

キャプタン及びクロロタロニル試験法（畜水産物）

1. 分析対象化合物

キャプタン
クロロタロニル

2. 適用食品

畜水産物

3. 装置

電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフ（GC-ECD）及びガスクロマトグラフ・質量分析計（GC-MS）

4. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

キャプタン標準品 本品はキャプタン 98%以上を含む。

クロロタロニル標準品 本品はクロロタロニル 98%以上を含む。

5. 試験溶液の調製

1) 抽出

① 筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類の場合

試料10.0 g（脂肪の場合は5.00 g）を量り採る。しじみなどの一個体が小さいものは、試料を正確に量り、重量比で1/2量の10 vol%リン酸溶液を加え、磨砕均一化した後、試料10.0 gに相当する量を量り採る。

これに3 vol%リン酸溶液20 mL（しじみなどの場合は水10 mL）及びアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズした後、上記と同様にろ過する。得られたろ液を合わせて、40°C以下で約20 mLまで濃縮する。これに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回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に*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ずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサン（1：1）混液を加えて溶かし、正確に20 mLとする。この溶液から正確に4 mL（脂肪の場合は正確に8 mL）を分取し、40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にエーテル及び*n*-ヘキサン（1：4）混液5 mLを加えて溶かす。

② 乳、卵及びはちみつの場合

試料10.0 gに3 vol%リン酸溶液20 mL及びアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分3,000回転で5分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にアセトン50 mL（はちみつの場合は水20 mL及びアセトン50 mL）を加えてホモジナイズした後、上記と同様に遠心

分離し、得られた上澄液を合わせ、40℃以下で約20 mL（はちみつの場合は約50 mL）まで濃縮する。これに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回振とう抽出する。抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物に*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ずつで2回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトン及び*n*-ヘキサン（1：1）混液を加えて溶かし、正確に20 mLとする。この溶液から正確に4 mLを分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にエーテル及び*n*-ヘキサン（1：4）混液5 mLを加えて溶かす。

2) 精製

① 合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー

合成ケイ酸マグネシウムミニカラム（910 mg）に*n*-ヘキサン5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液を注入した後、エーテル及び*n*-ヘキサンの混液（1：4）5 mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル及び*n*-ヘキサン（1：9）混液30 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を*n*-ヘキサンに溶解し、正確に4 mLとしたものをクロロタロニルの試験溶液とする。この溶液から正確に2 mLを分取し、40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物にアセトニトリル5 mLを加えて溶かす。

② グラファイトカーボンカラムクロマトグラフィー

グラファイトカーボンミニカラム（250 mg）にアセトニトリル5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに①で得られたアセトニトリル溶液を注入した後、アセトニトリル15 mLを注入し、全溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を*n*-ヘキサンに溶かし、正確に2 mLとしたものをキャプタンの試験溶液とする。

6. 検量線の作成

キャプタン標準品及びクロロタロニル標準品をそれぞれアセトンに溶解して500 mg/L とし標準原液とする。各標準原液1 mL をアセトンで25 mL に定容し、20 mg/L 混合溶液（アセトン）を調製する。この溶液を *n*-ヘキサンで希釈した溶液を数点調製し、それぞれ GC-ECD 又は GC-MS に注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.01 ppm に相当する試験溶液中濃度は0.005 mg/L である。

7. 定量

キャプタンについては、試験溶液をGC-ECDに注入し、6. の検量線でキャプタンの含量を求める。

クロロタロニルについては、試験溶液をGC-MSに注入し、6. の検量線でクロロタロニルの含量を求める。

8. 確認試験

キャプタンについては、GC-ECDにより確認する。

クロロタロニルについては、GC-MSにより確認する。

9. 測定条件

(例)

1) キャプタンの場合

GC (定量用)

検出器 : ECD

カラム : 5%フェニル-メチルシリコン 内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μm

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

注入口温度 : 230°C

検出器温度 : 300°C

キャリアーガス : ヘリウム

注入量 : 1 μL

保持時間の目安 : 15分

GC (確認用)

カラム : 35%フェニル-メチルシリコン 内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μm

保持時間の目安 : 16分

他の条件は定量用と同じ。

2) クロロタロニルの場合

GC-MS

カラム : 5%フェニル-メチルシリコン 内径0.25 mm、長さ30 m、膜厚0.25 μm

カラム温度 : 80°C (1分) $-20^\circ\text{C}/\text{分}$ -280°C (10分)

注入口温度 : 250°C

キャリアーガス : ヘリウム

イオン化モード (イオン化エネルギー) : EI (70 eV)

主なイオン (m/z) : 268、266、264

注入量 : 2 μL

保持時間の目安 : 9分

10. 定量限界

キャプタン : 0.01 mg/kg

クロロタロニル : 0.01 mg/kg

11. 留意事項

1) 試験法の概要

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。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。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。

2) 注意点

- ① キャプタン及びクロロタロニルは、試料中で分解されるため、リン酸酸性条件下で抽出を行う必要がある。
- ② 試料採取中の分解をできるだけ避けるために、検体を包丁などで細切したものを試料として用いる。
- ③ クロロタロニルのGC-MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。
定量イオン (m/z) : 264
定性イオン (m/z) : 268、266
- ④ 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉・脂肪・肝臓・乳、鶏卵、さけ、うなぎ、えび、しじみ及びはちみつ

12. 参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 食安発第0124004号「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（農産物）」（平成17年1月24日）
- 2) 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」

13. 類型

C