

# STQ法 改良版とアプリケーションの紹介



株式会社アイスティサイエンス

Beyond your Imagination

# 本日の内容

- 1, STQ法の概要
- 2, 改良のポイント(ST-L400)
- 3, アプリケーションの紹介(ST-L400)
- 4, 改良のポイント(マニュアル)
- 5, STQ法の客観的評価
- 6, 分析がうまくいかない事例

# 1, STQ法の概要

# STQ法の概要

## STQ法とは？

**S**olid phase extraction

**T**echnique with

**Q**uEChERS method

### ◆ 前処理方法

抽出  
QuEChERS法を参考

+

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。

# 固相カートリッジ精製の必要性

## 精製のメリット

- ・きれいな試料液が得られる
  - ・測定装置負担軽減
- ①測定装置メンテナンス頻度減
  - ②マトリクス効果軽減  
(サプレッションや異常高回収率)
  - ③リテンションタイムのずれ軽減
  - ④妨害ピークや妨害スペクトルが減り  
解析効率向上
  - ⑤純度の高いピークにより誤検出防止

## 精製の課題

固相コスト  
操作が煩雑  
引継ぎ労力

良いデータを得つつ分析の省力・効率化を実現するには  
工程全体のバランスがカギ

# 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



**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



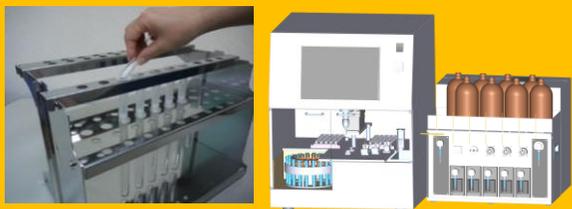
**GC-B法**

C18精製

↓  
 HLBi5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

## 2, 改良のポイント

～全自動固相抽出装置ST-L400の場合～

# 全自動固相抽出装置

昨秋リリース  
好評販売中

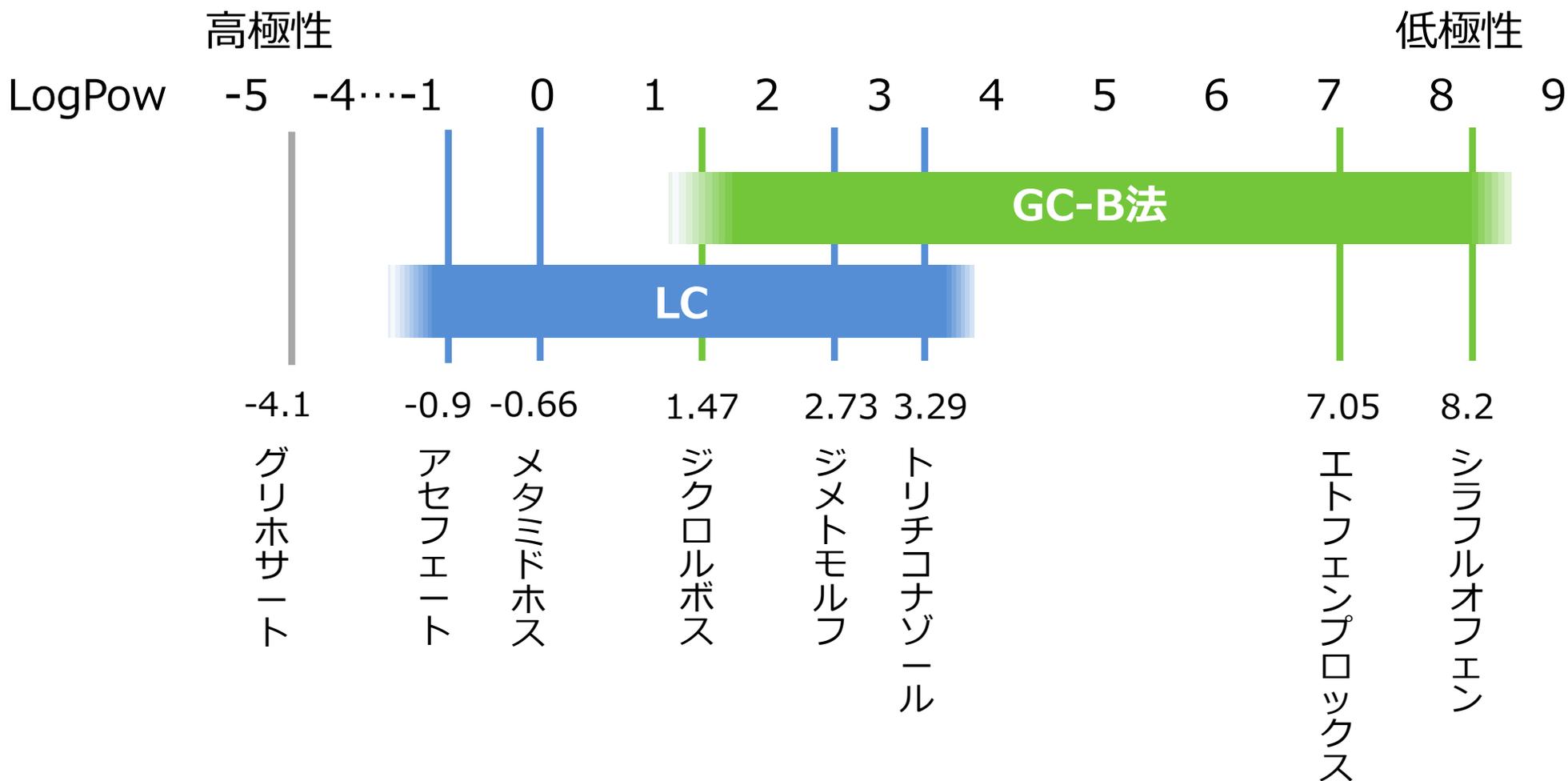


全自動固相抽出装置

**ST-L400**  
For Smart-SPE AUTOMATION

- タッチパネルによる直感的な簡単操作
- 20検体連続自動処理  
(異なるメソッドも自動切り替え)
- 多段精製の自動処理  
(固相コンデショニング、夾雑精製、農薬保持、固相乾燥、固相脱着、溶出)
- 迅速農薬分析法【STQ法】各手法搭載
- 自由にメソッドを作成
- シーケンスやログをファイルとして保管

# GC法とLC法の対象農薬範囲 (オクタノール/水分分配係数 LogPow)



# GC-B法 (自動)

## 従来法

事前に50%アセトニトリルで2倍希釈

1mL 分取

Smart-SPE C18-30 mg

通液 アセトニトリル-水(4/1) 1mL

流出液

混合 10%食塩水 20mL

Smart-SPE C18-50 mg

乾燥 : 窒素パージ 3分

連結 Smart-SPE PSA-30

溶出 アセトン・ヘキサン (15/85) 1mL

定容 (1 mL, アセトン/ヘキサンの調整)

GC-MS測定 (25 $\mu$ L大量注入、PEG共注入)

## 改良法

希釈不要

0.5mL 分取

Smart-SPE C18-50 mg : 低極性夾雑精製

通液 アセトニトリル-水(9/1) 0.4 mL

流出液

混合 10%食塩水 12mL

Smart-SPE C18-50 mg : 農薬保持

乾燥 : 窒素パージ 2分

連結 Smart-SPE PSA-30 mg : 脂肪酸精製

溶出 アセトン・ヘキサン (15/85) 1mL

定容 (1 mL, アセトン/ヘキサンの調整)

GC-MS測定 (25 $\mu$ L大量注入、PEG共注入)

固相のコンディショニングから  
ノズル洗浄まで自動処理!

# GC-B法結果(自動)

抽出工程で回収率低下

添加回収率(一部抜粋)

単位：%

成分	ほうれん草	小松菜	玄米	冷凍 お好み焼き	大豆	甘夏
ジクロロボス	98	80	85	83	22 (87)	120
エトフェンプロックス	92	82	80	73	65 (87)	122
シラフルオフエン	86	71	67	62	48 (75)	71

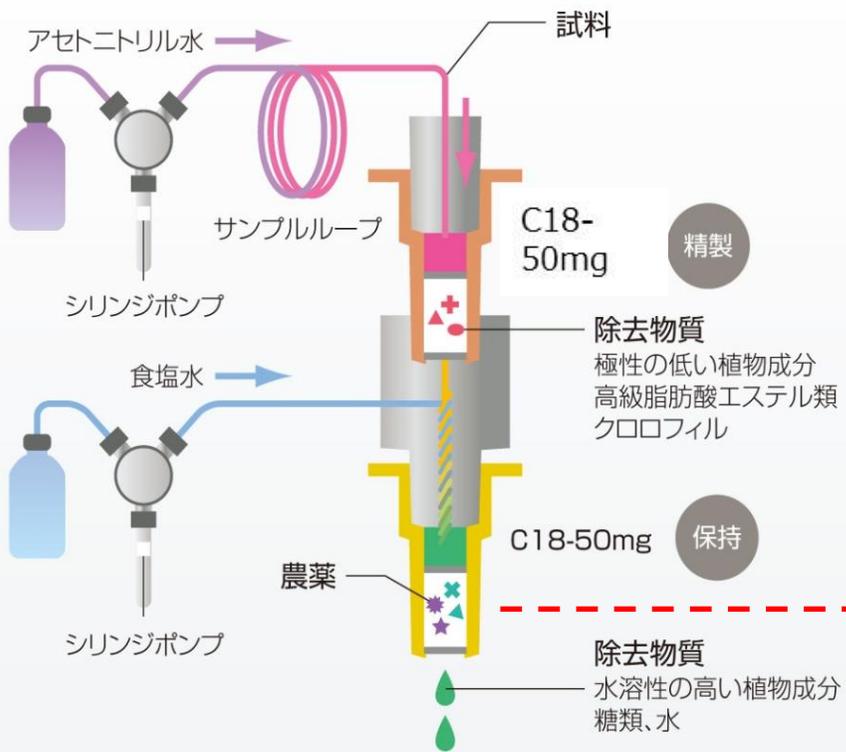
( )内は抽出後添加の回収率

## 【抽出に関する弊社資料】

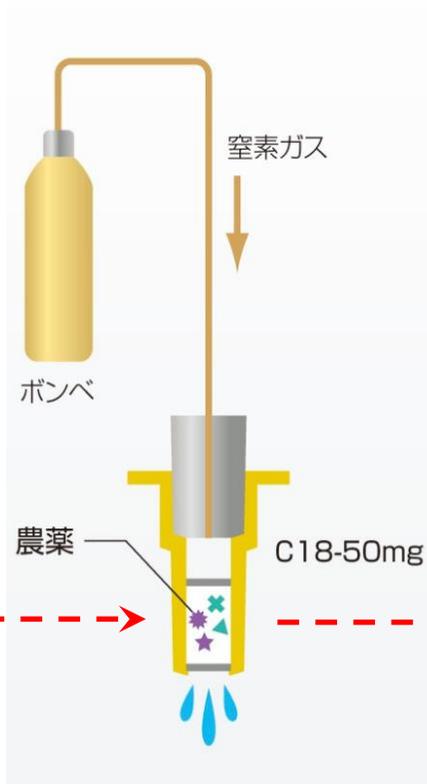
- ・ 食品衛生学会 第105回 「STQ法における繰り返し抽出定容法の検討」  
<http://www.aisti.co.jp/common/pdf/ss10501p.pdf>
- ・ 食品衛生学会 第113回 「STQ法(残留農薬一斉分析法)における抽出溶媒量の検討」

# GC-B法：農薬保持工程（自動）

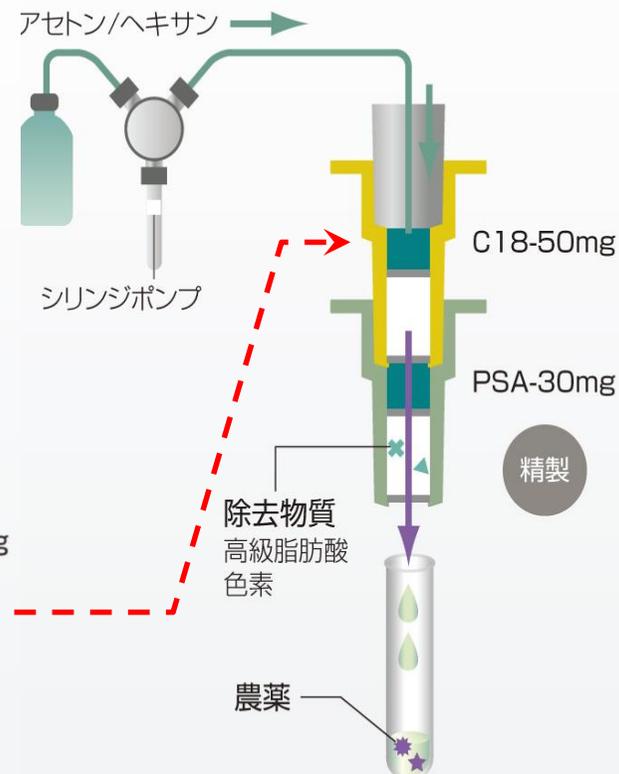
## Step. 1 精製・保持



## Step. 2 乾燥



## Step. 3 連結精製



# LC法 (自動)

## 従来法

自動  
処理

抽出液 1mL (試料 1 g 相当)

Smart SPE C18-30mg + PSA-30mg

— 注入 0.4%ギ酸含有メタノール 1mL  
\* 酸性農薬非対象の場合ギ酸混合不要

流出液

— 水 0.5mL 混合

Smart SPE C18-50mg

— 溶出メタノール-水 (4/1) 1mL

定容 (4 mL, 水で調整)

LC-MS/MS測定

## 改良法

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

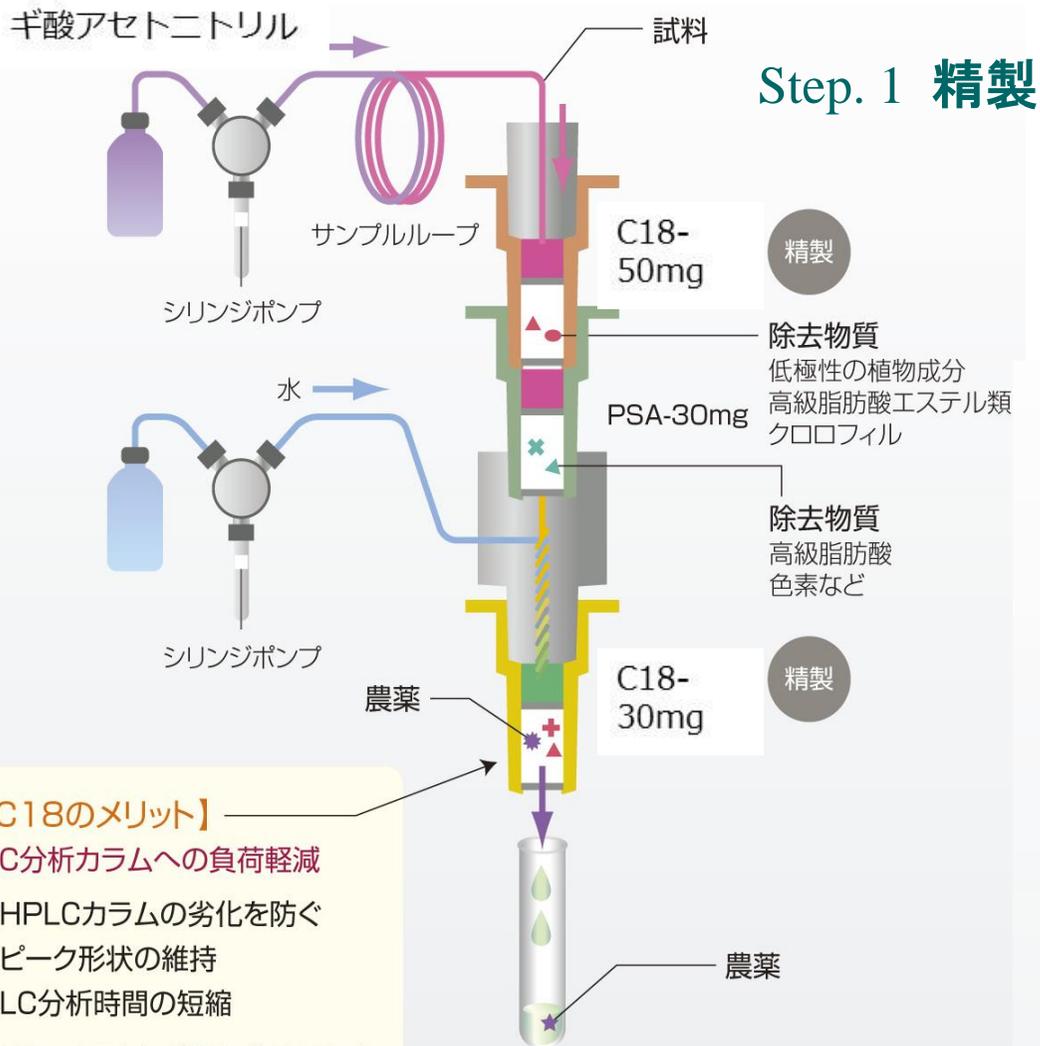
— 溶出 アセトニトリル-水 (4/1) 0.5 mL

定容 (2 mL, 水で調整)

LC-MS/MS測定

固相のコンディショニングから  
ノズル洗浄まで自動処理!

# LC法：農薬保持工程（自動）



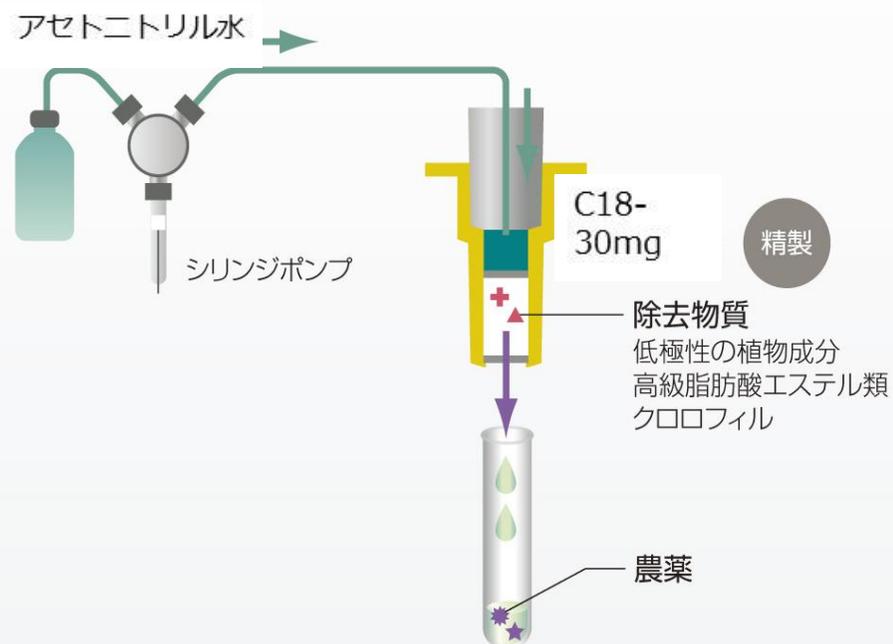
## 【C18のメリット】

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。

## Step. 2 溶出



# LC法結果(自動)

添加回収率(一部抜粋)

イオン化阻害

単位：%

	ほうれん草	小松菜	トマト	玄米	冷凍 お好み焼き	大豆	甘夏
アセフェート	87	82	85	81	80	72 (91)	77 (90)
メタミドホス	73	73	73	66	71	69 (80)	63 (86)
トリチコナ ゾール	89	94	87	93	100	87 (96)	64 (101)

( )内はマトリックスstdを用いた場合の回収率

	ほうれん草	小松菜	トマト	玄米	冷凍 お好み焼き	大豆	甘夏
クロプロップ	84	76	85	92	85	82	85
MCPA	75	73	84	90	83	81	112

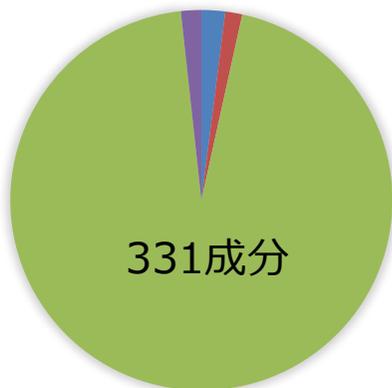
# 3, アプリケーションの紹介 ～全自動固相抽出装置ST-L400～

# STQ-GC-B法

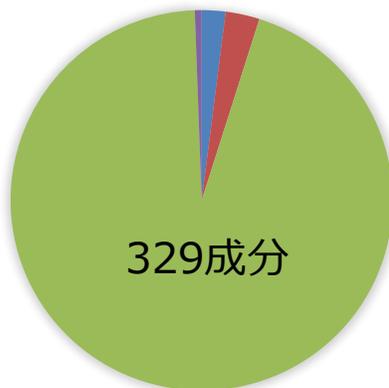
# 添加回収率の分布

測定成分：349成分

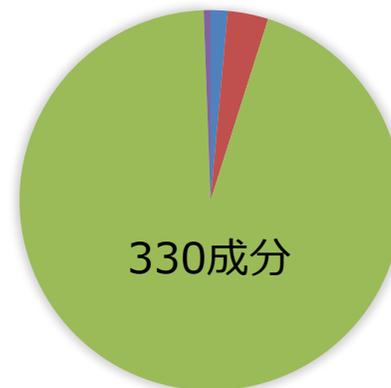
ほうれん草



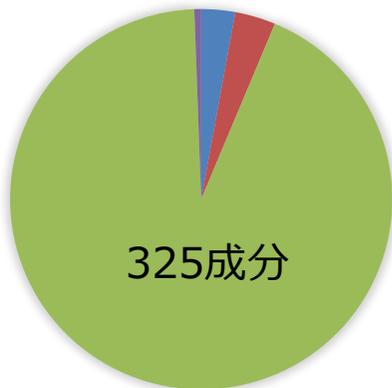
小松菜



玄米



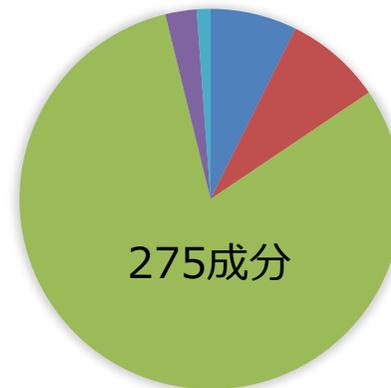
冷凍お好み焼き



大豆



甘夏

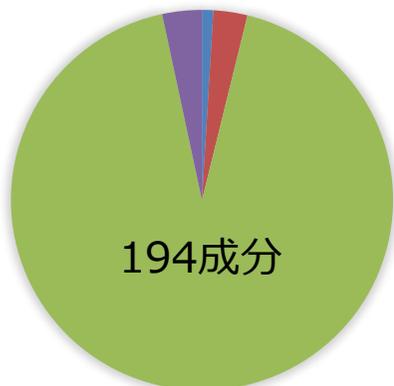


■ 0-50%、■ 50-70%、■ 70-120%、■ 120-200%、■ 200%以上

# STQ-LC法 添加回収率の分布

測定成分：212成分

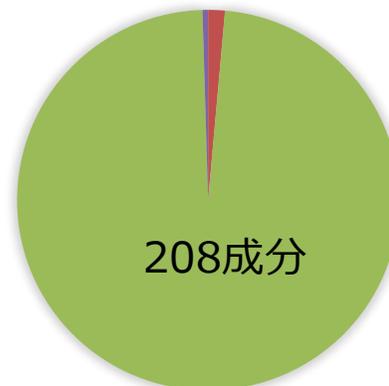
ほうれん草



小松菜



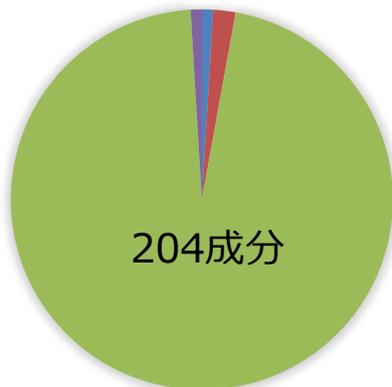
トマト



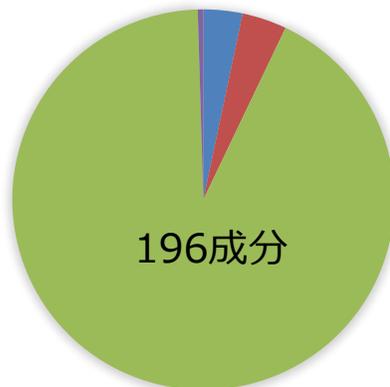
玄米



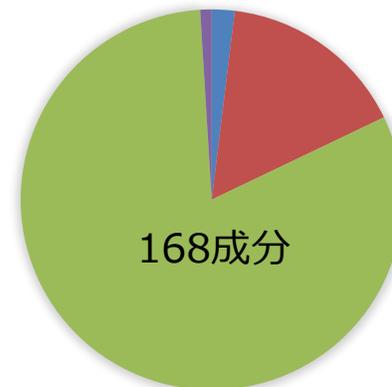
冷凍お好み焼き



大豆



甘夏



■ 0-50%、■ 50-70%、■ 70-120%、■ 120-200%

# 4, 改良のポイント

## ～マニュアルの場合～

# GC-B法 (マニュアル)

検証中



## 現行法

抽出液 0.5 mL (試料0.5g相当)

— 添加混合 水 0.2mL  
(事前にリザーバー内に入れておく)

Smart-SPE C18-30 mg : 脂質精製

— 溶出 アセトン-水(4/1) 1mL

溶出液回収

— 添加混合 水 2mL

Smart-SPE PLS3-10mg : 低極性農薬保持

溶出液回収

— 添加混合 15%食塩水 20mL

Smart-SPE PLS3-10mg : 中極性農薬再保持

吸引通気乾燥 : 3分

連結 Smart-SPE PSA-30 : 脂肪酸等精製

— 溶出 アセトン・ヘキサン (15/85) 1mL

定容 (1 mL, アセトン/ヘキサンで調整)

GC-MS測定 (25 $\mu$ L大量注入、PEG共注入)

## 改良法

希釈不要

抽出液 0.5 mL (試料0.5g相当)

Smart-SPE C18-50 mg 精製 : 低極性夾雑精製

— 通液 アセトン-水(9/1) 0.4mL

流出液回収

— 添加混合 水 1.5 mL

Smart-SPE HLBi5-20mg 保持 : 低極性農薬

流出液回収

— 添加混合 10%食塩水 10mL

Smart-SPE HLBi5-20mg 再保持 : 中極性農薬

— 洗浄 水 2mL

吸引通気乾燥 : 3分

連結 Smart-SPE PSA-30 精製 : 脂肪酸除去

— 溶出 アセトン-ヘキサン(15/85) 1mL

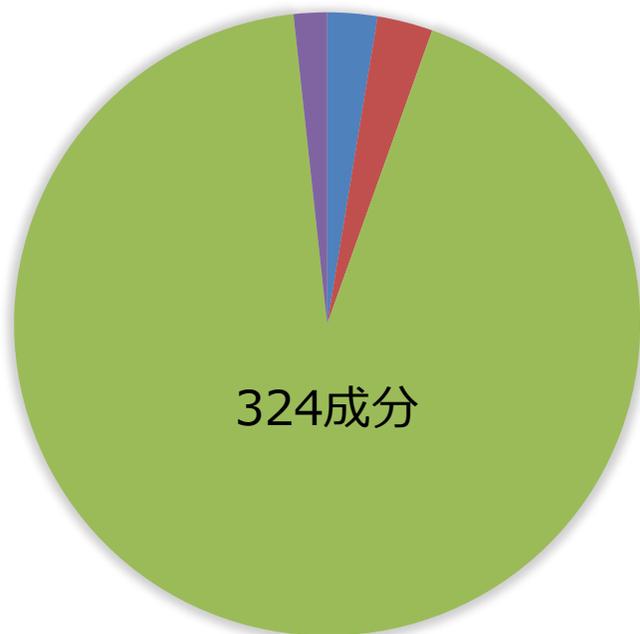
定容 (1 mL, アセトン/ヘキサンで調整)

GC-MS測定 (25 $\mu$ L大量注入、PEG共注入)

# GC-B法 (マニュアル) 添加回収率分布

ほうれんそう

**検証中**



測定成分数 : 349成分

- 0-50%
- 50-70%
- 70-120%
- 120-200%

# LC法 (マニュアル)

検証中

現行法

抽出液 1mL (試料 1 g 相当)

Smart SPE C18-30mg + PSA-30mg

溶出 0.4%ギ酸含有メタノール 1mL  
\* 酸性農薬非対象の場合ギ酸混合不要

溶出液回収

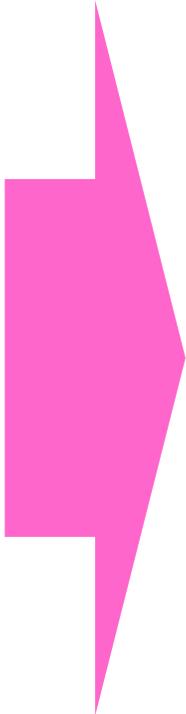
水 0.5mL 混合

Smart SPE C18-50mg

溶出メタノール-水 (4/1) 1mL

定容 (4 mL, 水で調整)

LC-MS/MS測定



改良法

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

通液 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

流出液回収

添加混合 水 0.5mL

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)

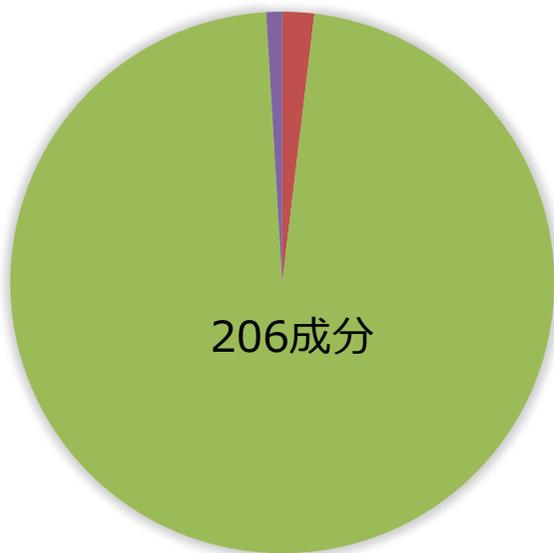
LC-MS/MS測定(1μL注入)

# LC法 (マニュアル) 添加回収率の分布

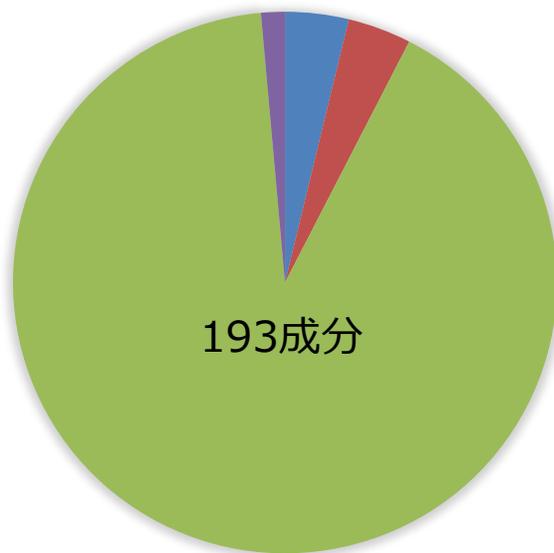
**検証中**

測定成分数：212成分

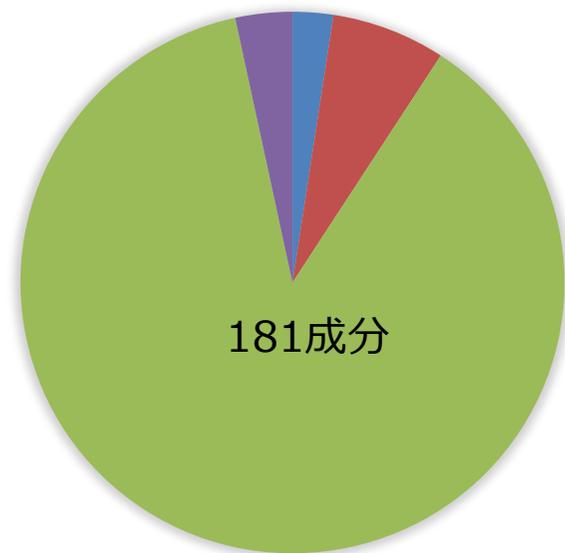
玄米



大豆



甘夏



■ 0-50%、■ 50-70%、■ 70-120%、■ 120-200%

## 5, STQ法の客観的評価

# 当社参加技能試験結果

主催：独立行政法人産業技術総合研究所

参加時期	試料	結果 (参加機関の分析結果から 算出したZスコア)
2012年	大豆	$ z  \leq 2.0$
2013年	玄米	$ z  \leq 2.0$
2014年	玄麦	$ z  \leq 2.0$
2015年	玄米	$ z  \leq 2.0$
2016年	大豆	$ z  \leq 2.0$
2017年	玄米	$ z  \leq 2.0$

2017年は参加33機関中、14機関がSTQ法で参加！

STQ法での参加機関数が最多！！

# STQ法ユーザー様のISO17025認定拡大

**NEW : 今年度 認定取得されました！**

大手食品メーカー様  
全自動固相抽出装置 + GC用大量注入装置、一斉分析

**2016年以前の認定**

JA鹿児島経済連・食品総合研究所様（2016年）  
全自動固相抽出装置 + GC用大量注入装置  
大手食品メーカー様：手動STQ-LC法（2014年）

**STQ法は認定取得可能です！**

# STQ法に関連する文献や情報



## ①AOACに論文掲載

産業技術総合研究所 大竹氏ら

### タイトル

Proficiency Testing for Quantification of Pesticide Residues in Treated Brown Rice Samples: Comparison of Performance of Japanese Official Multiresidue, Modified QuEChERS, and QuEChERS Methods

### 著者

Takamitsu Otake, Takashi Yarita, Tomoko Sakamoto, Masahiko Numata, and Akiko Takatsu National Metrology Institute of Japan (NMIJ), National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 1-1-1 Umezono, Tsukuba,

# 最近のSTQ法に関する文献

②食品衛生学雑誌 第57巻 第4号 2016 Vol.57

「LC-MS/MSを用いた野菜および果実中の  
残留農薬迅速一斉分析法の妥当性確認」

佐藤環 宮本伊織 上村聖子 仲谷正 角谷直哉 山野哲夫（大阪市立環境科学研究所）

概要：14種類のサンプルを対象にSTQ-LC法についてガイドラインに則った妥当性評価を実施

③宮城県保健環境センター年報 第33号 2015

「STQ法による残留農薬分析のための前処理法の検討」

千葉美子 瀧澤裕 大内亜沙子 高橋美保（宮城県保健環境センター）

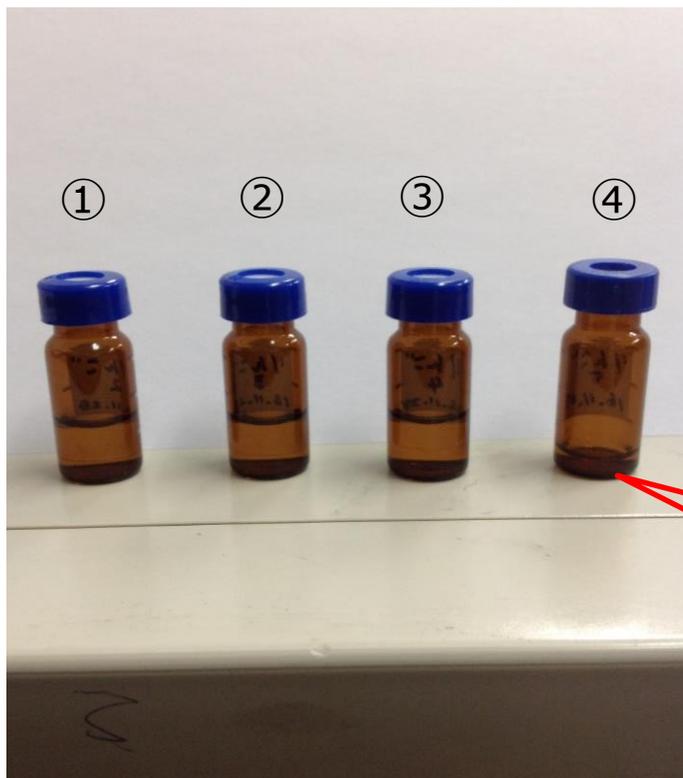
<http://www.pref.miyagi.jp/uploaded/attachment/338307.pdf>

概要：ドライアイス予凍結粉碎について、様々な食品をサンプルとし、水分測定や、粒度分布に至る内容。

## 6, 分析がうまくいかない事例

# ケース① 測定バイアルキャップの密閉性がよくなかった

併行試験の再現性が悪い



フェナントレンd体の面積値

	①	②	③	④
Phenanthrene-d10	298190	315763	295668	357435

サンプル液が濃縮されたためフェナントレンd体の面積値が大きい

翌日液面を確認したところ溶媒が揮発しており液面が下がっていた

## ケース② 抽出液(アセトニル)に添加用標準溶液が溶解しきれなかった

抽出液(アセトニル)にヘキサンを含む標準溶液を添加するとヘキサンが分離し添加回収試験結果が悪化(低回収率)する

アセトン溶媒に対する各溶媒の比率(%)

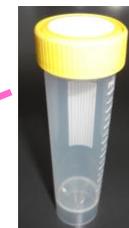
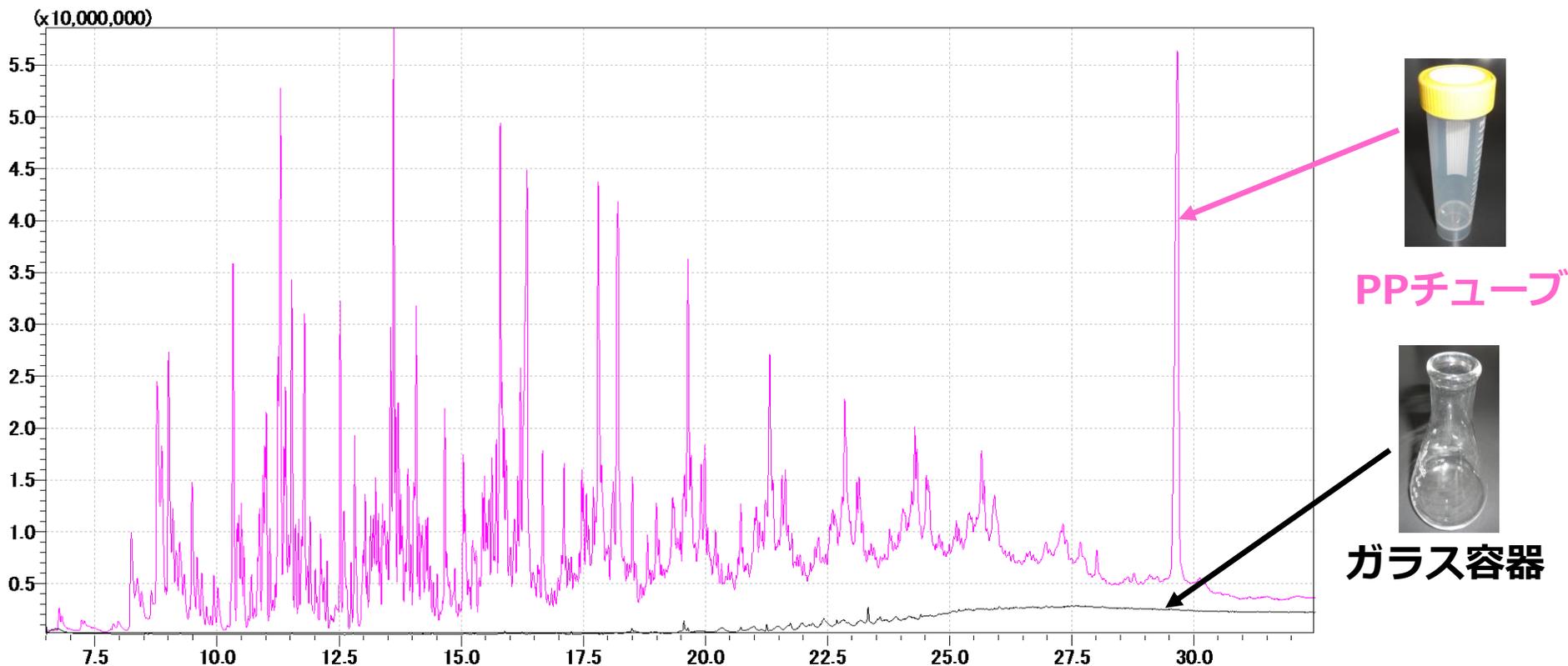
項目	標準溶液の溶媒組成		
	アセトン	アセトン/ヘキサン (15/85)	ヘキサン
ジクロルホス	100	40	45
ジフェニル	100	65	51
プロパクロール	100	56	61
デメトン-S-メチル(メチルジメトン)	100	18	24
テフルリン	100	55	44
プロチオホス	100	64	50
メミノストロビン(Z)	100	46	55
ビフェントリン	100	57	45
ヘルメリン-1	100	65	50
ヘルメリン-2	100	71	56
エトフェンプロックス	100	70	55
シラフルオフエン	100	60	48

# ケース③ サンプル液 (有機溶媒※)をPPチューブで 調製・保管した

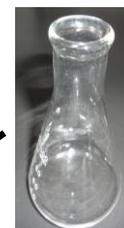
容器から夾雑物が溶出し、クロマトグラム上に夾雑ピークが出現した

※トルエン・アセトン・ヘキサン=5/15/80

SCANクロマトグラム



PPチューブ



ガラス容器

# ケース④ 標準溶液調製時のpHの影響 (LC)

検量線用標準溶液を酸性溶液で希釈しないと酸性農薬の感度が低下する

## LC標準溶液調製方法

2ppm/アトニトリル

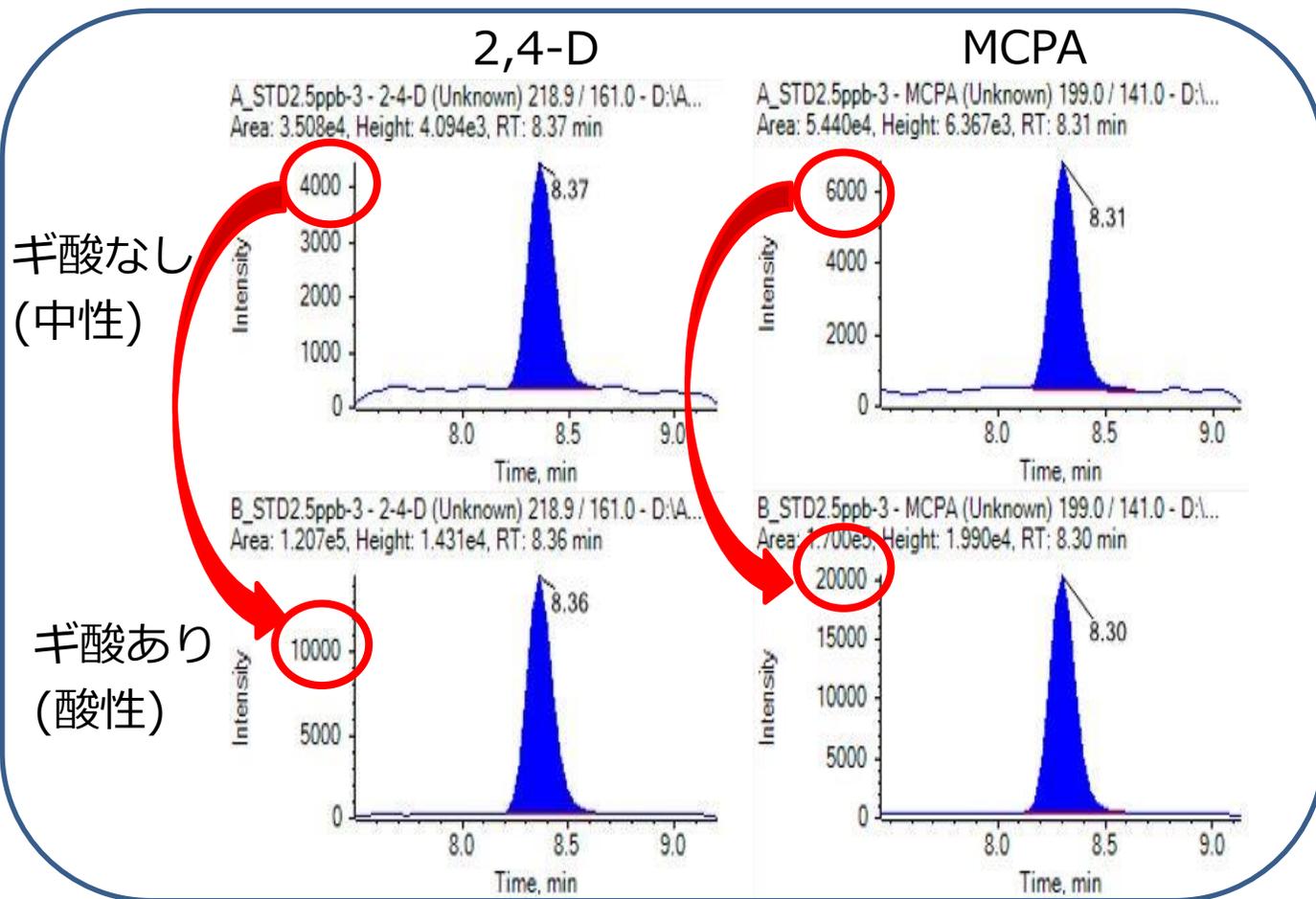
~~アトニトリル~~  
が酸入り混合溶媒  
で希釈

ここ!

0.1ppm

が酸入り  
混合溶媒で希釈

2.5ppb



**皆様のご事情に合わせた  
様々なご提案をさせていただきます。**

**STQ法の実演や装置の貸し出しも  
無料で行っております。**

**お気軽にお問い合わせください！**

# 当社ホームページにて情報多数公開

- ・食品  
（一斉分析STQ法、マラチオン、TPN、ネオニコチノイドなど）
- ・環境  
（水中農薬、クロロフェノール、かび臭）
- ・メタボロミクス迅速前処理（有機酸、アミノ酸、糖）

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](mailto:as@aisti.co.jp)

ホームページ : <http://www.aisti.co.jp/>