

食品サンプル中の貝毒、有害色素、残留農薬の 全自動固相抽出オンラインLC/MS

エムエス機器株式会社

- 前処理の必要性について
- 自動化の重要性について
- アプリケーション紹介
 - チリパウダー中のスーダン色素の抽出
 - 貝中のドモイ酸の抽出
 - 作物中の農薬の検索

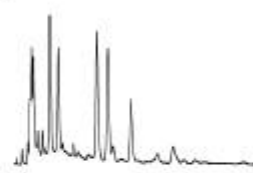
前処理の必要性について

前処理の必要性について

Collected Sample



HPLC, LC-MS, or GC Analysis



食品試料は、そのままの状態では分析できません



- ・ 分析を妨害する様々な物質の存在
- ・ 目的物質の濃度が低い



前処理が必要

自動化の重要性について

サンプル前処理を自動化すると・・・

- ・ 人為的誤差の排除

常時一定のプロシージャーで実行



抽出効率、精度再現性の向上

サンプル前処理を自動化すると…

- ・ 人為的誤差の排除
- ・ 肉体的負担の大幅な軽減 → 24時間人手の介入なく実行

サンプル前処理を自動化すると…

- ・ 人為的誤差の排除
- ・ 肉体的負担の大幅な軽減
- ・ 人手を介さずに有害物質の取扱が可能 → 人が暴露されない

サンプル前処理を自動化すると・・・

- ・ 人為的誤差の排除
- ・ 肉体的負担の大幅な軽減
- ・ 人手を介さずに有害物質の取扱が可能
- ・ 手法開発の自動化

サンプル前処理を自動化すると・・・

- ・ 人為的誤差の排除
- ・ 肉体的負担の大幅な軽減
- ・ 人手を介さずに有害物質の取扱が可能
- ・ 手法開発の自動化
- ・ 部署間のメソッドの共有、移植が可能

さらに、前処理のひとつ、固相抽出を自動化すると…



固相抽出後処理の自動化が可能

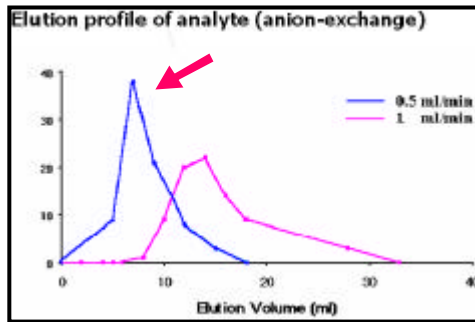
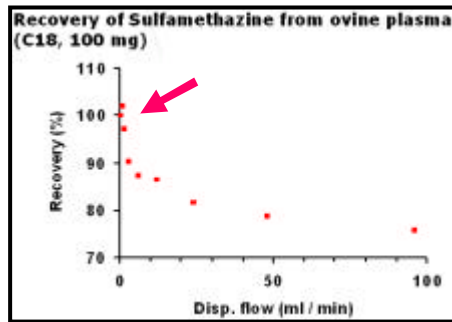
固相抽出後のHPLCやLC/MS導入への誘導体化、希釈など

固相抽出の自動化で重要なことは …

サンプルアプライ、溶出の際の流速制御が重要

サンプルアプライ

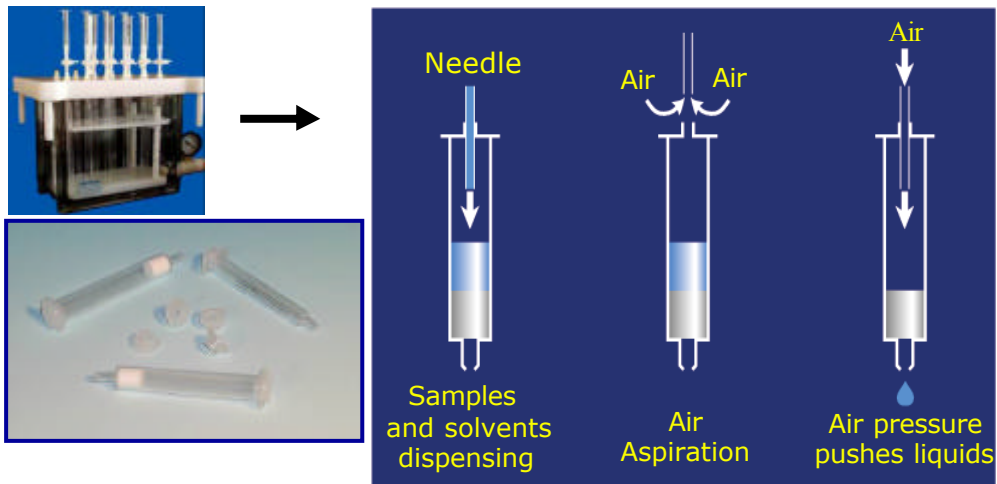
溶出



from: Ph. Hubert et al / J. Chromatogr. 622 (1993) 53 - 60, V. Desmazieres, E. Mines d'Alès / Deauville Conference, Paris 1995

空気、あるいは不活性ガスによる加圧方式

流量制御が可能



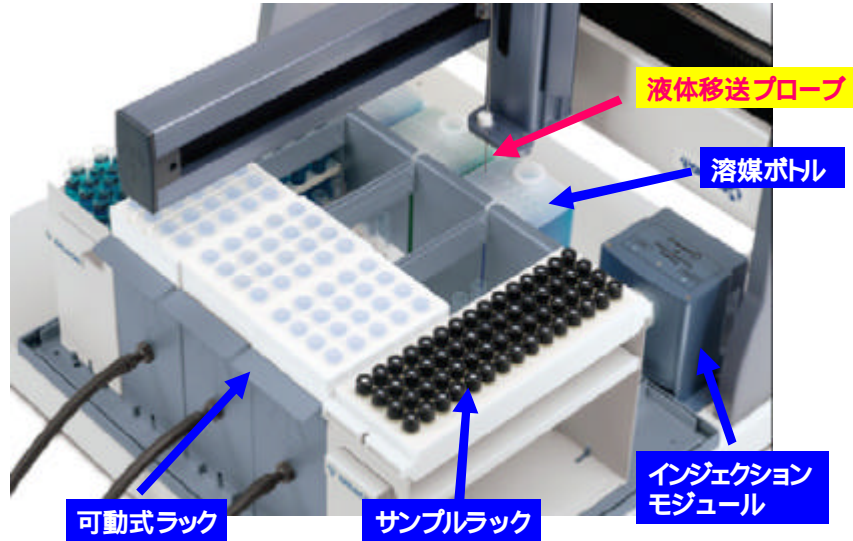
全自動固相抽出システム (GX-ASPEC™)



全自動固相抽出システム (GX-ASPEC™)



全自動固相抽出システム (GX-ASPEC™)



全自動固相抽出システム (GX-ASPEC™)



Model 406 Syringe Pump

圧カトランスデューサー装備

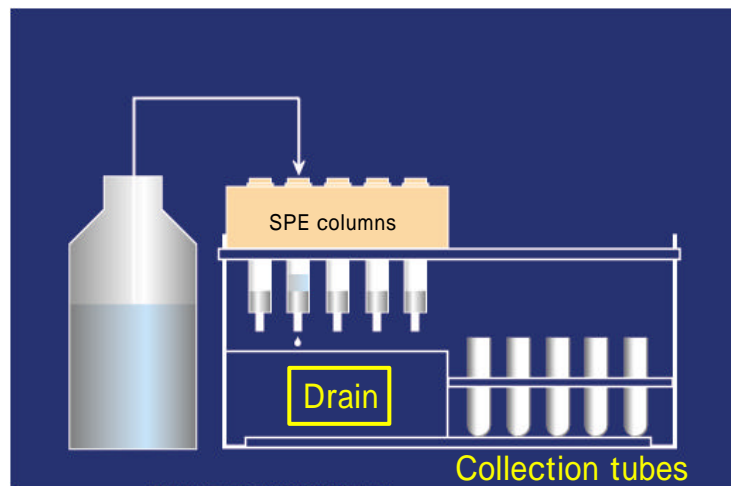
配管内の圧力を常時モニタリング



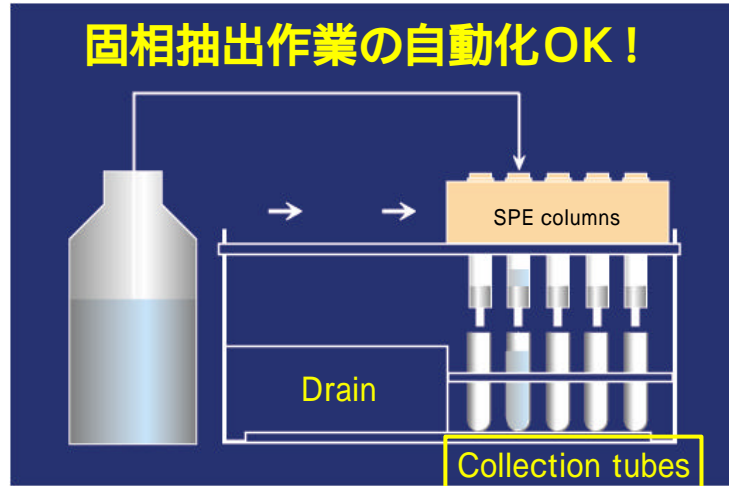
サンプルやその他の原因による流路の詰まりを迅速に検知可能

自動抽出動作原理

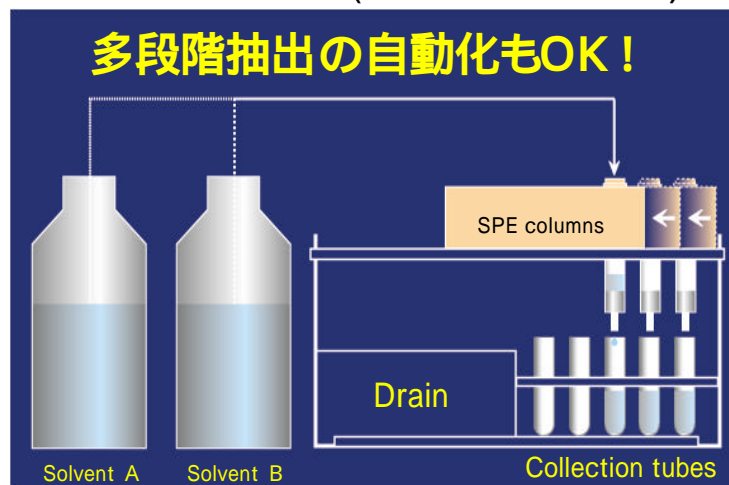
Condition, Load, Wash



Elute

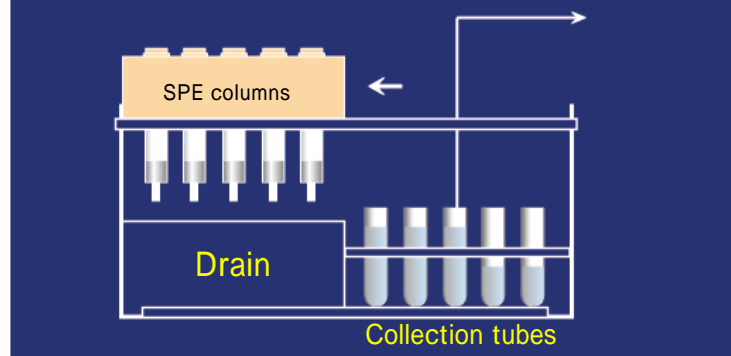


Multi-collect (ASPEC Series)



Inject

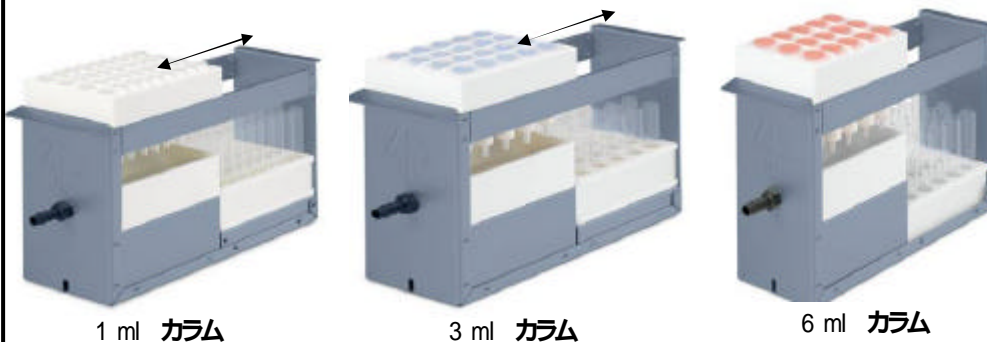
抽出サンプルのインジェクションも自動化OK!



GX-ASPEC™のまとめ

- ムービングラック方式により、一連の固相抽出作業を自動化することが可能
- 固相カラムより、多段階で抽出することができるので手法開発や、単離に有用
- 全自動固相抽出システムとしてだけでなく、リキッドハンドラーとしても動く
- 固相カラム、チューブ、オンライン分析用インジェクターへの液体移送が可能

ASPEC 可動式ラック



1 ml カラム

3 ml カラム

6 ml カラム

チリパウダーにスーダン色素をスパイクして固相抽出し HPLC分析

SPEカートリッジ ; OASIS MCX 60mg, 3ml

Conditioning ;

2ml 酢酸エチル

2ml MeOH

1ml 0.1M NaOH

2ml H₂O

Load;

5mlサンプルをロード (2.5ml x 2回)

Wash;

2ml 70% MeOH in H₂O

1ml 1.0 M NaOH

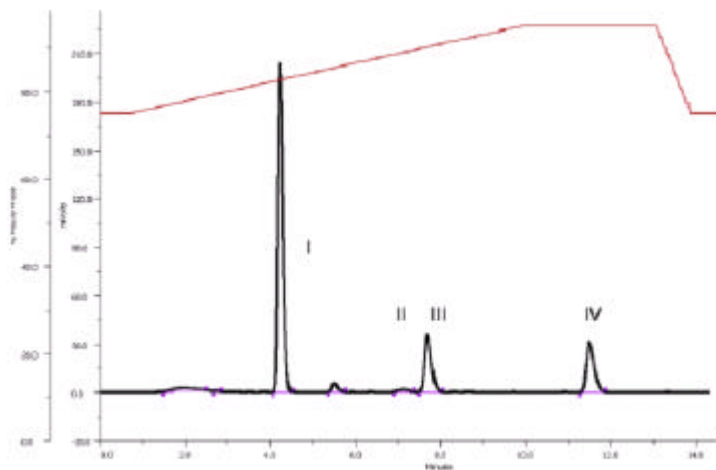
2ml MeOH

1ml 酢酸エチル

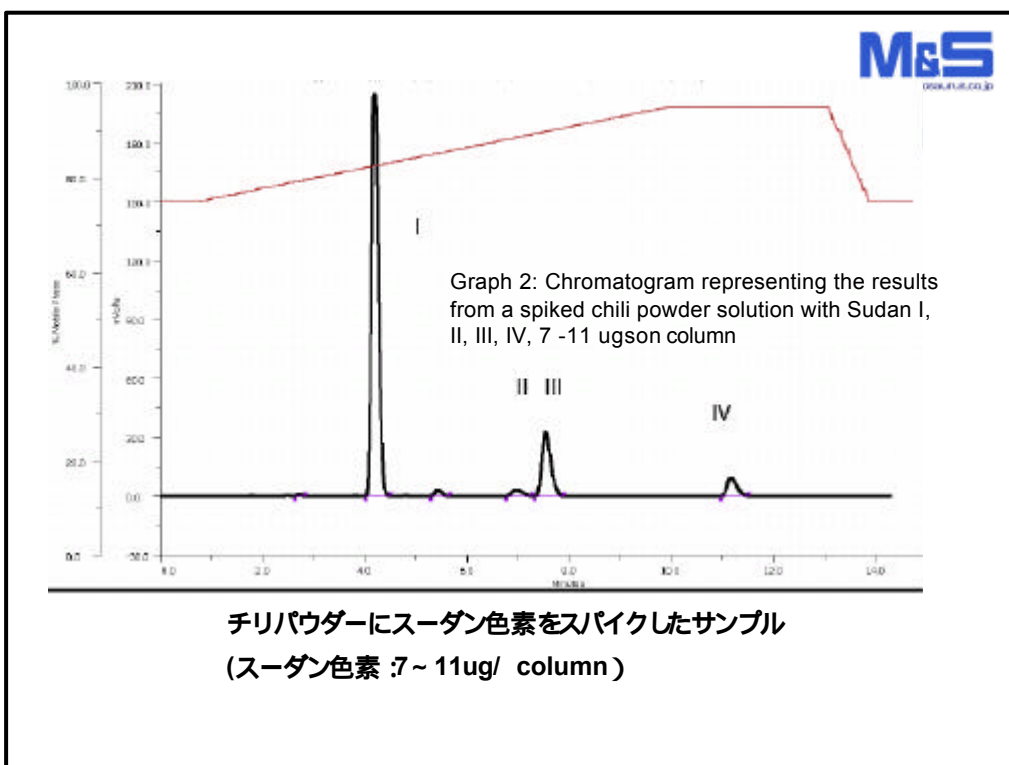
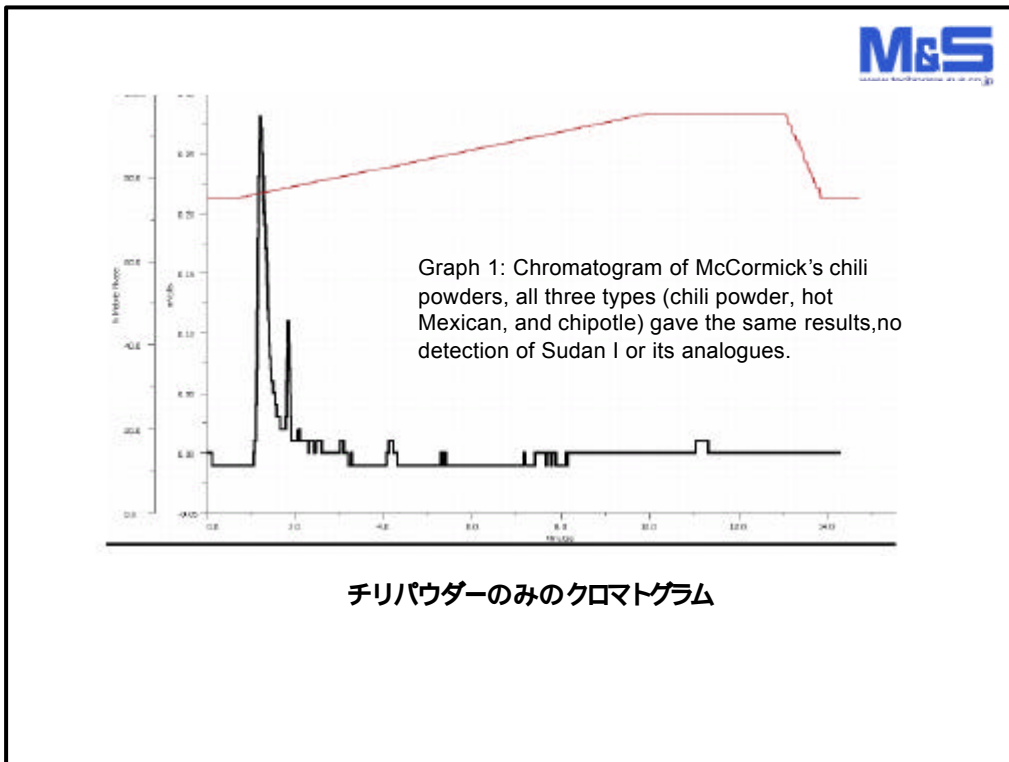
Elute;

2ml 酢酸エチル :MeOH :ギ酸 (89:9:2)

乾燥後、200ul CH₃CN :H₂O (90:10)に溶解



Graph 3: Chromatogram of a mixture of Sudan I and its analogues in acetone/NaOH dilution mix, not chili powder extract



サンプル溶剤とピーク形状の関係

溶剤の溶解力が強いとピーク形状に影響を与える

回避するには...



サンプルインジェクション量を少なくする

or

溶媒乾固 再溶解 インジェクション

サンプル溶剤とピーク形状の関係

溶剤の溶解力が強いとピーク形状に影響を与える

回避するには...



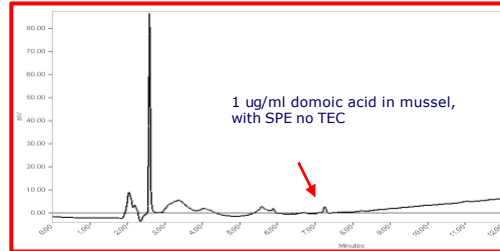
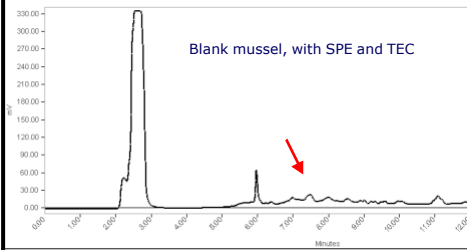
濃縮カラムを使うことで、回避策は不要

or

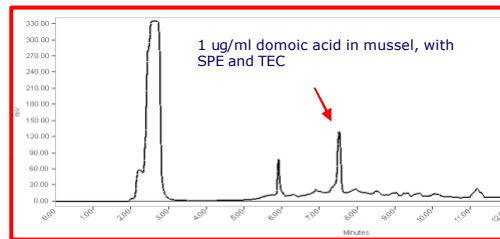
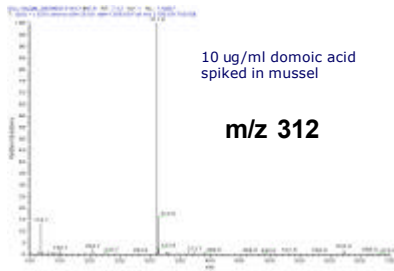
~~溶媒乾固 再溶解 インジェクション~~

サンプルは濃縮カラムに保持され、溶剤による影響が無くなる

- ・ インジェクション量を増やすことが可能
- ・ インジェクション作業を自動化することが可能



TECの使用により S/N 比がアップ



1ug/ml ドーモイ酸/ムール貝		
SPE	Peak area	22318
	CV	8%
SPE/ with TEC	Peak area	1572217
	CV	4%

ドーモイ酸 回収率 93%

ドーマイ酸分析における自動化に関するまとめ

手動の固相抽出メソッドの自動化が容易に実現

毒物であるドーマイ酸とヒトとの直接の接触を回避

固相抽出後のサンプルはダイレクトにHPLC分析を行うことも、後で解析するために別のテストチューブへ移送しておくこともできる。

異種のパッキングを使用したメソッド開発の可能性

良好なCV、リカバリー

濃縮カラム (TEC)の使用でSN比がアップする。

作物中の農薬の検索

ポジティブリスト制度(2006年から導入)

食品の農薬残留については、食品衛生法により残留基準が設定されている。規制には、ポジティブリスト制度とネガティブリスト制度が存在し、ポジティブリスト制度は、原則すべてを禁止、残留を認めるもののみを一覧表にして示すという方式で、ネガティブリスト制度は原則自由で、残留してはならないものを一覧表にして示すという方式である。ポジティブリスト制度では、残留基準の設定されていない農薬が残留する食品の販売等を禁止している。残留基準が設定されていない農薬の残留については「人の健康を損なうおそれのない量」(一律基準値0.01ppm)を設定し、それを超えた残留のある農産物の販売等を全面的に禁止するという対応がとられている。

農作物より抽出したサンプルより固相抽出処理で夾雑物を除去、GC/MS分析

SPEカートリッジ ;

グラファイトカーボン/アミノプロピル重層カラム (500mg/500mg), 6ml

Conditioning ;

10ml Acetonitrile / Toluene (3:1)

Load & Collect;

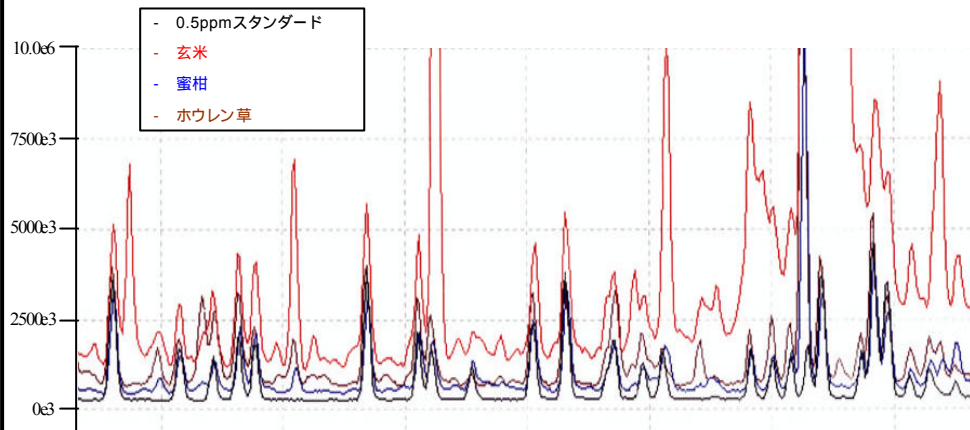
2mlサンプルをロード

Elute;

20ml Acetonitrile /Toluene (3:1)

乾燥後、1000ul Acetone :Hexane (1:1)に溶解

農作物抽出物のGC/MS分析



農薬分析-拡張システム

自動SPE-GPC クリーンアップシステム

SPEメソッドの全自動化

オンラインでGPCクリーンアップシステムへのインジェクション

あらゆる容器にフракション可能なGPCクリーンアップシステム



GX-ASPECを用いたサンプル前処理の自動化のまとめ

- ・ 濃縮カラム (TEC)を使用することで、濃縮乾固と再溶解処理が不要
- ・ 常に一定したサンプル処理が可能
- ・ バックグラウンドに阻害されずに目的ピークを検出することが可能
- ・ 固相抽出後のHPLCやLC/MSへのサンプルインジェクションが可能
- ・ 固相抽出後処理の自動化が可能
- ・ 人手を介さずに有害物質の取扱が可能