

# 【残留農薬（グリホサート）/水質(PFOS・PFOA)】 各種有害物質分析の前処理自動化



株式会社アイスティサイエンス  
島三記絵

Beyond your Imagination

**AiSTI SCIENCE**

# 本日の内容

1. はじめに
2. 残留農薬分析：グリホサート類
3. 水質分析：PFOS・PFOA

# 本日の内容

1. はじめに
2. 残留農薬分析：グリホサート類
3. 水質分析：PFOS・PFOA

# 株式会社アイスティサイエンス

- ・ 所在地
  - 本社・ラボ：和歌山県和歌山市
  - 東日本営業所：埼玉県朝霞市
- ・ 事業内容：分析機器および周辺機器製造の販売



Analytical instrument developed by Saika Technological Institute

※雑賀技術研究所（和歌山市）



私達は前処理の自動化技術で  
ローテーション勤務や働き方改革に貢献します！

AISTI SCIENCE

# 自動化の一般的なメリット

- **ルーチン分析** : 時間の有効活用
- **前処理技術の運用** :
  - ・ 異動による引き継ぎや新人教育などの効率化
  - ・ 人的ばらつきの縮小
  - ・ 熟練度に左右されない結果
  - ・ メソッドやシーケンスなど実施記録の保存
- **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
- **分析法の共有** : 複数のラボで同じ分析結果
- **労働衛生環境改善** : 溶媒使用時間の短縮

# 本日の内容

1. はじめに
2. **残留農薬分析：グリホサート類**
3. 水質分析：PFOS・PFOA

本題に入る前に・・・

# (1)残留農薬一斉分析法：STQ法

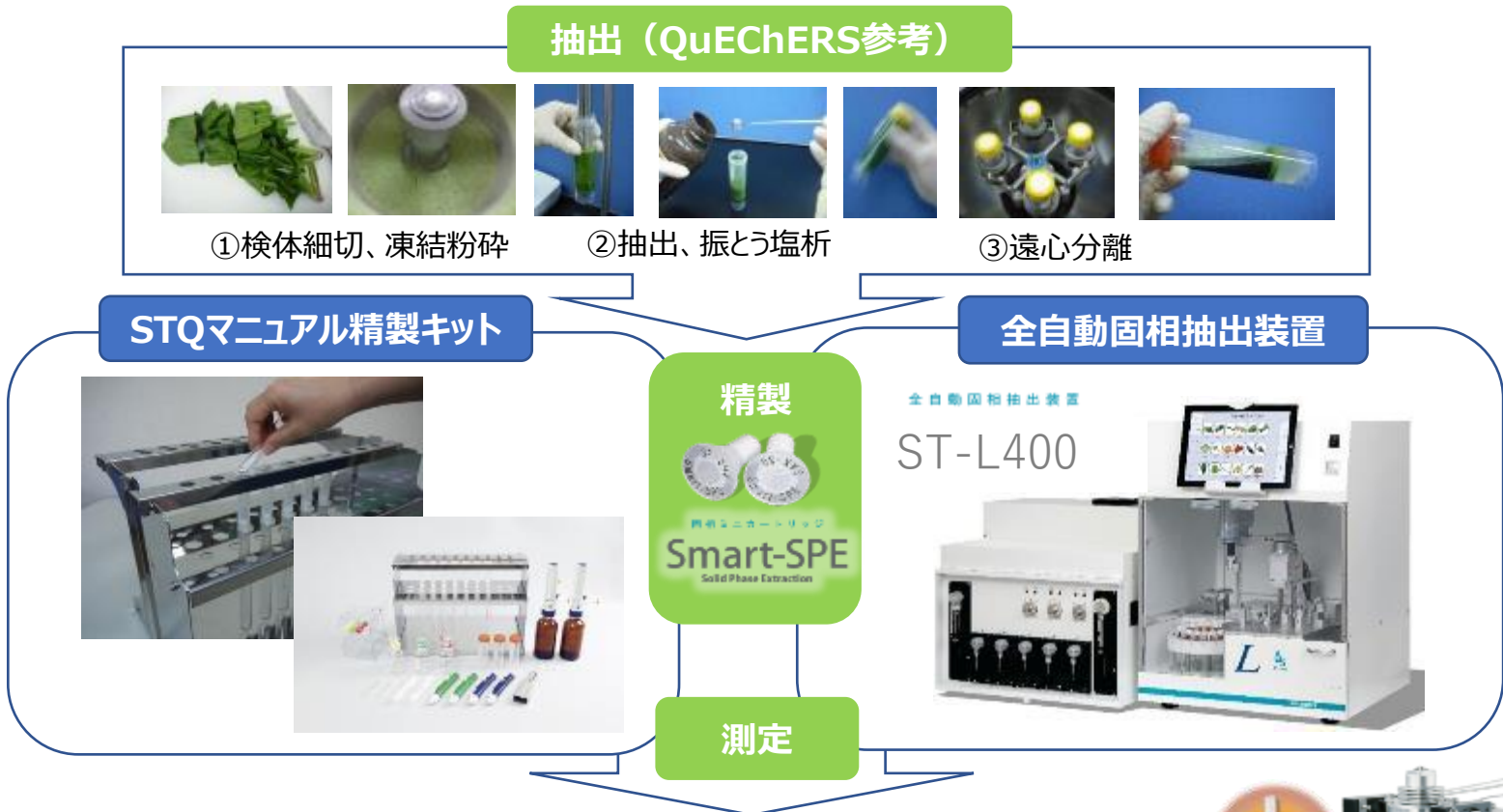


# STQ法の概要



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**の両立を可能にした方法

STQ法 : **S**olid Phase Extraction **T**echnique with **Q**uEChERS method



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





# STQ法のコンセプト

「簡便・迅速・低コスト」だけでなく  
**「高精製・自動化」と「安定性の持続」を！！**



**自動化で効率的にきれいなサンプルを！！**

# STQ法の精製効果 (例：積層カラム精製との比較/玄米)

<http://www.aisti.co.jp/common/pdf/as210205.pdf>



STQ法はきれい

STQ法以外は残留物を確認

①STQ法  
C18.C18+PSA

②  
GCK+PSA

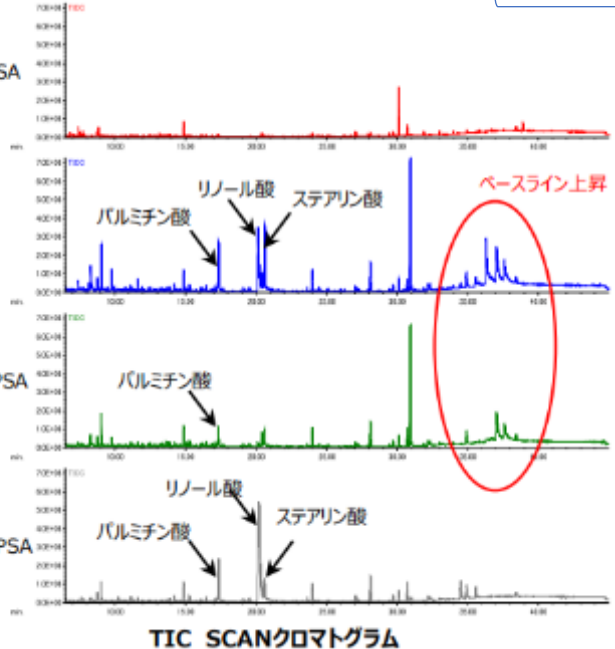
③  
C18+GCK+PSA

④  
C18+SAX+PSA

積層カラム精製

STQ法 ①STQ法  
C18,C18+PSA

積層カラム精製



- 公定法などに採用されている積層カラムを通過させるだけでは、精製後の溶媒を乾固させると析出物が出現。
- 測定結果でも各種脂肪酸の検出を確認。有色成分だけが夾雑物ではない！

※STQ-GC-B法ではいずれも出現していない。

一斉分析ではありません！

## (2)STQ法応用編

# ハチミツ中のグリホサート類の分析

# グリホサート・グルホシネート

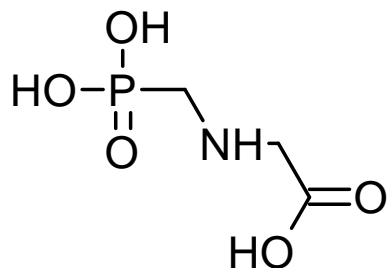
- ◆除草剤
- ◆代謝物を含む残留基準値あり
- ◆ハチミツから検出事例あり
- ◆グリホサート類は高極性農薬で一斉分析不向き
- ◆ハチミツは極性の高い糖類の除去が難しい



**ハチミツ中の代謝物を含むグリホサート類の  
簡易な一斉分析法を開発**

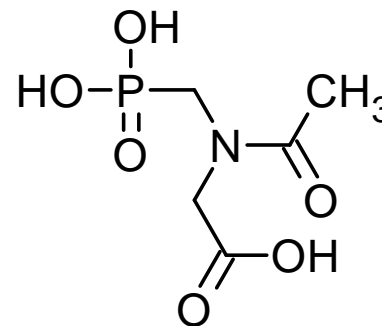
# 測定対象成分

## グリホサートとその代謝物



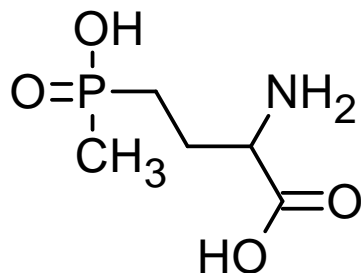
分子量 : 169.1  
 水溶解度 : 11 g/L  
 LogPow = <-3.4  
 pKa = 5.7, 2.2

■ Glyphosate ; **Gly**



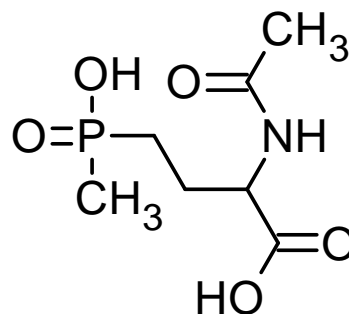
● N-Acetyl glyphosate ; **Gly-A**

## グルホシネートとその代謝物

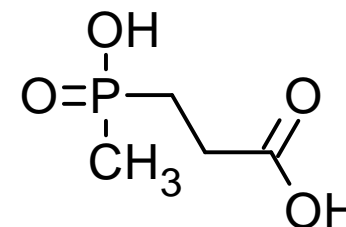


分子量 : 181.1  
 水溶解度 : 1370 g/L  
 LogPow = <-4.0  
 pKa = 9.8, 2.9, 2

■ Glufosinate ; **Glu**



● N-Acetyl glufosinate; **Glu-A**



● **MPPA**  
 3-(Methylphosphinico)  
 Propionic Acid

# 前処理 フローと測定条件

ハチミツ 10 g (50 mLの遠沈チューブ)

添加水 約 30 mL

手で激しく振とう (溶解)

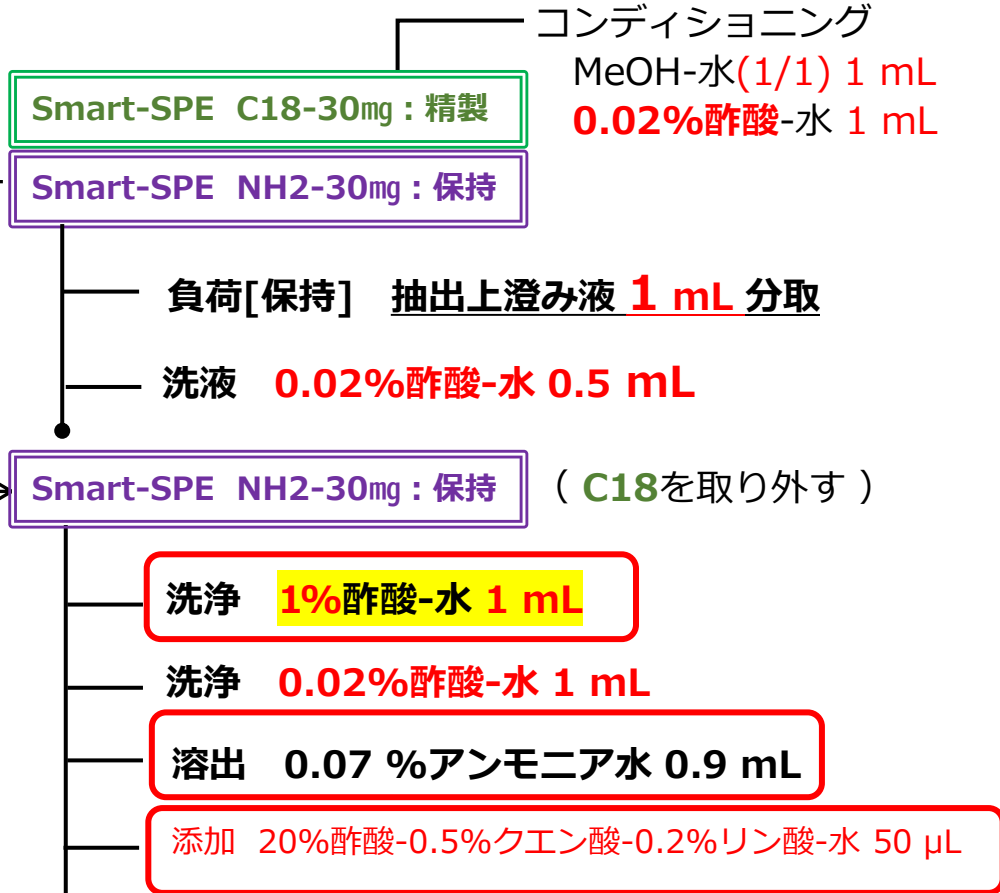
添加水 約15mL

(定容 : 全量が50mLになるように)

遠心 (1929 xg, 3500rpm) 5min

抽出液 50 mL (5倍希釈)

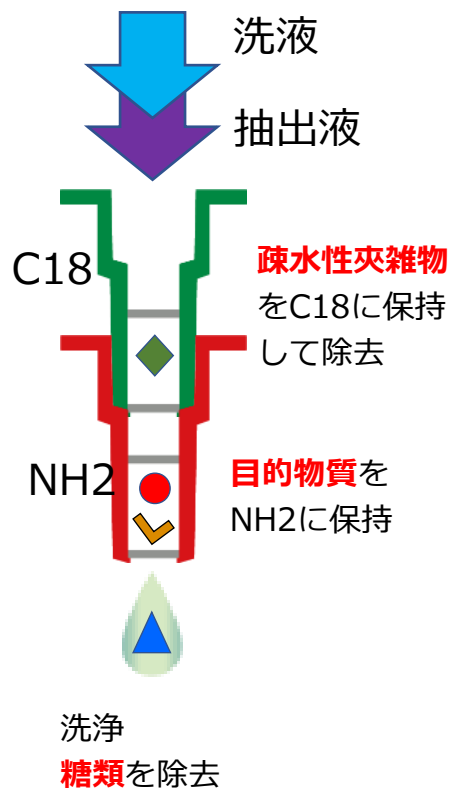
【LC-MS条件】  
 分析カラム : UHPLC PEEK InertSustain Ax-C18  
 (2.1mmi.d.×100mm,5µm GLサイエンス)  
 移動相 A液 : 2%ギ酸及び0.1%酢酸を含む  
 水-アセトニトリル(3/1)  
 B液 : 1%ギ酸及び0.1%酢酸を含むアセトニトリル  
 流速 : 0.3 mL/min  
 グラジエント : B.Conc 95%(0-2 min)→10%(5-11 min)  
 →95%(12-15 min)  
 注入量 : 10 µL  
 イオン化モード : ESI positive、negative  
 測定モード : MRM



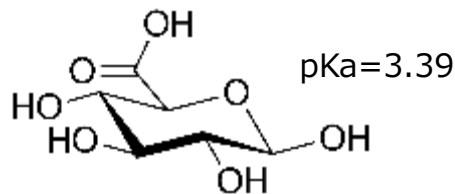
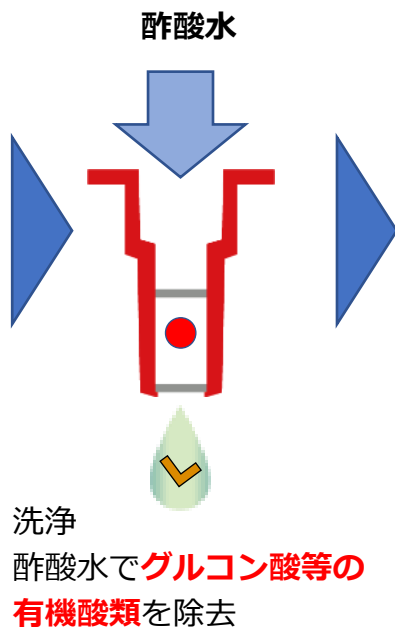
定容 : 1 mL 水で調整 (5倍希釈, 試料0.2 g相当)

# 固相抽出工程

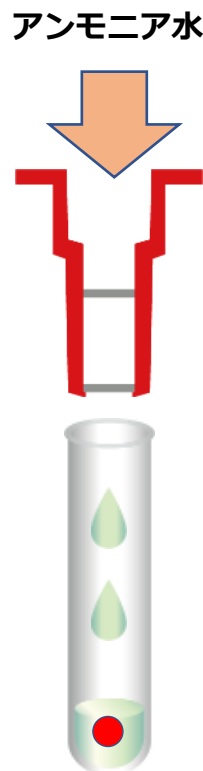
## ① 試料負荷/洗浄



## ② 洗浄



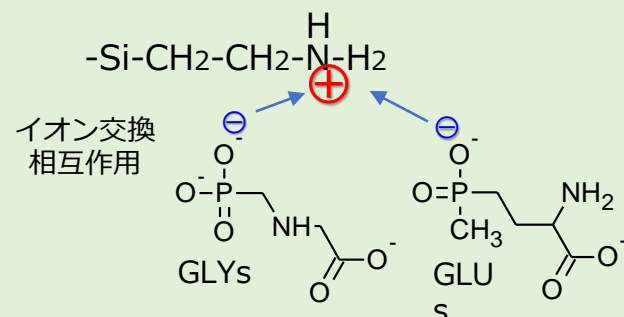
## ③ 溶出



### 固相NH2による保持と溶出

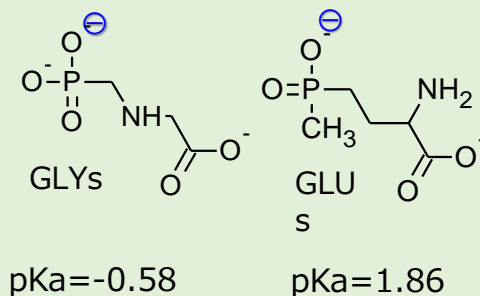
■ 環境が弱酸性では保持

固相 NH2

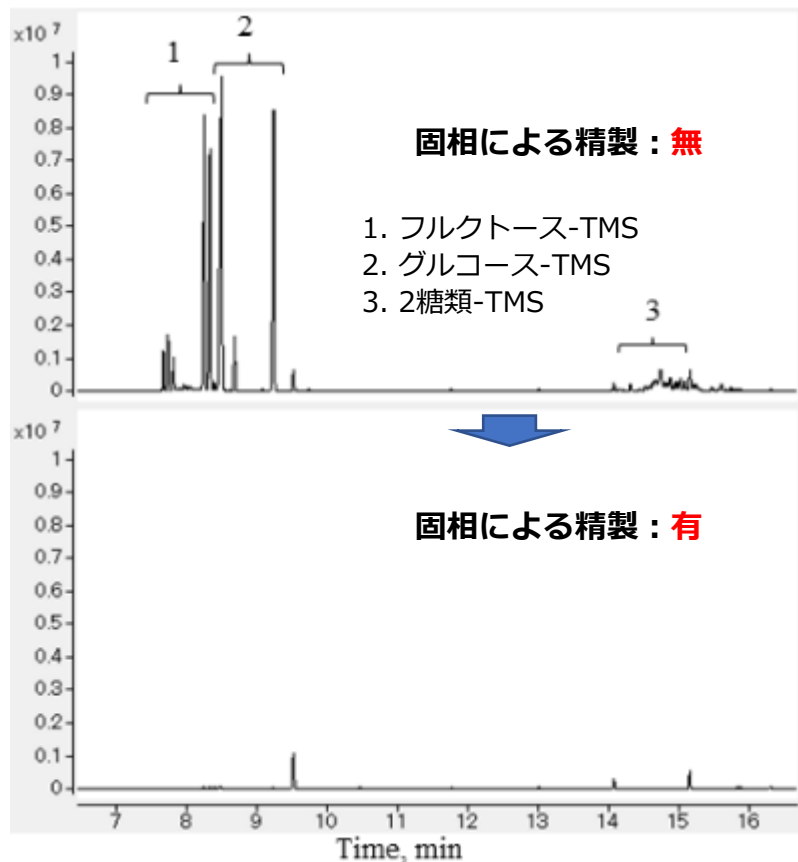


■ 環境がアルカリ性では脱離(溶出)

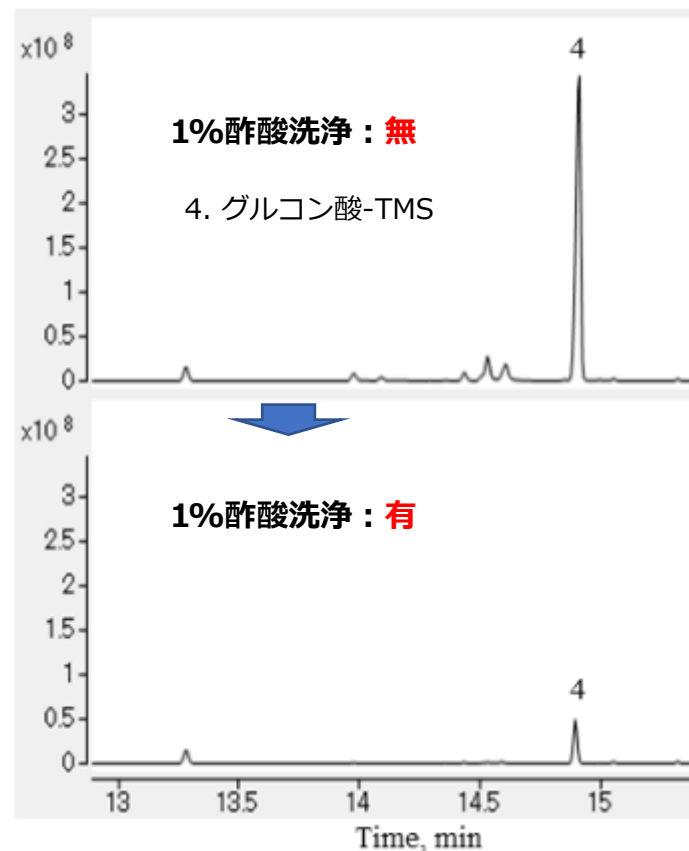
-Si-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>



# 固相抽出による糖類・有機酸類の除去効果



A 糖類



B 有機酸類

固相誘導体化法を用いたGC/MS-SCANトータルイオンクロマトグラム



# 各工程の条件検討

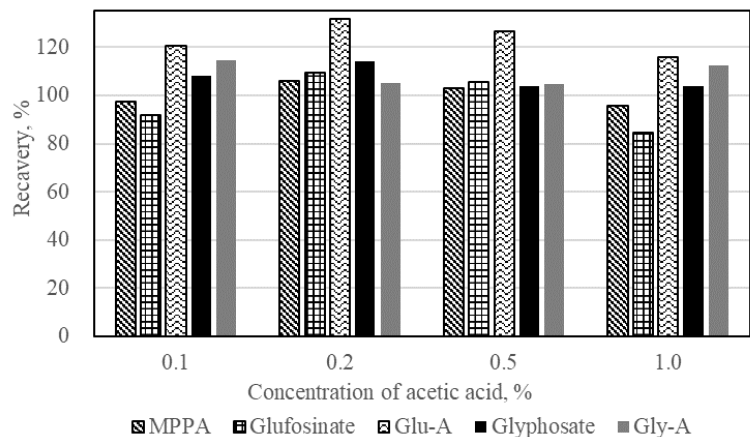


図1 洗浄溶媒の酢酸濃度と回収率の関係

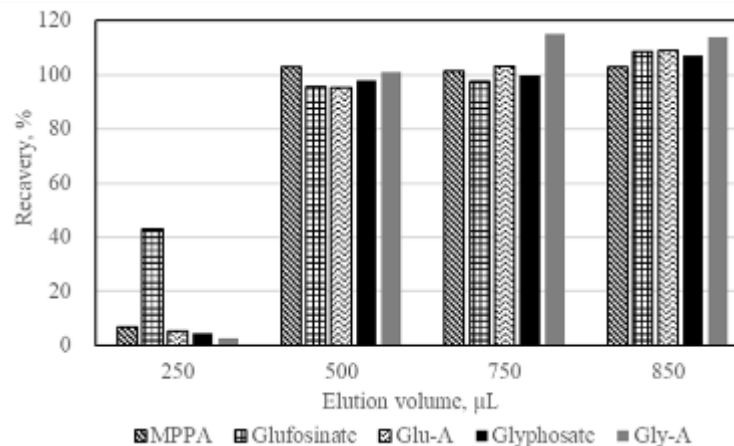


図3 溶出溶媒量と回収率の関係

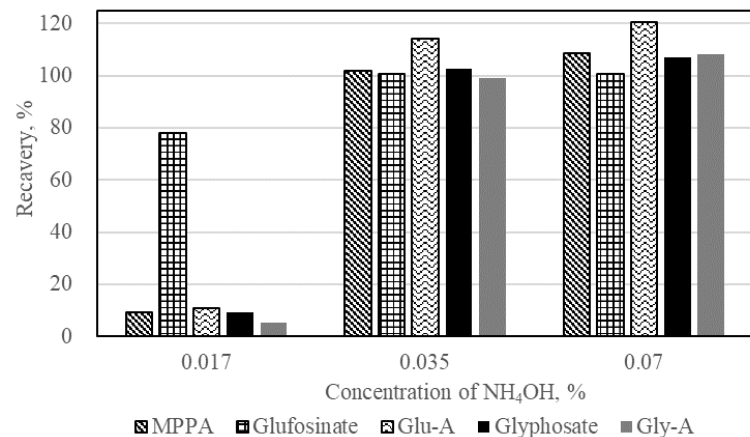


図2 溶出溶媒中NH<sub>4</sub>OH濃度と回収率の関係

表1 最終検液への添加剤と得られたピーク面積値

添加剤	MPPA	Glufosinate	Glu-A	Glyphosate	Gly-A
無	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Formic acid	1.01	0.78	1.04	<b>1.39</b>	0.98
● Acetic acid	1.08	0.98	1.09	<b>1.76</b>	1.14
● Citric acid	<b>1.30</b>	1.05	1.09	<b>2.03</b>	1.17
Methyl phosphate	1.03	1.03	<b>1.21</b>	<b>1.98</b>	<b>1.29</b>
● Phosphate	1.10	1.06	<b>1.56</b>	<b>3.16</b>	<b>1.37</b>

ギ酸を添加することで、グルホシネートの面積値が下がったが、酢酸ではグルホシネートの面積値を維持したままグリホサートの面積値が上がった。クエン酸を加えることで、MPPAおよびグリホサートのピーク面積値が上がるのが分かった。また、リン酸メチルやリン酸を添加することでGlu-AとグリホサートとGly-Aの面積値が上がった。これらの結果から、酢酸とクエン酸とリン酸を最終検液に添加することとした。



# 添加回収試験 / 妥当性評価 / ハチミツの測定結果

Table 2 Validation results in honey

No.	Analyte	Spike level μg/kg	Tsueness <sup>a</sup> %	RSD <sup>r</sup> <sup>b</sup> %	RSD <sup>WR</sup> <sup>c</sup> %
1	MPPA	5	102	2.1	6.1
2	Glufosinate	5	86	3.7	9.3
3	Glu-A	5	110	4.2	6.8
4	Glyphosate	25	106	6.5	8.5
5	Gly-A	25	104	3.3	4.2

n = 2 × 3 operators × 2 days

<sup>a</sup> Mean recovery rates

<sup>b</sup> Relative standard deviation of repeatability

<sup>c</sup> Relative standard deviation of within laboratory reproducibility

Table 3 Determination results of honey

Honey	MPPA	Glufosinate	Glu-A	Glyphosate	Gly-A
Sunflowers, Ukraine	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Acacia, China	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Lotus flower, China	N.D.	1.1	N.D.	5.5	N.D.
Canada	N.D.	2.8	1.9	26.4	N.D.
Mexico	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Japan	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
LOQ	1.0	0.2	1.0	5.0	2.0

Unit: μg/kg

## 参考文献

Analytical Sciences <https://link.springer.com/article/10.1007/s44211-023-00288-7>  
 Simultaneous determination of glyphosate, glufosinate, and their metabolites in honey using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and solid-phase extraction  
 Ryoichi Sasano · Rie Ito · Masahiro Kusumoto · Junpei Sekizawa · Hiroshi Akiyama

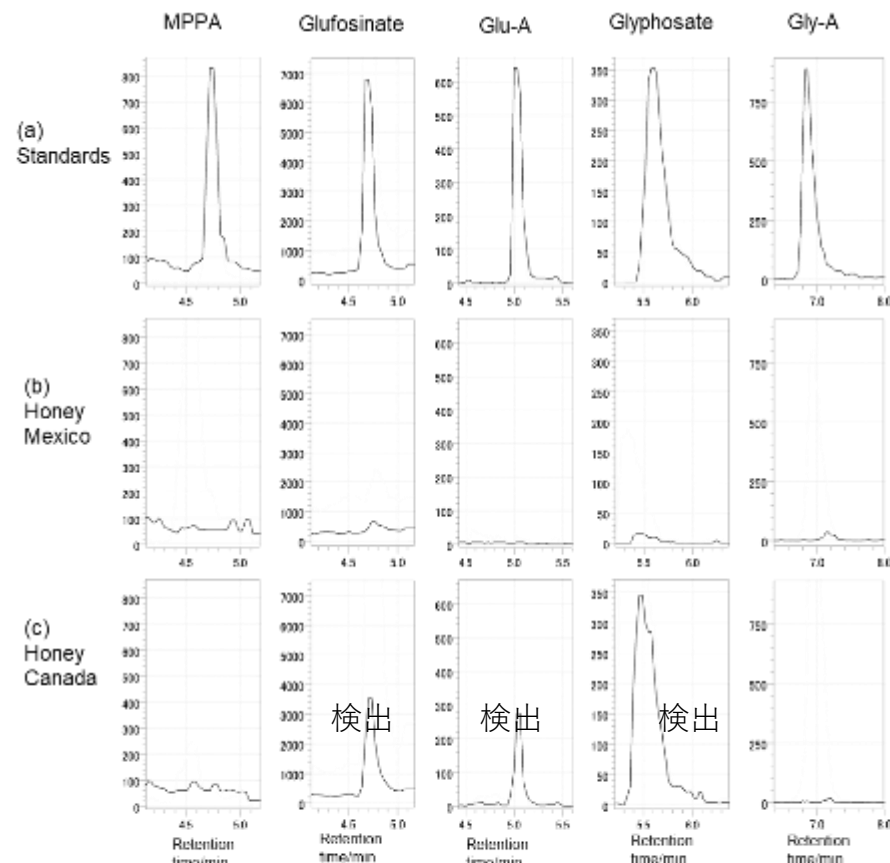


Fig. 3 MRM chromatograms of (a) standard, (b) honey produced in Mexico, and (c) honey produced in Canada.

Concentrations of standard solutions:

MPPA, glufosinate, and Glu-A at 1 μg/L; glyphosate and Gly-A at 5 μg/L

# 本日の内容

1. はじめに
2. 残留農薬分析：グリホサート類
3. **水質分析：PFOS・PFOA**

本題に入る前に・・・

# (1)オンライン固相抽出(SPE)-システム



# オンライン固相抽出(SPE)システムとは？

前処理（固相抽出）から測定までを

**完全自動化**

したシステムです。

オペレーターの作業はたったこれだけ！！



①溶媒と固相カートリッジをセット



②サンプルの入ったバイアルをセット



③測定装置のシーケンスをスタート

# オンライン固相抽出(SPE)システムシリーズ

これ1台で  
前処理と測定機器が  
つながる！！



+ GC



SPE-GC SPL-P100/M100(+FE)

+ LC



SPE-LC SPL-W100

+ LC-LC



SPE-LC-LC/MS SPL-W100(LC-LC/MS)

+ LC-GC



SPE-LC-GC/MS SPL-X100

# オンラインSPEシステムに共通するメリット

■ 固相抽出から測定までを自動化

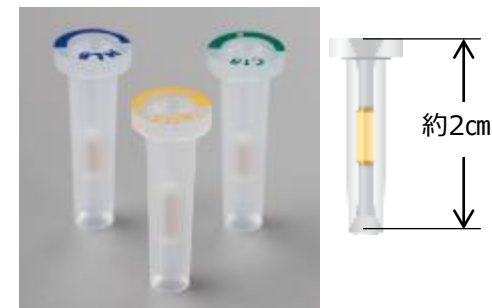
■ 試料の少量採取が可能

■ 溶媒使用量の低減

■ 分析時間の大幅短縮

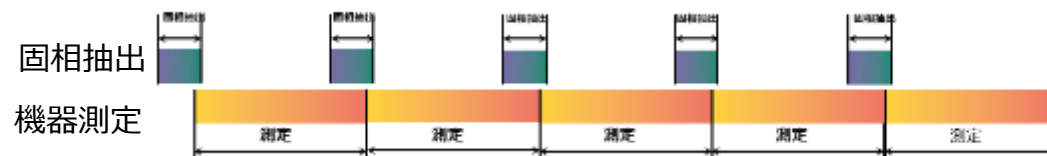
■ 検体数が多くても負担が少ない

充填量の少ない専用固相を使用



オンラインSPEシステム専用固相  
Flash-SPE

固相抽出と機器測定をオーバーラップさせることでさらに効率化！



# **(2)オンラインSPE-LCシステム SPL-W100**



# SPL-W100の構成

固相抽出からLC(/MS)測定までを**オンライン**で分析できるシステムです。

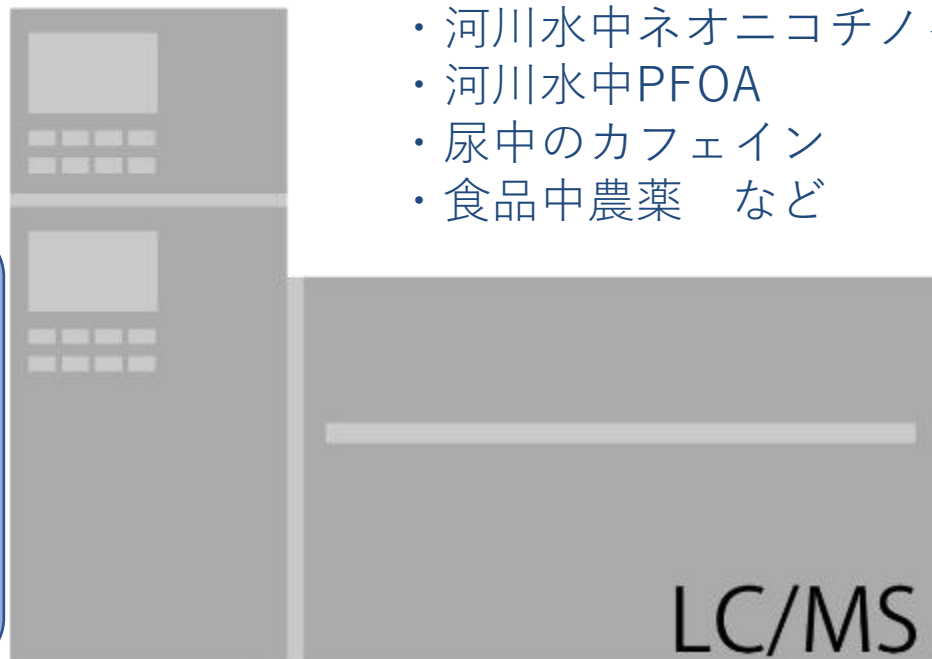
固相抽出部



送液部



SPL-W100



LC/MS

【実績分野】

- ・ 水質
- ・ 医薬
- ・ 食品

【分析例】

- ・ 河川水中ネオニコチノイド農薬
- ・ 河川水中PFOA
- ・ 尿中のカフェイン
- ・ 食品中農薬 など

# SPL-W100の概要

前処理時間 約6分

**STEP 1**  
試料採取・負荷

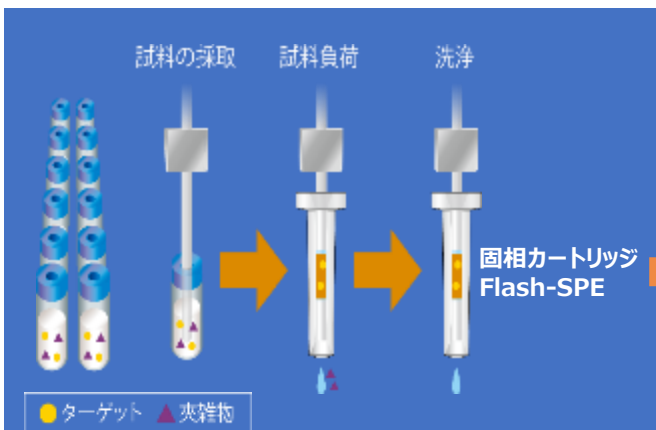
固相抽出（精製）

**STEP 2**  
溶出&希釈

溶出液をバルブ内で水と混合し希釈

**STEP 3**  
LCへ導入

バルブを切替えLCカラムへ導入

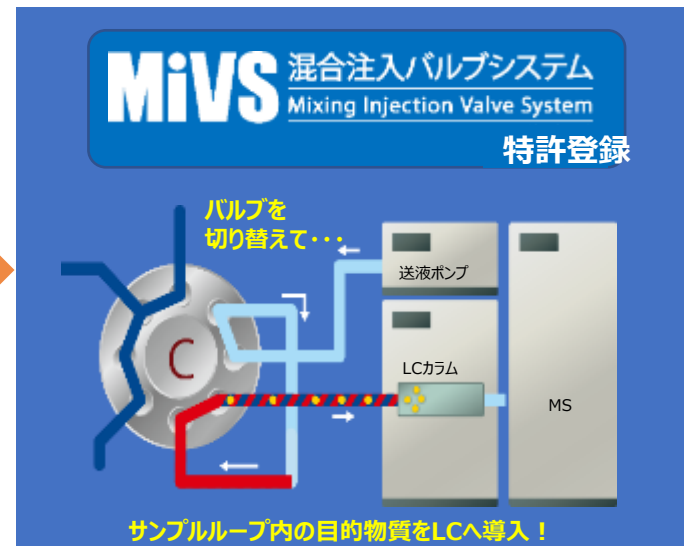
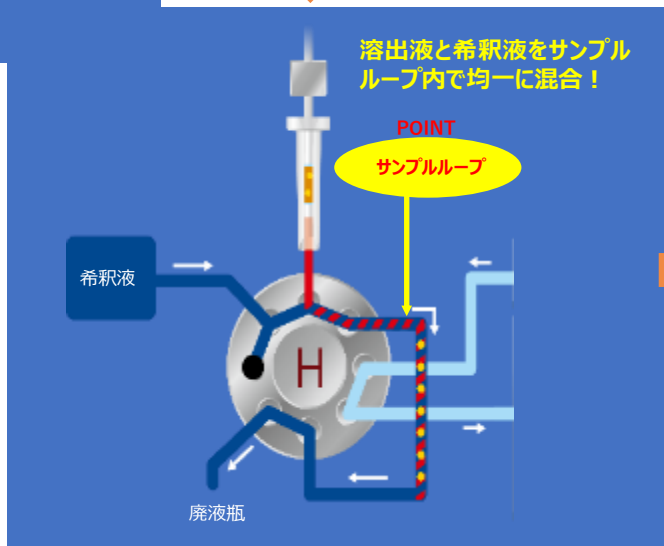


## ■ 混合注入バルブシステム【MiVS】の使用

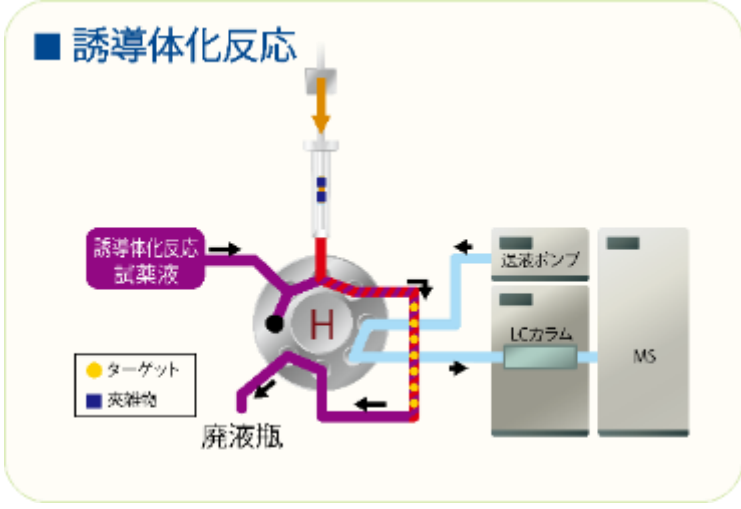
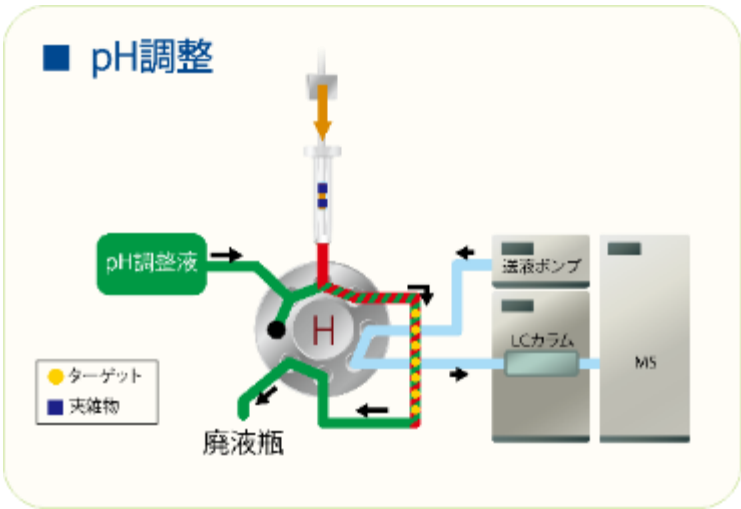
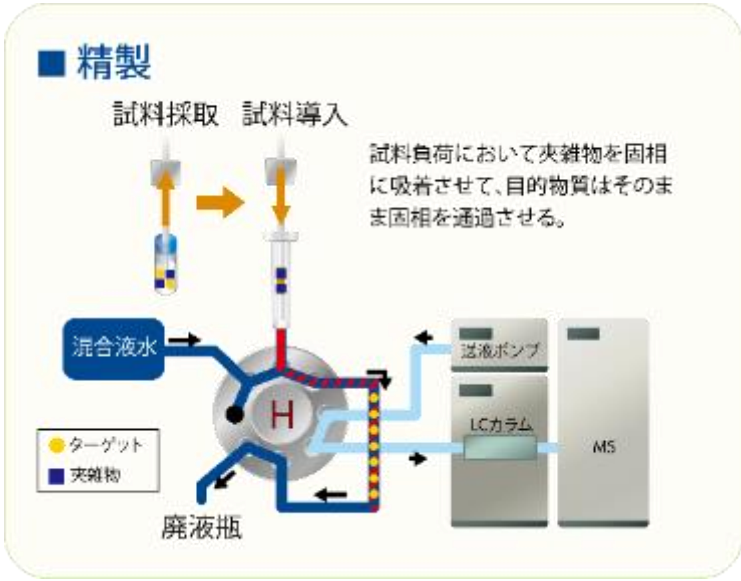
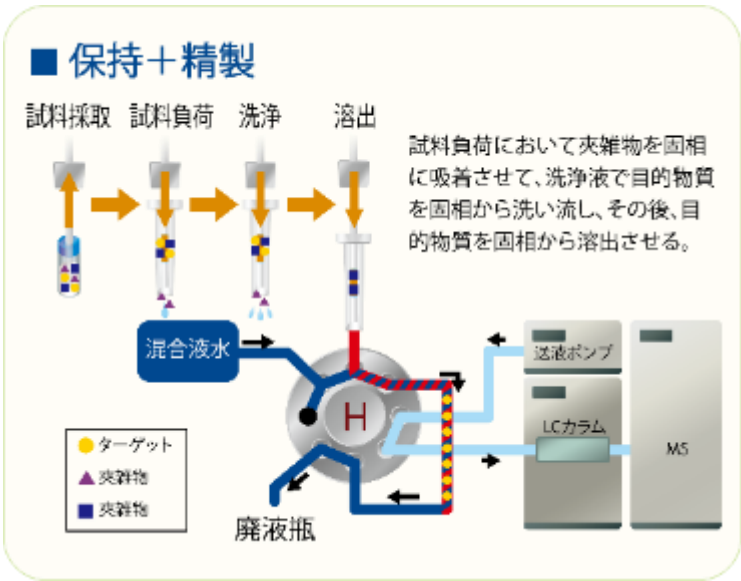
- ・溶出液の溶媒比を下げてピーク形状をシャープに
- ・使用する溶液により多様な分析に活用

## ■ 固相カートリッジはインジェクションの都度使い捨て

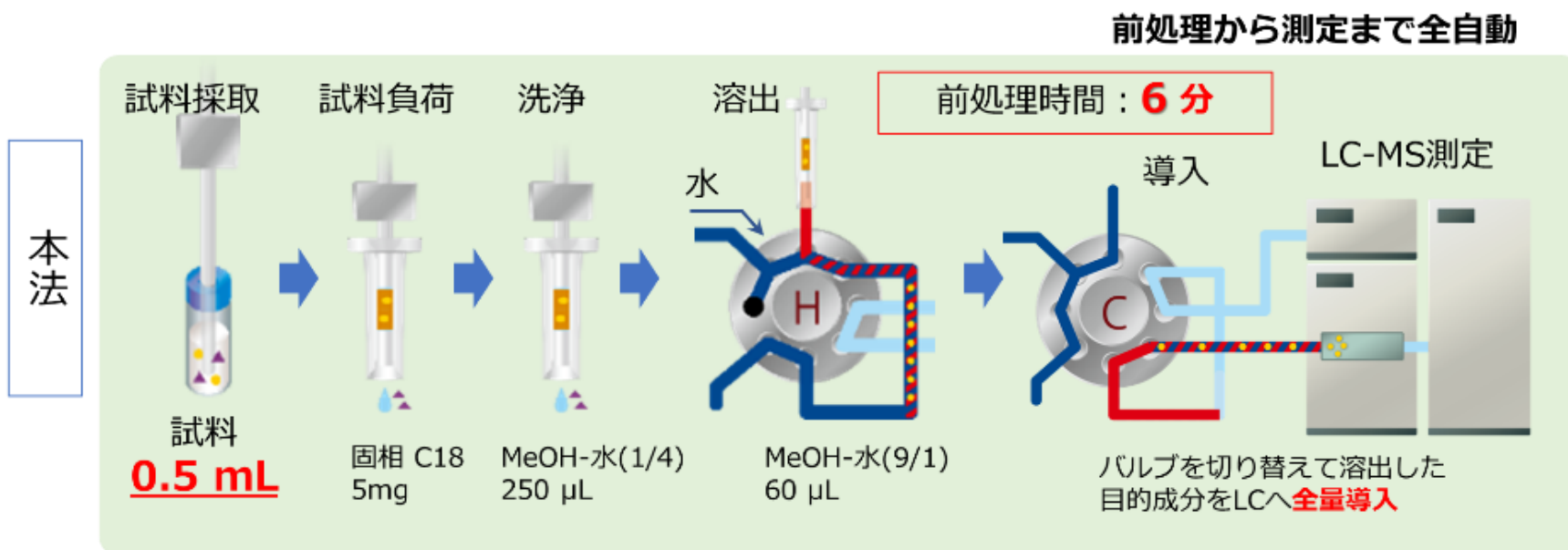
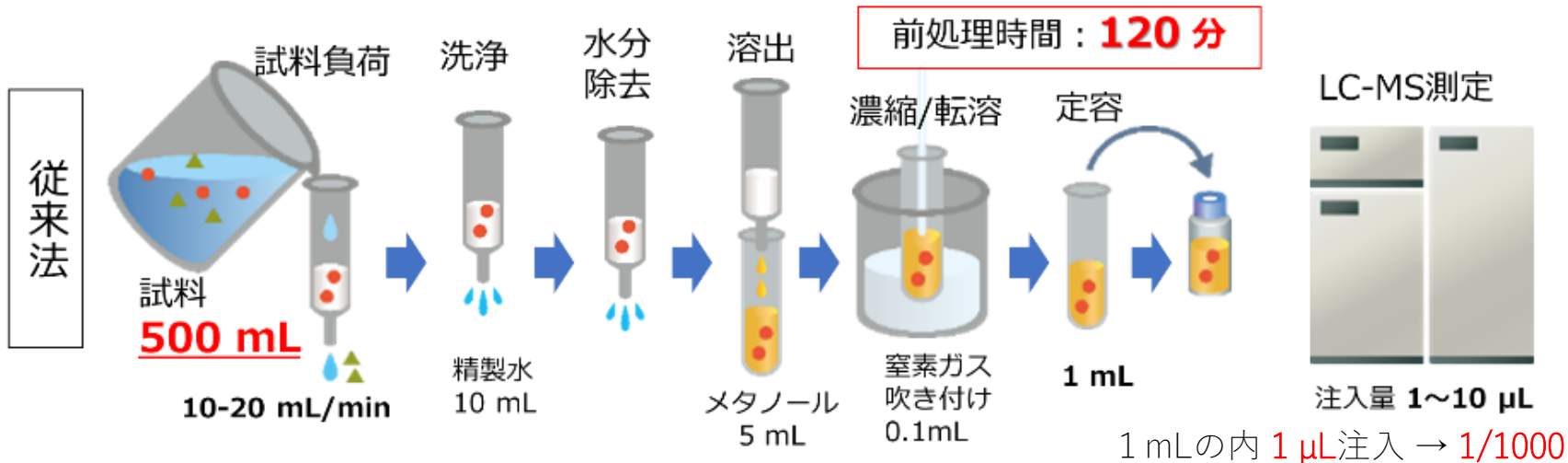
- ・オンラインでの固相リサイクル分析の課題だったキャリーオーバーを回避
- ・都度洗浄も不要



# MiVSの活用方法



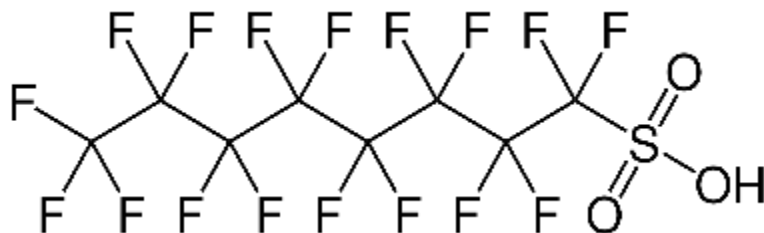
# 従来法との比較 (イメージ)



# **(3)SPL-W100による PFOS・PFOAの分析**

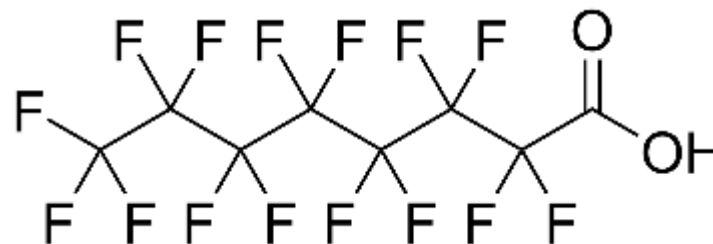
# PFOSとPFOA

PFOS : **Per**Fluoro**O**ctane**S**ulfonic acid



MW : 500.13

PFOA : **Per**fluoro**o**ctanoic **a**cid



MW : 414.07

フッ素樹脂の加工助剤、塗料、撥水剤、乳化剤などに使用されてきましたが、環境中で分解されにくく、高い蓄積性があることから、国内外において製造、使用等が規制されています。

## 【基準値】

### 水道水（厚生労働省）

水質管理目標設定項目 暫定目標値：PFOSとPFOAの合算値で50ng/L以下

### 公共用水域や地下水（環境省）

要監視項目 暫定指針値：PFOSとPFOAの合算値で50ng/L以下

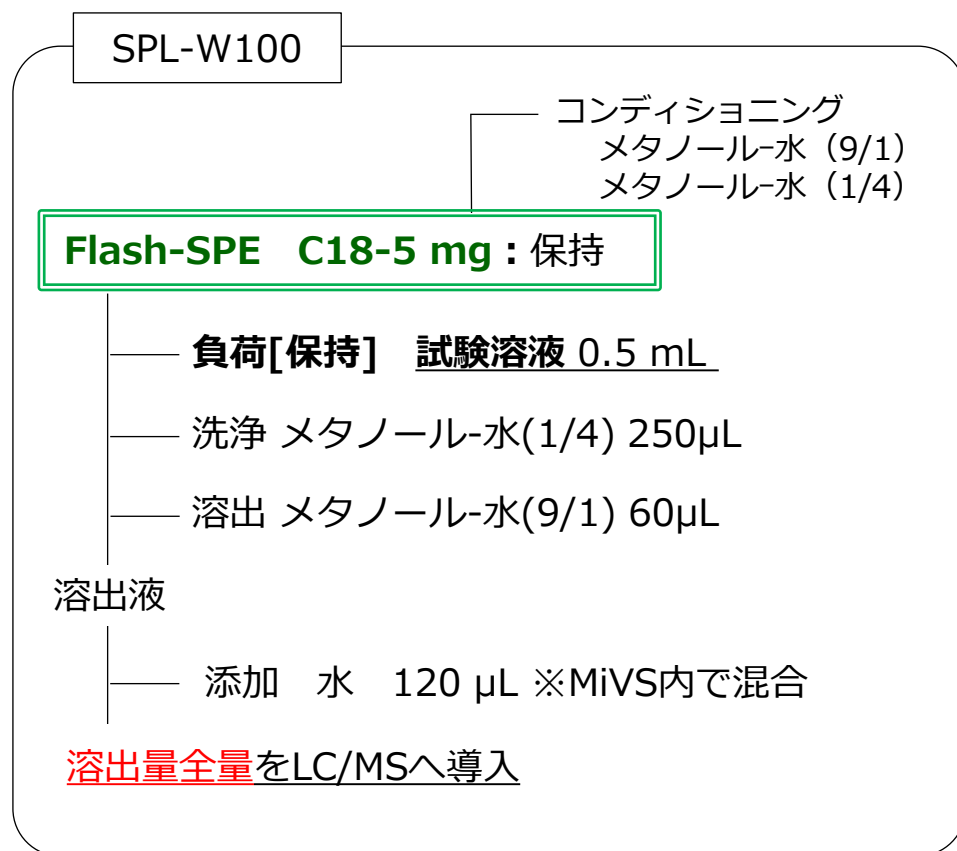
# 前処理フローと測定条件

## 【前処理フロー】

試料を1.5mLバイアルに分注



SPL-W100にセット



## 【測定条件】

### 【LC条件】

分析カラム : Inertsil ODS-3, 3 μm, 2.1 mmID × 75 mm

移動相 A液 : 10mM 酢酸アンモニウム-水

B液 : アセトニトリル

流速 : 0.3 mL/min

グラジエント : B.Conc. 20 %(0-1 min)→98 %(9-12 min)

カラム温度 : 40 °C

### 【MS条件】

イオン化モード : ESI Negative

測定モード : MRM

m/z : PFOA : 412.9>169

PFOS : 499>79.8

# MRM定量イオンクロマトグラム

オンラインSPE-LC/MS

LC/MS

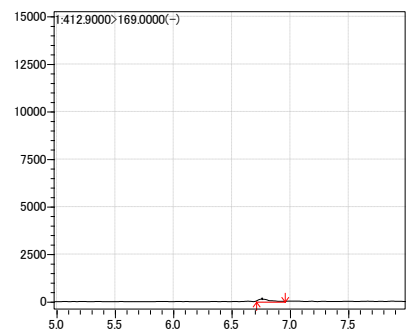
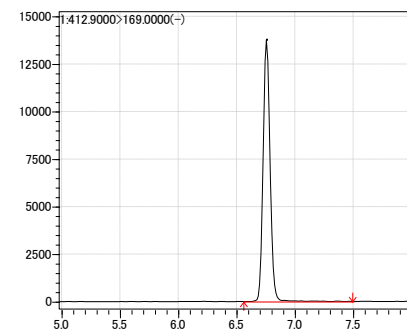
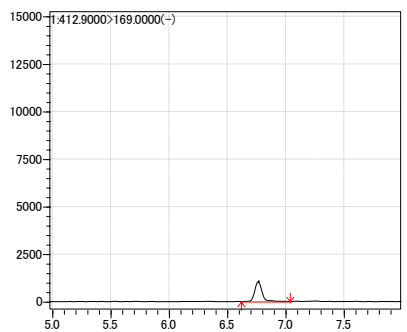
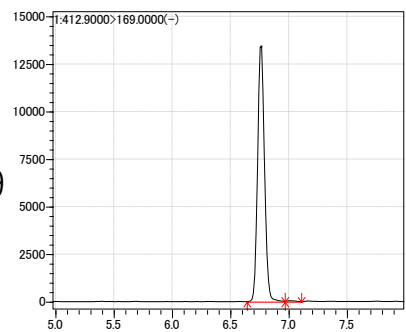
添加水  
5 ng/L x 400 μL 負荷

Blank水  
水 x 400 μL 負荷

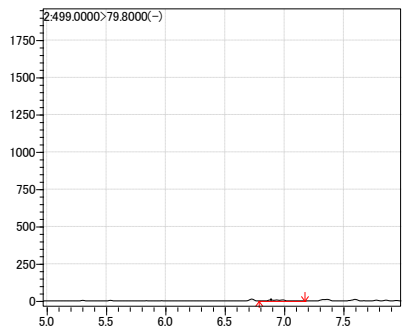
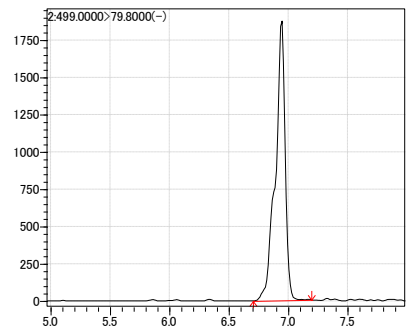
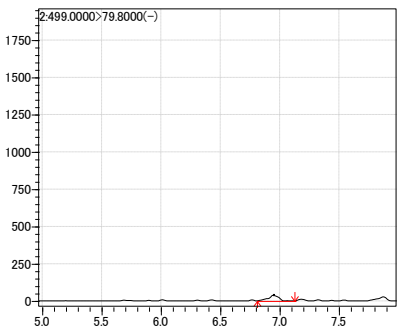
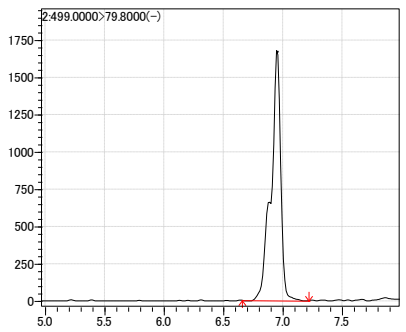
STD  
100 ng/L x 20 μL 注入

Blank  
溶媒 x 20 μL 注入

**PFOA**  
412.9>169



**PFOS**  
499>79.8



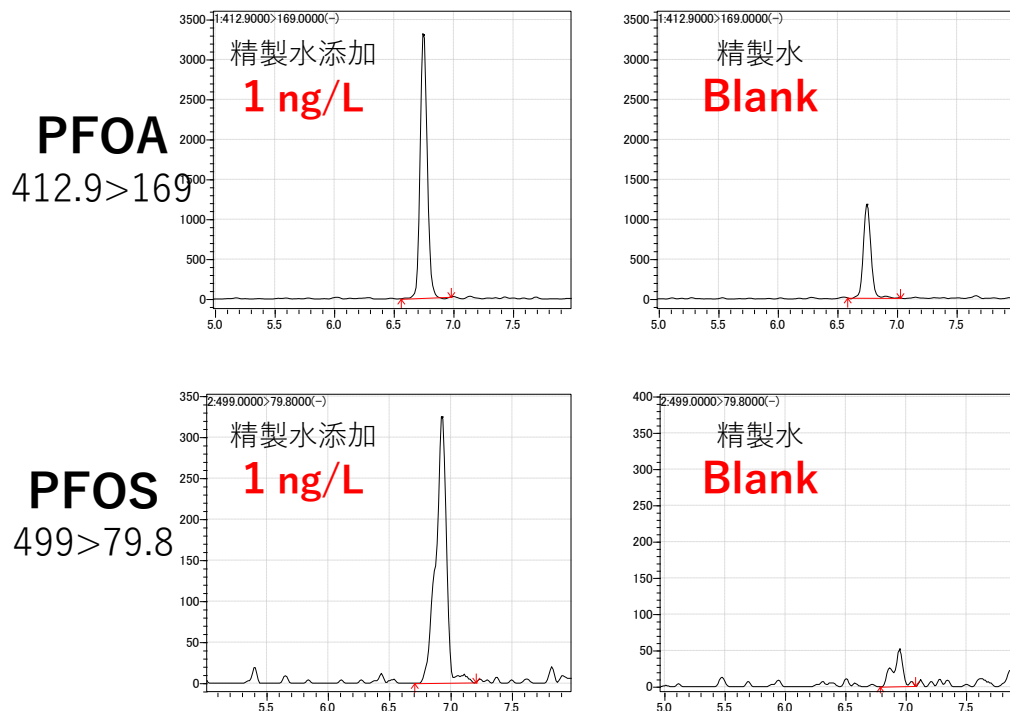


# 低濃度域での再現性と定量下限値

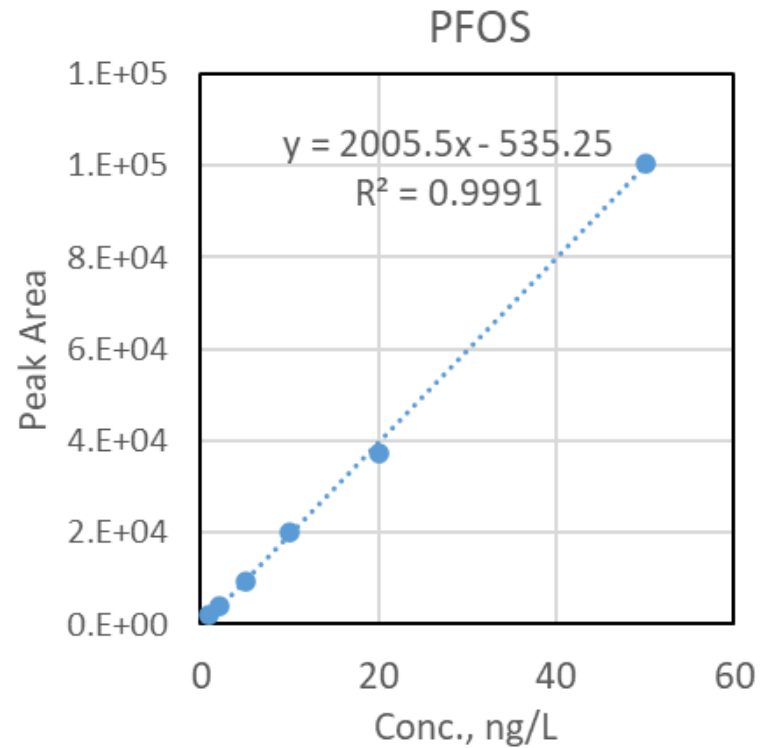
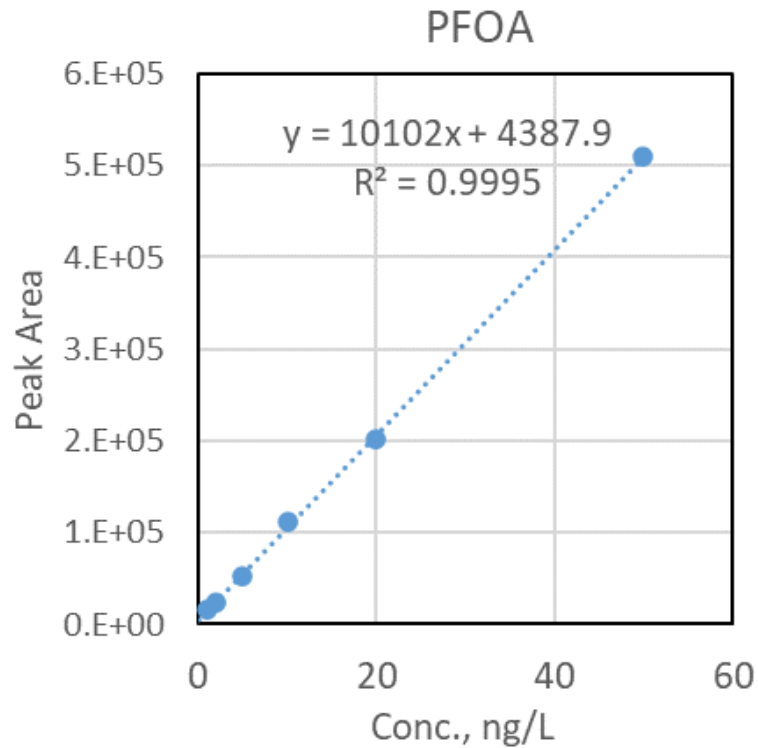
精製水添加 **1 ng/L**の本システムにより得られたピーク面積値とピーク高さの再現性

ID	Peak Area		Peak High	
	PFOA	PFOS	PFOA	PFOS
STD-1-1	13,640	2,038	3,261	344
STD-1-2	14,883	2,249	3,535	383
STD-1-3	12,975	2,321	3,139	360
STD-1-4	13,560	2,246	3,241	404
STD-1-5	13,638	1,987	3,311	325
STD-1-6	14,084	2,358	3,253	373
STD-1-7	14,687	2,162	3,523	344
STD-1-8	15,806	2,232	3,735	396
STD-1-9	14,557	2,575	3,508	408
<i>Ave.</i>	<i>14,203</i>	<i>2,241</i>	<i>3,390</i>	<i>371</i>
<b>RSD, %</b>	<b>6.1</b>	<b>7.8</b>	<b>5.7</b>	<b>7.9</b>
Blank-2-1	5,099	821	1,172	128
Blank-2-2	4,822	293	1,090	50
<i>Ave.</i>	<i>4,961</i>	<i>557</i>	<i>1,131</i>	<i>89</i>

MRM定量イオンクロマトグラム



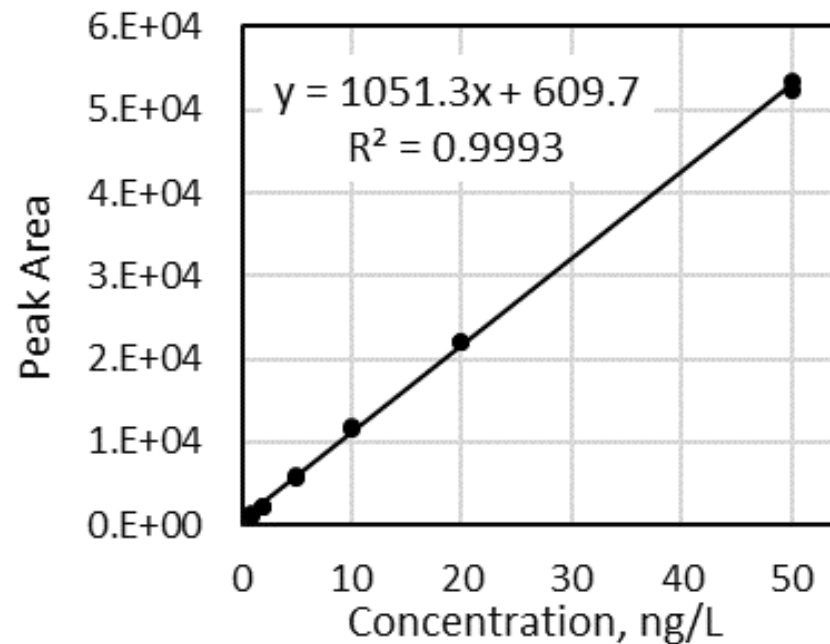
# 本システムを用いた検量線



精製水添加濃度 : 1, 2, 5, 10, 20, 50 ng/Lと面積値の関係

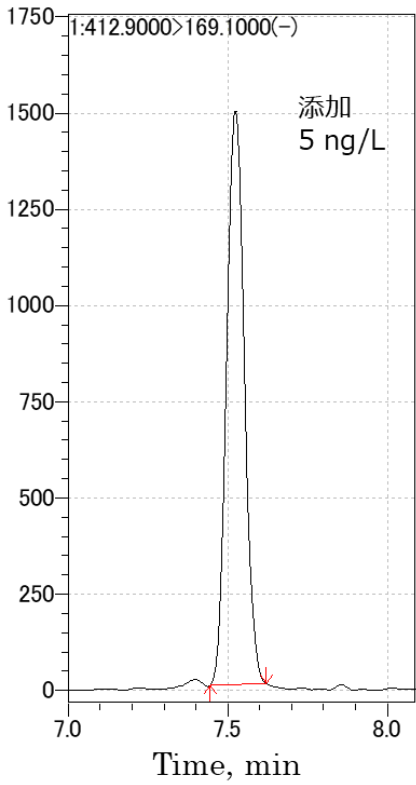
# 河川水の添加回収試験 : PFOA

Sample	No.	Peak Area
STD, 500 ng/L 直接LC注入5 $\mu$ L 試料中濃度 :5 ng/L 相当	S-1	6,700
	S-2	6,643
	S-3	6,674
	Ave.	6,672
河川水 SPE-LC, 0.5 mL	U-1	6,523
	U-2	6,465
	Ave.	6,494
河川水添加 濃度 : 5 ng/L SPE-LC, 0.5 mL	A-1	12,709
	A-2	11,361
	A-3	11,964
	A-4	11,994
	A-5	11,545
	A-6	11,988
	Ave.	11,927
	<b>RSD, %</b>	<b>3.9</b>
(A-U) / S $\times$ 100	<b>REC., %</b>	<b>81</b>

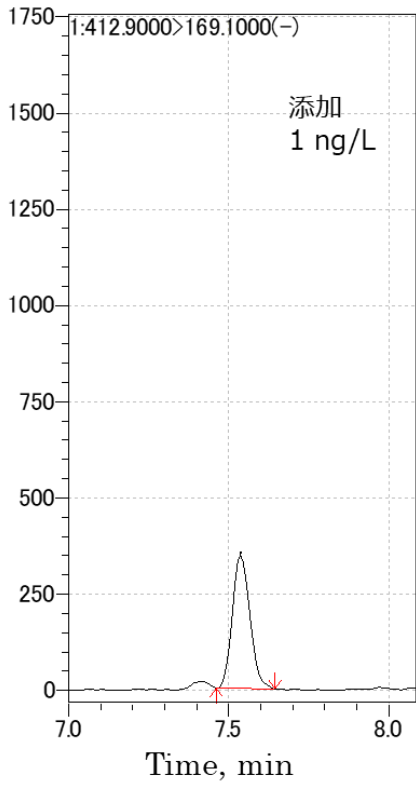


本システムによる検量線  
濃度 : 1,2,5,10,20,50 ng/L

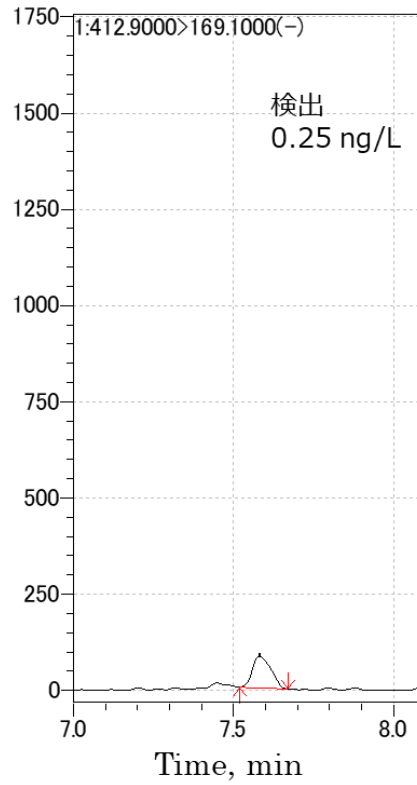
# 定量イオンクロマトグラム : PFOA



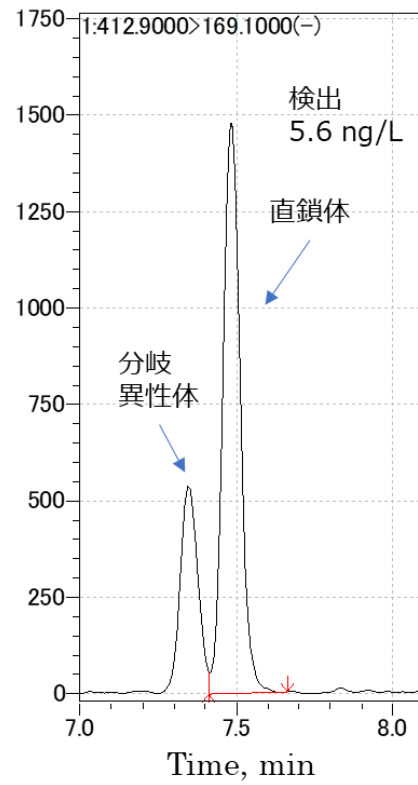
A: 精製水添加



B: 精製水添加



C: 操作 Blank



D: 河川水

# ブースのご案内

## Hall6 6B-604 (島津製作所様手前)



各種自動化装置を展示しています！

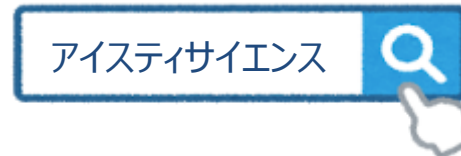
是非お立ち寄りください！！

**AISTI SCIENCE**

# ご清聴ありがとうございました！

## ◆製品情報・技術情報を多数公開中！！

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



## ◆Webセミナーも好評開催中！！

過去の分はオンデマンド配信でご覧いただけます。

■残留農薬分析、環境(水質)分析、製品紹介シリーズなど

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



株式会社アイスティサイエンス

TEL : 073-475-0033

E-mail : [as@aisti.co.jp](mailto:as@aisti.co.jp)

ホームページ : <http://www.aisti.co.jp/>

