

STQ法を応用した動薬一斉分析、 最新情報公開



株式会社アイスティサイエンス

Beyond your Imagination

AiSTI SCIENCE

会社紹介



前処理から測定までトータルソリューションを提供いたします。

試薬計量スプーン

| No. | 製品名／試薬名 | グレード | 重量(g) |
|-----|-------------------|------|-------|
| 1 | 塩化ナトリウム | 残農 | 1 |
| 2 | 塩化ナトリウム | 残農 | 3 |
| 3 | クエン酸3ナトリウム・2水和物 | 特急 | 1 |
| 4 | クエン酸2ナトリウム・1.5水和物 | 1級 | 0.5 |
| 5 | 無水硫酸マグネシウム | 特急 | 4 |
| 6 | 無水硫酸マグネシウム | 特級 | 0.3 |



その他特注も承っております。
お気軽にお問い合わせください。

精度：±10%以内

作成可能容量：食塩で10g程度

※試薬ごとに最大可能容量は異なります。

製品紹介

固相カートリッジ

| No. | 製品名/試薬名 | 一次相互作用 |
|-----|--------------------|--------|
| 1 | Smart-SPE C18-30mg | 無極性 |
| 2 | Smart-SPE SI-30 | 極性 |
| 3 | Smart-SPE PSA-30 | 陰イオン交換 |
| 4 | Smart-SPE NH2-30 | 陰イオン交換 |
| 5 | Smart-SPE SCX-30 | 陽イオン交換 |
| 6 | Smart-SPE GCS-20 | 平面構造 |
| 7 | Smart-SPE HLBI3-20 | 無極性 |
| 8 | Smart-SPE PLS3-10 | 無極性 |



その他充てん材もございます。
 お手元のパンフレットを
 ご参照ください。

製品紹介

大量注入口装置 LVI-S250

- 1~200uLまで注入可能
- 前処理操作の簡略化
- 夾雑成分のカラム汚染を軽減※
※プレフラッシュ・テクノロジー使用時



**LVI-S200がバージョンアップ！
新機能プレフラッシュ・テクノロジー搭載可能**

製品紹介

全自動固相抽出装置 ST-L300

- 熟練度に依らない分析が可能
- 引継ぎの簡略化
- 人的作業時間の有効活用



STQ法の自動化 + 自由なメソッドの作成が可能



目次

Beyond your Imagination

STQ法概要のご説明

各種分析法のご紹介

- サルファ剤+キノロン剤迅速分析法
- マラカイトグリーン
- テトラサイクリン系抗生物質

STQ法の概要

◆ 残留農薬分析方法

抽出
QuEChERS法

+

精製（手動 or 自動化）
固相カートリッジ

STQ法とは？

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
操作性と**高精製**の両立を可能とした。

STQ法の概要

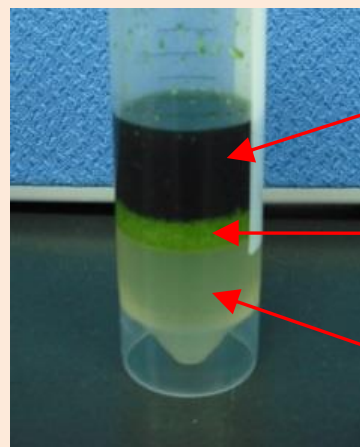
QuEChERS法による抽出のメリット

- ①遠心分離による迅速な液液分配
- ②有機溶媒（アセトニトリル）による除タンパク効果
- ③緩衝液による幅広い成分への抽出

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。

STQ法の概要



QuEChERS抽出



① 検体細切、凍結粉碎



② 抽出、振とう塩析



③ 遠心分離

STQマニュアル精製キット



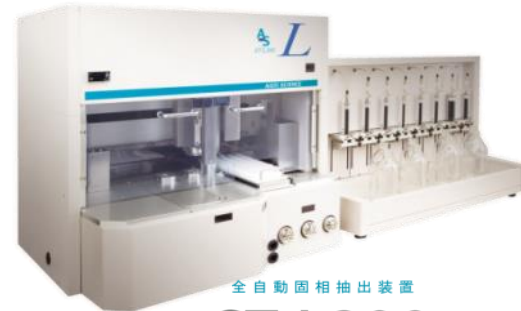
精製



固相ミニカートリッジ
Smart-SPE
Solid Phase Extraction

測定

全自動固相抽出装置



全自動固相抽出装置
ST-L300
For Smart-SPE AUTOMATION

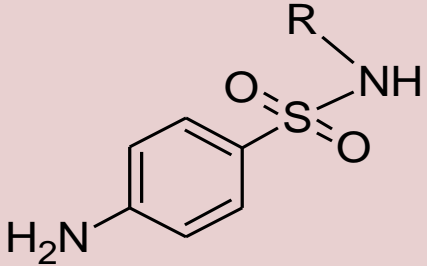
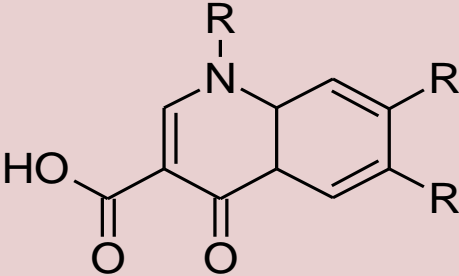
GC-MS(/MS) + 大量注入
LC-MS/MS測定
AiSTI SCIENCE



ガスクロマトグラフ用大量注入装置
LVI-S250
For Gas Chromatography



各種分析法のご紹介

| サルファ剤 | キノロン剤 |
|---|---|
|  |  |
| <p>ベンゼンスルホンアミド基を基本骨格に持つ化合物 LogPow < 2の成分が多数</p> | <p>カルボン酸を基本骨格に持つ化合物 LogPow < 2の成分が多数</p> |

① LC-MS/MS測定条件

| | |
|---------|--------------------------------------|
| LC | : Prominence (島津製作所) |
| MS/MS | : API3200 (エービー・サイエックス) |
| カラム | : YMC-Triart C18 (ワイエムシイ) |
| 移動相 | : A…0.05%ギ酸 B…アセトニトリル |
| 流速 | : 0.2mL/min |
| 注入量 | : 5uL |
| イオン化モード | : ESI Positive |
| 測定モード | : MRM (Multiple Reaction Monitoring) |

東京都安研 神田氏の資料※を参考に測定条件を検討した。

※神田真軌,第104回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集,2012年,P.102

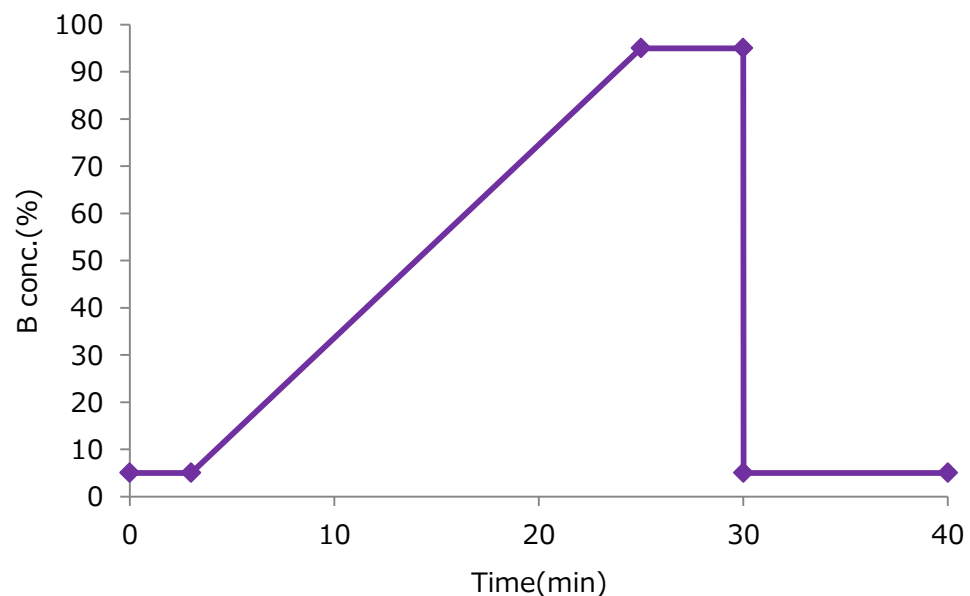
① LC-MS/MS測定条件

測定条件

Code No.56110 劇
PL動物薬LC/MS Mix 1 (27種混合)

| Name | RT | 定量 | | 定性 | |
|-----------------------|------|-------|-------|-------|-------|
| | | Q1 | Q3 | Q1 | Q3 |
| Diaveridine | 9.01 | 261.2 | 245.1 | 261.2 | 123.2 |
| Ormetoprim | 9.91 | 275.2 | 123.1 | 275.2 | 81.1 |
| Pyrimethamine | 11.9 | 249.1 | 177.2 | 249.1 | 198.2 |
| Sulfabenzamide | 14.3 | 277 | 156 | 277 | 92 |
| Sulfabromomethazine | 16.6 | 357 | 156.2 | 357 | 92 |
| Sulfacetamide | 7.37 | 215.1 | 156.1 | 215.1 | 92.1 |
| Sulfachlorpyridazine | 12.6 | 285.1 | 156 | 285.1 | 92.2 |
| Sulfadiazine | 8.73 | 251.1 | 156.2 | 251.1 | 92.2 |
| Sulfadimethoxine | 14.6 | 311.1 | 156.2 | 311.1 | 92.1 |
| Sulfadimidine | 11.3 | 279.1 | 92.1 | 279.1 | 65.1 |
| Sulfadoxine | 14.6 | 311.1 | 156.1 | 311.1 | 92.1 |
| Sulfaethoxypyridazine | 13.3 | 295.1 | 156.2 | 295.1 | 92.2 |
| Sulfaguanidine | 7.23 | 215 | 156 | 215 | 92 |
| Sulfamerazine | 10.3 | 265.1 | 108 | 265.1 | 92.2 |
| Sulfamethoxazole | 13.1 | 254 | 156 | 254 | 92.1 |
| Sulfamethoxypridazine | 12.2 | 281.1 | 156.1 | 281.1 | 92.1 |
| Sulfamonomethoxine | 12.3 | 281.1 | 92.1 | 281.1 | 156.1 |
| Sulfanilamide | 7.27 | 173.1 | 93.2 | 173.1 | 76.1 |
| Sulfanitran | 16.4 | 336.1 | 134.1 | 336.1 | 65 |
| Sulfapyridine | 9.81 | 250 | 156.2 | 250 | 92.2 |
| Sulfaquinoxaline | 14.6 | 301 | 156.2 | 301 | 92.3 |
| Sulfathiazole | 9.54 | 256 | 156 | 256 | 92.2 |
| Sulfatroxazole | 13.3 | 268.1 | 156.2 | 268.1 | 92.1 |
| Sulfisomidin | 11.3 | 279.1 | 124.1 | 279.1 | 186.1 |
| Sulfisoxazole | 13.3 | 268.1 | 156.2 | 268.1 | 92.1 |
| Sulfisozole | 11.4 | 240.1 | 156.2 | 240.1 | 92.1 |
| Trimethoprim | 9.49 | 291.1 | 230.3 | 291.1 | 261.3 |

| time(min) | 0 | 3 | 25 | 30 | 30.01 | 40 |
|------------|----|----|----|----|-------|----|
| A conc.(%) | 95 | 95 | 5 | 5 | 95 | 95 |
| B conc.(%) | 5 | 5 | 95 | 95 | 5 | 5 |



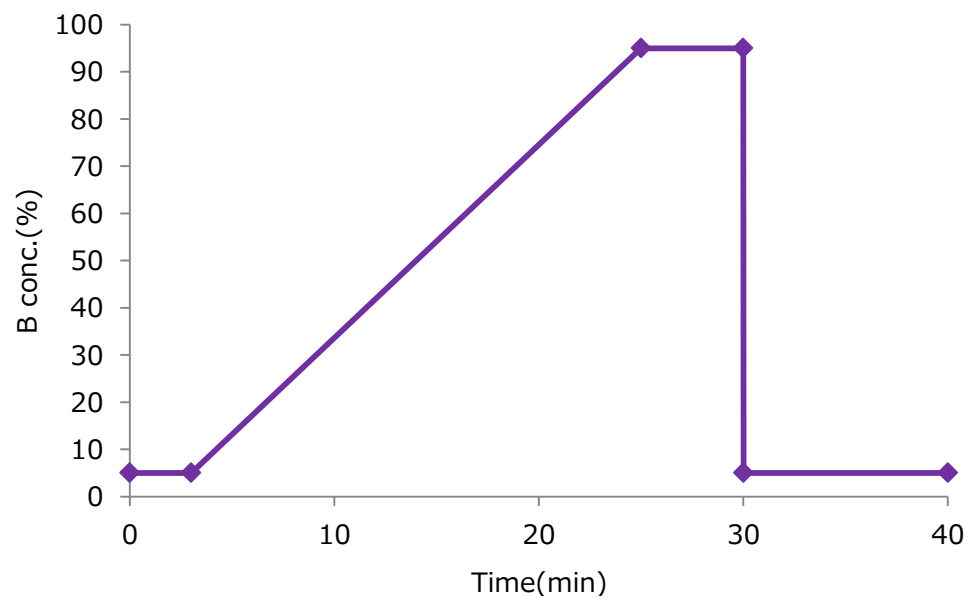
① LC-MS/MS測定条件

測定条件

Code No.56111 劇
PL動物薬LC/MS Mix 2 (14種混合)

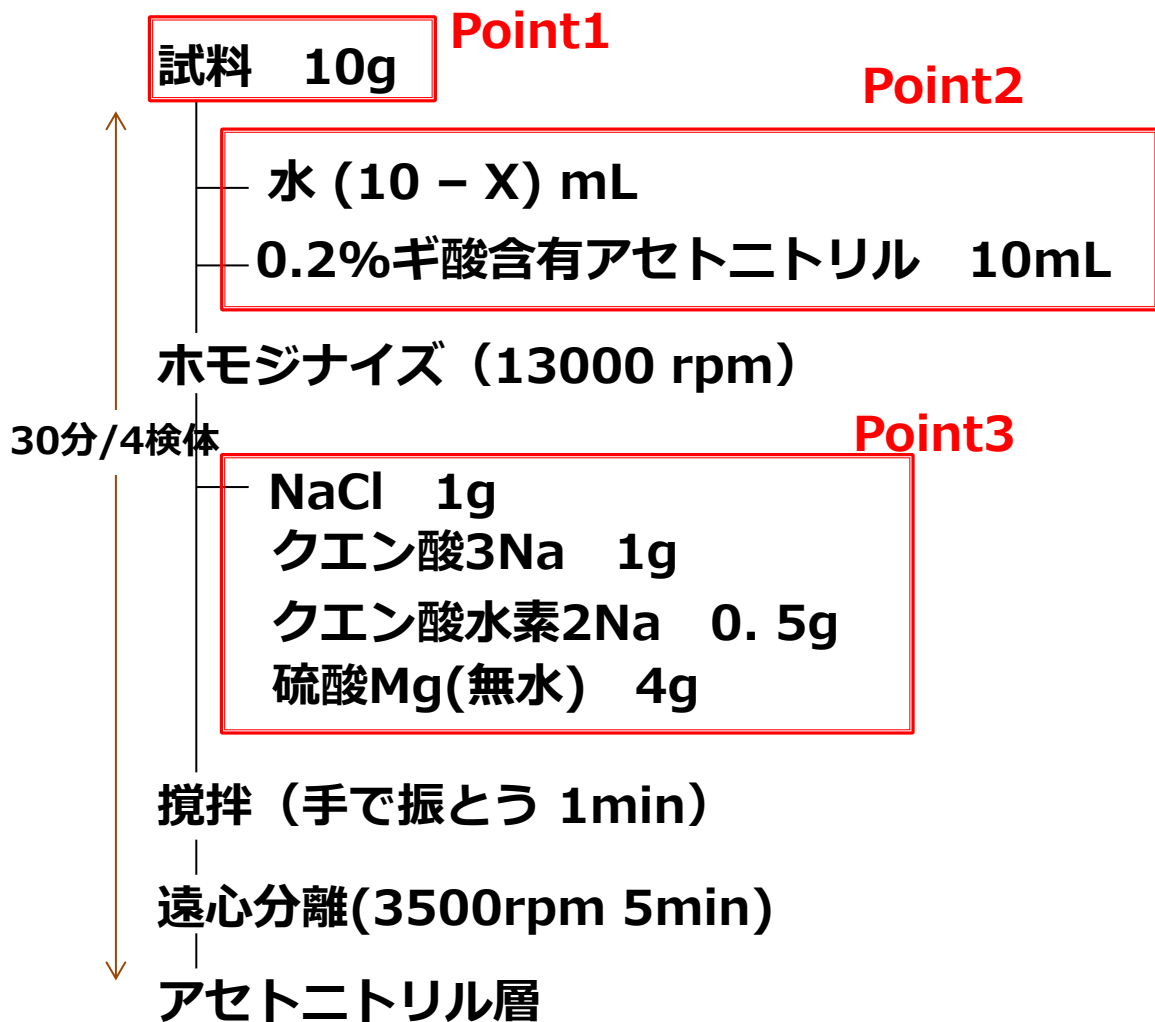
| Name | RT | 定量 | | 定性 | |
|----------------|------|-------|-------|-------|-------|
| | | Q1 | Q3 | Q1 | Q3 |
| Ciprofloxacin | 9.94 | 332.2 | 314.2 | 332.2 | 231.1 |
| Danofloxacin | 10.2 | 358.2 | 82.2 | 358.2 | 283.3 |
| Difloxacin | 11 | 400.1 | 356.2 | 400.1 | 299.2 |
| Enrofloxacin | 10.4 | 360.1 | 316.1 | 360.1 | 245.1 |
| Flumequine | 16.3 | 262 | 244 | 262 | 202 |
| Marbofloxacin | 9.53 | 363.2 | 72.1 | 363.2 | 345.3 |
| Miloxacin | 13.8 | 264.1 | 246.1 | 264.1 | 215.1 |
| Nalidixic acid | 15.9 | 233 | 187 | 233 | 159 |
| Norfloxacin | 9.77 | 320.2 | 302.1 | 320.2 | 276.3 |
| Ofloxacin | 9.8 | 362.1 | 261.2 | 362.1 | 318.1 |
| Orbifloxacin | 10.5 | 396.1 | 295.2 | 396.1 | 352.2 |
| Oxolinic acid | 13.9 | 262.1 | 244.1 | 262.1 | 216.1 |
| Piromidic acid | 17.5 | 289.2 | 271.2 | 289.2 | 243.2 |
| Sarafloxacin | 10.9 | 386.1 | 299.2 | 386.1 | 342.2 |

| time(min) | 0 | 3 | 25 | 30 | 30.01 | 40 |
|------------|----|----|----|----|-------|----|
| A conc.(%) | 95 | 95 | 5 | 5 | 95 | 95 |
| B conc.(%) | 5 | 5 | 95 | 95 | 5 | 5 |



② QuEChERS抽出と注意点

溶媒抽出操作 (抽出)



Point1

凍結粉碎でパウダー状に粉碎



Point2

試料中水分量 (Y %) に応じて水を添加
 $X = 10 \text{ (g)} \times Y \text{ (%)}$
 抽出溶媒にギ酸を添加してpH調整

Point3

4種類の塩による相互作用

NaCl、MgSO₄ . . . 塩析、液液分配
 クエン酸塩類 . . . 緩衝作用

Poitrn1

凍結粉砕でパウダー状に粉砕

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。
- ◆ **粉砕力** ➤ 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)
- ◆ **操作性** ➤ サラサラのパウダーになるため試料採取が容易
- ◆ **保管性** ➤ 冷凍状態のまま保管することが可能で再分析も容易。
- ◆ **分解抑制** ➤ 極低温で粉砕することで熱による分解や酵素活性を
抑えたまま、試料を均一化することが可能。

凍結粉碎でパウダー状に粉碎



操作手順①
粉碎容器を冷却



操作手順②
試料を予冷



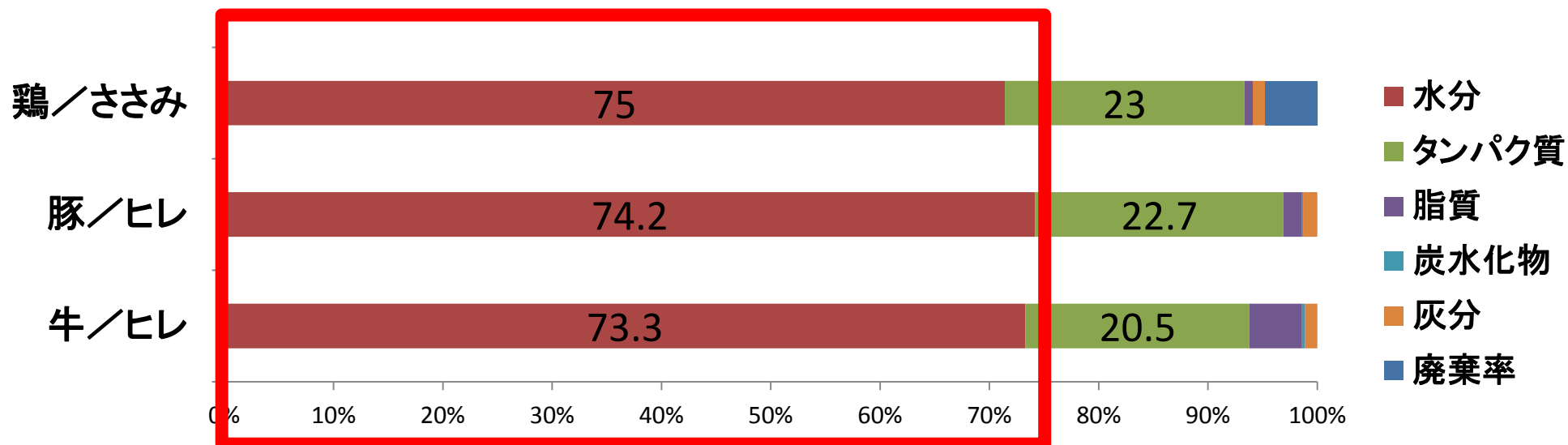
操作手順③
試料粉碎

Point2

試料中水分量に応じて水を添加

Sample with a **water content between 25 und 80 %** (e.g. bananas) require the addition of water to **achieve a total of 10 g water** (when 10 g sample is employed).

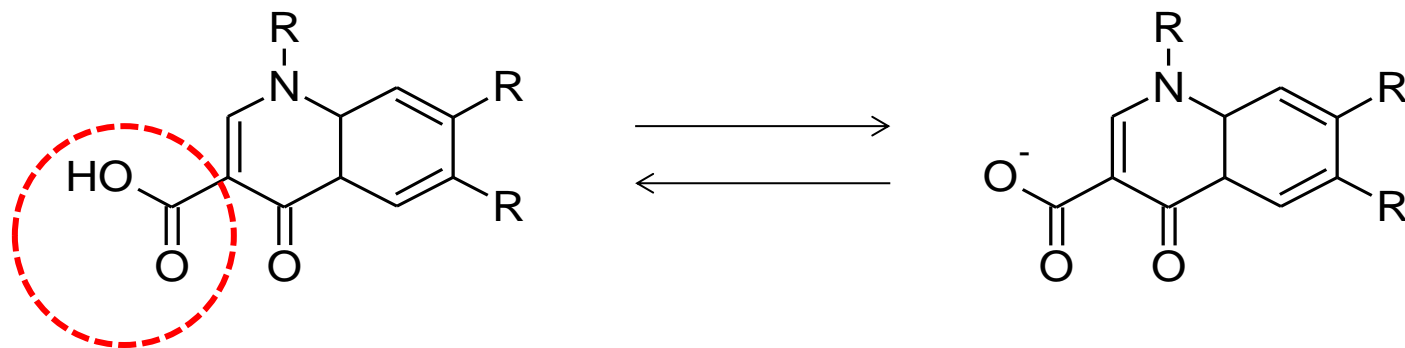
<http://quechers.cvua-stuttgart.de/>



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

Point2

抽出溶媒にギ酸を添加してpH調整



カルボン酸を官能基に持つためpHによって解離⇌非解離状態に

- pH \geq 3.5でキノロン剤のほとんどが水層に分配する。
- pHを更に下げることによって解離を抑え、有機層へ分配しやすくする。

Point3

4種類の塩による相互作用



After the initial single-phase extraction with MeCN, salts (MgSO₄ and NaCl) were added to **induce phase separation**.

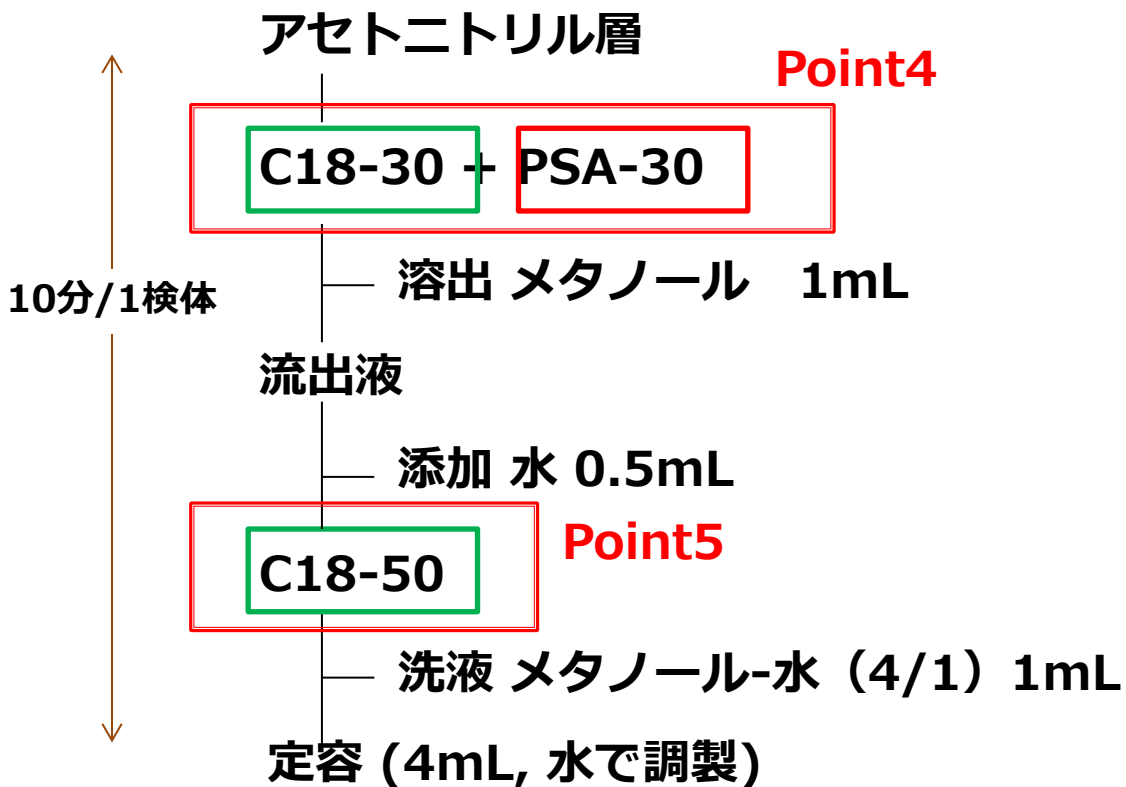
Anastassiades et al; Journal of AOAC International Vol.86, No.2, 2003

By adding the citrate buffering salts most samples obtain pH-values between 5 and 5.5. This pH range is a **compromise**, at which both, **the quantitative extraction of sour herbicides** and **the protection of alkali labile and acid labile compounds** is sufficiently achieved.

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

③ 固相ミニカラムによる精製と注意点

固相抽出操作（精製）



Point4

固相ミニカラムで夾雑成分を除去

C18・・・脂質、低極性成分

PSA・・・脂肪酸

Point5

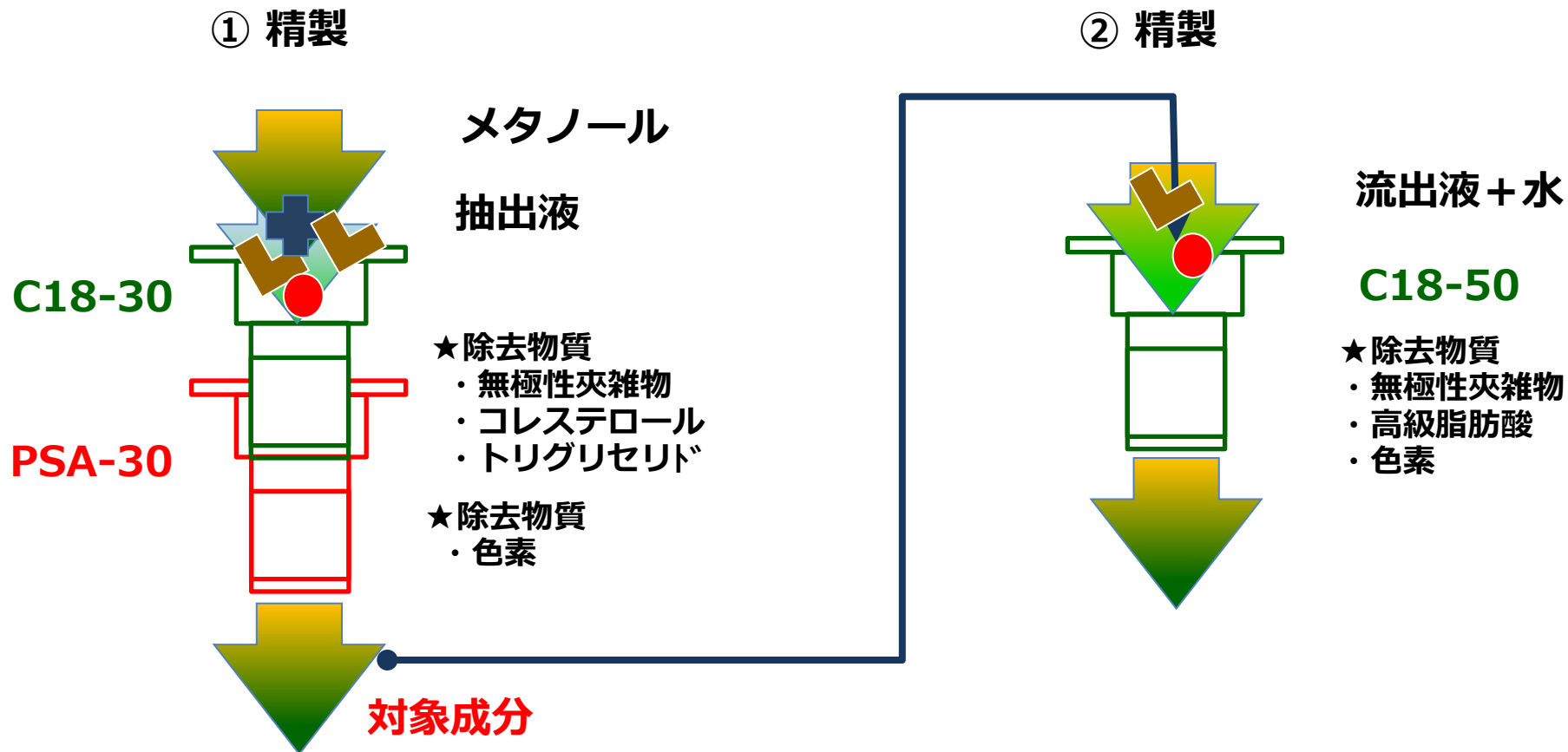
水を添加して溶媒の極性を調製することでLCのカラムの負担を軽減



※自動前処理装置により固相抽出操作の自動化が可能。

③ 固相ミニカラムによる精製と注意点

固相抽出操作（精製）



Point4

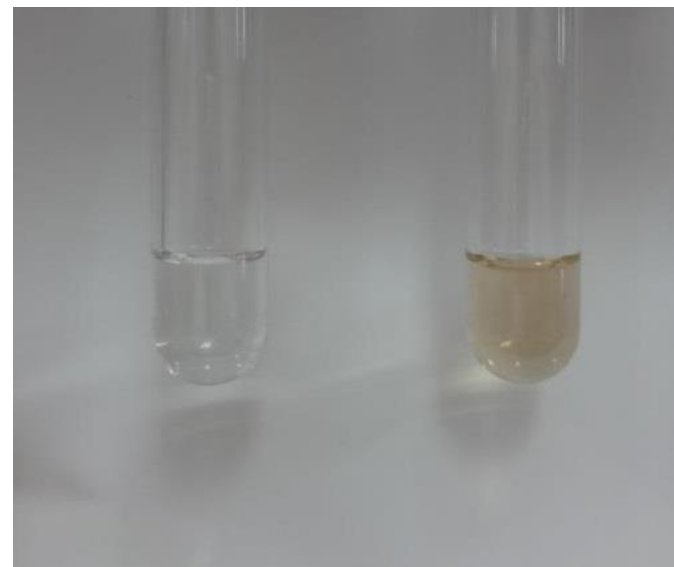
固相ミニカラムで夾雑成分を除去

PSAミニカラムによる精製効果

弱陰イオン交換相互作用



抽出液通液後の固相ミニカラム

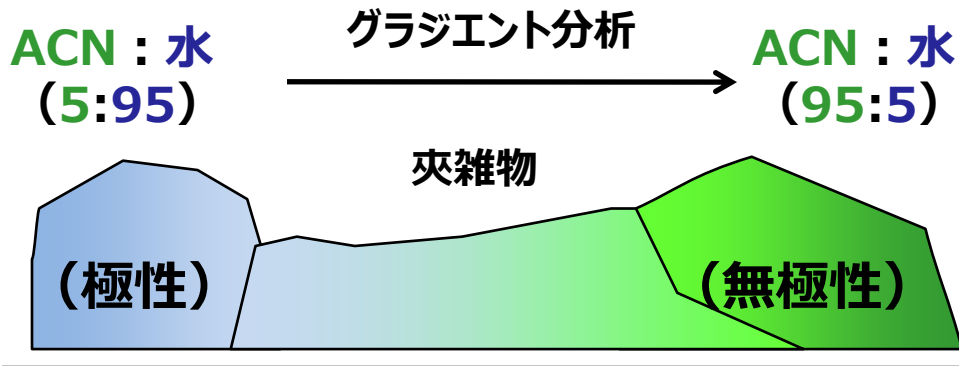


固相ミニカラム通液後の試料

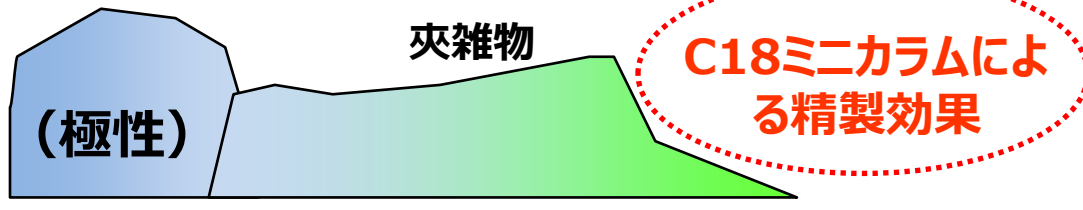
Point5

固相C18の精製によるLCカラムへの効果

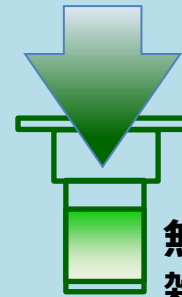
□ 固相C18を用いない場合



□ 固相C18による精製の場合



MeOH : 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。

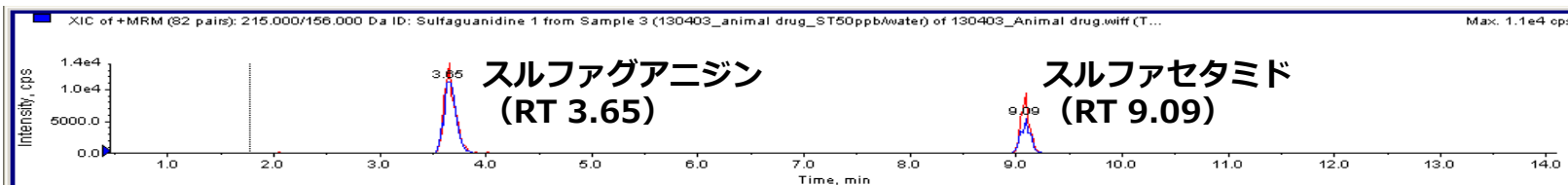
メリット

- 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

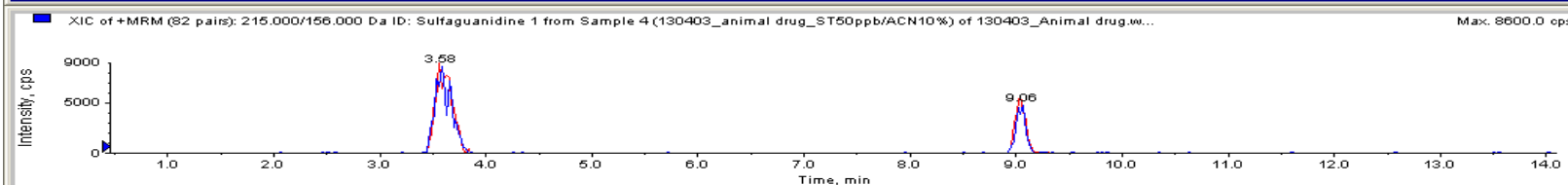
ピーク形状の改善に向けて

【参考】 アセトニトリル-水比率によるピーク形状の変化

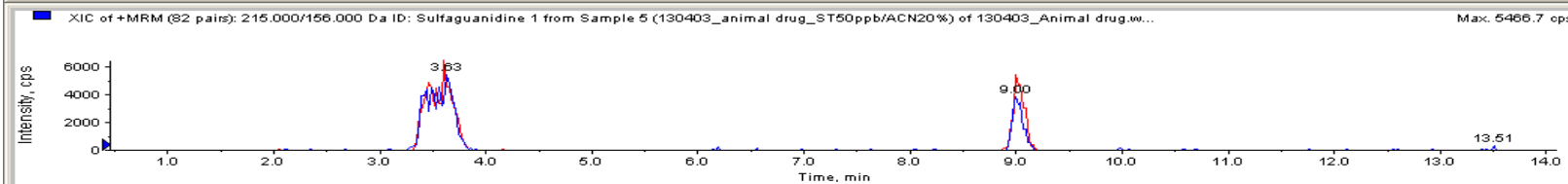
ACN10%



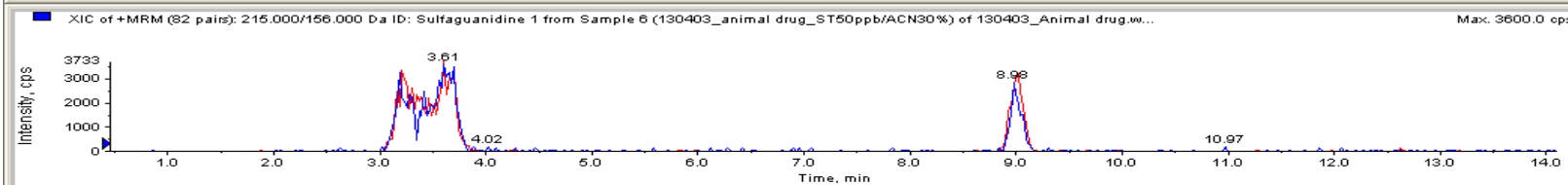
ACN20%



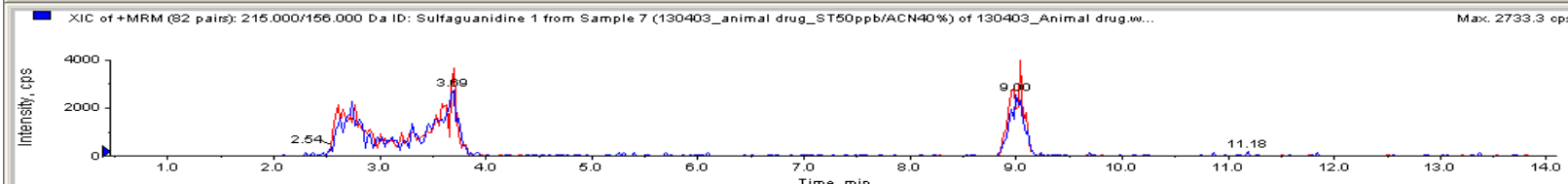
ACN30%



ACN40%



ACN50%



前処理のポイントおさらい

➤ **凍結粉碎でサンプリングが容易に。**

さらさらのパウダーのためサンプリング時の操作が改善した。

➤ **目的化合物をアセトニトリル層に分配。**

水分調整やpH調整を行うことで高極性($\text{LogP} \leq 0$)成分も分配可能であった。

➤ **4種の塩による相互作用。**

塩を加えることで液液分配や層分離の促進が可能であった。

➤ **固相ミニカラムによる精製効果**

C18やPSAを使用することで、食肉に多く含まれる脂質や脂肪酸を除去した。

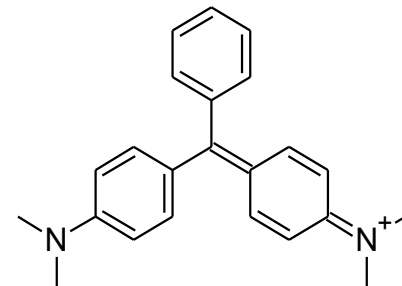
各種分析法のご紹介

マラカイトグリーン

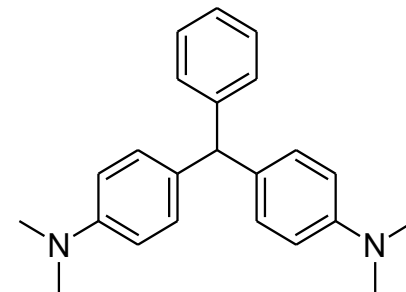
マラカイトグリーン(以下MG)は水カビなどの治療薬として観賞魚に用いられるが、食用の養殖魚への使用は禁止されている。

- MGは光分解性があり、迅速な分析法が求められている。
- 酸化還元反応により、MG \rightleftharpoons ロイコマラカイトグリーン(以下LMG)の代謝が起こるとされている。
- MGは食品衛生法の規格基準で不検出であり、定量限界はMG・LMGともに**0.002ppm(=2ppb)**
- 2005年8月に中国産のウナギから検出され、そのほか輸入養殖魚からも検出が相次いだ。

MG



LMG



① LC-MS/MS測定条件

| | |
|---------|--------------------------------------|
| LC | : Prominence (島津製作所) |
| MS/MS | : API3200 (エービー・サイエックス) |
| カラム | : Atlantis T3 3um 2.1x150mm |
| 移動相 | : A…0.1%ギ酸 B…アセトニトリル |
| 流速 | : 0.2mL/min |
| 注入量 | : 10 uL |
| イオン化モード | : ESI Positive |
| 測定モード | : MRM (Multiple Reaction Monitoring) |

② QuEChERS抽出と注意点

試料(うなぎ蒲焼) 10g

Point 1

クエン酸・リン酸Buffer (pH 3) 4mL
ACN 10mL

Point 1

緩衝液を用いて水分調整
+pH調整

30分/4検体

ホモジナイズ(1分 13000rpm)

Point 2

NaCl 1g
MgSO₄ 4g

Point 2

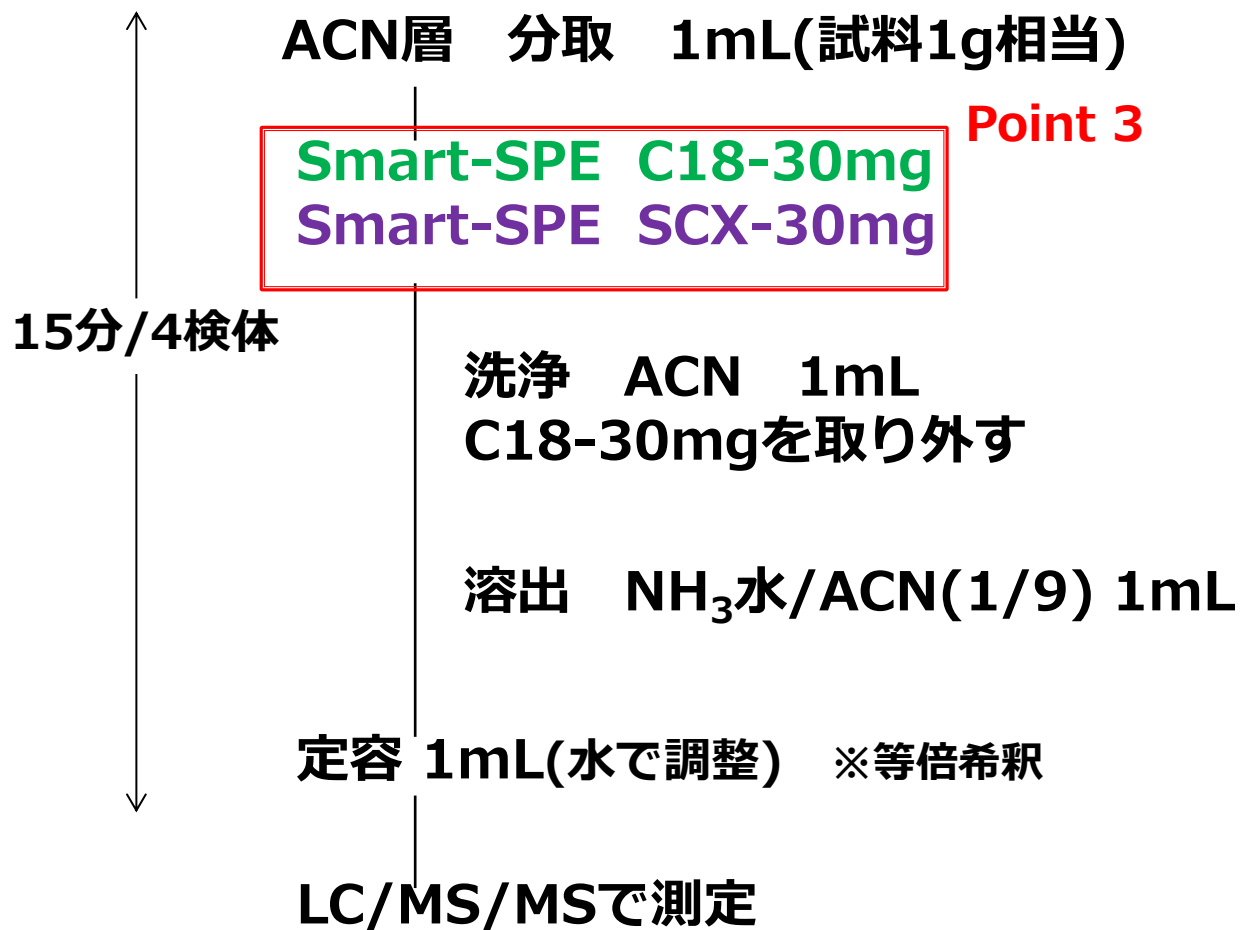
層分離及び液液分配のため
の試薬を使用

撈拌 (手で振とう 1分)

遠心分離(5分 3000rpm)

冷凍(30分)

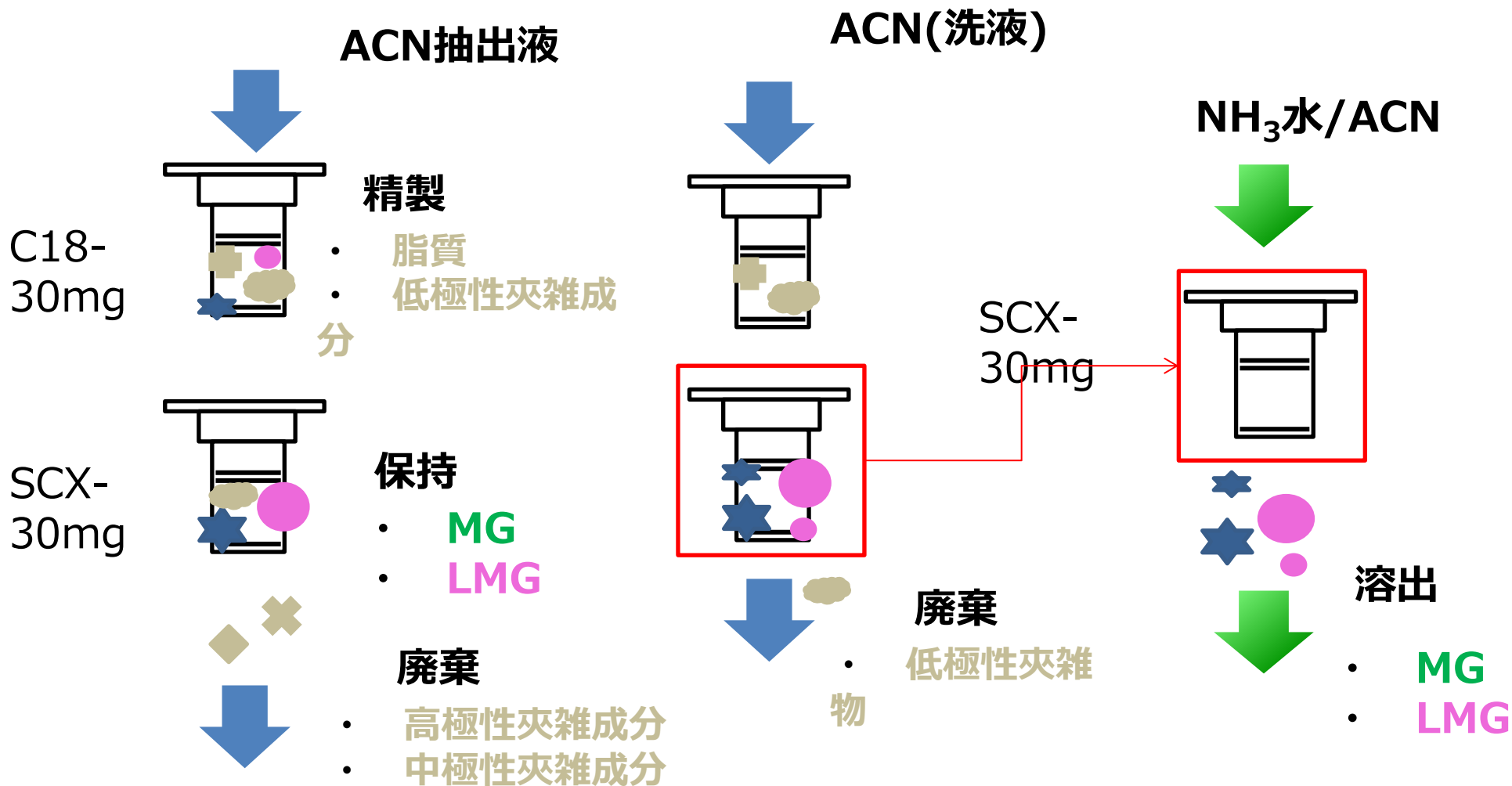
③ 固相ミニカラムによる精製と注意点



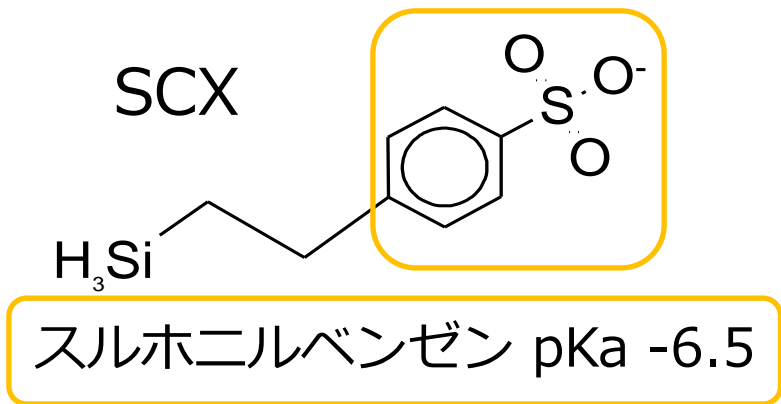
Point 3

無極性固相で精製し、
陽イオン交換固相で保持

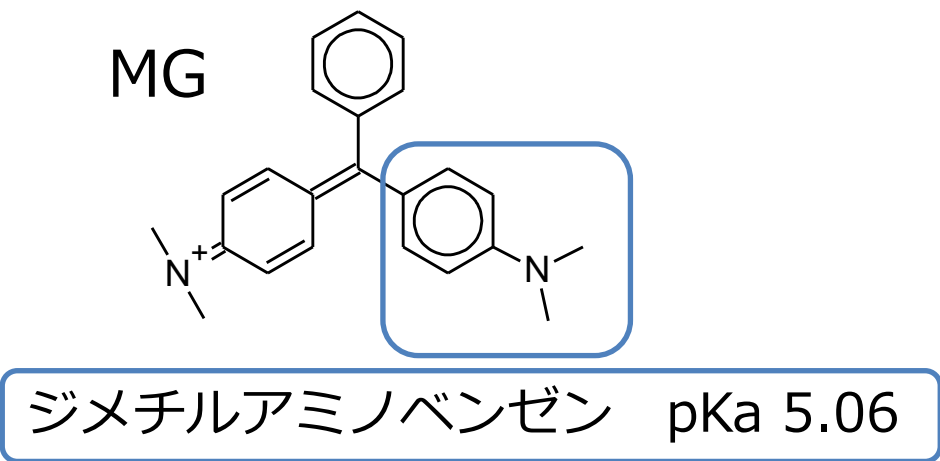
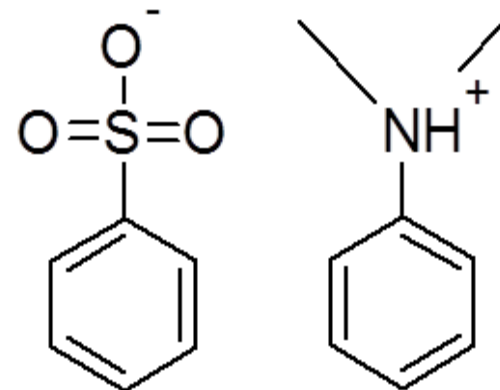
Point 3 固相ミニカラムによる精製のイメージ



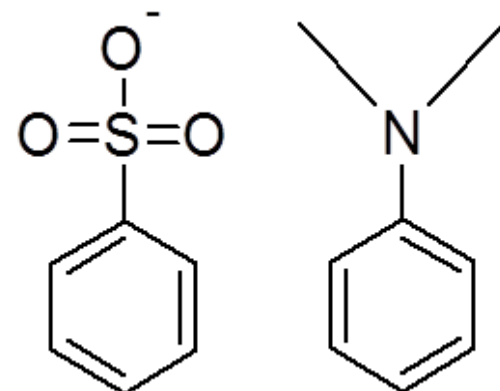
Point 3 陽イオン交換のメカニズム



酸性条件下(抽出液 pH3)



塩基性条件下(測定液 pH9)



前処理のポイントおさらい

➤ 抽出時に緩衝液を使用。

クエン酸・リン酸Buffer (pH3) を用いることで、抽出時の水分調整およびpH調整を一度に実施した。

➤ 塩を用いて層分離及び液液分配の促進。

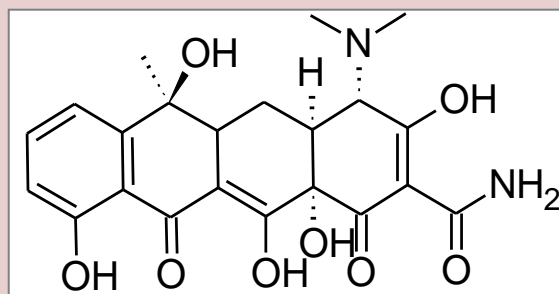
塩化ナトリウムおよび無水硫酸マグネシウムにより層分離及び液液分配が促進され、遠心分離による抽出の簡略化が行えた。

➤ 固相ミニカラムによる精製効果

C18により脂質等の無極性夾雑物を除去し、目的化合物をSCXに確実に保持させることが可能であった。溶出にNH₃水/ACNを使用することでLC-MS/MSへの直接導入が可能であった。

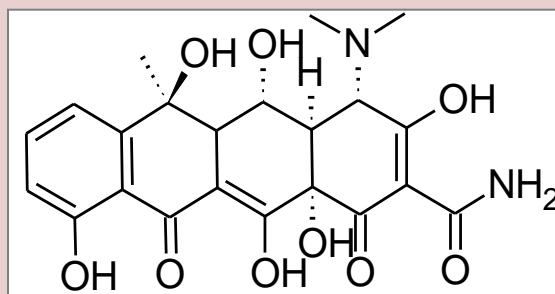
各種分析法のご紹介

テトラサイクリン



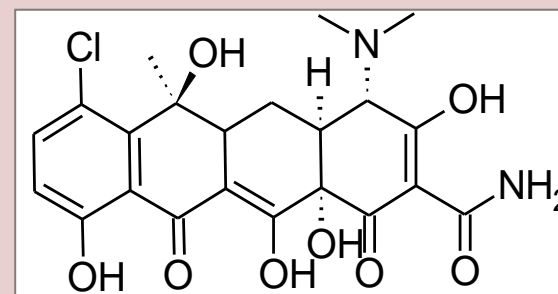
CAS : 60-54-8
MF : C₂₂H₂₄N₂O₈
MW : 444.4
LogPow : -2

オキシテトラサイクリン



CAS : 79-57-2
MF : C₂₂H₂₄N₂O₉
MW : 460.4
LogPow : -1.6

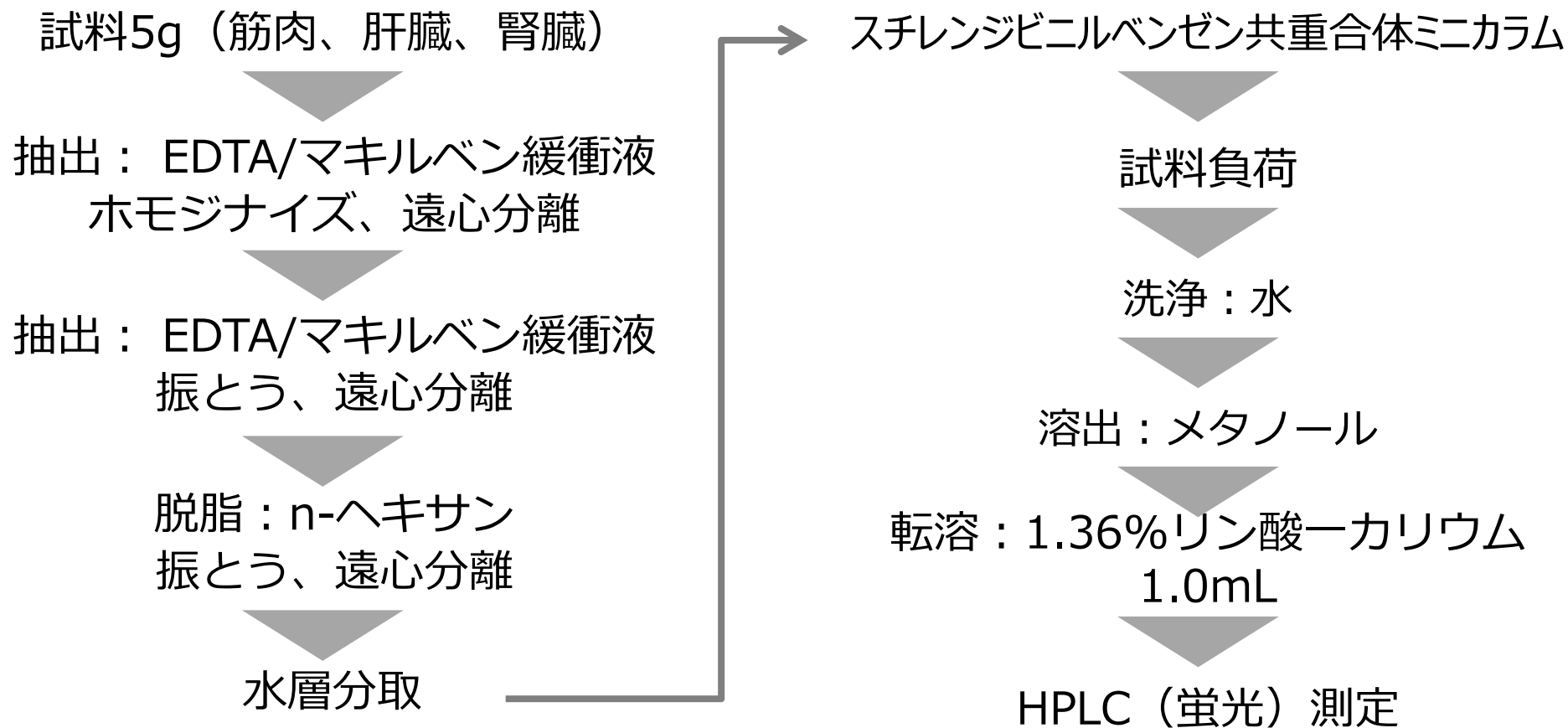
クロルテトラサイクリン



CAS : 57-62-5
MF : C₂₂H₂₃ClN₂O₈
MW : 478.9
LogPow : -1.3

通知試験法

オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン及びテトラサイクリン試験法



通知法の問題点

1. n-ヘキサンで脱脂を行っているが、
エマルジョンを形成しやすく操作に慣れが必要である。
2. 抽出液が懸濁しており、
固相への通液に時間がかかったり目詰まりしやすくなる。
3. 固相を1種類しか使わないため、試料によっては精製効果が
弱く測定時にマトリックスの影響を受けやすい。

1. n-ヘキサンによる脱脂



分液ロート使用

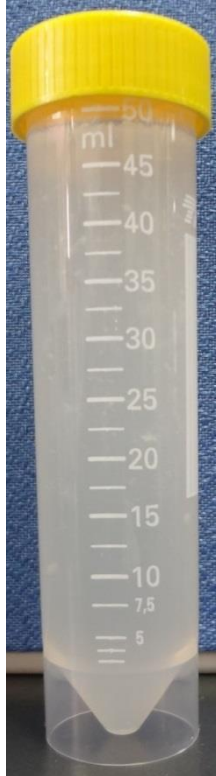
- ① エマルジョンを形成しやすい
- ② 分離に時間がかかる
- ③ 洗い物が多く手間がかかる



遠心分離使用

- ④ ヘキサンが上層に来るため、水層採取が困難。
- ⑤ 水層とヘキサン層の間にゲル状の層ができることがある。

2. 固相の目詰まり



鶏肉抽出液

固相の目詰まり

抽出液が懸濁しており溶解しきっていない
脂質などが原因と考えられた。

再度遠心分離を行うことで懸濁を除去できないか考えた。

回転数と時間

回転数を①4000rpm ②6000rpm ③9000rpm ④12000rpmに設定し、回転時間をそれぞれ5分、10分と変化させて違いを観察した。また、合わせて抽出時の遠心分離時間を5分、10分に変化させて比較した。

2. 固相の目詰まりへの対策



- ▶ 12000rpmで十分な効果が得られた
- ▶ 回転時間による分離の違いは見られなかった
- ▶ 抽出時の回転時間による沈殿の様子に変化がなかった

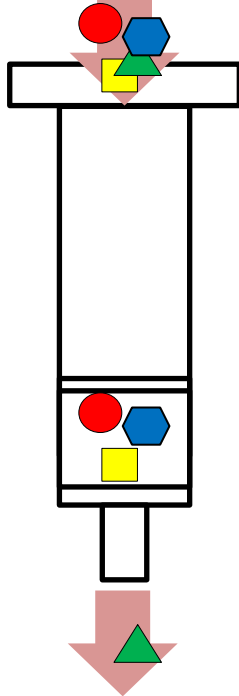


12000rpmで5分間に設定
抽出時の回転時間も5分間に変更

3. 精製不足

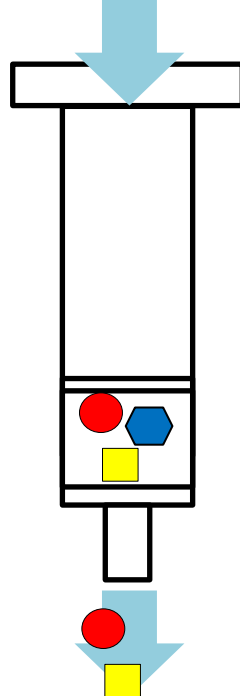
① 保持

EDTA/マキルベン緩衝液



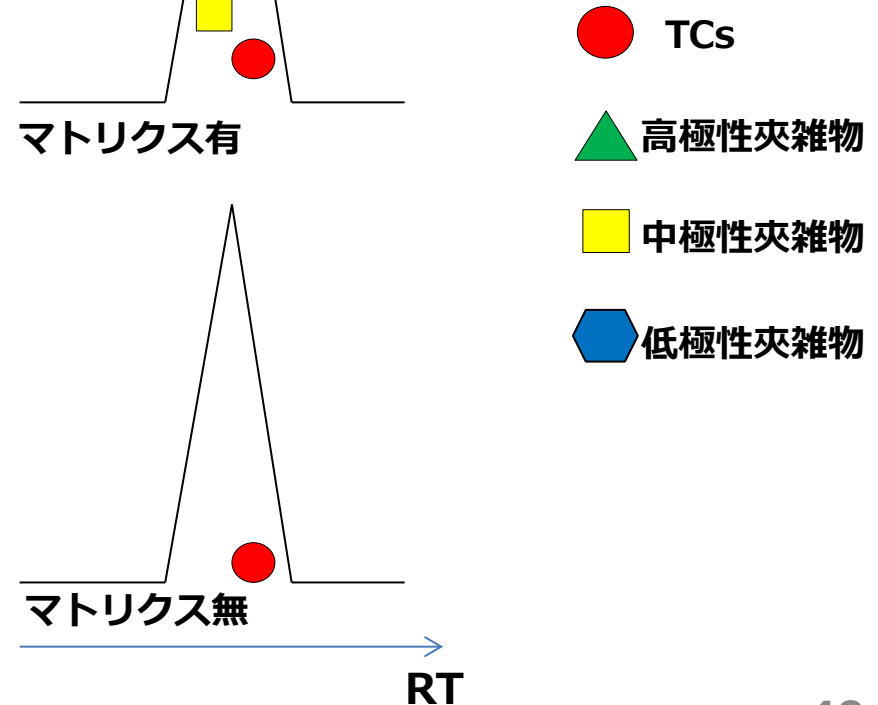
② 溶出

メタノール



③ 測定

マトリクスによっては
イオン化阻害・促進を受ける
(= 低回収率・高回収率)



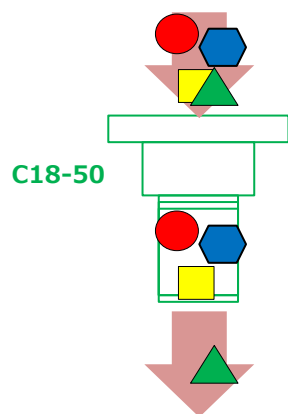
3. 精製不足への対策



前処理イメージ

① 保持

C18-50に抽出液を負荷する
EDTA/マキルベン緩衝液



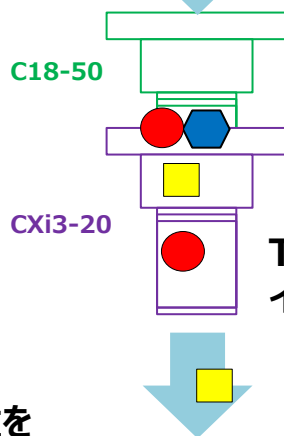
EDTA…キレート作用で固相中の金属部位を
コーティングしてTCsを保護

マキルベン緩衝液…pHを中性に調節することで、
TCsを中性に保ちC18との相互作用

② 溶出&保持

CXi3-20を連結してC18-50から溶出
CXi3-20で保持

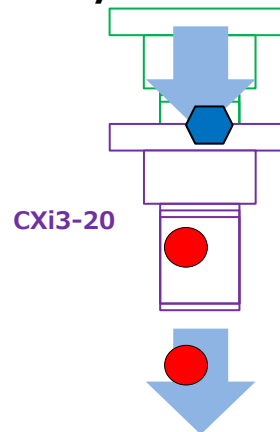
メタノール/水 (6/4)



TCsのアミノ基 (+) と
イオン交換相互作用

③ 溶出

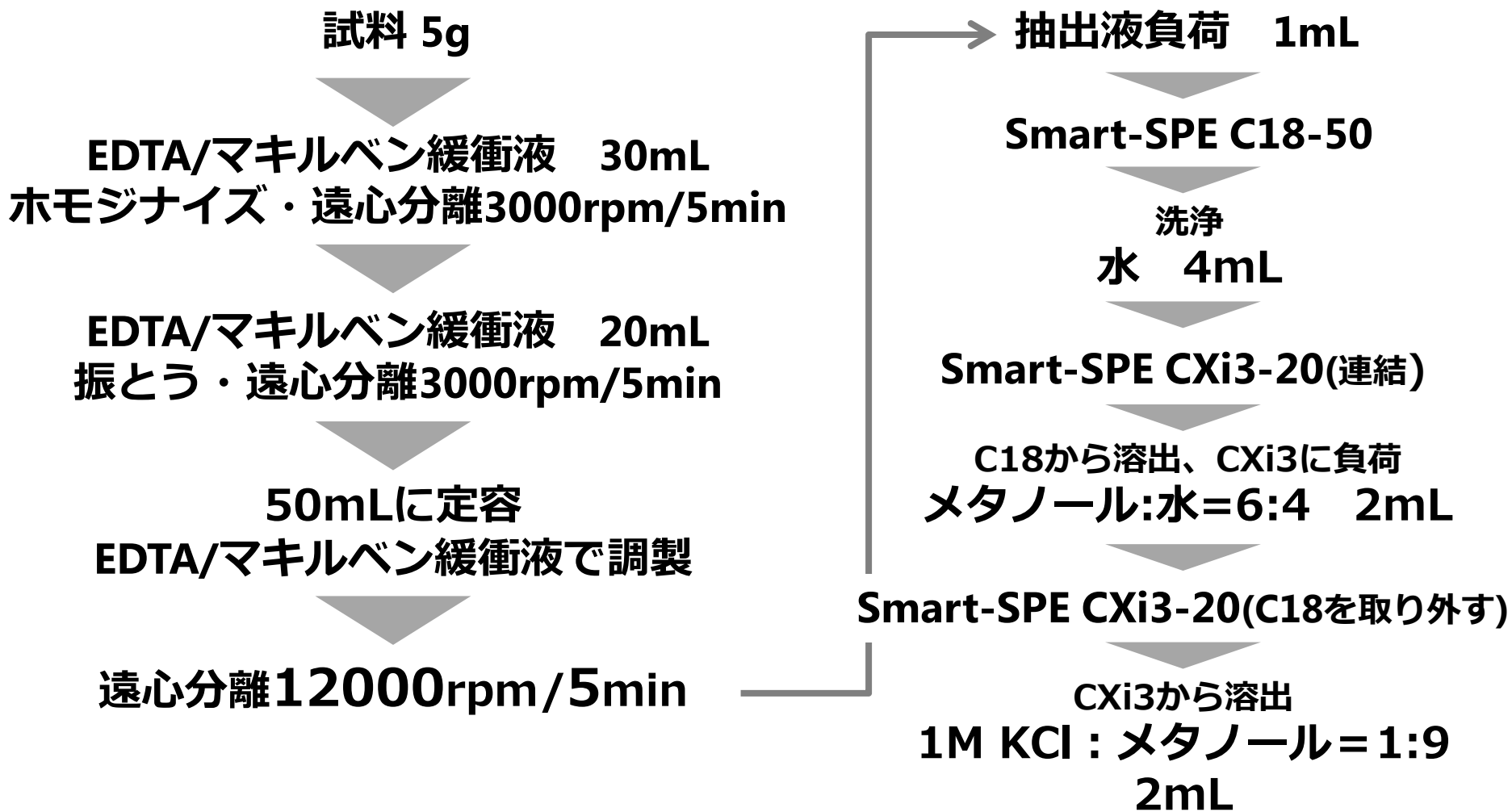
C18-50を取り外してCXi3-20から溶出
1M KCl/メタノール (1/9)



アミノ基よりも相対的吸着特性の高い
K(+)でCXi3から溶出

- TCs
- ▲ 高極性夾雑物
- 中極性夾雑物
- ⬡ 低極性夾雑物

前処理フロー



前処理に使用する試薬調整方法

A. EDTA/マキルベン緩衝液 50mL/1検体

- | | | |
|---------------|--------|-----------------|
| ①クエン酸 | 12.89g | } 水に溶かして1Lに定容する |
| ②リン酸水素2Na | 27.63g | |
| ③EDTA・2Na2水和物 | 3.72g | |

B. 0.2M EDTA 2mL/1検体

- ①EDTA・2Na 22.98gを水に溶かして300mLに定容する

C. メタノール-水(6/4) 4mL/1検体

- ①メタノール60mLと水40mLを混合する

D. 1M KCl-メタノール (1/9) 2mL/1検体

- ①塩化カリウム3.7gを水に溶かし50mLに定容する
 ②メタノール450mLと①で作成した溶液を混合する

通知試験法との比較(溶媒抽出)

通知法

試料 5g

EDTA/マキルベン緩衝液 30 mL
ホモジナイズ・遠心分離3000rpm/10min

EDTA/マキルベン緩衝液 20 mL
振とう・遠心分離3000rpm/10min

脱脂：n-ヘキサン
振とう・遠心分離
3000rpm/10min

本法

試料 5g

EDTA/マキルベン緩衝液 30mL
ホモジナイズ・遠心分離3000rpm/5min

EDTA/マキルベン緩衝液 20mL
振とう・遠心分離3000rpm/5min

50mLに定容
EDTA/マキルベン緩衝液で調製

遠心分離12000rpm/5min

通知試験法との比較(固相抽出)

通知法

抽出液負荷 50 mL

スチレンジビニルベンゼン共重合体

洗浄
水 10 mL

溶出
メタノール 10 mL

減圧濃縮 ($\leq 40^{\circ}\text{C}$)

転溶
1.36%リン酸一カリウム 1 mL

本法

抽出液負荷 1mL

Smart-SPE C18-50

洗浄
水 4mL

Smart-SPE CXi3-20(連結)

C18から溶出、CXi3に負荷
メタノール:水=6:4 2mL

Smart-SPE CXi3-20(C18を取り外す)

CXi3から溶出
1M KCl : メタノール = 1:9
2mL

添加回収試験の結果

鶏肉（ササミ）、牛肉（赤身）を試料に添加回収試験を実施した

| 化合物名 | 鶏肉（ササミ） | | | |
|-------------|------------------|------------|------------------|------------|
| | 各3併行 | | | |
| | 添加濃度0.2ppm | | 添加濃度10ppm | |
| | 平均 回収率 (%) | RSD (%) | 平均 回収率 (%) | RSD (%) |
| オキシテトラサイクリン | 85 | 7 | 88 | 8 |
| クロルテトラサイクリン | 78 | 9 | 77 | 7 |
| テトラサイクリン | 87 | 0 | 87 | 5 |

| 化合物名 | 牛肉（赤身） | |
|-------------|------------------|------------|
| | 5併行 | |
| | 添加濃度0.2ppm | |
| | 平均 回収率 (%) | RSD (%) |
| オキシテトラサイクリン | 80 | 5 |
| クロルテトラサイクリン | 82 | 4 |
| テトラサイクリン | 79 | 3 |

測定条件

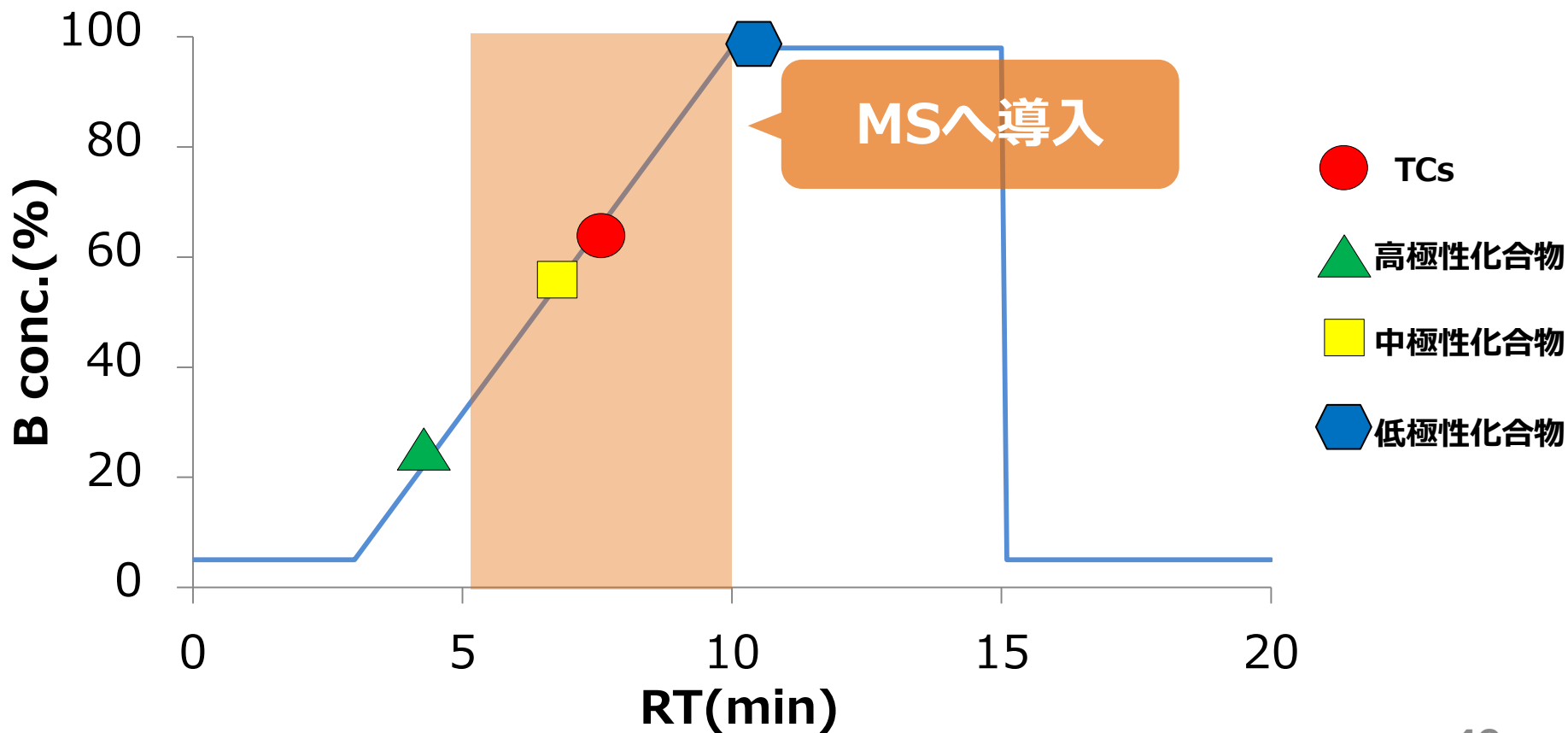
LC : Prominence (島津製作所)
MS/MS : API3200 (エービー・サイエックス)
カラム : YMC-Triart C18 (ワイエムシイ)
移動相 : A…0.05%ギ酸 B…アセトニトリル
流速 : 0.2mL/min
注入量 : 5uL
イオン化モード : ESI Positive
測定モード : MRM (Multiple Reaction Monitoring)

| Name | RT | 定量 | | 定性 | |
|-------------------|-----|-------|-------|-------|-------|
| | | Q1 | Q3 | Q1 | Q3 |
| Chlortetracycline | 8.9 | 479.1 | 444.0 | 479.1 | 154.0 |
| Oxytetracycline | 8.4 | 461.2 | 426.0 | 461.2 | 201.2 |
| Tetracycline | 8.5 | 445.2 | 410.1 | 445.2 | 154.0 |

| グラジエント条件 | | time(min) | | | | | |
|----------|---|-----------|----|----|----|------|----|
| | | 0 | 3 | 10 | 15 | 15.1 | 20 |
| conc.(%) | A | 95 | 95 | 2 | 2 | 95 | 95 |
| | B | 5 | 5 | 98 | 98 | 5 | 5 |

測定条件

| Name | RT | 定量 | | 定性 | |
|-------------------|-----|-------|-------|-------|-------|
| | | Q1 | Q3 | Q1 | Q3 |
| Chlortetracycline | 8.9 | 479.1 | 444.0 | 479.1 | 154.0 |
| Oxytetracycline | 8.4 | 461.2 | 426.0 | 461.2 | 201.2 |
| Tetracycline | 8.5 | 445.2 | 410.1 | 445.2 | 154.0 |



前処理のポイントおさらい

Point 1 無極性固相による脱脂

C18ミニカラムを使用することで脱脂が可能で、n-ヘキサンとの**液液分配が不要**。

Point 2 試料通液速度

試料を固相に通す際の速度は回収率に大きく影響する。（ **1 滴/秒**）

Point 3 EDTAによる固相のコーティング

コンディショニング時に高濃度のEDTA溶液を通すことで、固相中の不純金属部位がコーティングされ**TCsとのキレート形成を防ぐ**。

前処理のポイントおさらい

Point 4 CXi3による陽イオン交換

TCsはアミノ基 (+) を持っているため、
CXi3 (-) とイオン交換相互作用により保持が可能。
精製効果の追加により**LC-MS/MS測定時のイオン化阻害 (促進) を回避。**

Point 5 CXi3からの溶出

CXi3からの溶出に**1M KCl/メタノール**を使用することで、
カラム充填材へのダメージを抑えることが可能。

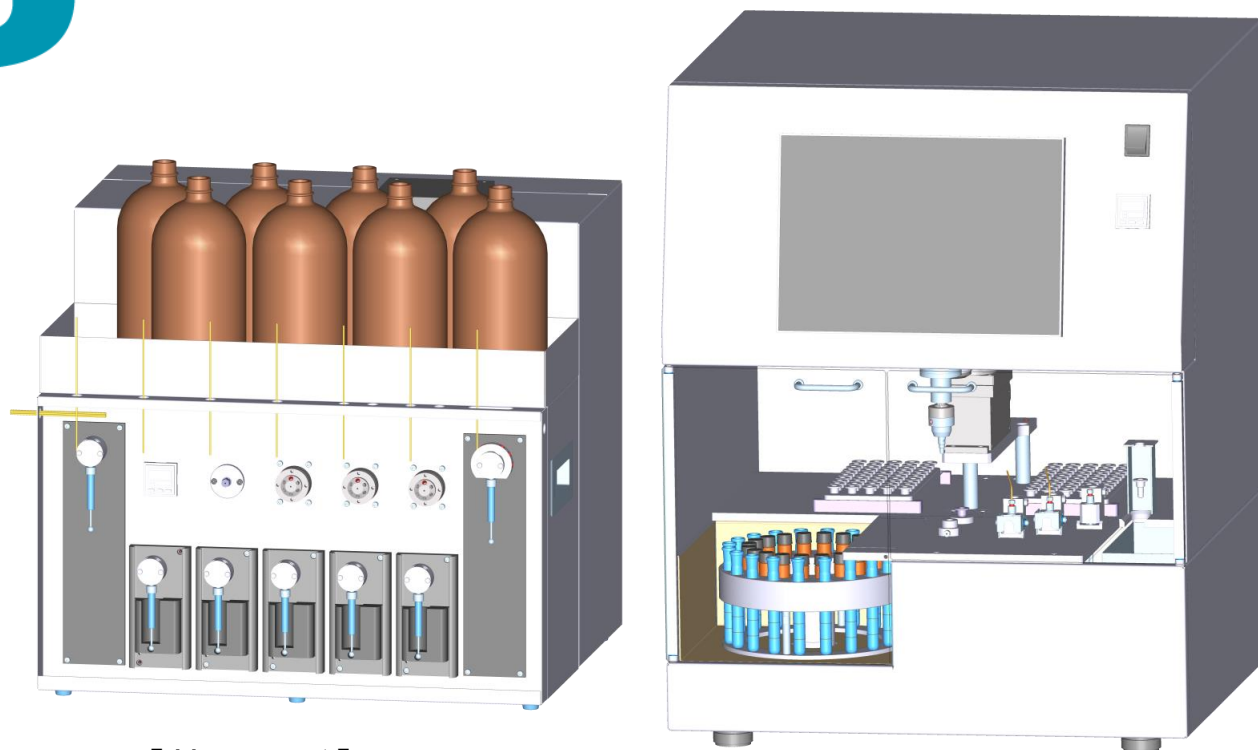
Point 6 必要な分画のみをMSへ導入

TCsが溶出する時間のみMSへ導入し、
スイッチングバルブを使用して**高極性夾雑物や低極性夾雑物を排除。**

全自動固相抽出装置の概要 (ST-L400/ST-G400)



Beyond your Imagination



【共同開発】

公益財団法人 科学技術交流財団「知の拠点」あいち
株式会社アイスティサイエンス

前処理を自動化し空いた時間で 何がやりたいですか？

～全自動固相抽出装置の有効活用～

受入検体数を
増やそう

新しい分析法を
検討しよう



- 1, 装置特徴とメリット
- 2, 装置説明

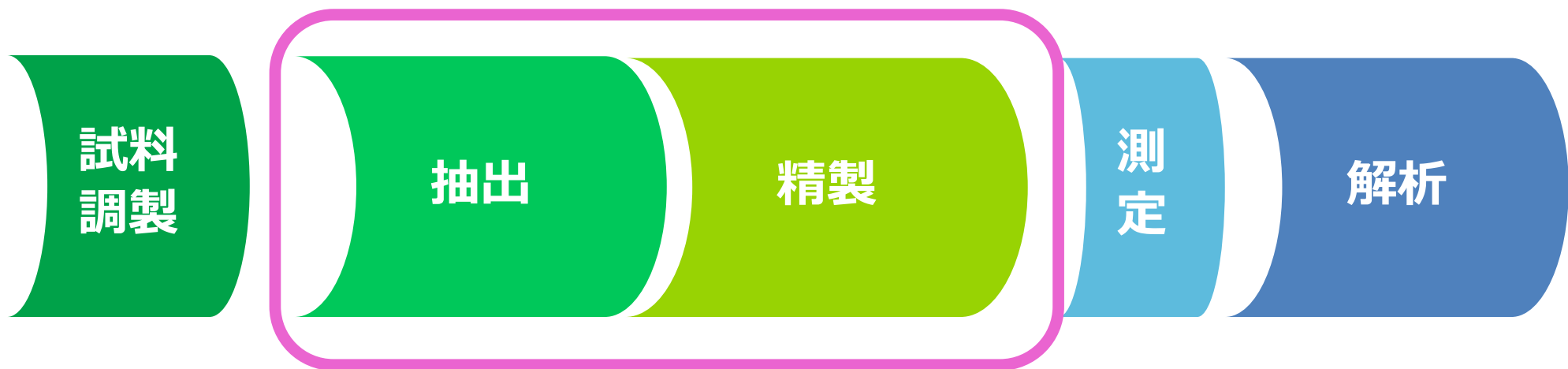
1, 装置特徴とメリット

各種分析

- ◎ 残留農薬
- ◎ 動物用医薬品
- ◎ 毒物 （カビ毒、貝毒など）
- ◎ その他汚染物質
- ◎ 添加物
- ◎ 栄養成分
- など



主な工程（例：残留農薬分析）



- ・現状、手作業
- ・試験中のばらつきの主要因
- ・引継ぎ労力大



簡易化、自動化が有効

迅速・簡単・省溶媒 残留農薬一斉分析法

STQ法とは？

Solid phase extraction

Technique with

QuEChERS method

◆ 前処理方法

抽出
QuEChERS法

+

精製（手動 or 自動化）
固相カートリッジ

QuEChERS法と固相カートリッジ精製を組み合わせることで
操作性と**高精製**の両立を可能とした。

簡易・自動化の例 (STQ法)

抽出

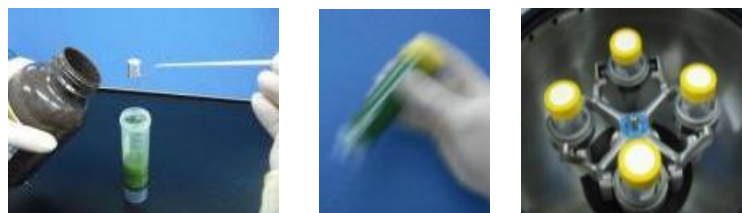
固相精製

簡単・早い

QuEChERS抽出



検体細切、凍結粉碎、抽出

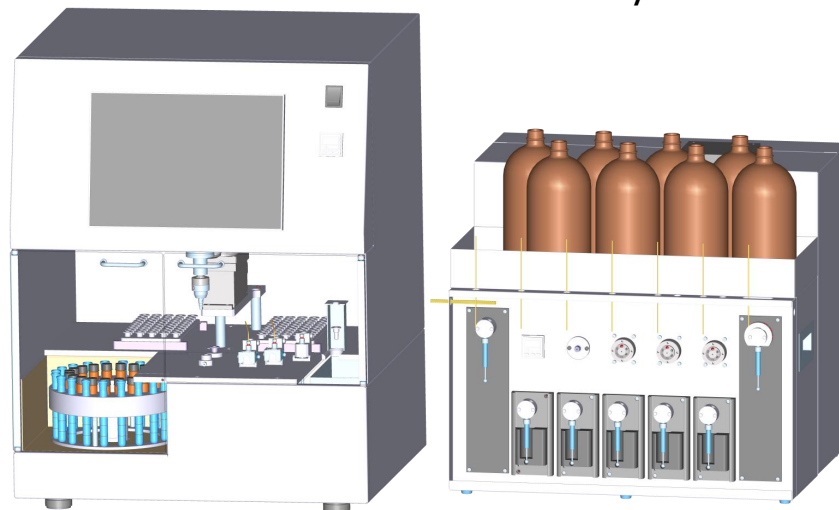


塩析、遠心分離

自動

全自動固相抽出装置

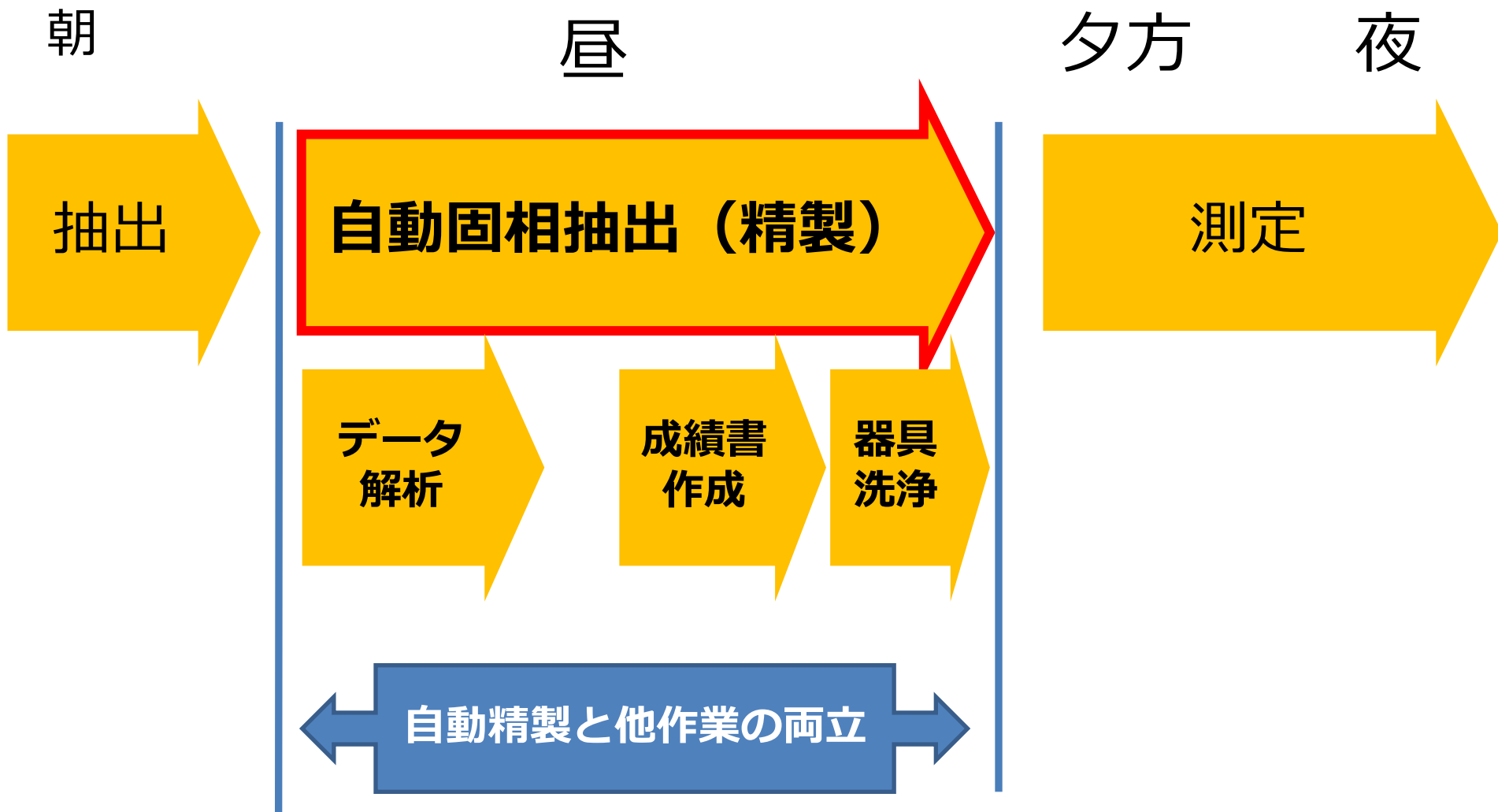
ST-L400/ST-G400



主な工程（例：残留農薬分析）

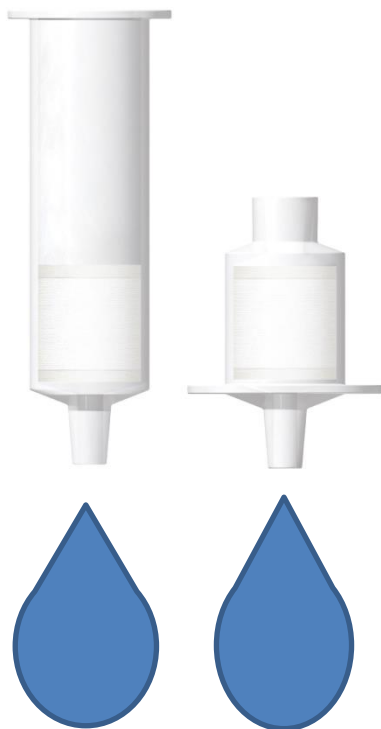


作業時間効率化の例



Smart-SPEによる溶媒削減

従来の
固相カートリッジ



固相ミニカートリッジ

Smart-SPE
Solid Phase Extraction



充填剤10~50mg

溶媒使用量が

1/10



ランニングコスト例（自動精製工程）

（1検体あたり）

GC-MS対象

| 試薬・備品 | 使用量 | 単位 | コスト(円) |
|------------------|-------|----|--------|
| アセトニトリル | 8 mL | | 27 |
| アセトン | 13 mL | | 28 |
| ヘキサン | 5 mL | | 10 |
| 塩化ナトリウム | 2 g | | 28 |
| Smart-SPE C18-50 | 1 個 | | 398 |
| Smart-SPE C18-30 | 1 個 | | 390 |
| Smart-SPE PSA-30 | 1 個 | | 398 |
| バイアル瓶 | 1 本 | | 13 |
| | | 計 | 1,292 |

LC-MS/MS対象

| 試薬・備品 | 使用量 | 単位 | コスト(円) |
|------------------|-------|----|--------|
| アセトニトリル | 6 mL | | 20 |
| アセトン | 13 mL | | 28 |
| メタノール | 12 mL | | 27 |
| Smart-SPE C18-50 | 1 個 | | 3,98 |
| Smart-SPE C18-30 | 1 個 | | 3,90 |
| Smart-SPE PSA-30 | 1 個 | | 3,98 |
| バイアル瓶 | 1 本 | | 13 |
| | | 計 | 1,274 |

2, 装置説明

特長

機能

- 各種迅速農薬分析の自動化（STQ法、グリホサート、テトラサイクリン系など）
- 自動処理工程
 サンプル分取→コンディショニング→固相抽出（精製）→乾燥→溶出→洗浄
- 多段精製の自動処理
- GPCのオンライン接続による難試料のクリーンアップに対応（開発中）

装置

- 20検体連続運転
- 各種溶媒専用のシリンジでコンタミ防止
- 省スペースで一般的な実験台に設置可能
- 高精度なロボットアームによる処理

特長

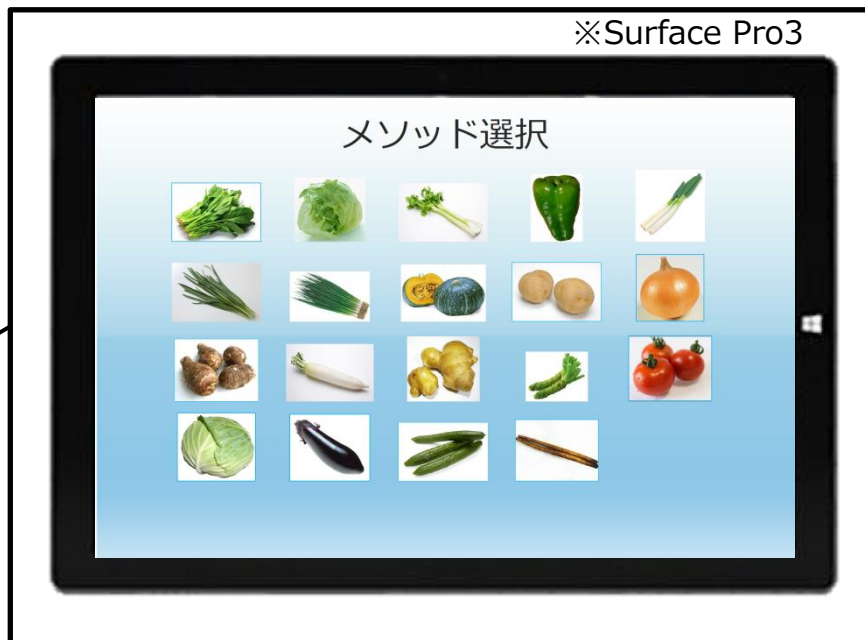
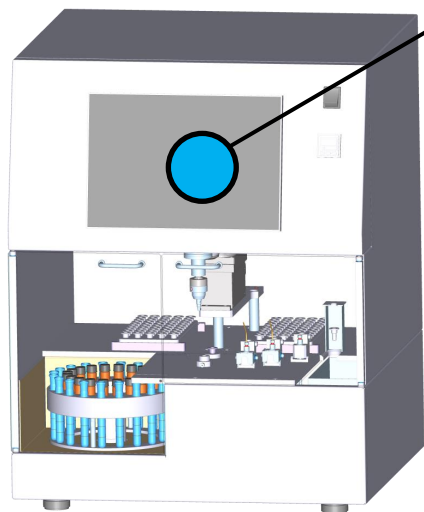
ソフトウェア

- タブレットPC（タッチパネル）内臓による直観的操作
- 独自メソッドの作成が可能
- ログの保管、シーケンス保存

省力、コストダウン

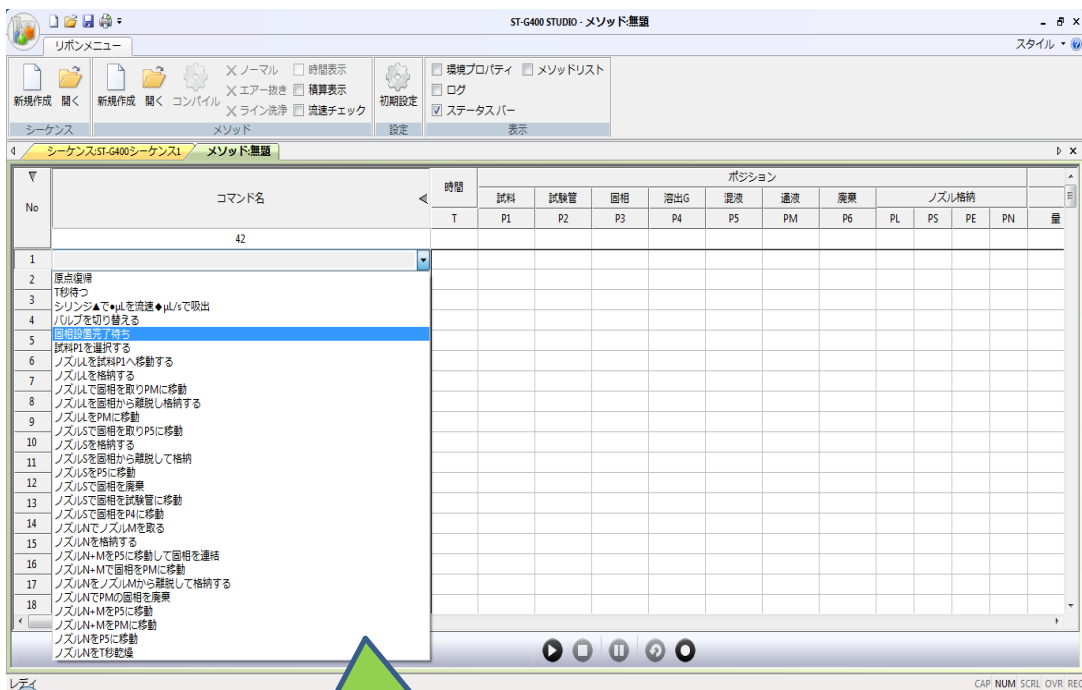
- 独自のミニ固相カートリッジ（Smart-SPE）により使用溶媒の削減
- 洗浄備品は試験管だけ
- 自動装置導入による、従来の引継ぎ労力の軽減

装置操作は内蔵のタブレットPC



タッチパネルを採用し直観的な操作画面。
 作物に応じたアイコンをクリックするだけで
 最適なメソッドを選択（予定）

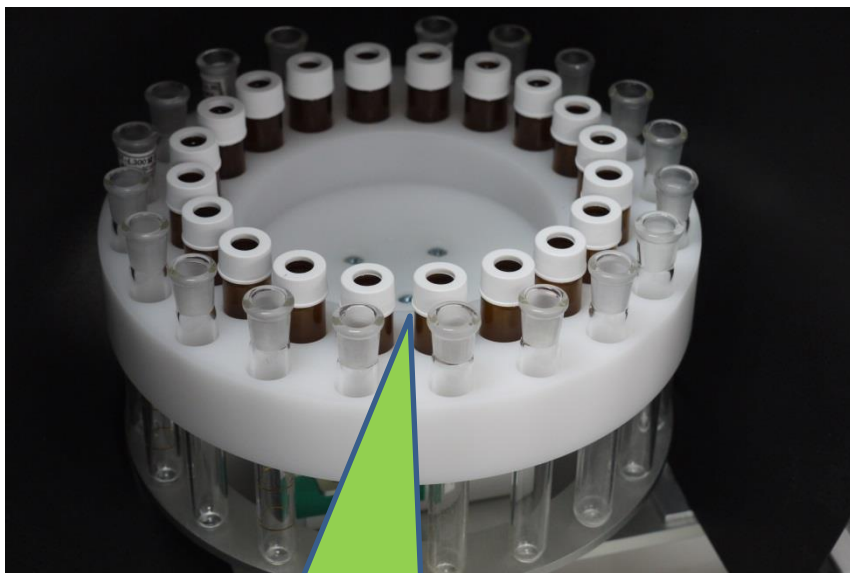
独自メソッドの作成、保存が可能



プルダウンメニューから
コマンドを選択して入力。
自由なメソッド作成が可能です。

コマンドを選択し
メソッドを組み立てる

処理数は連続20検体



試料瓶（4mLバイアル）と
溶出液を回収する試験管

サンプルトレーにはターンテーブル方式を採用
バイアル、試験管は20本までセットできます。

ロボットアームによる高精度な動作



固相カートリッジや
ノズルを装着し移動

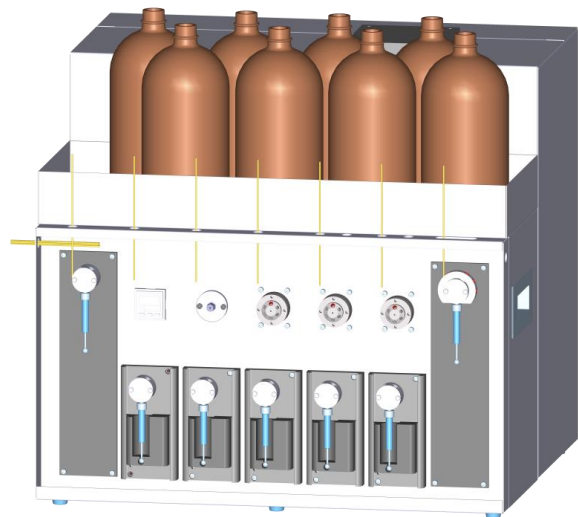
ロボットアームが各種動作

- 各種ノズル、固相カートリッジを装着し
作業ポートへ移動

各種ノズル

- ①コンデショニング用
- ②溶出用
- ③窒素パージ用

送液シリンジは各種溶媒専用

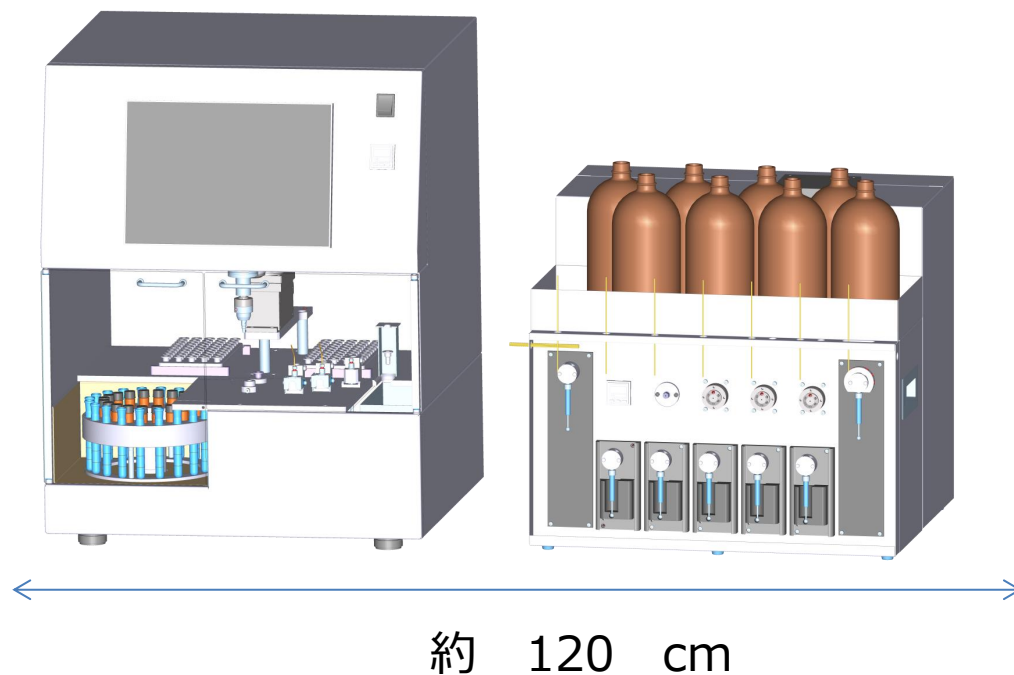


7本のシリンジを備え付けており、
使用する溶媒ごとに対応。
複数溶媒を使用する際にシリンジ洗浄が不要で、
置換に必要な溶媒が最小限で済みます。

省スペースで一般的な実験台に設置可能

本体と送液部を合わせても120cm以内。

一般的な実験台（150～180）に設置可能。



当社ホームページにてアプリケーション多数公開 (ST-L300)

- ・食品中農薬分析迅速法
(一斉分析STQ法、グリホサート、マラチオン、TPN、ネオニコチノイドなど)
- ・食品中動物用医薬品迅速法
(一斉分析、テトラサイクリン、マラカイトグリーン)

食品分析立ち上げも
サポート致します

お問い合わせ先

株式会社アイスティサイエンス

TEL : 073-475-0033 (本社)
048-424-8384 (東日本営業所)
FAX : 073-497-5011 (全国共通)

E-mail : as@aisti.co.jp
ホームページ : <http://www.aisti.co.jp/>