



# 少量試料サンプリングのための ドライアイス凍結粉碎法

■ 食品衛生学会第106回ポスター発表内容含む

株式会社 アイスティサイエンス

公益財団法人 科学技術交流財団

(知の拠点重点研究プロジェクト共同研究)

AiSTI SCIENCE

# 背景

- 残留農薬分析においてサンプルの均一化は非常に重要で、分析結果の信頼性に大きく影響する。

⇒凍結粉碎することで良好な均一化が可能である。

- 農薬成分によってはサンプルの均一化時に分解するものも存在する。

⇒極低温で均一化することで熱、酵素活性を抑えて農薬の分解を抑制できる。

# ドライアイス凍結粉砕のメリット

## ◆ 均一性

➤ 粉末状に粉砕することで、試料全体が均一化。

## ◆ 保管性

➤ 常温粉砕では水分と固形物に分離するが、本法では均一化され、再検査もそのまま可能。

## ◆ 粉砕力

➤ **サラサラ感があり、試料を採取し易く、少量試料の粉砕が可能となる。**

## ◆ 分解抑制

➤ すじや繊維質が多い切断し難い試料でも細かく粉砕（うなぎの皮やイカやタコなど）

➤ 凍結により酵素や化学反応抑制により農薬の分解を抑える（**キャプタン、クロロタロニル**など）また、夾雑物の増加を抑える。

# 予冷方式凍結粉碎方法



① 試料を細切。



② 試料にドライアイスを加える。



③ 試料とドライアイスとを和える。  
\* 葉物はパリパリなり形が崩れるぐらいまで行うとよい。



④ 予めドライアイスとを粉碎したフードプロセッサーに試料を入れる。



⑤ フードプロセッサーで試料を粉碎する。



⑥ 試料を採取または保存する。

予め試料とドライアイスとを和えて、試料を予冷することで容器壁面への試料の付着を防ぎ、フードプロセッサーでの粉碎がスムーズに行えるようになった。

# 予冷方式ドライアイス凍結粉碎方法

## 操作方法：葉物編（例：ほうれん草）

- ① 試料（常温または冷蔵）は予め細断しておく。
- ② 板状またはペレット状のドライアイスの場合は予め粉碎しておく。
- ③ ①の細断した試料を量り取り予冷容器に均等になるように入れる。
- ④ ③の試料に**同量のドライアイス**を上から均等に振りかけて加え、少しだけ蓋を開けた状態で**2分間程放置**する。
- ⑤ ④の試料とドライアイスのスプーンで和えるか予冷容器ごと振り、試料全体を凍結させて予冷する。
- ⑥ 粉碎容器を**50～100gのドライアイス**を15秒程粉碎しながら冷却する。
- ⑦ ③の予冷した試料と残存ドライアイス**を④のドライアイスが入っている粉碎容器に入れて、試料を凍結粉碎する。**

# 予冷方式ドライアイス凍結粉砕方法

## 操作方法：トマト、グレープフルーツ等

- ① 試料（常温または冷蔵）は予め細断しておく。
- ② 板状またはペレット状のドライアイスの場合は予め粉砕しておく。
- ③ 予冷容器に試料の**0.4倍量のドライアイス**を均等になるように敷く。
- ④ ①の細断した試料を③の予冷容器の底に敷いたドライアイスの上に均等になるように入れる。
- ⑤ ④の試料に**0.5倍量のドライアイス**を上から均等に振りかけて加え、少しだけ蓋を開けた状態で**2分間放置**する。
- ⑥ ④の試料とドライアイスのスプーンで和えるか予冷容器ごと振り、試料全体を凍結させて予冷する。
- ⑦ 粉砕容器を**50～100gのドライアイス**を15秒程粉砕しながら冷却する。
- ⑧ ③の予冷した試料と残存ドライアイス④のドライアイスが入っている粉砕容器に入れて、試料を凍結粉砕する。

# 試料状態の比較（キュウリ）

## 常温粉碎



粉碎後、水分と固形分に分離しやすく、サンプリングする時は試料をよくかき混ぜて均一化させながら採取する必要があった。

## 凍結粉碎



試料が粉状で均一に粉碎されていた。

# 試料状態の比較（ブドウ）

## 常温粉碎



表皮の粉碎が弱く、水分と表皮が均一になるように注意しながら採取する必要があった。

## 凍結粉碎



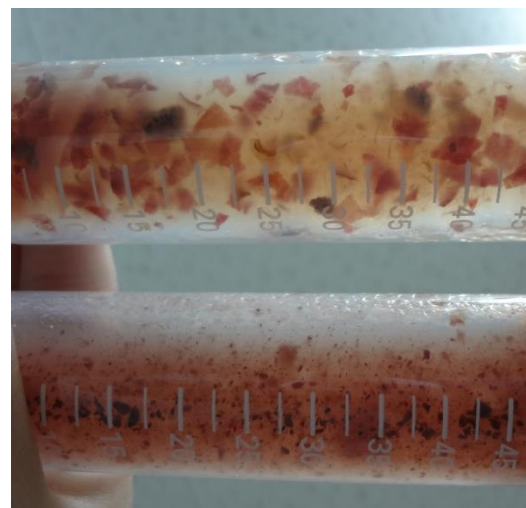
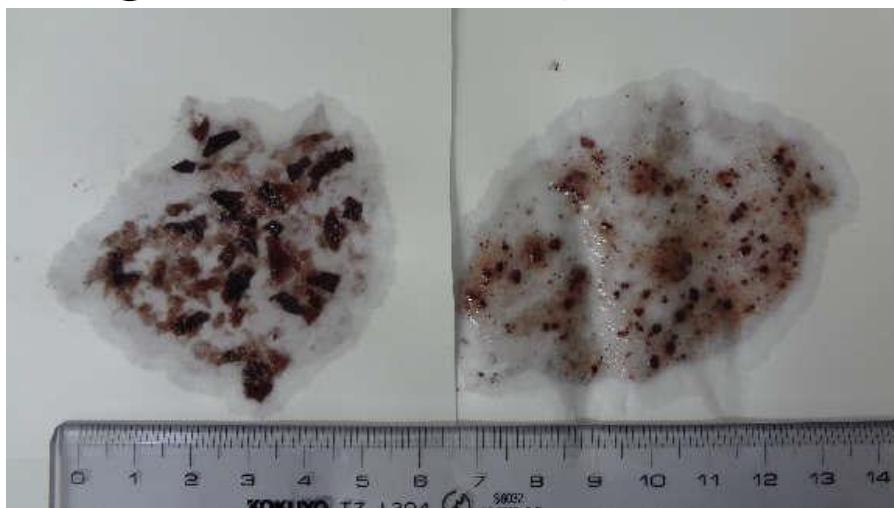
表皮も細かく粉碎され、粉状で均一に粉碎されていた。（ブレンダー）



# 粉碎状態について (ブドウ)

① 常温粉碎

② 凍結粉碎



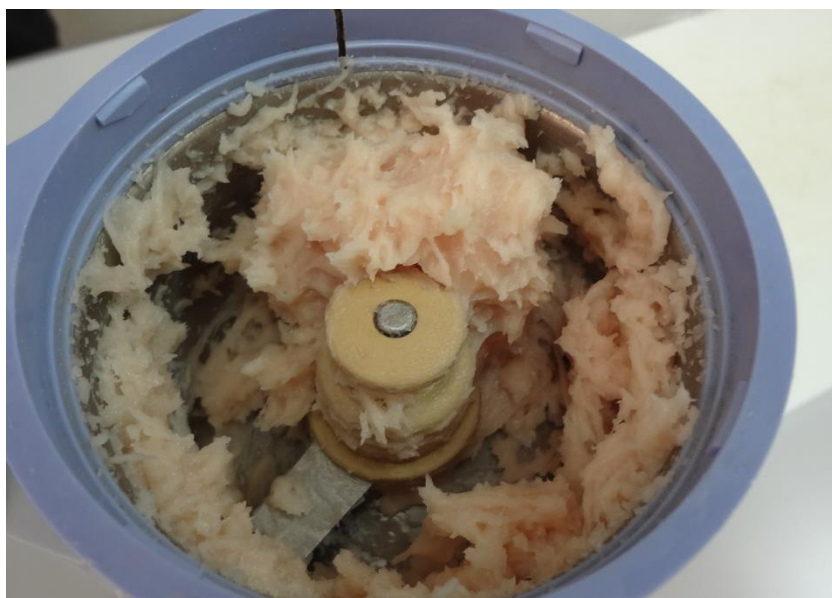
① 常温粉碎

② 凍結粉碎

- ① 常温粉碎：大きな表皮が残っていた。
- ② 凍結粉碎：表皮が細かく粉碎されており、試料の均一性の点から、少量サンプリングに適していると思われる。

# 試料状態の比較（鶏肉：ササミ）

## 常温粉碎



混和性が悪いように感じられ、よくかき混ぜてから採取する必要があった。（ミル）

## 凍結粉碎



予め冷凍庫で凍結させてから粉碎。粉状で均一に粉碎されていた。（ブレンダー）

## 他の粉碎例

常温      ゴマ      凍結



凍結粉碎により発熱を抑えることで常温粉碎であればペースト状になるゴマなども、さらさらのパウダー状に粉碎することが可能。

常温      弁当      凍結



弁当のようなさまざまな種類の食品も凍結粉碎することでパウダー状まで粉碎することが可能。成分分析などへの応用が期待できる。

# サンプル凍結粉碎例



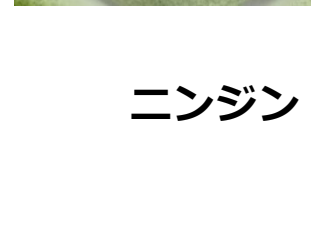
黒ゴマ



冷凍たこ焼き



バナナ



ほうれん草



ニンジン



青ノリ



リンゴ



アボカド



ジャガイモ

# ドライアイス凍結粉碎での注意点



- **予め粉碎容器を十分に冷却してから試料を粉碎。**  
 粉碎容器が冷却されていないと試料が容器壁面に付着しやすい。
- **試料を採取する場合、ドライアイスで冷却したスプーンを使用（サラサラの状態ですampling）**  
 凍結粉碎した試料の採取に使用するスプーンは常温のまま使用すると試料がスプーンに付着して採取しにくい。
- **凍結粉碎した試料を保管する場合はドライアイスがすべて気化していることを確認してから容器の蓋を閉じてください。**  
 保管容器の蓋を少し開けた状態で冷凍庫（-20℃）で一時的に保管することで、ドライアイス（昇華温度：-79℃）を気化することができます。

# 粉碎試料の冷凍保管について

## 【常温粉碎】

- × 試料全体が塊となって冷凍されるため、再分析する時は完全に解凍してから、サンプリングしなければならない。
- × 解凍後は水分と固形分が分離してしまい、サンプリング誤差が懸念される。

## 【凍結粉碎】

- ◎ 凍結粉末状のまま冷凍保管することができ、再分析する時も均一化された状態で直ぐにサンプリングできる。



# 凍結粉砕による酵素の失活と夾雑成分について

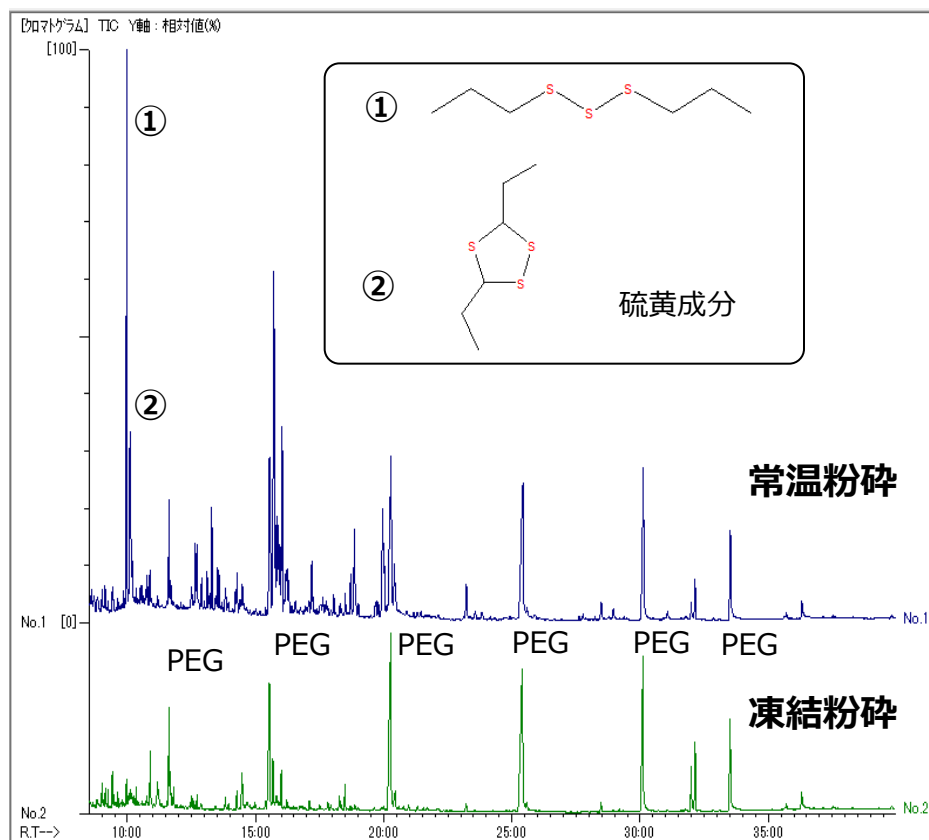


図. タマネギを常温粉砕または凍結粉砕しSTQ法にて分析した時のそれぞれのSCANクロマトグラム

## 【従来】

タマネギなどの硫黄成分を含む試料においては酵素を失活させるためにリン酸処理や電子レンジ処理が行われている。

### ● 懸念事項

- ・ リン酸処理：扱いが面倒、2系統の抽出
- ・ 電子レンジ処理：熱による水分の蒸発や分解

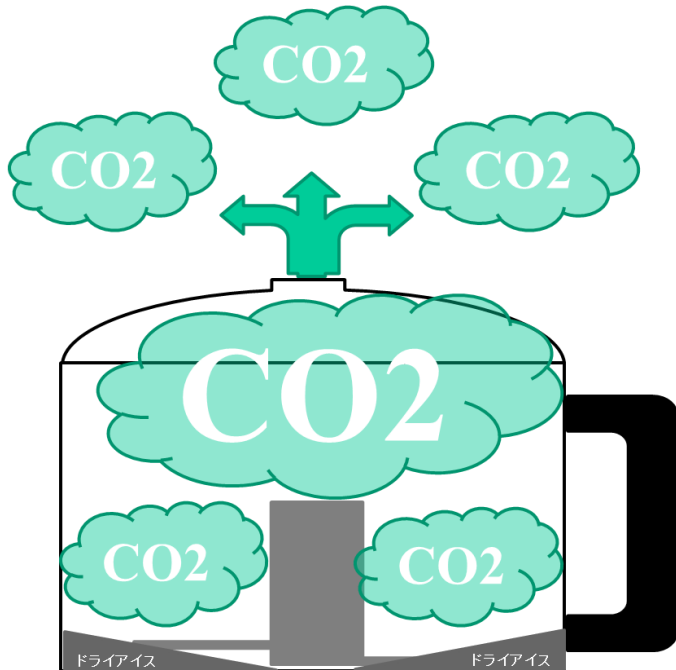
## 【凍結粉砕法】

粉砕時に凍結することで酵素を失活させ、夾雑物の増加を抑制できる。

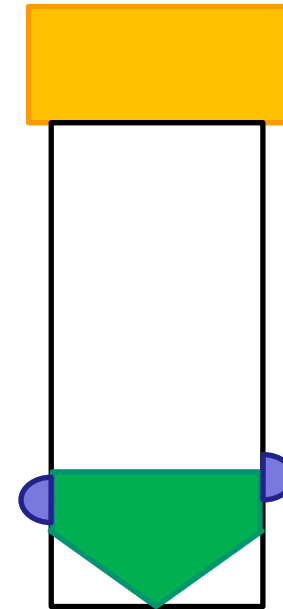
### ◎ メリット

- ・ 多成分同時抽出
- ・ 試料の組成成分の変動なし

# Q1. 空気中の水分が試料に結露しないか？



粉碎容器の中には大量のCO<sub>2</sub>（気化したドライアイス）が充満しており外気中の水分は容器内に入りにくい。



粉碎後は速やかに試料をチューブへ採取・秤量し、蓋をすることで、空気中の水分が試料に結露することを抑制する。



**Q2.凍結粉碎したら試料中の水分が減少しないか？**

## **NOT 凍結乾燥**

**凍結乾燥…減圧条件下で試料を乾燥させる手法**

**凍結粉碎…低温条件で固体試料を粉碎する手法  
(乾燥させない)**

# NG集



① 粉碎容器の冷却が不十分で、試料が粉碎容器の壁面で固まってしまう。



② 試料採取用スプーンでの冷却が不十分でサンプリング時にサンプルが溶解してスプーンに付着してしまう。



③ 水分の多いサンプルの予冷時に容器にドライアイスを敷かずに入ると、サンプルの一部が凍結して予冷容器に固着してしまう。

**ドライアイス凍結粉碎は『予冷』が重要!!**