

**食品中残留農薬分析セミナー2014夏の陣**

(会場：東京、新潟、仙台、岡山、福岡、大阪、名古屋)

# **STQ法の基礎と固相カートリッジ選択のポイント グリホサート、マラカイトグリーン個別分析法の解説**

**株式会社アイスティサイエンス**

**AiSTI SCIENCE**

# トータルソリューション

前処理、測定、解析…

アイスティサイエンスは皆様の分析業務の  
トータルソリューションのご提案を目指しています。

## 前処理

全自動固相抽出装置  
ST-L300



GC用大量注入口装置  
LVI-S200

## 測定

## 解析

多成分一斉解析ソフト  
COSMO



# 本日の内容

## ① STQ法の基礎

◆STQ法について ◆QuEChERS法について ◆STQ法の詳細

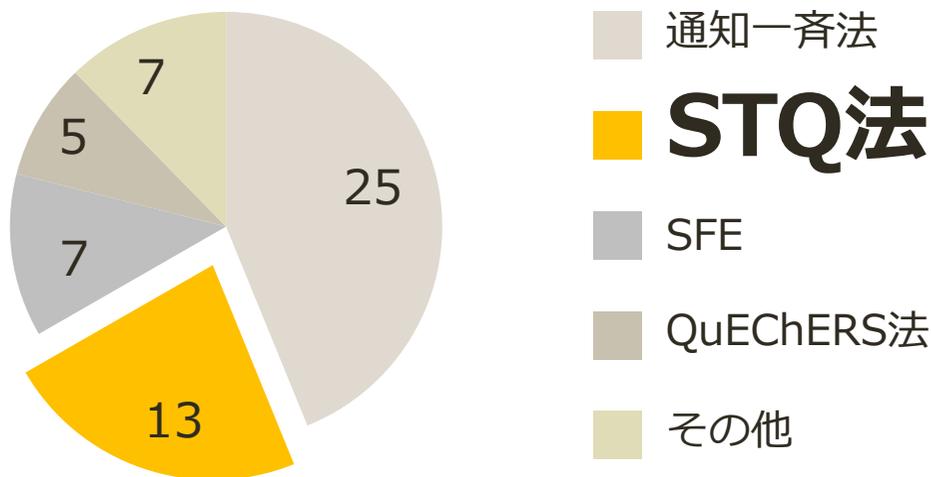
## ② STQ法の応用

◆固相抽出の相互作用 ◆実際の応用例

# 57%

・・・通知試験法以外の分析法を採用している機関

分析対象成分	Zスコア (参加機関全体)
イソプロチオラン	-0.16
エトフェンプロックス	0.05
フェニトロチオン	-0.10



※ 産業技術総合研究所 技能試験(2013年)

	国内導入実績 ※1	迅速性	精製	自動化	備考
通知法	◎	×	○	×	公定法
QuEChERS法	×	◎	×	×	海外で普及
超臨界抽出 (SFE)	△※2	△	—※3	○	一部メーカー サポート終了
STQ法	○	○	◎	◎	

※1 技能試験より

※2 生鮮以外への導入実績が少ない

※3 別途精製が必要

# STQ法の基礎

## ① STQ法の概要

◆STQ法とは ◆前処理フロー

## ② QuEChERS法の概要

◆メリット ◆参考文献 ◆前処理フロー ◆各手順の意味

## ③ STQ法の詳細

◆QuEChERS法との比較 ◆GC-A法 ◆GC-B法 ◆LC法

# STQ法の概要

## ◆ 残留農薬一斉分析法

抽出  
QuEChERS法

+

精製（手動 or 自動化）  
固相抽出法

# STQ法

Solid phase extraction

Technique with

QuEChERS method

QuEChERS法と固相抽出法を組み合わせることで**迅速さ**と**高い精製効果**の両立を可能とした。

# 前処理フロー

## STQ法

試料 10g (穀類 5g + 水 10mL)

(5N NaOH 100×n uL)

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

MgSO<sub>4</sub> (無水硫酸マグネシウム) 4g

攪拌 (手で振とう 1分間)

遠心分離 (3000rpm 5分間)

アセトニトリル層

固相バッチ精製

QuEChERS法

## 抽出



① 細切



② 凍結粉碎



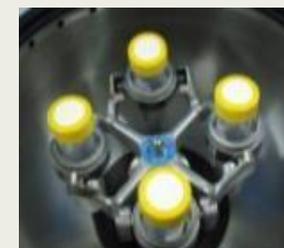
③ ホモジナイズ



④ 試薬添加



⑤ 振とう



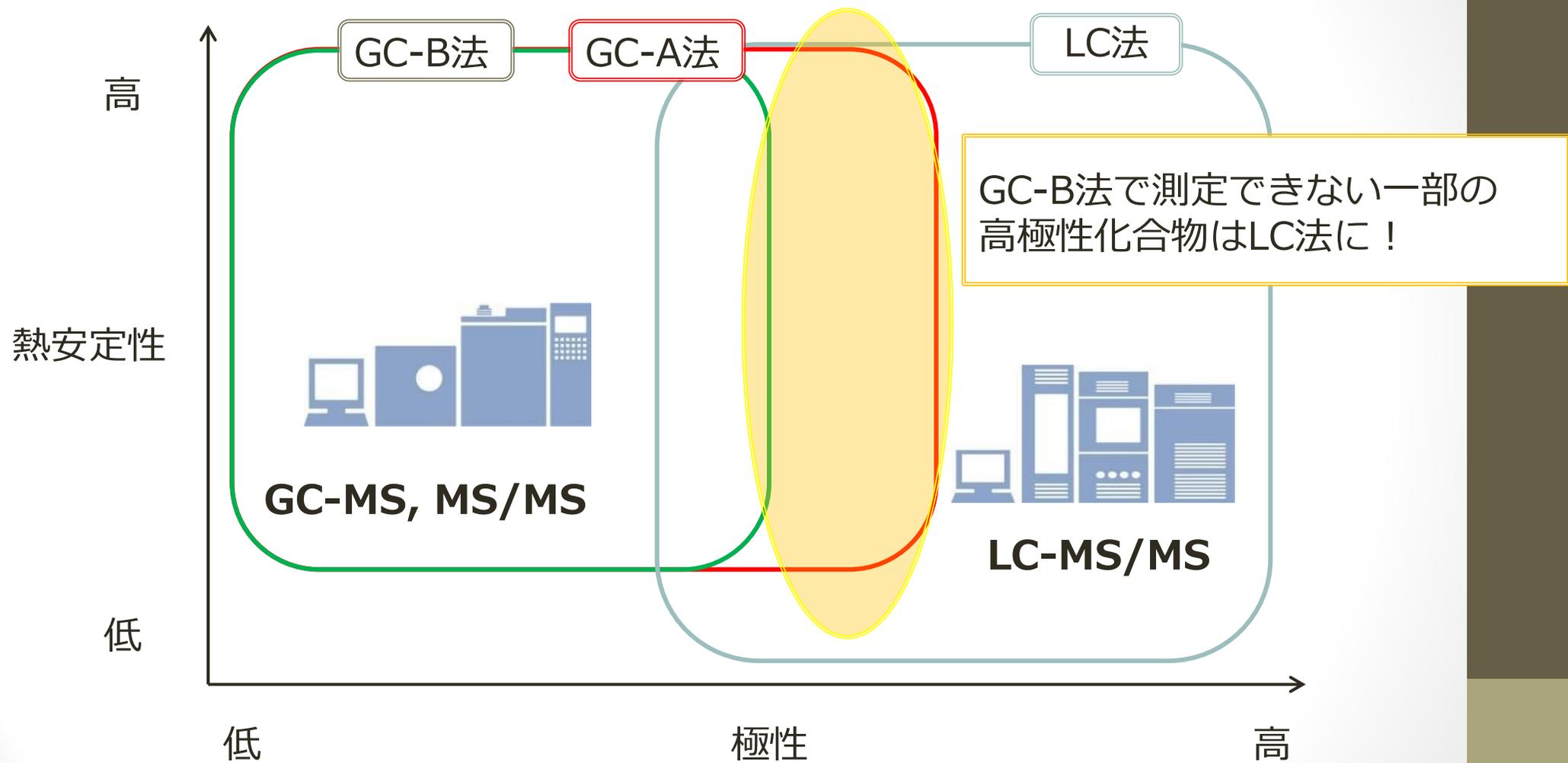
⑥ 遠心分離

固相ミニカートリッジ精製

◆GC-A法

◆GC-B法

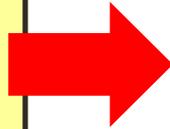
◆LC法



# QuEChERS法の概要

QuEChERS :

- **Quick** (迅速)
- **Easy** (簡便)
- **Cheap** (安価)
- **Effective** (効率的)
- **Rugged** (頑強)
- **Safe** (安全)



- 6検体 > 30分
- ガラス器具不使用
- 多検体同時処理
- 1検体 > 1米ドル
- 少量の有機溶媒
- 塩析と脱水（液液分配）が同時
- 広範囲の農薬に対応
- サンプル間のキャリーオーバーがおきない

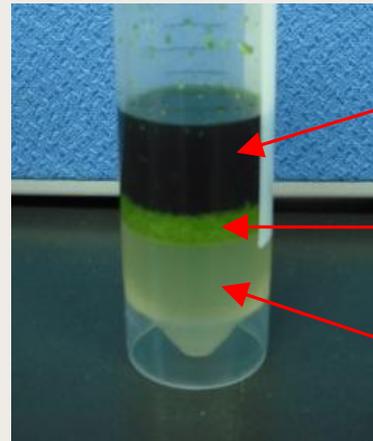
- 塩析と脱水（液液分配）を抽出時に同時にできる
- クエン酸塩により酸性・中性・塩基性農薬を同時にアセトニトリル層へ移行できる
- 使い捨て容器の使用により、ガラス器具・分液ロート不要
- 遠心分離により、ろ過の時間を大幅削減、また複数検体同時に可能

## 遠心分離後



横にしても混ざらない!!

エマルジョンができない。  
脂肪も分離できる。



アセトニトリル層

● 農薬

試料層

水層（除去部）

● 水・糖類

● 水溶性の夾雑物

塩析効果により農薬をアセトニトリル層へ移行させ、水溶性成分や水を除去する。

- **Original Method(2003)**  
Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersible Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce  
Michelangelo.A., et al. *J.AOAC Int.* 86, No.2, 412-431
- **European EN 15662 Method(2008)**  
Foods of Plant Origin—Determination of Pesticide Residues Using GC-MS and/or LC-MS/MS Following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean up by Dispersive SPE(QuEChERS-method)
- **AOAC Official Method(2007)**  
Pesticide Residues in Foods by Acetonitril Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate

# 前処理フロー

試料 10g

— 水 (10-試料中水分量)mL

— 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

MgSO<sub>4</sub> (無水硫酸マグネシウム) 4g

➤ 抽出溶媒(ACN)と水分が等量になるように調整

➤ NaCl、MgSO<sub>4</sub>を添加して相分離の促進

➤ 2種類のクエン酸でバッファー

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

固相バッチ精製

QuEChERS法

サンプル	重さ	水添加量	注釈
果物、野菜 水分 >80%	10g	—	
果物、野菜 水分 25~80%	10g	XmL	X=10mL-サンプル10g中の水分量
ドライフルーツ	5g	7.5mL	粉碎時に水を添加する。 12.5gを分析に使用
シリアル	5g	10mL	
はちみつ	5g	10mL	
香辛料	2g	10mL	

※マトリックス量に応じて1~5gの範囲でサンプル・水分量を調整

果物・野菜

pH 2.5

pH 4.5

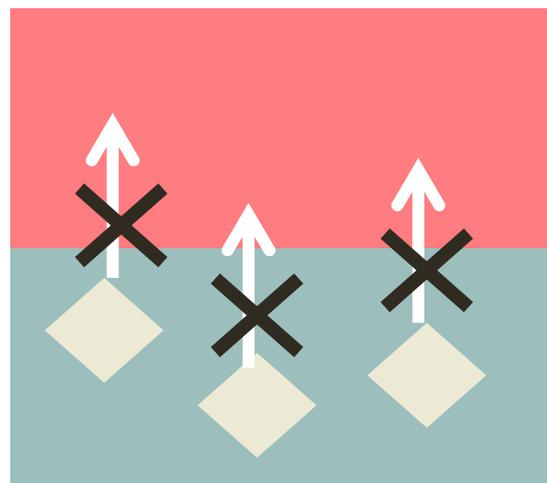
pH 6.5

イマザリル  $[M+H]^+$

◆  $H+M^+$

有機層

水層



イマザリル(pKa 6.53)  
酸性条件下 (pH<4.5) で  
プロトン化し有機層へ不溶

QuEChERS

HOME METHOD LITERATURE LINKS CONTACT

## Home

QuEChERS stands for

**Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe**

and is the acronym for a highly beneficial analytical approach that vastly simplifies the analysis of multiple pesticide residues in fruit, vegetables, cereals and processed products thereof.

The QuEChERS procedure entails a number of simple analytical steps and is thus fast and easy to perform and little susceptible to errors. QuEChERS provides high recoveries for a very broad scope of pesticides belonging to various chemical classes and the final extract, being solved in acetonitrile, gives full flexibility in the choice of the determinative analysis technique. Direct connection with liquid- and gas-chromatography is possible.

In brief the procedure entails the following steps:

- Weigh 10 g of sample
- add 10 mL acetonitrile and internal standard
- agitate intensively
- add NaCl, MgSO<sub>4</sub> and buffering salts for phase separation and pH adjustment

ページが表示されました

インターネット | 保護モード: 有効 100%

<http://quechers.cvua-stuttgart.de/>

# STQ法の詳細

## STQ法

試料 10g (穀類 5g + 水 10mL)

(5N NaOH 100×n uL)

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

MgSO<sub>4</sub> (無水硫酸マグネシウム) 4g

攪拌 (手で振とう 1分間)

遠心分離 (3000rpm 5分間)

アセトニトリル層

固相バッチ精製

QuEChERS法

## 抽出



① 細切



② 凍結粉碎



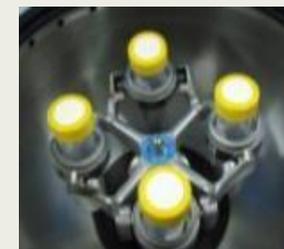
③ ホモジナイズ



④ 試薬添加



⑤ 振とう



⑥ 遠心分離

固相ミニカートリッジ精製

◆GC-A法

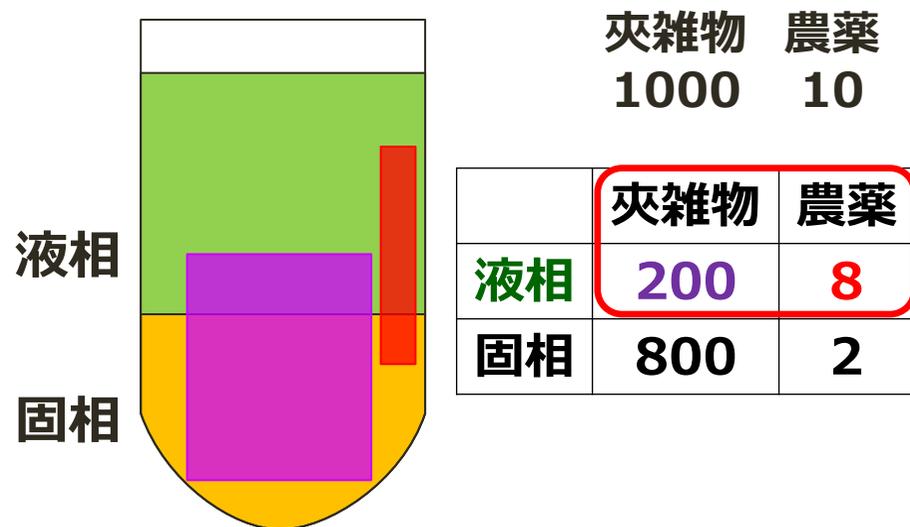
◆GC-B法

◆LC法

# QuEChERS法との比較

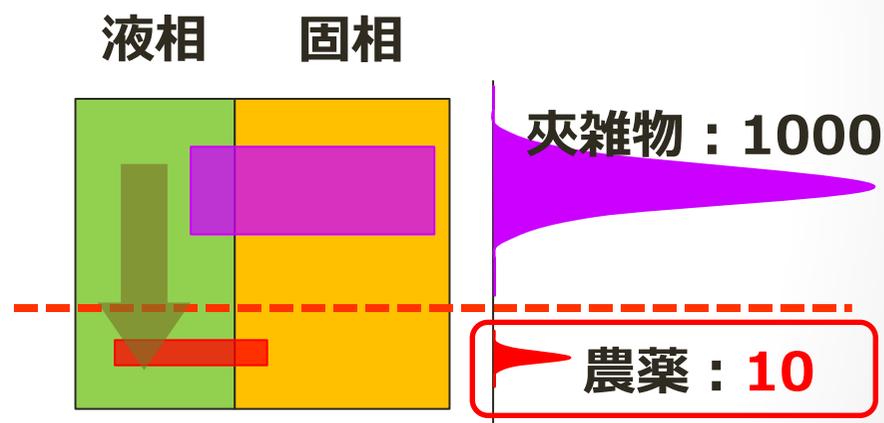
## ・ QuEChERS法

### 分配型-固相抽出法 (分散SPE)



## ・ STQ法

### 分配分離型-固相抽出法 (固相カートリッジ)



分散SPEは分配のみによる精製だが、固相カートリッジは分配に**分離機能**が加わるため夾雑物から農薬を効率よく精製することができる。

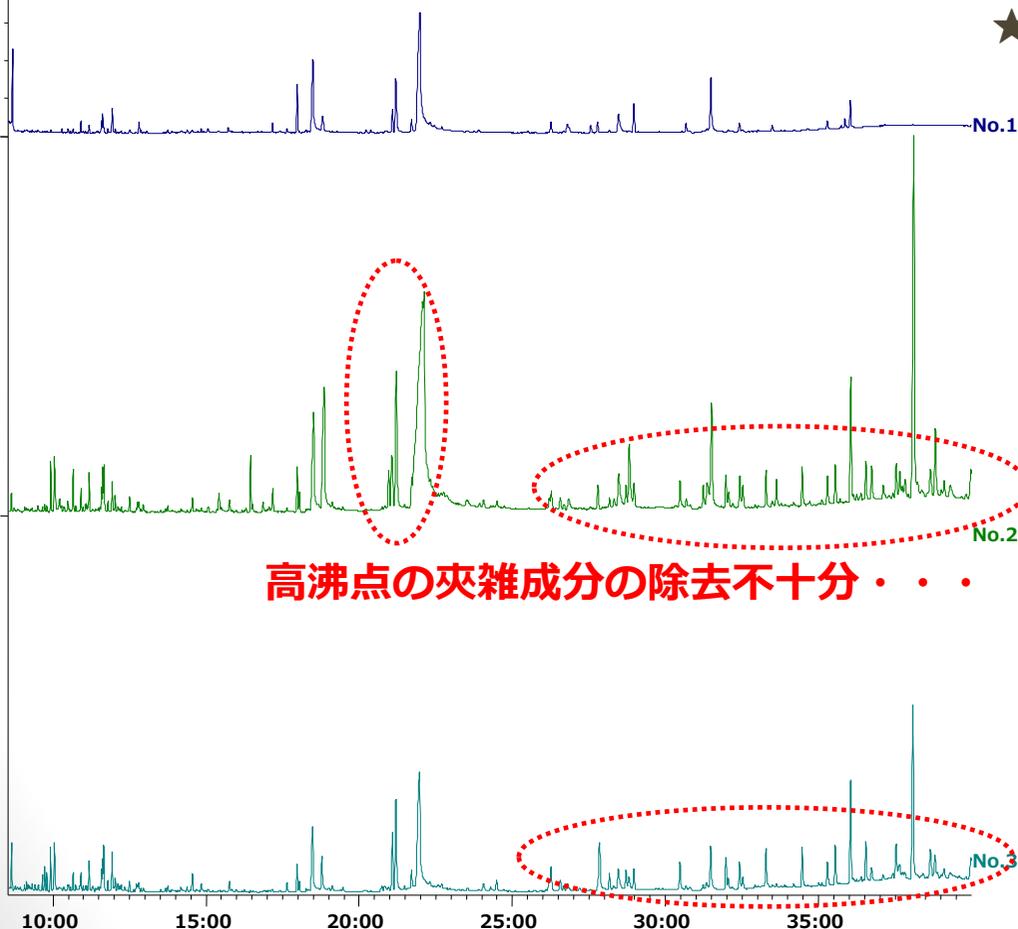
# QuEChERS法との比較

## ● 固相ミニカートリッジ精製とバッチ精製の比較 (ほうれん草)

### ★ 固相ミニカートリッジ精製 (分配・分離)

STQ-GC A法

(C18→グラファイトカーボン+PSA)



高沸点の夾雑成分の除去不十分 . . .

### ★ バッチ精製 (固相充填剤と成分との脱着)

QuChERS法

(グラファイトカーボン+PSA+MgSO<sub>4</sub>)

### ★ バッチ精製 (固相充填剤と成分との脱着)

QuChERS法

(グラファイトカーボン+PSA+C18+MgSO<sub>4</sub>)

# GC-A法前処理フロー

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)

GC/MS (大量注入20uL : 試料10mg相当)

☞ C18ミニカートリッジで無極性の夾雑物を除去

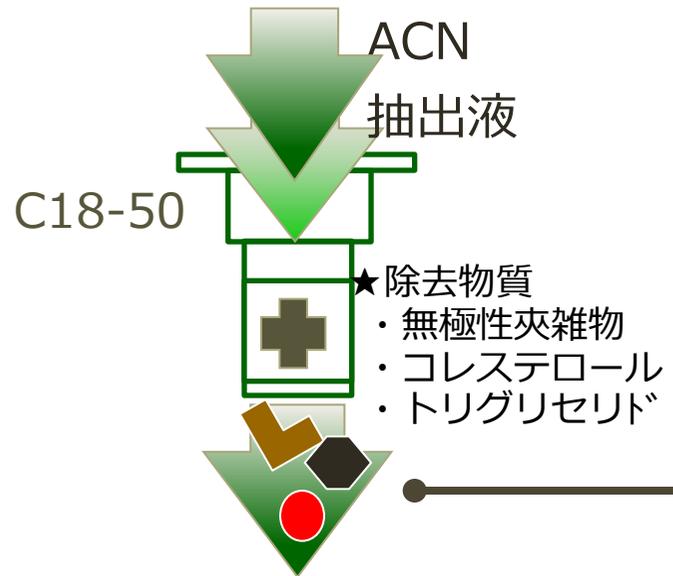
☞ 流出液にトルエンを加えることで通知法と同じアセトニトリルとトルエンの混液状態にする。

☞ 流出液にトルエンを加えることで流出液中の水分を無水硫酸Mgに吸水させやすくする。

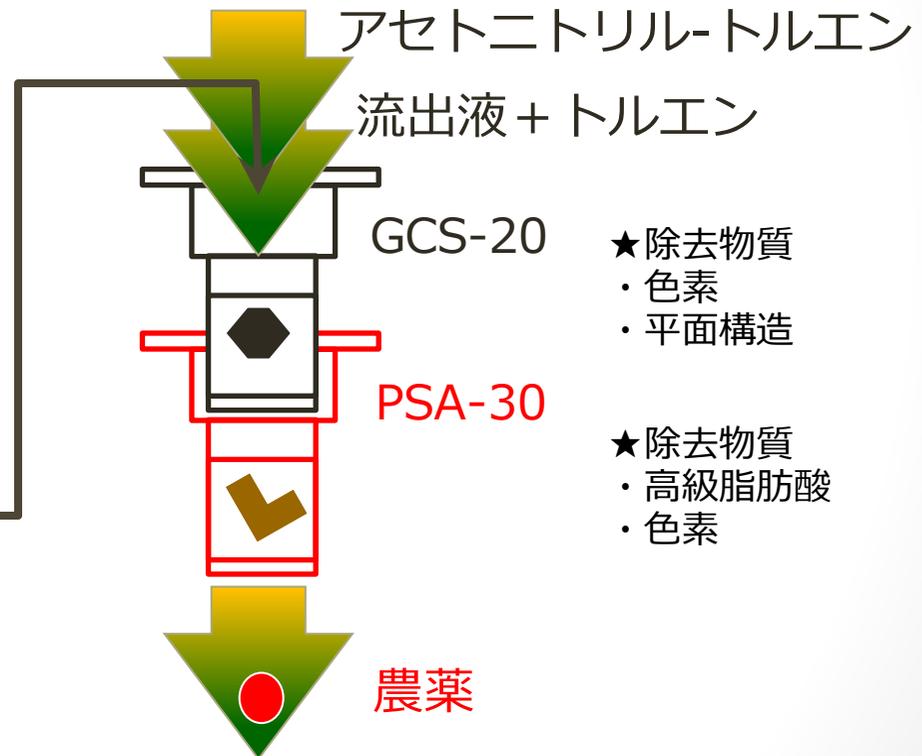
☞ 通知法と同じ精製工程でありながら、減圧濃縮工程がない迅速な前処理法

# GC-A法精製工程

## ① 精製



## ② 精製



# GC-B法前処理フロー（手動）

分取 0.5 mL（試料0.5g相当）

— 添加 水 0.2mL

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 アセトン-ヘキサン (15/85) 1mL

定容 (1 mL, アセトン/ヘキサンで調製)

GC/MS (大量注入25uL : 試料12.5mg相当)

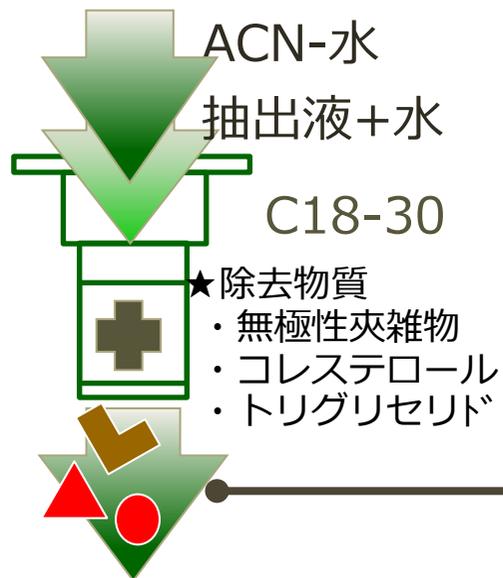
👉 水を添加することで、C18ミニカートリッジでの精製効果を高めている。

👉 2段階保持により、無極性と極性の農薬を保持。

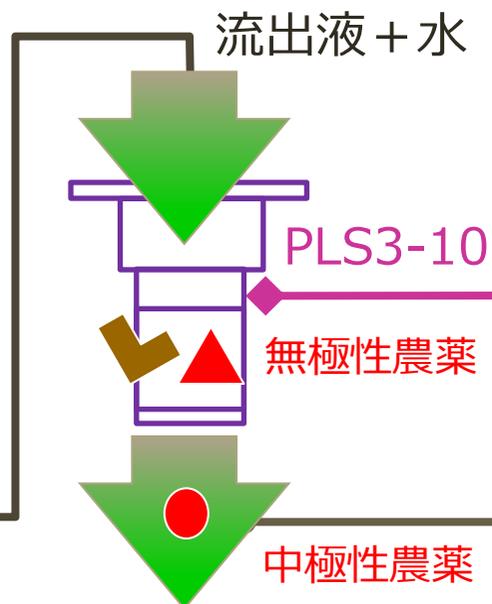
👉 アセトンの比率を調整することで最適な精製効果を得ることができる。

# GC-B法精製工程（手動）

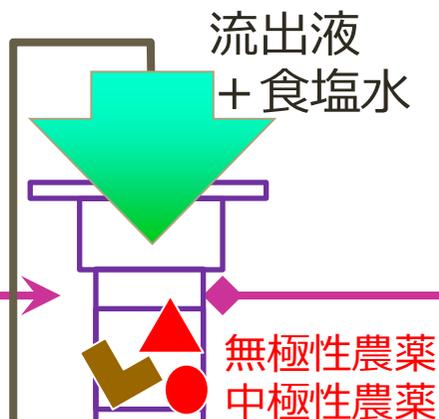
## ① 精製



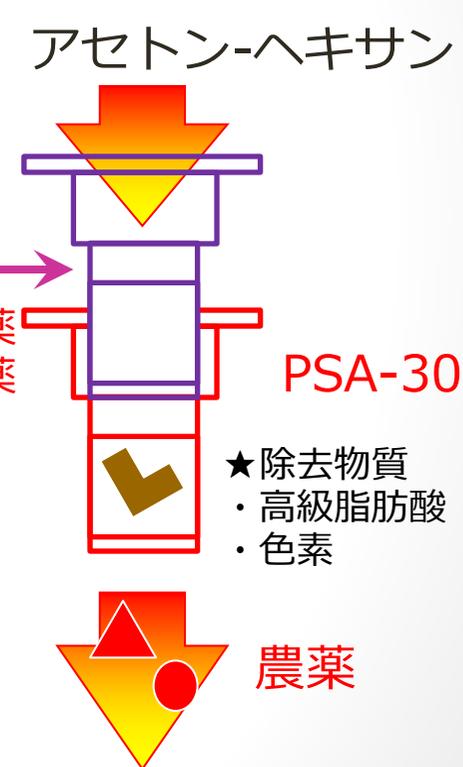
## ② 保持



## ③ 再保持



## ④ 溶出・精製



# GC-B法前処理フロー（自動）

分取 1 mL（試料1g相当）

— 添加 アセトリル-水 (1/1) 1mL

分取 1 mL（試料0.5g相当）

自動化

Smart-SPE C18-30 mg : 精製

— 洗液 アセトリル-水(4/1) 1mL

流出液

— 10%食塩水 20mL

Smart-SPE C18-50 mg : 保持

吸引乾燥 : 3分

連結 Smart-SPE PSA-30 : 精製

— 溶出 アセトン-ヘキサン (15/85) 1mL

定容 (1 mL, アセトン/ヘキサンで調製)

GC/MS (大量注入25uL : 試料12.5mg相当)

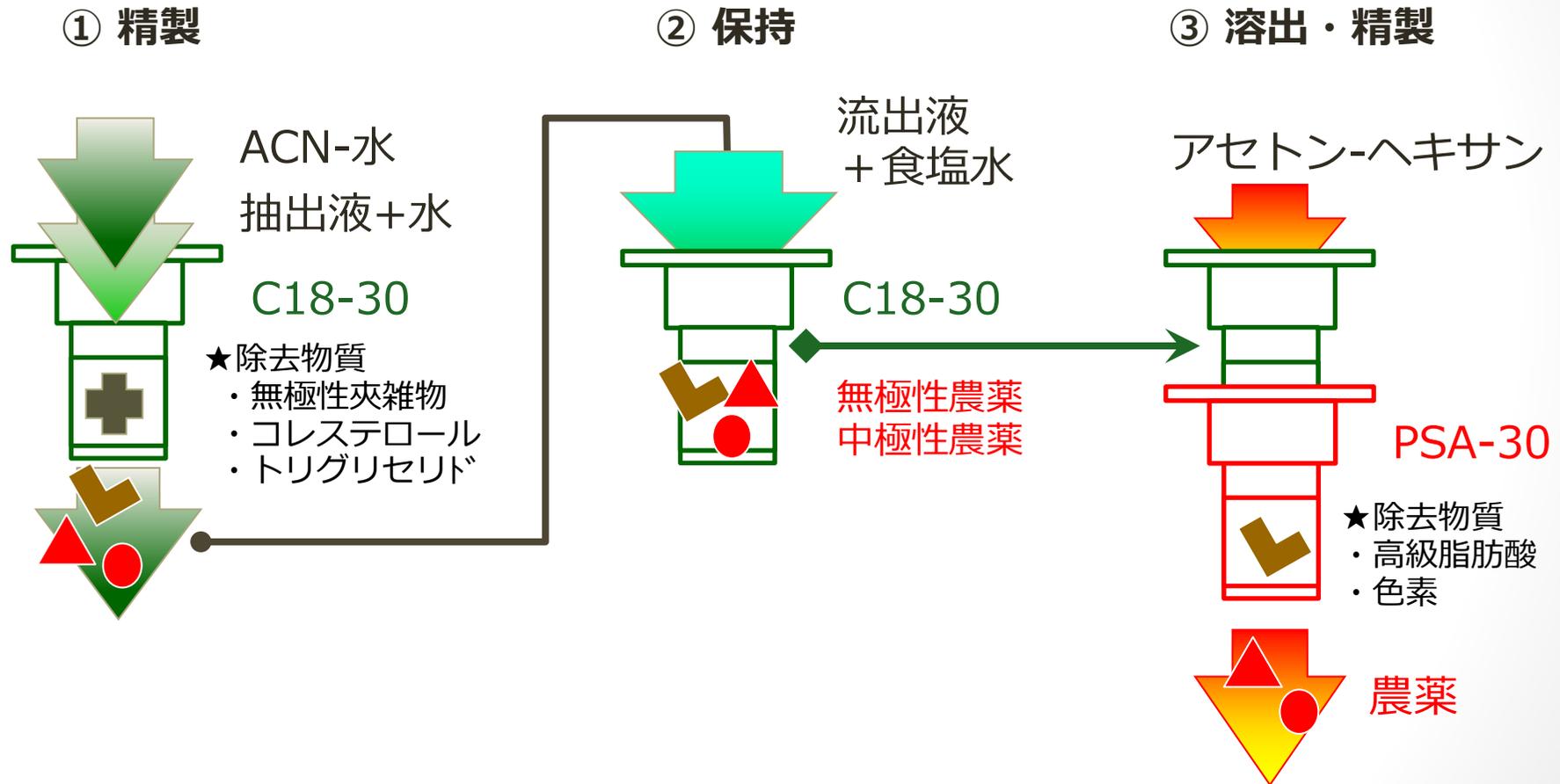
☞ アセトリル-水を添加することで、溶媒比率を調整してC18による精製効果の向上。

☞ 食塩水を1度に添加することで2段階保持の手間を省略。

※ 手動ではガラス器具に吸着してしまう農薬があるが、自動化装置では吸着がないため。

☞ 固相のコンディショニングから精製、溶出まで完全自動化。

# GC-B法精製工程（自動）



# GC-A法とGC-B法

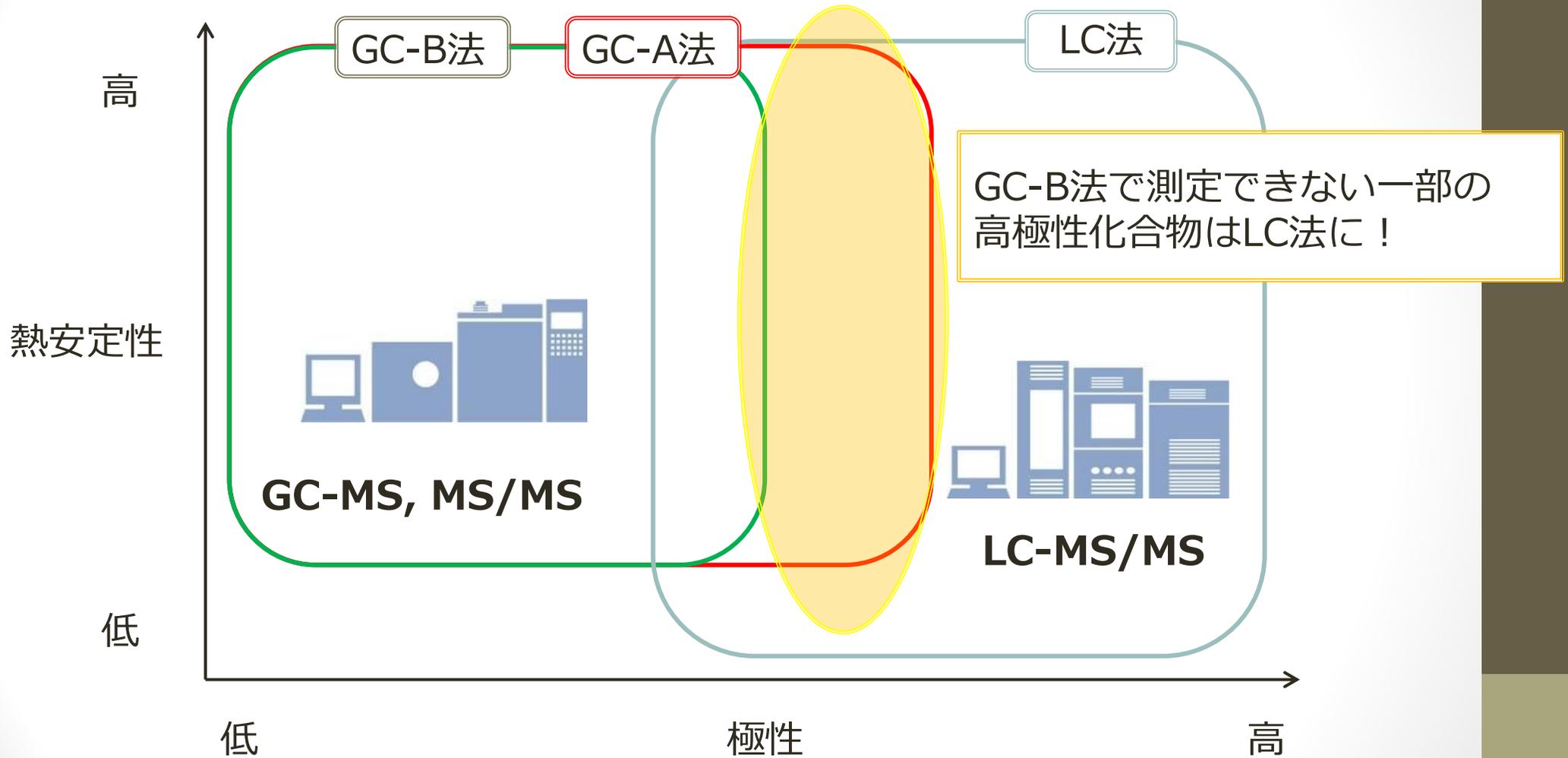
## GC-A法

- **通知法のミニチュアバージョン**
- **メタミドホスやアセフェートなどの高極性農薬も分析可能**
- **精製処理時間は4検体で約10分**
- **エバポレーターや窒素ガスパージによる濃縮操作なし**

## GC-B法

- **精製カラムの追加や溶媒の変更が可能**
  - **精製効果が高く、加工食品にも対応**
  - **精製処理時間は4検体で約20分**
  - **エバポレーターや窒素ガスパージによる濃縮操作なし**
- ◆ **メタミドホスやアセフェートなどの高極性農薬は分析不可**

# STQ法測定対象成分について



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)

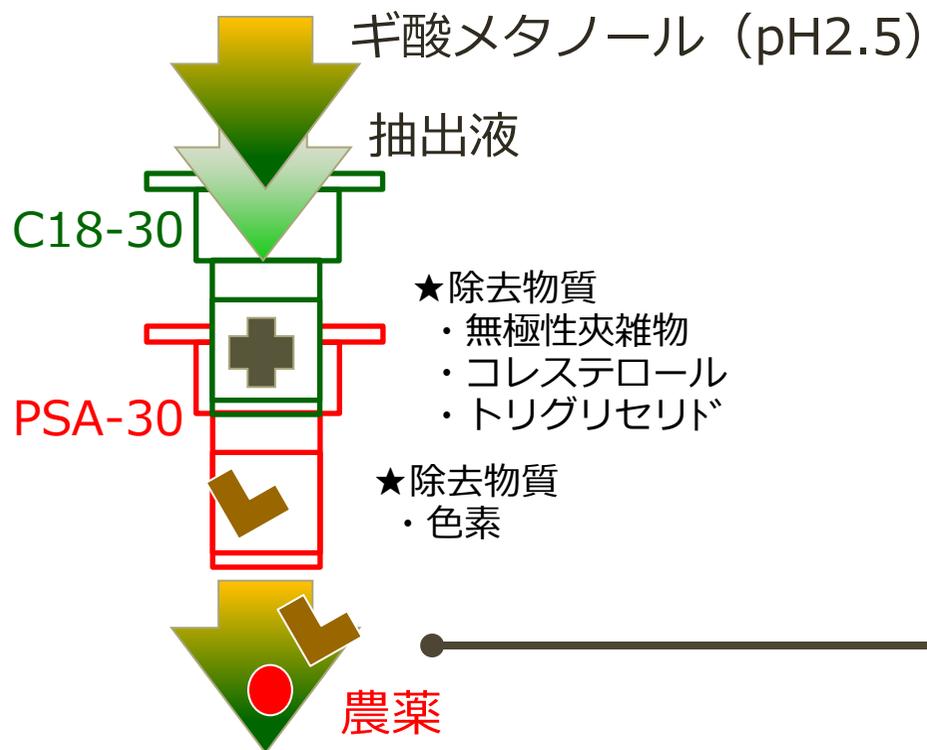
LC/MS/MS

☞ C18ミニカートリッジによる精製を2回行っている。

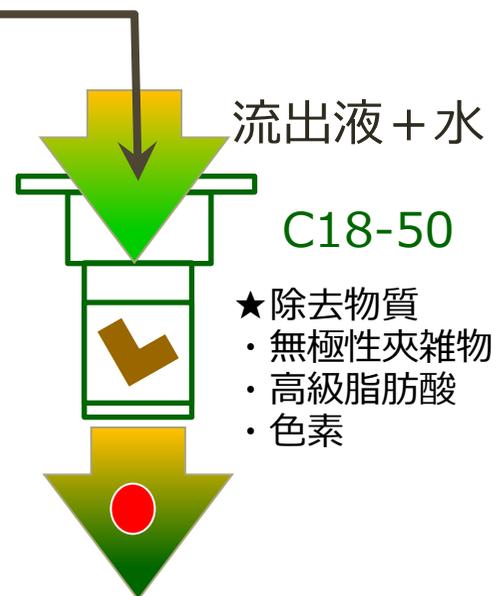
☞ 酸性農薬も同時に前処理している。

☞ 最後のC18-50ミニカートリッジではメタノール-水 (4/1) で溶出している。

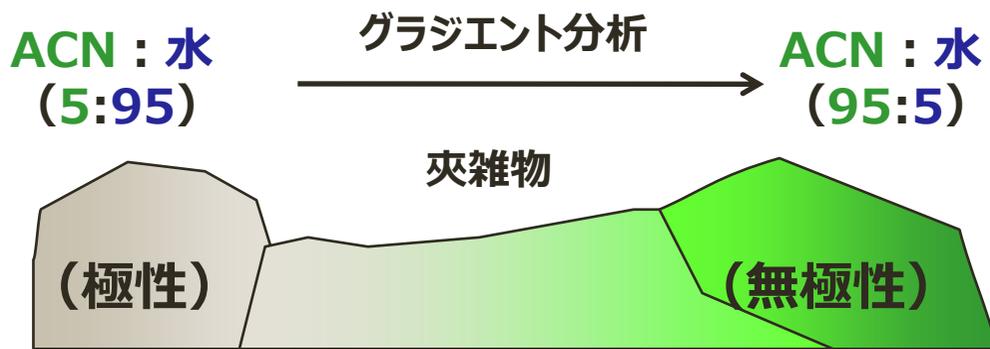
## ① 精製



## ② 精製



## □ 固相C18を用いない場合



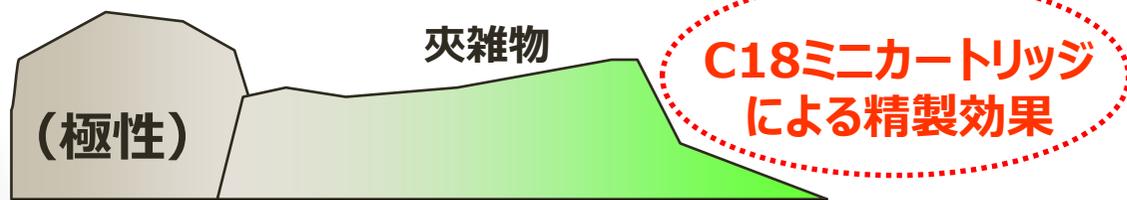
ACN : 水 (4:1)



LCで使用されている分離カラムは「ODS」で、固相C18と同じ充填剤。

予め固相C18で精製することでLCカラムの負荷を防ぐ。

## □ 固相C18による精製の場合



メリット

- HPLCカラムの劣化を防ぐ
- ピーク形状の維持
- 分析時間の短縮

# STQ法アプリケーションデータ

## 表) 前処理フロー

STQ Application Note No. AS120907

### キャベツ MA-GCB1

#### 前処理フロー

試料 10g (十添加 2ppm混合標準溶液 50ul.)

- 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
  - MgSO<sub>4</sub> (無水硫酸マグネシウム) 4g
- 攪拌 (手で振とう 1分間)
- 遠心分離 (3000rpm 5分間)
- アセトニトリル層
- 分取0.5mL
  - 水0.2mL
- 固相 C18-30 mg 2 精製
- 洗液 7粒198-水 (4:1) 1mL

#### 目的/実験方法

手作業による添加回収試験(GC-B1法)

- 添加濃度(試料中):10ppb
- 最終バイアル中濃度:5ppb
- 農薬:関東MIX-22, 31, 34, 48, 51
- 検量線
  - ・PEG共注入標準溶液、絶対、直線検量線
  - ・1点:5ppb
  - ・20ppbフナントレン体+20ppmPEG
  - ・十農薬混合標準溶液(7粒198-キチン)
  - ・フナントレン体は装置の感度評価の目安として使用。
- 測定:1 InjectionによるSCAN測定
- 測定条件:参考資料に従う。

①遠心分離後      ②固相 (C18-30, PLS+PSA)

#### Information

水分:92.7%  
脂質:0.2%  
脂肪酸:0.05%

<http://www.aisti.co.jp/appli/#appli08>

➤ 弊社HPにアプリケーションノート  
のPDFファイルをアップしていま  
す。ご興味ございましたら是非  
ご覧ください。

## 裏) 回収率一覧

キャベツ_111017_MA-B1				AiSTI Application Note				No. AS120907			
No.	農薬名	回収率(%)	No.	農薬名	回収率(%)	No.	農薬名	回収率(%)	No.	農薬名	回収率(%)
1	1-Naphthylacetamide	ND	76	Cypermethrin-3	86.3	151	Fluthiacet-methyl	48.8	228	Profenofos	79.0
2	Hydroxycarbonyl	96.6	77	Cypermethrin-4	103.3	152	Flutolanil	86.3	227	Prohydroquinone-1	79.9
3	4-4'-Oxobiphenylene	78.4	78	Cyproconazole-1	81.2	153	Flutolanil	83.1	228	Prohydroquinone-2	80.1
4	Acophate	ND	79	Cyproconazole-2	79.4	154	Fluxalinate-1	101.9	229	Prometryn	62.8
5	Acetamiprid	ND	80	DEF(bufo)	82.3	155	Fluxalinate-2	97.8	230	Propachlor	78.3
6	Acetochlor	87.8	81	Deltamethrin	85.8	156	Formothion	84.3	231	Propaflor	65.6
7	Acinathrin	86.2	82	Dinotefur-methyl	55.8	157	Fenitrothiazate-1	89.1	232	Propoxifen	79.5
8	Alachlor	84.1	83	Diflufenacil	81.7	158	Fenitrothiazate-2	73.8	233	Propargite(BPPS)	80.7
9	Aldrin-1,2	56.1	84	Diflufenacil	81.9	159	Hallegron	75.9	234	Propazine	85.6
10	Aldrin-3,4	78.9	85	Diazinon	85.2	160	Hexaconazole	80.8	235	Propiconazole-1	84.4
11	Azinphos-Methyl	81.0	86	Dichlorfenthiin	83.2	161	Hexaconazole	49.8	236	Propiconazole-2	72.8
12	Azinphos	65.5	87	Dichlorfenthiin	ND	162	Imazamethabenz-methyl	40.5	237	Propoxur	70.2
13	Aramite-3	79.0	88	Dichlorvos	43.1	163	Imibenconazole	49.8	238	Proxycarbazone	86.5
14	Aramite-4	57.7	89	Diocycymet-1	83.5	164	Imibenconazole-des-benzyl	34.7	239	Prothiofos	82.5
15	Azinphos	74.5	90	Diocycymet-2	88.1	165	Isofenfos	87.8	240	Pyraclofos	60.1
16	Azinphos	81.0	91	Diclofop-methyl	83.5	166	Isofenfos	111.4	241	Pyraflufen-ethyl	81.2
17	Azinphos-Methyl	34.2	92	Dicloran	98.7	167	Isofenfos	90.9	242	Pyrazolox	62.3
18	Benazoxynil	89.4	93	Diclorofenfos	ND	168	Isofenfos	91.0	243	Pyributicarb	84.0
19	Bendiocarb	87.2	94	Diothofencarb	84.4	169	Isofenfos PHO	88.2	244	Pyridaben	78.1
20	Berfluranil	91.9	95	Difenconazole-1	77.7	170	Isofenfos	76.7	245	Pyridiflufen	84.3
21	Berfluranil	88.3	96	Difenconazole-2	77.5	171	Isofenfos	91.8	246	Pyrimethanil	70.0
22	Berfluranil	81.6	97	Diflufenacil	79.3	172	Isofenfos	80.4	247	Pyrimethanil	71.6
23	BHO-alpha	77.4	98	Dimethoate	77.9	173	Isofenfos-ox	78.7	248	Pyrimethanil	79.7
24	BHO-beta	80.1	99	Dimethoate	85.3	174	Kresoxim-methyl	85.8	249	Pyrimethanil	77.6
25	BHO-gamma	90.4	100	Dimethoate	84.9	175	Levofenfos	87.7	250	Pyrimethanil-methyl-1	88.1
26	BHO-delta	92.2	101	Dimethoate	79.5	176	Micromethanil	89.7	251	Pyrimethanil-methyl-2	82.8
27	Difenoxy	97.9	102	Dimethoate	ND	177	Micromethanil	96.1	252	Pyriproxyfen	63.2
28	Difenthrin	81.6	103	Dimethylvinphos-z	81.4	178	Mefenacet	81.8	253	Pyroquilon	44.1
29	Bisatranil-1	65.4	104	Dioxathion	35.1	179	Mefenacet	83.6	254	Quinoclamine	63.9
30	Bisatranil-2	57.2	105	Difenconazole	89.0	180	Mepanil	90.5	255	Quinoclamine	85.3

◆キャベツ ◆リンゴ ◆トマト…

# STQ法の応用

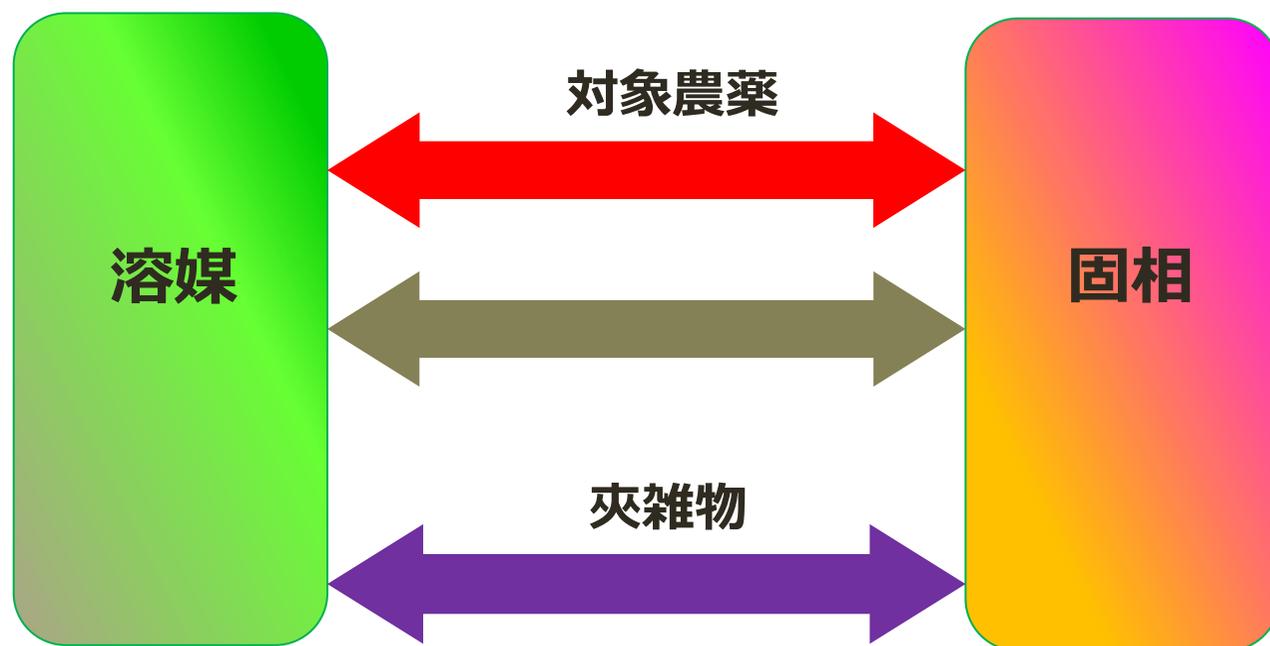
## ① 固相抽出の相互作用

◆農薬 ◆夾雑成分 ◆溶媒 ◆固相

## ② 実際の応用例

◆脂質が多い ◆色素（平面構造夾雑物） ◆カフェインが多い  
◆脂肪酸が多い ◆抽出液量が少ない ◆マラチオン分析

# 固相抽出の相互作用



- 分子間相互作用
- イオン交換相互作用

# 対象農薬の物性

## データシートの活用

公開予定：お問い合わせください！

chlorpyrifos

KANTOPES MIX\_22-19-088

GC/MS 定量条件

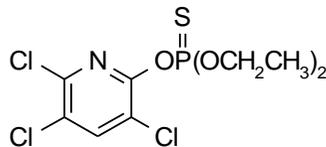
通知法GC/MS 定量条件(参考)

保持時間(分:秒)	20:02	保持指標	1982
定量イオン	314	定量イオン	286, 314
定性イオン	286, 197, 316	定性イオン	197
		測定限界(ng)	0.022

物性

CAS 番号	2921-88-2
分子量	350.6
分子式	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS
蒸気圧	2.7 mPa (25°C)
LogPow	4.7
水溶解度	1.4 mg/l (25°C)
pKa	-

構造式



## 蒸気圧

GCの大まかなリテンションタイム

工バポ濃縮時の損失性

注入口汚れによる損失性

## LogPOW・水溶解度

LCの大まかなリテンションタイム

固相C18を用いた前処理への応用

液液分配時の有機層への移行率

## pKa

解離・非解離状態の把握

イオン系固相を用いた前処理への

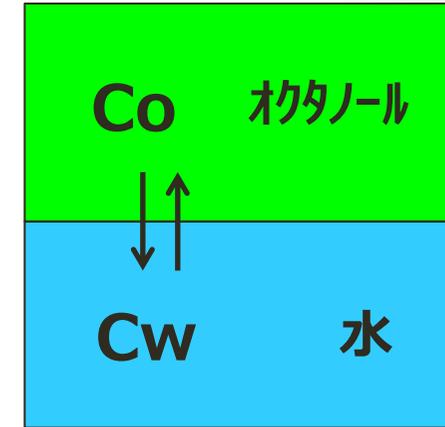
応用

液液分配時の有機層への移行率

# LogPow

$$\text{LogPOW} = \text{Log}_{10} \frac{\text{1-オクタノール中濃度}}{\text{水層中濃度}}$$

$$\frac{\text{1-オクタノール中濃度}}{\text{水層中濃度}} = \frac{C_o}{C_w} = 10^{\text{LogPOW}}$$



高極性

$$\text{LogPOW} = -1$$

$$\frac{C_o}{C_w} = 10^{-1} = \frac{1}{10}$$

中極性

$$\text{LogPOW} = 3$$

$$\frac{C_o}{C_w} = 10^3 = \frac{10^3}{1}$$

無極性

$$\text{LogPOW} = 6$$

$$\frac{C_o}{C_w} = 10^6 = \frac{10^6}{1}$$

# 夾雑成分の種類

食品成分データベース  
Food Composition Database

文部科学省  
最終更新日：2013年 8月1日

Home | 食品成分DBとは? | 検索 | ヘルプ | お問い合わせ

検索する食品を<全角ひらがな>で入力してください

フリーワード検索

食品をいくつかのキーワードで絞り込みたい場合は、キーワード間にスペースを1つ以上入力してください。  
例:「こめ」というキーワードを持つ食品の中から、「あし」というキーワードで絞り込みたい場合

こめ あし

スペースで区切る

## 溶媒抽出操作に影響

- 水分
- 脂質
- タンパク質
- ミネラル
- 灰分
- その他

### アクセスランキング

Access Ranking

2014年 1月19日 : Best 5

順位	食品名	アクセス数
1	穀類/こめ/水稲めし/精白米	79
2	砂糖及び甘味類/砂糖類/車糖/上白糖	27
3	穀類/こむぎ/パン類/食パン	23

### 食品成分ランキング

Food Composition Ranking

たんぱく質 : Best 5

順位	食品名	成分量 100gあたりg
1	肉類/ふた/[その他]/ゼラチン	87.6
2	卵類/(鶏卵類)/卵白/乾燥卵白	86.5
3	乳類/[その他]/カゼイン	86.2

食品成分データベース  
(<http://fooddb.mext.go.jp/>)

## 固相精製操作に影響

- 脂質
- ビタミン
- 脂肪酸
- その他

# 溶媒の極性の概念図

親水性（極性）

疎水性（無極性）



水

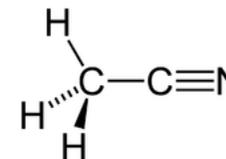
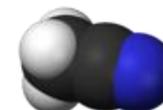
ヘキサン LogPow= 4.1



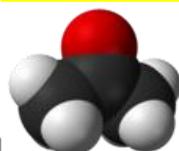
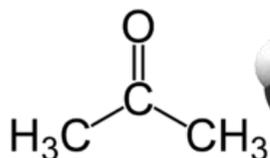
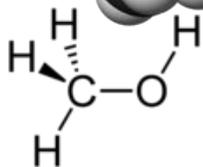
メタノール LogPow= -0.6



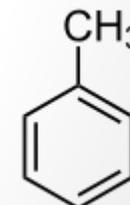
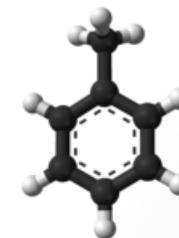
アセトニトリル LogPow= -0.3



アセトン LogPow= -0.24



トルエン LogPow= 2.7



# 固相カートリッジの性質

無極性

- ◆ C18
- ◆ PLS3
- ◆ HLB

極性

- ◆ PSA
- ◆ SI
- ◆ FL

平面  
構造

- ◆ GCS

陽イオン  
交換

強陽イオン

- ◆ SCX
- ◆ CX

弱陽イオン

- ◆ WCX

陰イオン  
交換

強陰イオン

- ◆ SAX
- ◆ AX

弱陰イオン

- ◆ WAX
- ◆ PSA
- ◆ NH2

# GC-B法前処理フロー

分取 0.5 mL (試料0.5g相当)

— 添加 水 0.2mL

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

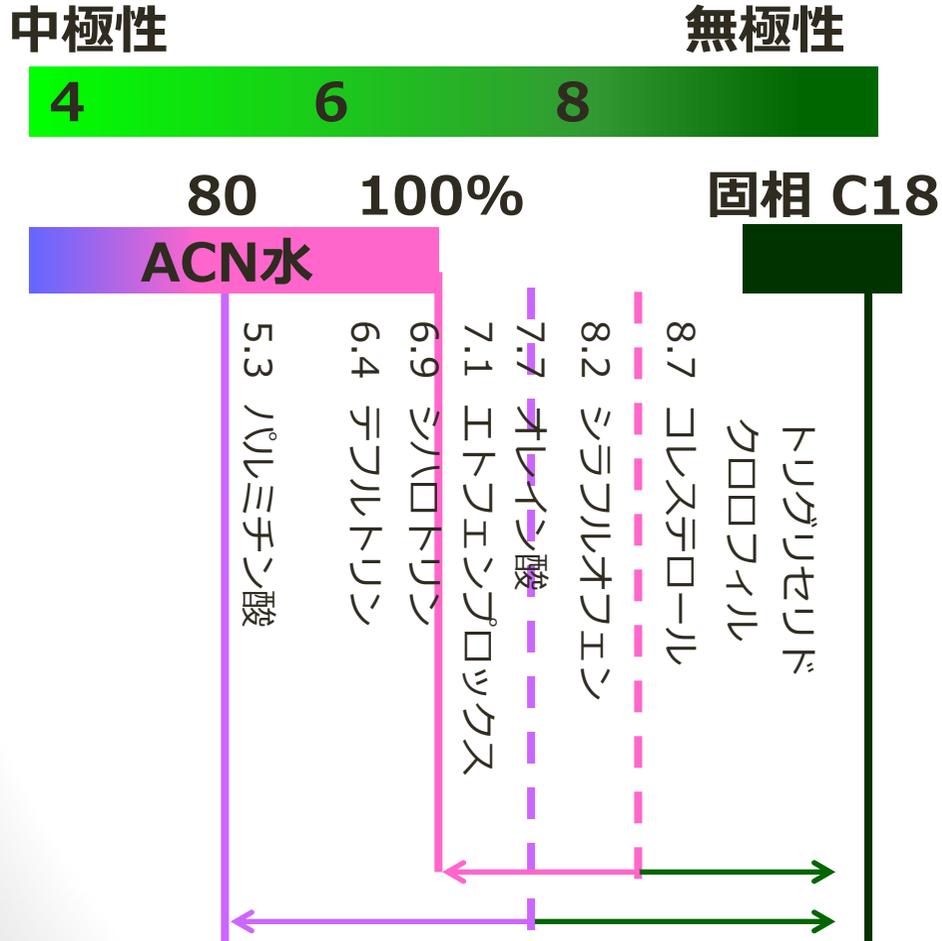
定容 (1 mL, アセト/ヘキサンで調製)

GC/MS (大量注入25uL : 試料12.5mg相当)

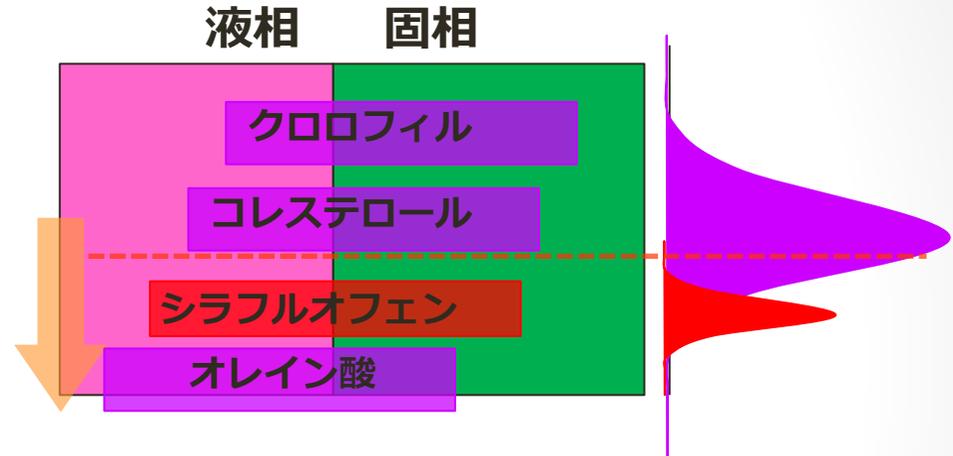
☞ C18、PLS3ともに無極性相互作用を持つ。

☞ 溶媒極性を調整することで無極性固相で農薬を溶出したり、保持させることが可能となる。

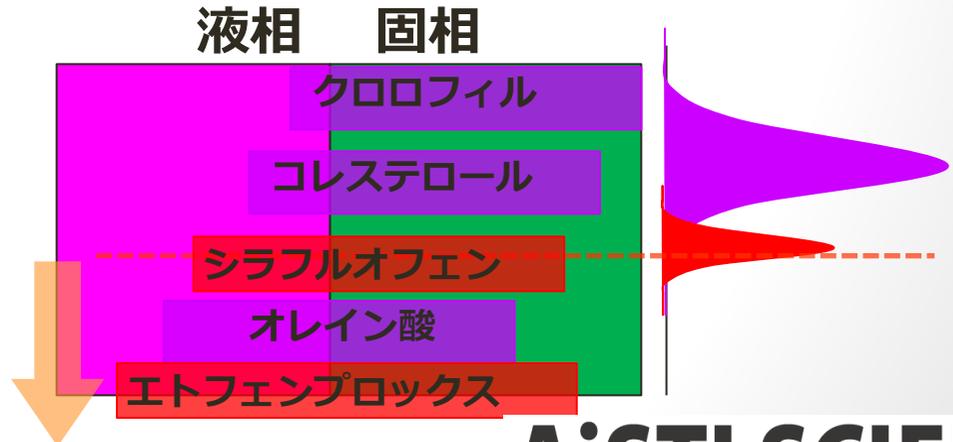
# 無極性固相とLogPow



## □ 100%ACN



## □ 80%ACN (固相への保持が強まる)



# GC-B法前処理フロー

分取 0.5 mL (試料0.5g相当)

— 添加 水 0.2mL

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eton-ハキサン (15/85) 1mL

定容 (1 mL, アeton/ハキサンで調製)

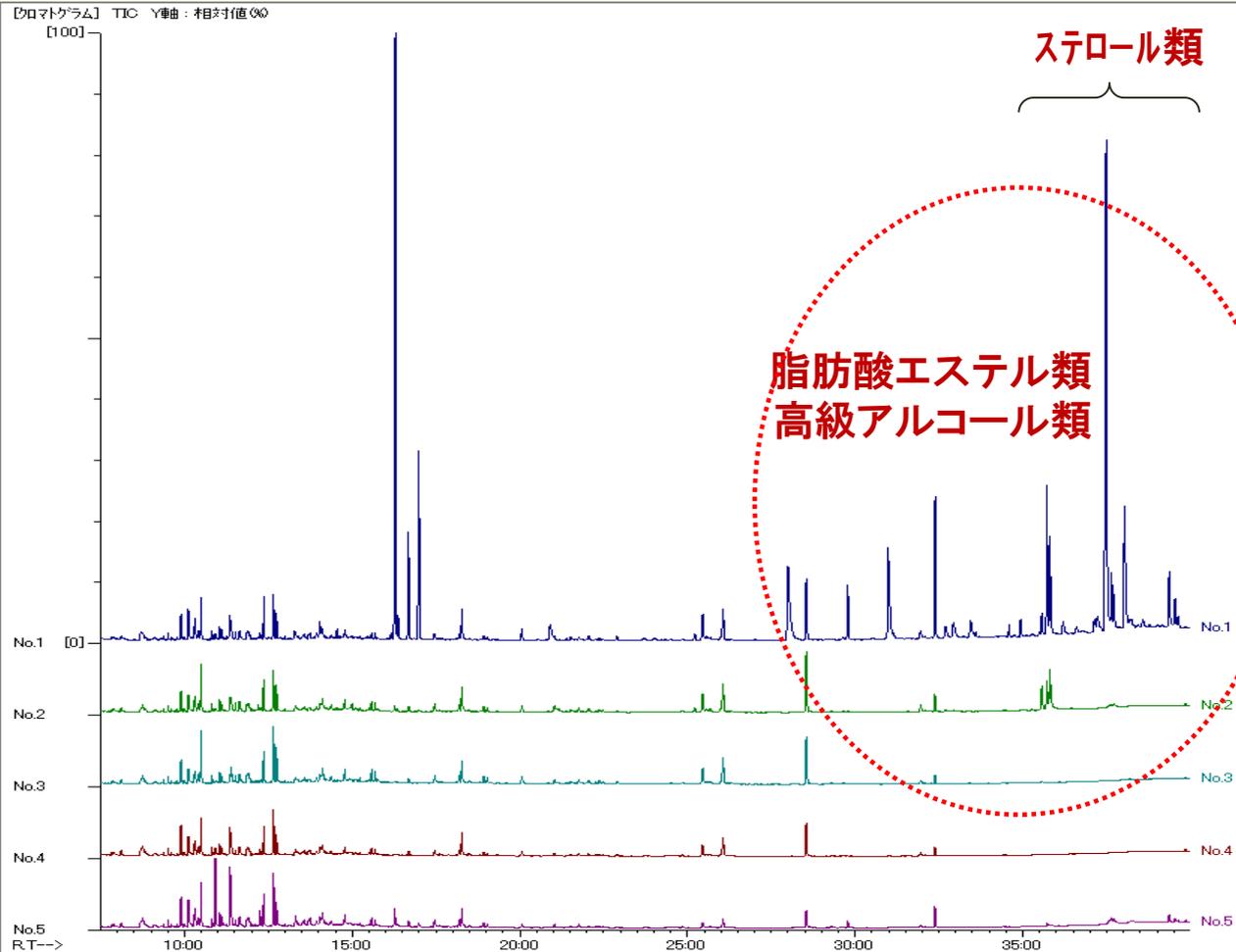
GC/MS (大量注入25uL : 試料12.5mg相当)

👉 水を添加することで、C18ミニカートリッジでの精製効果を高めている。

👉 水分が多ければ多いほど精製効果が高まる一方、農薬の回収率は落ちる。

👉 水分添加量を調節することで最適な精製を得られる。

# 溶媒の極性の概念図



★アセトニトリル濃度による精製効果の違い



100%ACN



80%ACN/水

C18による除去成分  
●低極性の夾雑物 ●高級脂肪酸エステル  
●緑色素を除去。

C18精製無

100%ACN

80%ACN/水

67%ACN/水

50%ACN/水

高



低

ACN濃度

# C18からの溶出試験

No.	化合物名	(上) 添加水量 (下) 溶出溶媒比率 アセトリル/水						備考	No.	化合物名	(上) 添加水量 (下) 溶出溶媒比率 アセトリル/水						備考
		0.2 mL		0.3 mL	0.5 mL		1 mL				0.2 mL		0.3 mL	0.5 mL		1 mL	
		100%	80%	75%	66%	50%	33%				100%	80%	75%	66%	50%	33%	
121	Etiozazole	89.7	96.5	108.6	91.5	7.8	0.2	151	Flutolanil	92.9	97.0	101.0	94.2	95.5	38.1		
122	Etrimfos	86.6	92.7	99.1	89.9	95.7	6.2	152	Flutriafol	57.4	64.3	68.1	55.5	64.6	68.8		
123	Fenamidone	107.3	100.5	105.0	105.4	106.9	84.9	153	Fluvalinate-1	96.3	97.1	104.1	55.7	0.5	0.5		
124	Fenamiphos	63.8	83.0	81.5	73.2	70.4	43.9	154	Fluvalinate-2	91.9	95.5	101.4	52.5	0.5	0.1		
125	Fenarimol	78.4	85.3	93.8	82.7	87.2	75.8	155	Formothion	62.4	70.0	72.7	65.4	66.8	70.4		
126	Fenbuconazole	71.0	82.8	92.5	80.8	81.1	28.3	156	Fosthiazate-1	83.5	87.0	89.8	77.4	88.9	93.6		
127	Fenclorphan	86.6	95.1	102.8	90.6	42.3	0.1	157	Fosthiazate-2	77.9	87.2	88.3	74.0	85.5	93.1		
128	Fenitrothion	94.6	106.8	110.6	106.2	106.6	32.7	158	Halfenprox	100.8	92.8	82.5	17.7	1.4	1.2		
129	Fenobucarb	89.0	90.2	93.9	84.3	92.5	92.4	159	Hexaconazole	80.7	91.6	95.7	86.0	89.7	36.6		
130	Fenothiocarb	94.2	101.6	106.2	96.2	95.7	31.1	160	Hexazinone	33.4	39.0	42.3	38.3	51.5	63.6		
131	Fenoxanil	102.8	104.6	109.9	103.5	103.0	13.8	161	Imazamethabenz methyl	42.1	51.3	54.3	45.5	58.0	64.8		
132	Fenpropathrin	113.4	102.3	109.1	92.9	0.5	0.6	162	Imibenconazole	62.5	74.8	94.5	79.9	52.9	0.5		
133	Fenpropemorph	87.1	95.6	97.1	76.7	1.2	0.8	163	Imibenconazole-des-be	18.6	27.2	31.7	27.2	32.1	35.5		
134	Fensulfthion	100.4	98.9	103.4	93.3	91.9	90.2	164	Iprobenfos	72.0	100.6	106.2	95.0	98.4	48.5		
135	Fenthion	62.0	68.8	70.6	61.8	62.4	1.2	165	Iprodione	89.6	102.4	105.2	93.1	97.3	48.5		
136	Fenvalerate-1	87.4	96.8	102.1	68.3	2.0	0.9	166	Isazophos	90.1	91.4	98.2	92.6	99.4	26.0		
137	Fenvalerate-2	117.5	99.1	112.7	149.8	145.1	208.4	167	Isofenphos	63.6	89.2	99.4	89.2	85.0	0.0		
138	FIPRONIL	87.2	95.2	98.3	95.2	93.2	3.8	168	Isofenphos P=O	87.1	105.8	105.0	96.9	101.0	96.6		
139	Flamprop-methyl	96.2	100.6	102.8	94.9	103.0	63.5	169	Isoprocarbe	79.4	84.0	85.5	74.1	87.0	88.7		
140	Fluacrypyrim	83.0	105.9	112.9	98.4	91.1	0.0	170	Isoprothiolane	105.5	107.8	109.1	100.2	104.2	62.7		
141	Flucythrinate-1	99.8	98.8	110.3	81.9	1.1	0.4	171	Isoxathion	98.1	100.4	111.6	102.2	84.5	0.7		
142	Flucythrinate-2	107.4	100.1	111.5	84.9	0.5	0.2	172	Isoxathion-ox	101.6	94.1	106.5	106.9	102.0	91.9		
143	Fludioxonil	35.1	46.6	51.6	41.5	47.4	45.0	173	Kresoxim-methyl	87.9	96.2	101.1	92.6	96.7	10.0		
144	Flufenpyl-ethyl	97.1	102.0	107.7	96.2	102.2	16.3	174	Lenacil	58.5	64.2	68.9	56.2	68.3	74.4		
145	Flumiclorac-pentyl	89.9	93.3	101.5	87.9	47.0	0.0	175	Malathion	98.2	103.7	104.8	99.4	104.0	51.6		
146	Flumioxazin	81.7	82.0	94.2	80.5	84.1	81.2	176	Mecarbam	88.6	92.6	104.5	91.8	101.4	23.2		
147	Fluquinconazole	93.7	99.1	107.2	95.8	97.4	69.5	177	Mefenacet	102.3	104.5	109.7	98.0	100.3	84.1		
148	Fluridone	51.6	57.2	65.1	54.7	60.5	56.1	178	Mefenpyr-diethyl	89.9	102.6	108.4	96.1	98.6	1.2		
149	Flusilazole	77.6	94.7	100.4	88.7	93.3	27.8	179	Mepronil	91.8	91.6	96.7	94.5	104.4	56.5		
150	Fluthiacet-methyl	75.0	76.6	89.3	79.2	83.1	13.9	180	Metalaxyl	75.9	83.6	85.4	68.4	78.3	87.7		

# GC-B法前処理フロー

分取 0.5 mL (試料0.5g相当)

— 添加 水 0.2mL

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)

GC/MS (大量注入25uL : 試料12.5mg相当)

☞ 水を添加することで、PLS3に農薬を保持させる。

☞ 2段階保持を行うことで低~中極性までの幅広い農薬成分を対象に。

※ 保持しきれない高極性農薬はLC法でカバー。

☞ 水分添加量を調節することで最適な精製を得られる。

# PLS3への保持試験

No.	化合物名	(上) 添加水量 (下) 溶媒比率 アセトニル/水					LogPow	No.	化合物名	(上) 添加水量 (下) 溶媒比率 アセトニル/水					LogPow
		1 mL 48%	2 mL 35%	4 mL 22%	10 mL 11%	20 mL 6%				1 mL 48%	2 mL 35%	4 mL 22%	10 mL 11%	20 mL 6%	
121	Etoazole	35.7	68.9	88.1	86.2	80.8		151	Flutolanil	11.4	38.3	78.5	100.9	95.1	
122	Etrimfos	13.6	36.7	85.6	101.3	100.1		152	Flutriafol	2.7	5.2	13.1	61.5	62.4	
123	Fenamidone	11.9	37.1	85.6	123.6	115.5		153	Fluvalinate-1	81.0	83.2	46.1	15.7	5.2	
124	Fenamiphos	1.6	7.2	25.0	76.9	79.9		154	Fluvalinate-2	82.1	82.7	45.5	15.5	5.3	
125	Fenarimol	8.1	25.3	61.7	95.5	90.7		155	Formothion	8.5	15.8	23.1	55.9	67.5	
126	Fenbuconazole	10.4	36.9	72.8	90.2	85.7		156	Fosthiazate-1	2.9	5.5	14.3	52.8	75.4	
127	Fenchlorphos	39.9	70.6	92.8	91.1	90.9		157	Fosthiazate-2	2.3	5.2	11.1	52.0	71.7	
128	Fenitrothion	15.6	40.1	86.3	96.2	97.7		158	Halfenprox	88.6	88.5	34.5	10.3	3.3	
129	Fenobucarb	5.6	10.4	36.6	88.6	90.1		159	Hexaconazole	8.0	21.0	62.8	97.9	93.2	
130	Fenothiocarb	15.0	37.4	85.0	100.1	98.2		160	Hexazinone	0.6	0.4	0.7	13.5	28.5	
131	Fenoxanil	11.7	36.4	82.5	101.4	93.7		161	Imazamethabenz methyl	1.6	1.3	3.2	21.8	42.0	
132	Fenpropathrin	62.6	84.0	87.2	73.1	48.8		162	Imibenconazole	36.3	84.1	86.1	93.7	79.1	
133	Fenpropemorph	3.1	13.4	26.5	94.1	95.9		163	Imibenconazole-des-benzyl	0.5	0.9	0.5	11.5	22.3	
134	Fensulfothion	4.2	6.4	24.6	96.4	97.9		164	Iprobenfos	6.4	14.1	65.9	97.3	97.7	
135	Fenthion	11.7	40.9	65.4	86.6	87.0		165	Iprodione	11.2	31.3	81.6	103.8	98.7	
136	Fenvalerate-1	74.5	79.1	59.0	29.8	12.3	5	166	Isazophos	9.2	26.5	76.2	97.7	95.3	
137	Fenvalerate-2	75.8	79.0	59.8	33.1	14.8	5	167	Isofenphos	13.5	46.3	86.2	92.4	93.5	
138	FIPRONIL	11.6	46.5	84.7	98.5	94.7		168	Isofenphos P=O	4.2	8.0	30.9	95.1	97.4	
139	Flamprop-methyl	9.2	24.6	78.0	101.5	98.8		169	Isoprocarbe	4.1	6.3	19.1	64.4	75.2	
140	Fluacrypyrim	17.6	58.1	99.6	103.5	102.4		170	Isoprothiolane	13.0	26.6	74.5	101.2	104.7	
141	Flucythrinate-1	68.1	83.4	75.2	43.8	20.1	4.7	171	Isoxathion	27.9	55.4	87.2	97.9	97.6	
142	Flucythrinate-2	67.4	85.6	76.9	45.6	21.2	4.7	172	Isoxathion-ox	1.8	7.7	54.2	97.7	98.8	
143	Fludioxonil	4.4	15.7	35.9	54.8	46.6		173	Kresoxim-methyl	15.4	42.3	88.2	99.0	96.5	
144	Flufenpyl-ethyl	11.7	36.8	88.0	106.4	104.2		174	Lenacil	2.6	4.0	7.9	44.0	59.7	
145	Flumiclorac-pentyl	42.2	78.5	95.3	99.7	93.9		175	Malathion	7.5	21.8	75.3	97.1	95.3	
146	Flumioxazin	6.8	22.0	59.7	92.7	87.7		176	Mecarbam	12.1	33.0	84.0	104.0	98.9	
147	Fluquinconazole	11.9	36.1	79.3	109.7	104.0		177	Mefenacet	11.1	31.6	76.7	108.4	102.2	
148	Fluridone	5.4	12.9	33.2	58.6	54.9		178	Mefenpyr-diethyl	18.2	51.6	96.2	106.7	103.3	
149	Flusilazole	8.3	28.2	79.4	100.5	97.2		179	Mepronil	13.7	42.6	90.4	116.9	111.3	
150	Fluthiacet-methyl	18.2	53.3	81.3	94.6	90.7		180	Metalaxyl	1.9	2.7	8.8	50.1	69.7	

# GC-B法前処理フロー

分取 0.5 mL (試料0.5g相当)

— 添加 水 0.2mL

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 アセトン-ヘキサン (15/85) 1mL

定容 (1 mL, アセトン/ヘキサンで調製)

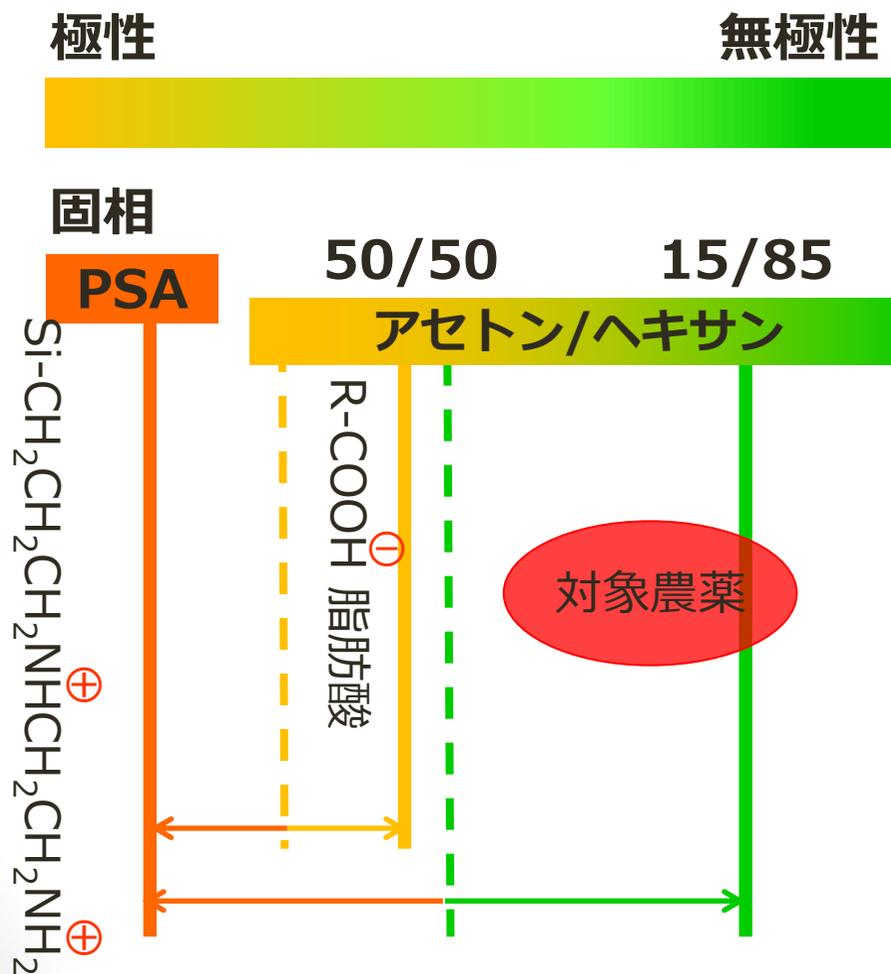
GC/MS (大量注入25uL : 試料12.5mg相当)

☞ PLS3の十分な乾燥により、PSAによる精製効果が向上する。

☞ 農薬を固相で濃縮することで、溶出溶媒（最終試験液）の組成の変更が容易。

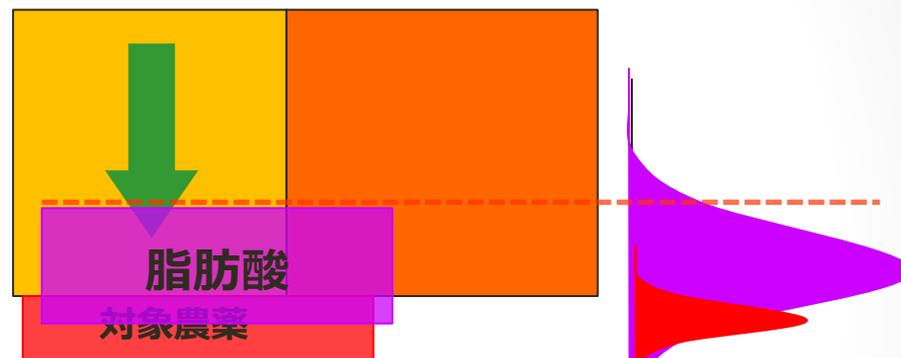
☞ 溶出溶媒のアセトン比率を調節することで、最適な溶出が得られる。

# 極性・イオン交換系固相(PSA)とLogPow



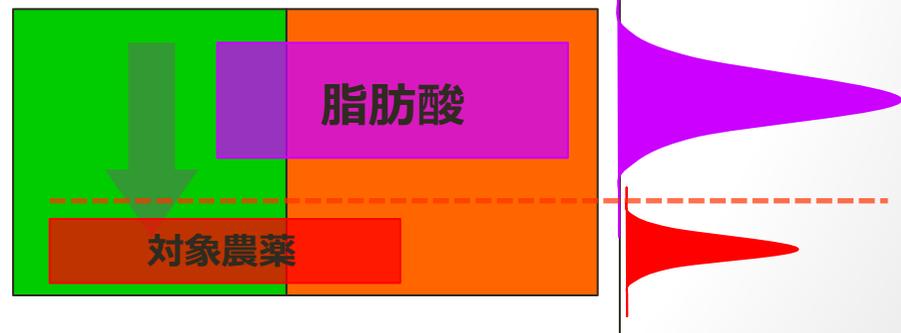
## □ アセトン/ヘキサン (50/50)

液相 固相



## □ アセトン/ヘキサン (15/85)

液相 固相

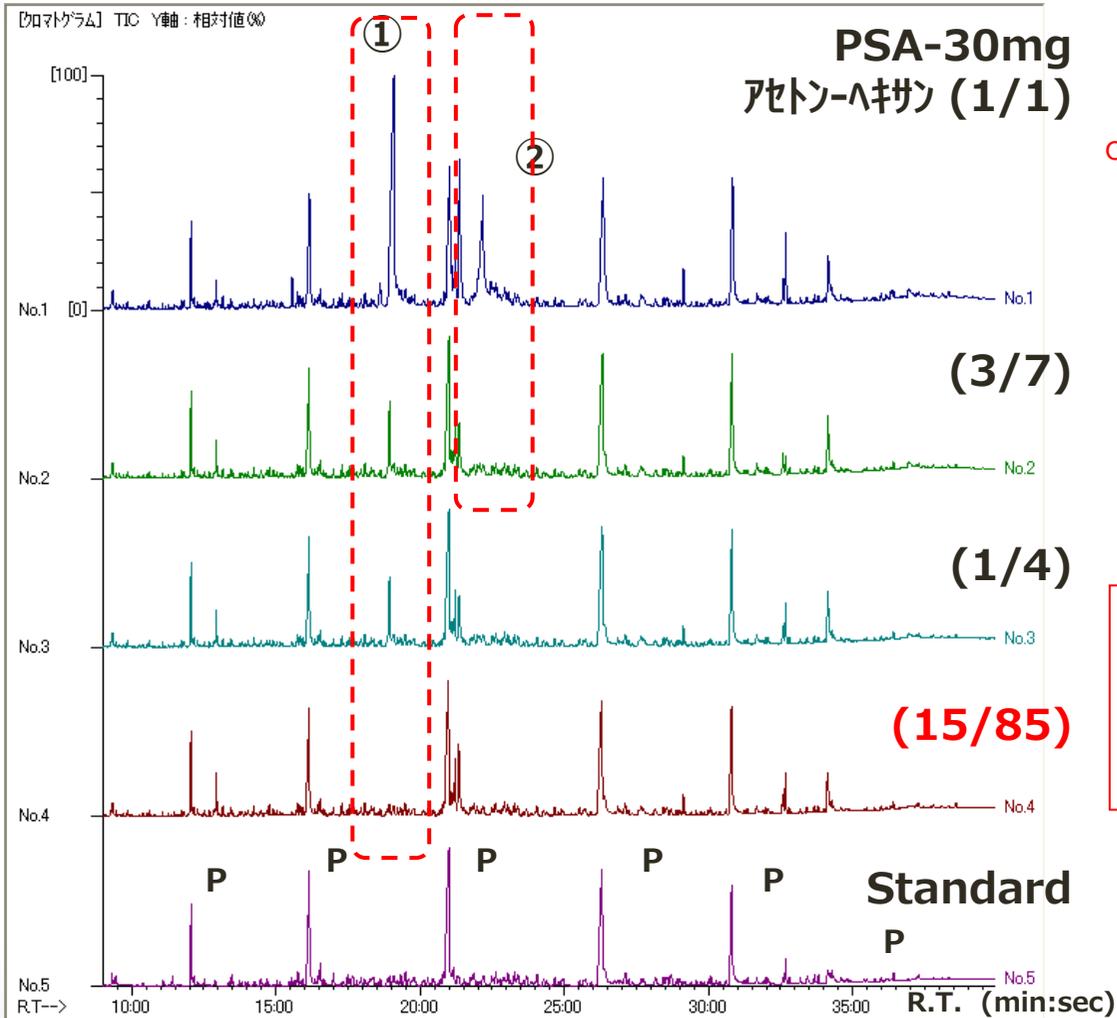


# PSAからの溶出試験

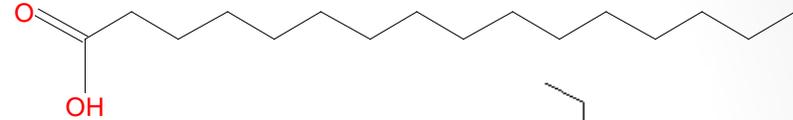
番号	化合物名	溶出溶媒 アセトン-ヘキサン比率						下(アセトン含有率)		
		(50/50)	(30/70)	(20/80)	(15/85)	(10/90)	(5/95)	(0/100)		
		50%	30%	20%	15%	10%	5%	0%		
121	Etofenprox	95.6	89.6	85.5	85.9	81.6	77.6	77.6		
122	Etoazole	94.3	89.2	85.2	85.1	81.4	74.9	59.2		
123	Etrimfos	99.7	94.0	87.1	89.9	90.8	83.0	81.7		
124	Fenamidone	98.6	95.6	90.6	92.0	92.2	63.9	0.0		
125	Fenamiphos	110.3	102.5	97.0	94.9	92.3	46.8	0.9		
126	Fenarimol	95.3	93.5	89.8	91.8	87.6	46.3	0.8		
127	Fenbuconazole	105.1	100.9	95.1	95.2	84.7	13.8	0.6		
128	Fenclorphos	93.6	88.2	83.2	84.0	82.9	79.7	76.4		
129	Fenitrothion	110.1	103.6	97.7	93.6	94.4	92.8	45.8		
130	Fenobucarb	102.4	100.2	94.1	94.5	97.5	88.7	0.5		
131	Fenothiocarb	97.3	95.1	90.3	91.4	89.7	82.8	47.5		
132	Fenoxanil	101.6	95.7	91.5	92.1	91.1	84.3	0.6		
133	Fenpropathrin	92.3	84.8	81.3	81.9	79.2	74.0	71.7		
134	Fenpropemorph	97.6	91.9	86.5	86.6	87.0	79.6	40.0		
135	Fensulfothion	116.7	105.2	98.0	97.2	94.9	52.3	1.2		
136	Fenthion	106.0	99.2	92.9	95.8	95.5	89.3	77.3		
137	Fenvalerate-1	89.1	89.9	86.1	88.0	84.2	80.4	59.2		
138	Fenvalerate-2	117.3	96.9	90.0	86.9	81.9	74.3	53.0		
139	FIPRONIL	62.4	88.3	84.6	88.8	89.0	44.5	0.0		
140	Flamprop-methyl	101.6	95.2	90.3	93.8	93.4	89.0	2.9		
141	Fluacrypyrim	102.4	95.6	90.6	93.1	88.7	82.1	27.9		
142	Flucythrinate-1	97.8	94.1	88.9	89.4	85.3	79.5	17.7		
143	Flucythrinate-2	103.7	97.2	92.0	90.8	85.6	79.2	13.2		
144	Fludioxonil	93.1	84.9	79.4	82.1	85.0	77.1	54.6		
145	Flufenpyl-ethyl	109.8	100.1	94.6	94.9	94.0	85.2	17.0		
146	Flumiclorac-pentyl	115.6	110.5	104.9	102.0	94.9	86.1	4.6		
147	Flumioxazin	119.2	111.9	108.0	106.4	101.6	74.8	0.0		
148	Fluquinconazole	101.8	98.2	93.1	94.0	92.0	80.6	0.2		
149	Fluridone	106.8	100.7	95.9	86.3	40.5	0.6	0.1		
150	Flusilazole	101.1	96.2	91.9	94.4	93.1	72.8	0.4		

番号	化合物名	溶出溶媒 アセトン-ヘキサン比率						下(アセトン含有率)		
		(50/50)	(30/70)	(20/80)	(15/85)	(10/90)	(5/95)	(0/100)		
		50%	30%	20%	15%	10%	5%	0%		
151	Fluthiacet-methyl	150.4	141.7	125.1	117.6	105.0	87.3	0.0		
152	Flutolanil	104.5	96.7	92.4	93.8	92.8	61.1	1.9		
153	Flutriafol	90.7	94.8	85.8	79.5	54.7	6.0	0.2		
154	Fluvalinate-1	95.3	93.8	88.4	88.4	83.9	78.5	27.8		
155	Fluvalinate-2	99.2	94.7	89.2	89.3	86.1	80.3	29.3		
156	Formothion	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.		
157	Fosthiazate-1	76.9	84.4	73.3	76.0	75.8	55.2	3.5		
158	Fosthiazate-2	78.8	86.6	75.2	78.3	78.4	59.4	2.1		
159	Halfenprox	95.6	89.1	82.9	83.5	79.0	74.5	74.0		
160	Hexaconazole	101.1	97.6	93.8	92.8	89.1	43.2	0.3		
161	Hexazinone	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.		
162	Imazamethabenz methyl	33.9	43.4	33.4	33.2	32.0	6.2	0.7		
163	Imibenconazole	148.4	134.1	119.2	116.4	92.8	41.0	0.0		
164	Imibenconazole-des-b	14.0	16.4	12.3	9.7	4.6	0.1	0.3		
165	Iprobenfos	101.5	96.0	90.1	90.9	90.1	82.4	12.9		
166	Iprodione	104.5	102.0	95.5	96.4	93.2	82.8	1.0		
167	Isazophos	96.4	94.3	87.9	90.0	90.7	82.5	72.7		
168	Isofenphos	102.5	93.6	88.8	91.0	87.9	82.5	66.2		
169	Isofenphos P=O	111.1	101.4	95.7	93.6	93.0	76.9	0.3		
170	Isoprocarbe	75.8	84.7	74.8	77.8	81.5	64.4	0.3		
171	Isoprothiolane	100.5	95.7	91.2	91.8	91.0	84.0	2.8		
172	Isoxathion	93.5	84.7	78.6	81.9	79.0	72.6	39.5		
173	Isoxathion-ox	97.0	93.3	89.8	85.8	83.1	72.5	2.5		
174	Kresoxim-methyl	99.5	93.6	87.7	90.1	86.8	79.0	47.7		
175	Lenacil	44.8	57.9	46.2	48.6	39.8	4.0	0.1		
176	Malathion	107.2	101.1	94.5	94.2	91.3	85.9	39.4		
177	Mecarbam	97.7	93.1	87.2	91.1	90.3	82.3	49.1		
178	Mefenacet	103.8	98.0	91.4	92.3	89.5	81.1	0.0		
179	Mefenpyr-diethyl	101.9	96.9	92.8	95.4	91.4	81.2	35.8		
180	Mepronil	119.3	108.5	100.7	96.8	99.6	86.2	4.4		

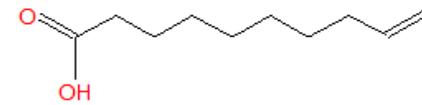
# 溶媒の極性の概念図



## ① パルミチン酸



## ② リノール酸



### PSA



N-プロピルエチレンジアミン

一次相互作用：極性・陰イオン交換

- アセトンの比率を下げるとPSAによる脂肪酸の除去効果が高くなる
- アセトン-ヘキサン(15/85)が最適

図3. ほうれん草を用いたPSAミニカートリッジと溶出溶媒アセトン-ヘキサンによるSCANトータルイオンクロマトグラム比較

# 溶媒の極性の概念図

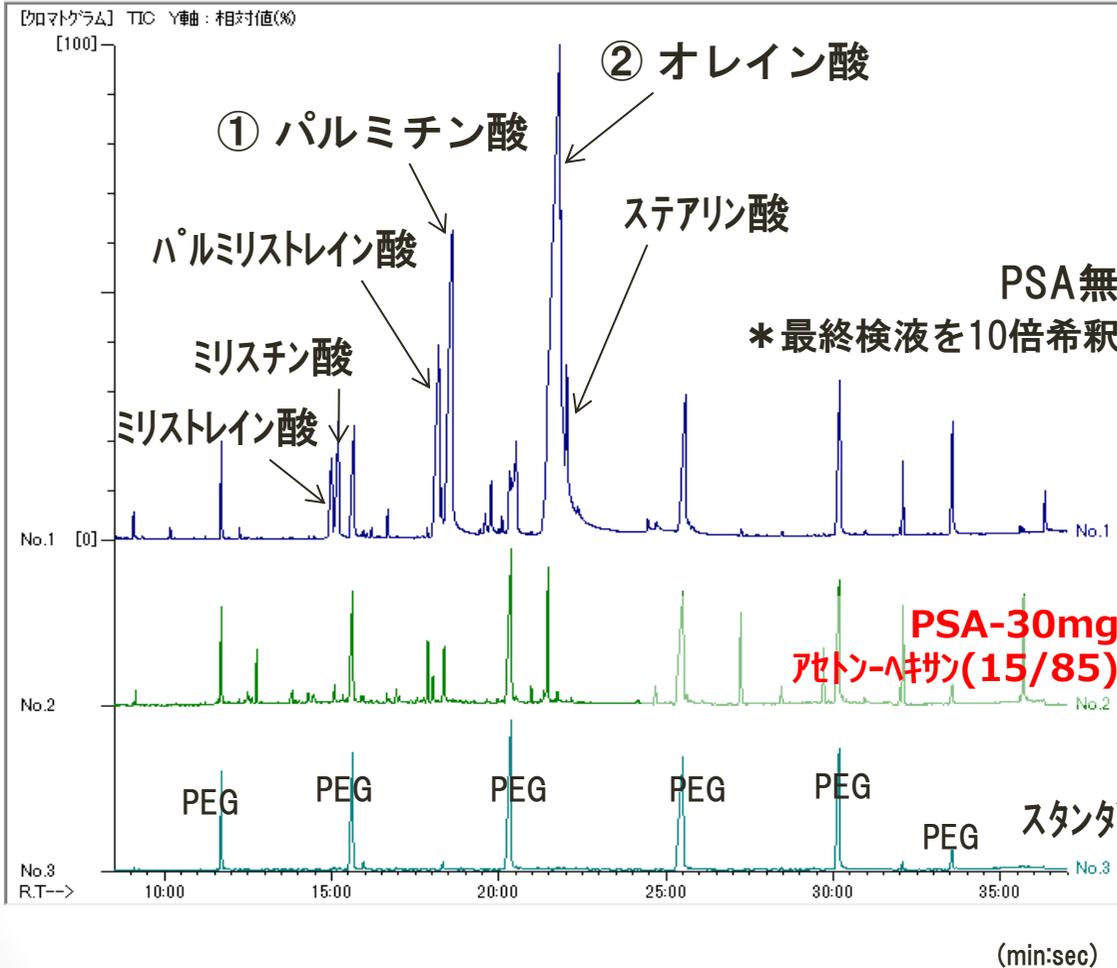
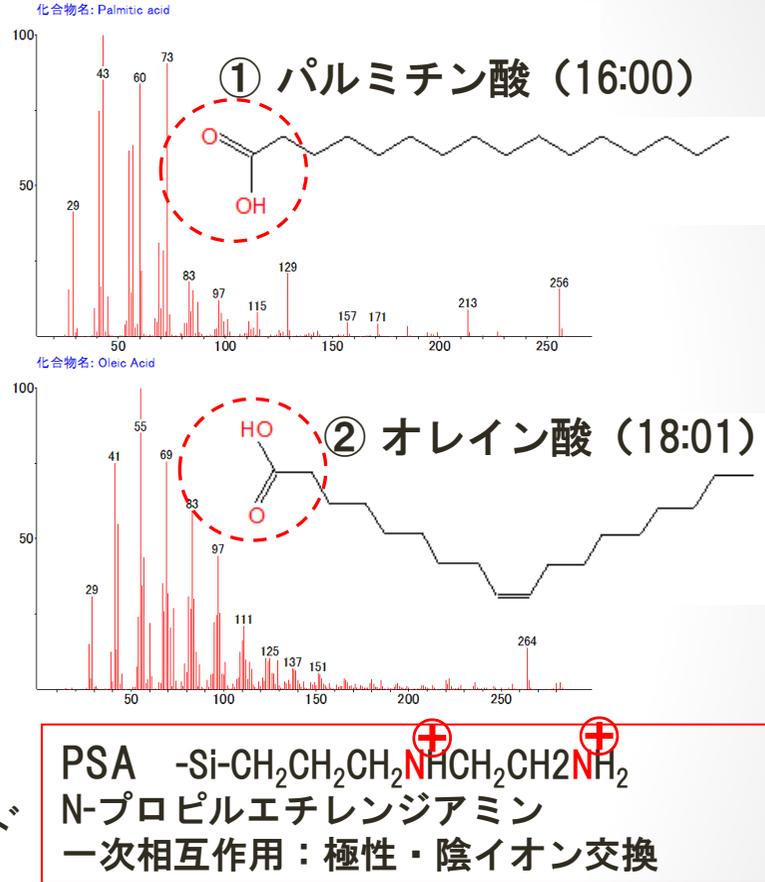


図3. 牛肉を用いたSCANT-タリオンクロマトグラム比較 (PSA精製効果)



➤ 固相PSAミニカートリッジと溶出液アセトン-ヘキサン(15/85)の組み合わせにより脂肪酸を除去できた。

# 実際の応用例

## ◆脂質が多いサンプル

例) 牛肉ミンチ → アセトン抽出

## ◆カフェインが多いサンプル

例) お茶 → SI追加

## ◆色素（平面構造夾雑物）が多いサンプル

例) 大麦若葉 → GCS追加

## ◆脂肪酸が多いサンプル

例) 加工食品 → SAX追加

## ◆抽出液量が少ないサンプル

例) 大豆 → 2段階抽出

## ◆加工食品中のマラチオン分析

# 脂質の多いサンプル

試料 10g

— 水 (10-試料中水分量)mL

— **アセトン 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

MgSO<sub>4</sub> (無水硫酸マグネシウム) 4g

攪拌 (手で振とう 1分間)

— **遠心分離 (3500rpm 5分間)**

— **冷凍 (-20℃ 1時間)**

アセトン層

分取 0.5g(試料0.5g相当)

— **添加水 3mL**

Smart-SPE C18-30 mg : 精製

※精製法GC-B法に続く

➤ アセトニトリルと比較すると、アセトンの方が脂溶性成分をよく溶解させられるため、脂質の多い食肉などのサンプルからの抽出にはアセトンを選択する。

➤ 遠心分離時の回転数を上げることで、よりよい分離が得られる。

➤ -20℃で1時間冷凍することで脂肪を固化し、操作性が向上する。

➤ アセトニトリルと比較すると、アセトンの方がC18からの溶出力が強いため、水添加量を増やして夾雑成分の除去効果を高める。

## 牛脂による脂質溶解実験

牛脂 2g



アセトン 10mL

ホモジナイズ

水 10mL

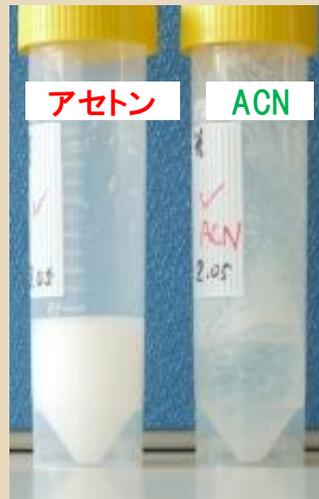
塩類 4種添加

攪拌（手で振とう 1分間）

遠心分離（3000rpm 5分間）

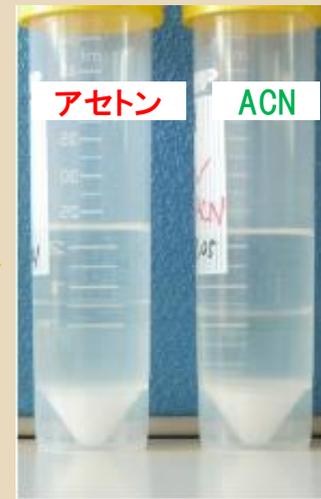
冷凍（30分間）

① 振とう後



**アセトン**: 白濁し混合  
**ACN**: 脂肪分がPP  
チューブ内部表面に  
付着

② 遠心分離後



水10mL添加後、遠  
心分離の後、ア  
セトンもACNも大差  
なし

③ 冷凍後



アセトンもACNも  
大差なし

# 脂質の多いサンプル



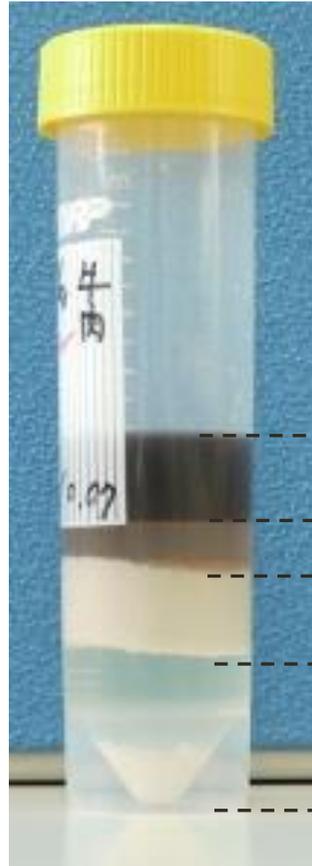
牛肉ミンチ



① 試料採取



② ホモジナ  
イズ後



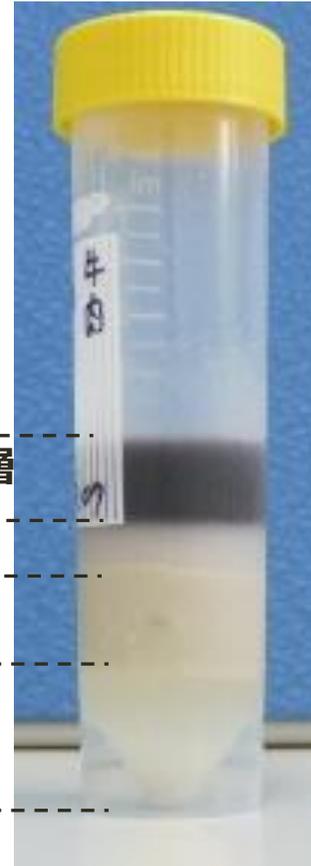
③ 遠心分離後

アセトン層

脂肪層

試料層

水層



④ 冷凍後

## 【物性】

アセトン

比重：0.79

融点：-94℃

脂肪酸

パルミチン酸

比重：0.85

融点：63℃

オレイン酸

比重：0.89

融点：13℃

- 遠心分離によりアセトン層の下に脂肪層が分離され、この工程で大部分の脂肪を取り除くことができた。

# カフェインが多いサンプル

分取 0.5 mL (試料0.5g相当)

— 添加 水 0.2mL

**Smart-SPE C18-30 mg : 精製**

— 洗液 アセトニトリル-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

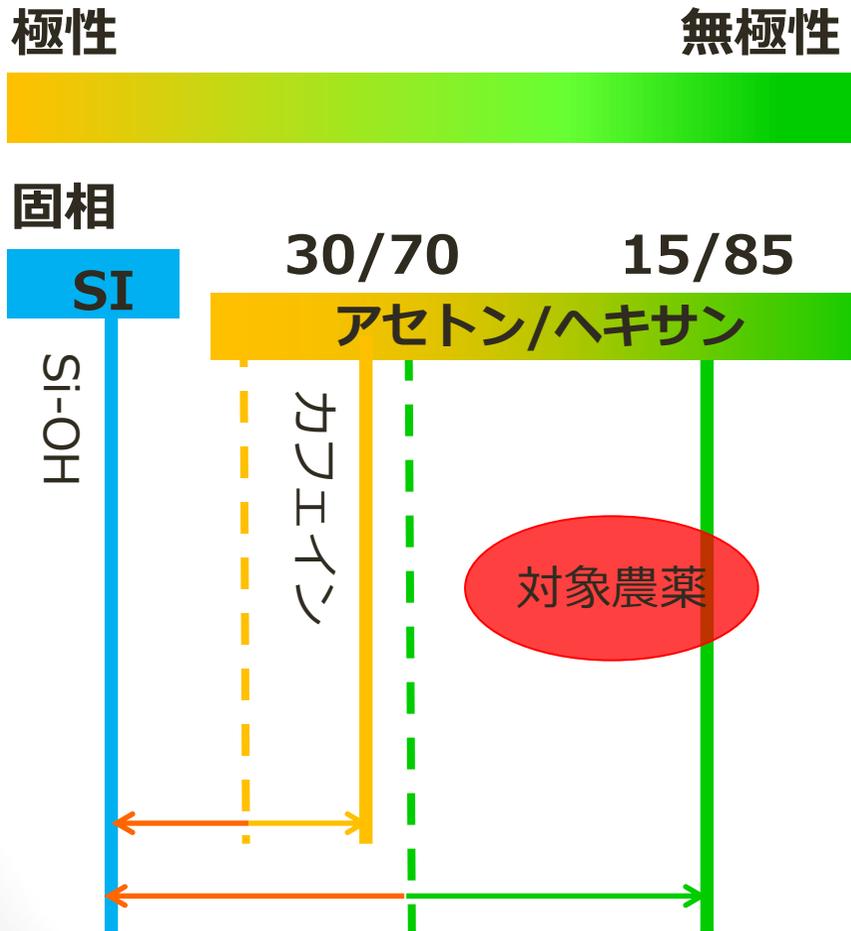
**連結 Smart-SPE SI-30/PSA-30 : 精製**

— 溶出 アセトン-ヘキサン(15/85) 1mL

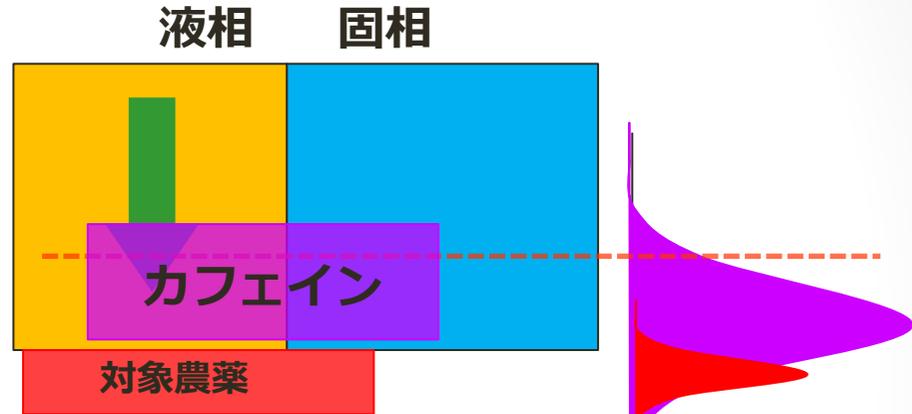
定容 (1 mL, アセトン-ヘキサンで調製)

- 極性の高い固相ミニカートリッジ (この場合シリカゲル) を使用することで、カフェインのように極性の高い夾雑物を除去することが可能である。

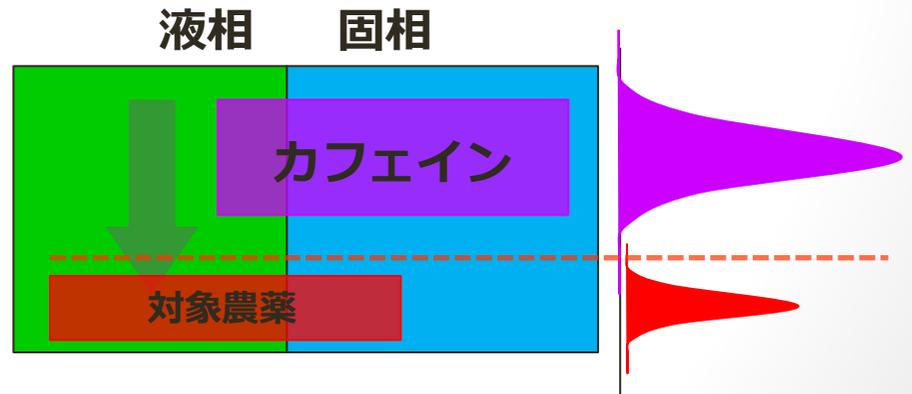
# カフェインが多いサンプル



## □ アセトン/ヘキサン (30/50)



## □ アセトン/ヘキサン (15/85)



# SIによるカフェインの除去

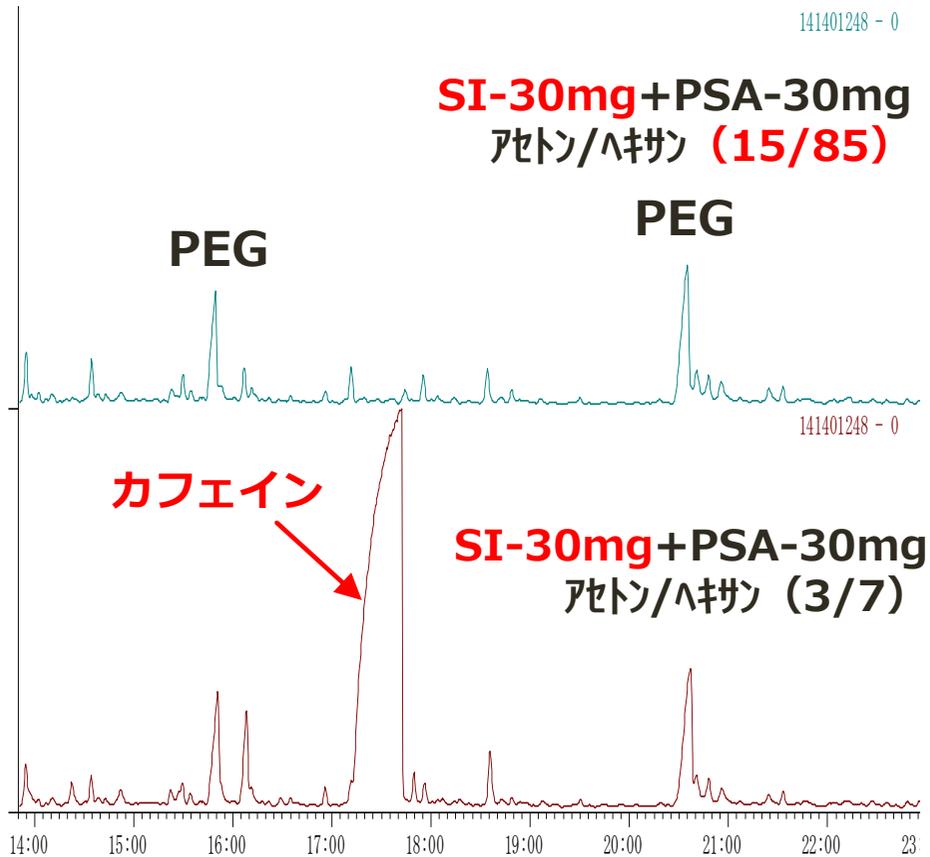
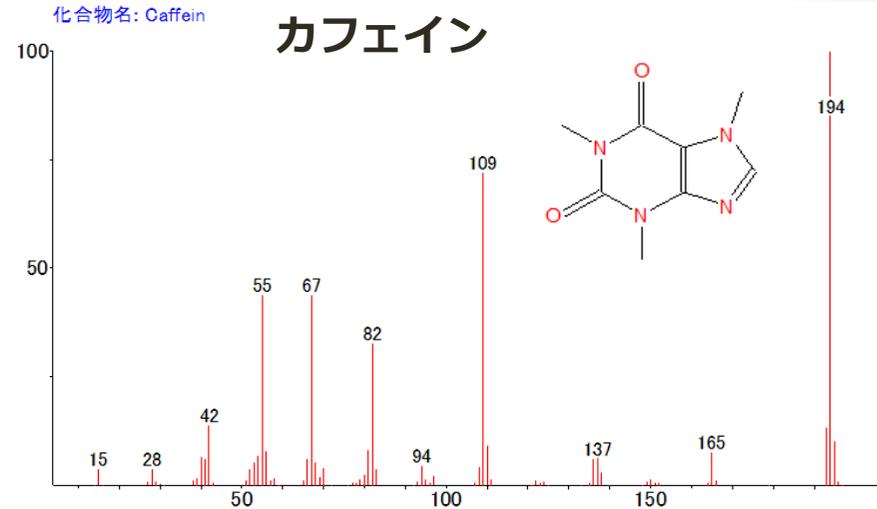


図3. お茶を用いたSIミニカートリッジと溶出溶媒アセトン-ヘキサンによるSCANトータルイオンクロマトグラム比較



SI -Si-OH  
シリカゲル  
一次相互作用：極性

- 固相SIミニカートリッジと溶出液アセトン-ヘキサン(15/85)の組み合わせによりカフェインを除去できた。

# SI+PSAによる溶出試験

番号	化合物名	溶出溶媒 アセトン-ヘキサン比率						下(アセトン含有率)	
		(50/50)	(30/70)	(20/80)	(15/85)	(10/90)	(5/95)	(0/100)	0%
		50%	30%	20%	15%	10%	5%		
121	Etofenprox	89.5	100.4	106.3	95.1	87.6	89.4	4.6	
122	Etoazole	91.0	98.4	101.0	89.9	82.4	85.6	0.0	
123	Etrimfos	97.1	105.6	109.6	103.8	99.4	100.3	0.0	
124	Fenamidone	102.9	113.8	117.2	112.8	96.9	5.8	0.0	
125	Fenamiphos	101.4	114.1	98.5	46.9	1.1	0.1	0.0	
126	Fenarimol	94.8	101.2	102.8	88.5	25.8	0.5	0.1	
127	Fenbuconazole	109.1	111.0	35.9	3.4	1.5	0.7	0.1	
128	Fenchlorphos	93.3	103.3	105.6	94.5	89.5	90.1	108.7	
129	Fenitrothion	105.0	118.6	121.6	111.5	107.2	106.6	0.0	
130	Fenobucarb	110.3	116.5	120.3	112.1	109.9	68.0	0.5	
131	Fenothiocarb	94.8	101.9	104.5	100.2	95.6	93.9	0.2	
132	Fenoxanil	94.7	107.7	109.4	106.0	99.2	22.8	0.4	
133	Fenprophathrin	106.5	114.0	116.2	103.8	94.9	100.9	1.9	
134	Fenpropemorph	97.6	104.5	105.7	102.7	95.7	89.9	0.2	
135	Fensulfothion	107.7	109.8	30.6	4.3	1.6	1.4	0.0	
136	Fenthion	99.0	108.9	109.2	101.6	96.2	97.2	0.5	
137	Fenvalerate-1	90.1	99.2	104.0	91.0	85.2	88.7	0.2	
138	Fenvalerate-2	99.9	100.2	102.1	88.7	80.7	86.0	0.0	
139	FIPRONIL	91.7	95.7	94.4	97.1	79.0	0.5	0.1	
140	Flamprop-methyl	98.7	107.5	108.7	104.9	99.5	34.9	0.2	
141	Fluacrypyrim	102.7	111.7	115.4	108.0	101.0	89.3	0.2	
142	Flucythrinate-1	99.5	109.5	113.7	101.1	90.3	90.9	0.0	
143	Flucythrinate-2	100.8	111.3	114.6	101.2	91.0	88.4	1.5	
144	Fludioxonil	89.9	95.6	96.4	90.5	85.7	86.1	1.1	
145	Flufenpyl-ethyl	106.3	116.2	120.6	115.6	110.9	89.9	0.1	
146	Flumiclorac-pentyl	114.5	130.4	134.9	126.5	113.5	87.6	0.0	
147	Flumioxazin	118.6	131.4	131.5	115.7	32.1	0.0	0.0	
148	Fluquinconazole	100.8	112.4	113.5	107.9	56.0	0.2	0.1	
149	Fluridone	101.8	109.9	70.6	9.7	0.1	0.1	0.0	
150	Flusilazole	97.3	105.0	86.1	33.7	1.0	0.0	0.2	

番号	化合物名	溶出溶媒 アセトン-ヘキサン比率						下(アセトン含有率)	
		(50/50)	(30/70)	(20/80)	(15/85)	(10/90)	(5/95)	(0/100)	0%
		50%	30%	20%	15%	10%	5%		
151	Fluthiacet-methyl	146.0	164.7	160.5	154.2	98.5	0.4	0.3	
152	Flutolanil	98.9	106.1	109.6	108.0	86.9	5.5	1.0	
153	Flutriafol	95.7	87.4	22.2	1.3	0.1	0.0	0.0	
154	Fluvalinate-1	97.9	108.8	111.6	99.2	90.1	92.4	0.0	
155	Fluvalinate-2	97.4	109.1	112.9	99.9	90.8	93.4	0.0	
156	Formothion	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
157	Fosthiazate-1	97.2	95.0	103.8	68.3	14.5	0.5	0.2	
158	Fosthiazate-2	92.7	93.7	101.7	70.2	24.2	4.0	1.5	
159	Halfenprox	195.9	220.4	228.2	210.4	185.8	187.4	124.3	
160	Hexaconazole	101.5	108.7	100.0	57.9	5.3	0.8	0.3	
161	Hexazinone	22.7	18.6	5.9	1.3	0.1	0.1	0.0	
162	Imazamethabenz methyl	43.3	41.2	49.5	25.9	4.8	1.4	0.2	
163	Imibenconazole	141.3	154.8	114.8	44.1	1.0	1.0	2.8	
164	Imibenconazole-des-be	20.4	8.9	1.4	0.7	0.2	0.5	0.7	
165	Iprobenfos	102.1	111.5	114.2	110.7	106.1	59.8	0.0	
166	Iprodione	105.0	117.4	121.1	114.9	106.0	17.6	0.0	
167	Isazophos	98.7	105.3	108.2	104.1	98.3	96.0	0.0	
168	Isofenphos	106.1	116.7	120.1	112.4	107.0	107.9	1.9	
169	Isofenphos P=O	105.8	117.5	113.4	79.0	7.7	0.2	0.1	
170	Isoprocarbe	100.4	98.3	108.1	83.3	94.2	46.2	0.3	
171	Isoprothiolane	96.2	105.5	109.6	104.3	98.0	65.0	0.0	
172	Isoxathion	93.8	108.0	111.9	103.3	95.0	89.5	0.6	
173	Isoxathion-ox	93.8	109.8	114.8	105.9	74.2	13.2	0.6	
174	Kresoxim-methyl	96.1	104.2	107.3	101.5	95.7	91.9	0.0	
175	Lenacil	58.6	55.5	64.0	38.4	9.4	0.0	0.0	
176	Malathion	100.0	109.8	113.5	107.5	103.3	99.4	0.5	
177	Mecarbam	97.0	101.9	106.6	102.6	96.9	99.0	0.4	
178	Mefenacet	103.4	114.9	118.3	112.6	100.2	5.4	0.0	
179	Mefenpyr-diethyl	100.0	109.6	113.4	109.1	102.1	96.3	0.0	
180	Mepronil	119.6	128.2	130.4	128.5	117.3	80.7	0.1	

# 平面構造夾雑物の多いサンプル

分取 0.5 mL (試料0.5g相当)

添加 水 0.2mL

Smart-SPE C18-30 mg : 精製

洗液 アセトニトリル-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 GCS-20/PSA-30 : 精製

溶出 アセトン-メタノール(15/75/10) 1mL

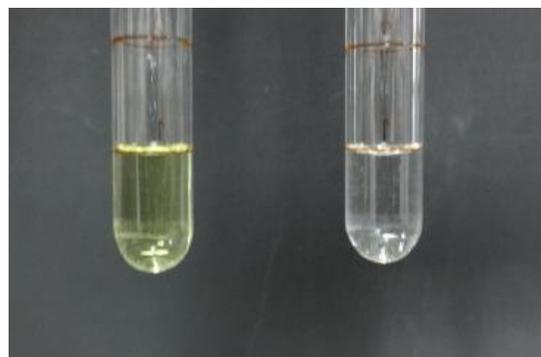
定容 (1 mL, アセトン-メタノールで調製)

GC/MS (大量注入25uL : 試料12.5mg相当)

GCSミニカートリッジによる色素除去の例

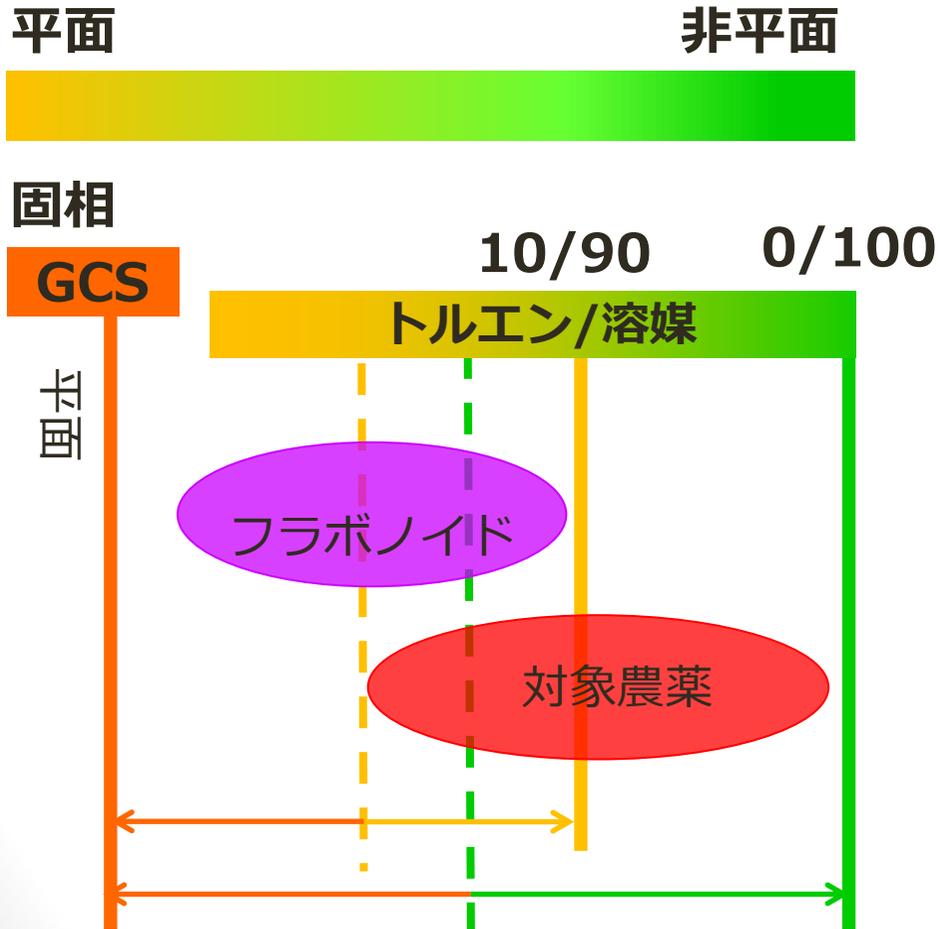


大麦若葉前処理後の固相ミニカートリッジ  
左) PLS3-10+PSA-30  
右) PLS3-10+GCS-20+PSA-30

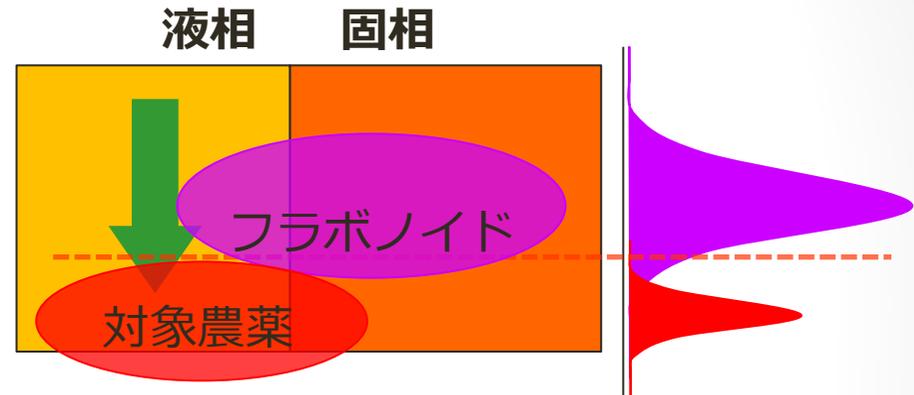


大麦若葉前処理後の最終試験液  
左) PLS3-10+PSA-30通液後  
右) PLS3-10+GCS-20+PSA-30通液後

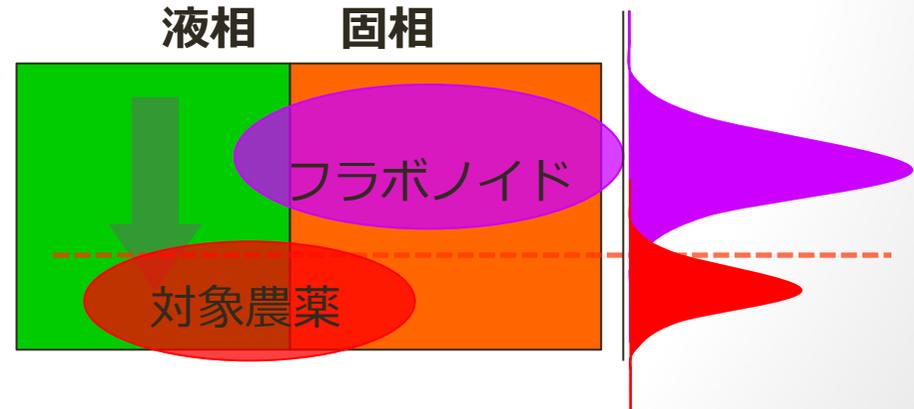
# 平面構造夾雑物の多いサンプル



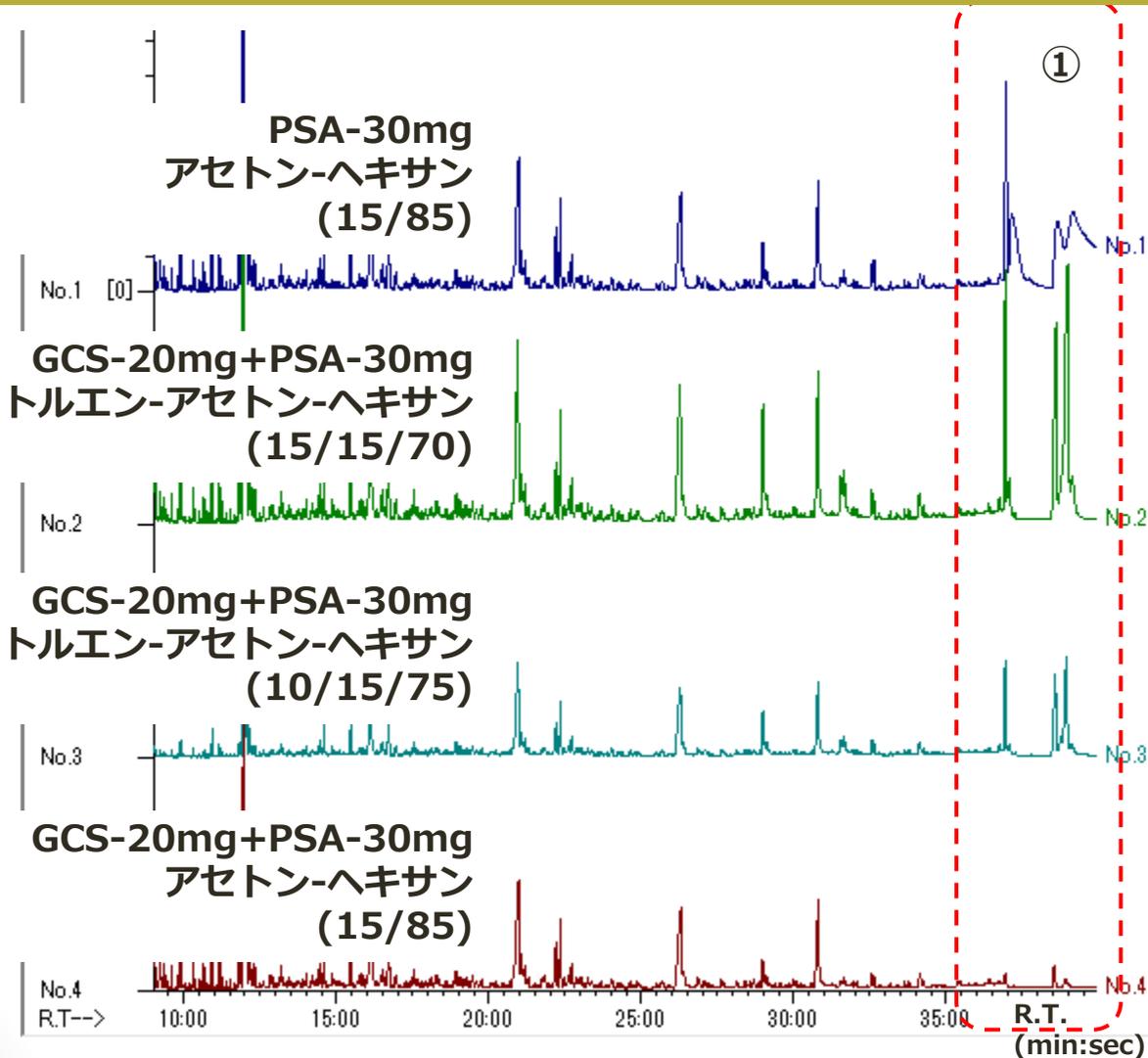
## □ トルエン/溶媒 (10/90)



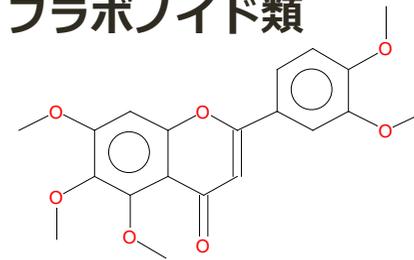
## □ トルエン/溶媒 (0/100)



# GCSによる色素の除去



## ① フラボノイド類



**GCS**  
グラファイトカーボン  
一次相互作用：平面構造、  
無極性

図3. オレンジを用いたGCS+PSAミニカートリッジと溶出溶媒アセトン-ヘキサンによるSCANトータルイオンクロマトグラム比較

# GCS+PSAによる溶出試験

番号	化合物名	溶出溶媒 トルエン-アセトン-ヘキサン比率			
		(20/15/65) (15/15/70) (10/15/75) (0/15/85)			
		20%	15%	10%	0%
91	Diclofop-methyl	97.7	95.2	97.2	93.8
92	Dicloran	80.4	83.8	53.4	18.4
93	Dicrotofos	LC	LC	LC	LC
94	Diethofencarb	88.2	86.0	84.9	74.8
95	Difenoconazole-1	98.1	96.7	100.7	91.4
96	Difenoconazole-2	102.4	98.9	101.0	97.7
97	Diflufenican	98.0	92.4	84.6	11.6
98	Dimepiperate	105.7	104.2	105.2	102.8
99	Dimethametryn	102.4	101.0	99.7	96.6
100	Dimethenamid	107.8	105.8	103.1	86.8
101	Dimethipin	LC	LC	LC	LC
102	Dimethoate	LC	LC	LC	LC
103	Dimethylvinphos-z	98.0	95.0	96.7	94.4
104	Dioxathion	115.4	109.2	111.7	110.5
105	Diphenamide	103.7	102.7	97.4	74.2
106	Disulfoton	118.4	117.8	113.5	109.3
107	Disulfoton sulfone	102.4	103.0	95.7	68.3
108	Edifenphos	106.2	101.8	103.8	104.9
109	Endosulfan	87.3	91.7	93.4	94.1
110	Endosulfan II	98.8	100.3	99.3	98.1
111	Endosulfan sulfate	106.3	107.0	104.7	108.0
112	EPN	112.2	98.4	112.1	103.8
113	Epoxiconazole	108.2	105.4	107.2	101.0
114	EPTC	121.7	187.7	45.0	49.6
115	Esprocarb	98.1	97.8	97.5	93.6
116	Ethalfuralin	111.0	112.5	100.3	98.7
117	Ethiofencarb	75.8	80.6	50.7	23.7
118	Ethion	106.5	105.1	108.8	104.6
119	Ethofumesate	101.7	99.9	100.1	91.4
120	Ethoprophos	117.7	113.6	99.4	91.4

番号	化合物名	溶出溶媒 トルエン-アセトン-ヘキサン比率			
		(20/15/65) (15/15/70) (10/15/75) (0/15/85)			
		20%	15%	10%	0%
121	Etofenprox	92.1	92.7	94.9	91.3
122	Etozazole	97.4	96.1	97.7	95.6
123	Etrinfos	105.5	103.7	101.1	94.8
124	Fenamidone	106.2	104.9	104.5	97.1
125	Fenamiphos	102.8	102.0	100.8	95.6
126	Fenarimol	103.0	101.7	104.0	98.5
127	Fenbuconazole	105.1	102.7	104.1	86.8
128	Fenchlorphos	95.4	95.9	99.4	95.8
129	Fenitrothion	105.8	104.6	105.8	100.8
130	Fenobucarb	110.9	107.0	98.7	76.4
131	Fenothiocarb	104.4	102.1	102.7	96.9
132	Fenoxanil	104.2	104.1	100.3	96.1
133	Fenpropathrin	97.6	94.9	97.4	94.3
134	Fenpropemorph	101.2	100.9	100.3	95.6
135	Fensulfothion	114.1	113.8	111.3	90.3
136	Fenthion	107.8	105.9	105.5	103.5
137	Fenvalerate-1	91.0	94.9	93.4	92.1
138	Fenvalerate-2	104.2	92.7	106.7	98.7
139	FIPRONIL	100.2	96.9	97.1	96.1
140	Flamprop-methyl	108.6	104.8	109.0	105.4
141	Fluacrypyrim	105.9	105.1	104.9	101.3
142	Flucythrinate-1	98.6	97.1	96.0	96.3
143	Flucythrinate-2	103.6	100.3	100.7	99.6
144	Fludioxonil	92.1	94.9	93.5	94.9
145	Flufenpyl-ethyl	108.4	106.5	105.6	99.3
146	Flumiclorac-pentyl	106.7	99.5	102.8	96.7
147	Flumioxazin	110.9	108.4	110.3	98.1
148	Fluquinconazole	105.6	102.7	103.4	95.7
149	Fluridone	96.6	92.6	89.2	42.3
150	Flusilazole	104.9	103.6	104.3	100.7

番号	化合物名	溶出溶媒 トルエン-アセトン-ヘキサン比率			
		(20/15/65) (15/15/70) (10/15/75) (0/15/85)			
		20%	15%	10%	0%
151	Fluthiacet-methyl	101.2	97.8	99.2	53.4
152	Flutolanil	105.3	105.2	105.3	98.3
153	Flutriafol	95.4	97.3	84.0	49.4
154	Fluvalinate-1	92.0	87.3	93.4	93.5
155	Fluvalinate-2	91.3	87.9	93.9	94.0
156	Formothion	LC	LC	LC	LC
157	Fosthiazate-1	86.0	90.4	66.9	37.3
158	Fosthiazate-2	88.5	91.7	70.4	42.1
159	Halfenprox	90.3	91.4	95.6	92.5
160	Hexaconazole	106.1	105.5	107.0	102.5
161	Hexazinone	LC	LC	LC	LC
162	Imazamethabenz methyl	39.6	41.1	25.3	13.3
163	Imibenconazole	103.0	91.3	87.4	23.0
164	Imibenconazole-des-	LC	LC	LC	LC
165	Iprobenfos	107.0	104.1	102.3	98.0
166	Iprodione	103.1	100.2	101.7	94.8
167	Isazophos	107.0	105.4	103.4	99.8
168	Isofenphos	101.8	100.5	101.7	98.4
169	Isofenphos P=O	107.6	105.8	105.4	97.6
170	Isoprocarbe	89.2	89.7	61.9	31.8
171	Isoprothiolane	109.3	105.3	106.3	101.6
172	Isoxathion	98.3	93.9	95.0	93.2
173	Isoxathion-ox	103.4	95.5	100.5	94.8
174	Kresoxim-methyl	105.4	103.1	103.2	100.0
175	Lenacil	59.1	63.9	40.8	22.3
176	Malathion	112.1	105.9	104.4	103.6
177	Mecarbam	105.5	101.2	102.1	97.9
178	Mefenacet	109.6	107.3	107.0	96.2
179	Mefenpyr-diethyl	111.2	106.4	108.3	102.7
180	Mepronil	112.1	108.5	108.4	99.8

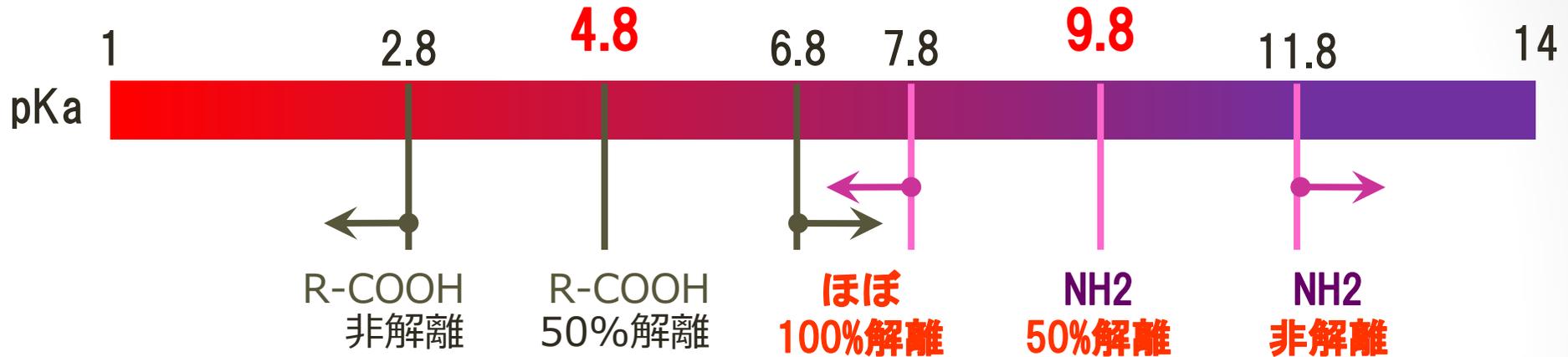
# 脂肪酸が多いサンプル



➤ 加工食品、玄米などは脂肪酸が多く、PSAだけでは精製が不十分となる場合がある。

➤ PSAのみで取り切れない脂肪酸を同じイオン交換系のSAXミニカートリッジにより除去。

# イオン交換相互作用



R-COOH  
pKa = 4.8 (pH4.8で50%解離)



弱陰イオン交換作用  
固相NH<sub>2</sub> (アミノプロピル)  
pKa=9.8 (pH9.8で50%解離)



弱陰イオン交換作用

PSA (第一級、第二級アミン)

pKa = 10.1、10.9

イオン交換容量 1.4 meq/g



オレイン酸 MW: 282.5

オレイン酸 1ミリ当量 = 282.5mg

オレイン酸 1.4ミリ当量 = 395.5mg (282.5mg × 1.4)

PSA-30mg = 11.8mg (395.5mg × 0.03g)

1mLで定容した場合の検液中濃度 = 1.2 %

参考図書：「最新固相抽出ガイドブック」

# SAX+PSAによる溶出試験

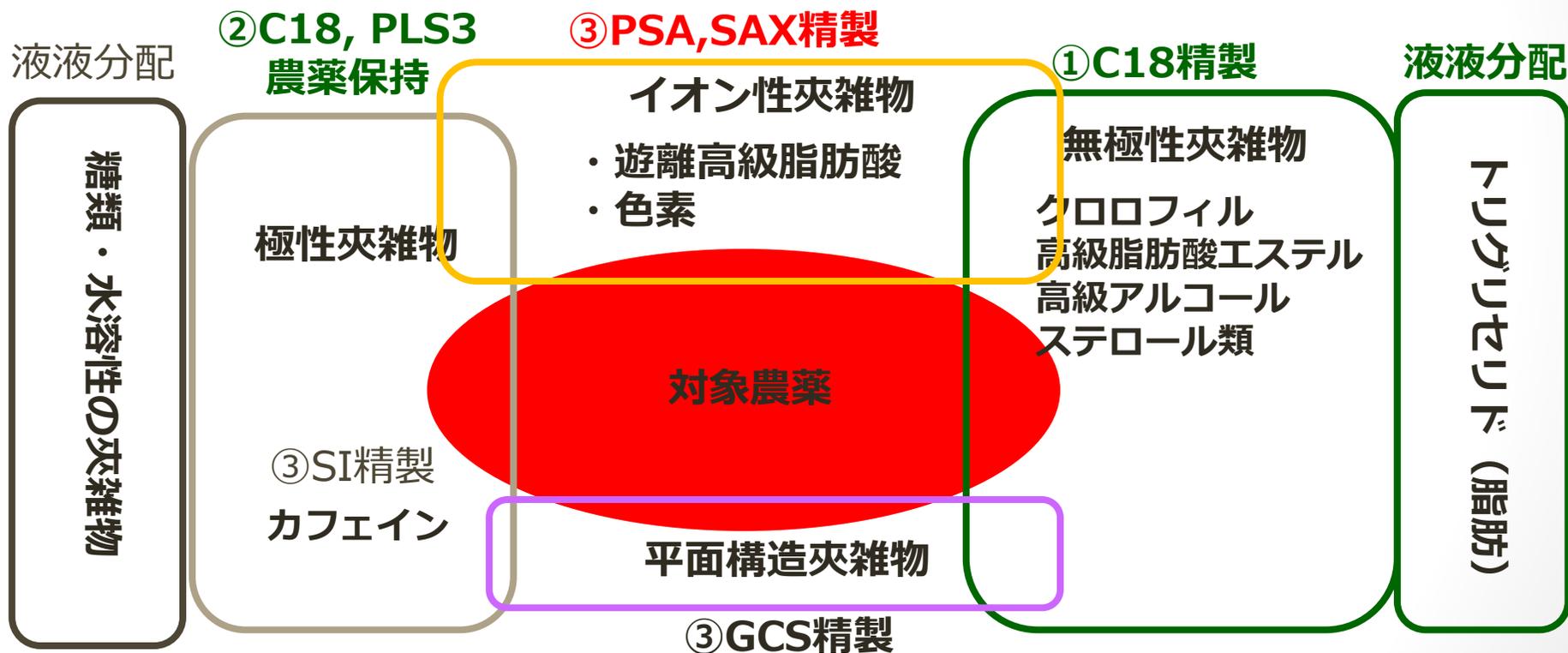
番号	化合物名	溶出溶媒 アセトン-ヘキサン比率						下(アセトン含有率)	
		(50/50)	(30/70)	(20/80)	(15/85)	(10/90)	(5/95)	(0/100)	0%
		50%	30%	20%	15%	10%	5%		
121	Etofenprox	103.9	101.1	104.9	103.8	93.3	98.7	0.0	
122	Etoxazole	98.6	92.2	93.2	88.7	77.4	80.9	0.0	
123	Etrimfos	107.0	104.3	111.2	107.9	102.8	106.4	0.0	
124	Fenamidone	112.7	111.0	117.2	88.6	9.3	0.3	0.0	
125	Fenamiphos	121.0	113.6	117.8	98.5	13.1	1.0	0.0	
126	Fenarimol	100.0	97.4	102.8	86.3	14.0	1.0	0.1	
127	Fenbuconazole	123.4	117.0	84.8	15.6	9.3	8.7	0.1	
128	Fenchlorphos	100.1	99.1	104.8	105.2	97.7	101.3	5.8	
129	Fenitrothion	109.5	106.9	115.5	117.1	108.9	89.0	0.1	
130	Fenobucarb	119.3	114.6	121.3	119.3	103.5	14.1	0.3	
131	Fenothiocarb	101.0	95.7	102.3	102.1	95.5	99.2	0.1	
132	Fenoxanil	106.1	103.0	107.1	110.4	55.6	0.8	0.4	
133	Fenpropathrin	105.6	103.8	109.3	108.9	98.2	101.1	0.0	
134	Fenpropemorph	105.0	102.0	107.6	105.6	98.9	100.7	0.1	
135	Fensulfothion	122.6	113.9	117.7	65.5	5.1	2.0	0.0	
136	Fenthion	103.8	103.4	112.8	113.5	104.2	106.8	0.1	
137	Fenvalerate-1	94.8	96.8	104.4	107.8	93.4	70.7	10.3	
138	Fenvalerate-2	137.7	127.2	124.7	118.1	100.2	65.5	2.3	
139	FIPRONIL	87.9	90.8	95.7	67.9	2.5	0.2	0.1	
140	Flamprop-methyl	103.3	100.5	107.8	110.1	95.9	11.6	0.1	
141	Fluacrypyrim	105.5	100.9	108.8	110.2	99.2	59.6	0.0	
142	Flucythrinate-1	107.1	106.0	110.7	110.9	92.1	3.8	0.0	
143	Flucythrinate-2	115.5	112.2	115.6	116.6	93.1	3.0	0.0	
144	Fludioxonil	87.4	89.7	93.0	100.0	91.8	90.2	0.2	
145	Flufenpyl-ethyl	111.7	107.4	114.8	115.0	102.6	30.5	0.0	
146	Flumiclorac-pentyl	121.9	122.4	129.1	131.1	104.1	14.5	0.3	
147	Flumioxazin	124.7	123.1	129.1	73.3	3.1	0.4	0.4	
148	Fluquinconazole	109.7	107.5	112.3	107.6	44.2	0.2	0.1	
149	Fluridone	112.9	97.2	42.8	1.1	0.0	0.1	0.1	
150	Flusilazole	107.6	102.7	109.4	93.9	16.7	0.4	0.2	

番号	化合物名	溶出溶媒 アセトン-ヘキサン比率						下(アセトン含有率)	
		(50/50)	(30/70)	(20/80)	(15/85)	(10/90)	(5/95)	(0/100)	0%
		50%	30%	20%	15%	10%	5%		
151	Fluthiacet-methyl	174.2	177.8	189.8	186.8	68.8	0.0	0.3	
152	Flutolanil	108.9	104.1	111.1	98.3	12.0	1.3	0.6	
153	Flutriafol	109.6	74.7	19.6	0.1	0.1	0.1	0.0	
154	Fluvalinate-1	96.3	98.9	107.5	108.9	94.4	26.0	0.0	
155	Fluvalinate-2	93.5	98.2	107.8	112.0	93.3	26.6	0.0	
156	Formothion	43.7	48.7	52.2	48.1	24.7	21.2	6.5	
157	Fosthiazate-1	90.0	92.1	97.3	91.9	43.3	0.0	0.5	
158	Fosthiazate-2	99.0	93.5	96.7	93.1	49.9	7.6	0.2	
159	Halfenprox	100.5	97.7	101.1	100.2	87.5	91.7	0.0	
160	Hexaconazole	110.4	108.6	103.8	47.1	3.0	0.4	0.6	
161	Hexazinone	39.6	34.8	32.7	18.5	8.6	3.6	0.1	
162	Imazamethabenz methyl	49.9	44.4	42.1	19.5	2.0	1.4	0.4	
163	Imibenconazole	175.9	176.8	176.3	91.9	7.7	0.0	0.0	
164	Imibenconazole-des-b	25.1	12.8	1.5	0.3	0.0	0.4	0.9	
165	Iprobenfos	113.6	110.0	117.5	115.6	105.5	103.8	0.0	
166	Iprodione	111.3	112.1	118.0	117.5	94.4	6.4	0.0	
167	Isazophos	104.2	101.4	107.3	107.0	98.7	102.3	0.2	
168	Isofenphos	108.6	104.3	111.9	111.2	105.4	101.0	0.5	
169	Isofenphos P=O	114.4	110.2	118.2	111.1	38.7	0.4	0.0	
170	Isoprocarbe	101.0	95.0	97.0	90.5	69.5	5.1	0.1	
171	Isoprothiolane	101.7	100.5	108.0	111.6	96.1	22.7	0.3	
172	Isoxathion	112.1	103.4	108.4	112.8	96.7	82.0	0.2	
173	Isoxathion-ox	128.4	120.3	131.7	135.2	85.4	9.3	4.1	
174	Kresoxim-methyl	103.3	99.0	105.1	103.4	94.3	72.9	0.0	
175	Lenacil	65.5	60.4	57.8	35.5	1.6	2.0	1.2	
176	Malathion	106.2	103.7	110.5	111.9	103.2	89.6	0.1	
177	Mecarbam	99.9	96.9	102.9	99.9	98.9	91.7	1.5	
178	Mefenacet	113.3	112.3	115.7	112.8	81.0	1.8	0.0	
179	Mefenpyr-diethyl	109.0	106.0	111.9	114.0	102.3	93.6	0.0	
180	Mepronil	117.0	111.8	115.3	116.9	85.4	1.8	1.1	

# GC-B法による夾雑除去イメージ

親水性（極性）

疎水性（無極性）



# 抽出液量が少ないサンプル

大豆 においては同じ試料でも操作の違いによりアセトニトリル層の量が異なる場合がある。

## ★アセトニトリル層の量を多くするためのコツ

1. **セラミックホモジナイザー**と食塩とクエン酸類を入れた後、**15秒間、振とう**する。
2. **無水硫酸マグネシウム**を入れ、**2分間、強く振とう**する。
3. **5分程放置**して、その後に遠心分離機にかける。



セラミック  
ホモジナイザー

# 抽出液量が少ないサンプル

試料 10 g

- 水 (10-試料中水分量)mL
- アセトニトリル 10mL

ホモジナイズ・振とう

- 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
- 無水硫酸マグネシウム 4g

振とう (液液分配)

遠心分離 ( 3500rpm 5分間 )

①アセトニトリル層 残さ (試料層・水層)

定容 15 mL (アセトニトリルで調整)

繰り返し抽出

追加 アセトニトリル 5mL

振とう (液液分配)

遠心分離 ( 3500rpm 5分間 )

②アセトニトリル層 残さ (試料層・水層)

# 前処理(精製)

## ★ GC対象農薬

抽出液 1.5 mL + 水 0.5 mL

≪ 自動前処理装置 ≫

分取 1 mL (試料 : 0.5 g 相当)

Smart-SPE C18-30 mg : 精製

洗液 アセトリル-水 (4/1) 1mL

下液

混液 10%食塩水 20mL

Smart-SPE C18-50mg : 保持

乾燥 (窒素ガス)

連結 Smart-SPE PSA-30mg : 精製

溶出 アセト-ヘキソ (15/85) 1mL

フィソントリド体 + 0.1%PEG(300)/アセト 20uL

定容 1 mL (アセト-ヘキソで調製)

GC/MS, GC-MS/MS (大量注入25 uL, 試料 : 12.5mg相当)



自動前処理装置 : ST-L300 (AiSTI SCIENCE)

## ★ LC対象農薬

≪ 自動前処理装置 ≫

分取 1.5 mL (試料 : 1 g 相当)

Smart-SPE C18-30 mg + PSA-30mg : 精製

洗液 メタノール 0.5mL

下液

混液 水 1 mL

Smart-SPE C18-50mg : 精製

洗液 メタノール-水 (4/1) 1mL

下液

定容 4 mL (水で調製)

LC-MS/MS (注入5 uL, 試料 : 1.25mg相当)

# 定容量について(操作性)

表 1回目の抽出液量と2回目に追加したアセトニトリル量

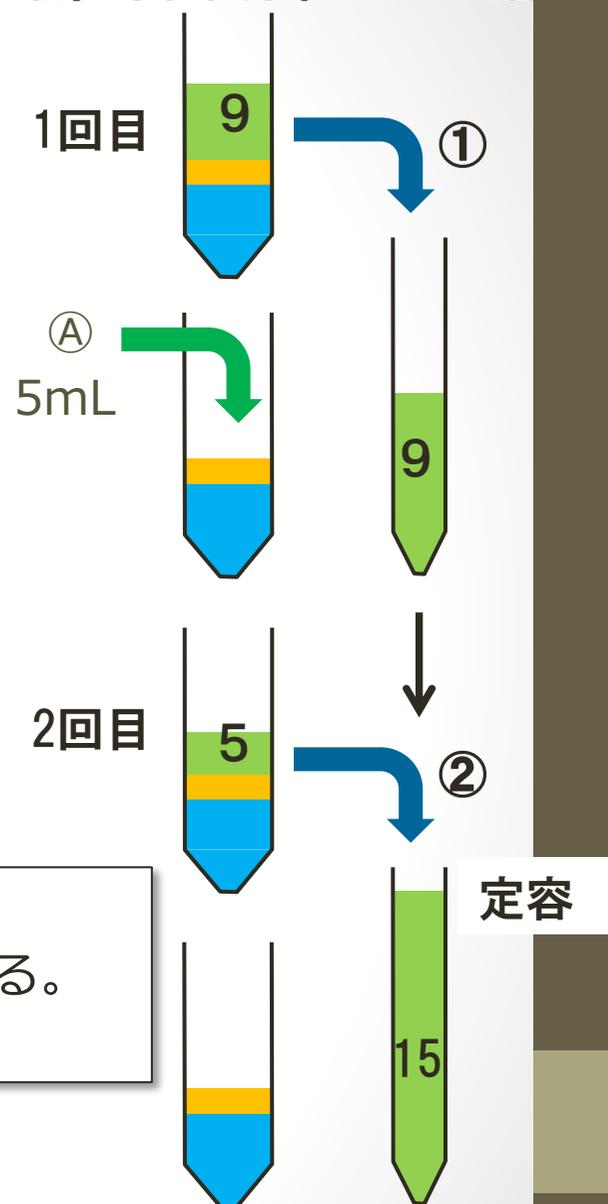
作物		ほうれん草・玄米	大豆
1回目抽出液量		9	5.5～6.5
2回目に追加したアセトニトリル量	定容量	10	4～3
	15	5	8.5～7.5
	20	10	13～12

単位: mL

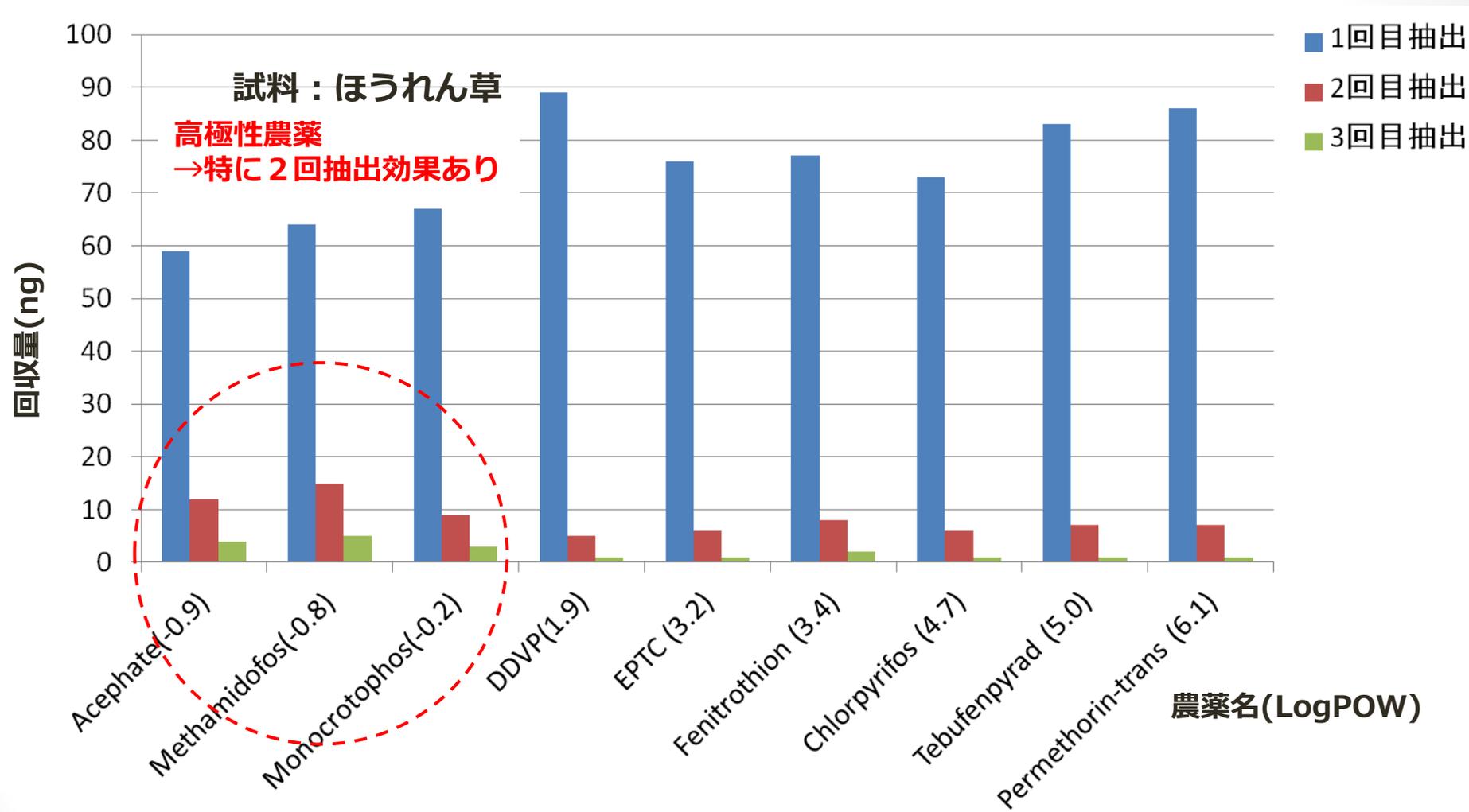
①追加アセトニトリル量 = 定容量 - ①1回目抽出液量

- ◆ 10mL定容では2回目に抽出するときの液量が少ない。
- ◆ 20mL定容では希釈率が上がるため、定量限界が懸念される。
- ◆ 15mL定容が妥当であると判断。

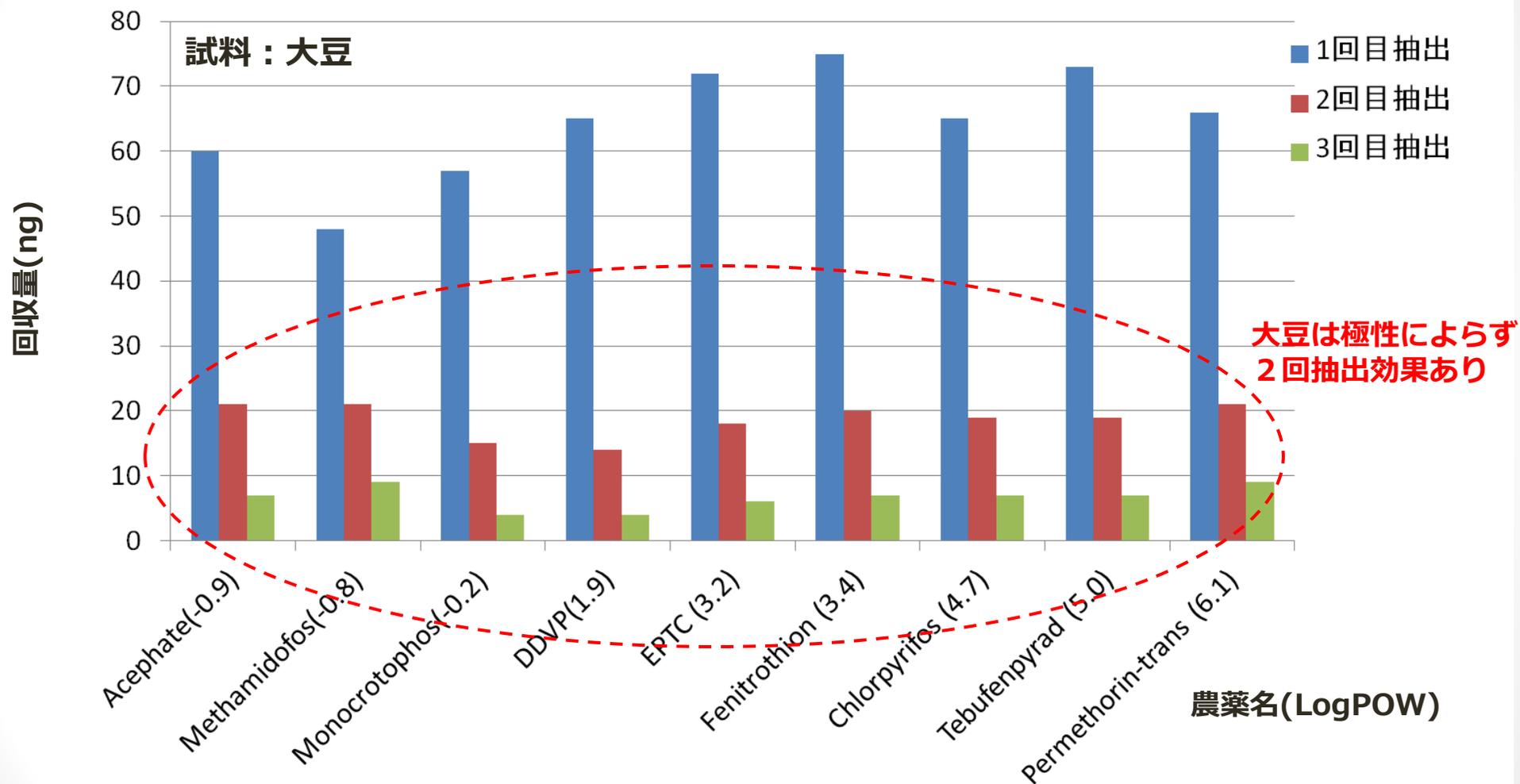
例) ほうれん草 15mL定容



# 抽出回数と回収量について



# 抽出回数と回収量について



# 加工食品中マラチオン分析

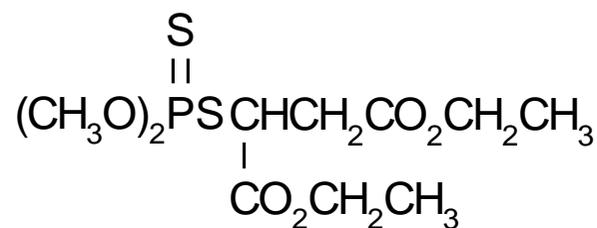
Malathion : マラチオン (マラソン)

分子式 C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>O<sub>6</sub>PS<sub>2</sub>

分子量 330.3

沸点 156-157°C/0.7mmHg

LogPow 2.75



2013年末に冷凍食品中から高濃度で検出されて問題となった。

冷凍食品には残留基準が設定されておらず、

弊社では添加濃度を一律基準（0.01ppm）に設定して添加回収試験を行った。

# 加工食品中マラチオン分析

試料 5g + 水 8mL

※添加水量は試料含水量によって調節する。

— アセトン 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

MgSO<sub>4</sub> (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 (3500rpm 5分間)

アセトン層 (冷凍60分)



クリームコロッケ



からあげ



ピザ

添加濃度 : 0.01ppm

# C18による溶出試験

No.	化合物名	(上)添加水量 (下) 溶出溶媒比率 アセトリル/水						備考	No.	化合物名	(上)添加水量 (下) 溶出溶媒比率 アセトリル/水						備考
		0.2 mL		0.3 mL		0.5 mL					0.3 mL		0.5 mL		1 mL		
		100%	80%	75%	66%	50%	33%				100%	80%	75%	66%	50%	33%	
121	Etoazole	89.7	96.5	108.6	91.5	7.8	0.2		151	Flutolanil	92.9	97.0	101.0	94.2	95.5	38.1	
122	Etrimfos	86.6	92.7	99.1	89.9	95.7	6.2		152	Flutriafol	57.4	64.3	68.1	55.5	64.6	68.8	
123	Fenamidone	107.3	100.5	105.0	105.4	106.9	84.9		153	Fluvalinate-1	96.3	97.1	104.1	55.7	0.5	0.5	
124	Fenamiphos	63.8	83.0	81.5	73.2	70.4	43.9		154	Fluvalinate-2	91.9	95.5	101.4	52.5	0.5	0.1	
125	Fenarimol	78.4	85.3	93.8	82.7	87.2	75.8		155	Formothion	62.4	70.0	72.7	65.4	66.8	70.4	
126	Fenbuconazole	71.0	82.8	92.5	80.8	81.1	28.3		156	Fosthiazate-1	83.5	87.0	89.8	77.4	88.9	93.6	
127	Fenchlorphos	86.6	95.1	102.8	90.6	42.3	0.1		157	Fosthiazate-2	77.9	87.2	88.3	74.0	85.5	93.1	
128	Fenitrothion	94.6	106.8	110.6	106.2	106.6	32.7		158	Halfenprox	100.8	92.8	82.5	17.7	1.4	1.2	
129	Fenobucarb	89.0	90.2	93.9	84.3	92.5	92.4		159	Hexaconazole	80.7	91.6	95.7	86.0	89.7	36.6	
130	Fenothiocarb	94.2	101.6	106.2	96.2	95.7	31.1		160	Hexazinone	33.4	39.0	42.3	38.3	51.5	63.6	
131	Fenoxanil	102.8	104.6	109.9	103.5	103.0	13.8		161	Imazamethabenz methyl	42.1	51.3	54.3	45.5	58.0	64.8	
132	Fenpropathrin	113.4	102.3	109.1	92.9	0.5	0.6		162	Imibenconazole	62.5	74.8	94.5	79.9	52.9	0.5	
133	Fenpropemorph	87.1	95.6	97.1	76.7	1.2	0.8		163	Imibenconazole-des-be	18.6	27.2	31.7	27.2	32.1	35.5	
134	Fensulfthion	100.4	98.9	103.4	93.3	91.9	90.2		164	Iprobenfos	72.0	100.6	106.2	95.0	98.4	48.5	
135	Fenthion	62.0	68.8	70.6	61.8	62.4	1.2		165	Iprodione	89.6	102.4	105.2	93.1	97.3	48.5	
136	Fenvalerate-1	87.4	96.8	102.1	68.3	2.0	0.9		166	Isazophos	90.1	91.4	98.2	92.6	99.4	26.0	
137	Fenvalerate-2	117.5	99.1	112.7	149.8	145.1	208.4		167	Isofenphos	63.6	89.2	99.4	89.2	85.0	0.0	
138	FIPRONIL	87.2	95.2	98.3	95.2	93.2	3.8		168	Isofenphos P=O	87.1	105.8	105.0	96.9	101.0	96.6	
139	Flamprop-methyl	96.2	100.6	102.8	94.9	103.0	63.5		169	Isoprocarbe	79.4	84.0	85.5	74.1	87.0	88.7	
140	Fluacrypyrim	83.0	105.9	112.9	98.4	91.1	0.0		170	Isoprothiolane	105.5	107.8	109.1	100.2	104.2	62.7	
141	Flucythrinate-1	99.8	98.8	110.3	81.9	1.1	0.4		171	Isoxathion	98.1	100.4	111.6	102.2	84.5	0.7	
142	Flucythrinate-2	107.4	100.1	111.5	84.9	0.5	0.2		172	Isoxathion-ox	101.6	94.1	106.5	106.9	102.0	91.9	
143	Fludioxonil	35.1	46.6	51.6	41.5	47.4	45.0		173	Kresoxim-methyl	87.9	96.2	101.1	92.6	96.7	10.0	
144	Flufenpyl-ethyl	97.1	102.0	107.7	96.2	102.2	16.3		174	Benazil	59.5	84.8	88.8	59.2	88.8	71.1	
145	Flumiclorac-pentyl	89.9	93.3	101.5	87.9	47.0	0.0		175	Malathion	98.2	103.7	104.8	99.4	104.0	51.6	
146	Flumioxazin	81.7	82.0	94.2	80.5	84.1	81.2		176	Mecarbam	88.6	92.6	104.5	91.8	101.4	23.2	
147	Fluquinconazole	93.7	99.1	107.2	95.8	97.4	69.5		177	Mefenacet	102.3	104.5	109.7	98.0	100.3	84.1	
148	Fluridone	51.6	57.2	65.1	54.7	60.5	56.1		178	Mefenpyr-diethyl	89.9	102.6	108.4	96.1	98.6	1.2	
149	Flusilazole	77.6	94.7	100.4	88.7	93.3	27.8		179	Mepronil	91.8	91.6	96.7	94.5	104.4	56.5	
150	Fluthiacet-methyl	75.0	76.6	89.3	79.2	83.1	13.9		180	Metalaxyl	75.9	83.6	85.4	68.4	78.3	87.7	

# PLS3による溶出試験

No.	化合物名	(上) 添加水量					LogPow	No.	化合物名	(下) 溶媒比率 アセトニル/水					LogPow
		1 mL	2 mL	4 mL	10 mL	20 mL				1 mL	2 mL	4 mL	10 mL	20 mL	
		48%	35%	22%	11%	6%				48%	35%	22%	11%	6%	
121	Etoazole	35.7	68.9	88.1	86.2	80.8		151	Flutolanil	11.4	38.3	78.5	100.9	95.1	
122	Etrinfos	13.6	36.7	85.6	101.3	100.1		152	Flutriafol	2.7	5.2	13.1	61.5	62.4	
123	Fenamidone	11.9	37.1	85.6	123.6	115.5		153	Fluvalinate-1	81.0	83.2	46.1	15.7	5.2	
124	Fenamiphos	1.6	7.2	25.0	76.9	79.9		154	Fluvalinate-2	82.1	82.7	45.5	15.5	5.3	
125	Fenarimol	8.1	25.3	61.7	95.5	90.7		155	Formothion	8.5	15.8	23.1	55.9	67.5	
126	Fenbuconazole	10.4	36.9	72.8	90.2	85.7		156	Fosthiazate-1	2.9	5.5	14.3	52.8	75.4	
127	Fenchlorphos	39.9	70.6	92.8	91.1	90.9		157	Fosthiazate-2	2.3	5.2	11.1	52.0	71.7	
128	Fenitrothion	15.6	40.1	86.3	96.2	97.7		158	Halfenprox	88.6	88.5	34.5	10.3	3.3	
129	Fenobucarb	5.6	10.4	36.6	88.6	90.1		159	Hexaconazole	8.0	21.0	62.8	97.9	93.2	
130	Fenothiocarb	15.0	37.4	85.0	100.1	98.2		160	Hexazinone	0.6	0.4	0.7	13.5	28.5	
131	Fenoxanil	11.7	36.4	82.5	101.4	93.7		161	Imazamethabenz methyl	1.6	1.3	3.2	21.8	42.0	
132	Fenpropathrin	62.6	84.0	87.2	73.1	48.8		162	Imibenconazole	36.3	84.1	86.1	93.7	79.1	
133	Fenpropemorph	3.1	13.4	26.5	94.1	95.9		163	Imibenconazole-des-benzyl	0.5	0.9	0.5	11.5	22.3	
134	Fensulfothion	4.2	6.4	24.6	96.4	97.9		164	Iprobenfos	6.4	14.1	65.9	97.3	97.7	
135	Fenthion	11.7	40.9	65.4	86.6	87.0		165	Iprodione	11.2	31.3	81.6	103.8	98.7	
136	Fenvalerate-1	74.5	79.1	59.0	29.8	12.3	5	166	Isazophos	9.2	26.5	76.2	97.7	95.3	
137	Fenvalerate-2	75.8	79.0	59.8	33.1	14.8	5	167	Isofenphos	13.5	46.3	86.2	92.4	93.5	
138	FIPRONIL	11.6	46.5	84.7	98.5	94.7		168	Isofenphos P=O	4.2	8.0	30.9	95.1	97.4	
139	Flamprop-methyl	9.2	24.6	78.0	101.5	98.8		169	Isoprocarbe	4.1	6.3	19.1	64.4	75.2	
140	Fluacrypyrim	17.6	58.1	99.6	103.5	102.4		170	Isoprothiolane	13.0	26.6	74.5	101.2	104.7	
141	Flucythrinate-1	68.1	83.4	75.2	43.8	20.1	4.7	171	Isoxathion	27.9	55.4	87.2	97.9	97.6	
142	Flucythrinate-2	67.4	85.6	76.9	45.6	21.2	4.7	172	Isoxathion-ox	1.8	7.7	54.2	97.7	98.8	
143	Fludioxonil	4.4	15.7	35.9	54.8	46.6		173	Kresoxim-methyl	15.4	42.3	88.2	99.0	96.5	
144	Flufenpyl-ethyl	11.7	36.8	88.0	106.4	104.2		174	Lenacil	2.0	4.0	7.9	44.0	39.7	
145	Flumiclorac-pentyl	42.2	78.5	95.3	99.7	93.9		175	Malathion	7.5	21.8	75.3	97.1	95.3	
146	Flumioxazin	6.8	22.0	59.7	92.7	87.7		176	Mecarbam	12.1	33.0	84.0	104.0	98.9	
147	Fluquinconazole	11.9	36.1	79.3	109.7	104.0		177	Mefenacet	11.1	31.6	76.7	108.4	102.2	
148	Fluridone	5.4	12.9	33.2	58.6	54.9		178	Mefenpyr-diethyl	18.2	51.6	96.2	106.7	103.3	
149	Flusilazole	8.3	28.2	79.4	100.5	97.2		179	Mepronil	13.7	42.6	90.4	116.9	111.3	
150	Fluthiacet-methyl	18.2	53.3	81.3	94.6	90.7		180	Metalaxyl	1.9	2.7	8.8	50.1	69.7	

# SAX+PSAによる溶出試験

番号	化合物名	溶出溶媒 アセトン-ヘキサン比率						下(アセトン含有率)		
		(50/50)	(30/70)	(20/80)	(15/85)	(10/90)	(5/95)	(0/100)	5%	0%
		50%	30%	20%	15%	10%	5%	0%		
121	Etofenprox	103.9	101.1	104.9	103.8	93.3	98.7	0.0		
122	Etoxazole	98.6	92.2	93.2	88.7	77.4	80.9	0.0		
123	Etrimfos	107.0	104.3	111.2	107.9	102.8	106.4	0.0		
124	Fenamidone	112.7	111.0	117.2	88.6	9.3	0.3	0.0		
125	Fenamiphos	121.0	113.6	117.8	98.5	13.1	1.0	0.0		
126	Fenarimol	100.0	97.4	102.8	86.3	14.0	1.0	0.1		
127	Fenbuconazole	123.4	117.0	84.8	15.6	9.3	8.7	0.1		
128	Fenchlorphos	100.1	99.1	104.8	105.2	97.7	101.3	5.8		
129	Fenitrothion	109.5	106.9	115.5	117.1	108.9	89.0	0.1		
130	Fenobucarb	119.3	114.6	121.3	119.3	103.5	14.1	0.3		
131	Fenothiocarb	101.0	95.7	102.3	102.1	95.5	99.2	0.1		
132	Fenoxanil	106.1	103.0	107.1	110.4	55.6	0.8	0.4		
133	Fenpropathrin	105.6	103.8	109.3	108.9	98.2	101.1	0.0		
134	Fenpropemorph	105.0	102.0	107.6	105.6	98.9	100.7	0.1		
135	Fensulfothion	122.6	113.9	117.7	65.5	5.1	2.0	0.0		
136	Fenthion	103.8	103.4	112.8	113.5	104.2	106.8	0.1		
137	Fenvalerate-1	94.8	96.8	104.4	107.8	93.4	70.7	10.3		
138	Fenvalerate-2	137.7	127.2	124.7	118.1	100.2	65.5	2.3		
139	FIPRONIL	87.9	90.8	95.7	67.9	2.5	0.2	0.1		
140	Flamprop-methyl	103.3	100.5	107.8	110.1	95.9	11.6	0.1		
141	Fluacrypyrim	105.5	100.9	108.8	110.2	99.2	59.6	0.0		
142	Flucythrinate-1	107.1	106.0	110.7	110.9	92.1	3.8	0.0		
143	Flucythrinate-2	115.5	112.2	115.6	116.6	93.1	3.0	0.0		
144	Fludioxonil	87.4	89.7	93.0	100.0	91.8	90.2	0.2		
145	Flufenpyl-ethyl	111.7	107.4	114.8	115.0	102.6	30.5	0.0		
146	Flumiclorac-pentyl	121.9	122.4	129.1	131.1	104.1	14.5	0.3		
147	Flumioxazin	124.7	123.1	129.1	73.3	3.1	0.4	0.4		
148	Fluquinconazole	109.7	107.5	112.3	107.6	44.2	0.2	0.1		
149	Fluridone	112.9	97.2	42.8	1.1	0.0	0.1	0.1		
150	Flusilazole	107.6	102.7	109.4	93.9	16.7	0.4	0.2		

番号	化合物名	溶出溶媒 アセトン-ヘキサン比率						下(アセトン含有率)		
		(50/50)	(30/70)	(20/80)	(15/85)	(10/90)	(5/95)	(0/100)	5%	0%
		50%	30%	20%	15%	10%	5%	0%		
151	Fluthiacet-methyl	174.2	177.8	189.8	186.8	68.8	0.0	0.3		
152	Flutolanil	108.9	104.1	111.1	98.3	12.0	1.3	0.6		
153	Flutriafol	109.6	74.7	19.6	0.1	0.1	0.1	0.0		
154	Fluvalinate-1	96.3	98.9	107.5	108.3	94.4	26.0	0.0		
155	Fluvalinate-2	93.5	98.2	107.8	112.4	93.3	26.6	0.0		
156	Formothion	43.7	48.7	52.2	48.1	24.7	21.2	6.5		
157	Fosthiazate-1	90.0	92.1	97.3	91.3	43.3	0.0	0.5		
158	Fosthiazate-2	99.0	93.5	96.7	93.1	49.9	7.6	0.2		
159	Halfenprox	100.5	97.7	101.1	100.3	87.5	91.7	0.0		
160	Hexaconazole	110.4	108.6	103.8	47.1	3.0	0.4	0.6		
161	Hexazinone	39.6	34.8	32.7	18.5	8.6	3.6	0.1		
162	Imazamethabenz methyl	49.9	44.4	42.1	19.1	2.0	1.4	0.4		
163	Imibenconazole	175.9	176.8	176.3	91.3	7.7	0.0	0.0		
164	Imibenconazole-des-b	25.1	12.8	1.5	0.1	0.0	0.4	0.9		
165	Iprobenfos	113.6	110.0	117.5	115.1	105.5	103.8	0.0		
166	Iprodione	111.3	112.1	118.0	117.1	94.4	6.4	0.0		
167	Isazophos	104.2	101.4	107.3	107.0	98.7	102.3	0.2		
168	Isofenphos	108.6	104.3	111.9	111.1	105.4	101.0	0.5		
169	Isofenphos P=O	114.4	110.2	118.2	111.1	38.7	0.4	0.0		
170	Isoprocarbe	101.0	95.0	97.0	90.3	69.5	5.1	0.1		
171	Isoprothiolane	101.7	100.5	108.0	111.1	96.1	22.7	0.3		
172	Isoxathion	112.1	103.4	108.4	112.1	96.7	82.0	0.2		
173	Isoxathion-ox	128.4	120.3	131.7	135.1	85.4	9.3	4.1		
174	Kresoxim-methyl	103.3	99.0	105.1	103.3	94.3	72.9	0.0		
175	Lenacil	65.5	60.4	57.8	35.1	1.6	2.0	1.2		
176	Malathion	106.2	103.7	110.5	111.1	103.2	89.6	0.1		
177	Mecarbam	99.9	99.9	102.9	99.9	99.9	99.9	1.0		
178	Mefenacet	113.3	112.3	115.7	112.3	81.0	1.8	0.0		
179	Mefenpyr-diethyl	109.0	106.0	111.9	114.0	102.3	93.6	0.0		
180	Mepronil	117.0	111.8	115.3	116.1	85.4	1.8	1.1		

# 加工食品中マラチオンの精製



分取 試料0.5 mL (試料0.25g相当)

— 添加 アセトリル-水(1/1)

**C18-30 mg : 精製**

— 洗液 アセトリル-水(1/1) 1mL

流出液

— 超純水 20mL

**C18-50mg : 保持**

乾燥 : 3分

**連結 SAX-30mg + PSA-30 : 精製**

— 溶出 アセト/ヘキサン (10/90) 1mL

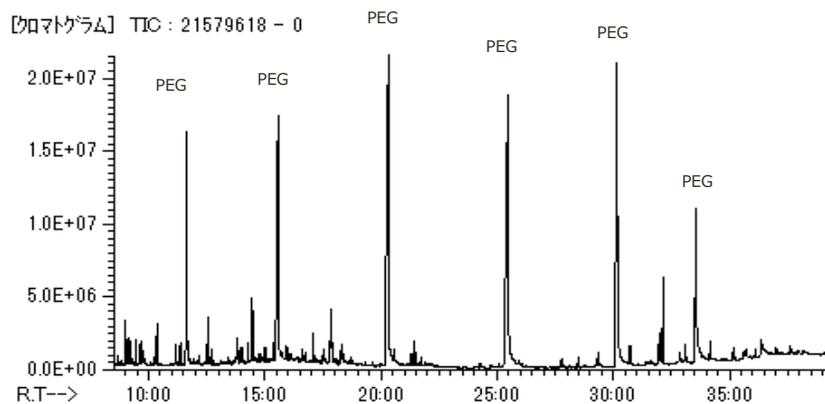
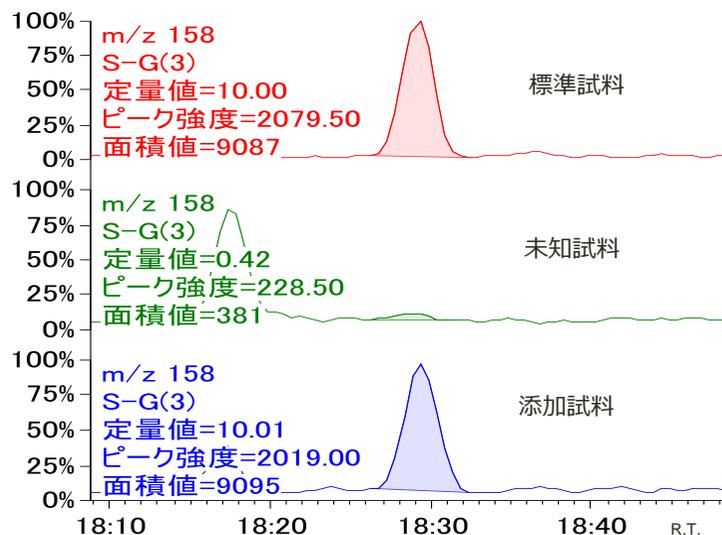
定容 (1 mL, アセト/ヘキサンで調製)

GC/MS (大量注入25uL : 試料12.5mg相当)

# クロマトグラムと添加回収試験結果

定量クロマトグラム(試料中 0.01ppm)

SCANクロマトグラム



## 結果

	ピザ	から揚げ	コロッケ
回収率(%)	110.4	95.9	96.0