



食品分析における前処理自動化システム (第3報)

エムエス機器株式会社



なぜ前処理が必要か

食品試料を処理したものはそのままの状態では分析に適さない場合がある



- ① 分析を妨害する様々な物質の存在
- ② 目的物質の濃度が低い
- ③ カラムの劣化が早い



前処理が必要

GPC, SPE, 液液抽出・・・など



前処理自動化の意味とは？

手動で前処理を実施する際の問題点

- ① ヒューマンエラー → 試薬の種類や量、処理ステップの勘違いによるミス
- ② 身体的負担 → 連続処理による負担、生産性の低下
- ③ 再現性問題 → 処理した日や処理操作スキルの違いによる結果の相違

自動化ですべて解決

さらに、

- ・有害物質からオペレーターを隔離
- ・前処理プロトコル検討の自動化
- ・部署間でプロトコルの共有・移植
- ・前処理後の分析自動化・フルオートメーション化
が可能という利点



本日の発表内容

①. 前処理の自動化（GPC, SPE, QuEChERS）

GPC（Gel Permeation Chromatography：ゲル濾過）

- ・・・多検体処理が可能なシステムの検討

SPE（Solid Phase Extraction：固相抽出）

- ・・・SPEカラム専用ラックの利用

QuEChERS（Quick Easy Cheep Effective Rugged and Safe）

- ・・・オートメーション用の攪拌器とフィルターカラムを利用

②. 自動化システムの最新公定法への応用事例

SPEによる乳製品中のメラミン抽出

食品添加物中のPb（II）抽出処理



①. 前処理の自動化

(GPC, SPE, QuEChERS)



GPC篇

Gel Permeation Chromatography の略称。

分子の大きさによるふるい分けで分離。

厚生労働省告示第4649号、EPAメソッドには複数登録される。

メリット

油分等の除去効率に優れ、回収効率が高い、操作が簡単。

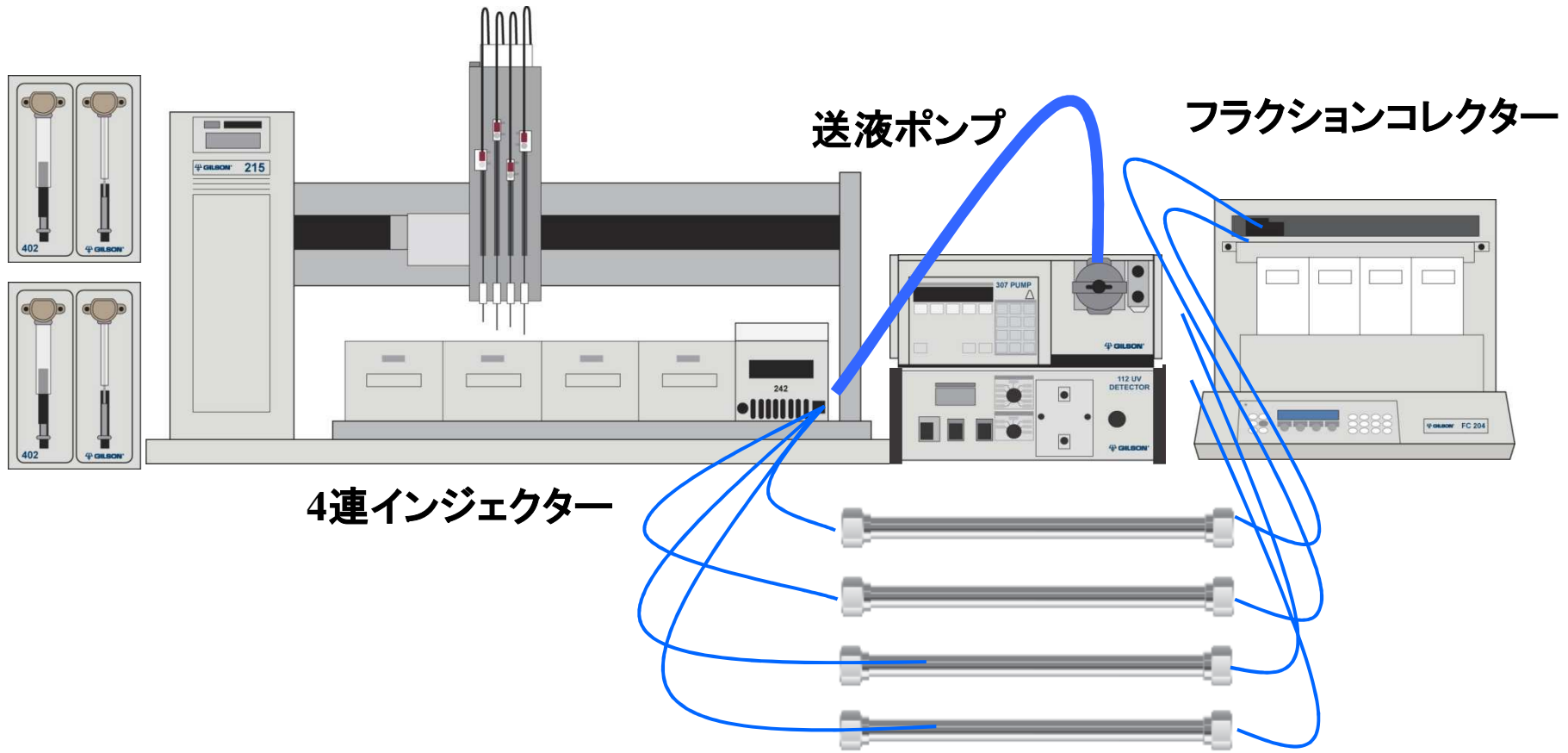
デメリット

一回の処理時間が長時間に及ぶ

→ 解決策として複数のGPCカラムを一度に利用する多検体化への取り組みを紹介する。



システム構成



4連インジェクター

送液ポンプ

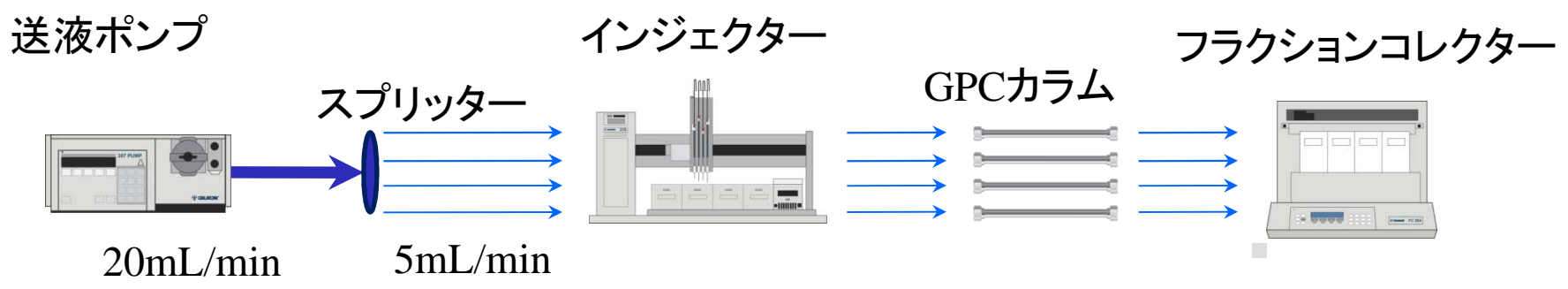
フラクションコレクター

GPCカラム

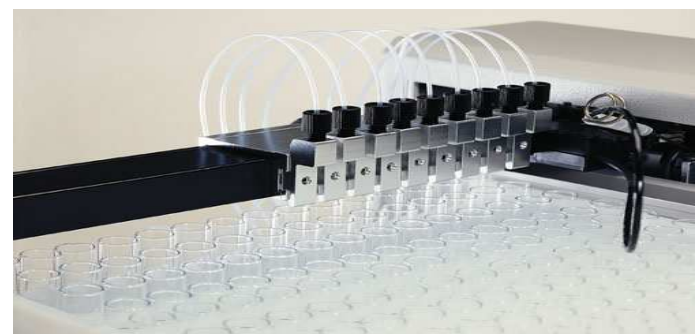
 = 20
 mL/min



流路図



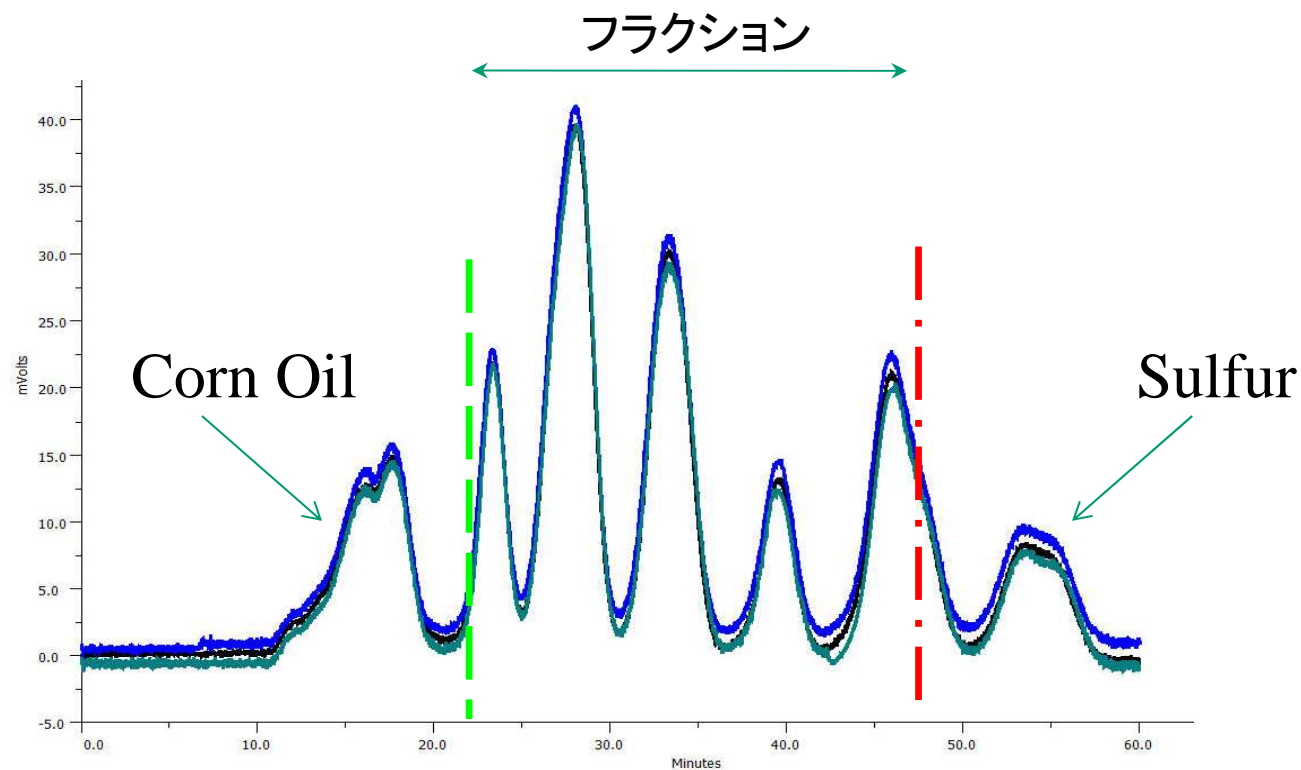
849インジェクター
4検体の分析が可能



マルチカラムアダプター
多検体を回収可能



標準物質による4クロマトグラム



システムの性能を確認



GPCによる添加回収試験

サンプル

オリーブオイル 希釈液 (50 mg/mL, ジクロロメタン) に
20種類の農薬を添加したもの

カラム

Bio-Beads® S-X3 Optima column, 70 gram, 50 cm.

移動相 : ジクロロメタン, スプリット後の流速 : 5 mL/min.

インジェクション容量 : 5mL

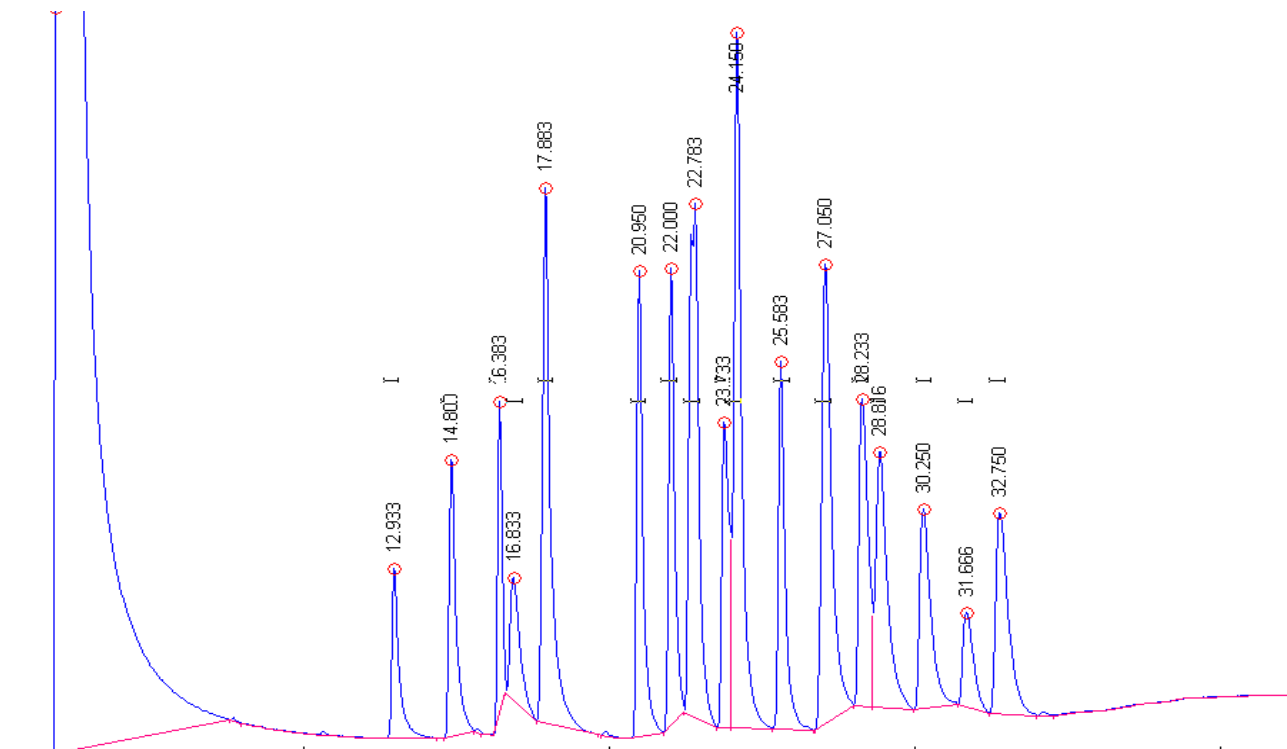
オイルピーク以降から低分子分画直前までをフラクション

溶出液を乾固

酢酸エチル 200uL で再溶解
GC-MS分析



GC-MS結果



全化合物について95%以上の収率を得た。



SPE篇

Solid Phase Extraction の略称。

固相担体への親和性により抽出もしくはクリーンアップ。

国内外を問わず各所にて前処理法として登録される。

メリット

操作性に優れ回収効率も高く、文献も豊富である、自動化が可能

デメリット

個人差・日間差がある

→ 抽出行程を自動化することで、個人差・日間差は解消

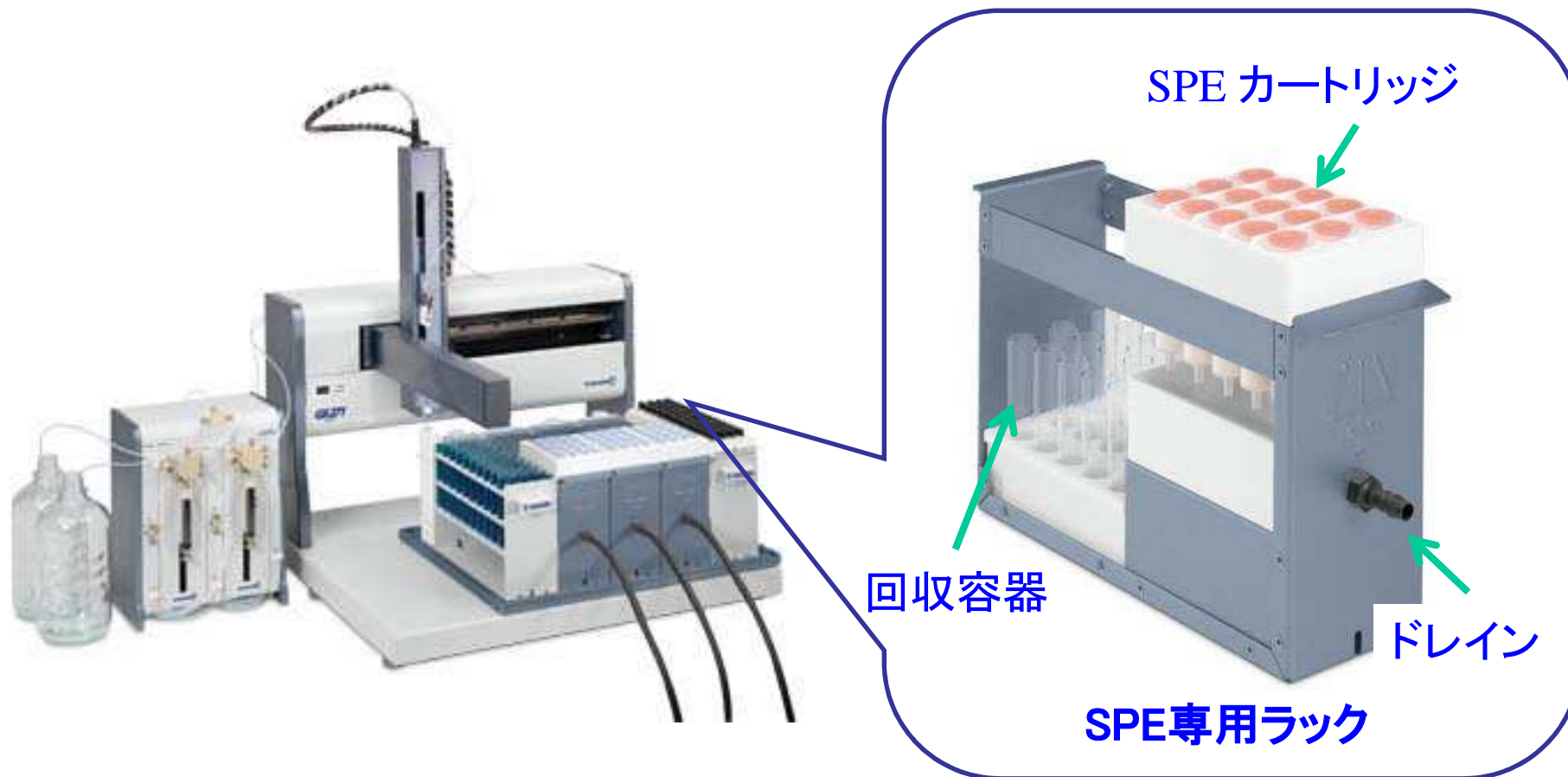
されるケースが多い。



システム構成

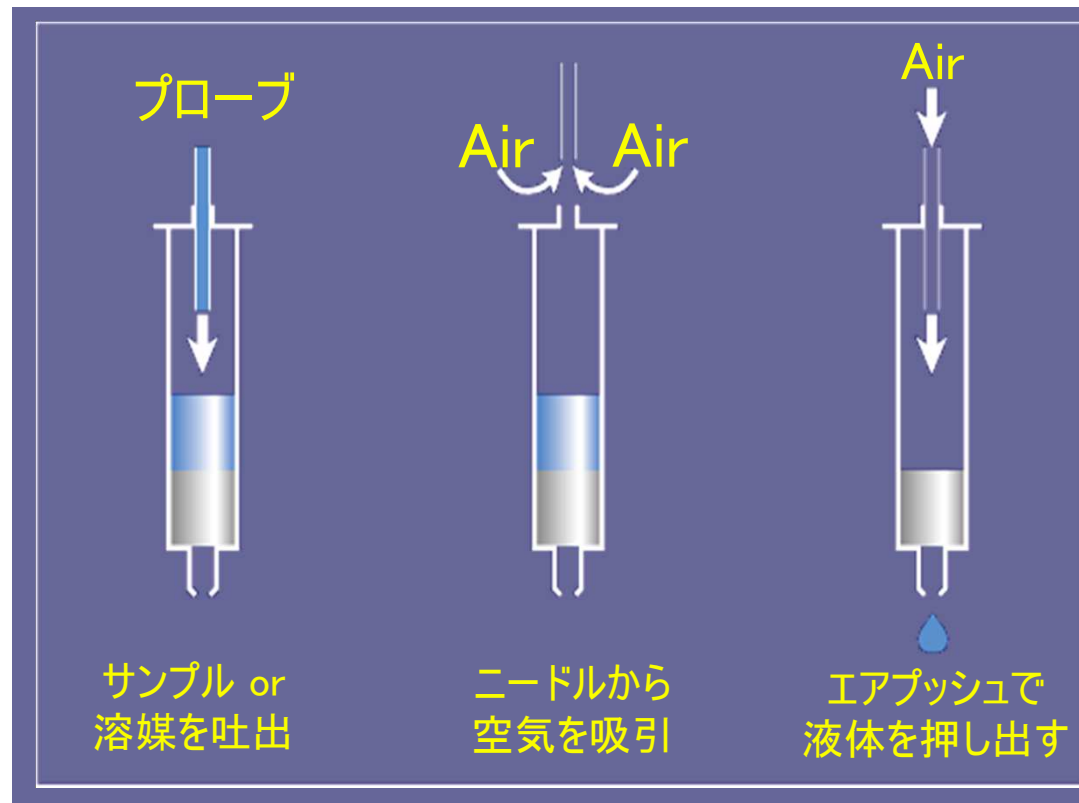
ASPEC

(Auto Sample Preparation w/Extraction Column)





加圧式によるSPE処理



再現性のカギとなる液体流速制御が容易



再現性比較

SPE 法にて手動と自動化システムで再現性を比較

サンプル	測定値
1	0.889
2	0.935
3	0.909

手動	
平均値	:0.911
CV(%)	2.53%

サンプル	測定値
1	0.931
2	0.940
3	0.933

自動化システム	
平均値	:0.936
CV(%)	0.68%

※環境系サンプルでの六価クロム測定事例
測定値単位: ppm



自動化することにより再現性が大きく向上した



SPEによる添加回収試験

サンプル調製

オリーブオイル1.5mLに20種類の農薬を添加したものに
ヘキサン1.5mLを添加して混和
アセトニトリル6mLを添加してシェイカー(650rpm)にて混和
30分静置後、上層を回収



二層カラムによるSPE処理

(PSA500mg/グラファイトカーボン500mg, 6mLタイプ)
アセトニトリル5mLでコンディショニング
上層全量をアプライしてアセトニトリル6mLで溶出



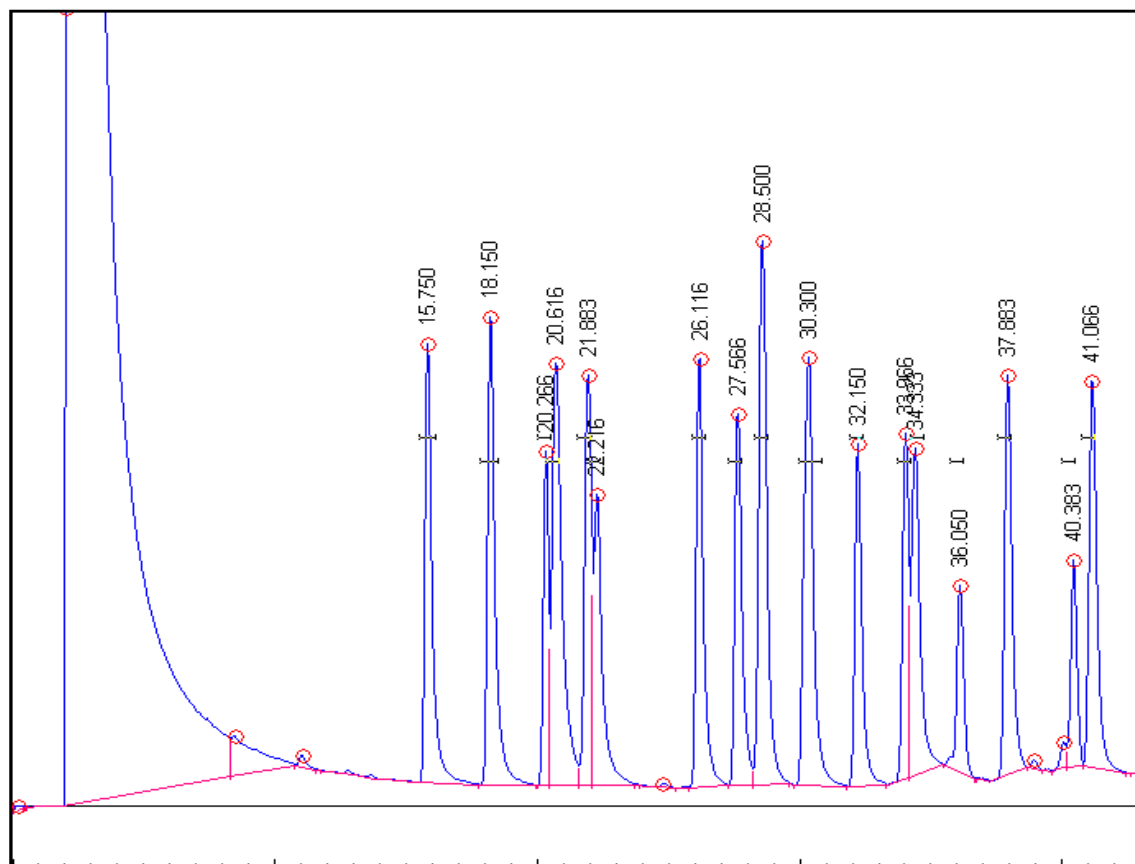
溶出液を乾固



酢酸エチル200uLで再溶解
GC-MS分析



GC-MS結果



平均80%以上の収率を得た。



QuEChERS篇

Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safeの略称。
Dispersive SPE(dSPE)と呼称されることもある。

抽出例:

- 1) 固相担体(粉体)の入ったQuEChERSチューブに
サンプル溶液を添加
- 2) 攪拌して固相担体に測定妨害物質を吸着させる
- 3) 遠心分離、若しくはフィルトレーションにより固相を除去

メリット

処理時間が短く、簡単で、コストパフォーマンスに優れる

デメリット

通常のSPE法に比べてクリーンアップ率が若干低い。



QuEChERSによる添加回収試験

サンプル調製

オリーブオイル1.5mLに20種類の農薬を添加したものに
ヘキサン1.5mLを添加して混和
アセトニトリル6mLを添加してシェイカー(650rpm)にて混和
30分静置後、上層を回収



QuEChERSチューブ

(PSA 50mg/グラファイトカーボン50mg/MgSO₄ 150mg)
上層1mLをQuEChERSチューブに添加し650rpmにて2分間攪拌
フィルターカラムで濾過、洗浄液を回収



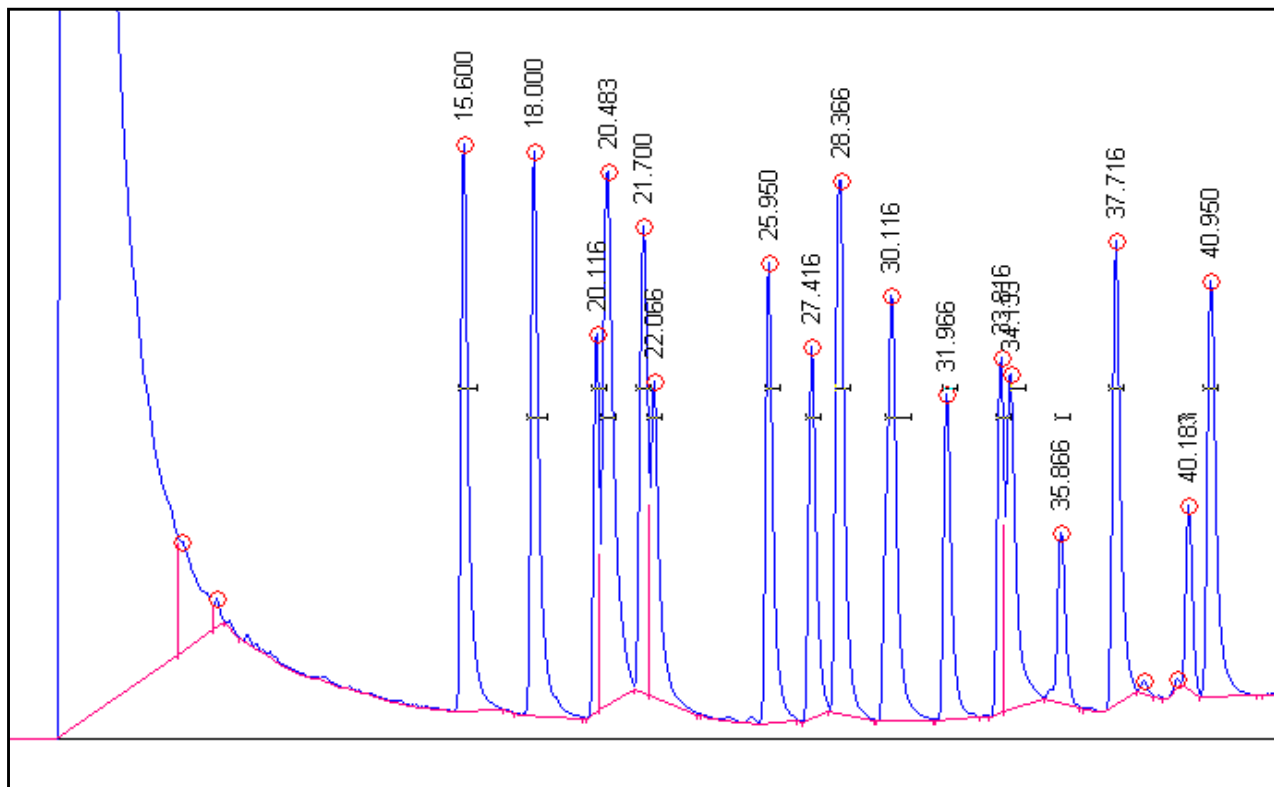
回収した濾液を乾固



酢酸エチル200uLで再溶解
GC-MS分析



GC-MS 結果

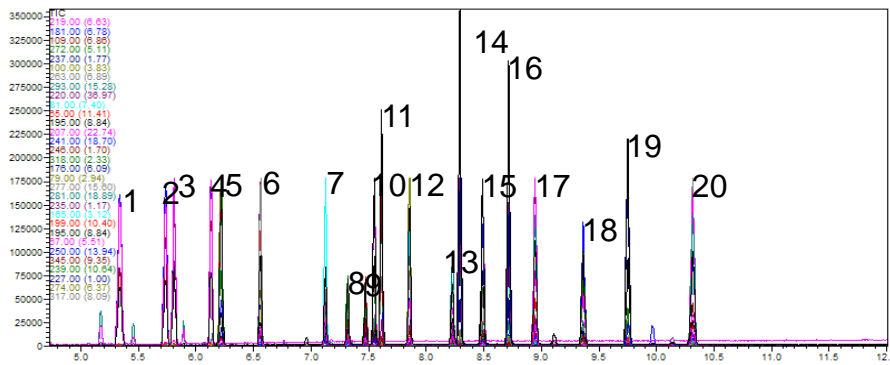


平均70%以上の収率を得た。

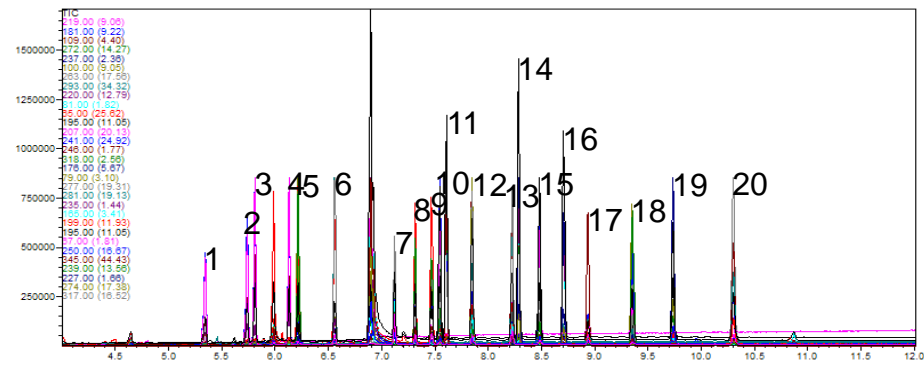


GPC/ SPE /QuEChERS 結果

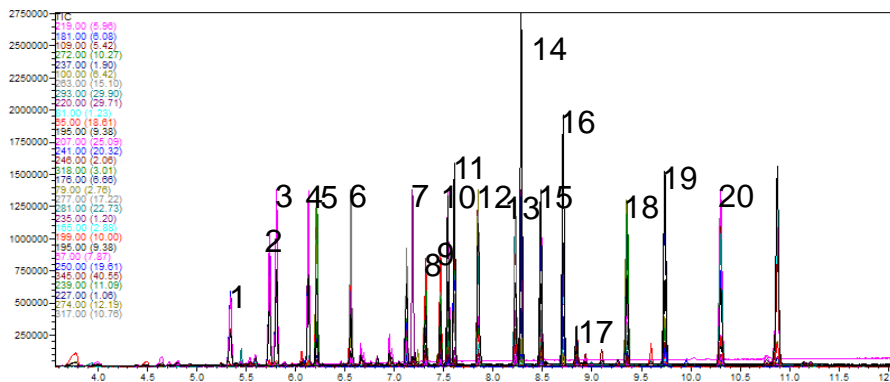
Standard



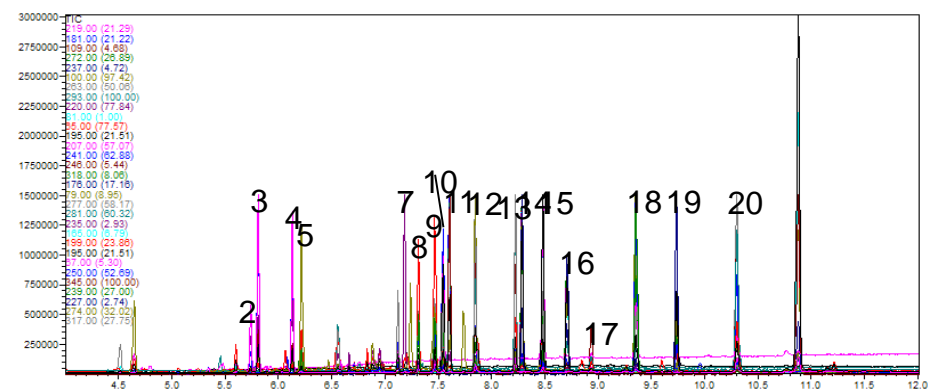
GPC Extract



SPE Extract



QuEChERS Extract



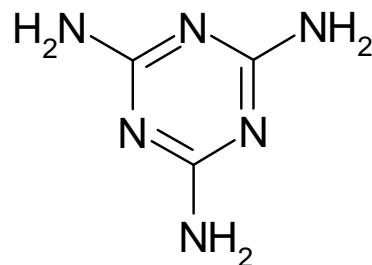


②. 最新公定法への応用事例

- ・乳製品メラミン分析のSPE処理
- ・食品添加物中のPb(II)抽出処理



乳製品中のメラミン抽出



元々は樹脂原材料(メラミン樹脂)として知られる。
一部の輸入乳製品中に混入した事件は記憶に新しい。
品質評価時ケルダール法による蛋白価分析詐法の窒素源として故意に添加されている。
公定法として陰イオン交換体と陽イオン交換体を組み合わせた2次元SPEが提示されている。



メラミン抽出プロトコール

サンプル: 乳飲料にメラミンを 1 ppm 添加したもの



陰イオン交換体 (InertSep PSA)

ステップ	工程	溶液	容量	流速
1	コンディショニング	MeOH	5mL	10mL/min
2	コンディショニング	50%CH ₃ CN	5mL	10mL/min
3	サンプルアプライ	サンプル	5mL	5mL/min
4	溶出	50%CH ₃ CN	1mL	5mL/min

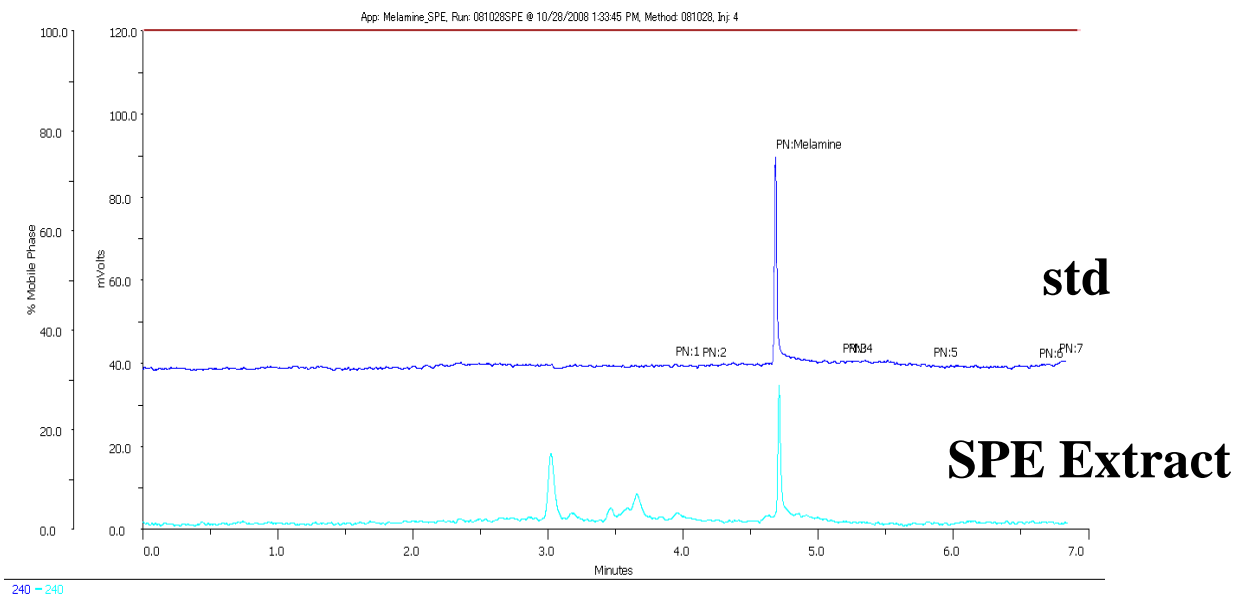


陽イオン交換体 (BondElut SCX or InertSep PRS)

ステップ	工程	溶液	容量	流速
1	コンディショニング	メタノール	5mL	10mL/min
2	コンディショニング	MiliQ水	5mL	10mL/min
3	サンプルアプライ	上記の溶出液	6mL	5mL/min
4	洗浄	0.1M塩酸	2mL	10mL/min
5	洗浄	メタノール	1mL	5mL/min
6	溶出	5%NH ₄ /MeOH	5mL	5mL/min



メラミン抽出添加回収試験 分析結果



BondElut SCX, 500mg, 3mLタイプ



回収率 82.3%,

CV= 2.56%

InertSep PRS, 500mg, 6mLタイプ



回収率 82.7%,

CV= 0.40%



食品添加物のPb(II)液液抽出

本品5.0gを量り, 200mLのビーカーに入れる。
塩酸(12→25)40mLを加えて溶かし, 時計皿で覆い, 5分間沸騰させる。
冷後, クエン酸水素ニアンモニウム溶液(1→2)10mLを加える。
チモールブルー試液を指示薬として, アンモニア水で弱アルカリ性とする。
冷後, この液を100mLの分液漏斗に移す。
ビーカーを水で洗い, 洗液を分液漏斗に合わせ, 約100mLとする。
ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム(以下PDC)溶液(3→100)5mLを
加えて5分間放置し, 酢酸ブチル10mLを加えて5分間振とうした後, 静置する。
その後, 酢酸ブチル層をとり, これを検液とする。

厚生労働省告示 第三百六十九号 “水酸化マグネシウム” より抜粋



Pb(II)液液抽出メソッド

サンプル5.0gに鉛を添加したものを6M塩酸40mLに溶解して5分間煮沸
放冷後、50%クエン酸水素ニアンモニウム溶液10mLを添加
チモールブルーを指示薬にアンモニア水にて弱アルカリに調製
3%PDC溶液5mLを添加して攪拌
100mLにメスアップ

酢酸ブチル10mLを添加して5分間攪拌
静置後、酢酸ブチル(上層)を回収

原子吸光にて測定



Pb(II) について96.2%の収率を得た

Cd(II) 、Cu(II)についても同様の添加回収試験を行い、Cd(II) 95.5%、Cu(II) 97.2%
の好成績を収めた。原子吸光光度計とのフルオンライン化も可能である。



食品分析における前処理自動化システム (第3報)

- ・ハイスループットGPC
- ・SPE自動化事例
- ・QuEChERS自動化事例
- ・各手法のデータまとめ

- ・国内公定法への応用事例
 - 1) メラミンSPE処理
 - 2) Pb(II)液液抽出

GX-ASPECシステム (Auto Sample Preparation w/ Extraction Column)





2009分析展

