

2018年11月15日  
日本食品衛生学会学術講演会(広島国際会議場)  
技術セミナー

# STQ法と通知法の比較

## ~STQ法をより深く知ってもらうために~



株式会社アイスティサイエンス

Beyond your Imagination

# 本日の内容

- 1, STQ法とは
- 2, STQ法と通知法の比較
- 3, STQ法の客観的評価

# 1, STQ法とは

# STQ法とは？



## 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。

# STQ法の概要

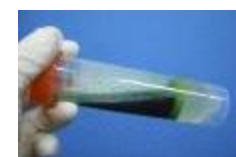
## QuEChERS抽出



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

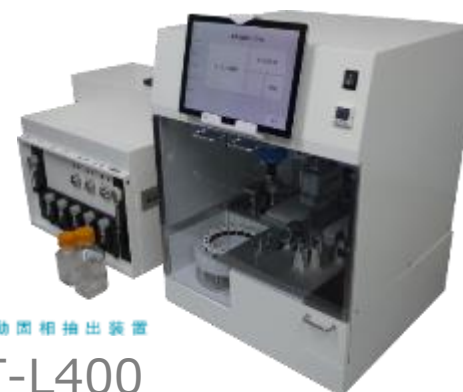


## 精製



## 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

## 2, STQ法と通知法の比較

(1)試料調製

(2)抽出

(3)GC法

(4)LC法

(5)その他

# STQ法と通知法の比較

## 通知法

### 【GC法】

GC/MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)

### 【LC法】

LC/MSによる農薬等の一斉試験法 I  
(農産物)

LC/MSによる農薬等の一斉試験法 II  
(農産物)

## STQ法

【GC法】 STQ-GC B法

【LC法】 STQ-LC法

# (1)試料調製

## 通知法

「粉碎し均一化する」  
「細切均一化する」

\* 穀類などはふるいを使用し均一化する

## STQ法

### 予冷式ドライアイス凍結粉碎法



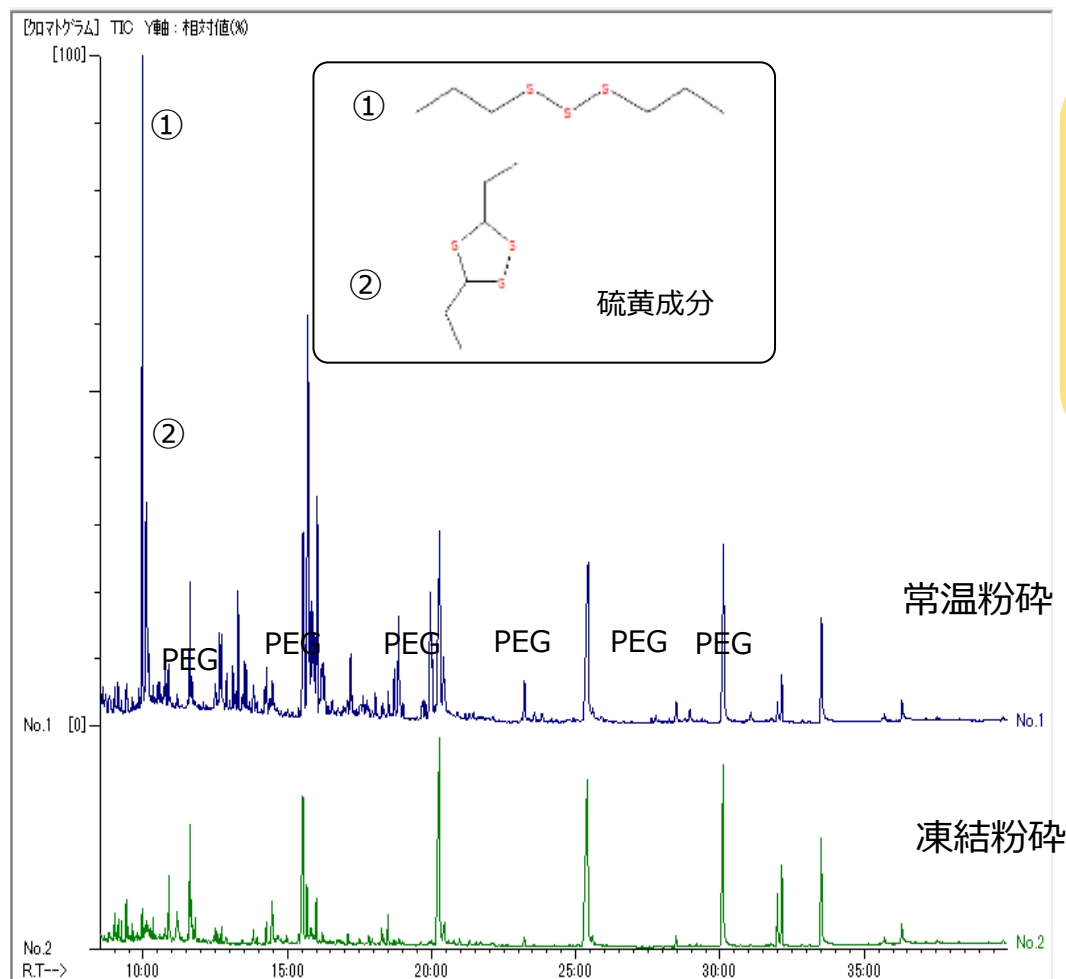
様々な試料を  
パウダー状に粉碎

- ・ 少量サンプリングが可能
- ・ 低温粉碎による酵素活性の抑制



# 【参考資料】凍結粉碎のメリット

## 粉碎時に悪さをする酵素活性の抑制



酵素活性による悪さの例

交雑成分の発生、上昇（ネギ類）

農薬の分解（クロロタロニルなど）

硫黄成分の発生抑制

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

## (2)抽出

### 通知法

試料 20g (穀類 10g + 水 20mL)

— アセトニトリル 50mL

ホモジナイズ

吸引ろ過

— アセトニトリル 20mL

ホモジナイズ

吸引ろ過

定容により定量精度を確保

定容 (100mL)アセトニトリルで調整

20mL分取

— 塩化ナトリウム 10g

— 0.5mol/L リン酸緩衝液(pH7.0) 20mL  
(0.01mol/L 塩酸 20mL←LC II 法の場合)

振とう 10分間

アセトニトリル層

### STQ法 (QuEChERS法参考法)

試料 10g (穀類 5g + 水 10mL)

GC対象農薬、LC対象農薬  
ともに**同じ抽出方法**

— アセトニトリル 10mL

ホモジナイズ

吸引ろ過から液液分配までの操作  
を**振とう**と**遠心分離**で実施

— 塩化ナトリウム 1g

クエン酸3Na2水和物 1g

クエン酸水素2Na1.5水和物 0.5g

無水硫酸マグネシウム 4g

振とう 1分間

遠心分離 (3,500rpm 5分間)

アセトニトリル層

# (3)精製 GC法

## 通知法

アセトニトリル層

脱水(無水硫酸ナトリウム)

濃縮・溶媒除去

転容(アセトニトリル-トルエン(3/1))

GC/NH2 : 精製

色素等平面構造の夾雑物を除去

イオン性夾雑物を除去

— 負荷 試料(アセトニトリル-トルエン(3/1)) 4g相当

— 溶出 アセトニトリル-トルエン(3/1)

濃縮・溶媒除去

定容 1mL(アセトン-ヘキサン(1/1))で調整

濃縮操作により感度確保

4倍濃縮

## STQ法 全自動固相抽出装置

アセトニトリル層

濃縮操作なし  
(転容不要)

C18-50 : 精製

低極性夾雑物を除去

— 負荷[通液] 試料(アセトニトリル) 0.5g相当

— 通液 アセトニトリル-水(9/1)

流出液

— 添加 塩化ナトリウム水溶液

負荷[保持] アセトニトリル濃度約5%

C18-50 : 保持

高極性夾雑物を除去

— 洗浄 水

窒素ガス乾燥

C18-50+PSA-30 : 精製

色素、脂肪酸等の除去

— 溶出 アセトン-ヘキサン(15/85)

・マトリクス効果の低減  
・装置測定状況の指標

サンプルに応じて  
・固相の追加が可能  
・溶出溶媒の変更が可能

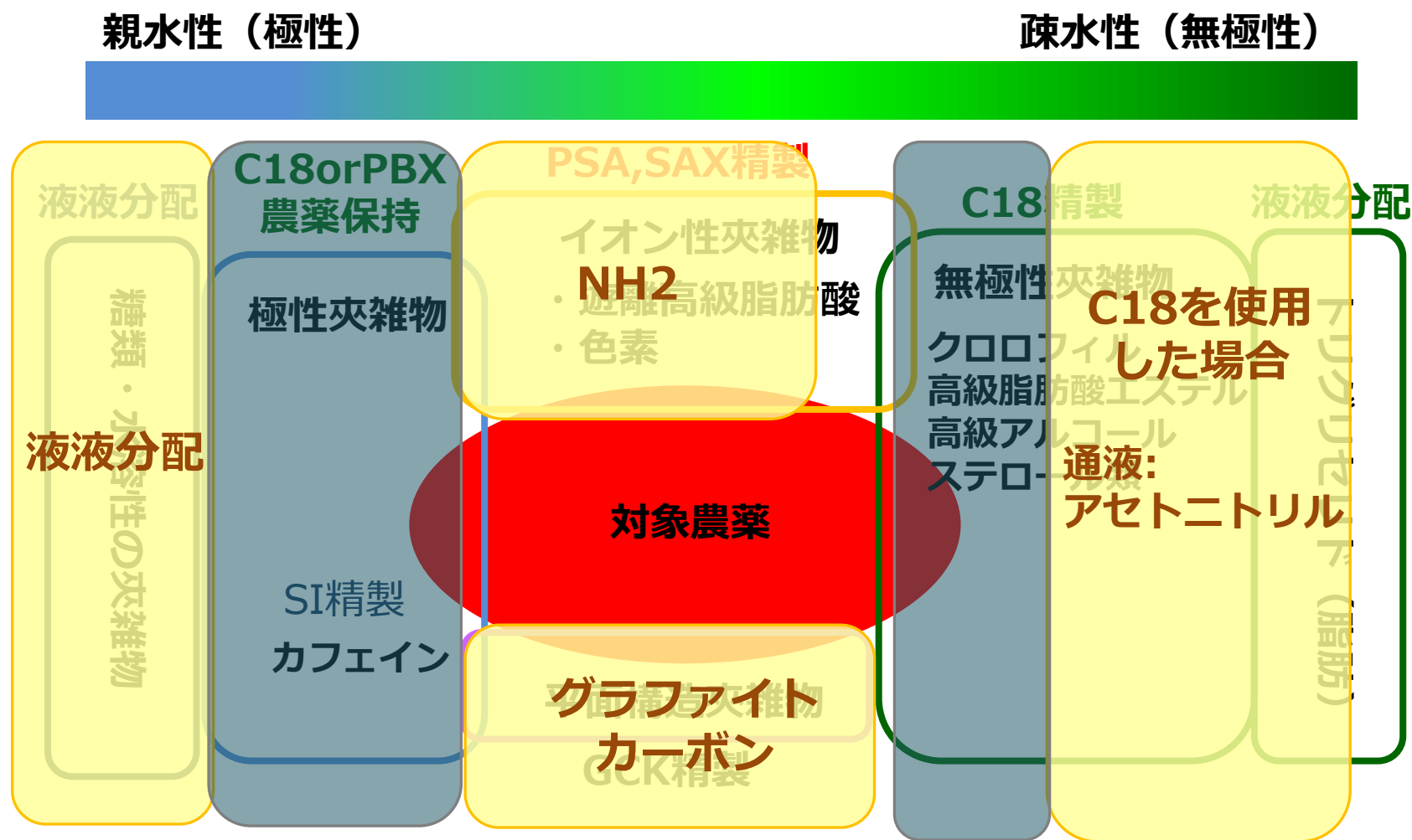
感度は大量注入によりカバー

— PEG+フィナトリン-d体

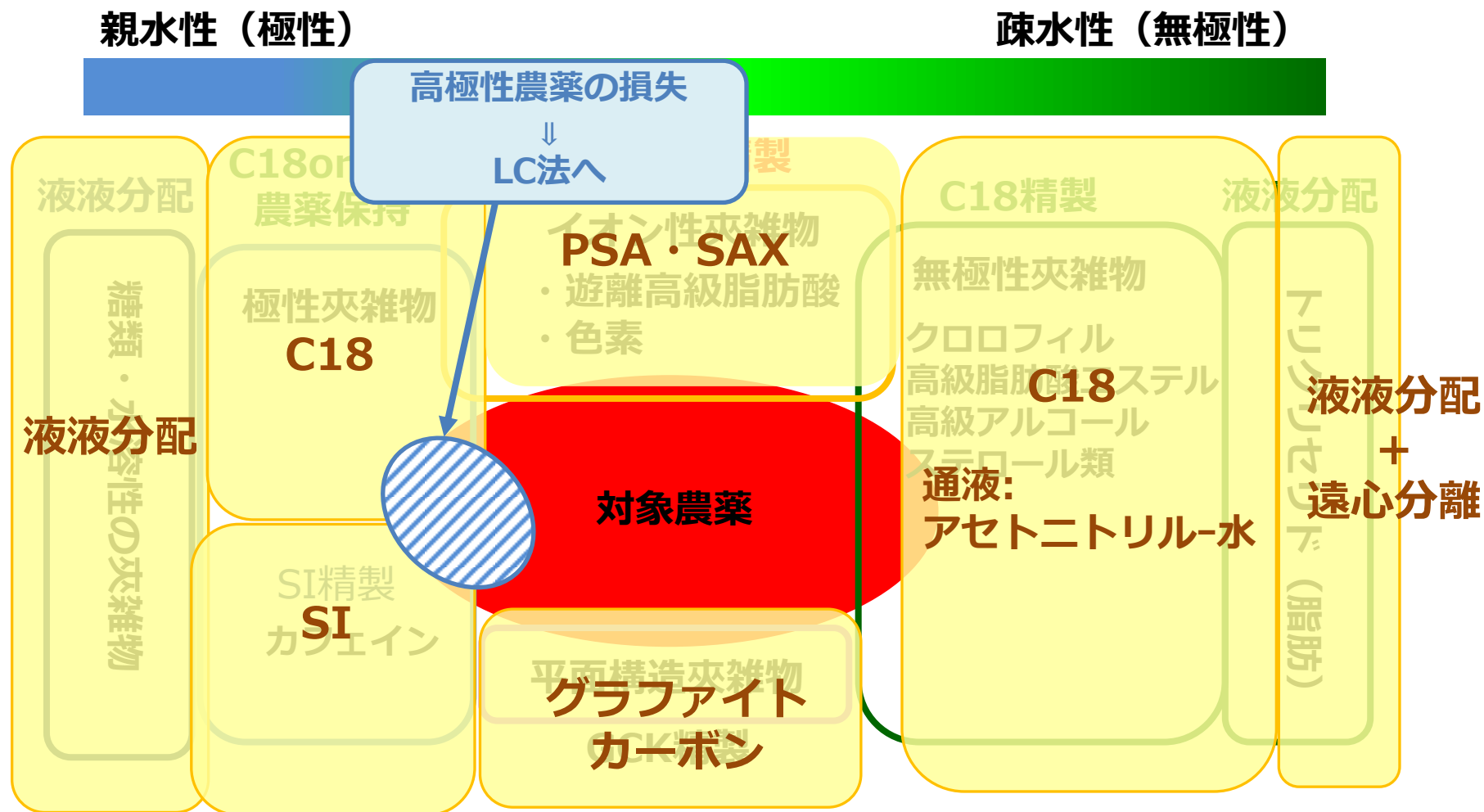
定容 1mL(アセトン-ヘキサン(15/85))で調整

2倍希釈

# 夾雑物除去の概念・・・通知法の場合



# 夾雑物除去の概念・・・STQ法の場合



# (4)精製 LC法

通知法 I 法

アセトニトリル層

濃縮・溶媒除去

転容(アセトニトリル-トルエン(3/1))

GC/NH2:精製

色素等平面構造の夾雑物を除去

イオン性夾雑物を除去

— 負荷 試料(アセトニトリル-トルエン(3/1)) (4g相当)

— 溶出 アセトニトリル-トルエン(3/1)

濃縮・溶媒除去

定容 4 mL(メタノールで調整)

1倍濃縮

STQ法全自動固相抽出装置

アセトニトリル層

C18-50+PSA-30:精製

低極性夾雑物の除去

色素、脂肪酸等の除去

— 負荷[通液] 試料(アセトニトリル) (0.5g相当)

— 通液 2%ギ酸含有アセトニトリル

流出液

— 添加 水

ギ酸酸性アセトニトリルによりⅡ法対象農薬も  
PSAから溶出  
Ⅰ法・Ⅱ法を同じ方法で分析可能

— 負荷[通液] (アセトニトリル濃度約67%)

C18-30:精製

低極性夾雑物の除去

— 通液 アセトニトリル-水(8/2)

アセトニトリル濃度を下げてC18に負荷することにより最初の  
C18で除去できなかった低極性夾雑物を除去

↓  
分析カラムへの負荷軽減

定容 2mL(水で調整)

4倍希釈

※最終溶液はアセトニトリル:2%ギ酸含有アセトニトリル:水:アセトニトリル-水(8/2)=1:1:1:1

# (4)精製 LC法

通知法 II 法

アセトニトリル層

濃縮・溶媒除去

転容(アセトニトリル/メタノール/水 (20/0.5/80))

SI: 保持

— 負荷 試料(アセトニトリル/メタノール/水 (20/0.5/80))  
(4g相当)

— 洗浄 アセトニトリル/メタノール/水 (20/0.5/80)

低極性夾雑物の除去

— 溶出 アセトニトリル/メタノール (1/1)

濃縮・溶媒除去

定容 4mL(メタノールで調整)

1倍濃縮

STQ法全自動固相抽出装置

アセトニトリル層

濃縮操作なし  
(転容不要)

C18-50+PSA-30: 精製

低極性夾雑物の除去

色素、脂肪酸等の除去

— 負荷[通液] 試料(アセトニトリル) (0.5g相当)

— 通液 2%ギ酸含有アセトニトリル

流出液

添加 水

ギ酸酸性アセトニトリルによりII法対象農薬も  
PSAから溶出  
I法・II法を同じ方法で分析可能

負荷[通液] (アセトニトリル濃度約67%)

C18-30: 精製

低極性夾雑物の除去

— 通液 アセトニトリル-水(8/2)

アセトニトリル濃度を下げてC18に負荷することにより最初の  
C18で除去できなかった低極性夾雑物を除去

↓  
分析カラムへの負荷軽減

定容 2mL(水で調整)

4倍希釈

※最終溶液はアセトニトリル: 2%ギ酸含有アセトニトリル: 水: アセトニトリル-水(8/2)=1:1:1:1

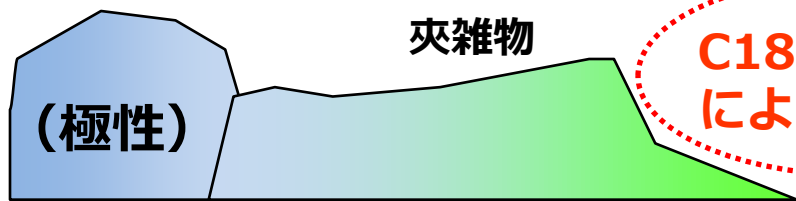
# C18精製によるLC分析カラムの負担軽減

## □ 固相C18を用いない場合

ACN : 水 (5:95)  $\xrightarrow{\text{グラジエント分析}}$  ACN : 水 (95:5)

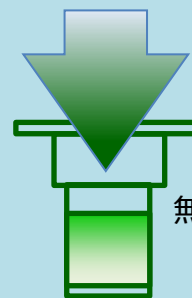


## □ 固相C18による精製の場合



C18ミニカラム  
による精製効果

ACN : 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。

## ★アセトニトリル濃度による精製効果の違い



100%ACN



80%ACN/水

<

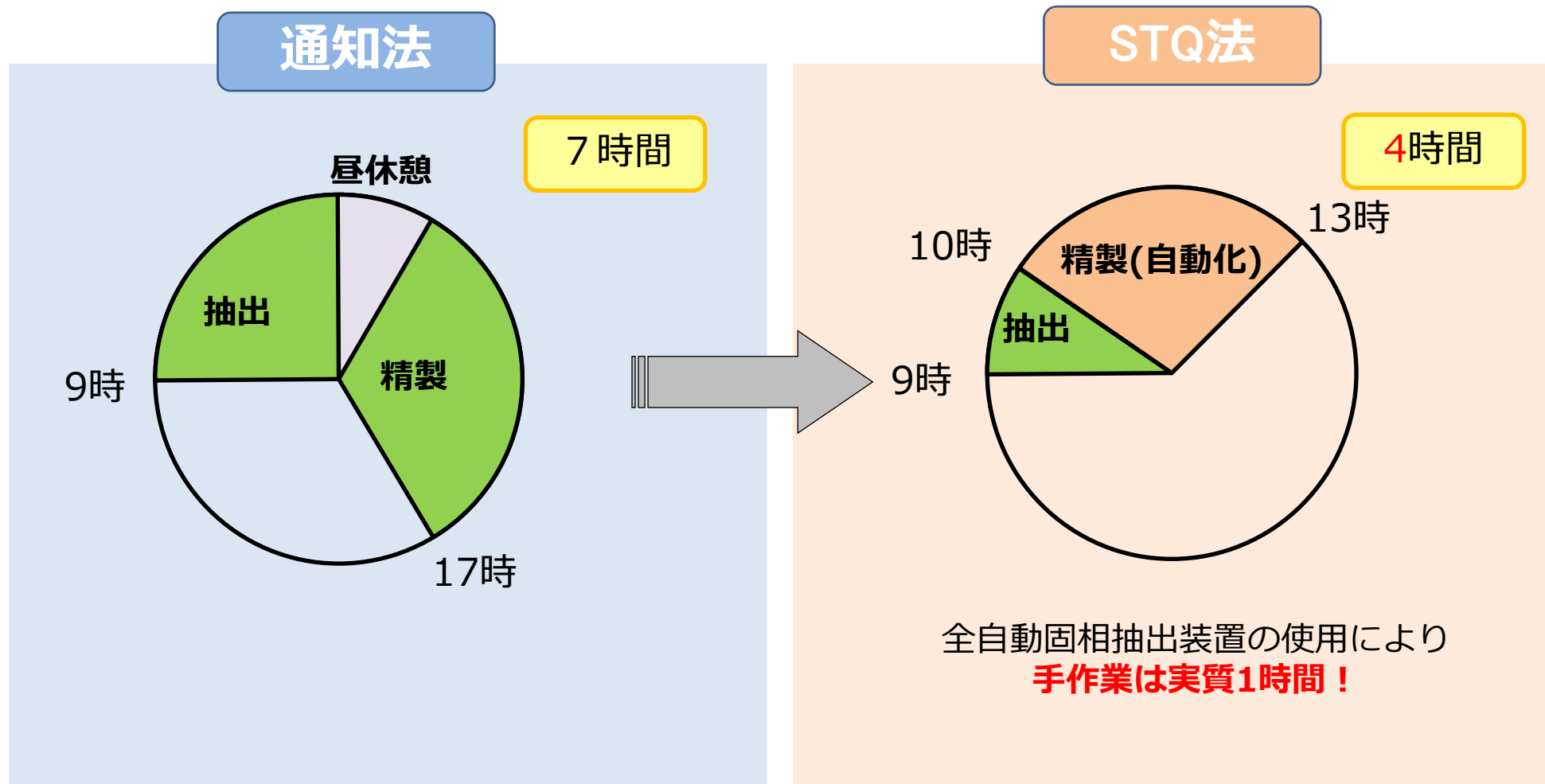
## メリット

- 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



# (5)その他

## ①時間 GC法 10検体処理の場合



# (5)その他

## ②使用する器具

### 通知法



ブフナー漏斗  
メスフラスコ  
分液漏斗  
ナシ型フラスコ・・・



### STQ法



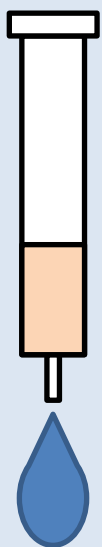
**メス試験管のみ！**

# (5)その他

## ③使用溶媒量

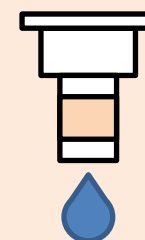
### 通知法

一般的な固相カートリッジ  
500~1000mg



### STQ法

固相ミニカートリッジ  
Smart-SPE  
20~50mg



|                | 通知法       | STQ法<br>(ST-L400) |
|----------------|-----------|-------------------|
| 抽出             | 100ml     | 10ml              |
| コンディショニング      | 30~45ml   | 5~10ml            |
| 溶出             | 30~45ml   | 1.5ml             |
| 合計             | 160~190ml | 17~22ml           |
| 使用する溶媒量は1/10程！ |           |                   |

# STQ法は自動化が可能！

## 全自動固相抽出装置

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！



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  
(固相コンディショニング、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

# 自動化のメリット

- ルーチン分析 : 時間の有効活用
- 前処理技術の管理 : 教育、訓練、引き継ぎの効率化
- バリデーション : 再現性の向上、反復数増加による負担軽減
- メソッド開発 : 確実な再現、メソッドの記録、保存
- 分析法の共有 : 複数のラボで同じ分析結果
- 人材の有効活用 : 新技術開発に人材投入、適材適所

# 3, STQ法の客観的評価

# 当社参加技能試験結果

主催：国立研究開発法人産業技術総合研究所

| 参加時期  | 試料 | 結果<br>(参加機関の分析結果から<br>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$                  |
| 2018年 | 玄麦 | $ z  \leq 2.0$                  |

2018年は参加38機関中、16機関（42%）がSTQ法で参加

STQ法での参加機関数が最多！（次いで通知法）

# STQ法ユーザー様のISO17025認定拡大

2017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



<http://www.aisti.co.jp/appli/>

## 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,

# STQ法に関連する文献や情報

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。

# STQ法に関連する文献や情報

第113回食品衛生学会学術講演会 ポスター発表

「食品中残留農薬分析における胃袋型インサートを用いた  
大量注入によるマトリックス効果低減の確認」

○宮本伊織、角谷直哉、山口之彦

地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所衛生化学部食品化学2課

概要：下記に挙げる3種類の注入方法を比較したところ、胃袋型インサートでのマトリックス効果の低減が確認できました。

- ① ストレート型ライナーを使用した微量注入（一般的な瞬間気化方式）
- ② 胃袋型インサートを使用した「大量」注入（インサート内で溶媒を気化排気）
- ③ 胃袋型インサートを使用した「微量」注入（LVIで2 $\mu$ L注入し瞬間気化方式）

特に、③において最も低減効果があったことから、これまで感度上昇を目的とした大量注入に用いられてきた胃袋型インサートが、微量注入方式でアボカド、ホウレンソウ、玄米などマトリックスの影響が大きい食品でも、マトリックス効果が低減できる可能性を示唆される結果が得られています。

ご清聴ありがとうございました

当社ホームページにて情報多数公開

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/>