

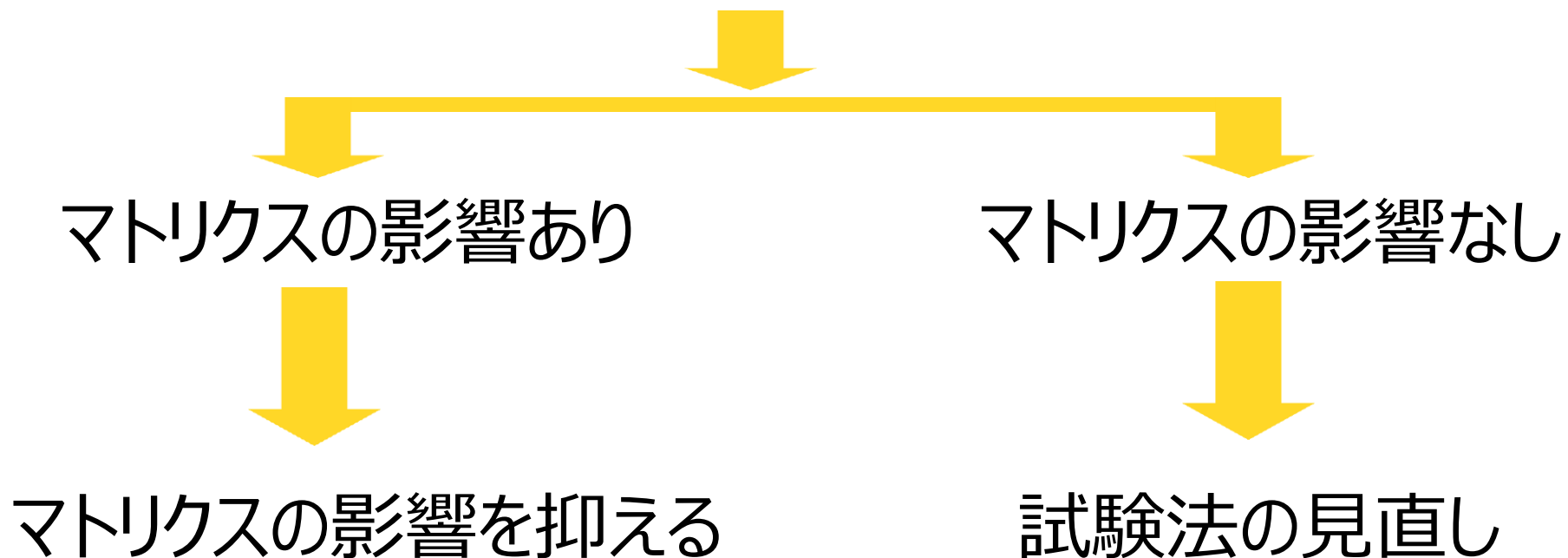
# 定量結果から推測する「うまくいかない」原因 ～数値からのメッセージ、残留農薬分析～

株式会社アイスティサイエンス

H26.12.3～6（金沢市）  
第108回日本食品衛生学会

# 「おかしい」の例・・・異常回収率（低、高）

※測定に問題がない場合。



# マトリクスの影響を抑える

簡単



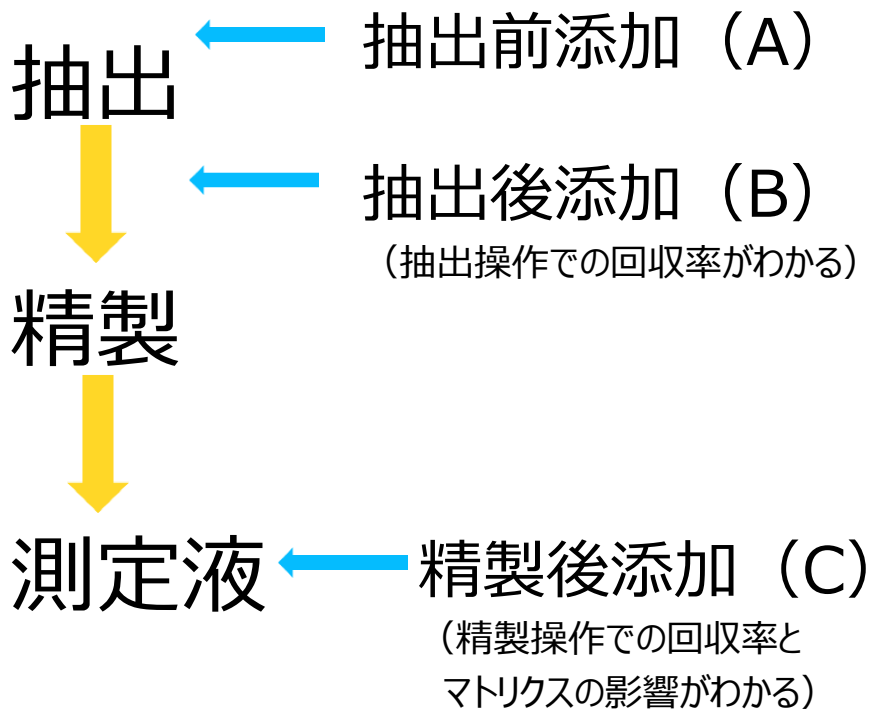
難しい

- ① 注入量を減らす (LC-MS/MS)  
測定液を希釈する
- ② マトリクス検量線を使う  
擬似マトリクスを使う (GC-MS)
- ③ 精製で固相への負荷を減らす  
(負荷量減量や抽出液希釈)
- ④ マトリクスを予想し精製アレンジ

# 試験法の見直し

原因は抽出？精製？分解？

多段標準添加



回収率からわかること

$A \div \text{添加濃度} = \text{添加回収試験}$

$C \div \text{添加濃度} = \text{マトリクスの影響}$

$A \div C = \text{抽出・精製工程の回収率}$   
(マトリクスの影響相殺)

$B \div C = \text{精製工程の回収率}$

$A \div B = \text{抽出工程} \quad //$

# 各工程がおよぼす結果への影響 ～STQ法を例に～

# STQ法の概要



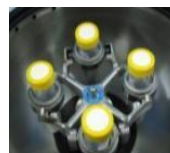
## QuEChERS抽出



① 検体細切、凍結粉碎



② 抽出、振とう塩析



③ 遠心分離

## STQマニュアル精製キット



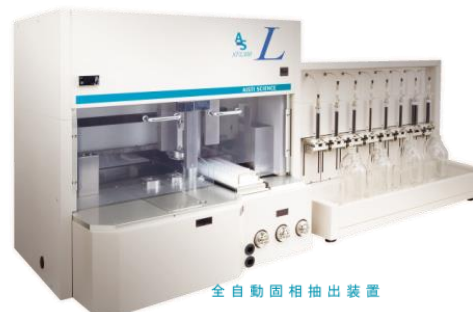
## 精製



固相ミニカートリッジ  
Smart-SPE  
Solid Phase Extraction

## 測定

## 全自動固相抽出装置



全自動固相抽出装置  
ST-L300  
For Smart-SPE AUTOMATION

GC-MS(/MS) + 大量注入  
LC-MS/MS測定



ガスクロマトグラフ用大量注入装置  
LVI-S200  
For Gas Chromatography



# 試料調整の影響

## 原因と要素

## 症状

## 対策例

均一不足

試料中の偏り

ばらつき

凍結粉碎、ミル、  
超遠心粉碎、ふるいなど

凍結・解凍  
の繰り返し

変性

ばらつき

凍結粉碎、複数凍結保管

分解

酵素  
加水分解  
熱分解

低回収率

酸・アルカリ添加、凍結粉碎、  
発熱防止、温度調整など

吸着

物性特性

低回収率

吸着防止剤添加など





## 抽出・塩析フロー

試料 10g (穀類 5g + 水 10mL) ①

— アセトニトリル 10mL ②

ホモジナイズ ③

— NaCl (食塩) 1g

クエン酸3Na2水和物 1g

クエン酸水素2Na1.5水和物 0.5g

MgSO<sub>4</sub> (無水硫酸マグネシウム) 4g

④

— 攪拌 (手で振とう 1分間) ⑤

— 遠心分離 (3000rpm 5分間)

アセトニトリル層



## 結果への影響がおよぶ要素

	操作要素	懸念	対策案
	採取量が少ない	ばらつき	均一化
①	水膨潤が長すぎる	農薬の分解	時間調整
	添加水量不足	pH調製	
②	抽出液量の不足	抽出力	増量 複数回抽出
③	抽出方法	抽出力	ホモジナイズ
④	試薬添加ミス	pH調製 塩析不足	計量スプーン
⑤	攪拌が弱すぎる	試薬溶解不足	



## 回収率の低下、ばらつき



充填剤	主な相互作用	主な用途	通液溶媒	溶媒組成による影響
C18	無極性	無・低極性夾雑の除去 クロロフィル コレステロールなど	水 + アセトニトリル 水 + メタノール	<ul style="list-style-type: none"> <li>・有機溶媒比率が低い→低極性農薬の回収率が低下 (シラフルオフェン、イトフェン<sup>®</sup> ロックス)</li> <li>・高い→夾雑物の溶出 (緑色の溶出)</li> </ul>
PLS3	無極性	農薬保持	水 + アセトニトリル	<ul style="list-style-type: none"> <li>・有機溶媒に農薬が溶解している状態で急激に水で希釈するとプラスチック器具に低極性の農薬が吸着し低回収率に。</li> <li>・アセトニトリル比が高いと、極性よりの農薬が溶出。</li> </ul>
PSA	極性 陰イオン交換	脂肪酸除去	アセトン・ヘキサン混液 ギ酸含有メタノール	<ul style="list-style-type: none"> <li>・アセトン比が低い→高極性農薬の回収率低下 (フルリドン、プロパニアルなど)</li> <li>・高い→脂肪酸溶出の可能性</li> <li>・ギ酸濃度が低い→酸性農薬の回収率が低下 (クロ<sup>®</sup> ロップ、ナ<sup>®</sup> タラムなど)</li> <li>・高い→酸性夾雑物の溶出</li> </ul>
GCS	平面構造	平面構造夾雑除去	アセトニトリル・トルエン混液	<ul style="list-style-type: none"> <li>・トルエン比が低い→平面構造農薬の回収率低下</li> <li>・高い→平面構造夾雑物の溶出</li> </ul>

※検討結果は当社HPに掲載中

<http://www.aisti.co.jp/appli/>

# 精製工程 (GC-A法)

## 精製フロー

分取 1 mL (試料 1g相当)

Smart-SPE C18-50 mg : 精製

— 洗液 アセトニトリル 0.2mL

流出液

— 添加 トルエン 0.4mL

無水硫酸Mg 0.3g

Smart-SPE GCS-20mg/PSA-30mg : 精製

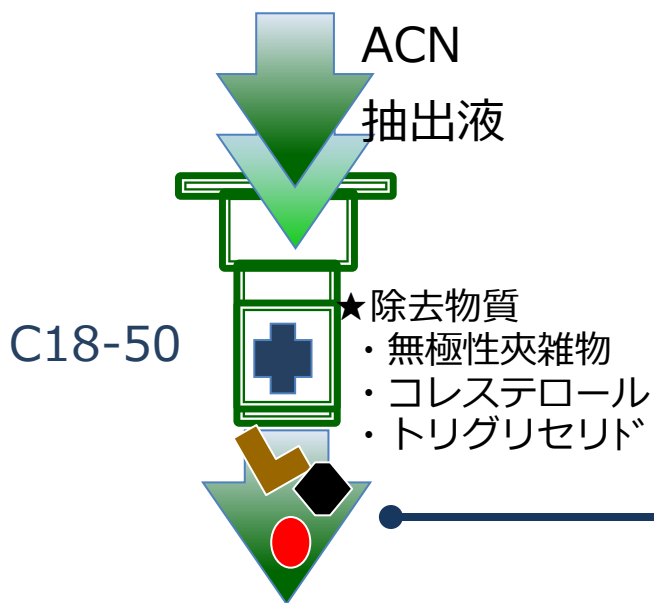
流出液

溶出 アセトニトリル-トルエン(3/1) 0.6mL

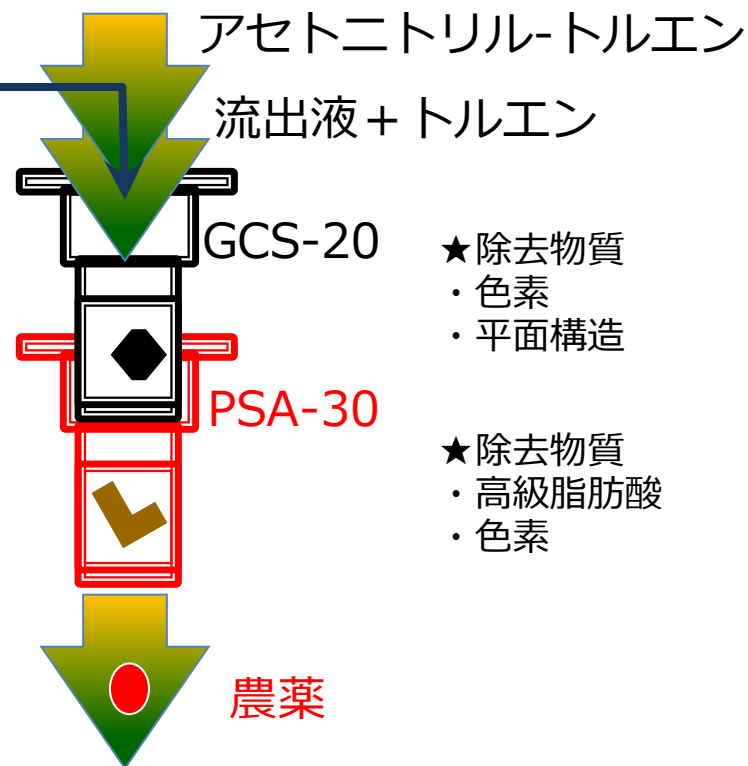
定容 (2 mL, アセトニトリル-トルエンで調製)

# 精製工程 (GC-A法)

## ① 精製



## ② 精製



# 精製工程 (GC-B法)

## 精製フロー

分取 0.5 mL (試料0.5g相当)

— 添加 水 0.2mL (事前にリザーバー内に入れておく)

Smart-SPE C18-30 mg : 精製

— 洗液 アセトリル-水(4/1) 1mL

流出液  
— 添加 水 2mL

Smart-SPE PLS3-10mg : 保持

— 15%食塩水 20mL

→ Smart-SPE PLS3-10mg : 再保持

吸引乾燥 : 3分

連結 Smart-SPE PSA-30 : 精製

— 溶出 アセト-ヘキサン (15/85) 1mL

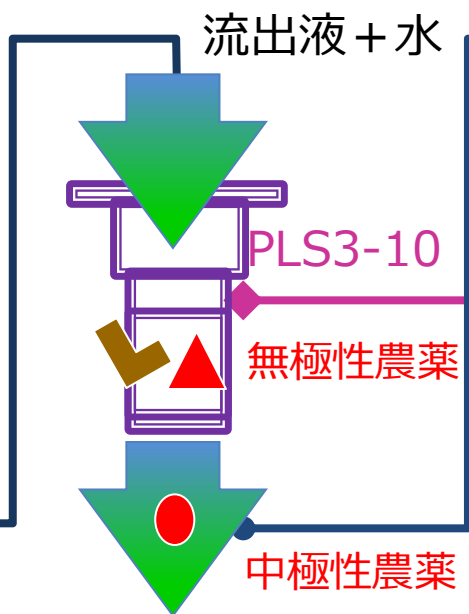
定容 (1 mL, アセト/ヘキサンで調製)

# ④ 精製工程 (STQ-B法)

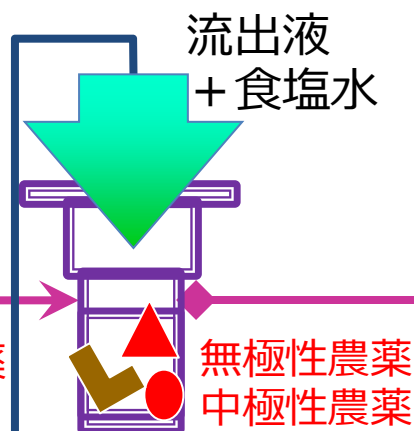
## ① 精製



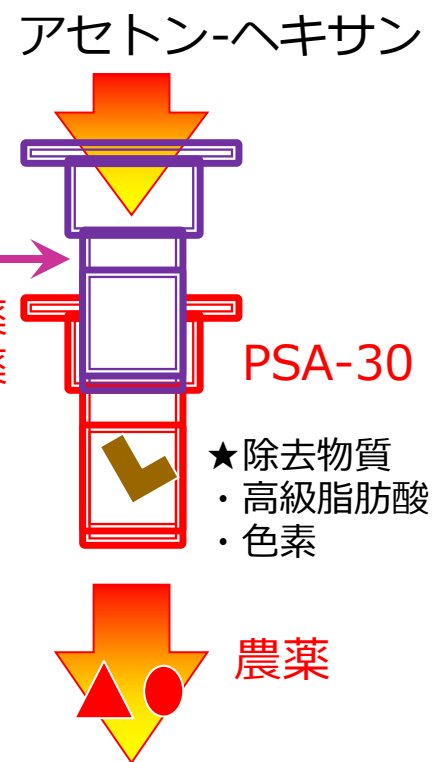
## ② 保持



## ③ 再保持



## ④ 溶出・精製



## ⑤ 精製工程 (LC法)

### 精製フロー

分取 1mL (試料 1 g 相当)

Smart SPE C18-30mg + PSA-30mg

- 溶出 0.4%ギ酸含有メタノール (pH2.5) 1mL  
\* 酸性農薬が無い場合、メタノール 1mL

流出液

- 水 0.5mL

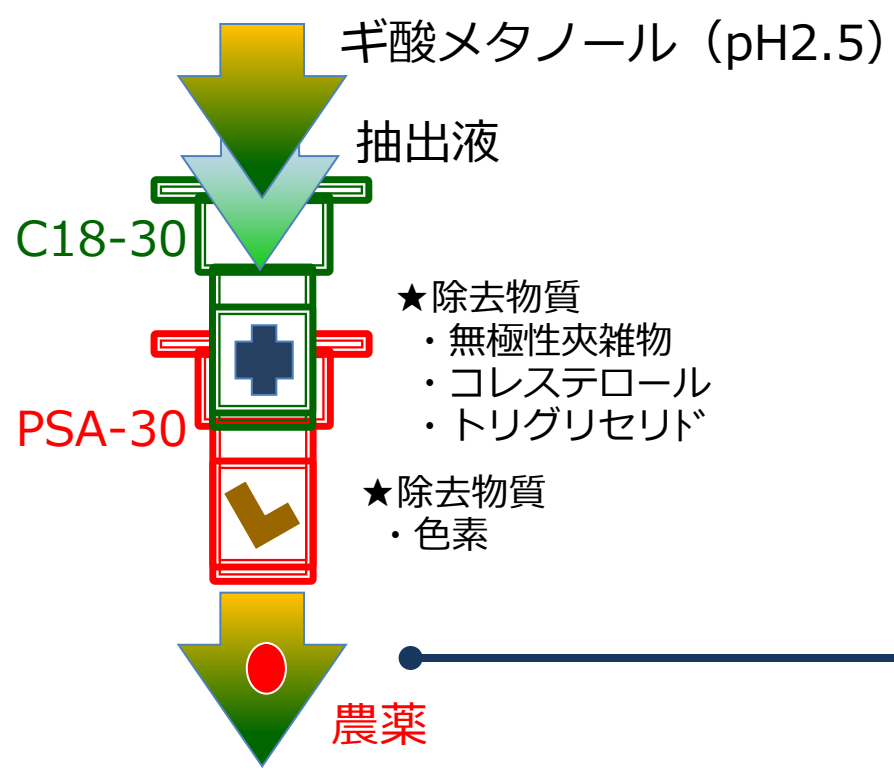
Smart SPE C18-50mg

- 洗液 メタノール-水 (4/1) 1mL

定容 (4 mL, 水で調製)

# ⑤ STQ-LC法による精製工程

## ① 精製



## ② 精製

