

図 2-3-1. 分析法フローシート：クレトジム：分析法 No.1

大豆試料：大豆 20g, 浸漬大豆 20g, 豆腐 20g, おから 20g, 豆乳 20 mL  
↓ +メタノール/水 (1:1, v/v) 混液 100 mL  
30 分間振とう  
↓  
吸引ろ過 (ガラス繊維ろ紙 + セライト 洗：メタノール/水 (1:1, v/v) 混液 50 mL)  
↓  
メタノール/水 (1:1, v/v) 混液で 180 mL に定容  
↓  
90 mL (試料 10g 相当量)  
↓  
減圧留去, 窒素気流下乾固  
↓  
水 15 mL  
↓ + 酢酸 0.5 mL  
多孔性ケイソウ土カラム (CE 1020)  
5 分間放置  
↓ + 酢酸エチル/ヘキサン (1:1, v/v) 20 + 130 mL  
減圧留去, 窒素気流下乾固  
↓  
ジクロロメタン 25 mL  
↓ + 3mol/L 硫酸 1 mL  
↓ + 1% m-クロロ過安息香酸/ジクロロメタン溶液 5 mL  
50°C, 水浴, 1 分間  
↓ + 10%チオ硫酸ナトリウム水溶液 30 mL  
3 分間振とう  
↓ + 10%塩化ナトリウム水溶液 80 mL  
↓ + ジクロロメタン 20 mL  
5 分間振とう  
↓  
自然ろ過  
↓ + ジクロロメタン 50 mL  
減圧留去, 窒素気流下乾固  
↓  
シリカゲルミニカラム (前処理 : アセトン 10 mL + 0.2%酢酸/ヘキサン溶液 20 mL)  
↓ 捨て：ヘキサン/酢酸エチル (2:1, v/v) 混液 5 + 5 + 30 mL  
↓ 捨て：ヘキサン/アセトン (6:1, v/v) 混液 20 mL  
↓ 分取：ヘキサン/アセトン (2:1, v/v) 混液 30 mL  
減圧留去, 窒素気流下乾固  
↓  
アルミナミニカラム (前処理 : 酢酸エチル 5 mL)  
↓ 捨て：酢酸エチル 5 + 5 + 10 mL  
↓ 分取：酢酸エチル/メタノール (9:1, v/v) 混液 60 mL  
↓

減圧留去，窒素気流下乾固

↓

メタノールで溶解

クレトジム

抽出

図 2-3-2. 分析法フローシート：クレトジム：分析法 No.2

大豆試料：浸漬水 20 mL

↓ + 酢酸 0.5 mL

多孔性ケイソウ土カラム (CE 1020)

5 分間放置

↓ + 酢酸エチル/ヘキサン (1:1, v/v) 20 + 130 mL

減圧留去，窒素気流下乾固

↓

ジクロロメタン 25 mL

↓ + 3mol/L 硫酸 1 mL

↓ + 1% m-クロロ過安息香酸/ジクロロメタン溶液 5 mL

50°C，水浴，1 分間

↓ + 10%チオ硫酸ナトリウム水溶液 30 mL

3 分間振とう

↓ + 10%塩化ナトリウム水溶液 80 mL

↓ + ジクロロメタン 20 mL

5 分間振とう

↓

自然ろ過

↓ + ジクロロメタン 50 mL

減圧留去，窒素気流下乾固

↓

シリカゲルミニカラム (前処理：アセトン 10 mL + 0.2%酢酸/ヘキサン溶液 20 mL)

↓ 保持：ヘキサン/酢酸エチル (2:1, v/v) 混液 5 + 5 + 30 mL

↓ 洗浄：ヘキサン/アセトン (6:1, v/v) 混液 20 mL

↓ 溶出：ヘキサン/アセトン (2:1, v/v) 混液 30 mL

減圧留去，窒素気流下乾固

↓

アルミナミニカラム (前処理：酢酸エチル 5 mL)

↓ 保持：酢酸エチル 5 + 5 + 10 mL

↓ 溶出：酢酸エチル/メタノール (9:1, v/v) 混液 60 mL

↓

減圧留去，窒素気流下乾固

↓

メタノールで溶解

図 2-4-1. 分析法フローシート：エスフェンバレレート分析法 No.1

大豆試料：大豆 10 g  
↓ + 水 20 mL  
室温 30 分間放置  
↓ + アセトン 100 mL  
30 分間振とう  
↓  
吸引ろ過（ガラス繊維ろ紙使用 洗：アセトン 50 mL）  
↓  
減圧濃縮  
↓  
C<sub>18</sub> ミニカラム（Bond Elut C<sub>18</sub>, 1 g /6 mL）  
↓ 前処理：アセトニトリル 5 mL + 水 5 mL  
↓ 保持：濃縮液流下  
↓ 洗浄：水/アセトニトリル（70:30,v/v）5 mL 1 分間吸引乾燥  
↓ 溶出：アセトニトリル 8 mL  
↓  
減圧留去，窒素気流下乾固  
↓  
フロリジルミニカラム（Sep-Pak フロリジル 予洗：ヘキサン 5 mL）  
↓ 保持：ヘキサン 5 mL × 2  
↓ 溶出：ヘキサン/酢酸エチル（90:10,v/v）15 mL  
↓  
減圧留去，窒素気流下乾固  
↓  
アセトンに溶解  
↓  
GC-NPD

図 2-4-2. 分析法フローシート：エスフェンバレレート分析法 No.2

大豆試料：水浸漬大豆 10 g, 豆腐 10 g, 豆乳 10 mL, おから 10g

↓ + 水 10 mL (おからのみ)

↓ + アセトン 100 mL

30 分間振とう

↓

吸引ろ過 (ガラス繊維ろ紙使用 洗：アセトン 50 mL)

↓

減圧濃縮

↓

C<sub>18</sub> ミニカラム (Bond Elut C<sub>18</sub>, 1 g /6 mL)

↓ 前処理：アセトニトリル 5 mL + 水 5 mL

↓ 保持：濃縮液流下

↓ 洗浄：水/アセトニトリル (70:30,v/v) 5 mL 1 分間吸引乾燥

↓ 溶出：アセトニトリル 8 mL

↓

減圧留去, 窒素気流下乾固

↓

フロリジルミニカラム (Sep-Pak フロリジル 予洗：ヘキサン 5 mL)

↓ 保持：ヘキサン 5 mL × 2

↓ 溶出：ヘキサン/酢酸エチル(90:10,v/v) 15 mL

↓

減圧留去, 窒素気流下乾固

↓

アセトンに溶解

↓

GC-NPD

図 2-4-3. 分析法フローシート：エスフェンバレレート分析法 No.3

大豆試料：浸漬水 20 mL, 非凝固液 20 mL

↓ + 水 80 mL

↓ + 塩化ナトリウム 20 g

↓ + ヘキサン 80 mL×2

5 分間振とう

↓

ヘキサン層分取

↓

無水硫酸ナトリウム (50 g) による脱水後, 自然ろ過 (No.2 ろ紙使用 洗: ヘキサン 30 mL)

↓

減圧留去, 窒素気流下乾固

↓

フロリジルミニカラム (Sep-Pak フロリジル 予洗: ヘキサン 5 mL)

↓ 保持: ヘキサン 5 mL×2

↓ 溶出: ヘキサン/酢酸エチル (90:10, v/v) 15 mL

↓

減圧留去, 窒素気流下乾固

↓

アセトンに溶解

↓

GC-NPD

図 2-5-1. 分析法フローシート：マラチオン分析法 No.1

玄米試料：玄米 10 g, 白米 10 g, 水洗玄米 10 g, 水洗白米 10 g, 糠 2 g  
↓ + 水 20 mL  
室温 30 分間放置  
↓ + アセトン 100 mL  
30 分間振とう  
↓  
吸引ろ過 (ガラス繊維ろ紙使用 洗：アセトン 50 mL)  
↓  
減圧濃縮  
↓  
C<sub>18</sub> ミニカラム (Bond Elut C<sub>18</sub>, 1 g /6 mL)  
↓ 前処理：アセトニトリル 5 mL + 水 5 mL  
↓ 保持：濃縮液流下  
↓ 洗浄：水/アセトニトリル (80:20,v/v) 5 mL 1 分間吸引乾燥  
↓ 溶出：アセトニトリル 10 mL (糠：C<sub>18</sub> ミニカラム下部に NH<sub>2</sub> ミニカラムを接続)  
↓  
減圧留去, 窒素気流下乾固  
↓  
フロリジルミニカラム (Sep-Pak フロリジル 予洗：ヘキサン 5 mL)  
↓ 保持：ヘキサン 5 mL×2  
↓ 溶出：ヘキサン/アセトン (90:10,v/v) 30 mL  
↓  
減圧留去, 窒素気流下乾固  
↓  
アセトンに溶解  
↓  
GC-NPD

図 2-5-2. 分析法フローシート：マラチオン分析法 No.2

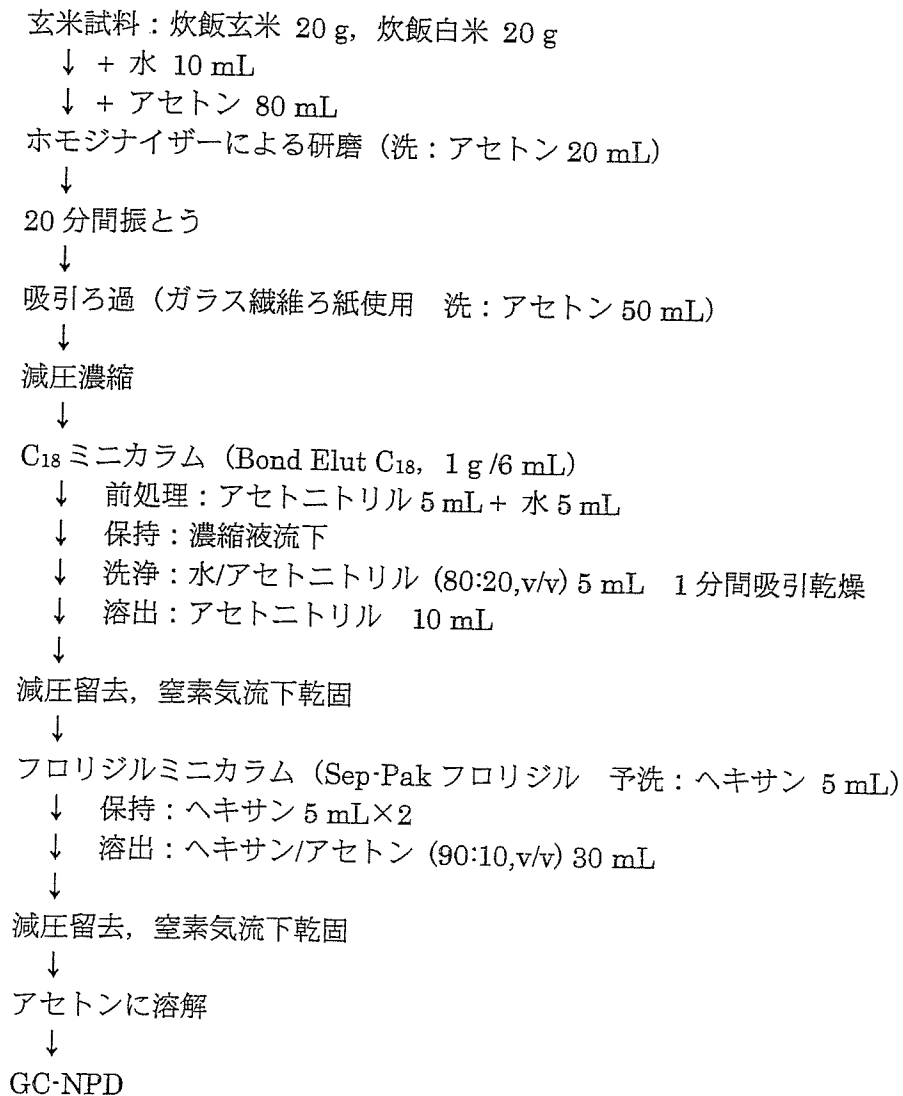


図 2-5-3. 分析法フローシート：マラチオン分析法 No.3

玄米試料：玄米とぎ汁 50 mL, 白米とぎ汁 50 mL

↓ + 水 50 mL

↓ + 塩化ナトリウム 10 g

↓ + ヘキサン 100 mL×2

5 分間振とう

↓

ヘキサン層分取

↓

無水硫酸ナトリウム (50 g) による脱水後, 自然ろ過 (No.2 ろ紙使用 洗:ヘキサン 30 mL)

↓

減圧留去, 窒素気流下乾固

↓

フロリジルミニカラム (Sep-Pak フロリジル 予洗:ヘキサン 5 mL)

↓ 保持:ヘキサン 5 mL×2

↓ 溶出:ヘキサン/アセトン (90:10,v/v) 30 mL

↓

減圧留去, 窒素気流下乾固

↓

アセトンに溶解

↓

GC-NPD



図 2-6-1. 分析法フローシート：マンゼブ分析法 No.1

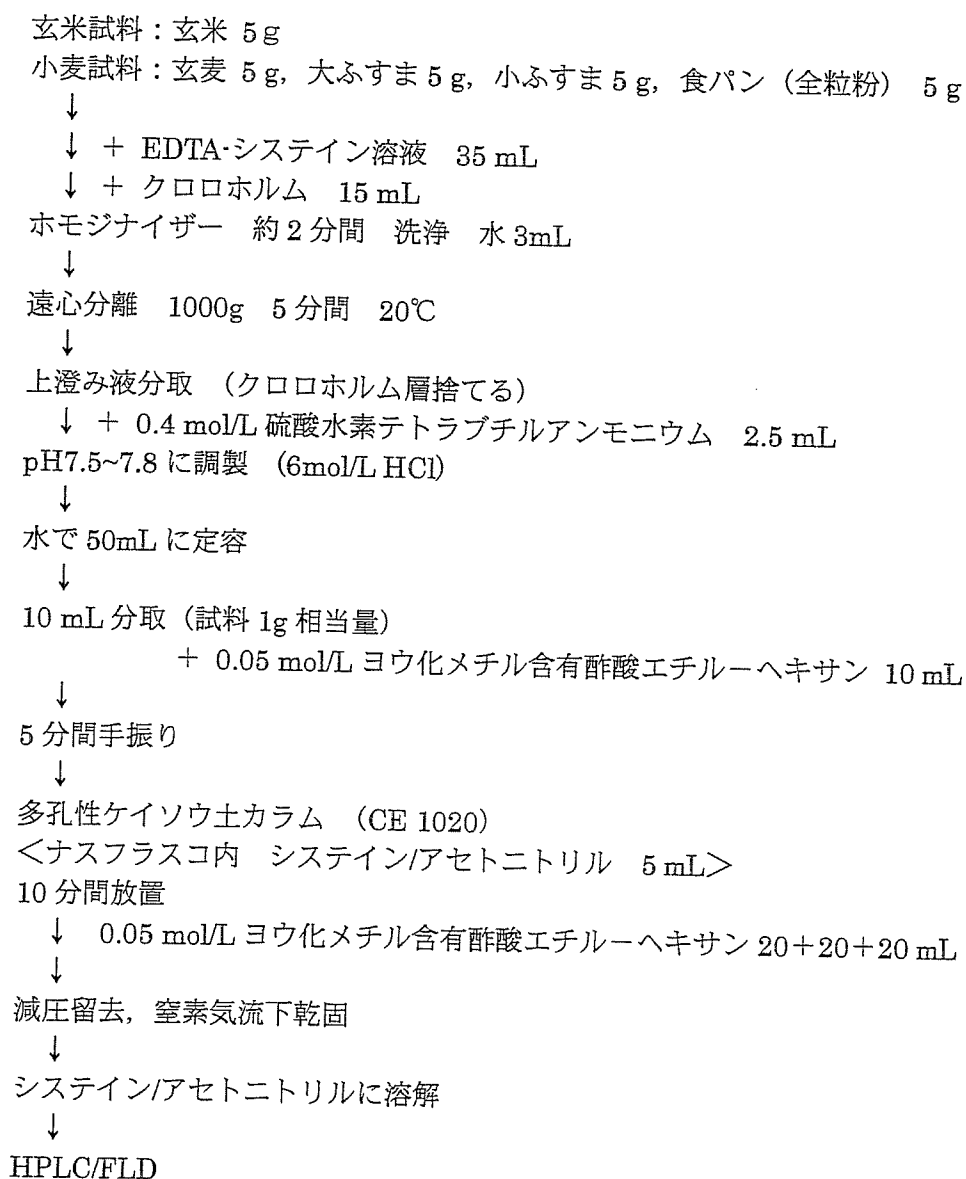


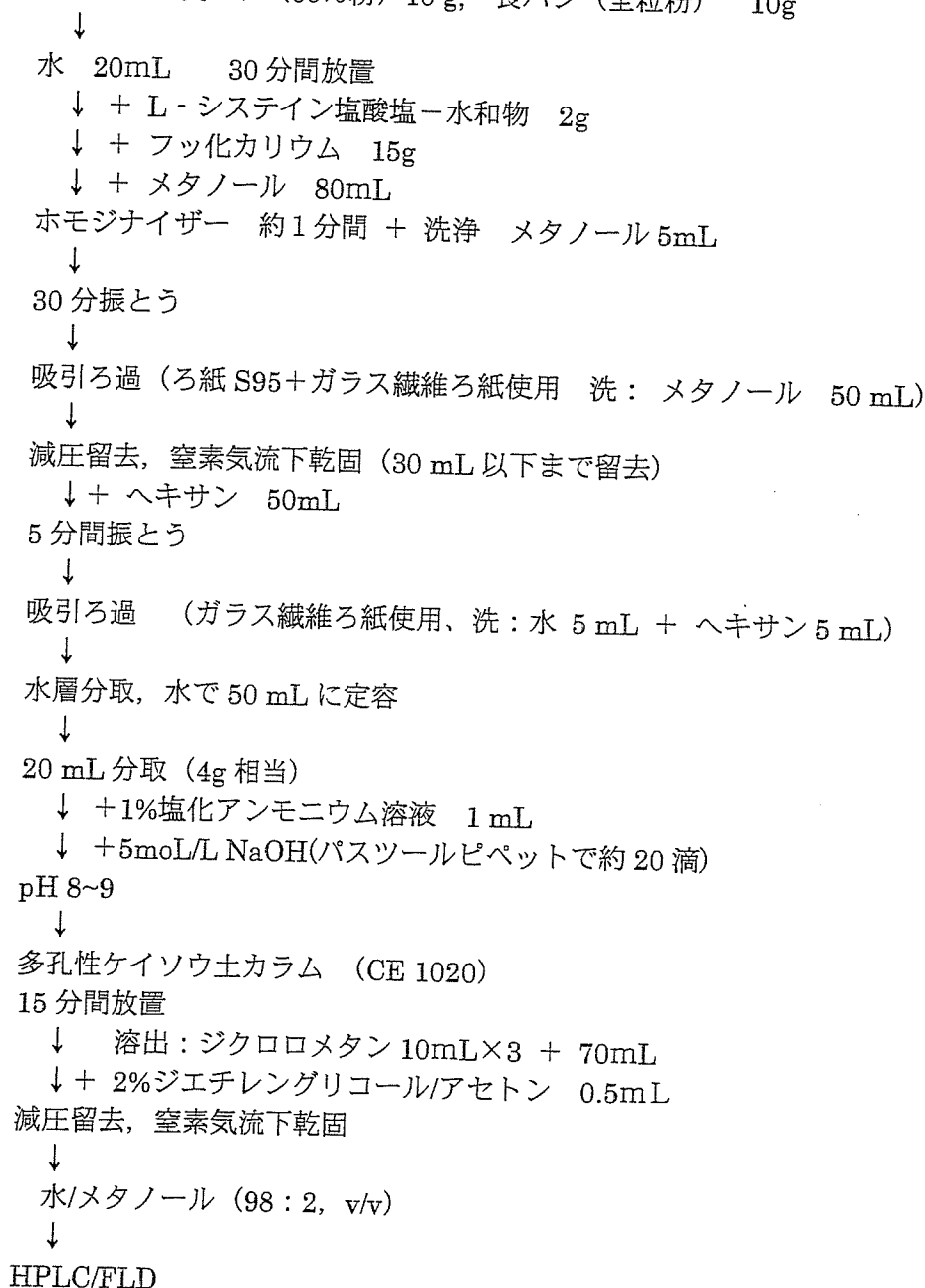
図 2-6-2. 分析法フローシート：マンゼブ分析法 No.2

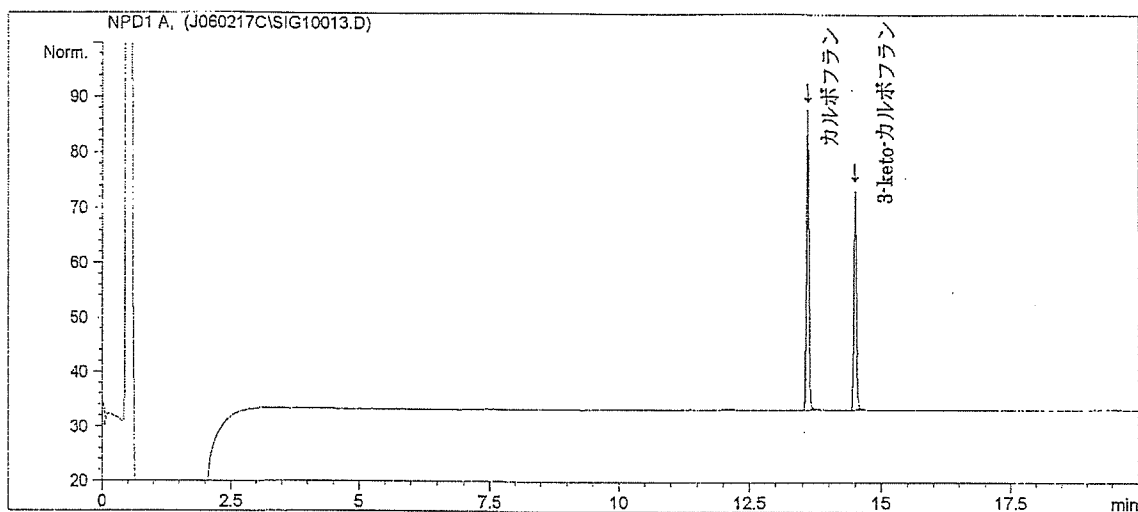
小麦試料：末粉 5 g, 60%粉 5 g, うどん玉 5 g, 中華麺玉 5 g, 食パン (60%粉) 5 g  
↓  
↓ + EDTA-システイン溶液 35 mL  
ホモジナイザー 約 2 分間 洗浄 水 3 mL  
↓  
遠心分離 1000g 5 分間 20°C  
↓  
上澄み液分取  
↓ + 0.4 mol/L 硫酸水素テトラブチルアンモニウム 2.5 mL  
pH7.5~7.8 に調製 (6mol/L HCl)  
↓  
水で 50mL に定容  
↓  
10 mL 分取 (試料 1g 相当量)  
+ 0.05 mol/L ヨウ化メチル含有酢酸エチル-ヘキサン 10 mL  
↓  
5 分間手振り  
↓  
多孔性ケイソウ土カラム (CE 1020)  
<ナスフラスコ内 システイン/アセトニトリル 5 mL>  
20 分間放置  
↓ 0.05 mol/L ヨウ化メチル含有酢酸エチル-ヘキサン 20+20+20 mL  
↓  
減圧留去, 窒素気流下乾固  
↓  
システイン/アセトニトリルに溶解  
↓  
HPLC/FLD

図 2-7. 分析法フローシート：ETU 分析法

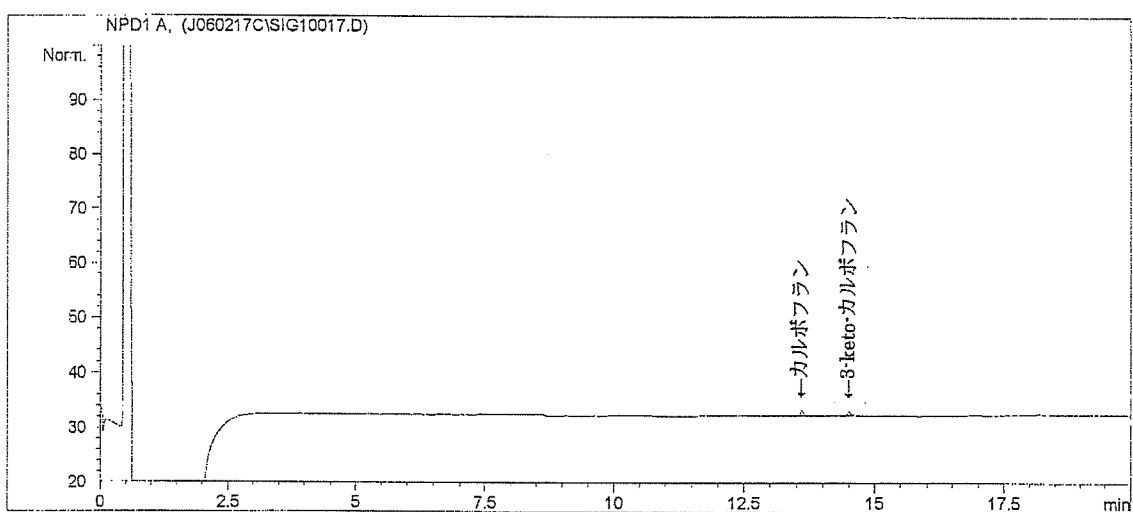
玄米試料：玄米 10g

小麦試料：玄麦 5g, 大ふすま 5g, 小ふすま 5g,  
末粉 10g, 60%粉 10g, うどん玉 10g, 中華麺玉 10g,  
食パン (60%粉) 10g, 食パン (全粒粉) 10g



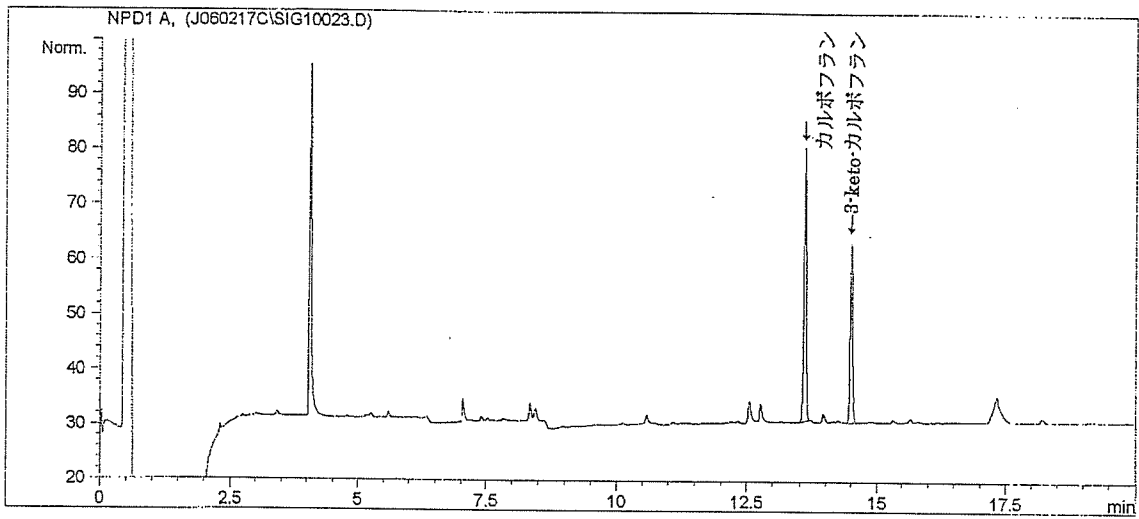


カルボフラン, 3-keto-カルボフラン 標準品 1.0 ng

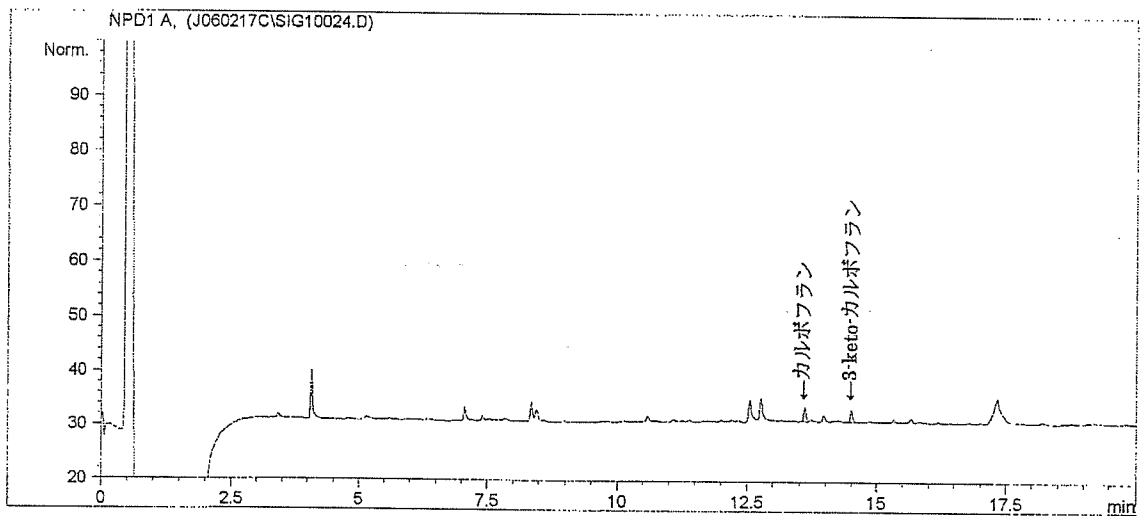


カルボフラン, 3-keto-カルボフラン 標準品 0.02 ng

図 3-1 カルボフラン, 3-keto-カルボフラン (玄米試料) のクロマトグラム

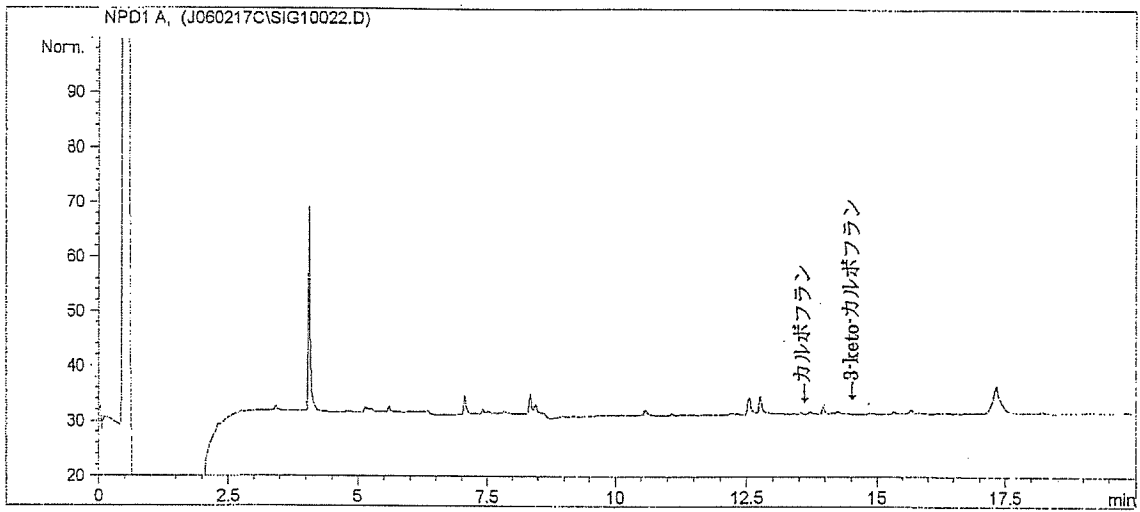


0.2 ppm 添加 2  $\mu$ L/5 mL/10 g

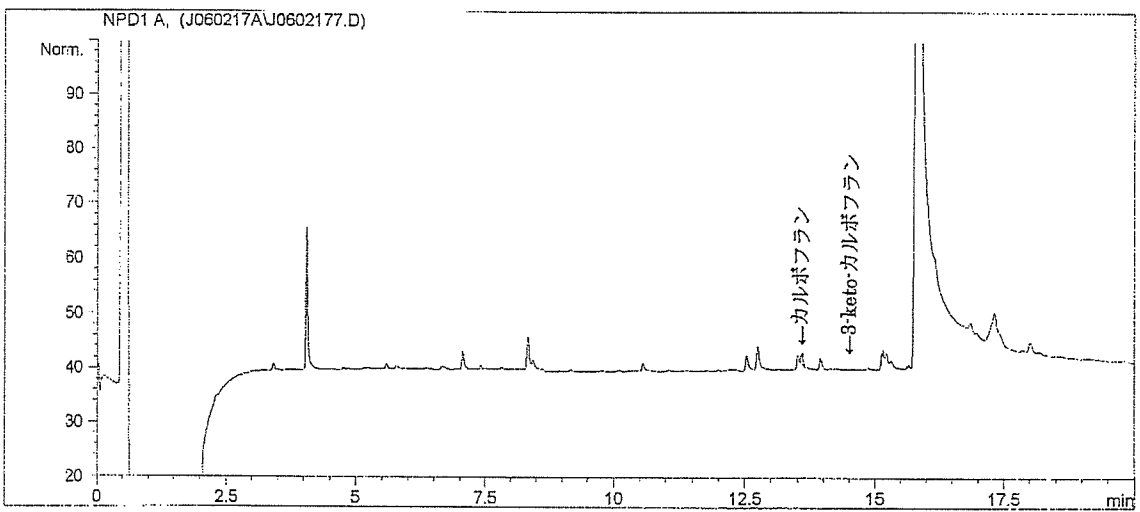


0.01 ppm 添加 2  $\mu$ L/5 mL/10 g

図 3-1 カルボフラン, 3-keto-カルボフラン (玄米試料) のクロマトグラム (続き)

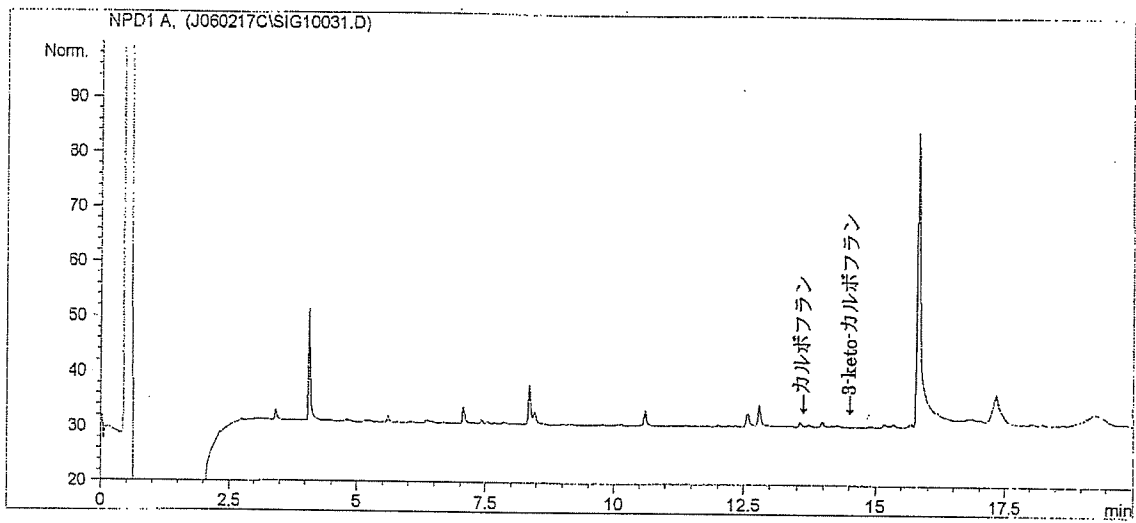


無処理区 (AR01-Plot1) 2  $\mu$ L/5 mL/10g

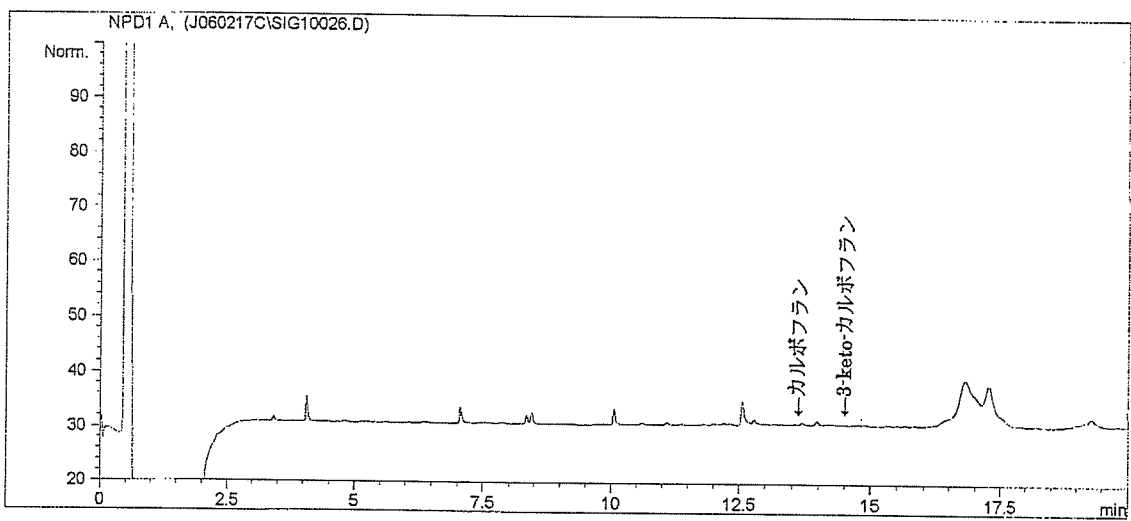


処理区 (AR01-Plot2) 2  $\mu$ L/5 mL/10g

図 3-1 カルボフラン, 3-keto-カルボフラン (玄米試料) のクロマトグラム (続き)

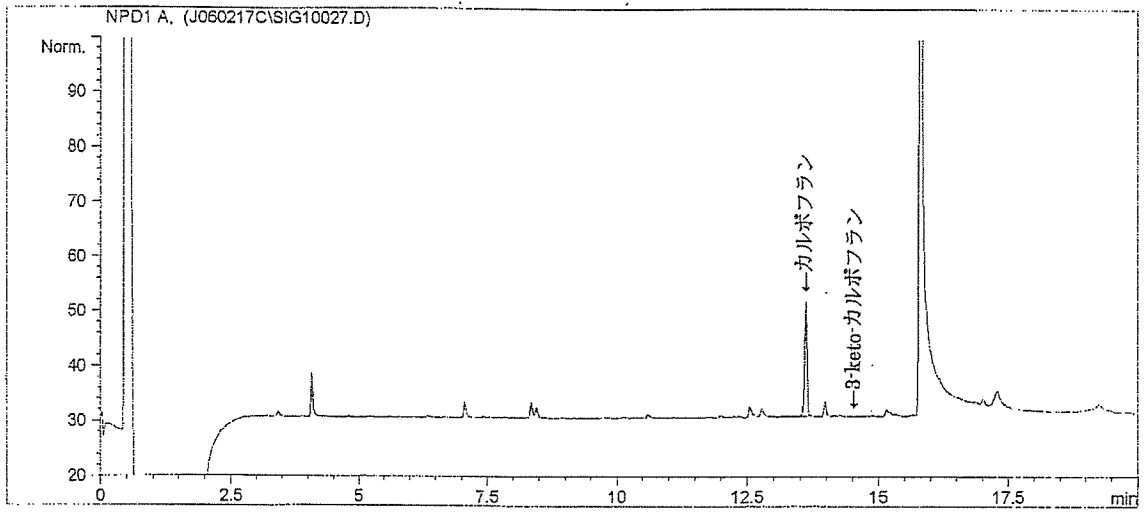


処理区 (AR01-Plot3) 2  $\mu$ L/5 mL/10g

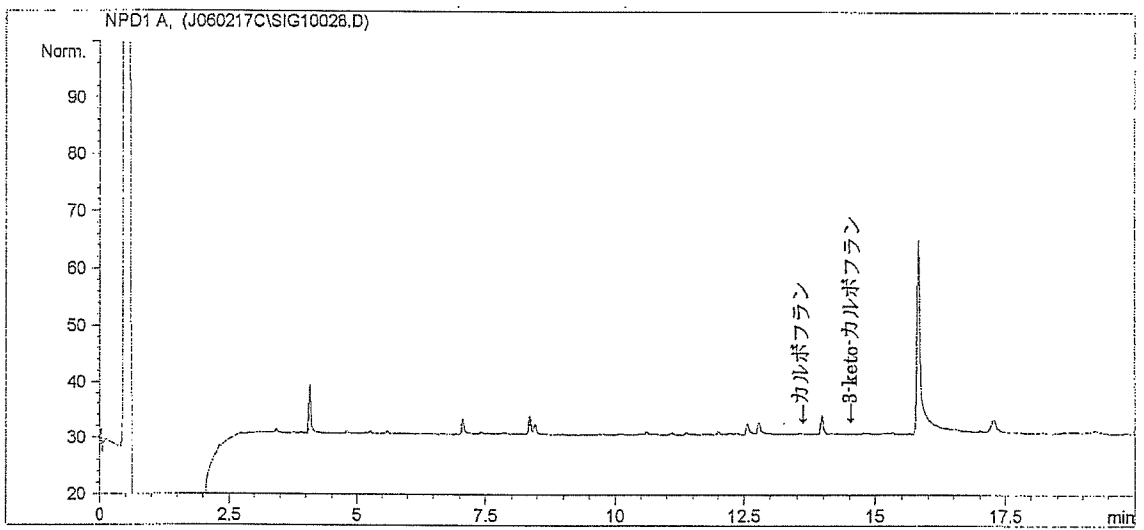


無処理区 (CA01-Plot4) 2  $\mu$ L/5 mL/10g

図 3-1 カルボフラン, 3-keto-カルボフラン (玄米試料) のクロマトグラム (続き)



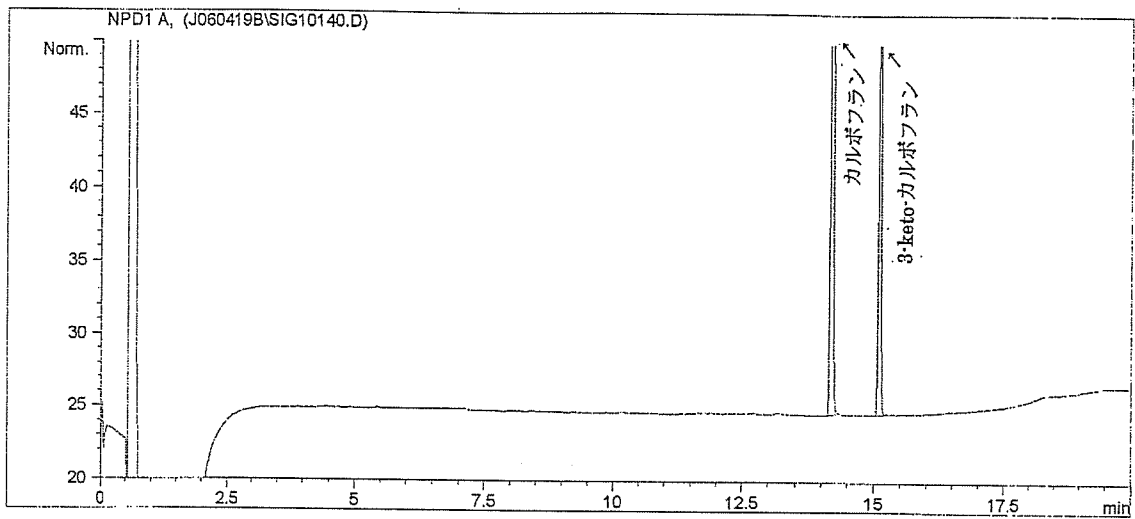
処理区 (CA01-Plot5) 2  $\mu$ L/5 mL/10g



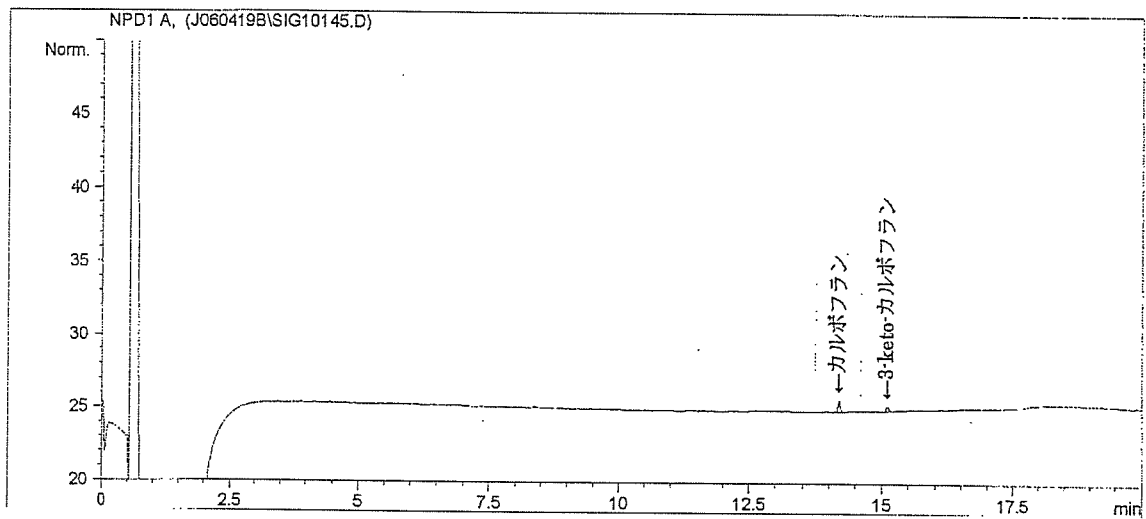
処理区 (CA01-Plot6) 2  $\mu$ L/5 mL/10g

図 3-1 カルボフラン, 3-keto-カルボフラン (玄米試料) のクロマトグラム (続き)



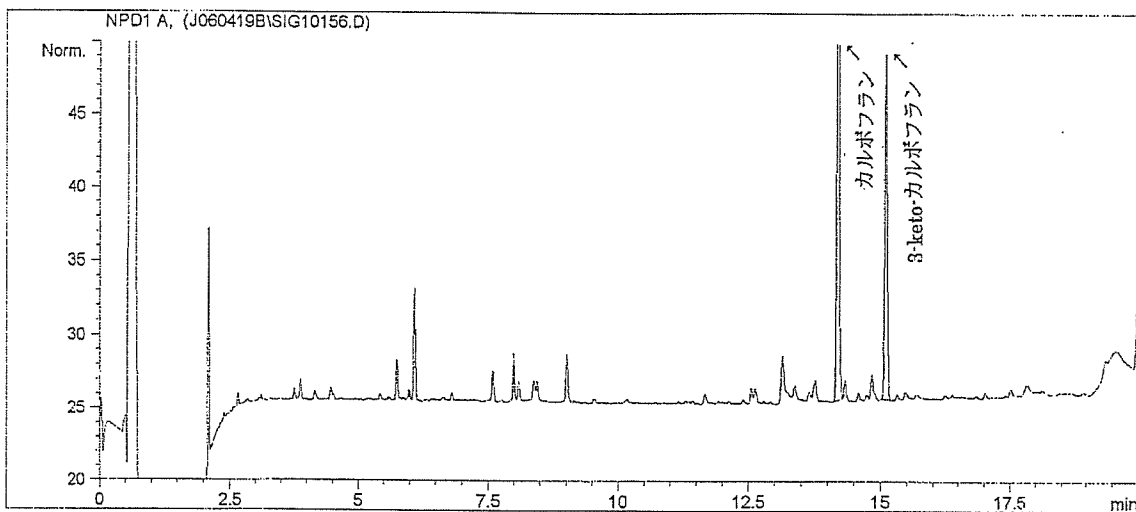


カルボフラン, 3-keto-カルボフラン 標準品 2.0 ng

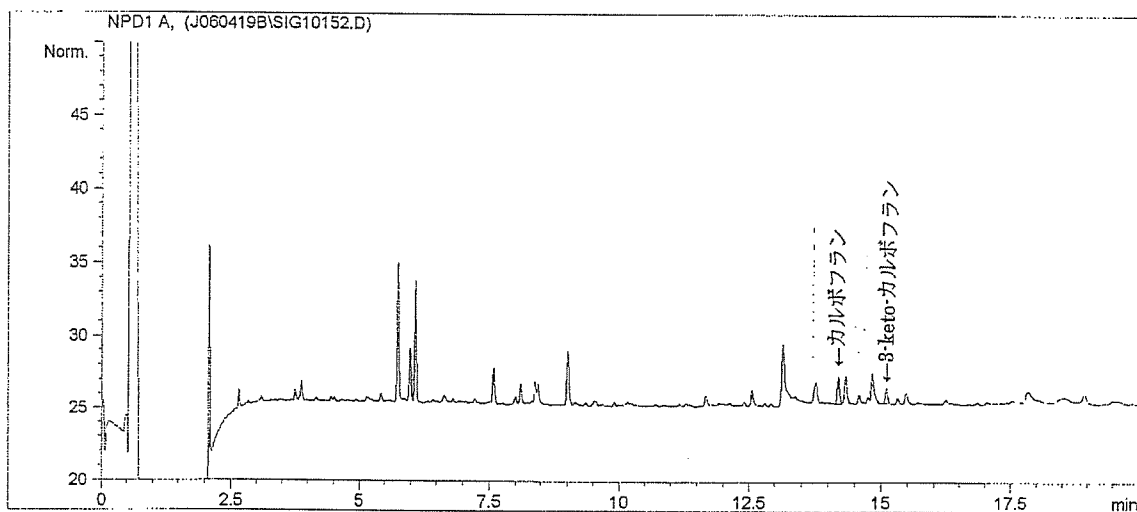


カルボフラン, 3-keto-カルボフラン 標準品 0.02 ng

図 3-2 カルボフラン, 3-keto-カルボフラン (大豆試料) のクロマトグラム

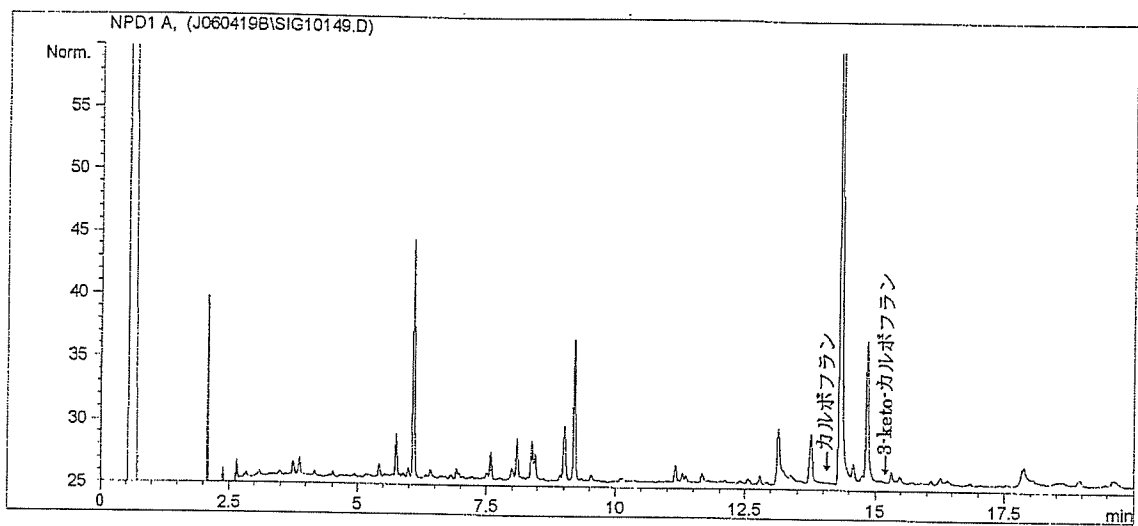


0.2 ppm 添加 2  $\mu$ L/2 mL/5 g

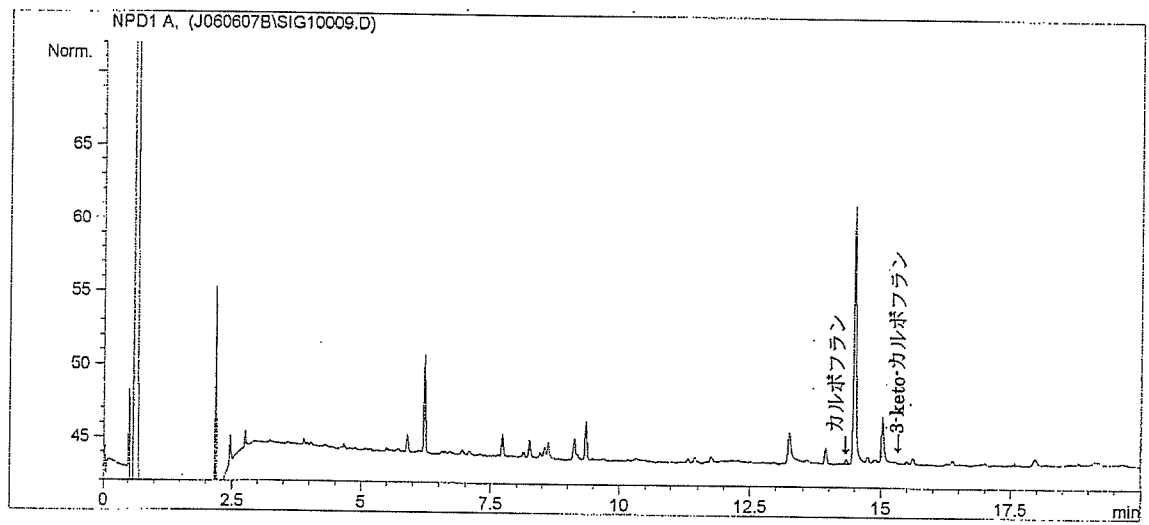


0.01 ppm 添加 2  $\mu$ L/2 mL/5 g

図 3-2 カルボフラン, 3-keto-カルボフラン (大豆試料) のクロマトグラム (続き)

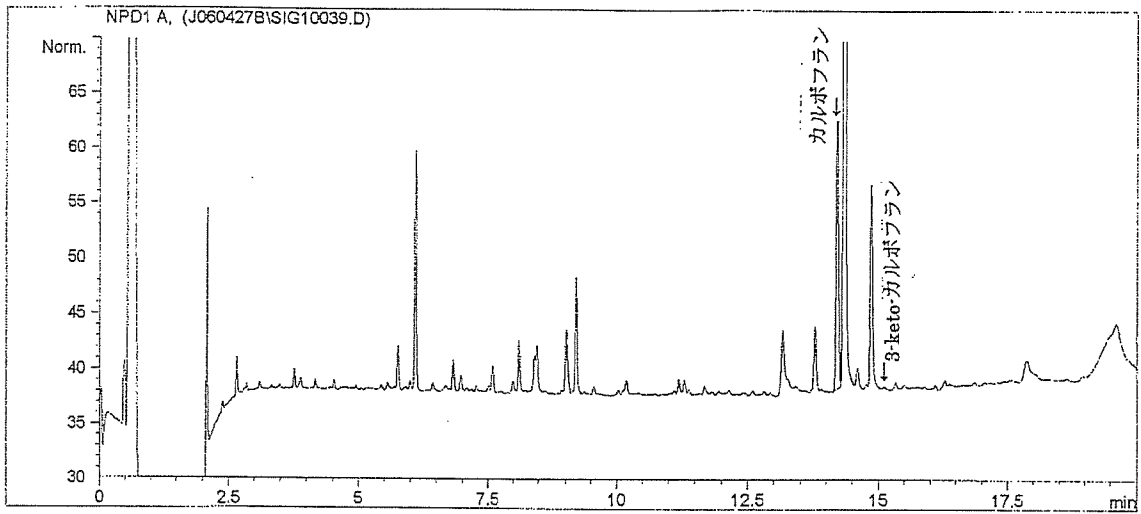


無処理区 (AR02-Plot13) 2  $\mu$ L/2 mL/5 g

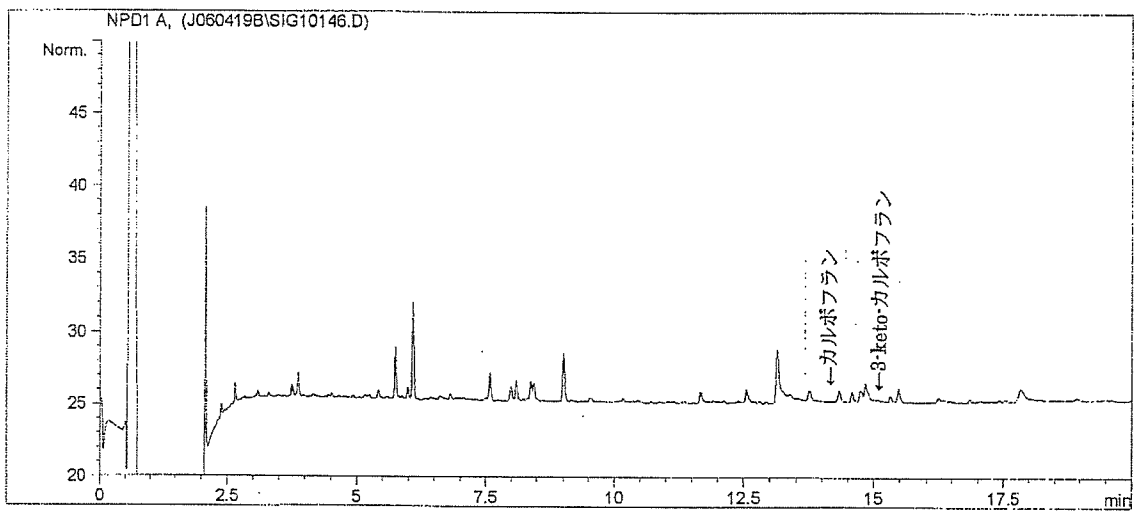


処理区 (AR02-Plot14) 2  $\mu$ L/2 mL/5 g

図 3-2 カルボフラン, 3-keto-カルボフラン (大豆試料) のクロマトグラム (続き)



処理区 (AR02-Plot15) 2  $\mu$ L/2 mL/5 g



無処理区 (IA01-Plot16) 2  $\mu$ L/2 mL/5 g

図 3-2 カルボフラン, 3-keto-カルボフラン (大豆試料) のクロマトグラム (続き)