

## 2 飼料中のキャプタンのガスクロマトグラフによる定量法

齊木 雅一\*

### Determination of Captan in Feed by GC-ECD

Masakazu SAIKI\*

(\* Food and Agricultural Materials Inspection Center, Sapporo Regional Center)

An analytical method was developed to determine the level of captan in feed using gas chromatograph equipped with electron capture detector (GC-ECD).

After adding phosphoric acid (1:11) to the samples, captan was extracted with acetone and resulting solutions were filtered. The filtrate was then diluted with acetone to a final volume of 200 mL. The sample solution was purified with a porous-diatomite cartridge (Chem Elut from Agilent Technologies Inc.; Santa Clara, CA, U.S.), gel permeation chromatography (GPC) and a graphite carbon mini column (Envi-Carb cartridge from Supelco Inc.; Bellefonte, PA, U.S.), followed by GC-ECD analysis for determination of captan. GC separation was carried out on a fused silica capillary column (DB-17 ; 0.25 mm i.d. × 30 m, film thickness 0.25 μm from Agilent Technologies).

Spike tests were conducted on corn spiked with 10 or 0.1 mg/kg of captan. Formula feed, wheat, corn gluten feed and alfalfa hay were also spiked with 1 or 0.1 mg/kg of captan. The resulting mean recoveries ranged from 78.4 to 116 %, and repeatability in terms of relative standard deviations (RSD<sub>r</sub>) was not more than 16 %.

A collaborative study was conducted in eight laboratories using corn, wheat and formula feed spiked with 10 mg/kg, 0.5 mg/kg and 0.5 mg/kg of captan respectively. The mean recovery, repeatability and reproducibility in terms of relative standard deviations (RSD<sub>r</sub> and RSD<sub>R</sub>) and HorRat, respectively, were 88.5 %, 7.7 %, 17 % and 1.5 for corn, 93.4 %, 6.4 %, 21 % and 1.2 for wheat and 98.8 %, 6.2 %, 21 % and 1.2 for formula feed.

This method was validated and established for use in the inspection of captan in feed.

Key words: feed ; gas chromatograph equipped with electron capture detector (GC-ECD) ; gel permeation chromatography ; captan ; collaborative study

キーワード：飼料；電子捕獲検出器付きガスクロマトグラフ；ゲル浸透クロマトグラフィー；キャプタン；共同試験

## 1 緒 言

キャプタンは、フタルイミド系の殺菌剤であり、日本では 1953 年に農薬登録がされている。現

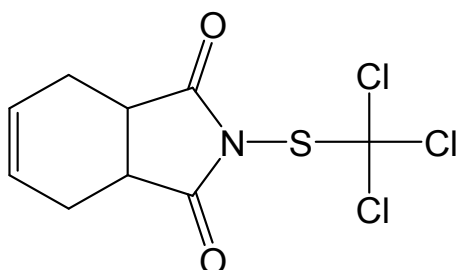
\* 独立行政法人農林水産消費安全技術センター札幌センター

在も野菜，果物，花卉などへ広く使用されており，飼料中のキャプタンの基準値は，農林水産省令<sup>1)</sup>によりとうもろこしで 10 mg/kg と定められている．また，厚生労働省の食品，添加物等の規格基準における残留農薬基準値は，米（玄米）で 5 ppm，とうもろこしで 10 ppm と定められている<sup>2)</sup>．また，諸外国においても果物，トマト，ジャガイモ，豆類等を主に多く適用されており，牧草を含む飼料作物の種子消毒等にも使用されている．

飼料中のキャプタンの定量法については，松崎の報告<sup>3)</sup>があり，既に飼料分析基準<sup>4)</sup>に記載されている．しかし，この方法は操作が煩雑であることから，より簡便な分析法を検討することとした．

今回，一般財団法人日本食品分析センターが開発した分析法<sup>5)</sup>（以下「JFRL 法」という．）を基に，飼料分析基準<sup>4)</sup>への適用の可否について検討したので，その概要を報告する．

なお，キャプタンの構造式等を Fig. 1 に示した．



*N*-(trichloromethylthio)cyclohex-4-ene-1,2-dicarboximide

C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>S MW: 300.59

CAS No.: 133-06-2

Fig. 1 Chemical structure of captan

## 2 実験方法

### 2.1 試料

配合飼料（成鶏飼育用及び乳用牛飼育用），小麦，とうもろこし，コーングルテンフィード及びアルファルファ乾草をそれぞれ 1 mm の網ふるいを通過するまで粉碎して用いた．

なお，検討に用いた配合飼料の配合割合等を Table 1 に示した．

Table 1 Composition of the formula feed

Kind of formula feed	Group of ingredients	Proportion (%)	Ingredients
For layer	Grains	64	Corn, milo
	Oil meals	26	Soybean meal, corn gulten meal, rapeseed meal
	Others	10	Calcium carbonate, calcium phosphate, seaweed powder, salt, animal fat, paprika extract, silicic acid, grass bacillus, lactobacillus, glucose, feed yeast
For cattle	Grains	53	Corn, wheat
	Oil meals	23	Soybean meal, rapeseed meal
	Brans	21	Wheat bran, distiller's dried grains with solubles
	Others	3	Molasses, calcium carbonate, salt

### 2.2 試薬等

1) アセトン，ヘキサン，シクロヘキサン及びジエチルエーテルは残留農薬分析用を用いた．リ

ン酸は特級を用いた。水は高速液体クロマトグラフ用を用いた。

## 2) キャプタン標準液

キャプタン標準品（和光純薬工業製，純度 98.0 %）25 mg を正確に量って 50 mL の全量フラスコに入れ，アセトンを加えて溶かし，更に標線まで同溶媒を加えてキャプタン標準原液を調製した（この液 1 mL は，キャプタンとして 0.5 mg ( $f=0.980$ ) を含有する。）。

使用に際して，標準原液の一定量をヘキサンで正確に希釈し，1 mL 中にキャプタンとして 0.05, 0.075, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 及び 1.0  $\mu\text{g}$  を含有する標準液を調製した。

## 2.3 装置及び器具

- 1) 粉碎機： Retsch 製 ZM100
- 2) 振とう機：タイテック製 レシプロシェーカー SR-2W（使用時振動数 300 rpm）
- 3) ロータリーエバポレーター：東京理化学器械製 NAJ-160
- 4) 多孔性ケイソウ土カラム：Agilent Technologies 製 Chem Elut, 20 mL 保持用
- 5) メンブランフィルター：東洋濾紙製 DISMIC-25HP（孔径 0.45  $\mu\text{m}$ ，直径 25 mm，親水性）
- 6) ゲル浸透クロマトグラフ：日本分光製 GPC システム  
ポンプ：PU-2080  
オートサンプラー：AS-2050  
フラクションコレクター：SF-212N
- 7) グラファイトカーボンミニカラム：Supelco 製 Envi-Carb（充てん剤量 500 mg）
- 8) ガスクロマトグラフ：Agilent Technologies 製 6890N

## 2.4 定量方法

### 1) 抽出

分析試料 10.0 g を量って 300 mL の共栓三角フラスコに入れ，リン酸（1+11）20 mL（乾牧草は 30 mL）を加え，30 分間静置後，更にアセトン 100 mL（乾牧草は 120 mL）を加え，30 分間振り混ぜて（300 rpm）抽出した。200 mL の全量フラスコをブフナー漏斗の下に置き，抽出液をろ紙（5 種 B）で吸引ろ過した後，先の三角フラスコ及び残さを順次アセトン 50 mL で洗浄し，同様に吸引ろ過した。更に全量フラスコの標線までアセトンを加えた。この液 40 mL を 200 mL のなす形フラスコに正確に入れ，40  $^{\circ}\text{C}$  以下の水浴で約 4 mL（乾牧草は 6 mL）まで減圧濃縮し，カラム処理 I に供する試料溶液とした。

### 2) カラム処理 I

試料溶液にリン酸（1+11）5 mL を加えて混合した後，多孔性ケイソウ土カラムに入れ，10 分間静置した。300 mL のなす形フラスコをカラムの下に置き，試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサン 10 mL ずつで 3 回洗浄し，洗液を順次カラムに加え，液面が充てん剤の上端に達するまで流下してキャプタンを溶出させた。更に同溶媒 70 mL をカラムに加えて同様に溶出させた。溶出液を 40  $^{\circ}\text{C}$  以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後，窒素ガスを送って乾固した。

シクロヘキサン-アセトン（4+1）10 mL を正確に加えて残留物を溶かし，メンブランフィルターでろ過し，ゲル浸透クロマトグラフィーに供する試料溶液とした。

### 3) ゲル浸透クロマトグラフィー

試料溶液 5.0 mL をゲル浸透クロマトグラフに注入し，キャプタンが溶出する画分を 100 mL

のなす形フラスコに分取し、40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固した。なお、ゲル浸透クロマトグラフィーの条件を Table 2 に示した。

ヘキサーン-ジエチルエーテル (1+1) 5 mL を加えて残留物を溶かし、カラム処理 II に供する試料溶液とした。

Table 2 Operating condition of GPC for analyzing captan

Column	Shodex CLNpak EV-2000 AC (20 mm i.d. × 300 mm, 15 μm)
Guard column	Shodex CLNpak EV-G AC (20 mm i.d. × 100 mm, 15 μm)
Eluent	Cyclohexane-acetone (4:1)
Flow rate	5 mL/min
Fraction volume	100~120 mL

#### 4) カラム処理 II

グラファイトカーボンミニカラムをヘキサーン-ジエチルエーテル (1+1) 5 mL で洗浄した。100 mL のなす形フラスコをミニカラムの下に置き、試料溶液をミニカラムに入れ、液面が充てん剤の上端に達するまで流下してキャプタンを流出させた。次に試料溶液の入っていたなす形フラスコをヘキサーン-ジエチルエーテル (1+1) 5 mL ずつで 2 回洗浄し、洗液を順次ミニカラムに加え、同様に流出させた。更にヘキサーン-ジエチルエーテル (1+1) 10 mL をミニカラムに加えて同様に流出させ、流出液を 40 °C 以下の水浴でほとんど乾固するまで減圧濃縮した後、窒素ガスを送って乾固した。

ヘキサン 1 mL を正確に加えて残留物を溶かし、ガスクロマトグラフィーに供する試料溶液とした。

#### 5) ガスクロマトグラフィー

試料溶液及び各キャプタン標準液各 1 μL をガスクロマトグラフに注入し、クロマトグラムを得た。なお、測定条件を Table 3 に示した。

Table 3 Operating condition of GC-ECD for analyzing captan

Column	Agilent Technologies DB-17 (0.25 mm i.d. × 30 m, 0.25 μm film thickness)
Column temperature	60 °C (1 min)→30 °C/min→190 °C→10 °C/min→280 °C (10 min)
Injection mode	Pulsed splitless (345 kPa , 60 s)
Injectionport temperature	140 °C
Carrier gas	He 1.5 mL/min
Make-up gas	N <sub>2</sub> 60 mL/min
Detector	Electron capture detector
Detector temperature	300 °C
Injection volume	1 μL

#### 6) 計 算

得られたクロマトグラムからピーク高さ及び面積を求めて検量線を作成し、試料中のキャプタン量を算出した。

なお、定量法の概要を Scheme 1 に示した。

- Sample 10.0 g (300 mL Erlenmeyer flask)
- add 20 mL of phosphoric acid (1:11) ( grass hay: 30 mL) and allow to stand for 30 min
  - add 100 mL of acetone (grass hay: 120 mL) and shake for 30 min
  - filtrate with suction filter (No.5B)
  - wash flask with 50 mL of acetone
  - top up to 200 mL with acetone
  - 40 mL of sample solution
  - evaporate to the volume of 4 mL (grass hay: 6 mL) under 40 °C
  - add 5 mL of phosphoric acid (1:11)
- Chem Elut cartridge
- apply sample solution and allow to stand for 10 min
  - wash flask with 10 mL of hexane (three times)
  - elute with 70 mL of hexane
  - evaporate to dryness under 40 °C and dry up with nitrogen gas
  - dissolve in 10 mL of cyclohexane-acetone (4:1) and filtrate with membrane filter (0.45 µm)
- GPC
- apply 5 mL of sample solution
  - collect the fraction of 100~120 mL
  - evaporate to dryness under 40 °C and dry up with nitrogen gas
  - dissolve in 5 mL of hexane-diethylether (1:1)
- Envi-Carb cartridge
- prewash with 5 mL of hexane-diethylether (1:1)
  - apply sample solution
  - wash flask with 5 mL of hexane-diethylether (1:1) (twice)
  - elute with 10 mL of hexane-diethylether (1:1)
  - evaporate to dryness under 40 °C and dry up with nitrogen gas
  - dissolve in 1 mL of hexane
- GC-ECD

Scheme 1 Analytical procedure for captan

## 2.5 ガスクロマトグラフ試料導入部温度条件の検討方法

グラスウール無しのライナーを用い、導入部温度を 250 °C から 120 °C まで 10 °C ずつ温度を低くした条件で、キャプタンとして 1 mL 中に 0.05, 0.075, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 及び 1.0 µg を含有する標準液を注入し、検量線を作成した。

## 2.6 カラム処理 I の溶出画分の検討方法

とうもろこしを用い、2.4 の 1)により得られた抽出液にキャプタンとして 1 mg/kg 相当量を添加し、2.4 の 2)のカラム処理 I に供する試料溶液を調製した。その後、本法により操作した後、各溶出画分における回収率を確認した。

## 2.7 ゲル浸透クロマトグラフィーの溶出画分の検討方法

とうもろこしを用い、2.4 の 1)及び 2)により得られた抽出精製液にキャプタンとして 1 mg/kg 相当量を添加し、2.4 の 3)のゲル浸透クロマトグラフィーに供する試料溶液を調製した。その後、本法により操作し、各溶出画分における回収率を確認した。

## 2.8 カラム処理 II の溶出画分の検討方法

とうもろこしを用い、2.4 の 1)~3)により得られた抽出精製液にキャプタンとして 1 mg/kg 相当量を添加し、2.4 の 4)のカラム処理 II に供する試料溶液を調製した。その後、本法により操作した後、各溶出画分における回収率を確認した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 ガスクロマトグラフ試料導入部温度条件及び検量線

JFRL 法ではガスクロマトグラフの試料導入部温度を 250 °C としているが、この条件下で検量線を作成したところ相関係数及び傾きが低く定量が困難であった。これについて原因と改善を検討した。

キャプタンはガスクロマトグラフに注入後、検出器に至るまでの間にその一部が分解し、テトラヒドロフタルイミドに変化することが知られている<sup>6)</sup>。JFRL 法においてはキャプタンの分解による損失が大きいことが定量困難の原因と考えられた。また、テトラヒドロフタルイミドは他の農薬の代謝物でもあり、キャプタンそのものの定量では、分解を抑制する必要性があった。

キャプタンは大部分が試料導入部（ライナー）内で分解すると推定し、導入部温度を低く設定することで分解が抑制できないかを検討した。なおライナー内のグラスウールが分解を助長する原因となる可能性があったことから、検討はグラスウール無しのライナーを用いた。

2.5 により検量線を作成したところ温度を低くするに従い相関係数及び傾きが良好となった。Fig. 2-1 に 200 °C 及び Fig. 2-2 に 140 °C の条件下で得られた検量線の例を示した。これらの結果から、試料導入部温度を低くすることによってキャプタンの分解が抑制されたと考えられた。また、試料導入部 140 °C の条件下で最も高い相関係数と傾きが得られた。導入部温度 120 °C まで検討したが 140 °C 以下からは相関係数及び傾きは一定となった。このことから本法では試料導入部温度を 140 °C とすることとした。

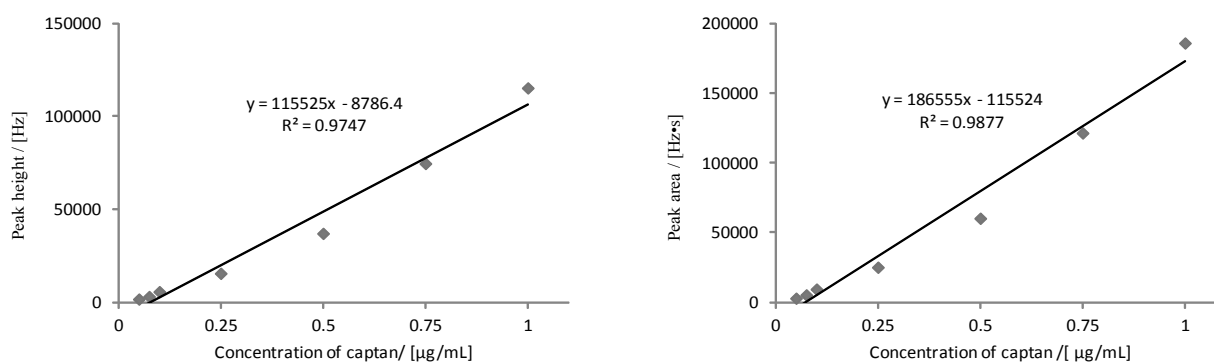


Fig. 2-1 Calibration curves of captan using injector at 200 degrees centigrade  
(left : height, right : area)

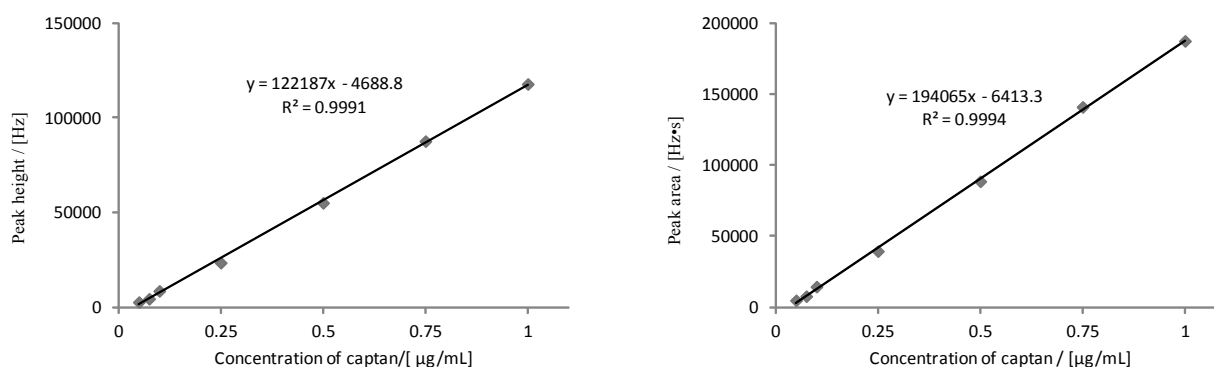


Fig. 2-2 Calibration curves of captan using injector at 140 degrees centigrade  
(left : height, right : area)

### 3.2 カラム処理 I の溶出画分の検討

2.6 によりカラム処理 I の溶出画分を確認した結果は Table 4 のとおりであり、キャプタンは 0~100 mL の画分で溶出し、100 mL 以後の画分には溶出は認められなかった。

以上の結果から、JFRL 法ではヘキサン 80 mL を溶出溶媒としているが、本法ではヘキサン 100 mL を用いることとした。

Table 4 Elution pattern from Chem Elut

Fraction volume(mL)	Hexane				Total
	0-60	60-80	80-100	100-120	
Recovery of captan (%) <sup>a)</sup>	95	16	5	0	116

a) Mean ( $n = 3$ )

### 3.3 ゲル浸透クロマトグラフィーの溶出画分の検討

2.7 によりゲル浸透クロマトグラフィーの溶出画分を確認した結果は Table 5 のとおりであり、キャプタンは 100~120 mL に溶出し、100 mL 以前及び 120 mL 以後の画分には溶出は認められなかった。

以上の結果から、JFRL 法では 105~125 mL を分取することとしているが、今回の検討で用いた機種では 100~120 mL を分取することとした。

Table 5 Elution pattern from GPC

Fraction volume(mL)	Cyclohexane-acetone (4:1)				Total
	90-100	100-110	110-120	120-130	
Recovery of captan (%) <sup>a)</sup>	0	61	31	0	92

a) Mean ( $n = 3$ )

### 3.4 カラム処理 II の溶出画分の検討

2.8 によりカラム処理 II の溶出画分を確認した結果は Table 6 のとおりであり、キャプタンは 0~20 mL に溶出し、20 mL 以後の画分には溶出は認められなかった。

以上の結果から、JFRL 法ではヘキサンジエチルエーテル (1+1) 25 mL を溶出溶媒に用いることとしているが、本法では 20 mL を用いることとした。

Table 6 Elution pattern from Envi-Carb

Fraction volume(mL)	Hexane-diethylether (1:1)				Total
	0-15	15-20	20-25	25-30	
Recovery of captan (%) <sup>a)</sup>	93	1	0	0	94

a) Mean ( $n = 3$ )

### 3.5 妨害物質の検討

配合飼料 3 種類 (成鶏飼育用, 肉豚肥育用及び乳用牛飼育用), 小麦, とうもろこし, コーングルテンフィード, 大豆油かす及びアルファルファ乾草をについて本法に従って分析を行い, 妨害ピークの有無を確認した。

その結果, いずれの試料においても定量を妨害するピークは認められなかった。

得られたクロマトグラムの一例 (成鶏飼育用配合飼料) を Fig. 3 に示した。

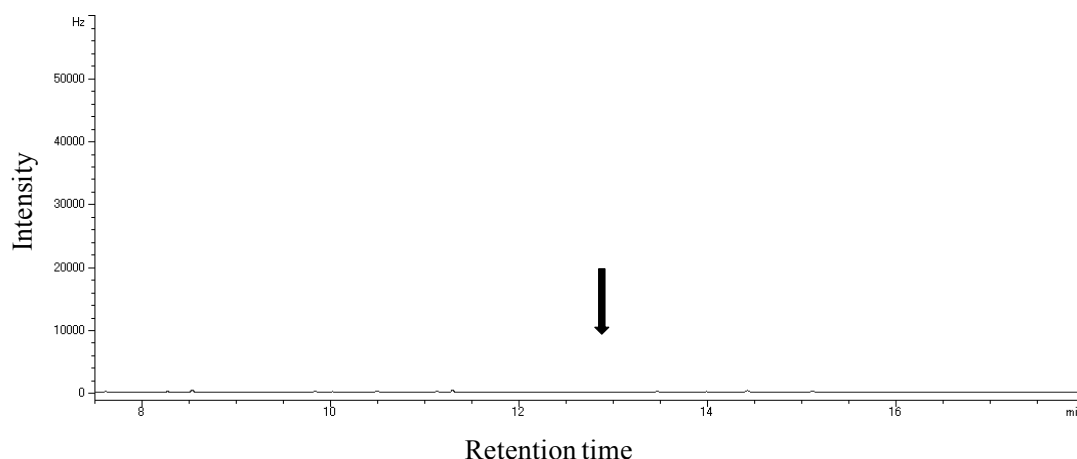


Fig. 3 Chromatogram of formula feed for layer (non-spiked)  
(Arrow indicates the retention time of captan)

### 3.6 添加回収試験

配合飼料 2 種類 (成鶏飼育用及び乳用牛飼育用), 小麦, とうもろこし, コーングルテンフィード及びアルファルファ乾草にキャプタンとして 10, 1 及び 0.1 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 10, 1 及び 0.1 µg/mL 相当量) を添加し, 本法により 3 点併行で定量して回収率及び繰返し精度を検討した。なお, キャプタンを 10 mg/kg 相当量添加したとうもろこしについては, 最終試料溶液をヘキサンの 20 倍希釈, 1 mg/kg 相当量添加した配合飼料, 小麦, コーングルテンフィード及びアルファルファ乾草については, 最終試料溶液をヘキサンの 2 倍希釈してからガスクロマトグラフに供した。

その結果, Table 7 のとおり, 配合飼料では平均回収率 88.1~103 %, その繰返し精度は相対標準偏差 (RSD<sub>r</sub>) として 16 %以下, 小麦では平均回収率 78.4 及び 88.9 %, その繰返し精度は 9.6 %以下, とうもろこしでは平均回収率 101 及び 111 %, その繰返し精度は 5.2 %以下, コーン



グルテンフィードでは平均回収率 93.1 及び 107 %, その繰返し精度は 8.8 %以下, アルファルファ乾草では平均回収率 95.7 及び 116 %, その繰返し精度は 13 %以下であった。

添加回収試験の検討で得られたクロマトグラムの一例を Fig. 4 に示した。

Spiked level (mg/kg)	Formula feed for layer		Formula feed for cattle		Wheat	
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)
10	-	-	-	-	-	-
1	97.6	11	103	16	78.4	9.6
0.1	88.1	3.4	95.1	2.6	88.9	2.6

Spiked level (mg/kg)	Corn		Corn gulten feed		Alfalfa hay	
	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	Recovery <sup>a)</sup> (%)	RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)
10	101	5.2	-	-	-	-
1	-	-	93.1	8.8	95.7	13
0.1	111	3.4	107	6.9	116	8.5

a) Mean recovery ( $n = 3$ )

b) Relative standard deviation of repeatability

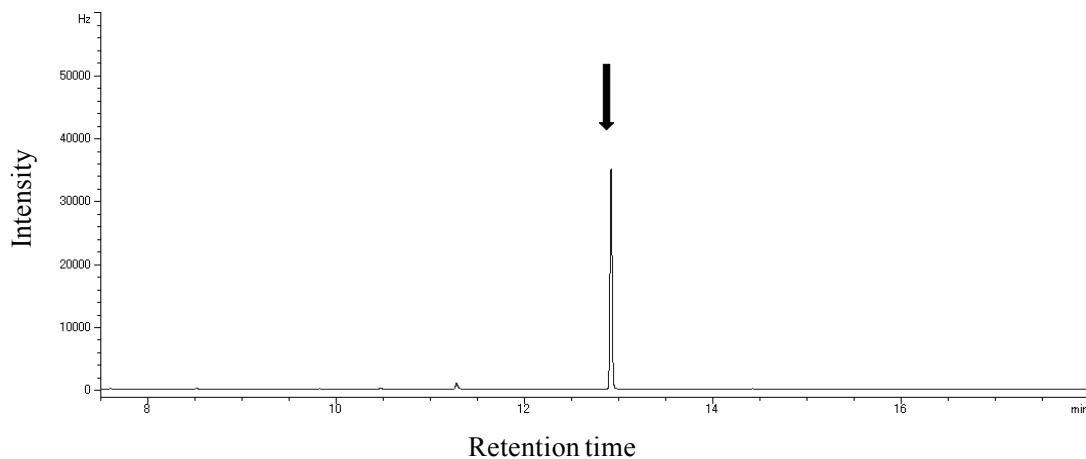


Fig. 4 Chromatogram of formula feed for layer (spiked with captan at 1 mg/kg)  
(Arrow indicates the peak of captan)

### 3.7 定量下限及び検出下限の検討

本法の定量下限及び検出下限を確認するため, 成鶏飼育用配合飼料にキャプタンを添加し, 添加回収試験により得られるピークの  $SN$  比が 10 及び 3 となる濃度を求めた。

その結果,  $SN$  比が 10 となる濃度は 0.1 mg/kg,  $SN$  比が 3 となる濃度は 0.03 mg/kg であったことから, 定量下限は 0.1 mg/kg, 検出下限は 0.03 mg/kg であった。

なお、Table 7 で示したとおり、当該定量下限濃度における添加回収試験は良好であった。

### 3.8 共同試験

本法の室間再現精度を確認するため、濃度非通知、かつ非明示の 2 点反復で共通試料による共同試験を実施した。

共通試料として、成鶏飼育用配合飼料及び小麦にキャプタンとして 0.5 mg/kg 相当量（10 g に対して 1 mL 中に 5 mg を含有するキャプタン標準液 1 mL 添加）及びとうもろこしにキャプタンとして 10 mg/kg 相当量（10 g に対して 1 mL 中に 100 mg を含有するキャプタン標準液 1 mL 添加）を、各試験室にて添加調製した試料を用いた。また、キャプタンは分解しやすいため分析の直前に添加した。

参加試験室は、一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所、一般財団法人食品環境検査協会、独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部、同札幌センター、同仙台センター、同名古屋センター、同神戸センター及び同福岡センター（計 8 試験室）であった。結果の解析については国際的にハーモナイズされた共同試験に関する手順<sup>7), 8)</sup>を参考に、Cochran 検定、外れ値 1 個の Grubbs 検定及び外れ値 2 個の Grubbs 検定を行い、外れ値の有無を確認した上で平均回収率、繰返し精度 ( $RSD_r$ ) 及び室間再現精度 ( $RSD_R$ ) を算出し、得られた  $RSD_R$  から、修正 Horwitz 式を用いて HorRat を求めた。

結果は Table 8 のとおりであった。

成鶏飼育用配合飼料、小麦及びとうもろこしについて、平均回収率はそれぞれ 98.8、93.4 及び 88.5 %、 $RSD_r$  はそれぞれ 6.2、6.4 及び 7.7 %、 $RSD_R$  はそれぞれ 21、21 及び 17 %、HorRat はそれぞれ 1.2、1.2 及び 1.5 であった。

参考のため、各試験室で使用したガスクロマトグラフの種類等を Table 9 に示した。

Table 8 Results of collaborative study

Lab. No.	Feed types					
	Formula feed for layer		Wheat		Corn	
	(mg/kg)		(mg/kg)		(mg/kg)	
1	0.385	0.389	0.374	0.419	8.08	7.62
2	0.347	0.336	0.316	0.317	5.97	6.38
3	0.416	0.467	0.474	0.421	9.82	8.50
4	0.551	0.609	0.580	0.613	9.53	9.24
5	0.629	0.650	0.539	0.572	9.68	10.9
6	0.523	0.471	0.423	0.498	10.7	10.7
7	0.491	0.558	0.426	0.402	9.18	8.57
8	0.560	0.524	0.532	0.566	9.27	7.43
Spiked level (mg/kg)	0.5		0.5		10	
Mean value <sup>a)</sup> (mg/kg)	0.494		0.467		8.85	
Recovery <sup>a)</sup> (%)	98.8		93.4		88.5	
RSD <sub>r</sub> <sup>b)</sup> (%)	6.2		6.4		7.7	
RSD <sub>R</sub> <sup>c)</sup> (%)	21		21		17	
PRSD <sub>R</sub> <sup>d)</sup> (%)	18		18		11	
HorRat	1.2		1.2		1.5	

a)  $n=16$

b) Relative standard deviation of repeatability within laboratory

c) Relative standard deviation of reproducibility between laboratories

d) Predicted relative standard deviation of reproducibility between laboratories calculated from the modified Horwitz equation

Table 9 Instruments used in the collaborative study

Lab.No.	GC	GC column ( i.d. × length, film thickness)
1	Agilent Technologies 6890	Agilent Technologies DB-17 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)
2	Agilent Technologies 6890N	Agilent Technologies DB-17 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)
3	Agilent Technologies 6890N	Agilent Technologies DB-17 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)
4	Shimadzu GC-2010 Plus	Agilent Technologies DB-17 (0.32 mm × 30 m, 0.25 μm)
5	Shimadzu GC-2010 Plus	Agilent Technologies DB-17 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)
6	Agilent Technologies 6890A	Agilent Technologies DB-17 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)
7	Agilent Technologies 6890N	Agilent Technologies DB-17MS (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)
8	Agilent Technologies 6890N	Agilent Technologies DB-17 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)

#### 4 まとめ

飼料中のキャプタンについて、JFRL 法を基に、電子捕獲検出器付きガスクロマトグラフを用いた定量法の飼料分析基準への適用の可否について検討したところ、グラスウールなしのインサートを使用してガスクロマトグラフの試料導入部温度を 250 °C から 140 °C とし、多孔性ケイソウ土カラムにおける溶出溶媒量を 80 mL から 100 mL とし、グラファイトカーボンミニカラムにおける溶出溶媒量を 25 mL から 20 mL に変更することで、以下の結果が得られ、適用が可能であると考えられた。

- 1) 検量線は、0.05 ~ 1.0 μg/mL (注入量として 0.05 ~ 1.0 ng) の範囲で直線性を示した。
- 2) ゲル浸透クロマトグラフィーの溶出を確認したところ、JFRL 法では 105 ~ 125 mL を分取することとしているが、今回の検討で用いた機種では 100 ~ 120 mL を分取することとした。
- 3) 配合飼料 3 種類 (成鶏飼育用, 肉豚肥育用及び乳用牛飼育用), 小麦, とうもろこし, コーングルテンフィード, 大豆油かす及びアルファルファ乾草について, 本法に従って得られたクロマトグラムからは, キャプタンの定量を妨げるピークは認められなかった。
- 4) 配合飼料 2 種類 (成鶏飼育用及び乳用牛飼育用), 小麦, とうもろこし, コーングルテンフィード及びアルファルファ乾草について, キャプタンとして 10, 1, 及び 0.1 mg/kg 相当量 (最終試料溶液中で 10, 1 及び 0.1 ng/mL 相当量) を添加し, 本法にて添加回収試験を実施したところ, 平均回収率は, 78.4 ~ 116 %, その繰返し精度は相対標準偏差として 16 %以下と良好な結果であった。
- 5) 本法によるキャプタンの定量下限は 0.1 mg/kg, 検出下限は 0.03 mg/kg であった。

- 6) 成鶏飼育用配合飼料，小麦及びとうもろこしにキャプタンを添加（試料中キャプタンとして 10 及び 0.5 mg/kg 相当量）した試料を用いて 8 試験室において本法に従い共同試験を実施した。その結果，平均回収率は 88.5～98.8%，その繰返し精度及び室間再現精度は相対標準偏差として 7.7%以下及び 21%以下，HorRat は 1.5 以下であった。

## 謝 辞

共同試験に参加していただいた一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所及び一般財団法人食品環境検査協会における関係者各位に感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 農林省令：飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令，昭和 51 年 7 月 24 日，省令第 35 号 (1976).
- 2) 厚生省告示：食品，添加物等の基準規格，昭和 34 年 12 月 28 日，告示第 370 号(1959).
- 3) 松崎 学：飼料研究報告，21，1 (1996).
- 4) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について，平成 20 年 4 月 1 日，19 消安第 14729 号 (2008).
- 5) 財団法人日本食品分析センター：平成 20 年度飼料中の有害物質等分析法委託事業 飼料中の有害物質等の分析法の開発 (2009).
- 6) 外海 泰秀，津村 ゆかり，中村 優美子，松木 宏晃，伊藤 誉志男：定量操作中に分解し易いキャプタン，カプタホール等 12 種殺菌剤の一斉分析法の検討，生化学，38，270 (1992).
- 7) Horwitz, W., Protocol for Design, Conduct and Interpretation of Method - Performance Studies, Pure & appl. Chem., 67(2), 331-343 (1995).
- 8) AOAC Int. (2012). Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures to Validate Characteristics of a Method of Analysis. In Official Methods of Analysis of AOAC Int. 19 ed. volume II, Gaithersburg, MD,USA