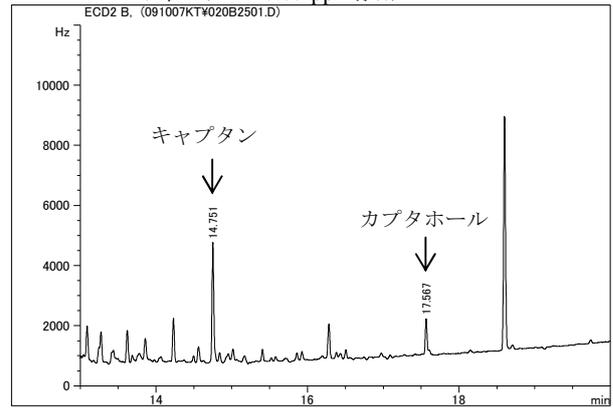


図 3-2 標準溶液のクロマトグラム（GC-ECD（定量用）：一例）

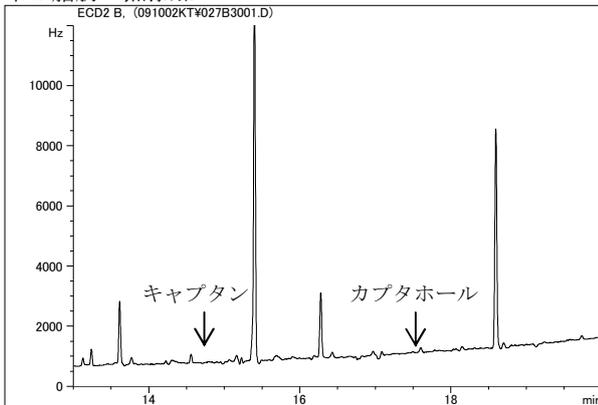
牛の筋肉 無添加



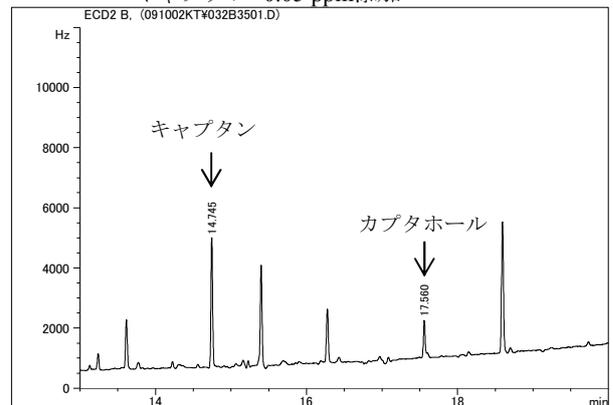
牛の筋肉 カプタホル 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.05 ppm添加



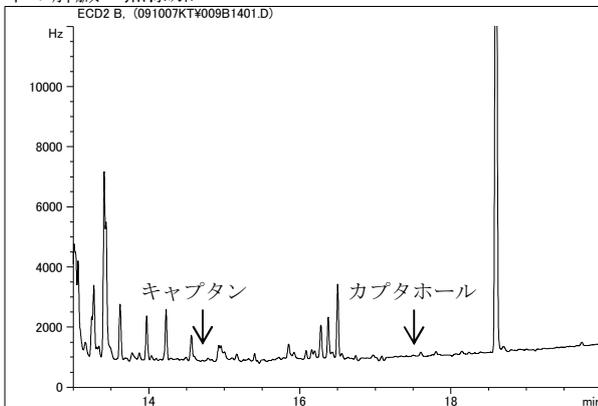
牛の脂肪 無添加



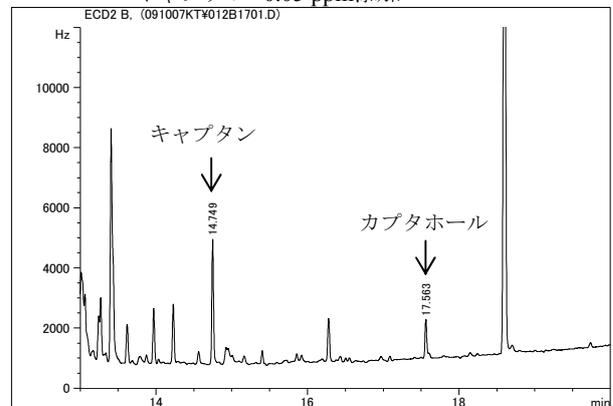
牛の脂肪 カプタホル 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.05 ppm添加



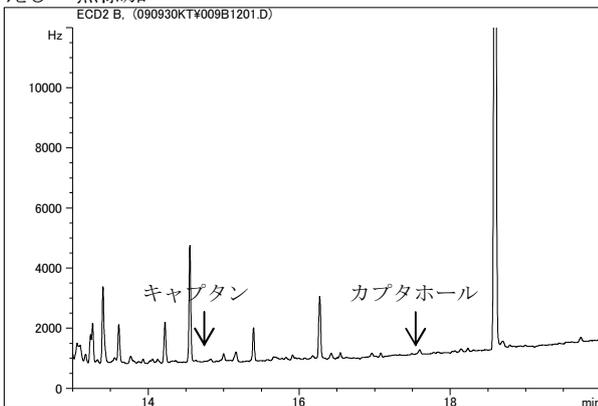
牛の肝臓 無添加



牛の肝臓 カプタホル 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.05 ppm添加



えび 無添加



えび カプタホル 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.02 ppm添加

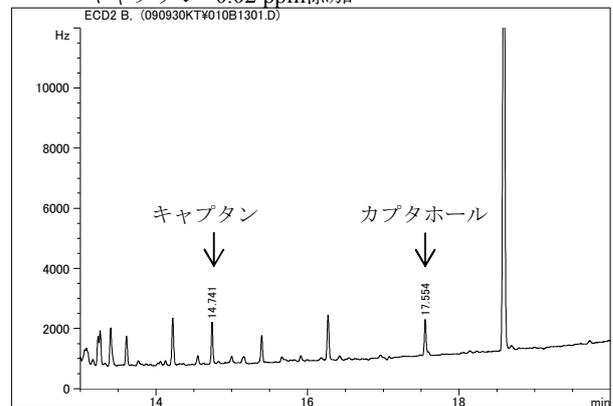
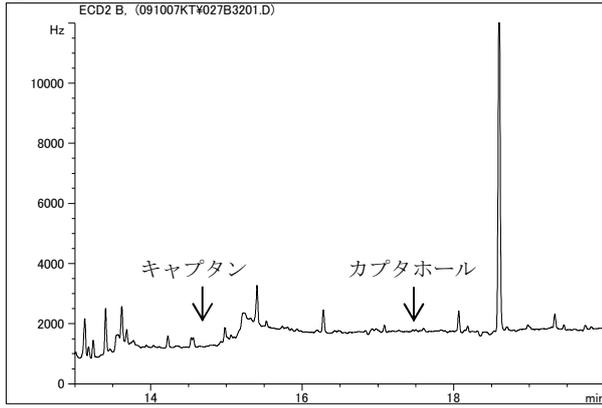
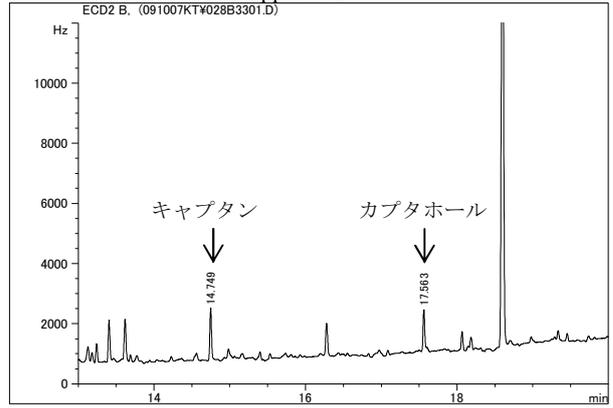


図 3-3-1 試料のクロマトグラム (GC-ECD (定量用))

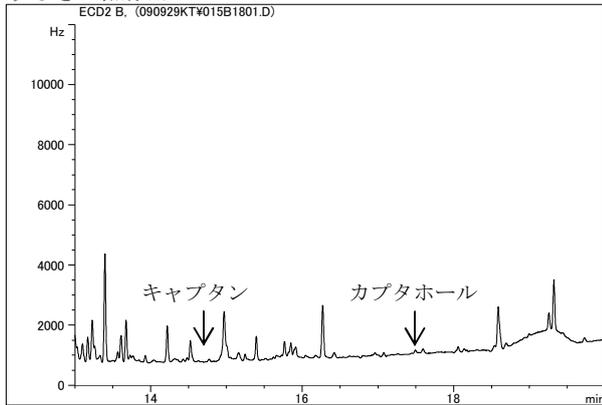
さけ 無添加



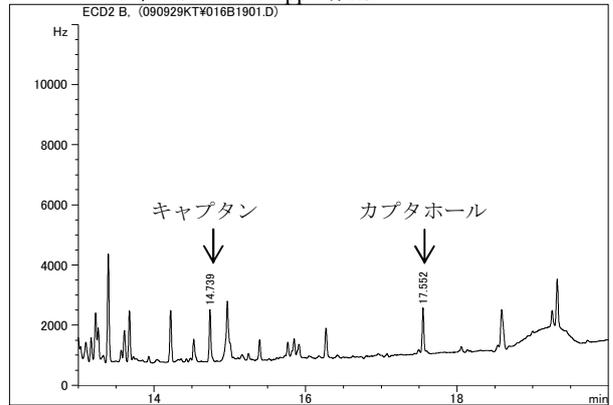
さけ カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.02 ppm添加



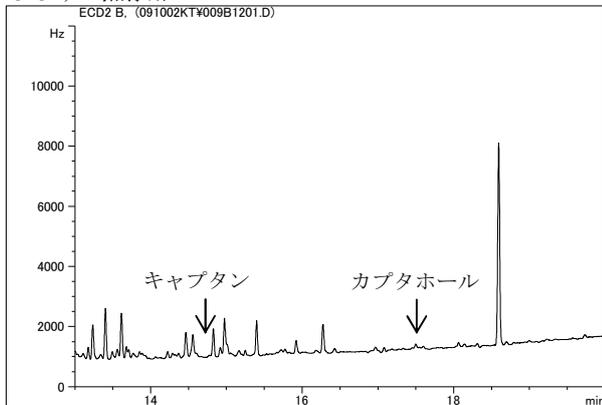
うなぎ 無添加



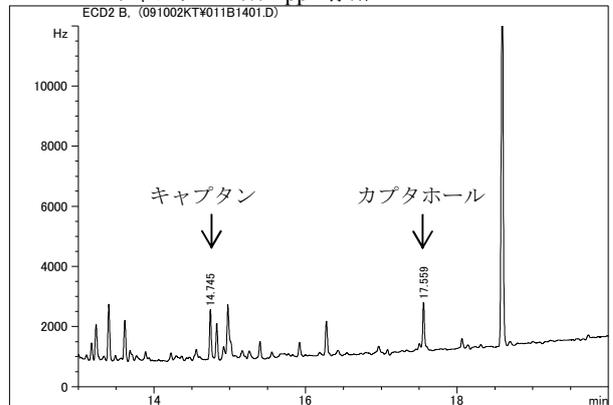
うなぎ カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.02 ppm添加



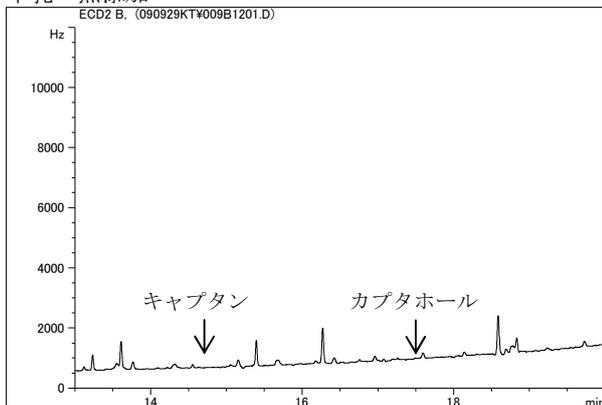
しじみ 無添加



しじみ カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.02 ppm添加



牛乳 無添加



牛乳 カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.02 ppm添加

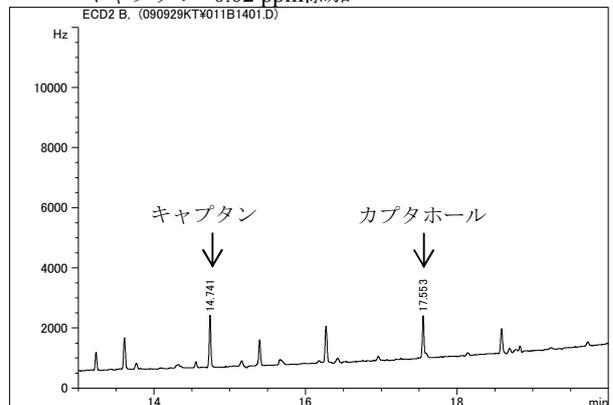
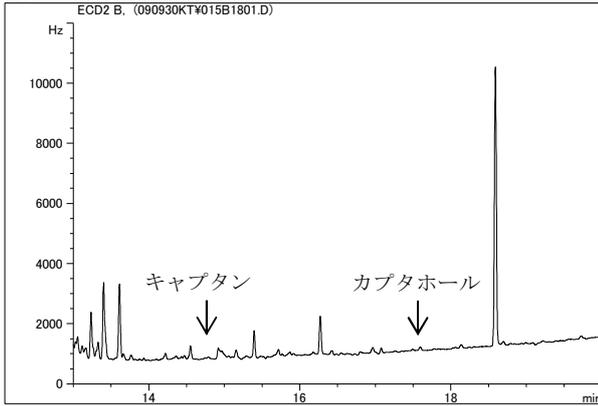
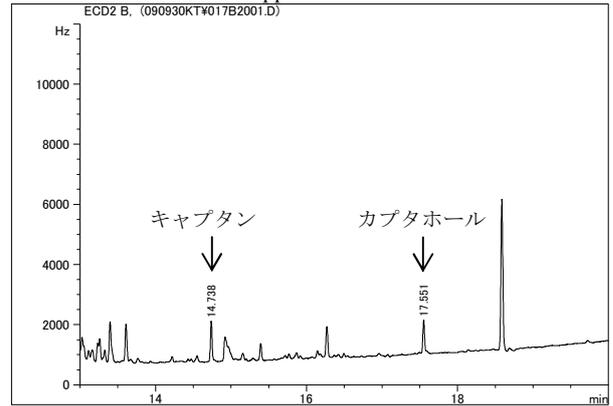


図3-3-2 試料のクロマトグラム (GC-ECD (定量用))

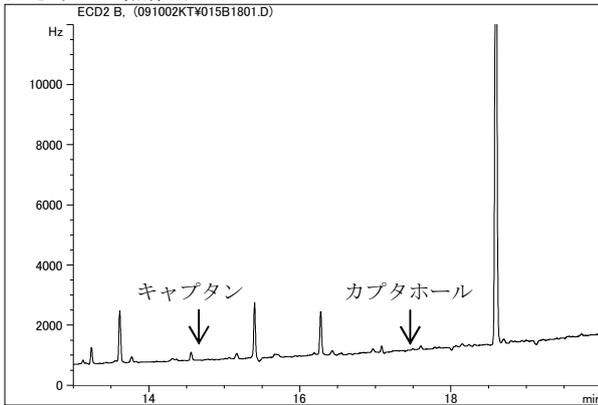
鶏卵 無添加



鶏卵 カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.02 ppm添加



はちみつ 無添加



はちみつ カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.02 ppm添加

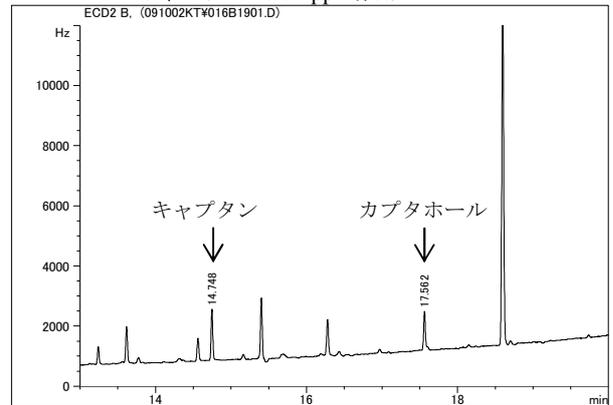
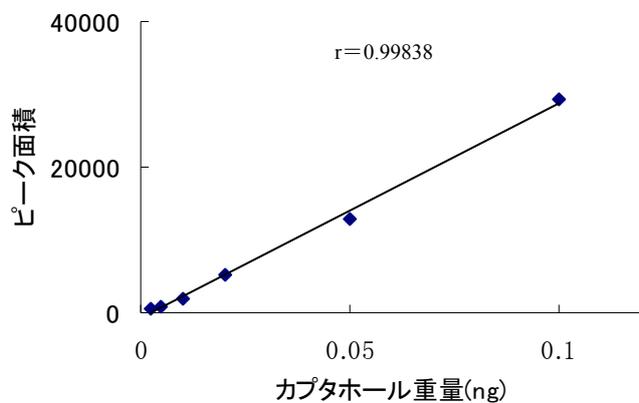
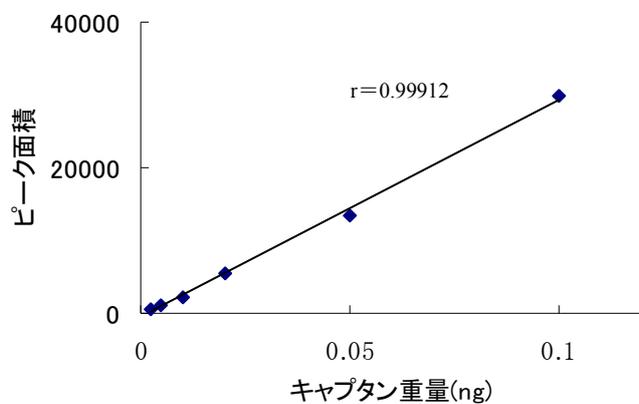


図3-3-3 試料のクロマトグラム (GC-ECD (定量用) )



データ処理装置設定条件の一例  
 機種（メーカー）：Chemstation（Agilent technologies製）  
 ピークの定量方法：ピーク面積法  
 検量線の種類：最小二乗法  
 検量線基準ピークの重量：0.0025 ng～0.1 ng  
 検量線傾き (a) : a=294536.8223  
 検量線切片 (b) : b=-780.8283638



データ処理装置設定条件の一例  
 機種（メーカー）：Chemstation（Agilent technologies製）  
 ピークの定量方法：ピーク面積法  
 検量線の種類：最小二乗法  
 検量線基準ピークの重量：0.0025 ng～0.1 ng  
 検量線傾き (a) : a=299683.6101  
 検量線切片 (b) : b=-606.6076492

図4-1 検量線の一例（GC-ECD（確認用））

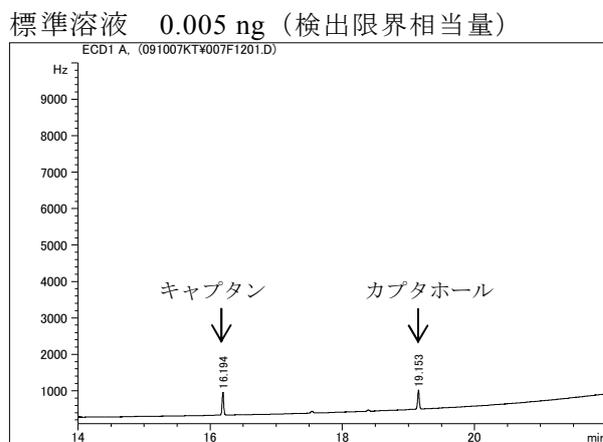
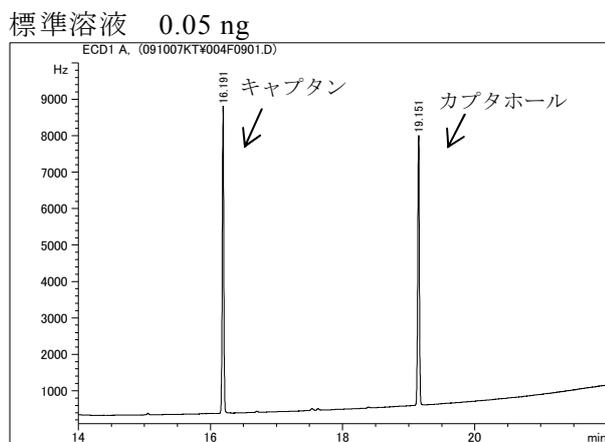
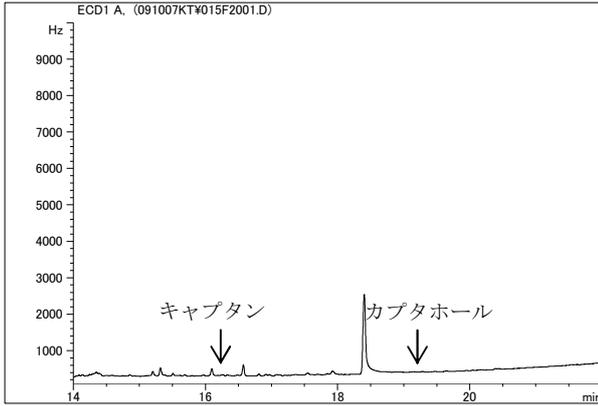
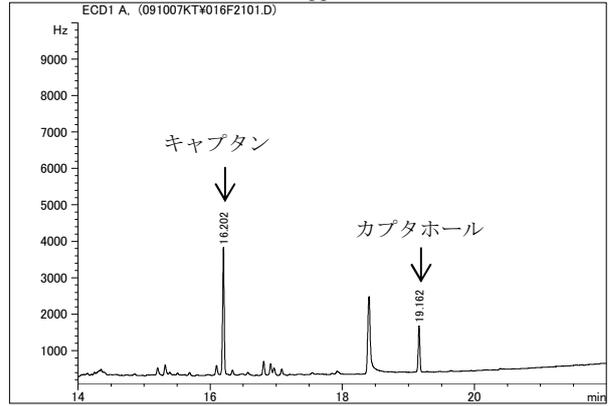


図 4-2 標準溶液のクロマトグラム（GC-ECD（確認用）：一例）

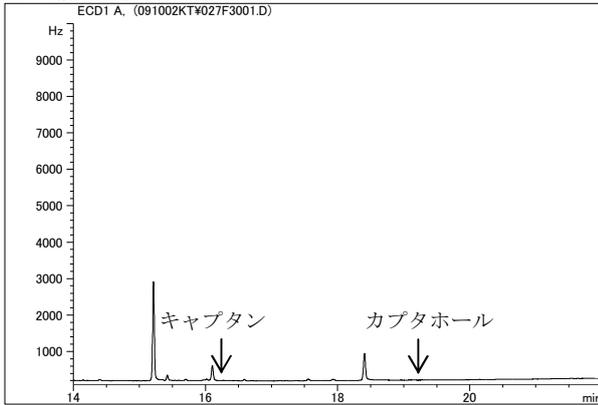
牛の筋肉 無添加



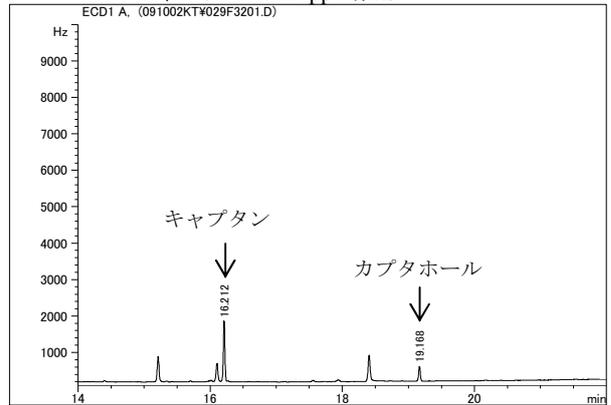
牛の筋肉 カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.05 ppm添加



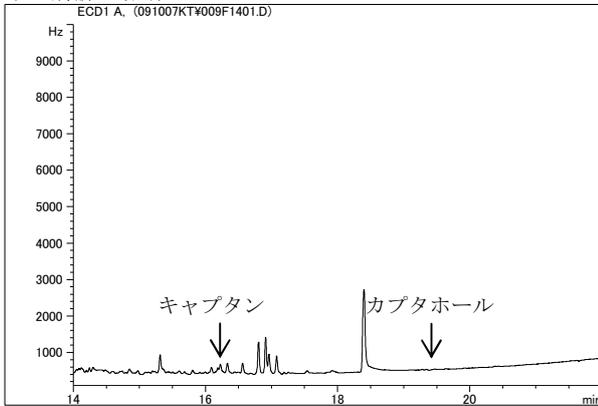
牛の脂肪 無添加



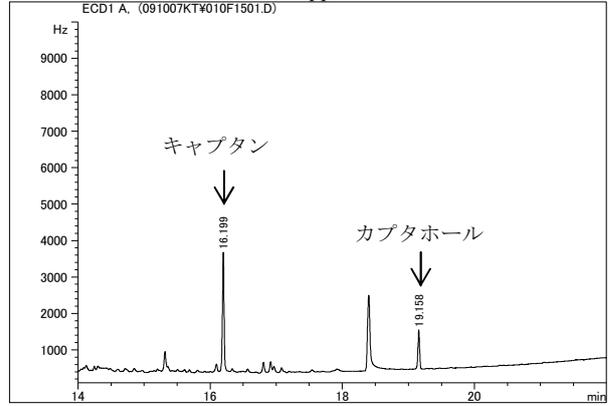
牛の脂肪 カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.05 ppm添加



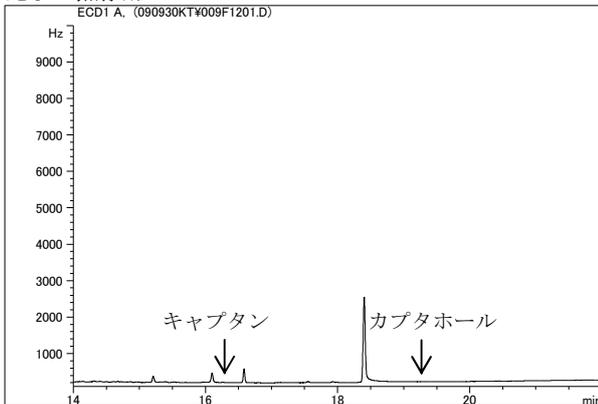
牛の肝臓 無添加



牛の肝臓 カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.05 ppm添加



えび 無添加



えび カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.02 ppm添加

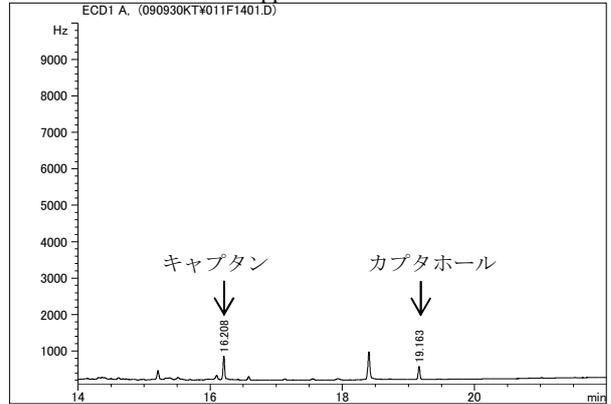
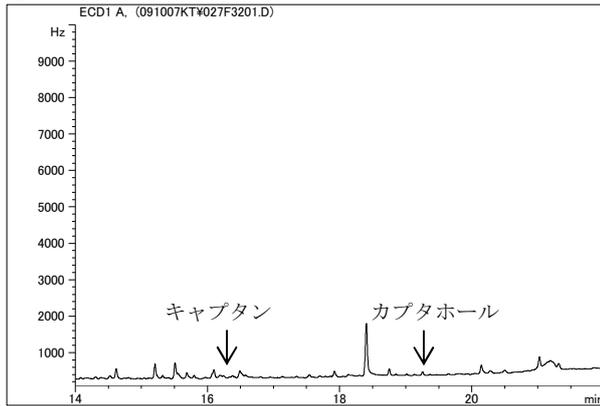
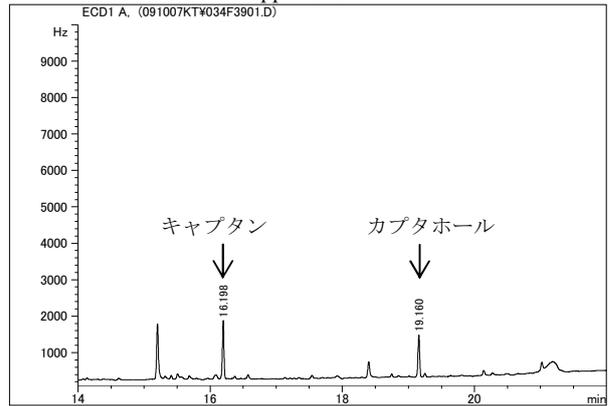


図 4-3-1 試料のクロマトグラム (GC-ECD (確認用))

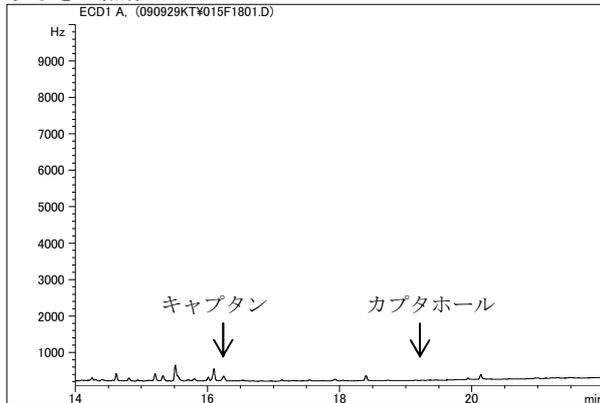
さけ 無添加



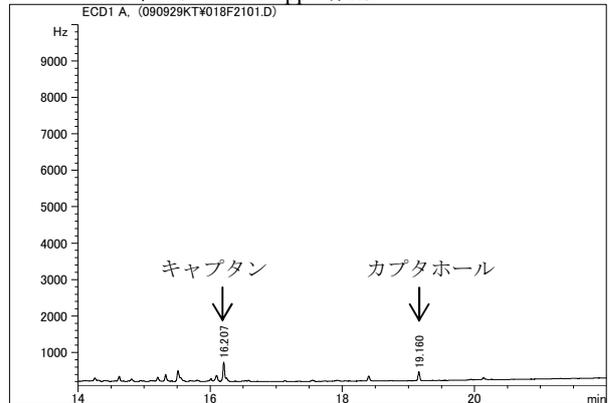
さけ カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.02 ppm添加



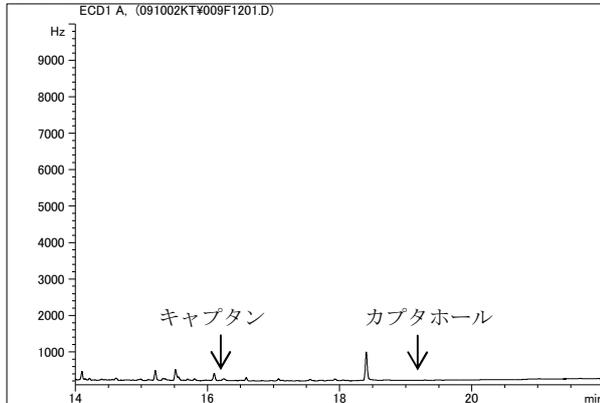
うなぎ 無添加



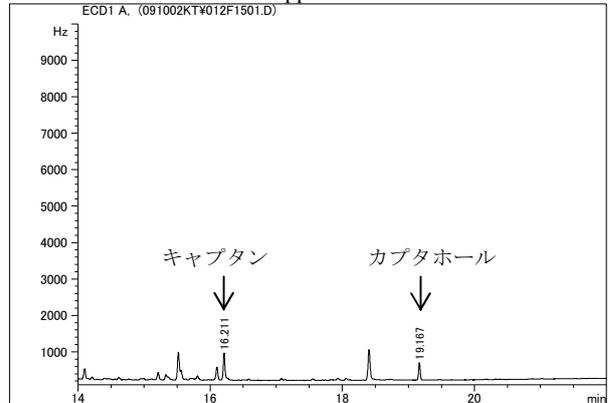
うなぎ カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.02 ppm添加



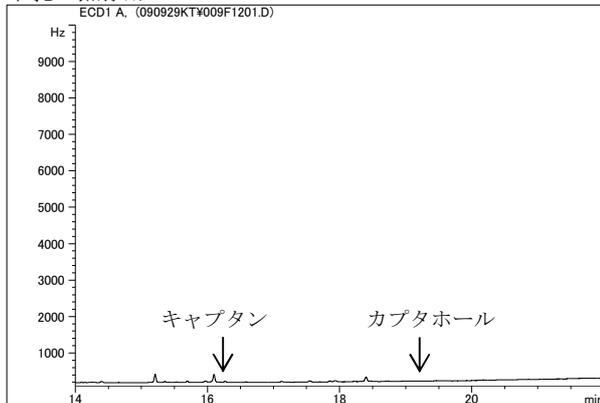
しじみ 無添加



しじみ カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.02 ppm添加



牛乳 無添加



牛乳 カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.02 ppm添加

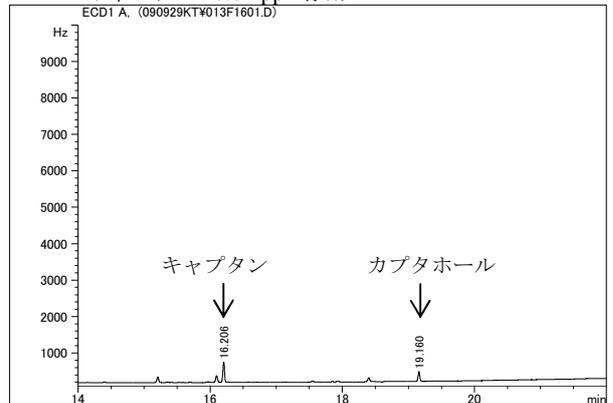
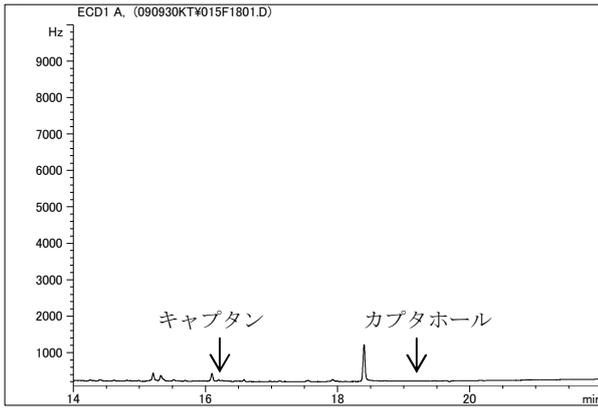
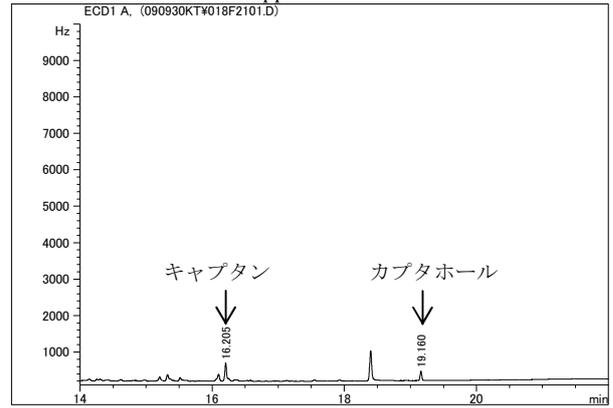


図 4-3-2 試料のクロマトグラム (GC-ECD (確認用))

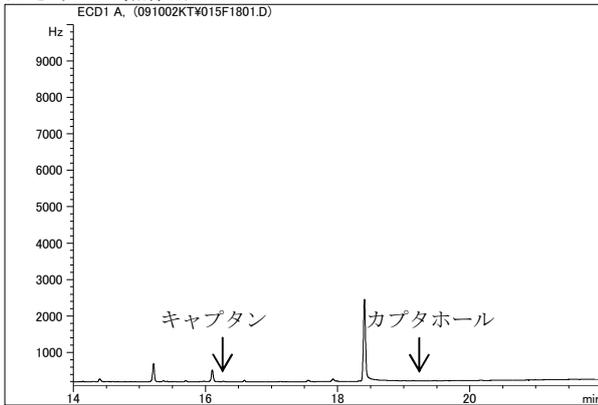
鶏卵 無添加



鶏卵 カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.02 ppm添加



はちみつ 無添加



はちみつ カプタホール 0.02 ppm添加  
キャプタン 0.02 ppm添加

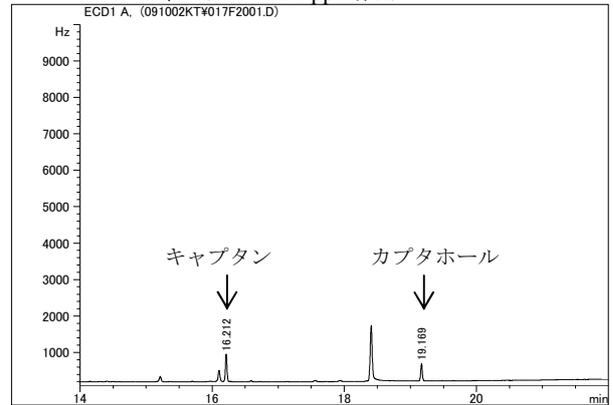


図 4-3-3 試料のクロマトグラム (GC-ECD (確認用))

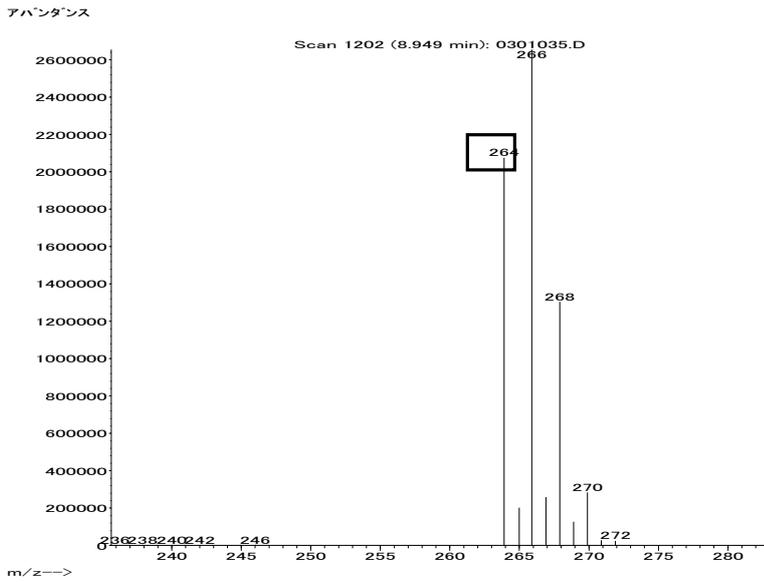
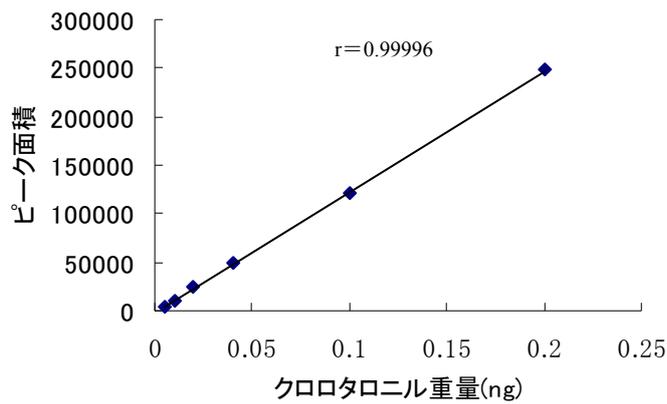


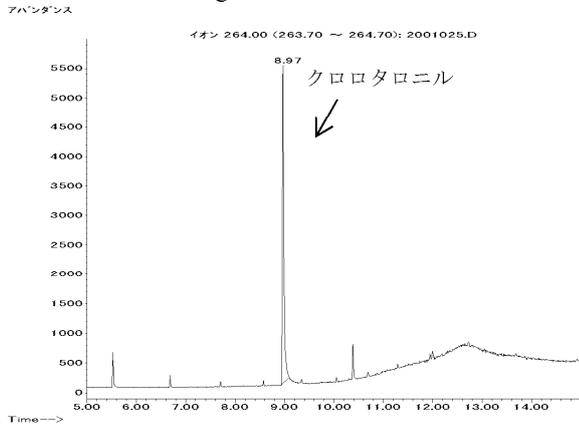
図5-1 クロロタロニルのマススペクトル



データ処理装置設定条件の一例  
 機種（メーカー）：Chemstation（Agilent technologies製）  
 ピークの定量方法：ピーク面積法  
 検量線の種類：最小二乗法  
 検量線基準ピークの重量：0.005 ng～0.2 ng  
 検量線傾き (a) :  $a=1240616.383$   
 検量線切片 (b) :  $b=-1152.357298$

図5-2 検量線の一例（GC-MS（定量用））（ $m/z$  : 264）

標準溶液 0.1 ng



標準溶液 0.01 ng（検出限界相当量）

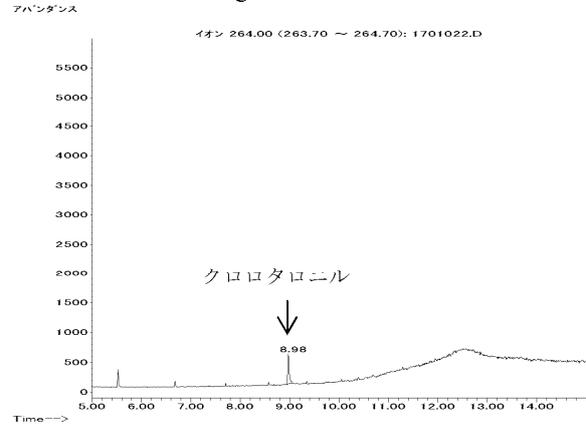
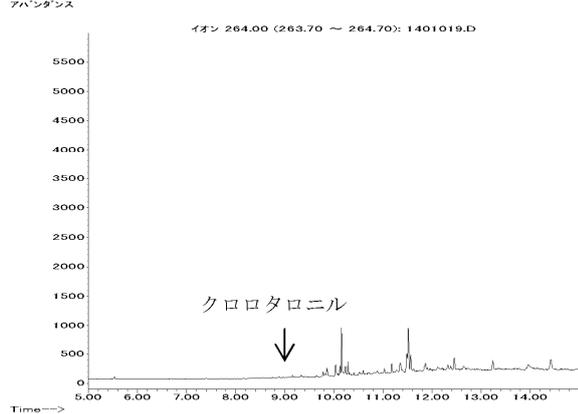
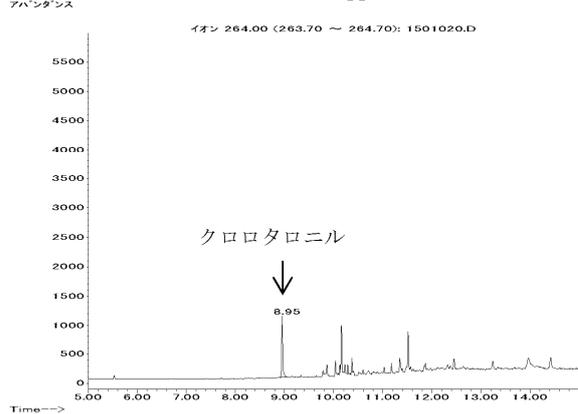


図5-3 標準溶液のマスクロマトグラム（GC-MS（定量用））：一例

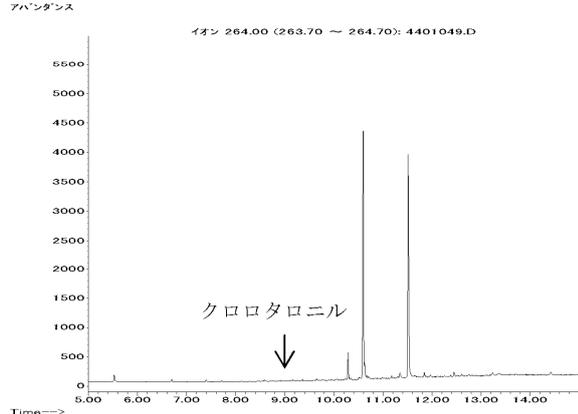
牛の筋肉 無添加



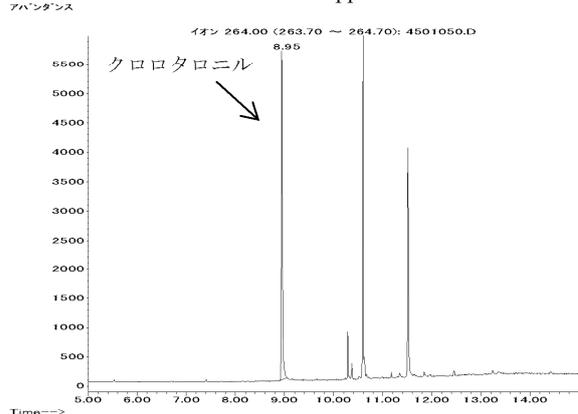
牛の筋肉 クロロタロニル 0.02 ppm添加



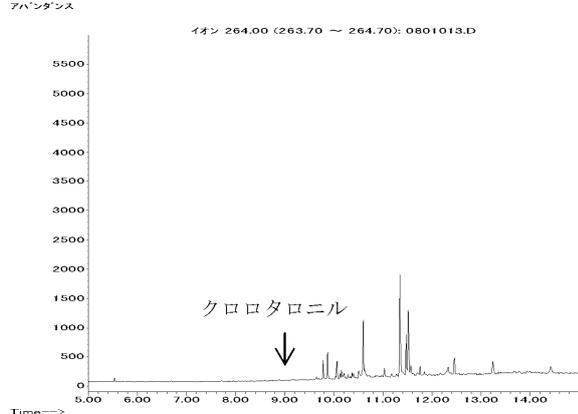
牛の脂肪 無添加



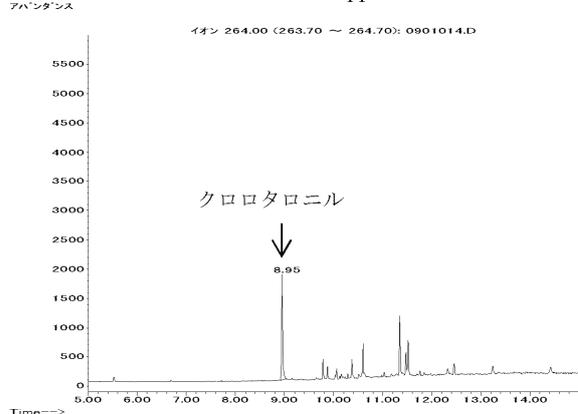
牛の脂肪 クロロタロニル 0.1 ppm添加



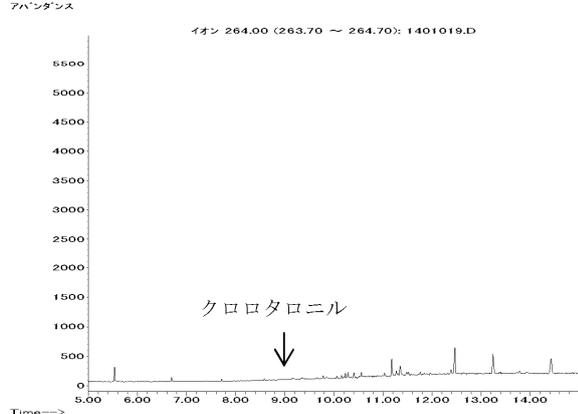
牛の肝臓 無添加



牛の肝臓 クロロタロニル 0.03 ppm添加



えび 無添加



えび クロロタロニル 0.02 ppm添加

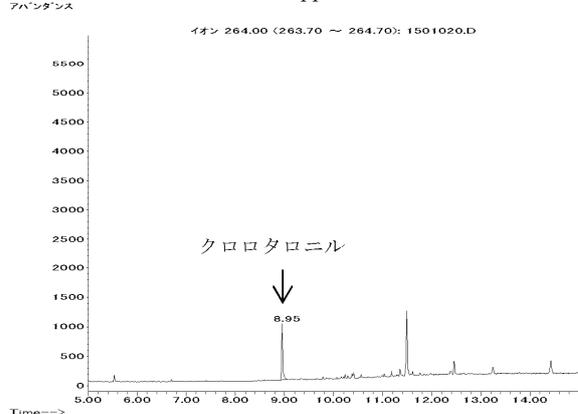
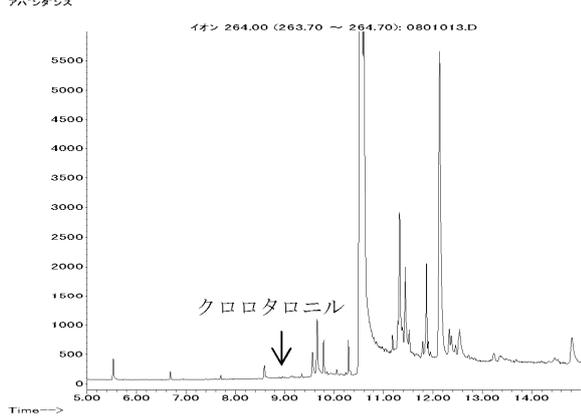
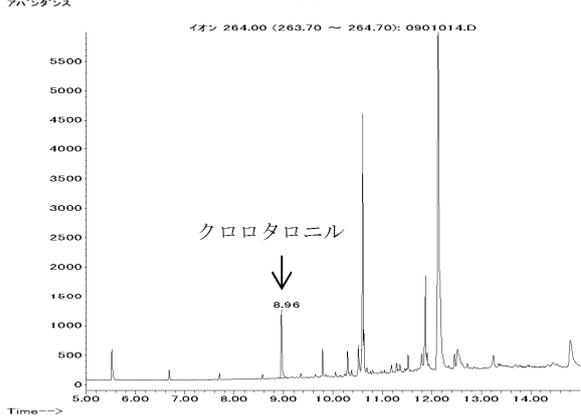


図5-4-1 試料のマスキロマトグラム (GC-MS (定量用))

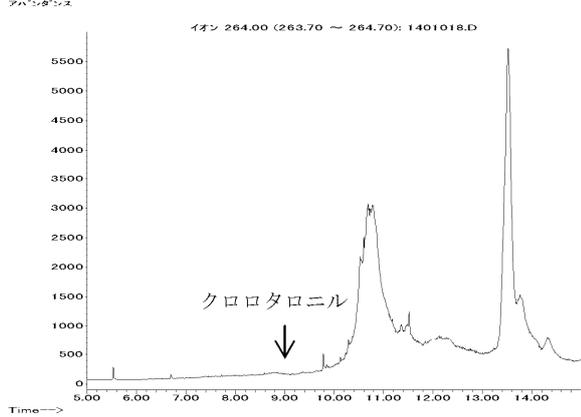
さけ 無添加



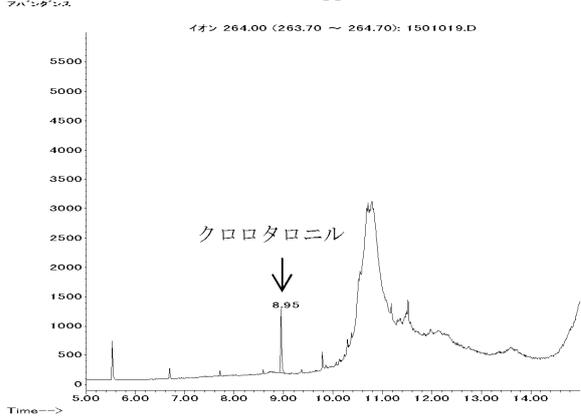
さけ クロロタロニル 0.02 ppm添加



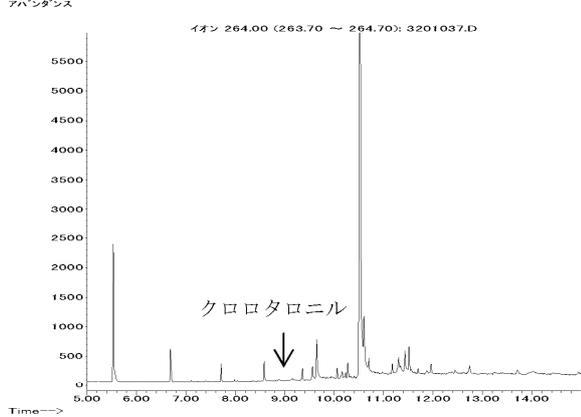
うなぎ 無添加



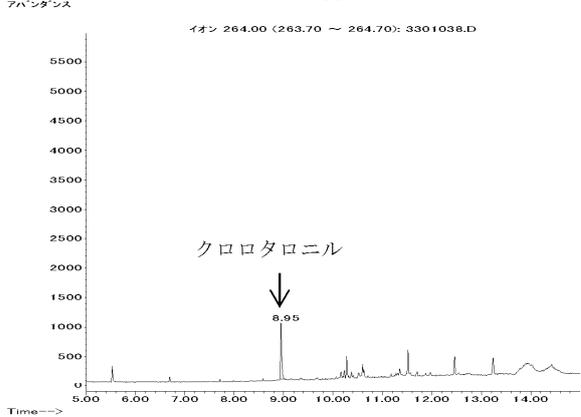
うなぎ クロロタロニル 0.02 ppm添加



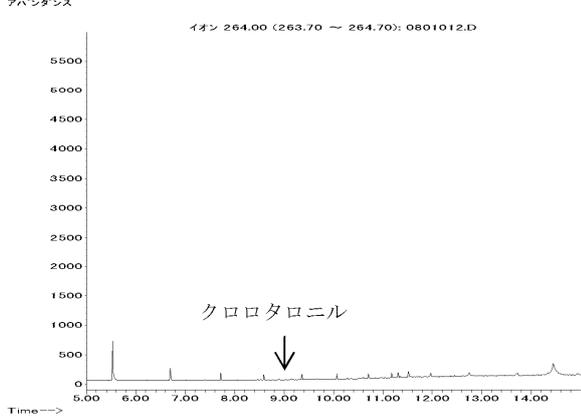
しじみ 無添加



しじみ クロロタロニル 0.02 ppm添加



牛乳 無添加



牛乳 クロロタロニル 0.06 ppm添加

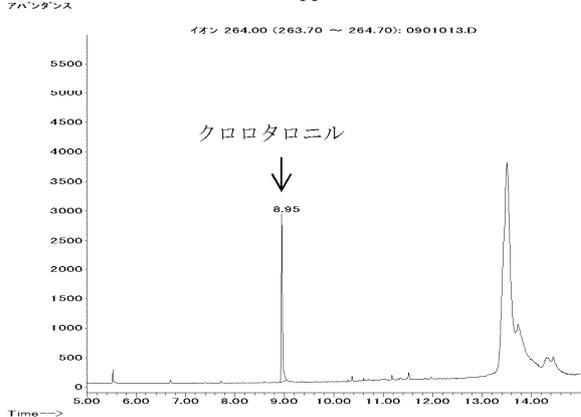
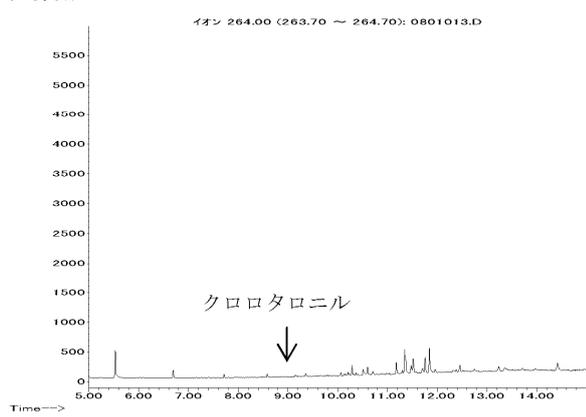
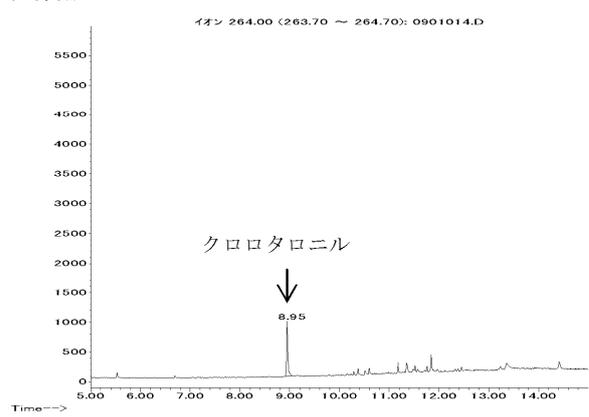


図5-4-2 試料のマスキロマトグラム (GC-MS (定量用))

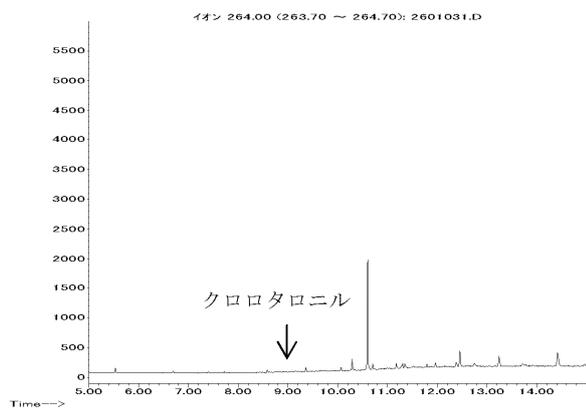
鶏卵 無添加



鶏卵 クロロタロニル 0.02 ppm添加



はちみつ 無添加



はちみつ クロロタロニル 0.02 ppm添加

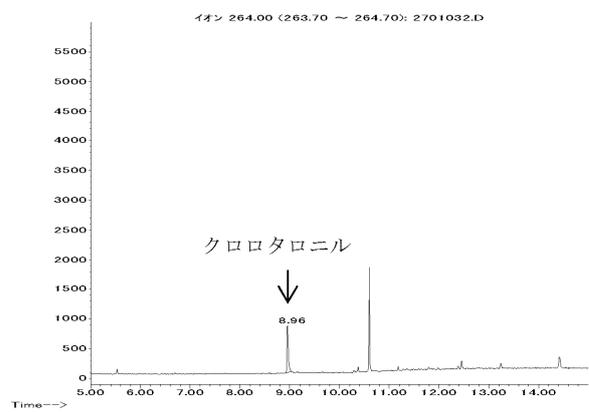
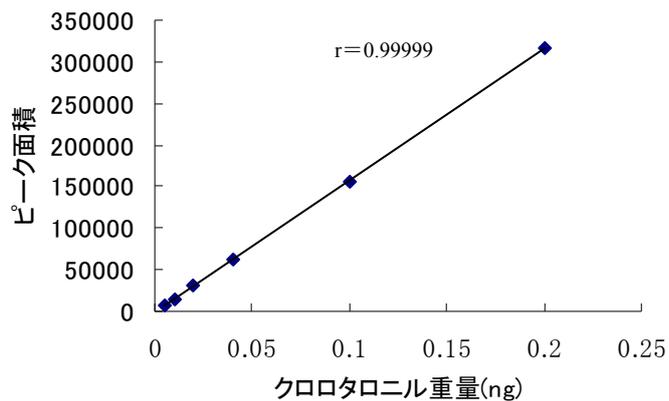


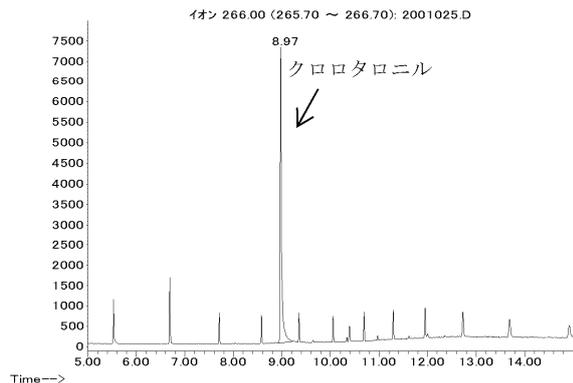
図5-4-3 試料のマスキロマトグラム (GC-MS (定量用))



データ処理装置設定条件の一例  
 機種 (メーカー) : Chemstation (Agilent technologies製)  
 ピークの定量方法 : ピーク面積法  
 検量線の種類 : 最小二乗法  
 検量線基準ピークの重量 : 0.005 ng~0.2 ng  
 検量線傾き (a) :  $a=1587380.218$   
 検量線切片 (b) :  $b=-1234.930283$

図6-1 検量線の一例 (GC-MS (確認用)) ( $m/z$  : 266)

標準溶液 0.1 ng  
 アバタンス



標準溶液 0.01 ng (検出限界相当量)  
 アバタンス

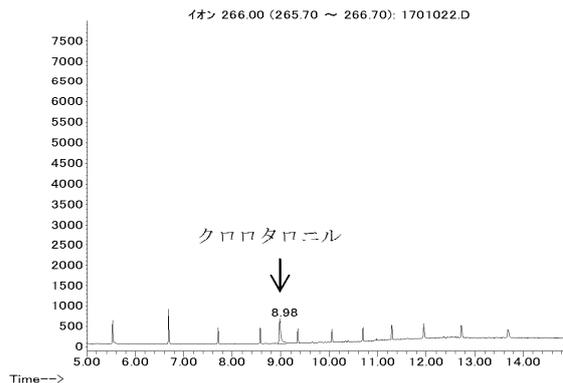
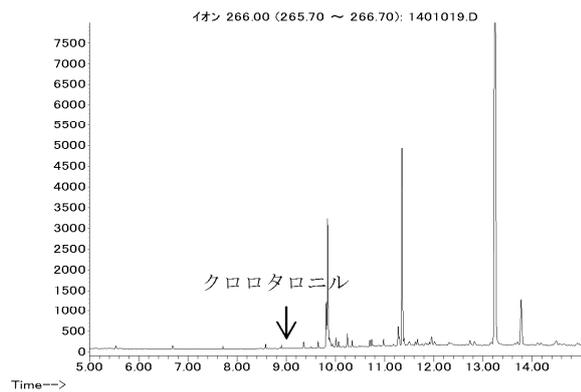
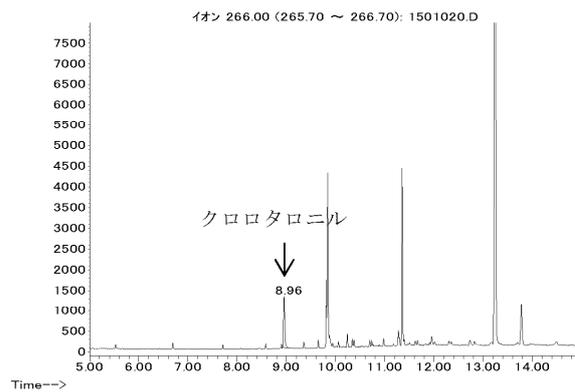


図 6-2 標準溶液のマスキロマトグラム (GC-MS (確認用)) : 一例

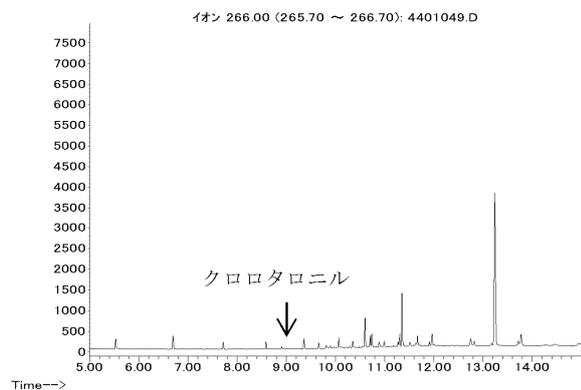
牛の筋肉 無添加  
アバンドンス



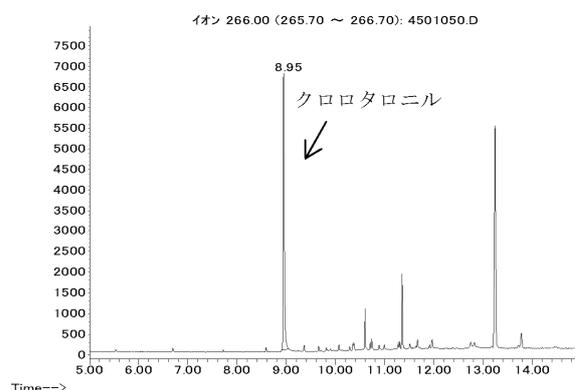
牛の筋肉 クロロタロニル 0.02 ppm添加  
アバンドンス



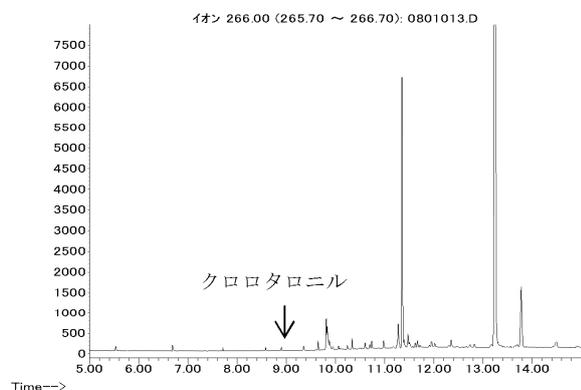
牛の脂肪 無添加  
アバンドンス



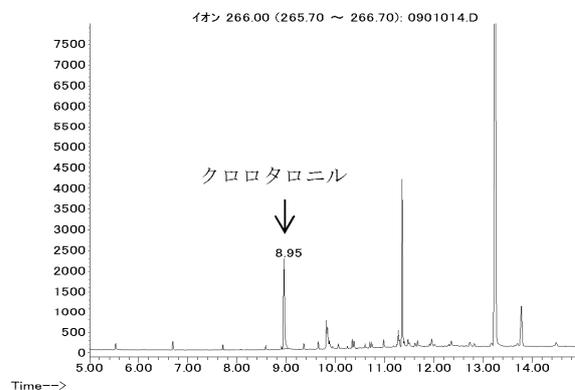
牛の脂肪 クロロタロニル 0.1 ppm添加  
アバンドンス



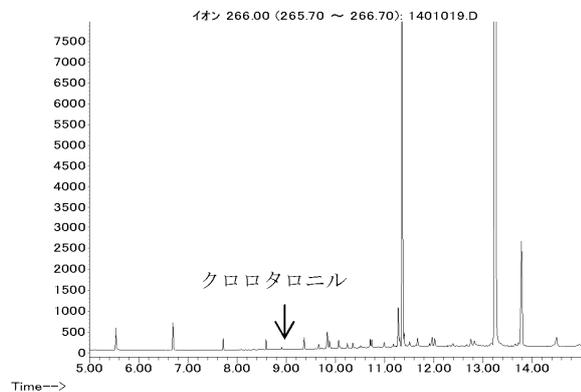
牛の肝臓 無添加  
アバンドンス



牛の肝臓 クロロタロニル 0.02 ppm添加  
アバンドンス



えび 無添加  
アバンドンス



えび クロロタロニル 0.02 ppm添加  
アバンドンス

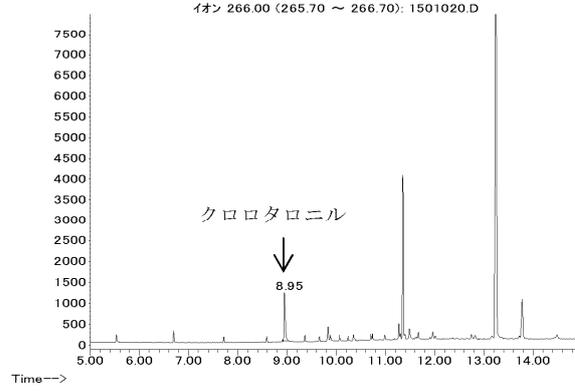
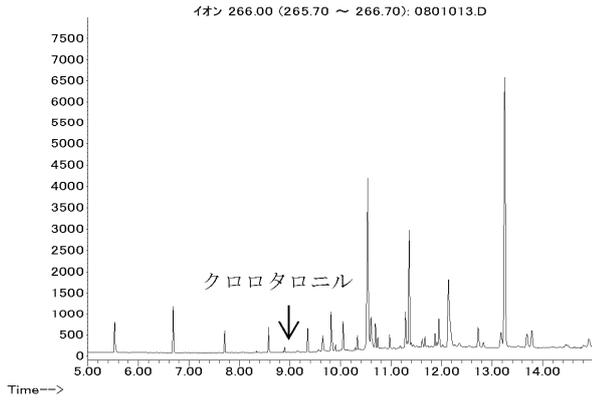
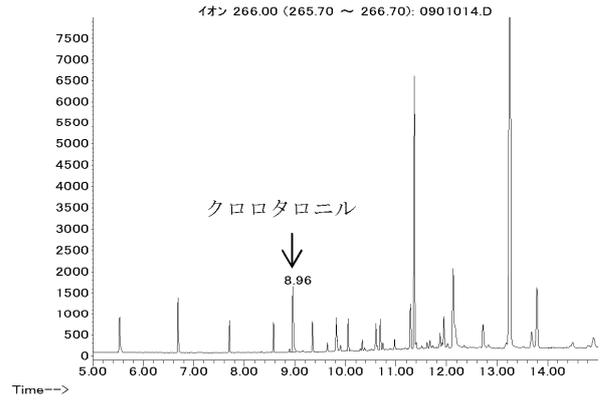


図6-3-1 試料のマスクロマトグラム (GC-MS (確認用))

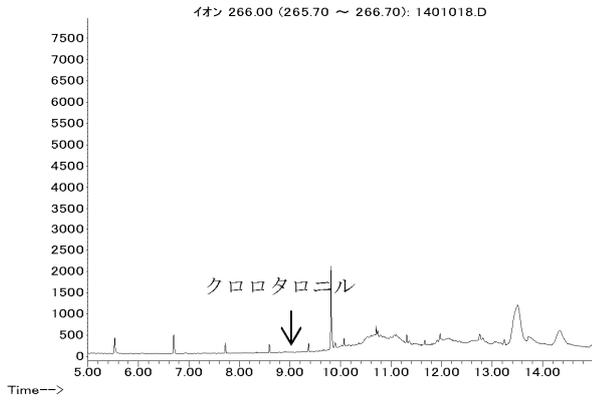
さげ 無添加  
アバンドンス



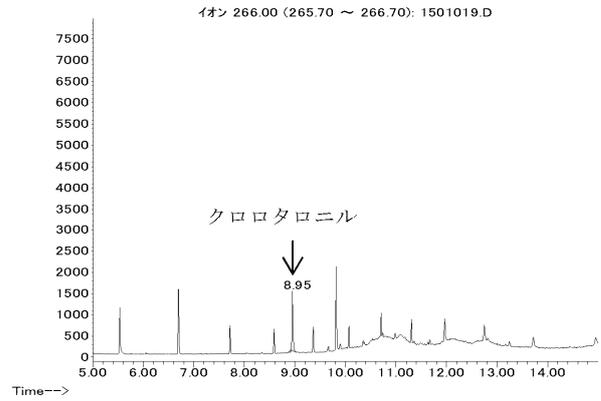
さげ クロロタロニル 0.02 ppm添加  
アバンドンス



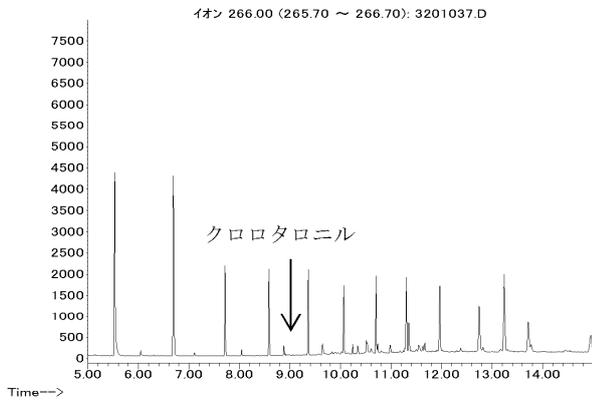
うなぎ 無添加  
アバンドンス



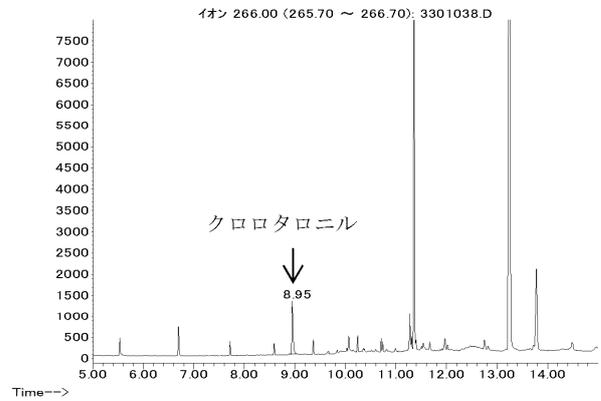
うなぎ クロロタロニル 0.02 ppm添加  
アバンドンス



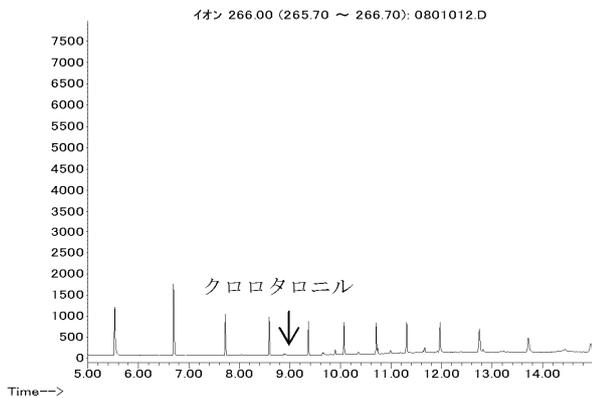
しじみ 無添加  
アバンドンス



しじみ クロロタロニル 0.02 ppm添加  
アバンドンス



牛乳 無添加  
アバンドンス



牛乳 クロロタロニル 0.06 ppm添加  
アバンドンス

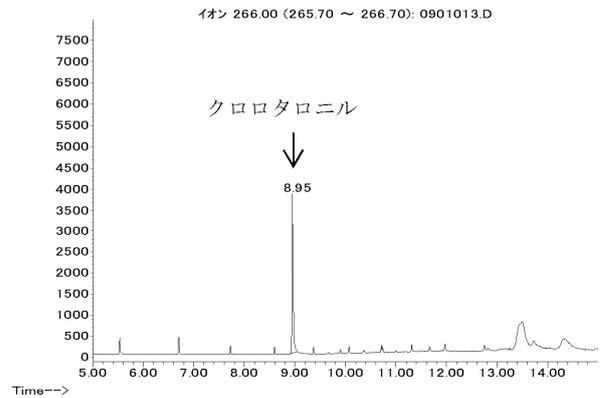
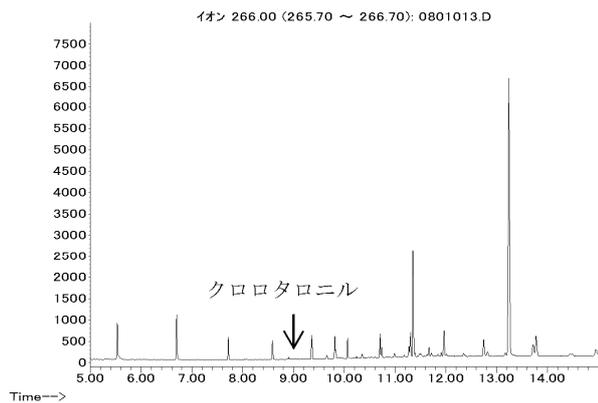
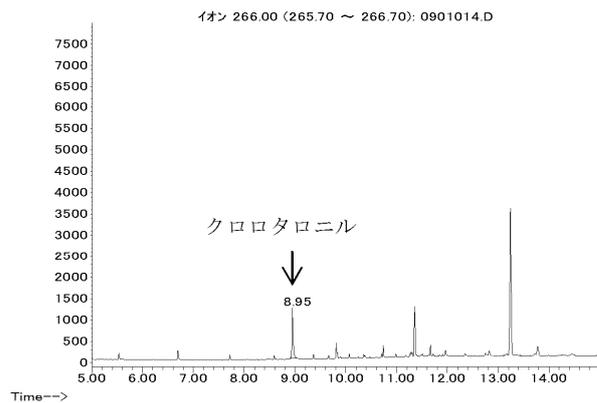


図6-3-2 試料のマスキロマトグラム (GC-MS (確認用))

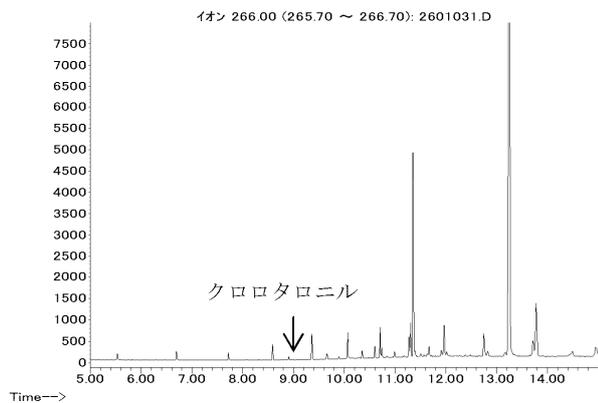
鶏卵 無添加  
アバンドンス



鶏卵 クロロタロニル 0.02 ppm添加  
アバンドンス



はちみつ 無添加  
アバンドンス



はちみつ クロロタロニル 0.02 ppm添加  
アバンドンス

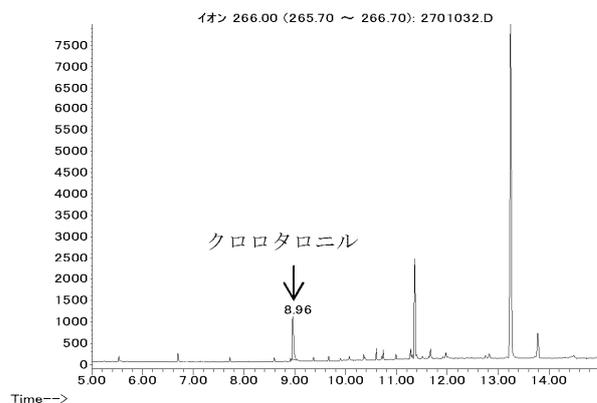


図6-3-3 試料のマスキロマトグラム (GC-MS (確認用))