



食品中残留農薬分析における固相抽出法 を用いた自動前処理装置の開発

株式会社アイスティサイエンス
○谷澤春奈 佐々野僚一

目的

■食品中残留農薬分析の前処理工程の自動化

①抽出操作以降の前処理工程の自動化

抽出はQuEChERS法を参考に効率化を図る

固相抽出を用いた濃縮操作ゼロの前処理操作を自動化

②加圧式による固相抽出の精製効果

③添加回収試験による装置の評価

対象農薬

ポジティブリスト制 GC/MS対象農薬

製品名		農薬数	濃度
農薬混合標準液	22	50種	10ppm
農薬混合標準液	31	85種	10ppm
農薬混合標準液	34	46種	10ppm
農薬混合標準液	48	61種	10ppm
農薬混合標準液	51	26種	10ppm
		合計	268種

*いずれも関東化学社製

前処理フロー

◎前処理フロー 抽出

試料 10g (穀類 5g + 水 10mL)

└ アセトニトリル 10mL

ホモジナイズ

└ 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

MgSO₄ (無水硫酸マグネシウム) 4g

撈拌 (手で振とう 1分間)

遠心分離 (3000rpm 5分間)

アセトニトリル層を50%ACN水で倍希釈

↓
抽出液 (75%ACN水試験溶液)

《自動前処理装置》

分取 1 mL (試料 0.5 g 相当)

└ 固相 C18-30 mg : 精製

└ 洗液 80%ACN水 1mL

流出液

└ 5%食塩水 20mL

└ 固相 PBC-20 mg : 保持

└ 乾燥 (Heガス 1分)

└ 連結固相 PSA-30 mg : 精製

└ 溶出 アセトニトリル (3/7) 1mL

溶出液

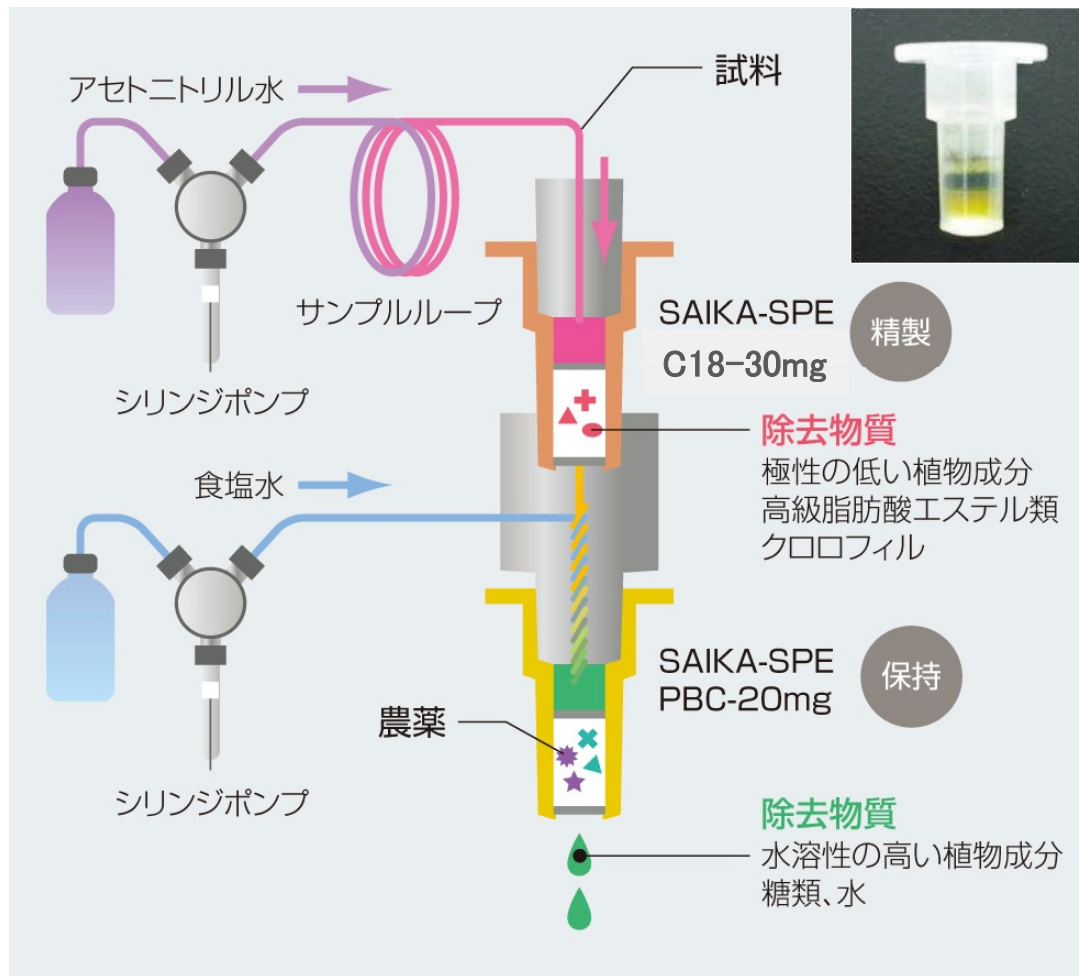
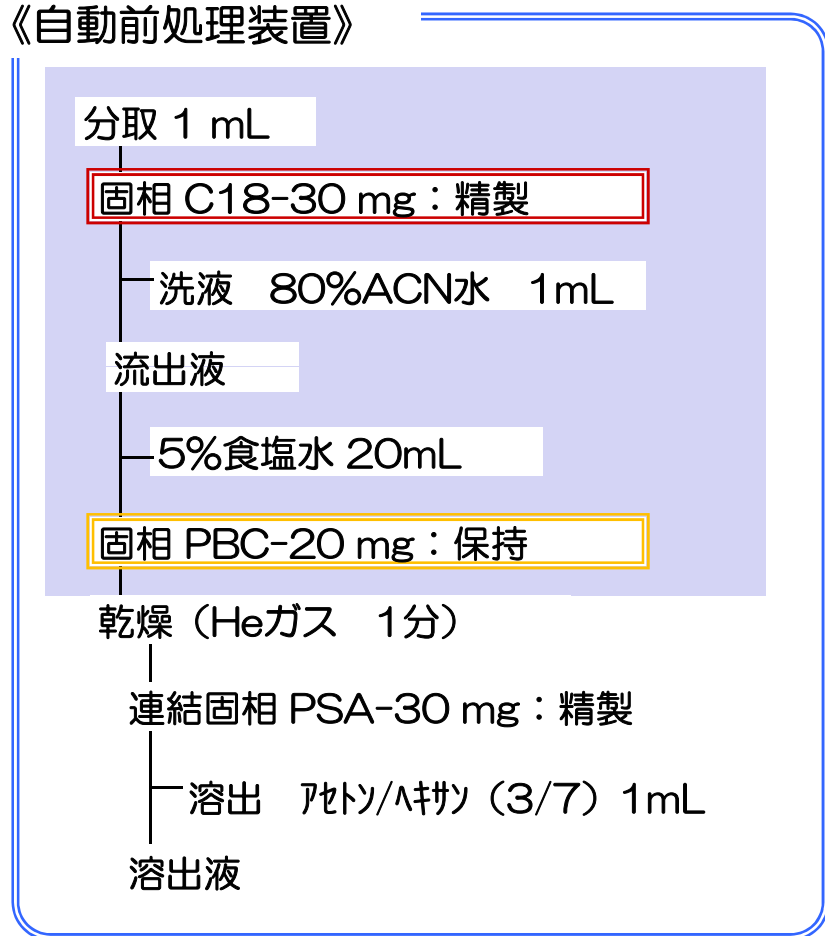
└ 10ppmフェイカトリッド + 1%PEG(300)/アセトニトリル 2uL

定容 (1 mL, アセトニトリル (3/7) で調製)

GC/MS (大量注入25 μL : 試料12.5 mg相当)

工程①精製・保持

《自動前処理装置》



工程②乾燥

《自動前処理装置》

分取 1 mL (試料 0.5 g 相当)

固相 C18-30 mg : 精製

洗液 80%ACN水 1mL

流出液

5%食塩水 20mL

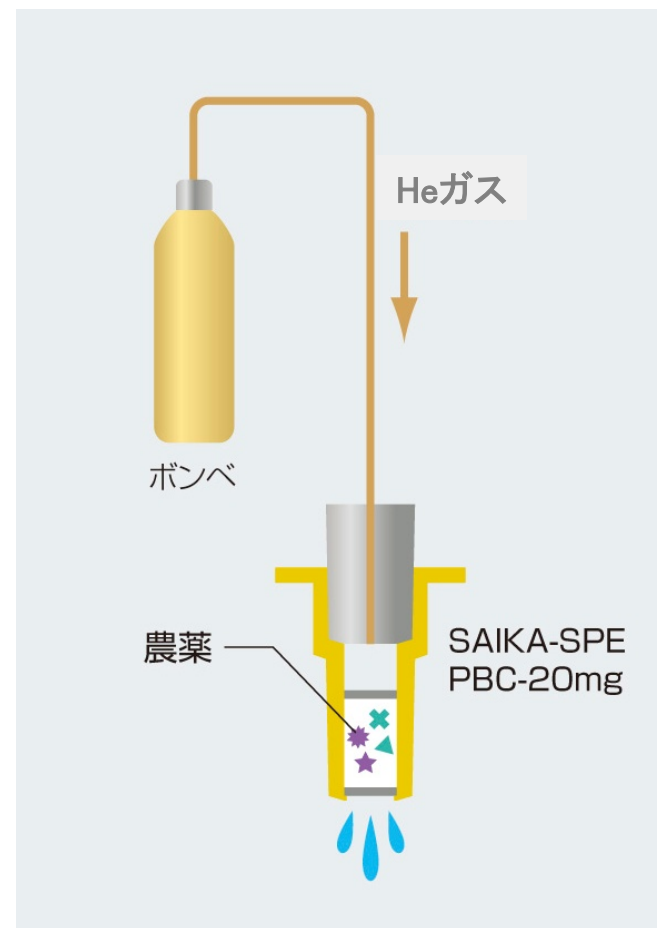
固相 PBC-20 mg : 保持

乾燥 (Heガス 1分)

連結固相 PSA-30 mg : 精製

溶出 70%メタノール (3/7) 1mL

溶出液



工程③精製

《自動前処理装置》

分取 1 mL (試料 0.5 g 相当)

固相 C18-30 mg : 精製

洗液 80%ACN水 1mL

流出液

5%食塩水 20mL

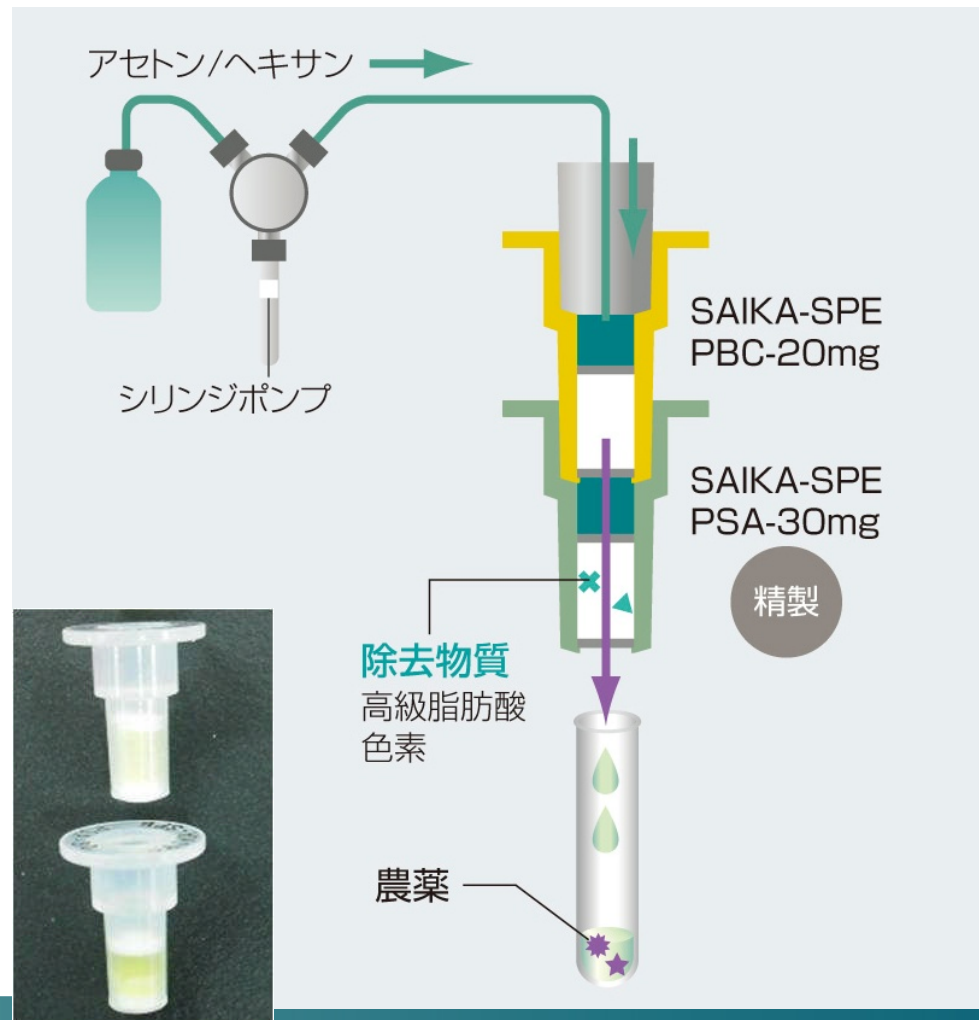
固相 PBC-20 mg : 保持

乾燥 (Heガス 1分)

連結固相 PSA-30 mg : 精製

溶出 アセトン/ヘキサン (3/7) 1mL

溶出液



自動前処理装置の1サイクル

①固相セット

C18-30 mg (上) PBC-20 mg (下)



②コンディショニング (C18+PBC)

アセトン/ヘキサン (3/7) 2mL
 |
 アセトン 2mL
 |
 80%アセトニトリル水 2mL



③固相抽出

C18-30 mg : 精製 PBC-20 mg : 保持

サンプルロード 1mL
 |
 80%アセトニトリル水 1mL
 |
 5%食塩水 20mL と混合
 |
 PBCをHeガスで乾燥 (1分)



④コンディショニング (PSA)

アセトン 2mL
 |
 アセトン/ヘキサン (3/7) 2mL

⑤溶出

PBC-20 mg : 溶出
 |
 連結固相 PSA-30 mg : 精製
 |
 アセトン/ヘキサン (3/7) 1mL
 |
 溶出液

⑥ノズル洗浄

アセトン 3mL × 2回
 |
 80%アセトニトリル水 3mL

★1サイクル (1検体処理時間) 12分

測定条件

自動前処理装置

使用溶媒

STQ-L200 (AiSTI Science)

アセトン

アセトン:ヘキサン (3:7)

アセトニトリル:水 (80:20)

水

食塩水(5%)

乾燥ガス

ヘリウム (圧力 0.6MPa)



GC/MS

PTV Injector

LVI-S200 (AiSTI Science) ; Stomach Insert

Injector Temp.

70°C-120°C/min-240°C-50°C/min-290°C (38min)

Solvent Purge Time

0.3 min

Auto Samplor

CombiPAL; 50 µL Syringe (AMR)

Injection Volume

25 µL

GC

Agilent 6890N

Column

ENV-5MS, 0.25mm i.d. × 30m, df; 0.25mm

Column Oven Temp.

60°C (4min) -20°C/min-160°C-5°C/min-220°C-3°C/min-235°C-7°C/min-310°C (8.3min)

MS

JMS-Q1000GC (JEOL)

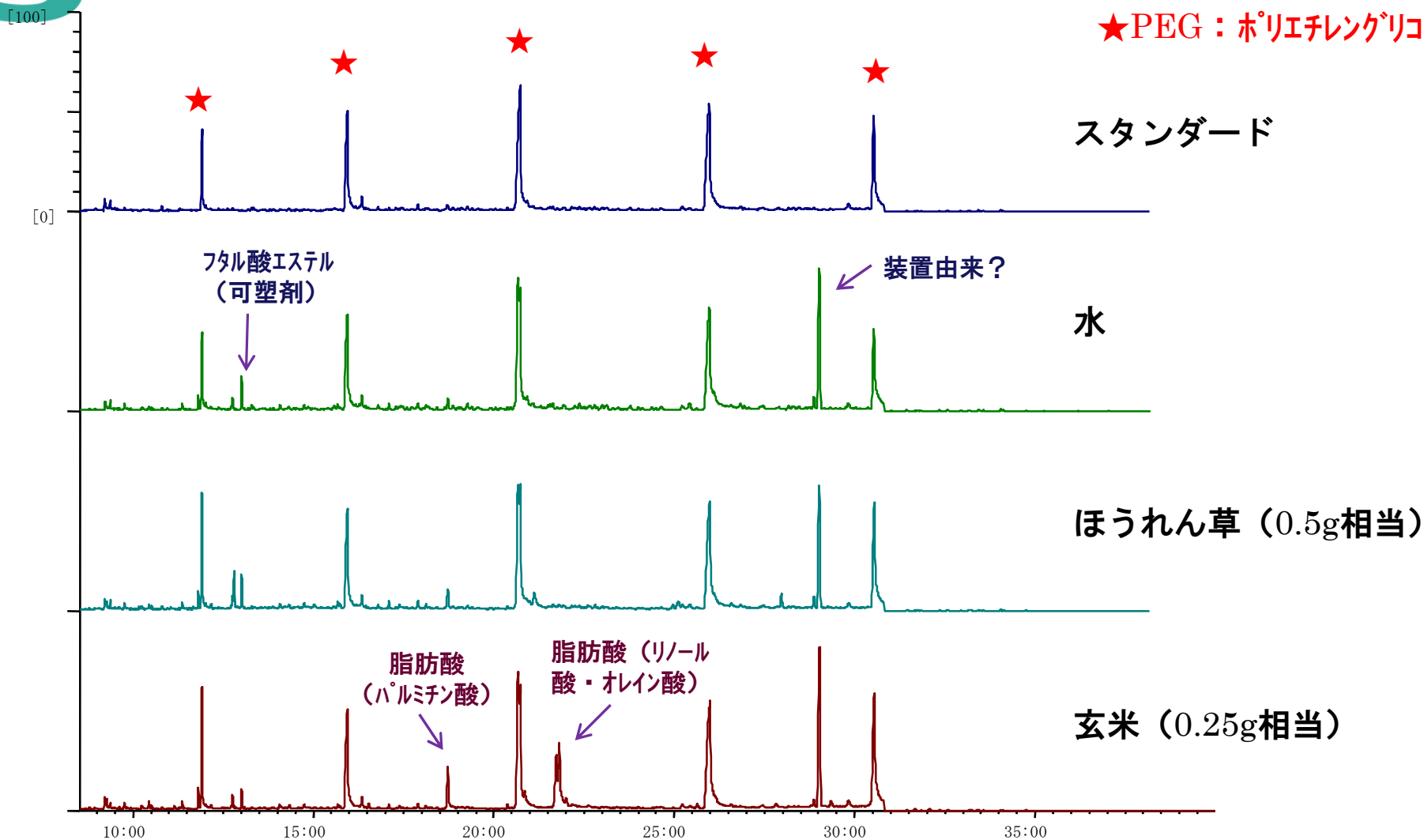
MS Method

SCAN; 70 - 400 m/z (8:30min~30:50min)

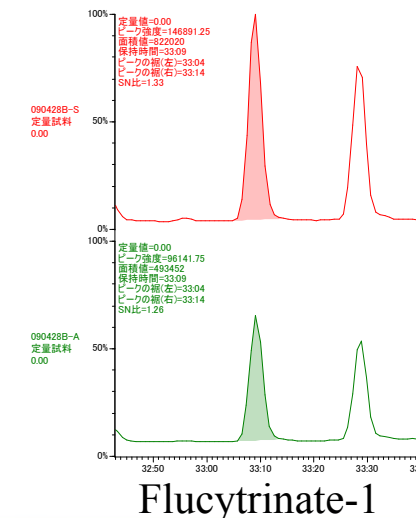
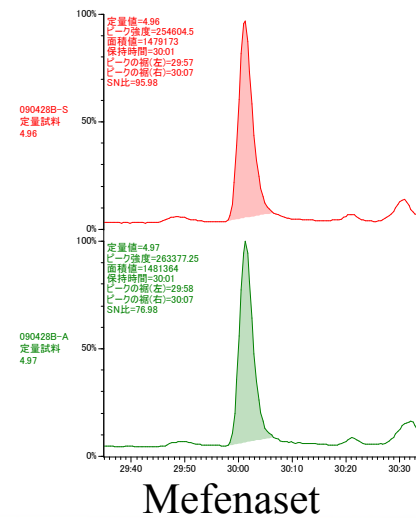
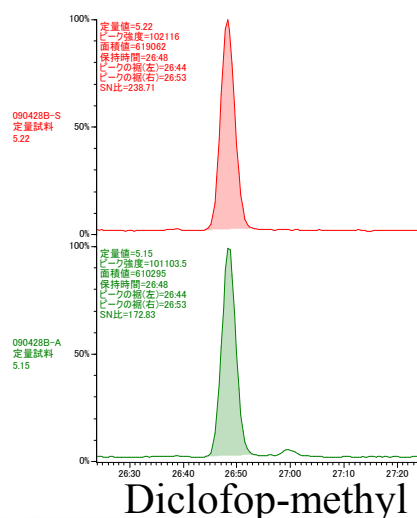
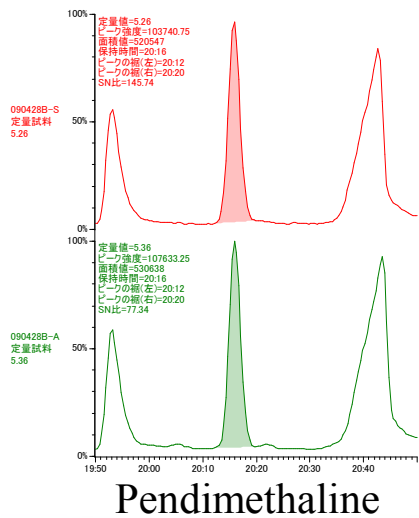
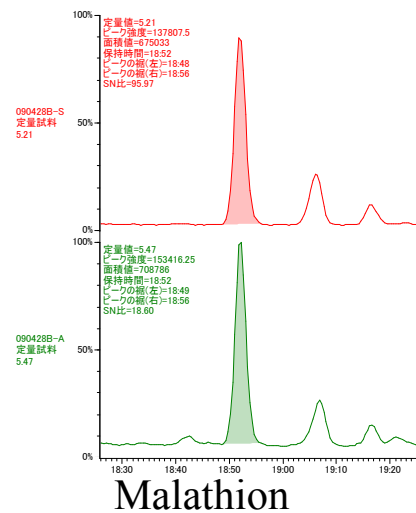
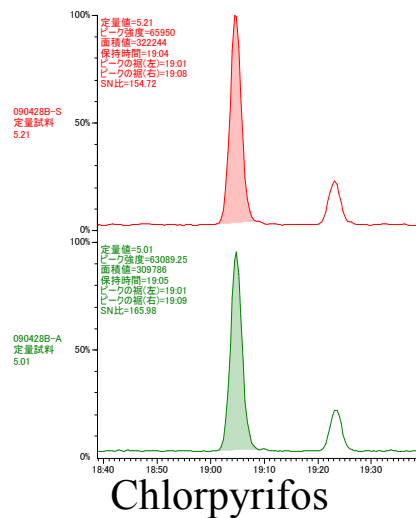
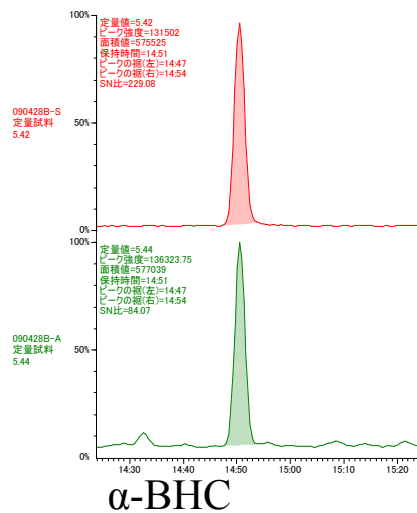
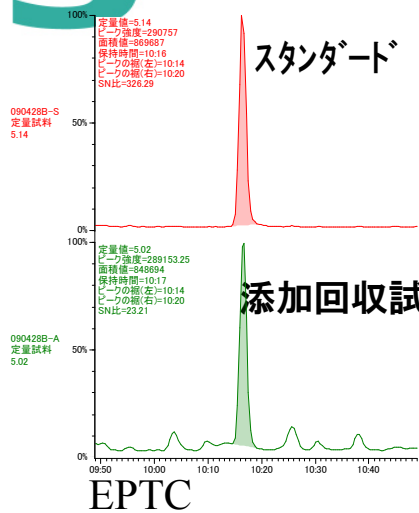
SIM (30:50min~40:00min)

GC/MS SCANクロマトグラム

★PEG：ポリエチレングリコール300



定量イオンクロマトグラム (試料中0.01ppm)



ほうれん草添加回収試験①

試料中濃度0.01ppm (n=5)

農薬名	回収率	RSD	Spike 回収率	農薬名	回収率	RSD	Spike 回収率
1 1-Naphthylacetamide	18	8	105	26 BHC-delta	102	8	109
2 3-Hydroxycarbofuran	42	6	109	27 BHC-gamma	90	2	101
3 Acephate	0	0	113	28 Bifenox	104	5	118
4 Acetamipride	2	33	102	29 Bifenthrin	46	7	101
5 Acetochlor	83	4	99	30 Bitertanol-1	132	6	170
6 Acrinathrin	46	16	96	31 Bitertanol-2	97	5	109
7 Alachlor	87	3	102	32 Bromacil	32	8	103
8 Allethrin-1,2	121	10	132	33 Bromobutide	86	3	100
9 Allethrin-3,4	92	3	99	34 Bromofos-methyl	85	4	101
10 Ametryn	63	8	103	35 Bromophos-ethyl	72	6	104
11 Anikofos	93	4	99	36 Bromopropylate	96	3	110
12 Aramite-1	55	8	105	37 Buprimate	96	2	104
13 Aramite-2	94	7	112	38 Buprofezin	90	2	102
14 Aramite-3	99	4	99	39 Busan(TCMTB)	42	19	69
15 Aramite-4	102	4	112	40 Butachlor	93	2	102
16 Atrazine	48	10	105	41 Butamifos	107	5	112
17 Azaconazole	67	9	105	42 Butylate	96	2	106
18 Azinphos-Methyl	91	3	102	43 Cadusafos	104	2	117
19 Benalaxyl	99	3	108	44 Cafenstrolc	110	11	110
20 Bendiocarb	48	8	110	45 Captafol	145	10	142
21 Benfuralin	91	5	113	46 Captan	30	11	71
22 Benfuresate	89	4	102	47 Carbaril	72	7	105
23 Benoxacor	86	4	103	48 Carbofuran	40	5	110
24 BHC-alpha	95	2	105	49 Carboxin	332	8	643
25 BHC-beta	90	2	101	50 Carfentrazone-ethyl	101	1	110

ほうれん草添加回収試験②

試料中濃度0.01ppm (n=5)

農薬名	回収率	RSD	Spike 回収率	農薬名	回収率	RSD	Spike 回収率
51 Chlorbenside	78	7	114	76 Cypermethrin-2	94	6	131
52 Chlorbufam	91	5	109	77 Cypermethrin-3	81	6	124
53 Chlorethoxyphos	94	5	108	78 Cypermethrin-4	112	4	151
54 Chlorfenapyr	382	4	409	79 Cyproconazole-1	79	7	103
55 Chlorfenson	111	2	123	80 Cyproconazole-2	77	4	101
56 Chlorfenvinphos-E	98	5	106	81 DCPA	94	2	104
57 Chlorfenvinphos-Z	94	3	104	82 DDD-p,p'+DDT-o,p'	76	6	107
58 Chlorobenzilate	99	2	106	83 DDE-p,p'	57	7	106
59 Chloroneb	89	2	102	84 DEF(tribuphos)	86	5	105
60 Chlorpropham	104	2	118	85 Deltamethrin	42	13	84
61 Chlorpyrifos	89	4	101	86 Demeton-S-methyl	48	10	212
62 Chlorpyriphos-methyl	95	3	107	87 Diallate-1	97	1	109
63 Chlozolinate	94	2	103	88 Diallate-2	99	3	112
64 Cinidon-ethyl	102	3	118	89 Diazinon	93	2	103
65 Clomazone	81	7	109	90 Dichlofenthion	90	3	107
66 Cyanazine	41	8	103	91 Dichlofluanid	0	0	39
67 Cyanophos	90	3	100	92 Dichlorobenzophenone-4,4'	91	3	103
68 Cyfluthrin-1	110	9	151	93 Dichlorvos	18	5	93
69 Cyfluthrin-2	68	15	114	94 Diclocymet-1	90	2	99
70 Cyfluthrin-3	54	31	91	95 Diclocymet-2	88	7	101
71 Cyfluthrin-4	89	4	139	96 Diclofop-methyl	93	3	102
72 Cyhalofop-butyl	96	2	105	97 Dickloran	87	3	110
73 Cyhalothrin-1	59	10	106	98 Dicrotophos	0	0	97
74 Cyhalothrin-2	55	9	101	99 Diethofencarb	88	4	107
75 Cypermethrin-1	60	7	110	100 Difenoconazole-1	95	4	104

ほうれん草添加回収試験③

試料中濃度0.01ppm (n=5)

農薬名	回収率	RSD	Spike 回収率	農薬名	回収率	RSD	Spike 回収率
101 Difenoconazole-2	106	9	123	126 Etofenprox	60	6	108
102 Diflufenican	97	2	105	127 Etozazole	86	4	104
103 Dimepiperate	94	3	102	128 Etrimphos	93	2	103
104 Dimethametryn	87	4	105	129 Fenamidone	98	2	109
105 Dimethenamid	72	6	103	130 Fenamiphos	109	5	126
106 Dimethipin	74	3	92	131 Fenarimol	89	5	104
107 Dimethoate	8	25	101	132 Fenbuconazole	90	4	102
108 Dimethylvinphos	90	2	102	133 Fenchlorphos	90	3	106
109 Dioxathion	101	6	118	134 Fenitrothion	102	6	106
110 Diphenamide	73	6	101	135 Fenobucarb	71	6	96
111 Disulfoton	154	6	200	136 Fenothiocarb	97	2	104
112 Disulfoton-sulfone	88	7	102	137 Fenoxanil	88	3	100
113 Edifenphos	94	3	101	138 Fenpropathrin	67	6	107
114 Endosulfan-alpha	82	3	97	139 Fenpropemorph	75	8	108
115 Endosulfan-beta	113	4	122	140 Fensulfothion	78	7	104
116 Endosulfan-sulphate	110	5	119	141 Fenthion	108	2	119
117 EPN	101	6	112	142 Fenvalerate-1	51	9	100
118 Epoxiconazole	95	5	106	143 Fenvalerate-2	59	8	113
119 EPTC	88	4	103	144 Fipronil	93	4	103
120 Esprocarb	94	3	104	145 Flamprop-methyl	95	3	106
121 Ethalfuralin	100	4	115	146 Fluacrypyrim	95	1	107
122 Ethiofencarb	355	12	930	147 Flucythrinate-1	58	9	104
123 Ethion	89	5	105	148 Flucythrinate-2	68	8	113
124 Ethofumesate	100	2	110	149 Fludioxonil	92	4	117
125 Ethoprophos	84	5	101	150 Flufenpyl-ethyl	97	1	105

ほうれん草添加回収試験④

試料中濃度0.01ppm (n=5)

農薬名	回収率	RSD	Spike 回収率	農薬名	回収率	RSD	Spike 回収率
151 Flumiclorac-pentyl	102	5	116	176 Isoprocarbe	55	3	101
152 Flumioxazin	98	4	114	177 Isoprothiolane	92	3	99
153 Fluquinconazole	92	3	105	178 Isoxathion	125	3	126
154 Fluridone	91	4	105	179 Isoxathion-ox	97	4	104
155 Flusilazole	97	2	103	180 Kresoxim-methyl	93	2	101
156 Fluthiacet-methyl	109	5	126	181 Lenacil	46	9	100
157 Flutolanil	95	3	102	182 Malathion	96	3	104
158 Flutriafol	66	7	98	183 Mecarbam	89	1	91
159 Fluvalinate-1	51	14	105	184 Mefenacet	94	3	105
160 Fluvalinate-2	47	11	99	185 Mefenpyr-diethyl	96	3	104
161 Formothion	72	4	114	186 Mepronil	105	2	114
162 Fosmet	95	4	104	187 Metalaxyl	48	11	112
163 Fosthiazate-1	62	7	123	188 Methamidophos	0	0	95
164 Fosthiazate-2	63	8	116	189 Methidathion	89	2	101
165 Halfenprox	42	8	111	190 Methiocarb	90	6	103
166 Hexaconazol	92	3	103	191 Methoprene-1	105	12	117
167 Hexazinone	18	7	100	192 Methoxychlor	72	5	90
168 Imazametha-benznthyl-ester	34	8	116	193 Methyl-parathion	114	3	109
169 Imibenconazole	89	8	106	194 Metolachlor	87	2	104
170 Imibenconazole-脱ベンジル体	166	6	174	195 Metominostrobin-E	77	4	101
171 Iprobenfos	91	4	104	196 Metominostrobin-Z	67	6	103
172 Iprodione	4467	3	4633	197 Mevinphos	16	39	120
173 Isazophos	92	3	100	198 Monocrotophos	0	0	108
174 Isofenphos	101	2	107	199 Myclobutanil	92	4	105
175 Isofenphos-oxon	81	6	104	200 Napropamide	93	2	102

ほうれん草添加回収試験⑤

試料中濃度0.01ppm (n=5)

農薬名	回収率	RSD	Spike 回収率	農薬名	回収率	RSD	Spike 回収率
201 Nitrothal-isopropyl	98	4	112	226 Pretilachlor	95	2	101
202 Norflurazon	72	6	100	227 Procymidone	93	3	102
203 Oryzalin	ND	ND	ND	228 Profenofos	103	3	110
204 Oxadiazone	101	2	105	229 Prohydrojasmon-1	96	3	104
205 Oxadixyl	33	8	104	230 Prohydrojasmon-2	244	5	301
206 Oxyfluorfen	99	4	110	231 Prometryn	77	6	104
207 Paclobutrazol	90	10	107	232 Propachlor	57	9	107
208 Parathion	100	5	109	233 Propanil	85	9	108
209 Penconazole	92	4	102	234 Propaphos	114	3	126
210 Pendimethalin	94	5	112	235 Propargite(BPPS)-1	89	3	106
211 Permethrin-cis	61	8	123	236 Propargite(BPPS)-2	90	4	103
212 Permethrin-trans	63	8	116	237 Propazine	70	7	109
213 Perthane	64	6	104	238 Propiconazole-1	104	4	111
214 Phenothrin1	58	8	107	239 Propiconazole-2	101	3	105
215 Phenothrin2	54	8	108	240 Propoxur	32	9	107
216 Phenthoate	95	3	101	241 Propyzamide	86	2	102
217 Phorate	111	2	134	242 Prothiofos	67	6	106
218 Phosalone	100	3	108	243 Pyraclofos	99	3	103
219 Phosphamidon	22	8	103	244 Pyraflufen-ethyl	97	2	101
220 Phthalide	92	2	104	245 Pyrazophos	96	3	106
221 Picolinafen	93	3	107	246 Pyributicarb	97	4	116
222 Piperonyl-butoxide	96	2	101	247 Pyridaben	78	5	111
223 Piperophos	102	2	112	248 Pyridafenthion	106	4	115
224 Pirimicarb	23	6	102	249 PyrifenoX-E	84	6	101
225 Pirimiphos-methyl	99	1	108	250 PyrifenoX-Z	83	7	98

ほうれん草添加回収試験⑥

試料中濃度0.01ppm (n=5)

農薬名	回収率	RSD	Spike 回収率	農薬名	回収率	RSD	Spike 回収率
251 Pyrimethanil	72	4	100	276 Terbutryn	83	5	107
252 Pyrimidifen	94	3	105	277 Tetrachlorvinphos	94	2	103
253 Pyriminobac-methyl-E	82	5	103	278 Tetraconazole	96	3	104
254 Pyriminobac-methyl-Z	87	5	102	279 Tetradifon	88	3	99
255 Pyriproxyfen	85	3	100	280 Thenykhlor	96	3	104
256 Pyroquilon	21	5	97	281 Thifluzamide	93	2	102
257 Quinalphos	95	3	103	282 Thiobencarb	97	2	105
258 Quinoclamine	63	9	115	283 Thiometon	158	4	212
259 Quinomethionate	106	20	107	284 Toklofos-methyl	96	2	105
260 Quinoxifen	88	4	105	285 Tolfenpyrad	88	3	101
261 Quintozen	87	4	106	286 Triadimefon	91	3	108
262 Resmethrin-1	53	6	104	287 Triadimenol-1	104	5	125
263 Resmethrin-2	48	9	106	288 Triadimenol-2	85	6	105
264 Silafluofen	41	3	111	289 Triallate	88	3	105
265 Simazine	32	10	110	290 Triazophos	106	3	116
266 Simetryn	48	8	107	291 Tricyclazole	0	0	103
267 Spirodiclofen	75	7	97	292 Trifloxystrobin	107	1	116
268 Spiroxamin-1	73	10	119	293 Trifluralin	92	5	113
269 Spiroxamin-2	77	8	121	294 Uniconazole	91	3	106
270 Tebuconazole	92	4	104	295 Vinclozoline	96	2	104
271 Tebufenpyrad	96	2	104	296 XMC	56	10	114
272 Tecnazene	94	4	110	297 Zoxamide	89	5	103
273 Tefluthrine	59	7	102				
274 Terbacil	31	8	106				
275 Terbufos	111	3	131				

回収率
 0~50%未満
 50~70%
 70~120%
 120%以上



回収率 & 再現性(RSD%)分布

試料中濃度 0.01ppm:一律基準

回収率(%)	ND, 0-50	50-70	70-120	120-	合計
ほうれん草	40	32	213	12	297
RSD10%未満(n=5)	21	27	208	9	265 (89%)

(単位:成分)

まとめ

- 抽出操作に『QuEChERS法』、精製操作に『固相抽出法』を用いた濃縮操作なしの迅速な前処理方法を確立したことで、抽出操作以降の前処理工程の自動化という、さらなる効率化&迅速化が図れ、処理時間12分/検体の自動化が可能になった。
- 固相カートリッジを加圧式で用いることにより、固相内部まで確実に溶液を浸透させることができ、高い精製効果が得られた。
- ほうれん草を用いて試料中濃度0.01ppmで添加回収試験(n=5)を行った結果、297成分中、213成分が70%~120%の良好な回収率が得られた。回収率50%未満の低回収率だった農薬については、食塩水の濃度や混合部の検討で改善を図りたい。
- 再現性(n=5)は、297成分中265成分(89%)がRSD10%未満とかなり良好な結果が得られ、自動化の長所である再現性の向上が確認できた。
- 前処理の自動化により、Total使用溶媒量が約25mL/検体とかなりの省溶媒化が図れ、また洗浄器具も試験管のみとランニングコストの低減が図れた。