

2021年春

残留農薬分析 精製_初級編 ～固相の性質と使い方～



株式会社アイスティサイエンス

Beyond your Imagination

- ※法令等については、現行の法文等をご確認ください。
- ※無断転載を禁止いたします。
- ※社内教育等にご活用いただけます。



内容

- 1, 精製の種類
- 2, 固相の種類と使い方
- 3, 分散精製とカラムでの分画・分離
- 4, 固相と液相の関係
- 5, STQ法について



残留農薬分析の工程

精製：抽出液から農薬以外の不要成分を除去すること

※抽出までについては、【残留農薬とは～抽出まで_初級編】をご覧ください。

一般的な残留農薬分析の工程

粉碎



抽出



精製



測定



農薬が抽出されやすいように食品（試料）を粉碎



農薬が溶けやすい液体に抽出（主に有機溶媒を使用）



抽出液を特殊なフィルター（カラム）を通過させ、色素や脂質など農薬以外の成分を除去し農薬だけを回収



精製された液を機械に注入し濃度を測定

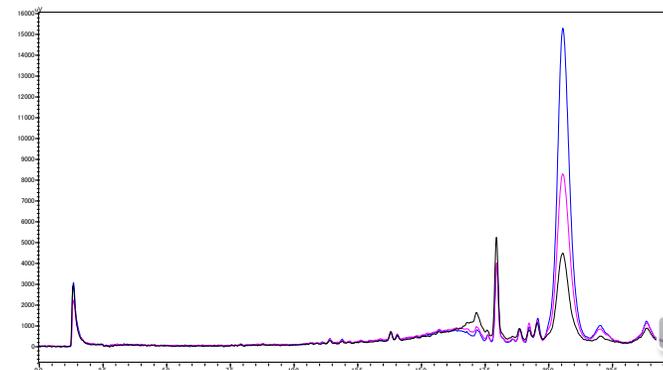


はじめに：精製の必要性

夾雑物の多い（汚れた）試験液を測定装置に注入すると・・・

- ・ 不要なピークがたくさん出現する
- ・ 夾雑物が邪魔をして本来の濃度が測れない
- ・ ピークを見間違える
- ・ 決まった時間に検出されない
- ・ 測定装置を汚してしまう
- ・ 測定装置トラブルの頻度が上がる
- ・ メンテナンス頻度が上がってしまう
- ・ 測定装置の寿命を縮めてしまう

etc…



安定した分析を長期間運用するには適切な精製が必要

1, 精製の種類

精製の種類

残留農薬分析でよく使用される精製方法

液液分配



固相精製（固相抽出）



液液分配

一般的に分離する2種類の溶媒を用いて、比較のおおまかに必要な成分と不要物を分ける手法。有機溶媒の使用量が多く、手間や時間を要する傾向があります。個別法で採用されていることが多い手法です。

現在は、有機溶媒の使用量や手間の少ない固相精製を用いることが増えています。

例：

有機溶媒と水を分離し、油または水への親和性を利用することで対象成分とそれ以外を分ける。



上層：ヘキサン…脂溶性農薬
下層：水 …塩や糖（除去）

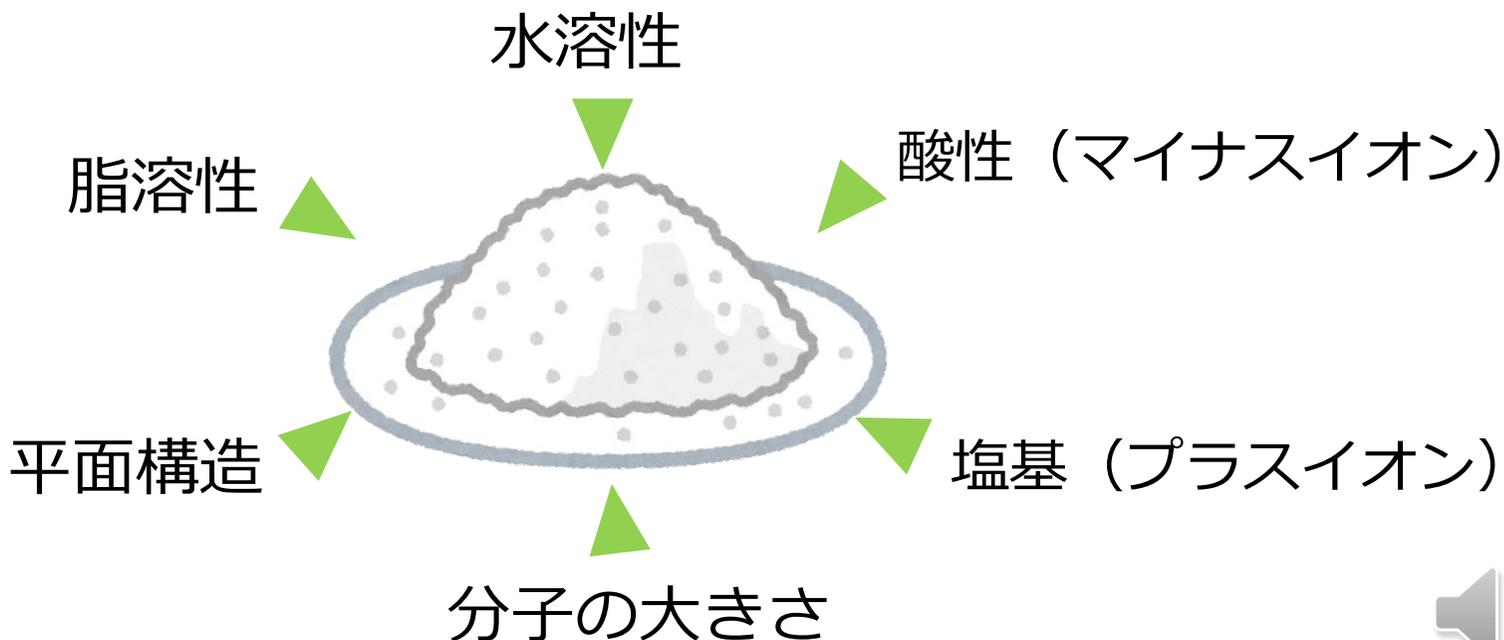
固相精製

固相とは・・・直訳：固体状態にある相

残留農薬分析で使用する「固相」とは、主に人工的に製造・加工された「粉」を指します。製造の過程で、特定の性質をもった物質を選択的に吸着するように加工されます。

※粉＝担体やバルクと表現されることもあります。

特定の成分例



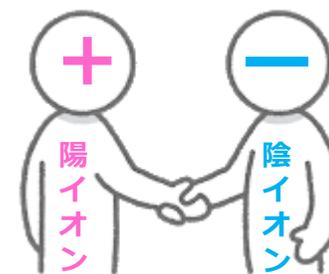
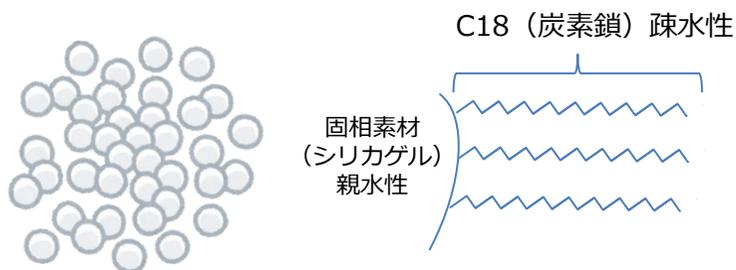
2, 固相の種類と使い方



固相の種類

固相の性質により、吸着できる化合物が異なります。固相の材質そのものの性質を生かしたり、固相粒子の表面に人工的に特殊な構造（官能基）を結合させたものもあります。似た性質の化合物同士が吸着し合います。

代表的な種類	素材特性・結合させたもの	持っている（持たせた）特性	吸着物質
C18	炭素鎖（C18）を結合	油と親和	脂溶性
ポリマー系	ポリマー（素材特性）	油と親和	脂溶性
シリカゲル	シリカゲル（素材特性）	水と親和	水溶性
陽イオン交換	陰イオンを結合	陽イオンを電氣的に吸着	陽イオン
陰イオン交換	陽イオンを結合	陰イオンを電氣的に吸着	陰イオン
グラファイトカーボン	平面構造（素材特性）	平面構造	平面構造



固相の使い方

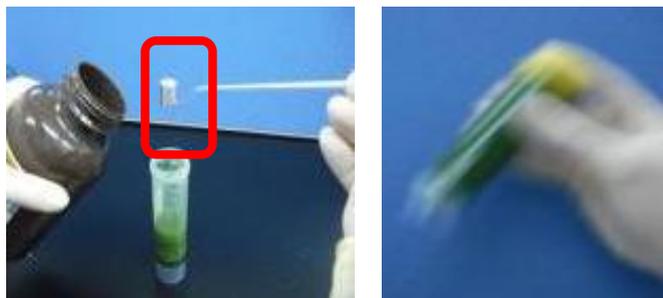
固相の使い方には、抽出液に粉のまま投入して振とうする方法「分散精製」と、筒状（カラム）にし、抽出液を通液させる方法「分画・分離」があります。

※筒状にしたものはカラムと呼ばれ、一般的に「固相カラム」や「カラムカートリッジ」などとも呼ばれています。

※固相を浸漬させたり、通過させる液を「液相」とも呼びます。

分散精製の例

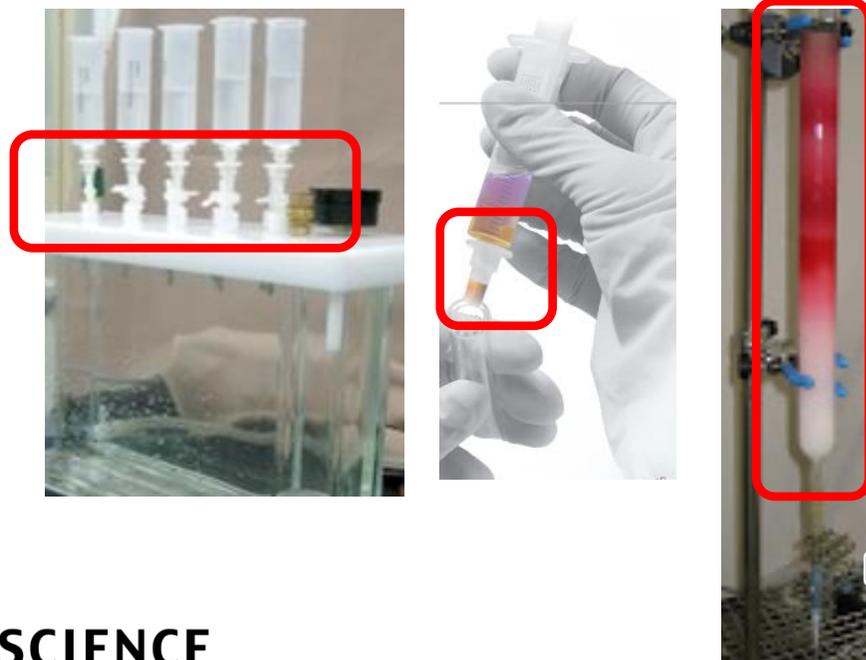
（担体の添加、振とう、遠心分離）



写真はイメージです。

固相カラム精製の例（分画・分離）

（カラムへ通液）



吸着（保持）と溶出（脱離）の考え方

物質は似た者同士がくっついたり、+と-が電氣的にくっつきます。つまり、仲がいいもの同士がくっつく性質があります。

残農分析では、固相に抽出液（液相）が接触した際、農薬や夾雑物が固相か液相どちらと仲がいいかで、どちらかにくっつくようにします。このくっつき合う作用のことを相互作用と呼んでいます。

【身近な例：お弁当箱の油汚れ】

水だけだと油汚れは落ちない・・・



油は水よりプラスチック（石油製品）の方が仲がいいので、水だけではお弁当箱から油は落ちない。

洗剤を加えると・・・



洗剤により、油が水と仲がいい状態に変化し、水で洗い流すことができる

固相の考え方に当てはめると・・・

固相：お弁当箱

液相：水

吸着成分：油

3, 分散精製とカラムでの分画・分離

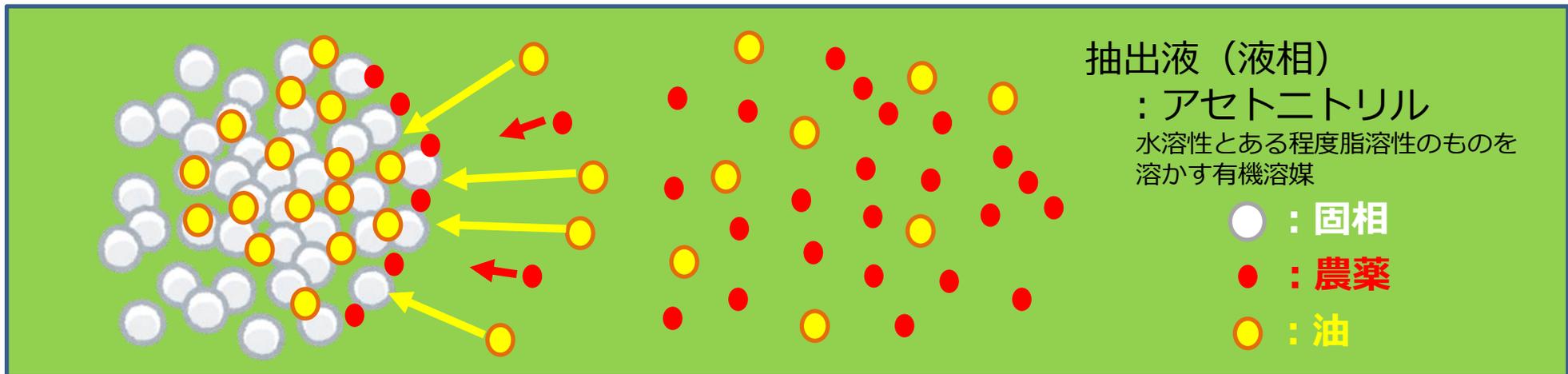
分散精製

固相の粉を抽出液に直接添加し、振とうにより精製を行います。

- 比較的操作简单
- コストが安い
- 精製が不足する場合あり
- 測定溶媒の転溶が必要な場合あり

例：抽出液から油を固相に吸着除去し、農薬だけを液体（液相）に残したい

固相：C18（油と仲がいい）



固相と液相を振とうによる「接触させるだけ」の分散精製だと、仲の良さに応じて一定の比率で固相に油だけではなく農薬も吸着されてしまう。また、液相にも油が残る場合がある。→精製不足と農薬の回収不足につながる可能性がある。

カラム精製（分画・分離）の使い方

- 精製効果が高い
- バルクに比べてカラムカートリッジのコストが比較的高い
- 分散精製に比べて操作が多い場合がある

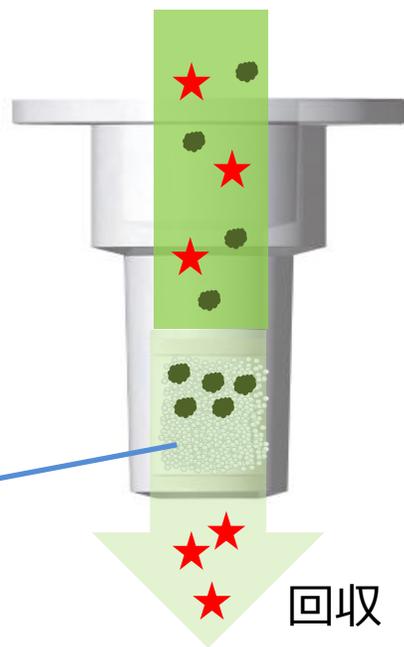
【2パターンの使い方（スルーと保持）】

① 夾雑物を吸着除去、
分析対象成分をスルー

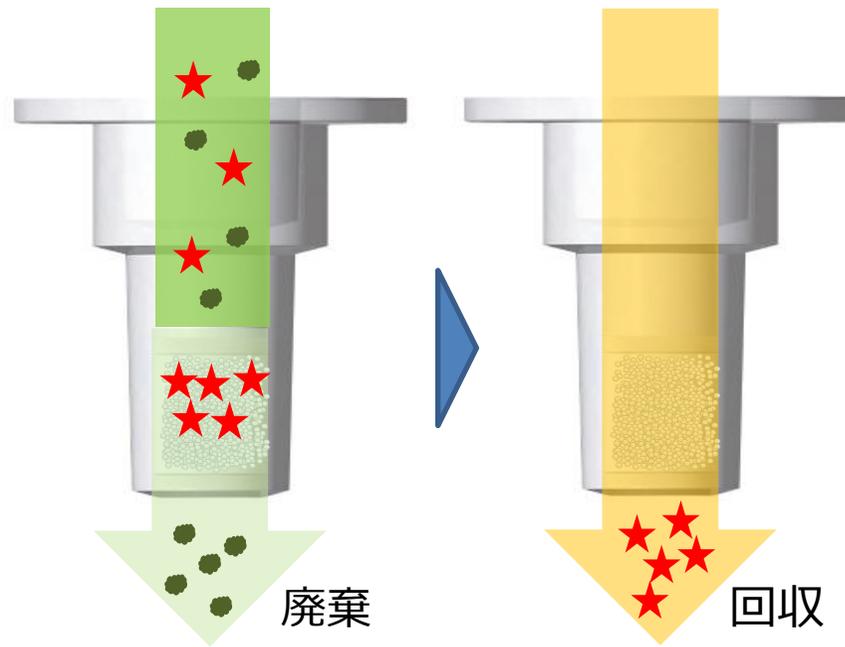
★ : 分析対象成分

● : 夾雑物

固相カラム



② 分析対象成分を吸着、夾雑物ををスルー
その後、分析対象成分だけ溶出し回収

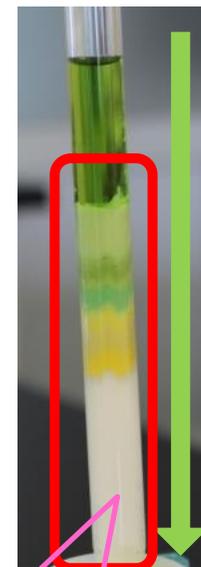
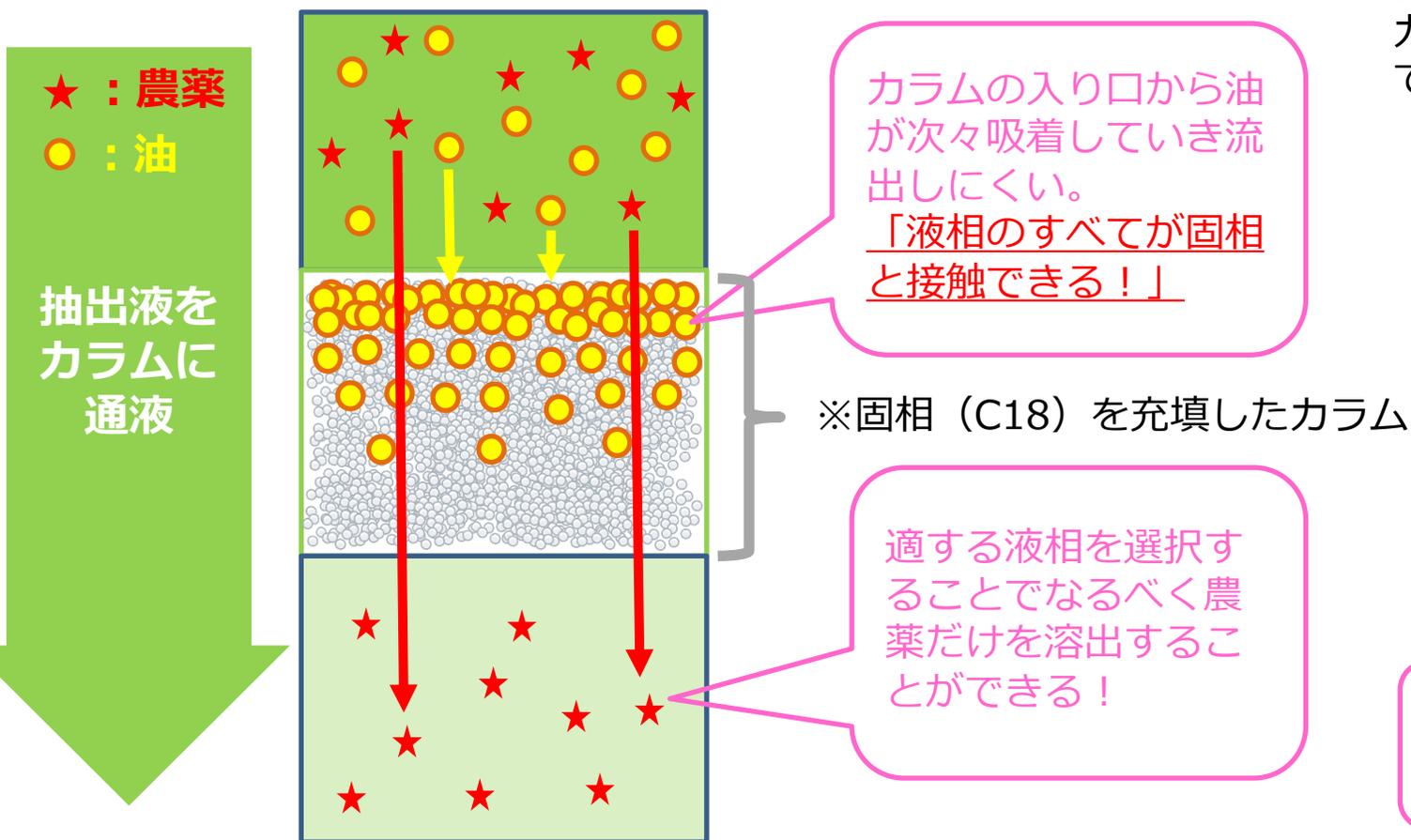


カラム精製の使い方①

精製効果が高い理由：カラム状にすることで固相の性能を最大限に発揮

パターン①例：抽出液中の油を固相（C18）吸着させ、農薬をスルーさせる

例：野菜抽出液中の色素がカラムの入り口から吸着している

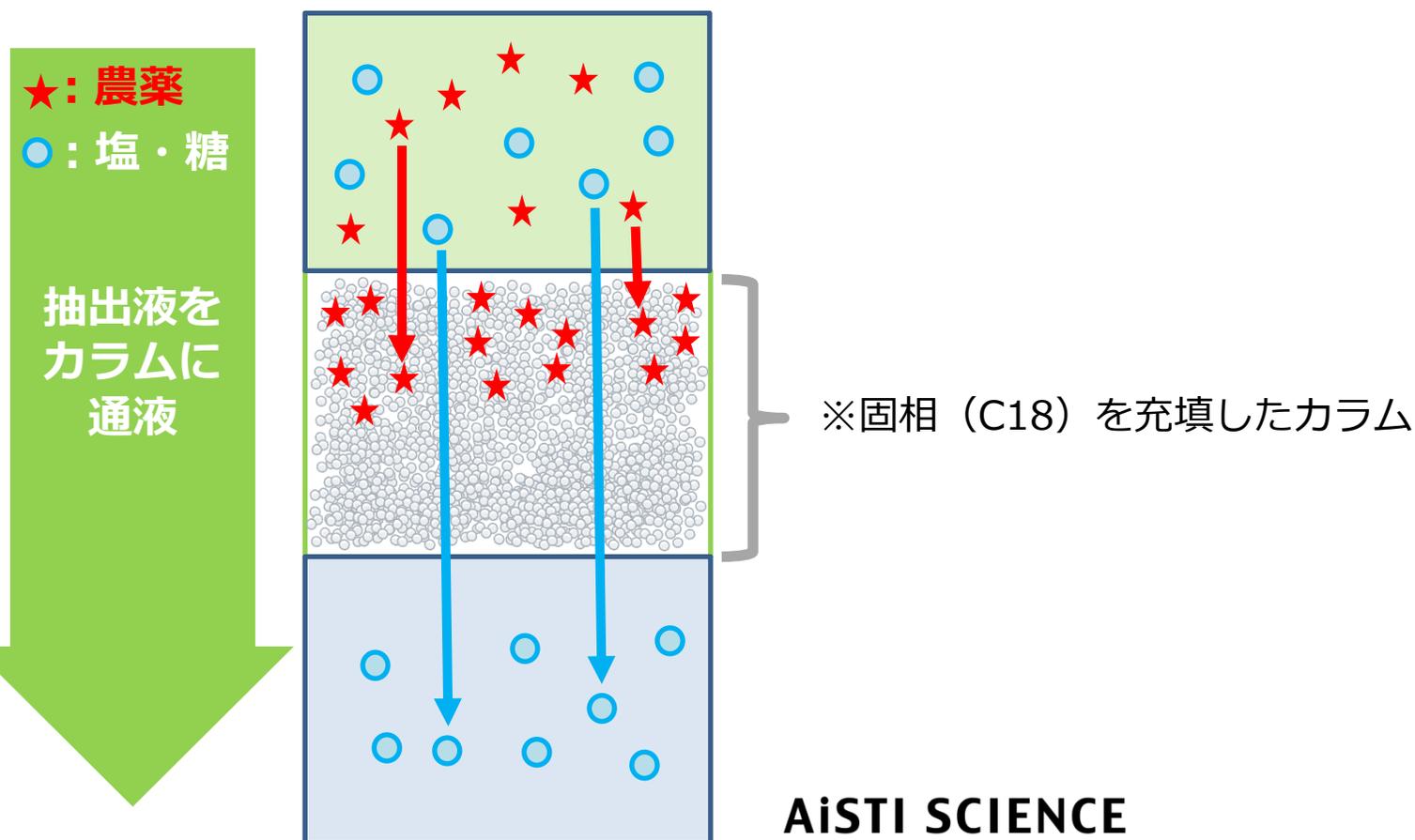


カラムの下流が着色していない＝まだまだ色素を吸着できる！

カラム精製の使い方②

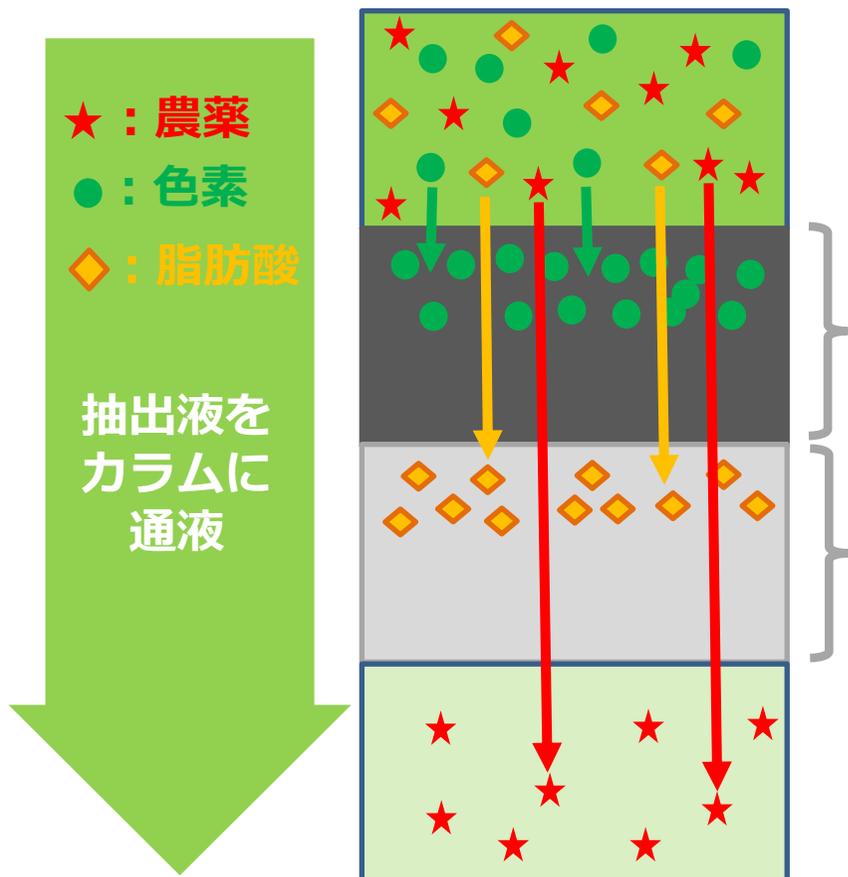
パターン②例：分析対象成分を固相に吸着させ、夾雑物をスルーさせる

例：抽出液中の**農薬**を固相（C18）吸着させ、**水溶性の塩や糖**をスルーさせる



カラム精製の例①

厚労省通知一斉試験法：グラファイトカーボンとNH₂の2層カラム



※グラファイトカーボン（平面構造）

平面構造を持った色素など（クロロフィルやフラボノイドなど）が吸着される。

※NH₂（陰イオン交換と親水性）

イオンとなった際に+の電荷を帯びるアミノプロピル基（NH₃⁺）が結合したカラム。陰イオンである脂肪酸（オレイン酸やリノール酸など）が吸着される。

また、素材（シリカゲル）の特性も併せ持ち親水性の成分も吸着する。

カラム精製の例②



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

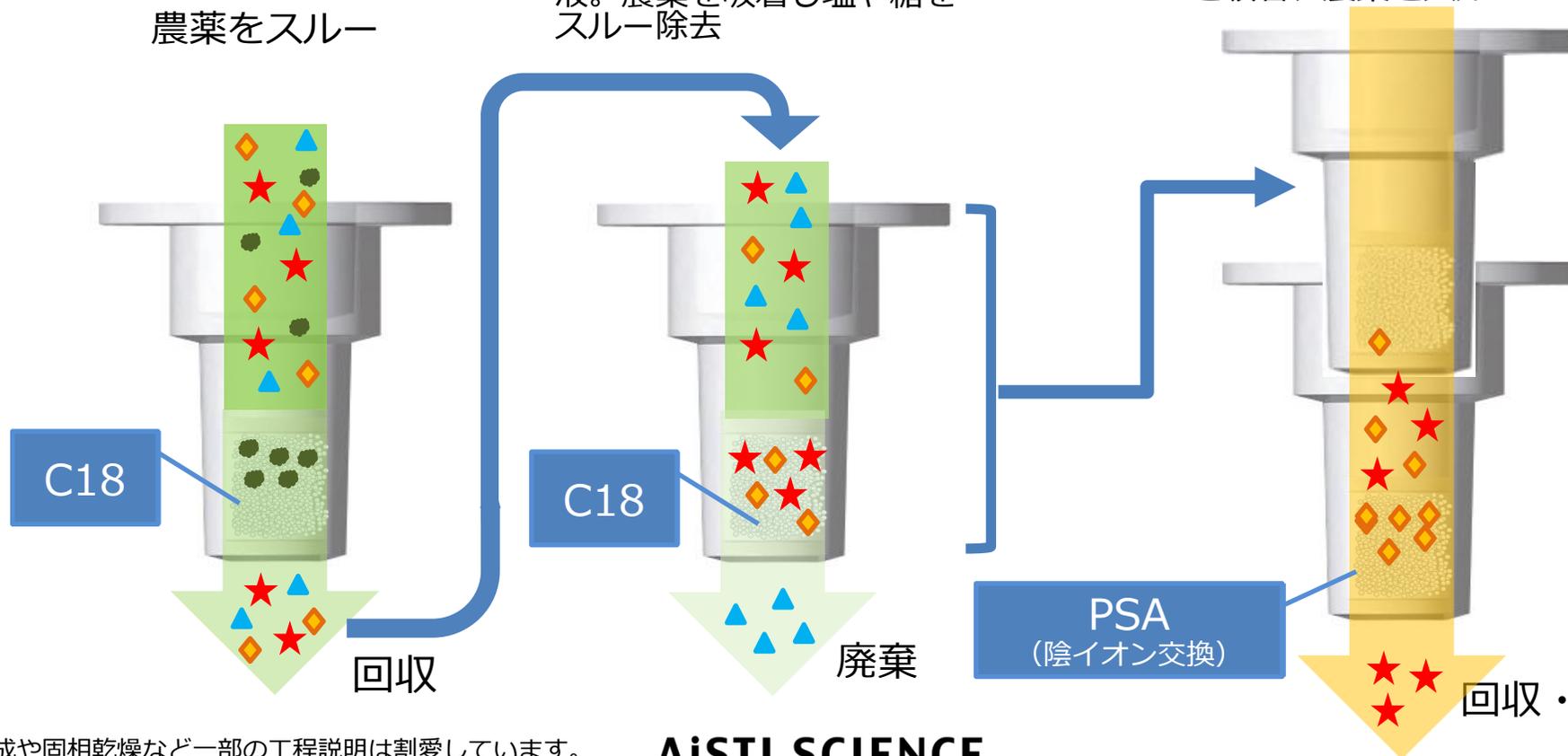
STQ法 (GC-B法) : スルーと保持を組合わせた高精製な手法

★ : 農薬 ● : 脂溶性夾雑物 ▲ : 塩・糖 ◆ : 脂肪酸

① : 脂溶性夾雑物吸着、
農薬をスルー

② : ①の流出液をC18に通
液。農薬を吸着し塩や糖を
スルー除去

③ : ②で農薬をC18の下にPSAを
連結し溶媒を通液。PSAに脂肪酸
を吸着、農薬をスルー



※溶媒組成や固相乾燥など一部の工程説明は割愛しています。



4, 固相と液相の関係

固相と液相の関係 ～極性とは～

固相に対して、液相の組成を変えると、吸着力や溶出力が変化します。液相に存在している成分が、固相と液相のどちらの方が居心地が良い状態かが影響します。

例えば、油と仲がいい固相のC18に対して、通液する溶媒が水だと強力にC18に油が吸着します。一方、油と仲がいい溶媒を通液すると、溶媒の方に油が移動して流れ出てきます。一方にしか存在しないというわけではなく、液相の状態により、吸着、溶出の程度が変化します。

【水、油どちらに近い性質があるかを「極性」で表現します】



高極性（極性）・・・水に溶けやすい（水にしか溶けない）

中極性・・・水、油どちらにも溶ける

低極性・・・油に溶けやすい

無極性・・・油にしか溶けない

※わかりやすいように、極端な表現にしています。

固相に対し液相を変化させた例

極性が低い（油と仲がいい）固相C18に対し、通液溶媒の極性を変化させて、植物緑色素（クロロフィル）の挙動。

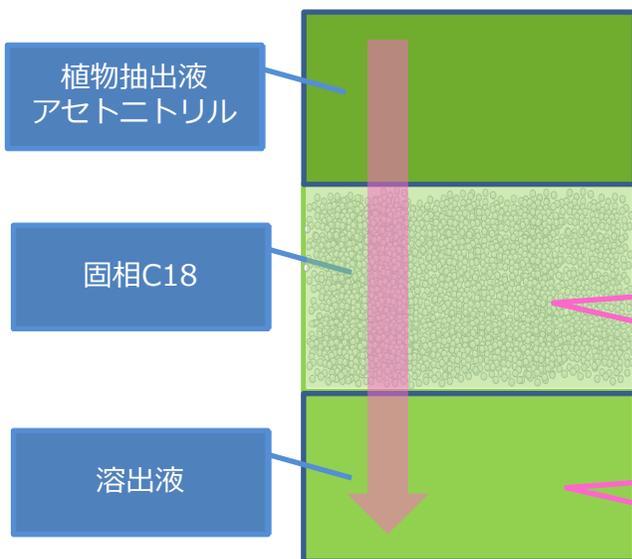
成分：植物由来緑色素クロロフィル（低極性。水に溶けにくい）

固相：C18（無極性。油と仲がいい）

溶媒：アセトニトリルと水。または混合したもの。

（アセトニトリルは、水とも混ざりクロロフィルも溶かす。）

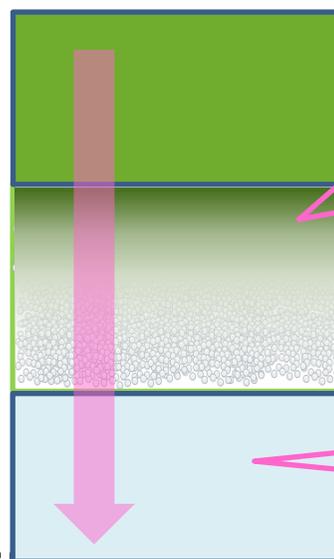
100%アセトニトリルを通液



アセトニトリル100%
では色素も溶けやすい
ので保持しきれない

色素が溶出してしまふ
= 精製不足

50%アセトニトリル・水を通液



水を加えることで色素は
よりC18に吸着しようとする。
カラムの入り口だけでも十分保持できる吸着力となる。

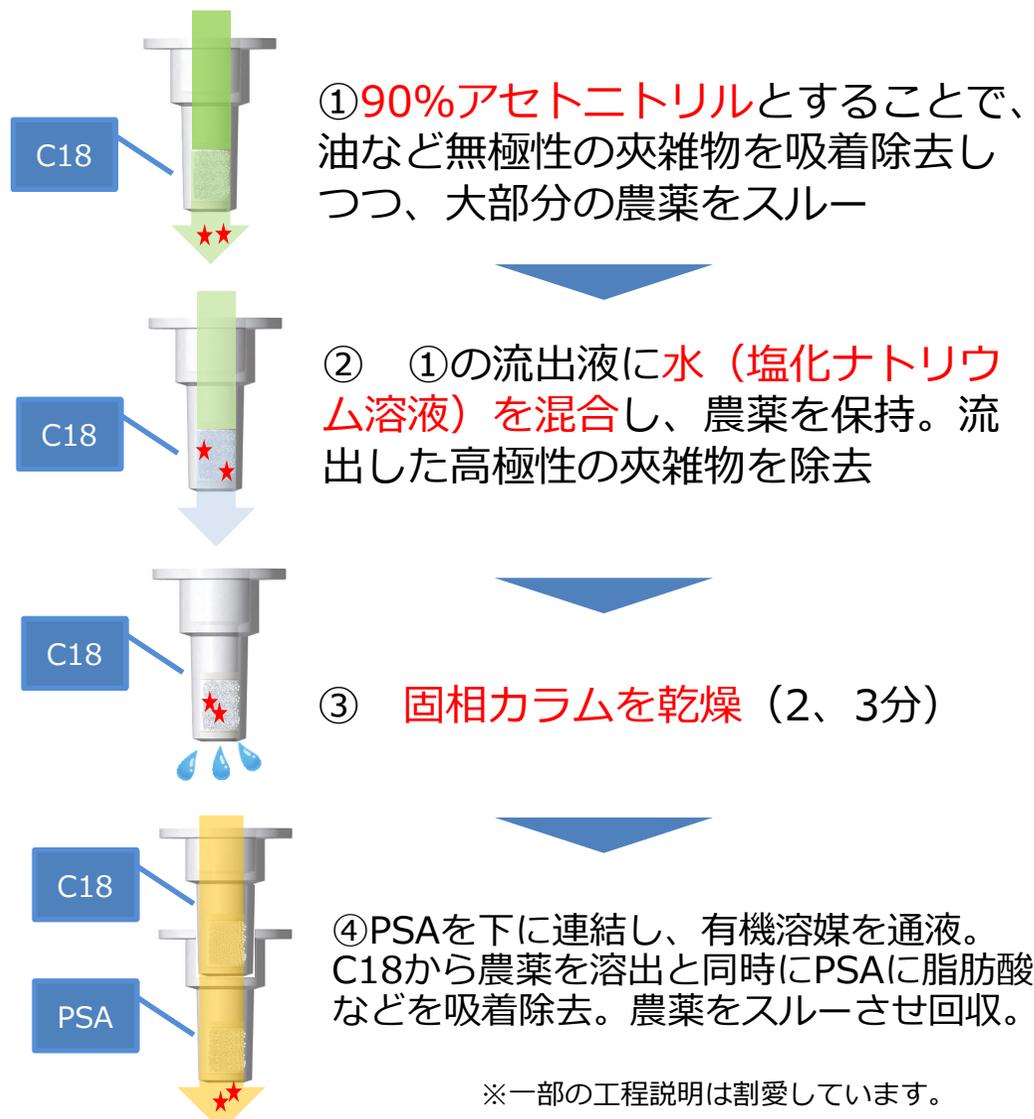
色素が溶出してこない
= 精製効果が高い！

**水を加えれば
精製効果UP！**

STQ法が高精製の理由



溶媒の組成を工夫して、スルーと吸着を効果的に利用！



水の比率をコントロールすることで、夾雑物と農薬分けられる！

ただし、、、
GC/MS（測定装置）へ水が含まれた液を注入することが困難なので、ほとんどの一斉試験法では精製に有効な水の混合が採用されていません。

アイスティサイエンスのSmart-SPEは、小さくストレート構造により、乾燥が容易で脱水工程を組み込んでいます。これにより水の混合を有効活用できます。

固相ミニカートリッジ

Smart-SPE
Solid Phase Extraction

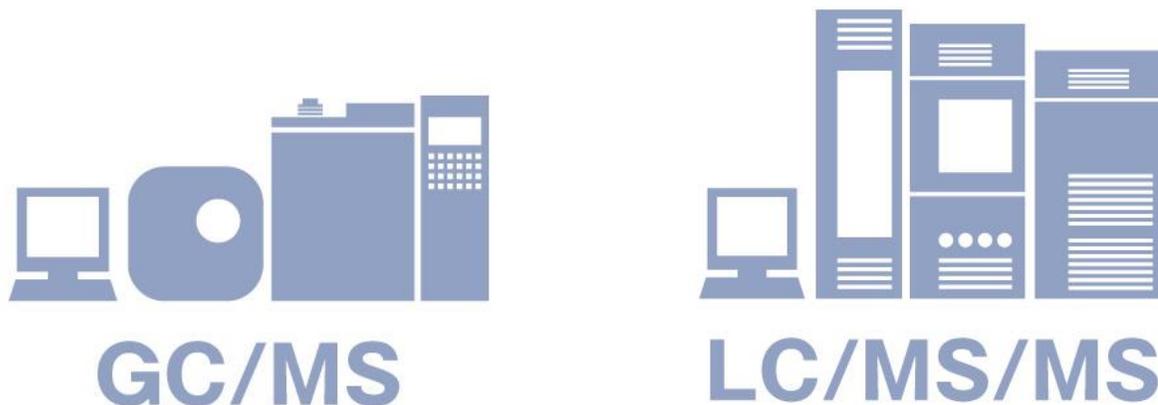


※一部の工程説明は割愛しています。

測定へ

精製によって得られた液は、測定へと移ります。

比較的、極性が低くガス化したほうが測定しやすい成分はGC/MSで、極性が高く熱に弱い成分はLC/MSで測定する傾向にあります。



**続きは、測定_初級編
～機器の種類と測定の仕組み～
をご覧ください。**

参考文献

- 厚生労働省Webサイト

https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/zanryu/index.html

- STQ法ガイドブック（株式会社アイスティサイエンス）

<http://www.aisti.co.jp/product/stq-kit/>

アイスティサイエンスは「STQ法」を
ご提案しています。

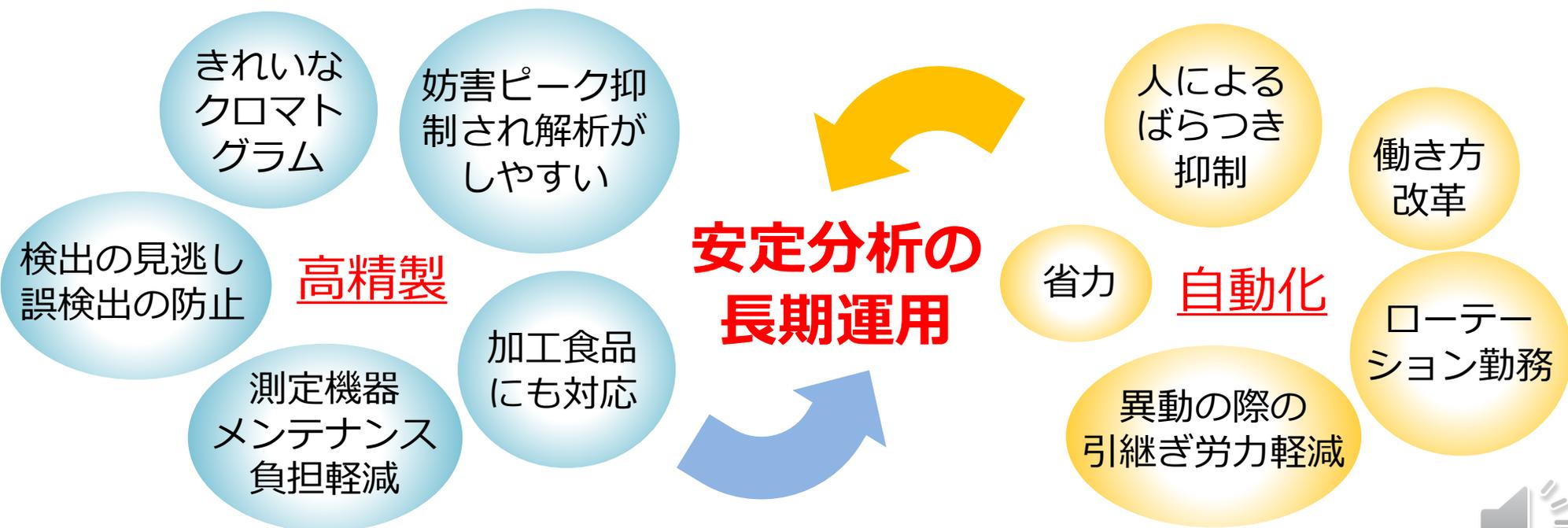


詳細については、ガイドブックをご参照ください。
弊社Webサイトよりダウンロード頂けます。

<http://www.aisti.co.jp/wp/wp-content/uploads/2018/10/9240be01fac04504aa7f12a801cd7254.pdf>

アイスティサイエンスのテーマ

アイスティサイエンスは、残留農薬分析において「簡単・はやい・安い」だけではなく、「**高精製・自動化**」と「**安定分析の持続**」をテーマにご提案しています。



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-L400

For Smart-SPE AUTOMATION



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



LVI-S250



STQ法の特徴

【特徴】

- ・ 固相「カートリッジ」を使用したカラム性能を有効利用した精製
- ・ 少量充填のSmart-SPEで、操作がコンパクト。
- ・ Smart-SPEはストレート構造で、手軽で自由に連結可能
- ・ 省溶媒、省廃液
- ・ 一度に10検体操作可能な試験管ラックを使用した前処理キット
- ・ 多段精製が可能な自動前処理装置
- ・ 溶媒濃縮がない事で、省力化を実現し揮発性農薬も濃縮による損失を抑えられます。

【実績】

- ・ 国内約100か所の導入実績（農水省、地方衛生研究所、保健所、受託検査機関、農業団体、生協、食品・飲料メーカー等）
- ・ 約半数が自動化
- ・ ISO17025認定取得機関多数（試験法欄にSTQ法記載）
- ・ AOAC掲載
- ・ 学会発表多数
- ・ 長期運用の方がほとんど
- ・ 技能試験で参加率No.1
- ・ 実技を含めた勉強会「STQ法を考える会」を定期開催。情報交換の場として好評で毎回満員。



分析立ち上げ、導入のお手伝いもしています！
 残農分析について、お気軽にご相談ください。

当社Webサイトにて技術情報を多数公開中



株式会社アイスティサイエンス
 TEL : 073-475-0033
 E-mail : as@aisti.co.jp
 ホームページ : <http://www.aisti.co.jp/>

