

STQ法（残留農薬一斉分析法）における抽出溶媒量の検討

○小西賢治、島三記絵、佐々野僚一、斎藤勲
株式会社アイスティサイエンス

【目的】食品中残留農薬分析STQ法の抽出操作において、大豆を分析試料に用いたところ遠心分離後の試料層が多く、回収される上清アセトニトリル量が不十分だった。そのため遠心分離後の上清アセトニトリル層を採った後、残渣にアセトニトリルを添加して再度抽出遠心分離を行う繰り返し抽出分析法を報告した¹⁾。繰り返し抽出することで抽出効率、定量性の向上は見られたが、作業手順が複雑になり時間がかかった。そこで抽出溶媒量を増やすことにより一回の抽出で農薬の回収率が向上すると考え、本研究ではアセトニトリルを従来の10mLから15mLに増加して従来法との比較検討を行った。

【方法】試料：ほうれん草、大豆
標準液：PL2005農薬MIX I～VI、7（林純薬工業株式会社）を混合し2mg/Lに希釈したものを使用、添加濃度：バイアル中0.005mg/Lとなるよう調整した、手順：多段階添加回収試験による添加回収率の評価を行った。

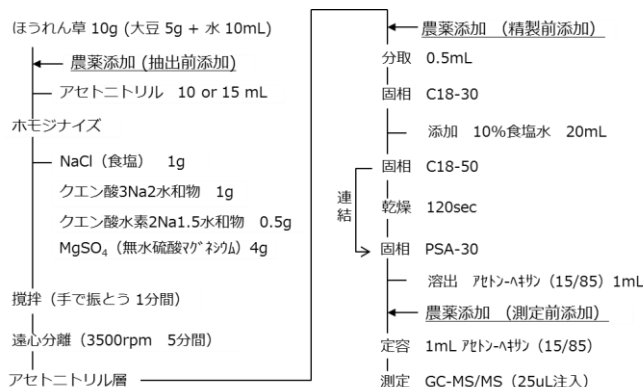


図1 STQ法に於ける多段階添加回収試験

【結果および考察】ほうれん草試料において、抽出溶媒量を15mLに増やすことで349成分中32成分の回収率が5%以上改善した。大豆試料では349成分中32成分で5%以上の回収率の向上が見られた。そのうち52成分は10%以上回収率が向上した。大豆では、複数の農薬で精製前添加の回収率が抽出前添加に比べて20%以上高く、それらの農薬はLogPow>4と脂溶性が高かった。分析試料の成分含有量（表1）を比較すると大豆は脂質が多く、脂質-アセトニトリルで農薬の分配がおこりアセトニトリルに回収された絶対量が少なかったのではないかと推測された。

	大豆 5g	ほうれん草 10g
水分	0.62g	9.24g
たんぱく質	1.69g	0.22g
脂質	0.99g	0.04g
炭水化物	1.48g	0.31g
灰分	0.24g	0.17g

表1 分析試料の成分含有量

農薬毎の分配比率は一定のため、抽出溶媒量を増やすことでアセトニトリルに分配する絶対量が増え回収率が向上したと考えられる。結果としてほうれん草：323/349成分、大豆：319/349成分で70-120%の回収率が得られた。今後は他食品での添加回収試験や、実際に農薬が残留している試料を用いての評価を行いたい。

1) 佐々野ら、日本食品衛生学会第105回学術講演会要旨集

A-17

STQ法（残留農薬一斉分析法）における 抽出溶媒量の検討



株式会社アイスティサイエンス

○小西賢治、島三記絵、佐々野僚一、斎藤勲

Beyond your Imagination

目的

これまで

- 試料によっては抽出段階で回収が不足している成分が見られた。
- 2回抽出を行うことで、抽出効率、定量性の向上は見られたが作業手順が煩雑になった。

そこで

- 抽出溶媒量を増やすことで農薬の回収率が向上すると考えた。
- 抽出溶媒アセトニトリルを従来の10mLから15mLに増加させて従来法との検討比較を行った。

抽出溶媒量を増やすメリット

- 抽出溶媒量を15mLとした時、
最大で10%程度、回収率の向上が期待できる。
- 特に回収率が65-70%未満の化合物は、
5~10%向上するため妥当性評価基準範囲内に入る。
- 試料によっては遠心分離後の抽出液量が少ない場合があるが、
抽出溶媒量を15mLとすることで、十分な量の抽出液量が得られる。

デメリット

- 抽出溶媒量を増やすほどこの効果は高まるが、20mL以上になるとホモジナイズ時にあふれる、振とう時に混ざりにくいなど操作上の難点があった。

前処理フロー（抽出）

試料 10g (穀類 5g + 水 10mL)

— アセトニトリル 15mL

ホモジナイズ (13000rpm 1分間)

— 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

— 攪拌 (手で振とう 1分間)

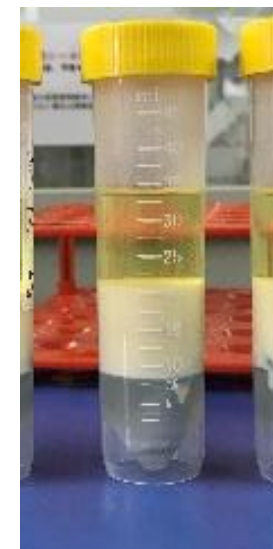
— 遠心分離 (3500rpm 5分間)

— アセトニトリル層

— 固相抽出 (精製)

試料	試料量(g)	水添加量(mL)
ほうれん草	10	0
甘夏	10	0
大豆	5	10
茶葉	2	10

分析に用いた試料量と水分添加量



遠心分離後の抽出液量 (大豆)
左)10mL 右)15mL

前処理フロー（精製）

遠心分離上清（アセトニトリル層）※

※10mL抽出法の場合、抽出液2mL+アセトニトリル1mLで希釈したものを自動前処理装置にセットし前処理を行った。

GC-B法

LC法

分取 0.5 mL

Smart-SPE C18-30 mg : 精製

洗液 アセトニトリル-水(9/1) 0.5 mL

流出液

10%食塩水 20 mL

Smart-SPE C18-50mg : 保持

窒素乾燥 : 2分

連結 Smart-SPE PSA-30 : 精製

溶出 アeton-ハキソ (15/85) 1mL

定容 (1 mL, アeton-ハキソで調製)

GC/MS (大量注入25uL : 試料12.5mg相当)

分取 0.5 mL

Smart SPE C18-50mg + PSA-30mg

溶出 2%ギ酸含有ACN 0.5mL

流出液

水 0.5mL

Smart SPE C18-30mg

洗液 ACN-水 (4/1) 0.5 mL

定容 (2 mL, 水で調製)
LC/MS/MS

実験 1 添加回収試験による評価

LogPowの低い
水溶性成分が多い

試料：大豆、ほうれん草

いずれかの作物で回収率が10%以上向上した成分
n=5, 回収率(%)での比較 (抜粋)

	大豆 5g	ほうれん草 10g
水分	0.62g	9.24g
たんぱく質	1.69g	0.22g
脂質	0.99g	0.04g
炭水化物	1.48g	0.31g
灰分	0.24g	0.17g

標準液：

PL2005農薬MIX I ~VI、7

(林純薬工業株式会社)

添加濃度：

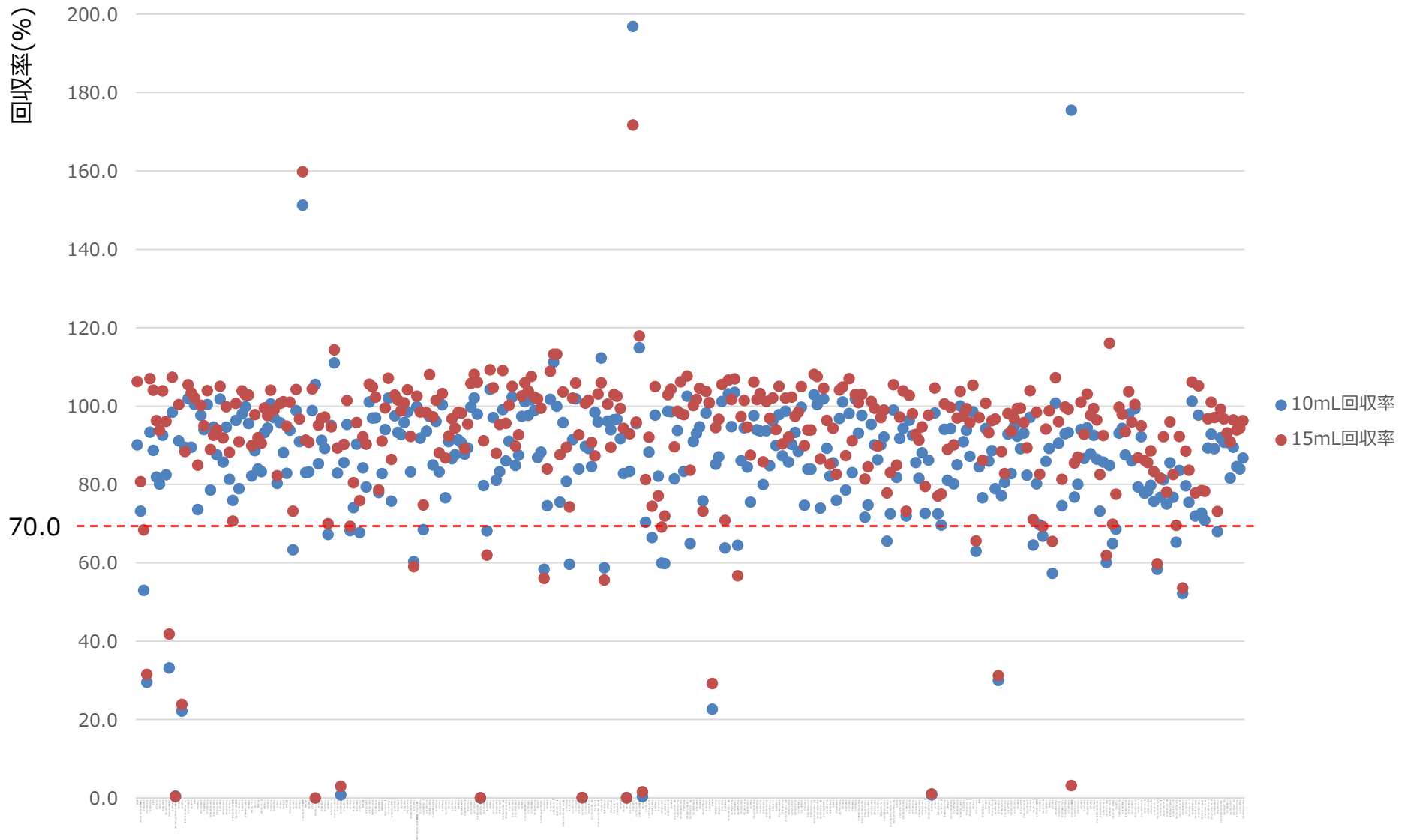
バイアル中0.005mg/L

(n=5)

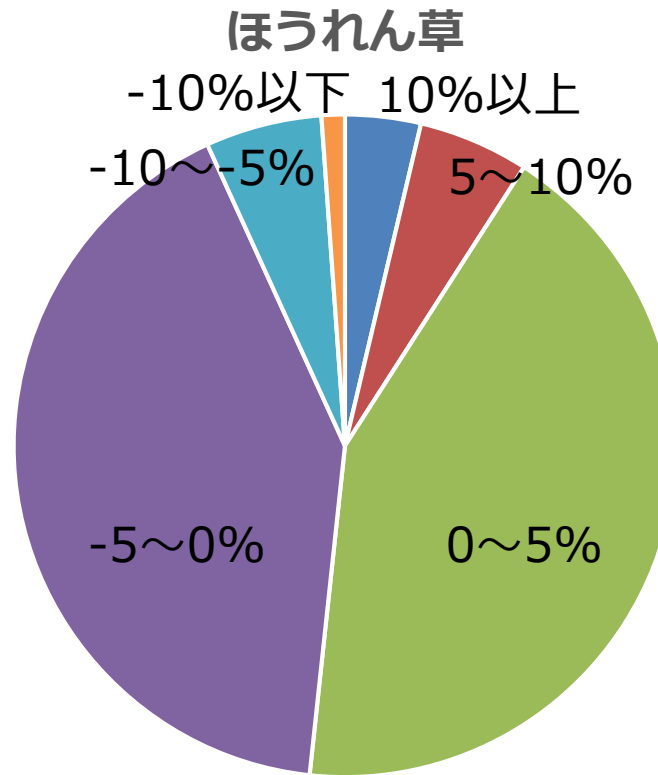
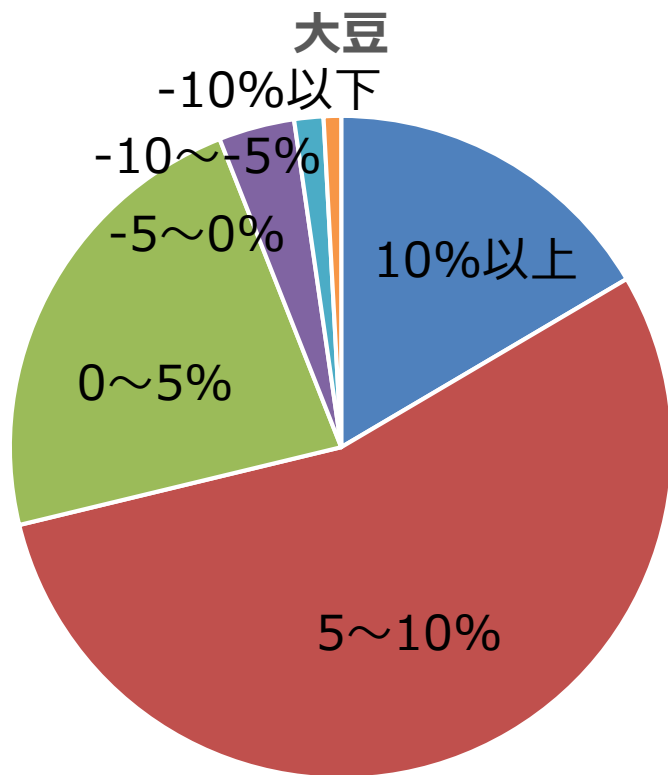
化合物メソッド 化合物名	大豆			ほうれん草			LogPow
	10mL抽出	15mL抽出	変動量	10mL抽出	15mL抽出	変動量	
オキサジキシル	82.1	85.2	3.1	51.7	69.7	17.9	0.7
ホスファミドン I	95.1	94.7	-0.3	57.5	76.7	19.2	0.8
ホスファミドン II	94.1	99.5	5.5	66.5	84.0	17.5	
デメトン-S-メチル	94.7	92.6	-2.1	69.8	83.4	13.6	1.3
プロボキシル	94.1	95.0	1.0	69.1	81.3	12.3	1.6
ジクロロボス	53.0	68.4	15.4	67.4	77.1	9.8	1.9
シアナジン	87.5	92.7	5.2	65.4	80.9	15.5	2.1
シメトリン	83.2	88.1	4.9	67.5	74.7	7.2	2.6
エンドスルファンサルフェート	72.5	83.0	10.5	84.0	87.2	3.2	3.8
キノメチオネート	59.8	71.9	12.1	87.2	83.8	-3.4	3.8
クロフェンテジン(分解物)	73.2	80.7	7.5	43.1	54.2	11.1	4.1
テトラジホン	69.7	82.6	12.9	83.6	89.0	5.3	4.6
キノキシフェン	65.5	77.8	12.3	82.0	83.2	1.3	4.7
ピリプチカルブ	80.2	90.1	10.0	90.5	89.7	-0.8	4.7
エンドスルファン(α)	64.9	83.6	18.7	86.5	86.5	0.0	4.7
ピペロニルブトキシド	86.2	97.7	11.5	88.8	88.2	-0.6	4.8
エンドスルファン(β)	74.0	86.5	12.5	90.1	86.1	-4.0	4.8
メトプレン II	70.3	81.3	10.9	99.0	94.5	-4.5	>6
クロメトキシニル	85.1	97.0	11.9	92.7	90.9	-1.8	不明

LogPowの高い
脂溶性成分が多い

実験 1 抽出溶媒量による評価 (大豆)



実験 1 回収率変動について



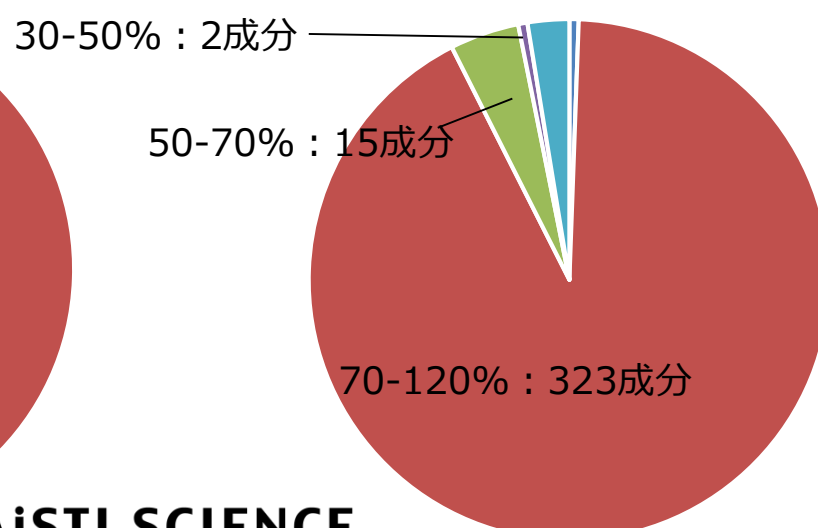
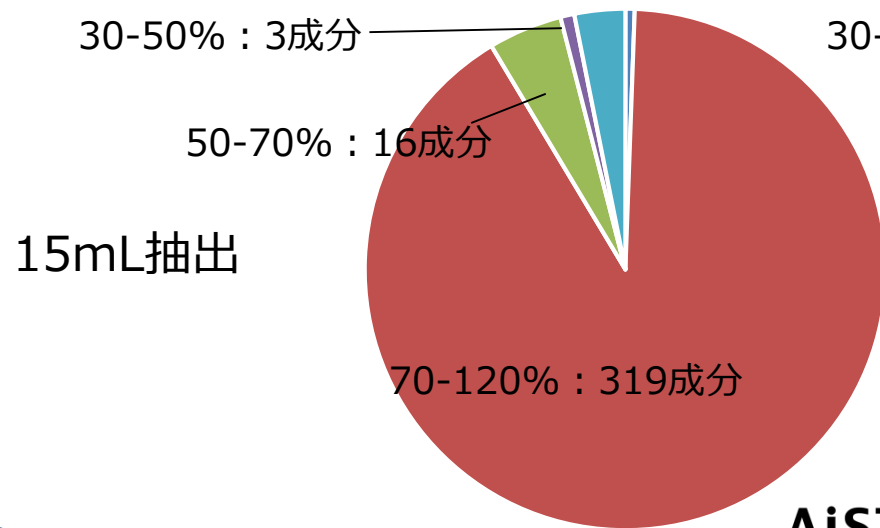
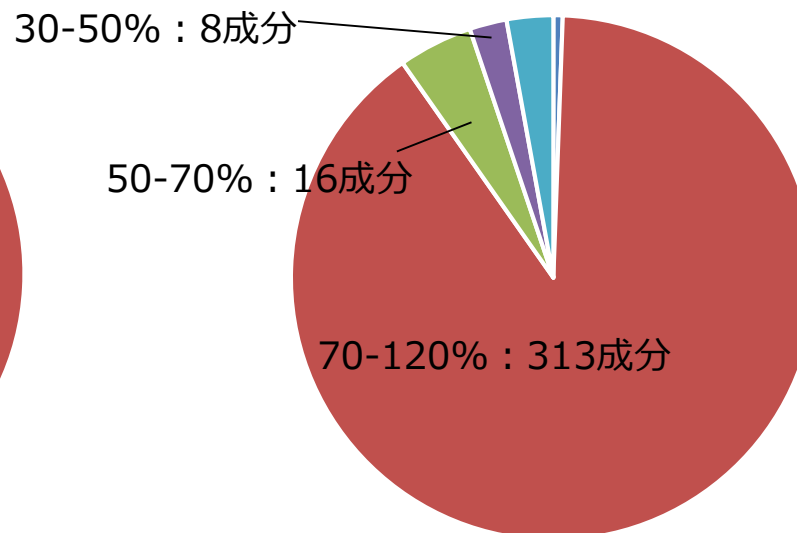
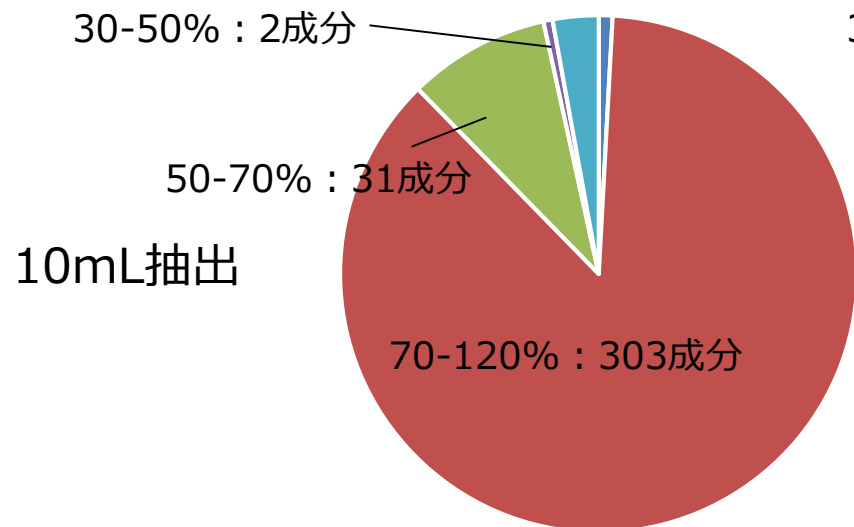
	大豆	ほうれん草
増加量	成分数	
10%以上	58	13
5~10%	192	19
0~5%	80	150
-5~0%	13	146
-10~-5%	5	20
-10%以下	3	4

大豆では320成分の回収率が向上した。
ほうれん草では182成分の回収率が向上した。

実験 1 添加回収試験結果

大豆

ほうれん草



実験 2 残留試料による評価

農薬が残留した茶、甘夏を用いて抽出溶媒量による比較を行った。

n=5, 面積値での比較

化合物名	茶		
	10mL	15mL	変動比率
アジンホスメチル	2,696	3,035	1.13
アゾキシストロビン	34,683	36,194	1.04
ジフェノコナゾール	14,500	14,578	1.01
フェンブコナゾール	84,322	88,977	1.06
フェンピロキシメート	10,800	11,001	1.02
フルフェノクスロン	259,129	259,588	1.00
ルフェヌロン	6,936	7,155	1.03
メトキシフェノジド	105,301	100,024	0.95
シラフルオフエン	34,377	43,991	1.28
シメコナゾール	6,892	8,096	1.17
テフルベンズロン	2,777	2,909	1.05
チアクロプリド	100,268	103,211	1.03
トルフェンピラド	128,823	129,419	1.00

化合物名	甘夏		
	10mL	15mL	変動比率
アセタミプリド	1,159,670	1,196,826	1.03
アゾキシストロビン	7,680	9,578	1.25
クロチアニジン	329,839	338,747	1.03
マイクロブタニル	166,811	177,186	1.06
ピラゾリネート	63,352	65,352	1.03
MCPA	34,795	35,460	1.02
MCPB	9,940	10,208	1.03

残留試料においても15mL抽出にすることで、検出量の向上が見られた。

まとめ

- 従来法と15mL抽出法との比較検討を行った。
試料には大豆、ほうれん草を用いて実験を行った。
大豆：320/348成分、ほうれん草：182/348成分で回収率向上が見られた。
- 添加回収試験で良好な結果が得られた。
回収率が70-120%の範囲に入ったのは、
大豆：319/348成分、ほうれん草：323/348成分であった。
- 残留試料においても、検出量向上効果が見られた。
試料には茶、甘夏を用いて実験を行った。
15mL抽出法の方が農薬の検出量が多かった。