

食品中の各種化学物質分析前処理法の最新情報

～PFAS、グリホサート類、添加物試験の
自動前処理について～



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

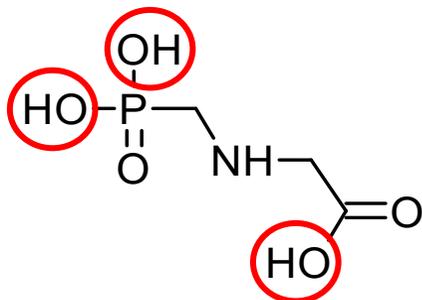
1. 固相脱水誘導体化(SPDhD)による
グリホサート類の分析
2. ST-R100を用いた食品添加物の分析
3. その他 製品紹介

本日の内容

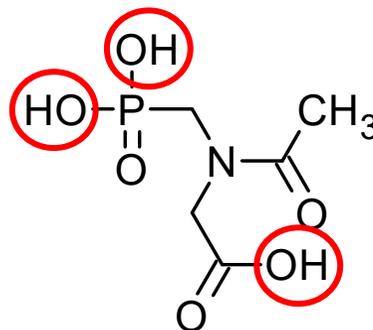
1. 固相脱水誘導体化(SP DhD)による
グリホサート類の分析
2. ST-R100を用いた食品添加物の分析
3. その他 製品紹介

対象化合物

グリホサートとその代謝物

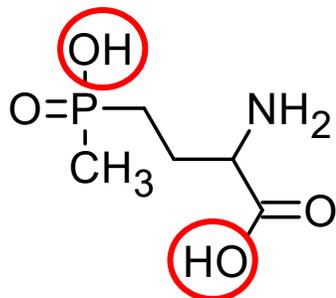


Glyphosate(Gly)
LogPow= <-3.2(pH2-5, 20°C)

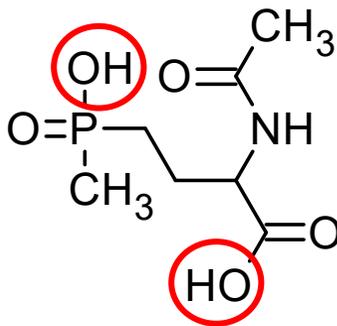


N-Acetylglyphosate(GlyA)

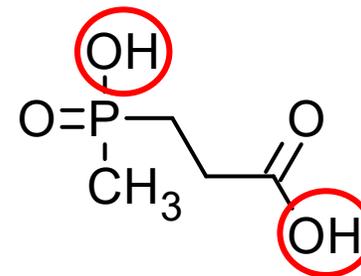
グルホシネートとその代謝物



Glufosinate(Glu)
LogPow= <0.1(pH7, 22°C)



N-Acetylglufosinate (GluA)



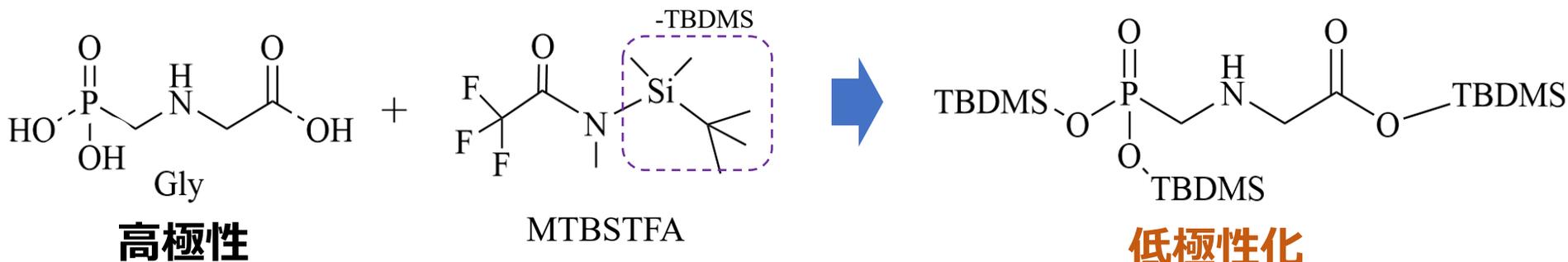
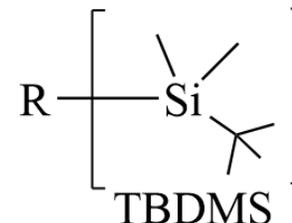
3-methylphosphinopropionic acid (MPPA)

グリホサート類のTBDMS誘導体化

TBDMS (*t*-Butyldimethylsilyl) 化による誘導体化

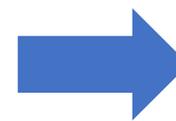
シリル化試薬の中で反応性と安定性のバランスが良い。

しかし、水があると**分解**するため、**水分に注意**。



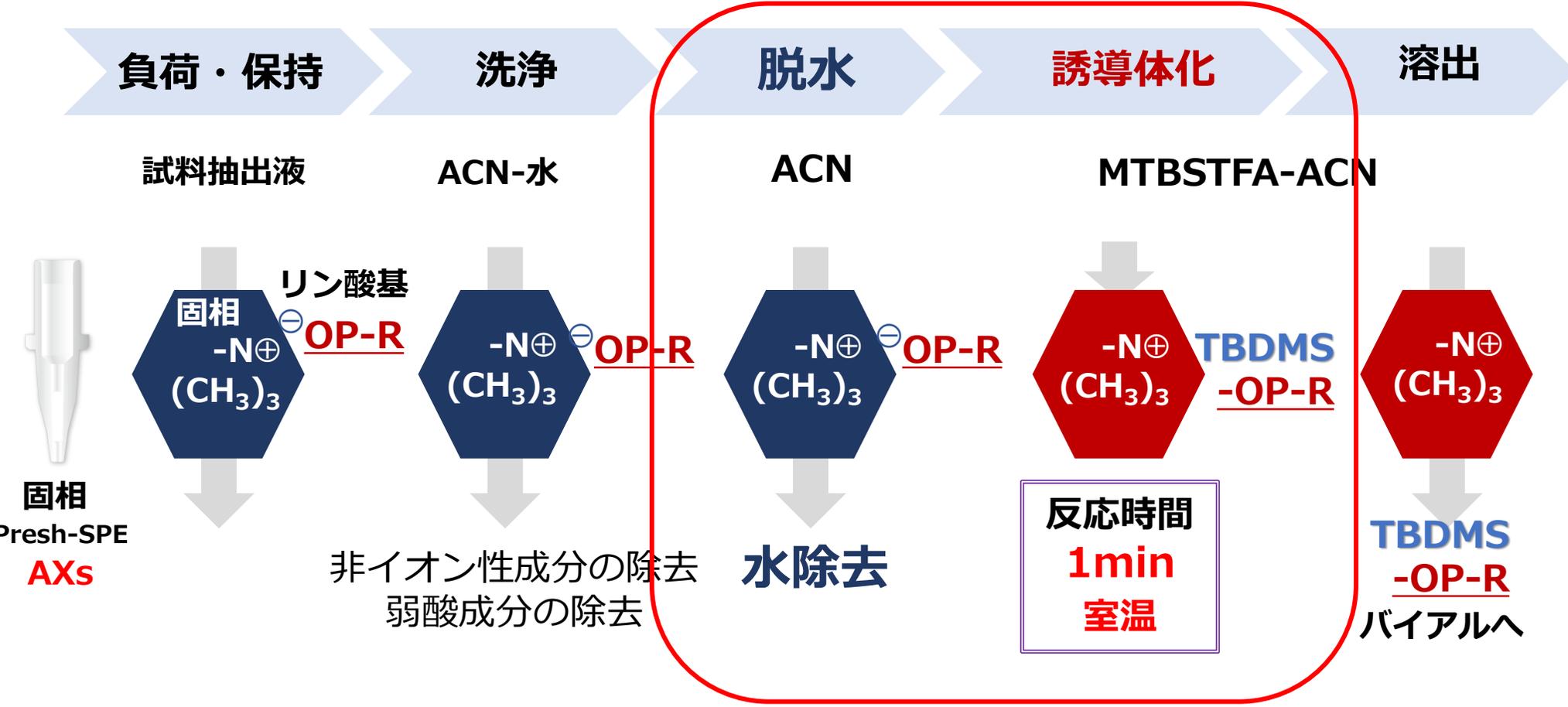
MTBSTFA : *N*-(*tert*-Butyldimethylsilyl)-*N*-methyltrifluoroacetamide

TBDMS (*t*-Butyldimethylsilyl) 化により、リン酸基やカルボキシ基を誘導体化することで低極性化し、LCカラムや配管などへの吸着を抑える。



**測定しやすい
物質に変化**

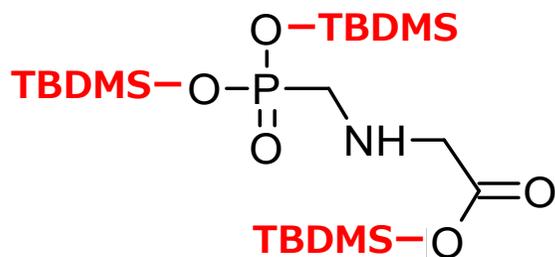
固相脱水誘導体化の原理



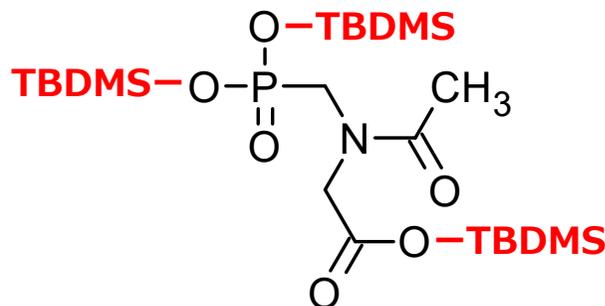
固相カートリッジ中で精製及び誘導体化

対象化合物の誘導体化

グリホサートとその代謝物の誘導体化物



Glyphosate-3TBDMS(Gly-3TB)

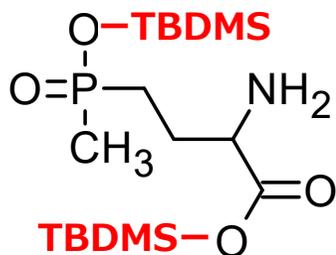


N-Acetylglyphosate-3TBDMS(GlyA-3TB)

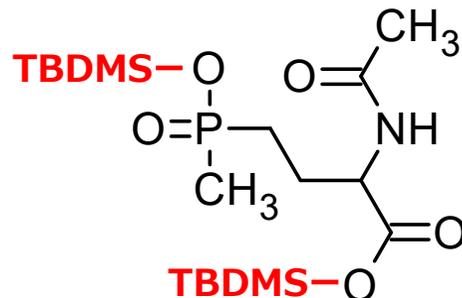
○印がTBDMS化したと
想定される位置

TBDMS : *t*-Butyldimethylsilyl

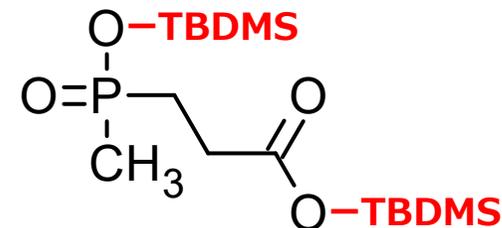
グルホシネートとその代謝物の誘導体化物



Glufosinate-2TBDMS(Glu-2TB)



N-Acetylglufosinate-2TBDMS
(GluA-2TB)



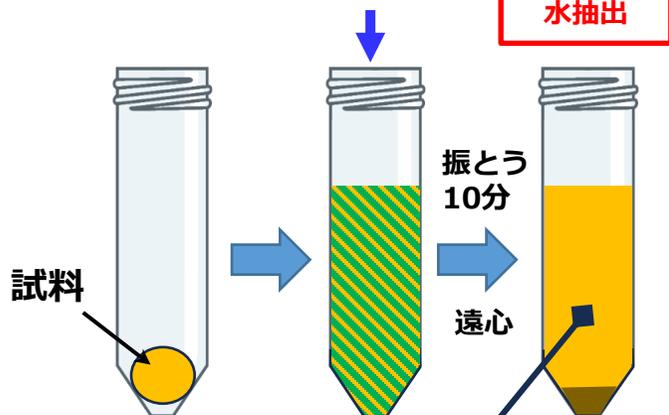
3-methylphosphinicopropionic
acid-2TBDMS (MPPA-2TB)

前処理のイメージ

【抽出】

水 40mL(試料中の水分含む)

水抽出



疑似マトリックス
リン酸 20ppm
クエン酸 400ppm

上清分取 80μL

ACN-水 (4/1)
910μL

ACN-水(4/1)
900μL

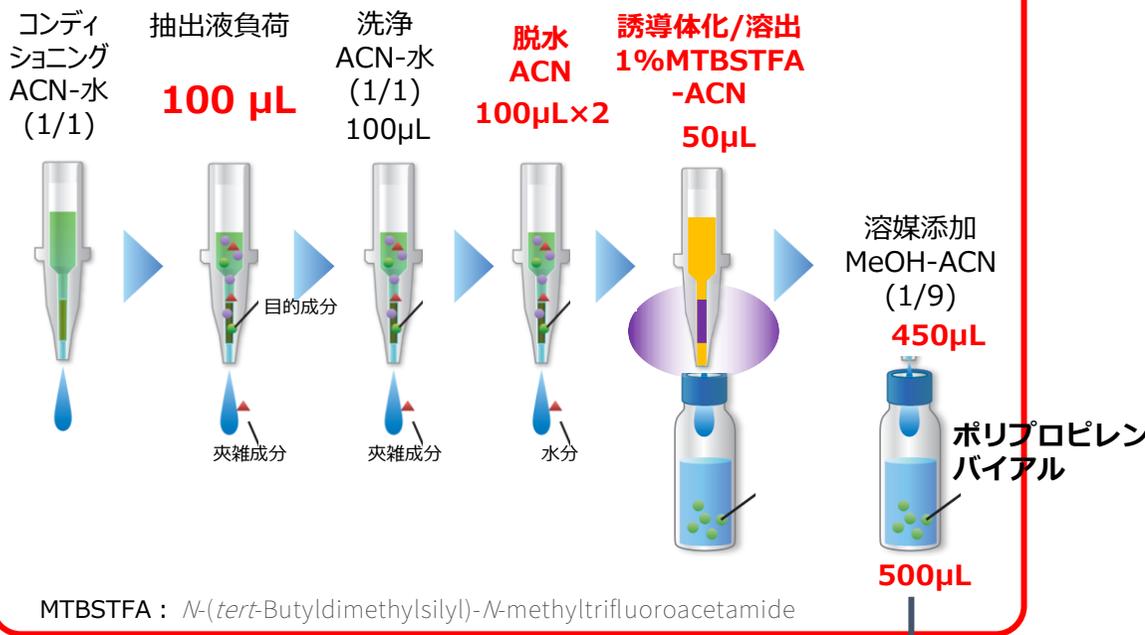
上清分取 100μL

除タンパク

遠心

【固相抽出および誘導体化】

固相 : Presh-SPE AXs



LC/MS測定
10μL注入

LC-MS/MS測定条件

LC-MS 8045 (島津製作所社)

分析カラム : **InertSustain C18**
(100 mm×2.1 mm i.d., 3 μm, GL Sciences社)

カラム温度 : 40℃

流速 : 0.2 mL/min

移動相 A; ACN

B; **1mM**酢酸アンモニウム-MeOH

グラジエント

B; 30%(4min)-80%(4.5min-6.5min)-30%(7-10min)

イオン化モード : ESI Positive

ネブライザーガス : 3 L/min

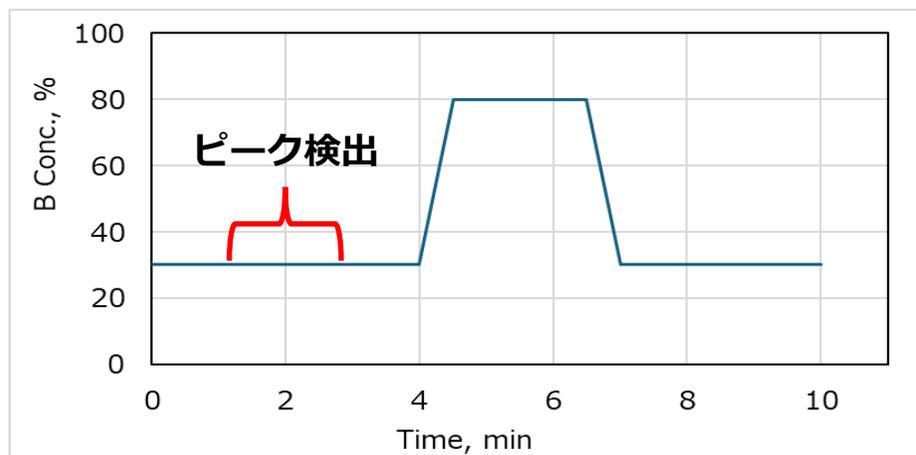
ドラインガス流量 : 10 L/min

ヒーティングガス流量 : 10 L/min

インターフェイス温度 : 300 °C

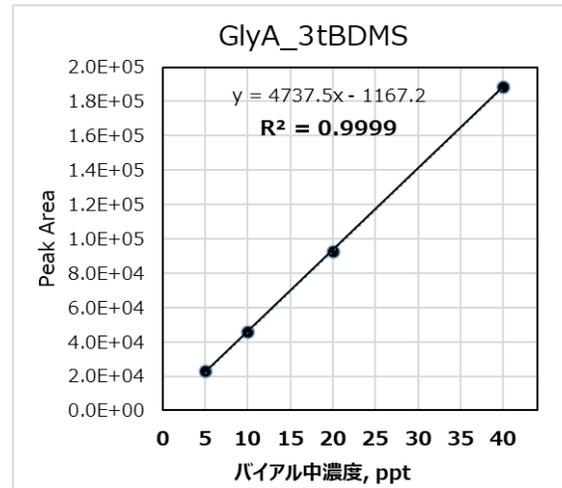
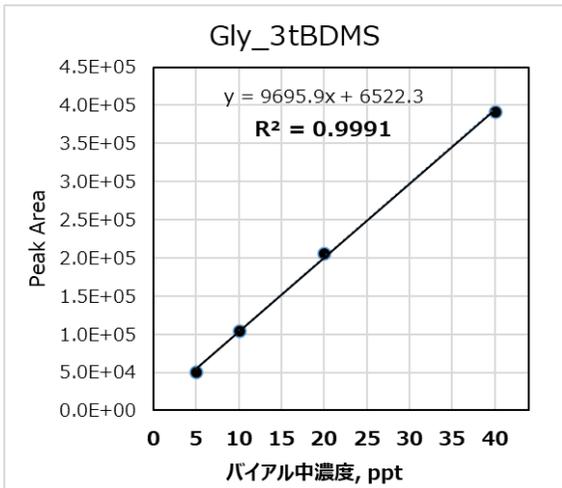
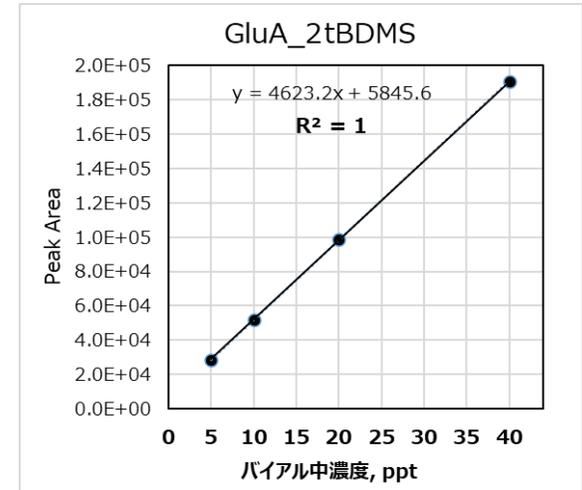
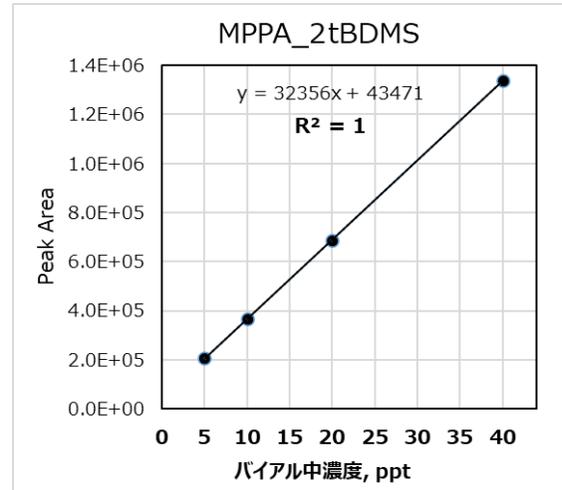
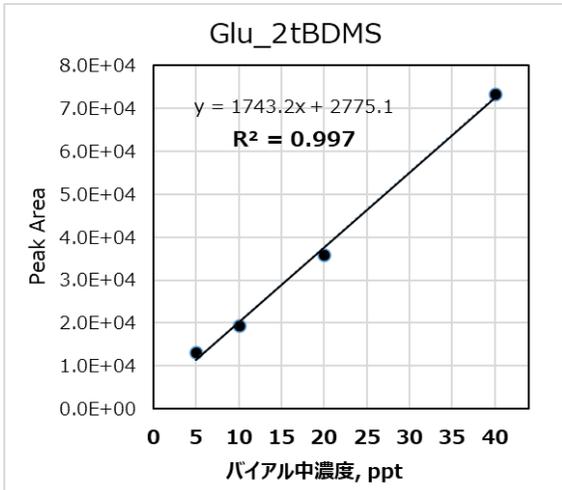
DL温度 : 200 °C

ヒートブロック温度 : 350 °C



水は一切使用しない

検量線



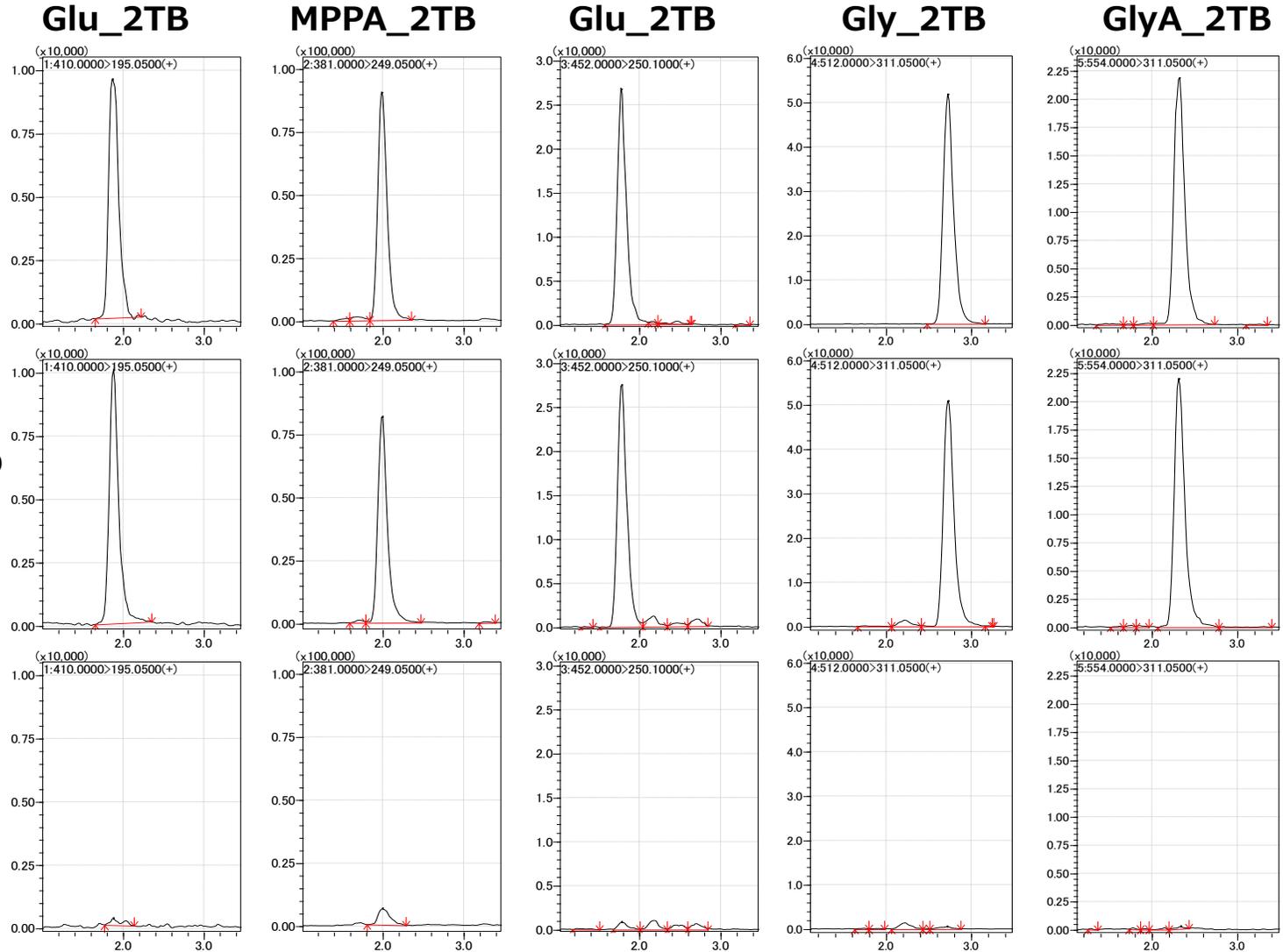
TB : TBDMS (*t*-Butyldimethylsilyl)

クロマトグラム 大豆

STD
測定濃度 : 40 ppt
10 μ L注入

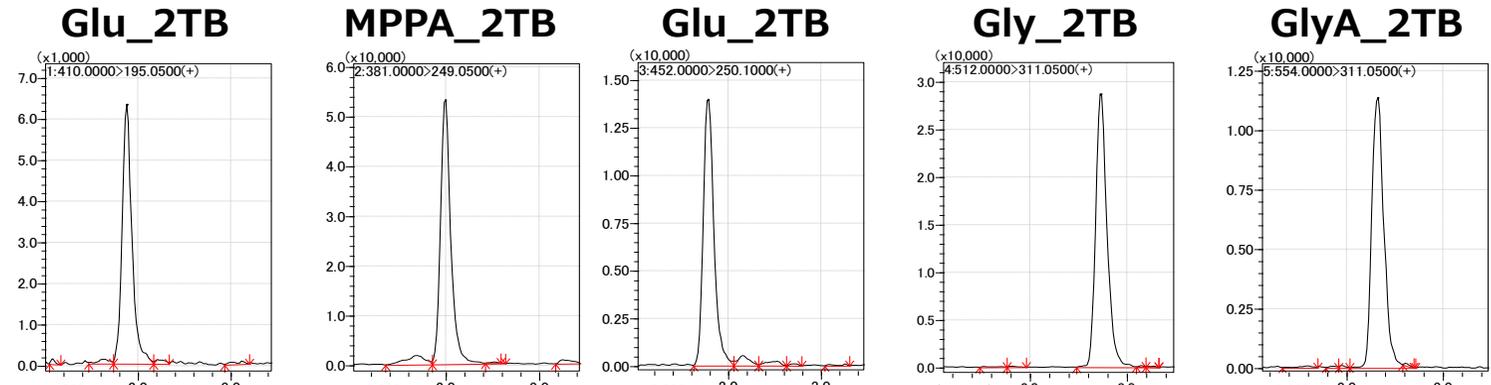
大豆(添加試料)
添加濃度 : 500 ppb
12500倍希釈
測定濃度 : 40 ppt
10 μ L注入

大豆(未知試料)
12500倍希釈
10 μ L注入

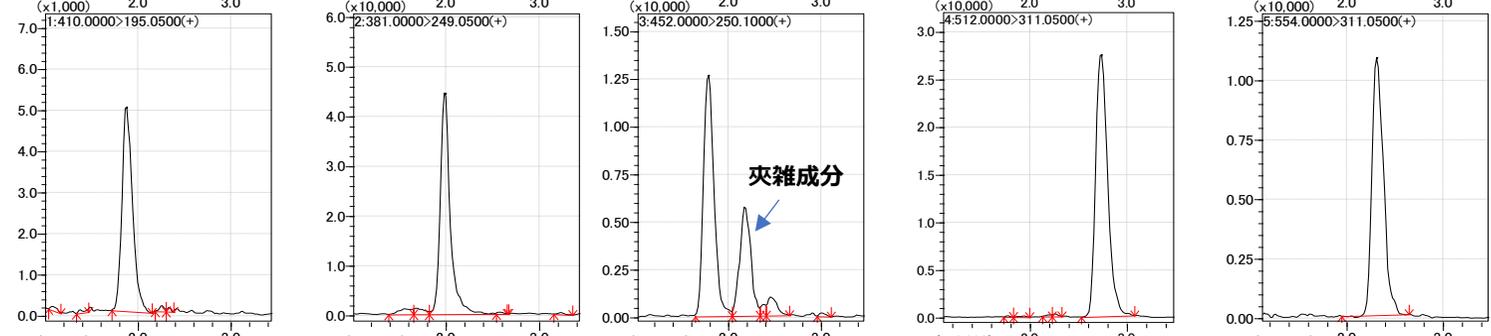


クロマトグラム ほうれん草

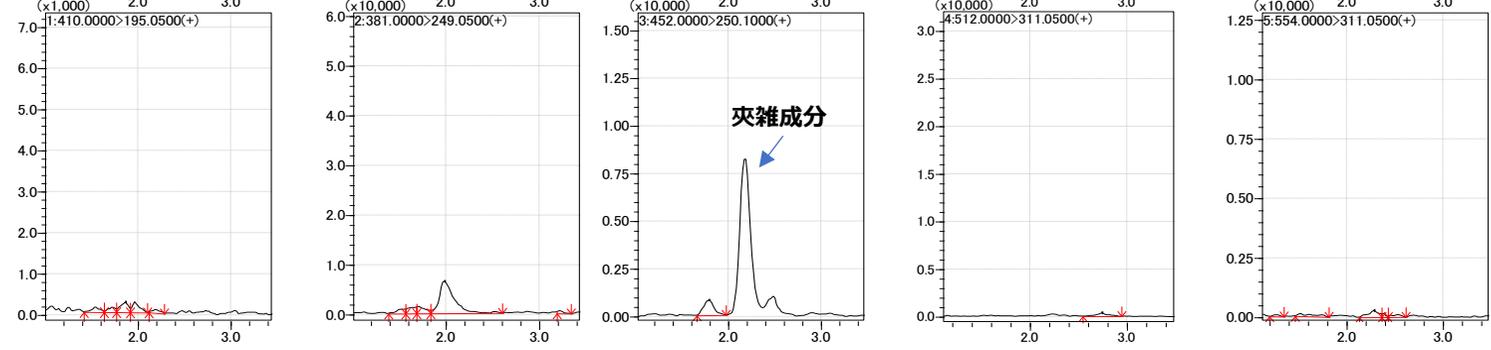
STD
 測定濃度 : 20 ppt
 10 μL注入



ほうれん草(添加試料)
 添加濃度 : 50 ppb
 2500倍希釈
 測定濃度 : 20 ppt
 10 μL注入



ほうれん草(未知試料)
 2500倍希釈
 10 μL注入



添加回収率と再現性

併行数 : n = 6

試料	大豆		ほうれんそう	
添加濃度	試料中濃度500ppb (測定濃度40ppt)		試料中濃度50ppb (測定濃度20ppt)	
測定成分	回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)
Glu-2TB	91	7.6	87	5.2
MPPA-2TB	97	2.9	75	1.9
GluA-2TB	98	4.0	93	3.7
Gly-3TB	92	8.6	105	4.2
GlyA-3TB	96	2.4	95	2.1

TB : TBDMS (*t*-Butyldimethylsilyl)

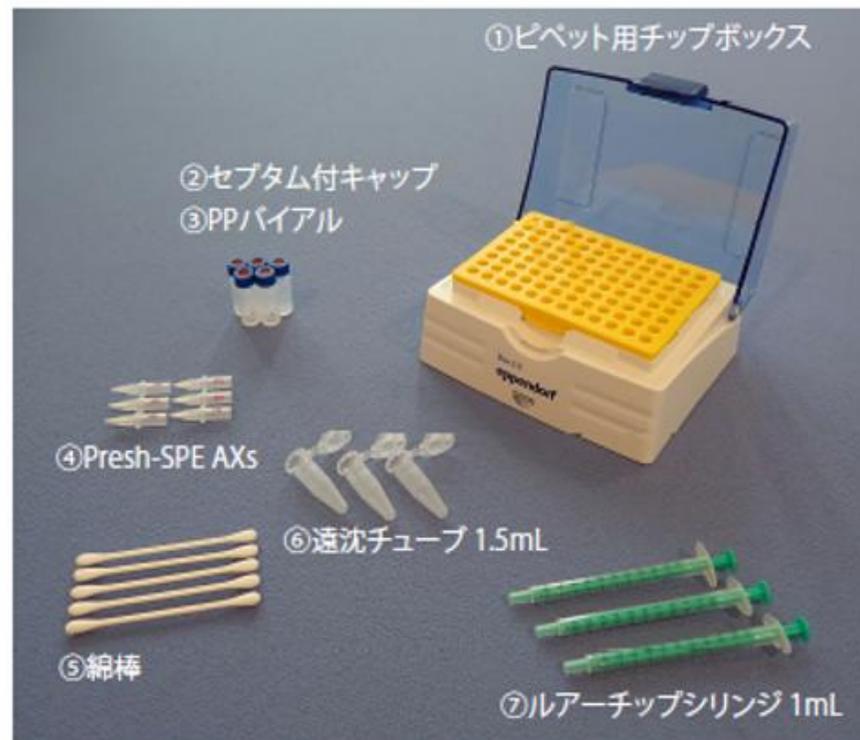
参考文献

R. Sasano, J. Sekizawa, I. Saito, M. Harano, K. Katsumoto, R. Ito, Y. Iwasaki, T. Taguchi, T. Tsutsumi, and H. Akiyama;
 Simultaneous determination of glyphosate, glufosinate and their metabolites in soybeans using solid-phase analytical derivatization and LC-MS/MS determination. Food chemistry: X, 24, 101806 (2024)
<https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101806>

グリホサート分析用お試しキット & 分析キット

固相誘導体化で簡単操作！！

製品名	お試しキット SS-5041-020 ¥15,500	分析キット SS-5041-050 ¥49,800
① ピペット用チップボックス (固相抽出台)	1個	1個
② セブタム付キャップ	—	50個
③ PPバイアル (ポリプロピレン製)	—	50個
④ Presh-SPE AXs	20個	50個
⑤ 綿棒	—	50本
⑥ 遠沈チューブ 1.5mL	—	100個
⑦ ルアーチップシリンジ 1mL	2本	10本
⑧ MTBSTFA 1mL	—	1本
⑨ 20ppmリン酸/400ppmクエン酸 水溶液 1mL	—	1本
⑩ 2Mの酢酸アンモニウム-MeOH溶液 1mL	—	1本



※ 試薬 (⑧⑨⑩) は写真がありませんが、分析キットに同梱されております。

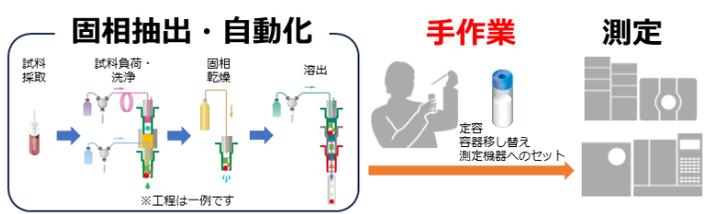


本日の内容

1. 固相脱水誘導体化(SP DhD)による
グリホサート類の分析
2. **ST-R100を用いた食品添加物の分析**
3. その他 製品紹介

アイスティサイエンスの固相抽出自動化装置

オフライン型前処理装置



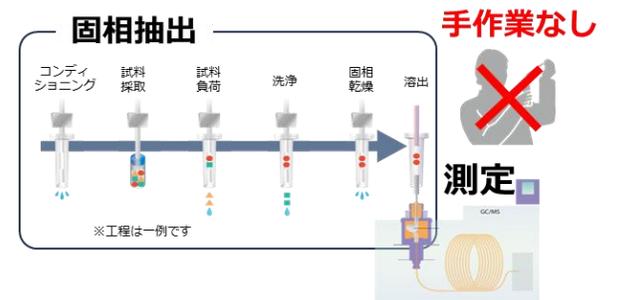
ST-L400



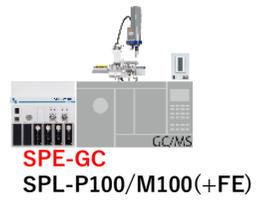
ST-R100

食品、環境、
メタボロミクス、
医薬、バイオ、
香り、法医学
など

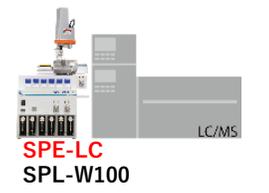
オンライン型前処理装置



+ GC



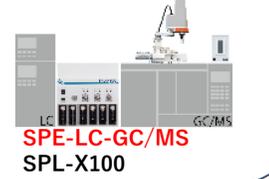
+ LC



+ LC-LC



+ LC-GC



多検体自動固相抽出装置 【ST-R100】

4 検体同時処理により多検体を効率よく処理！

【対象分野】

- ・ 食品
- ・ その他

【分析例】

- ・ コーヒー中のカフェイン
- ・ 食品中の保存料
- ・ 残留農薬 など

充填量の少ない専用固相を使用

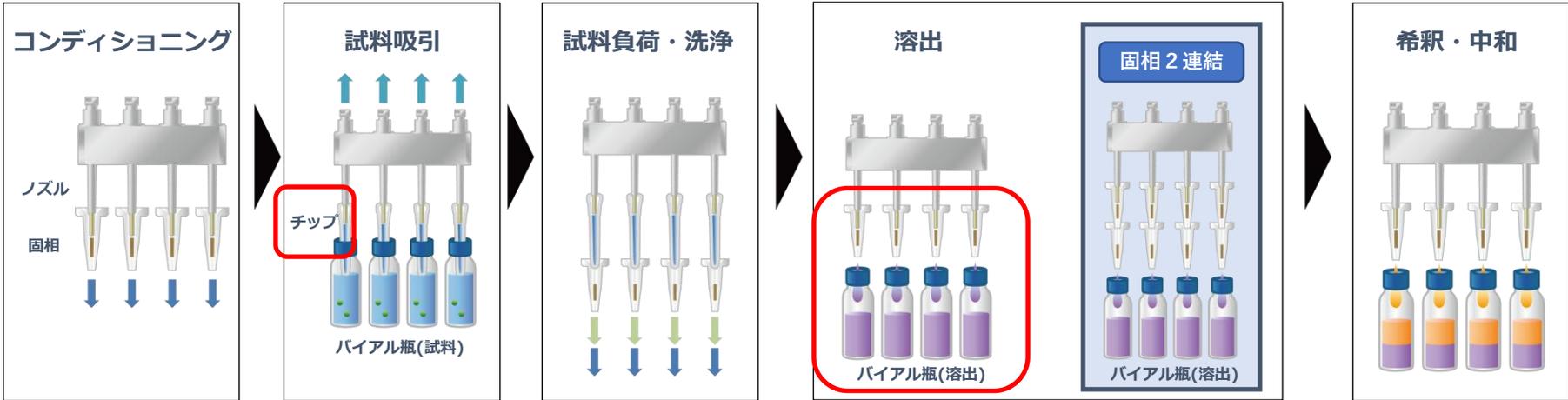


ST-R100専用固相
Smash-SPE

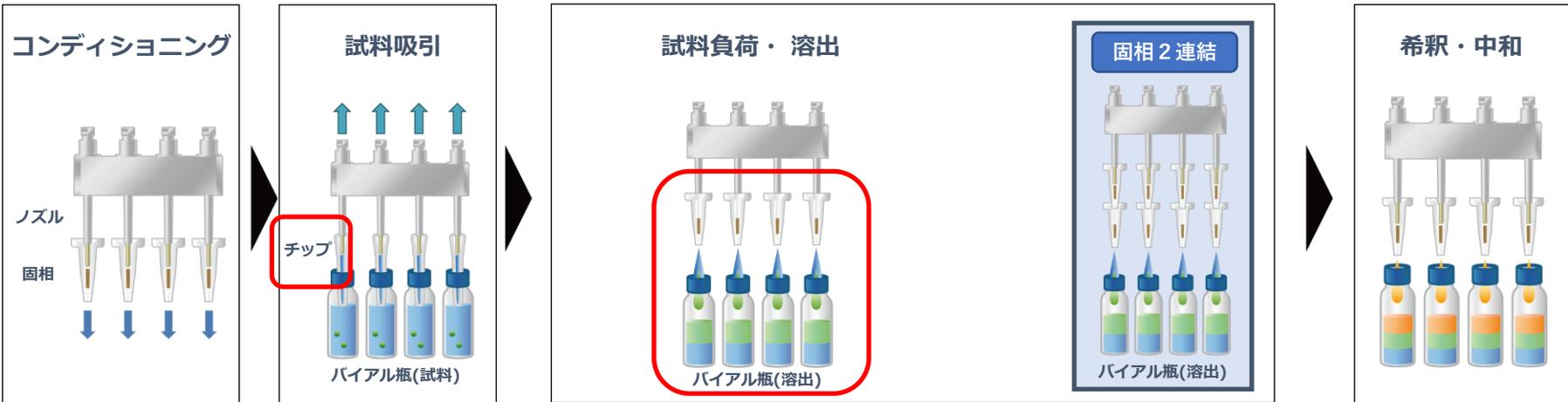


ST-R100の概要

【保持モード】 目的成分を固相に保持、夾雑成分を除去



【スルーモード】 夾雑成分を保持、目的成分をスルー



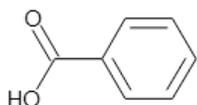
ST-R100のメリット

- タッチパネルによる直感的な簡単操作
- **4検体同時処理**によるハイスループット処理
- 試料分取チップは**サンプル毎に使い捨て**
- 分析内容に応じて保持モード、スルーモードの簡単設定
- 溶出液は**直接バイアルへ**(移し替え不要)
- カスタムモードによる動作設定
- 簡単な日常メンテナンス

食品中の保存料の分析例

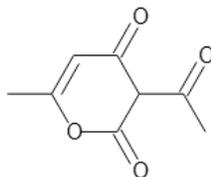
対象化合物

安息香酸



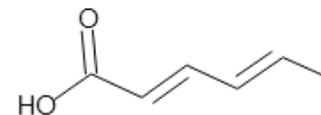
LogP : 1.83
pKa : 4.21

デヒドロ酢酸



LogP : 0.78
pKa : 5.3

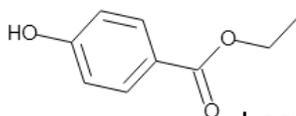
ソルビン酸



LogP : 1.33
pKa : 4.76

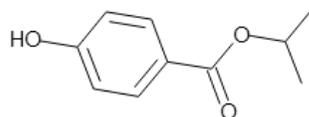
パラオキシ安息香酸エステル類

パラオキシ安息香酸エチル



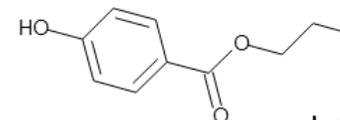
LogP : 1.96
pKa : 8.31±0.13

パラオキシ安息香酸イソプロピル



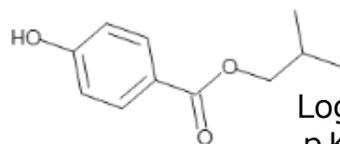
LogP : 2.34
pKa : -

パラオキシ安息香酸プロピル



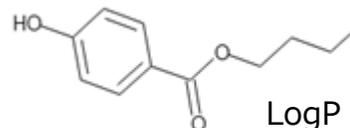
LogP : -
pKa : 8.4

パラオキシ安息香酸イソブチル



LogP : 3.4
pKa : -

パラオキシ安息香酸ブチル



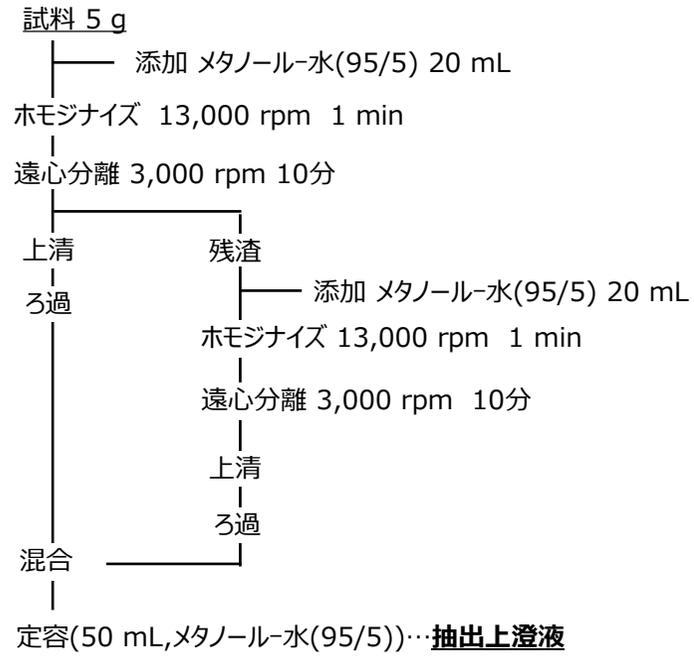
LogP : 3.6
pKa : 8.47

前処理フローおよび測定条件

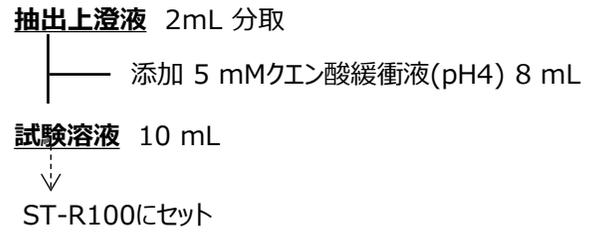
【試料】

魚肉ソーセージ、プロセスチーズ、マーガリン

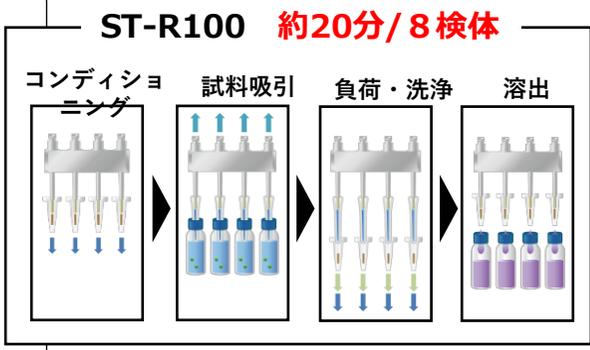
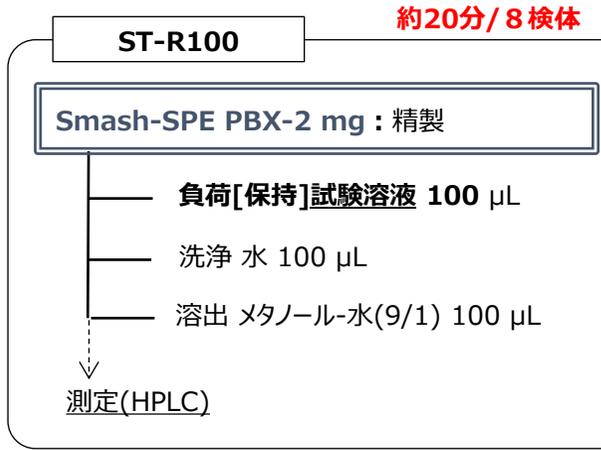
【抽出】



【希釈】



【精製】



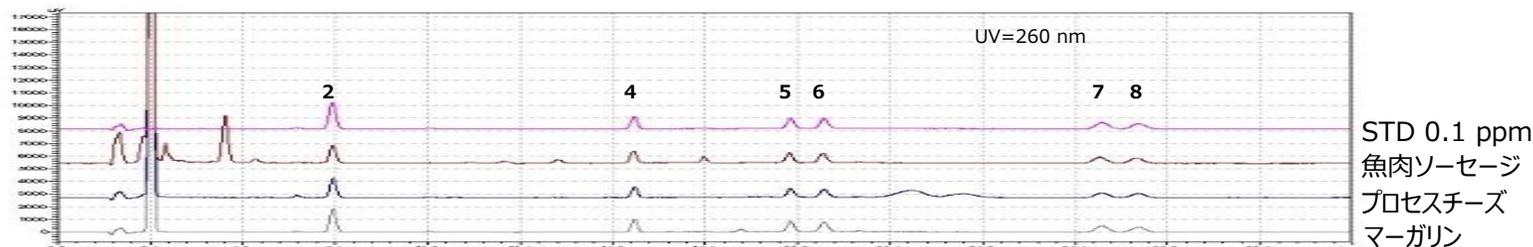
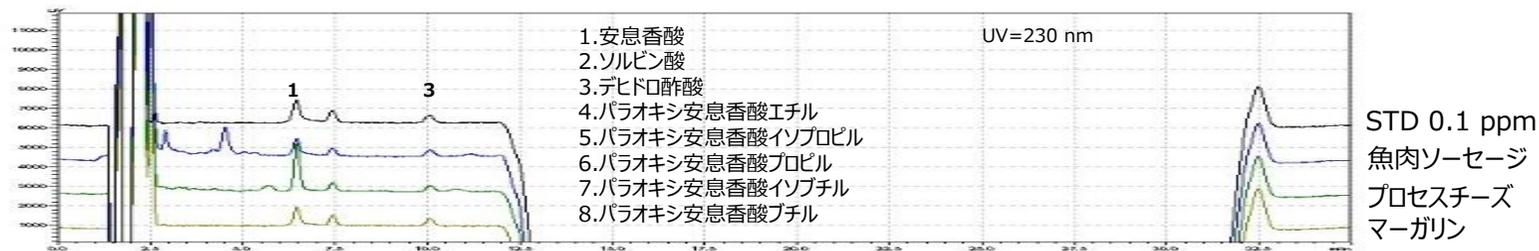
【測定条件】

- HPLC : Prominence-i (島津製作所)
- カラム : Inertsil ODS-3 (内径4.6 mm×長さ150 mm×粒径5 μm) GLサイエンス
- 移動相
 - A) 5 mM クエン酸緩衝液(pH4.0)/アセトニトリル/メタノール混液 (7 : 2 : 1)
 - B) 5 mM クエン酸緩衝液(pH4.0)/アセトニトリル/メタノール混液 (11 : 5 : 4)
- グラジエント条件 : B.Conc 0 % (0-10 min) → 100 % (15-27 min) → 0 % (27-30 min)
- カラム温度 : 40 °C
- 流速 : 1.0 mL/min
- 検出器 : UV
- 測定波長 : 230 nm , 260 nm
- 注入量 : 20 μL

添加回収率と再現性

添加濃度：試料中5 ppm、併行数：n=5

成分名	RT(分)	魚肉ソーセージ		プロセスチーズ		マーガリン	
		回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)	回収率 (%)	RSD (%)
1 安息香酸	6.4	101.0	8.5	108.1	10.8	102.1	5.5
2 ソルビン酸	7.4	87.9	2.0	87.7	5.1	98.7	6.3
3 デヒドロ酢酸	10.0	81.4	5.5	75.9	8.4	108.4	6.8
4 ヒドロキシ安息香酸エチル	15.5	100.0	3.4	96.2	4.9	104.5	7.4
5 ヒドロキシ安息香酸イソプロピル	19.8	93.3	2.6	95.6	5.1	101.3	8.9
6 ヒドロキシ安息香酸プロピル	20.8	96.0	3.1	92.5	4.2	91.6	9.1
7 ヒドロキシ安息香酸イソブチル	28.5	91.8	2.7	102.4	3.5	102.4	9.6
8 ヒドロキシ安息香酸ブチル	29.4	93.0	5.2	97.0	5.5	99.6	6.2



参考文献 日本食品化学学会 第30回総会・学術大会講演要旨集p.80

図1 UVクロマトグラム

「自動前処理法を用いた食品中の保存料分析法の開発」小西賢治¹, 島三記絵¹, 日暮優斗², 伊藤里恵², 岩崎雄介², 佐々野僚一^{1,2}, 穂山浩² 株式会社アイステイサイエンス,²星薬科大学薬学部

本日の内容

1. 固相脱水誘導体化(SP DhD)による
グリホサート類の分析
2. ST-R100を用いた食品添加物の分析
3. その他 製品紹介

本学会での発表

全自動固相抽出装置【ST-L400】使用

口頭発表 A02

6月5日(木) 10:00~12:00



「食品中PFASの自動分析法の開発」

○小西賢治¹, 佐々野僚一^{1,2}, 岩崎雄介², 伊藤里恵², 穂山浩²

¹株式会社アイスティサイエンス, ²星薬科大学薬学部

全自動固相抽出装置 【ST-L400】

複数の固相を用いて多段精製を行います。

【対象分野】

- ・ 食品
- ・ その他

【分析例】

- ・ 残留農薬 一斉分析(STQ法※)
- ・ 残留農薬 個別分析
- ・ 動物用医薬品
- ・ カビ毒 など



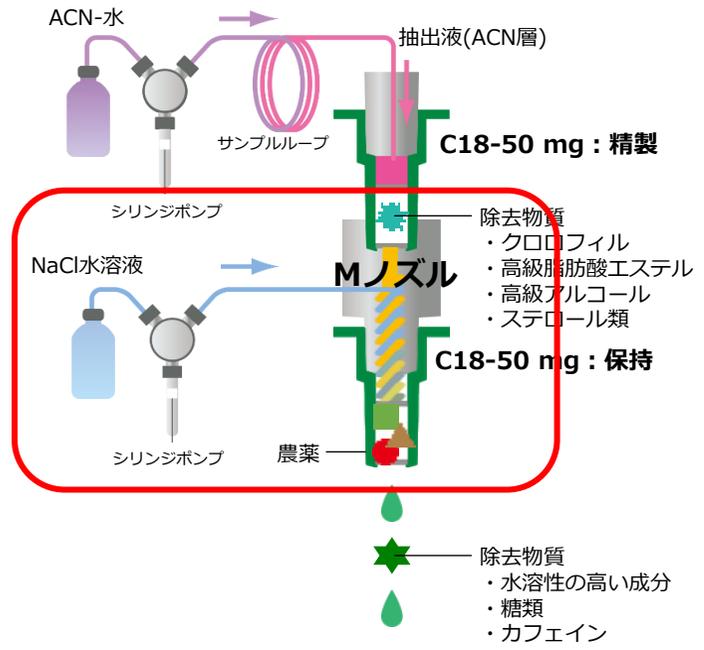
ST-L400
専用固相
Smart-SPE

※Solid Phase Extraction Technique with QuEChERS method

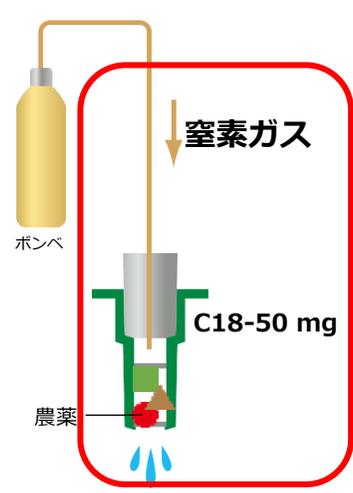
ST-L400の概要

～機能の一例～

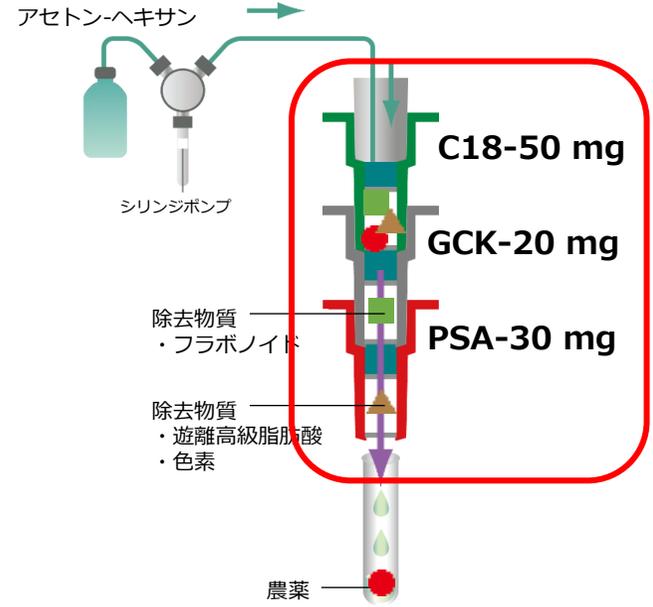
Mノズルによる 溶液の混合



窒素ガスによる 固相乾燥



固相の連結



連結した固相の
分離も可

目的物質(農薬など) ●
夾雑成分 ● ● ● ●

ST-L400のメリット

- 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)
- 複数の固相を用いた**多段精製の自動処理**
- シーケンスやログをファイルとして保管
- **器具洗浄の労力削減**(試験管1本/検体)
- STQ法各種搭載
- **オリジナルメソッド**も作成可
- 簡単な日常メンテナンス

保持モード、スルーモード、
固相連結・分離など複雑な
操作が可能！

凍結粉碎機 フ레스テント FST-4000



- 内釜方式による二層式断熱構造
- 逆回転の「みね打ち」効果により強力に粉碎
- インターロックによる安全設計
- カッターの位置が低いため少量でも粉碎可

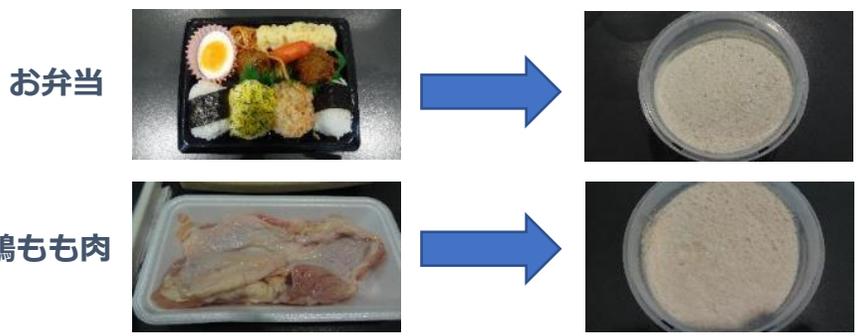
予冷式ドライアイス凍結粉砕法

試料を**ドライアイスとともに粉砕**することでパウダー状に！

※凍結粉砕と凍結乾燥は違います。 凍結粉砕では乾燥しないので試料水分量は基本的に変わりません。

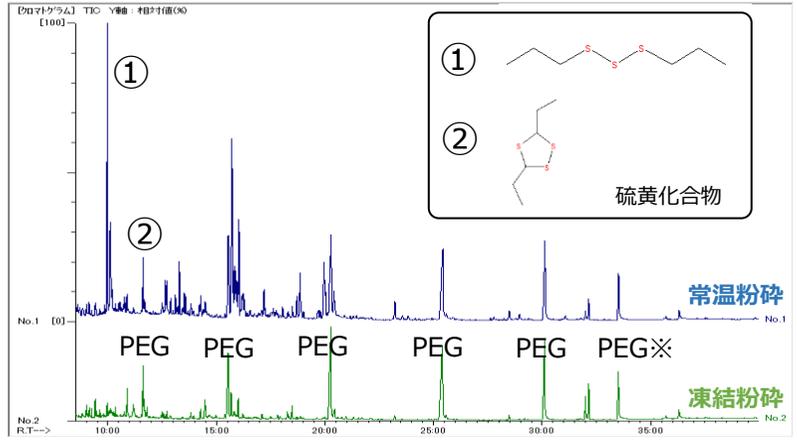
凍結粉砕のメリット①

- 【パウダー状に細かく粉砕】
- 試料の組成そのままに均一化
- 常温粉砕で難しい試料も可



凍結粉砕のメリット②

- 【凍結粉砕による酵素の活性抑制】
- 妨害ピーク（特に硫黄化合物）が小さい
- バックグラウンドも抑えられる傾向があり



タマネギを常温粉砕または凍結粉砕しSTQ法にて分析した時のそれぞれのクロマトグラム (TIC)

ご清聴ありがとうございました！

装置動画やアプリケーションノートを
Webサイトで多数掲載中！

アイスティサイエンス

検索



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

