

前処理法と測定装置どっちが大事？ 測定機器の性能と前処理法の良いバランスとは

～残留農薬分析～



株式会社アイスティサイエンス

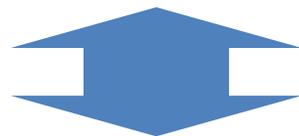
Beyond your Imagination

前処理法と測定装置どっちが大事？

【結論】

どっちも大事。

前処理を丁寧にすれば、測定装置の負担は減る。



前処理で楽をすれば、測定装置の負担は増える。

前処理と測定装置の負担は相反する。
適切なバランスが安定した試験運用に繋がる。

残留農薬分析の工程

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（固相カートリッジ）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する。



LC/MS/MS



GC/MS

精製された液（試料液）を機械に注入し濃度を測定。

前処理と測定装置の負担とは

前処理と測定装置の負担の主要素に「どれだけ精製するか」測定液中のマトリックス量が測定装置の状態に様々な影響をおよぼす。きれいな測定液は、測定装置の負担を軽減。

精製不足がおよぼす測定装置への影響

測定装置の不具合	不具合の影響、対応
LCサンプル分取ニードルのつまり	ニードル洗浄、交換
分析カラムの汚染、詰まり	カラム交換
スプレーニードルの汚染、詰まり	洗浄、交換
イオン化室、四重極の汚染	洗浄
イオンサプレッション	イオン化阻害、回収率の低下
イオンエンハンスメント	イオン化促進、異常高回収率
妨害ピーク、フラグメント	誤検出、検出見逃し、定量精度悪化

測定液をきれいにするためには

	前処理工程	前処理負担	効果
試料細切	粗粉碎	小	ばらつき大。反復数増。
	微粉碎	増	ばらつき小。反復数減。
抽出	抽出液量大	増	夾雑濃度低下
	抽出液量小	小	夾雑濃度大
精製	振とう塩析	増	精製度up
	ろ過	小	微粒子除去
	液液振とう	増	精製効果中
	d-SPEバルク振とう	小	精製効果小
	SPEカートリッジ (1種類)	小	精製効果小～中
	SPEカートリッジ (積層)	小～大	精製効果中
	SPEカートリッジ (多段)	小～大	精製効果大
測定液	ろ過	小	微粒子除去
	希釈	小	夾雑濃度低下

測定機器と試験操作のバランス

残留農薬一斉分析

測定機器	HPLC	中感度MS	高感度MS	超高感度MS
測定濃度	ppb~ppm	数ppb~	0.1ppb~	0.1ppb以下
試験法例	個別法	MS一斉法	MS一斉法	MS一斉法
前処理操作	煩雑	煩雑	中	簡易精製・希釈

STQ法で簡易化！



3500



4500



5500



6500



7500

前処理法と測定装置の組み合わせ例



精製法

希釈のみ
ろ過のみ
希釈 + ろ過のみ

d-SPEバルク振とう精製
(QuEChERSキット)

精製法

STQ法

積層カラム精製
(例：通知法)

超高感度 ←

→ エントリー



7500



6500



5500



4500



3500

※試料や求める感度によって、精製を充実かつ、より高感度MSの組み合わせが有効となる場合がある。例：畜産物の動物用医薬品は夾雑物が多く検出限界が低い。

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

溶媒濃縮工程なし！

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



LVI-S250
GC用大量注入口

特徴：簡単精製10~20分
様々な食品にも対応可能
溶媒使用量は数mL

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



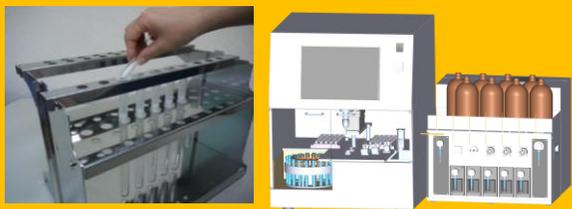
GC-B法

C18精製

↓
 ポリマー系逆相またはC18保持

↓
 PSA精製

前処理キット or 自動装置



- 精製度高
- 加工食品や畜水産物にも対応可
- 15分

LC法

C18 + PSA精製

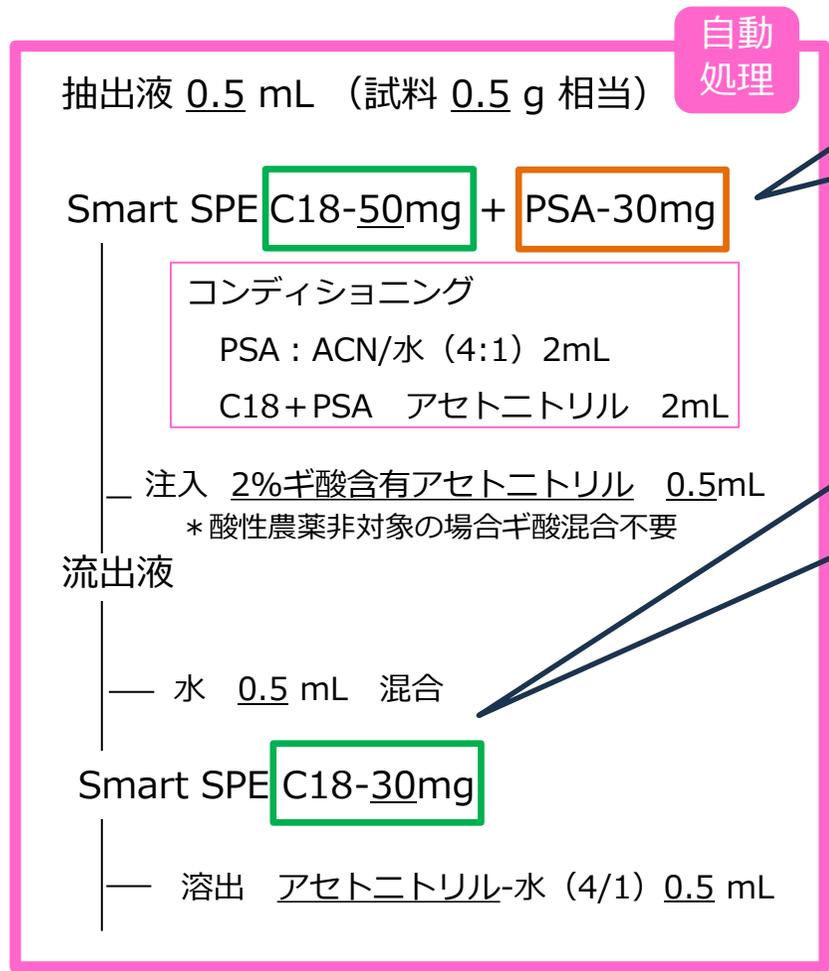
↓
 C18精製

前処理キット or 自動装置



- 10分
- 簡単
- 通知一斉 I・II法を同時に対象可

STQ-LC法



C18で無極性夾雑物を除去しつつ、選択性の比較的高い陰イオン交換を通過させることで、効率の良い精製。

1段目の精製ではアセトニトリルがほぼ100%で溶出しているが、溶出液に水を混合し溶媒極性を上げたうえで、再度C18を通過させる。一段目で通過した低極性夾雑物が吸着除去される。

固相C18を用いない場合



測定カラムやMSに無・低極性夾雑物を入れない

固相C18による精製の場合



定容 (2 mL, 水で調整)

LC-MS/MS測定

STQ-LC法はSCIEX社MSとの相性が良い

自動
処理

抽出液 0.5 mL (試料 0.5 g 相当)

Smart SPE C18-50mg + PSA-30mg

コンディショニング

PSA : ACN/水 (4:1) 2mL

C18+PSA アセトニトリル 2mL

注入 2%ギ酸含有アセトニトリル 0.5mL

* 酸性農薬非対象の場合ギ酸混合不要

流出液

— 水 0.5 mL 混合

Smart SPE C18-30mg

— 溶出 アセトニトリル-水 (4/1) 0.5 mL

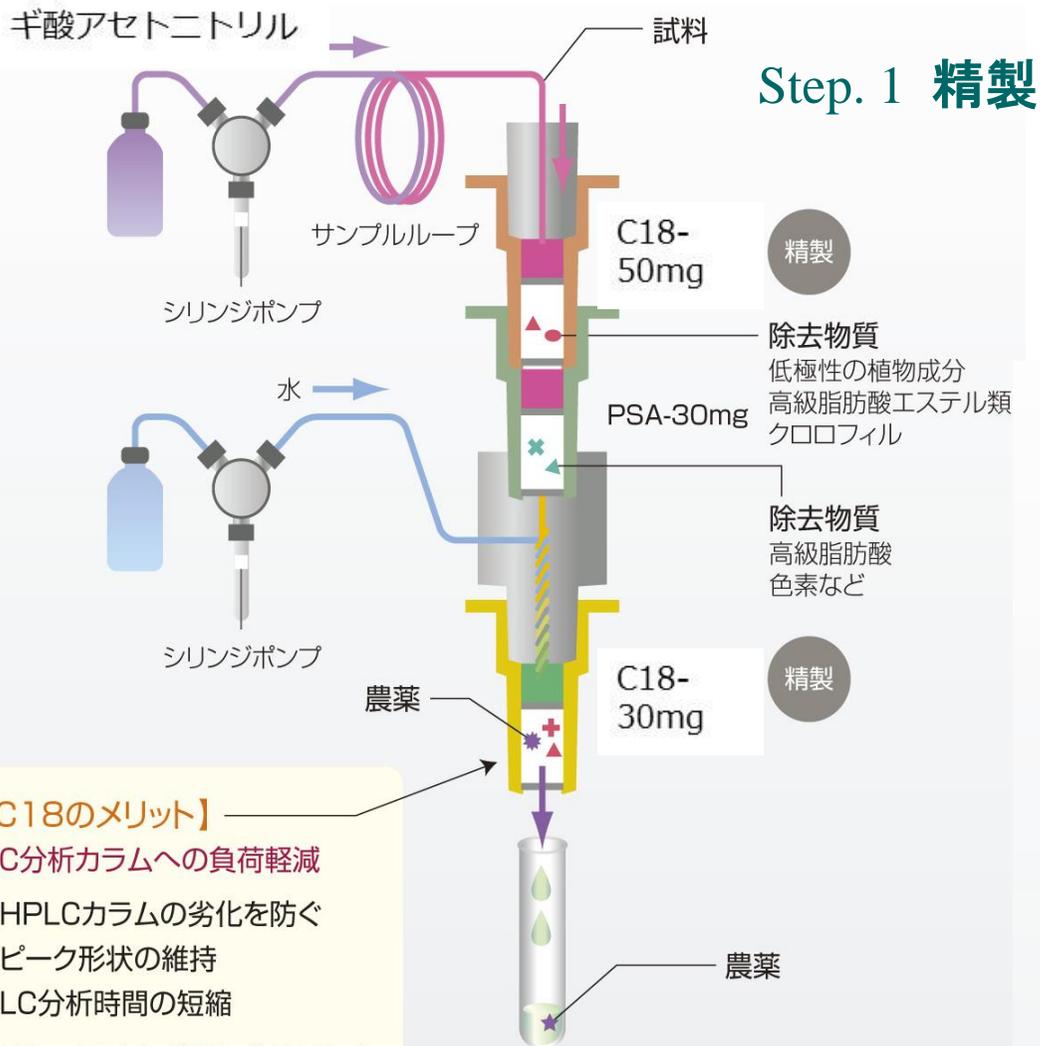
定容 (2 mL, 水で調整)

LC-MS/MS測定

【通知一斉法 I 法 (中性農薬) と II 法 (酸性農薬) が両方対象可能】

- ・ 酸性化合物はイオンとなる場合陰イオンとなる。
- ・ PSA (陰イオン交換) に保持された酸性農薬が、ギ酸酸性のアセトニトリルで溶出できる。
- ・ 酸性化合物はLC/MS/MSでネガティブモードで測定。ネガティブモードの感度に定評があるSCIEX社LC-MS/MSと相性が良い。

LC法：工程（自動）

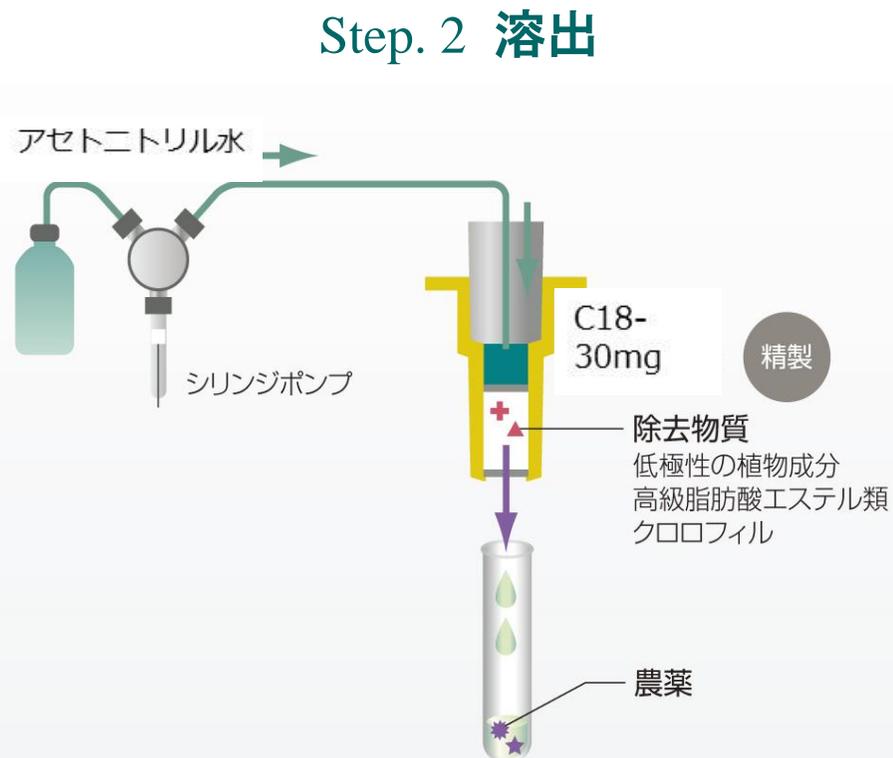


【C18のメリット】

LC分析カラムへの負荷軽減

- ・ HPLCカラムの劣化を防ぐ
- ・ ピーク形状の維持
- ・ LC分析時間の短縮

C18ミニカラムを前処理で使用することで、LC/MS/MSの分析カラム(ODS)への負担を軽減できます。



STQ法への変更例と理由

通知法

- ・ 操作が煩雑
- ・ 省力化したい
- ・ 人手不足
- ・ 溶媒を削減したい
- ・ 器具を減らしたい
- ・ 溶媒濃縮を省きたい
- ・ 自動化したい

QuEChERS (バルク分散精製)

- ・ 精製が不十分
- ・ 測定機器の汚染が激しい
- ・ 測定装置のメンテナンス頻度が高い
- ・ 妨害ピークが多い
- ・ GCへアセトニトリルを注入を避けたい。



QuEChERS (積層カラム精製)

- ・ より精製度を高めたい
- ・ 自動化したい
- ・ 溶媒濃縮転溶を省きたい



STQ法への変更例と理由

ろ過

- ・ 精製が不十分
- ・ ろ紙の素材がわからず不安
- ・ 意外と高価で同等のコストなら複数の固相カートリッジの方がよい

超臨界流体抽出 (SFE)

- ・ 使用している装置の販売が終わってしまったが、自動前処理は継続したい。
- ・ 試料液を手操作で精製するのは煩雑。
- ・ 試料が少量でばらつきが心配。

GPC

- ・ 溶媒を大量に使うので削減したい。
- ・ 使用している装置が老朽化し更新を機に見直したい
- ・ 自動前処理を継続したい



データベースを使用した半定量

【データベースを使用した半定量の例】

リテンションタイム（RT）とフラグメントパターンでソフトウェアが自動的にピークを同定。また、登録している検量線で定量を行う。



・ RTの精度と、ピーク（フラグメント）の純度が同定、定量精度に大きく影響。RTがずれたり夾雑フラグメントがあれば、ソフトによるピークの見逃しや誤検出、誤定量のリスクとなる。



・ 必要十分な精製処理との組み合わせが有効となる。

ユーザーから聞いたお悩み

【ある試験担当者】

GC/MS（シングル四重極）からGC/MS/MS（トリプル四重極）に更新して、感度も上がってピークもきれいなので、簡易法を導入した。その後、一年経たないうちに電圧が2倍弱まで上がり感度も低下した。修理を依頼したら数十万円となった。カラム交換頻度も上がった。精製キットが安くなっても、メンテナンスや修理費の方がそれ以上に高くなった。

→数回インジェクションのサンプル分析依頼では汚染状況がわからない。

→前処理を簡易化すると、汚染環境が変わりよりMSオペレーターの対応力、経験値が必要となる。

【ある管理者】

精製でランニングコストが数百円上がっても、測定装置のトラブルが減り、長持ちをするなら十分精製した方がよい。メンテナンスや解析でのオペレーターの負担も軽減するので、長期的にみると有効。

STQ法のバランス



最近の学会発表

- ・農薬残留分析研究会/2023年

STQ法による難試料中残留農薬分析の検討(2)

○ 島三記絵1), 江潤卿2), 小西賢治1), 川上正美1), 斎藤勲1)

1) 株式会社アイスティサイエンス, 2)日本電子株式会社)

概要：乾燥食品（春雨スープ、コーンポタージュ、即席めん）を試料としたSTQ法（自動前処理装置ST-L400）の評価

- ・日本食品衛生学会 学術講演会/2023年 ポスター発表 P-14

GC-MS/MSを用いた残留農薬一斉試験法の簡便化の検討 ～通知一斉試験法の精製方法の改良～

○志田（斎藤）静夏, 斎藤真希, 古宮友恵, 田口貴章, 堤 智昭 国立医薬品食品衛生研究所

概要：通知法の抽出法後、自動前処理装置ST-L400にて精製し妥当性評価。

- ・日本食品衛生学会 学術講演会/2022年 ポスター発表 P-28

LC/MS/MSを用いた残留農薬一斉迅速分析法（STQ法）の妥当性評価及び従来法との定量値の比較

○高橋京子, 内藤えりか, 櫻井有里子, 森田昌弘, 鈴木祐子 横浜市衛生研究所

※食品衛生学会および残留農薬分析研究会の下記Webサイトより引用。

<https://www.pssj2.jp/committee/zanryu/zanryu45.html>

https://shokuhineisei.or.jp/wp-content/uploads/2023/09/20230921_119program.pdf

<https://shokuhineisei.or.jp/wp-content/uploads/2022/10/PG.pdf>

より均一なサンプリングを可能にする
アイスティサイエンスの

予冷式ドライアイス凍結粉碎法

水分の多いサンプルは粉碎時に水分と固形に分かれてしまう…
皮の硬いサンプルは粉碎時に皮が残ってしまう…

アイスティサイエンスの予冷式ドライアイス凍結粉碎法なら、試料の粉碎で起こるこれらの問題を解決します。
凍結粉碎させることで、水分も果皮も均一にサンプリングすることが可能です。

均一性
粉碎力
酵素失活
保管性



凍結粉碎機 プレセント

凍結粉碎機プレゼント
FST-4000

葉物から硬いもの、少量サンプルまで、様々なサンプルに対応



内鍋方式

インターロックによる
安全設計

4000rpmの高速回転
シンプルな
ワンスイッチ設計

順回転で粉碎
逆回転で峰打ちリバースクラッシュ!

固い試料を木っ端みじん!
逆回転による
リバースクラッシュ機能

回転数モニター付き

容量:4.0L
容器材質:ステンレス
回転数:4000rpm

冷気を逃がさない
二層式新熱構造

断熱層①
断熱層②

均一化された試料



凍結粉碎後の試料(パウダー状)

試料は粉末状態でそのまま保管可能です。

予冷式ドライアイス凍結粉碎法

Point!

『凍結粉碎の成功を左右するのは「予冷」です!』
粉碎容器、スプーンを予め冷やす!



使用する粉碎容器とスプーンなどの備品を予め冷やすことで、外気の熱による試料の融解を防ぎます。

- 1 切断
- 2 和える
- 3 混ぜる
- 4 粉碎



『凍結粉碎の成功を左右するのは「予冷」です!』

予め試料とドライアイスを入れ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、粉碎がスムーズに行えるようになります。また、ドライアイスの添加量も試料ごとに異なります。アイスティサイエンスでは各試料ごとの予冷式凍結粉碎に必要なノウハウをまとめたレシピ集をご購入の際にお配りしております。

※ 凍結粉碎と凍結乾燥は違います。

凍結乾燥は-30℃に急速冷凍し、そこから減圧乾燥させます。一方、凍結粉碎は試料中の水分を含めて凍結→粉碎(定温脱氷性を利用)を行うため、原料そのままの状態をサラサラのパウダー状にします。ちなみに耐ハイなどで使われる凍結粉碎も原理的には同じで、原料を丸ごと凍結させることでレモンのみ香りで閉じ込めるといった効果があるそうです。

酵素の失活と夾雑成分について

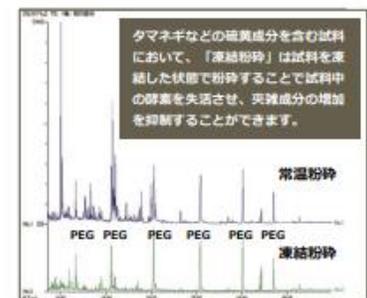


図. タマネギを常温粉碎または凍結粉碎し、STQ法にて分析した時のそれぞれのSCANクロマトグラム

ご視聴ありがとうございました！

当社ホームページにて技術情報多数公開
残農分析立上げのお手伝いもしています。

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/>