

# オンラインLC-GCシステムのご紹介

～加工食品中の個別分析も自動化！～



**LGI-S110 LC-GCインターフェース**

# HPLC分取によるクリーンアップ効果

## 逆相HPLC-GCシステムのメリット

□ 逆相HPLC (前処理装置)

□ GC (測定装置)

極性

分取

熱分離

極性

無極性

Low Temp.

High Temp.

溶解度、極性、Log Pow

逆相HPLCによるクリーンアップ効果

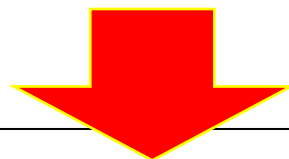
温度、沸点

GCによる高い分離機能

逆相HPLCを前処理として使用することで、大きな試料許容量と幅広い範囲の分離機能により、選択性の高いクリーンアップを行い、GCでさらに効率的に分離します。

## 従来の問題点

- LCからの分取量は 0.3~1 mL であり、全量をGCへ注入することが困難
- LCからの分取液にGCが苦手とする水や極性の溶媒が大量に含まれている



## 従来の問題点を克服した

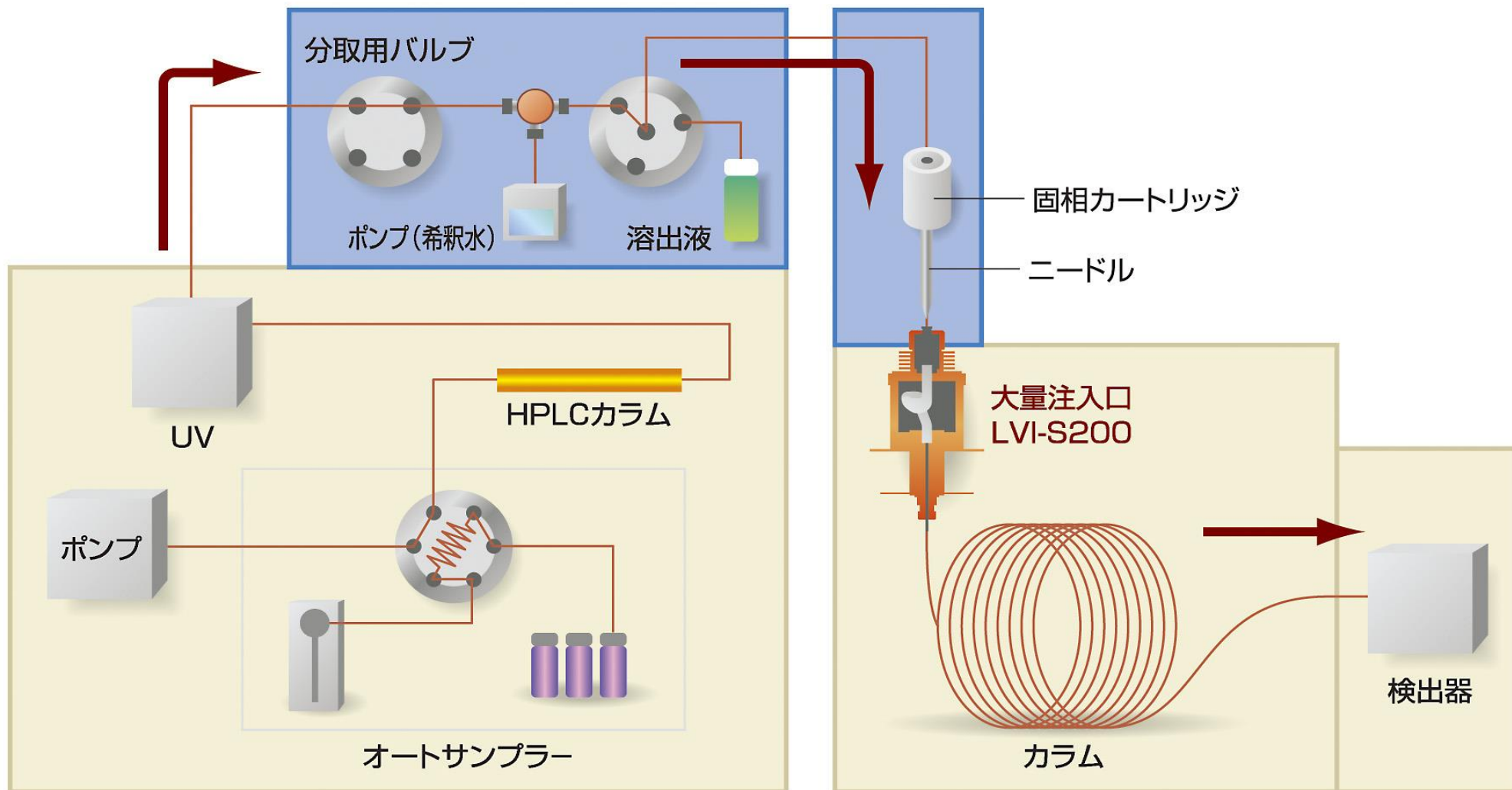
### 固相抽出法（SPE）と安定したGC大量注入法

- LCとGCのインターフェースに固相抽出法（SPE）を取り入れることでLCからの分取液をGCへ注入可能な少量の溶媒へ転溶する
- 安定したGC大量注入法の開発により、再現性よく分析が可能

# LGI-S110

フラクションユニット

インジェクターユニット

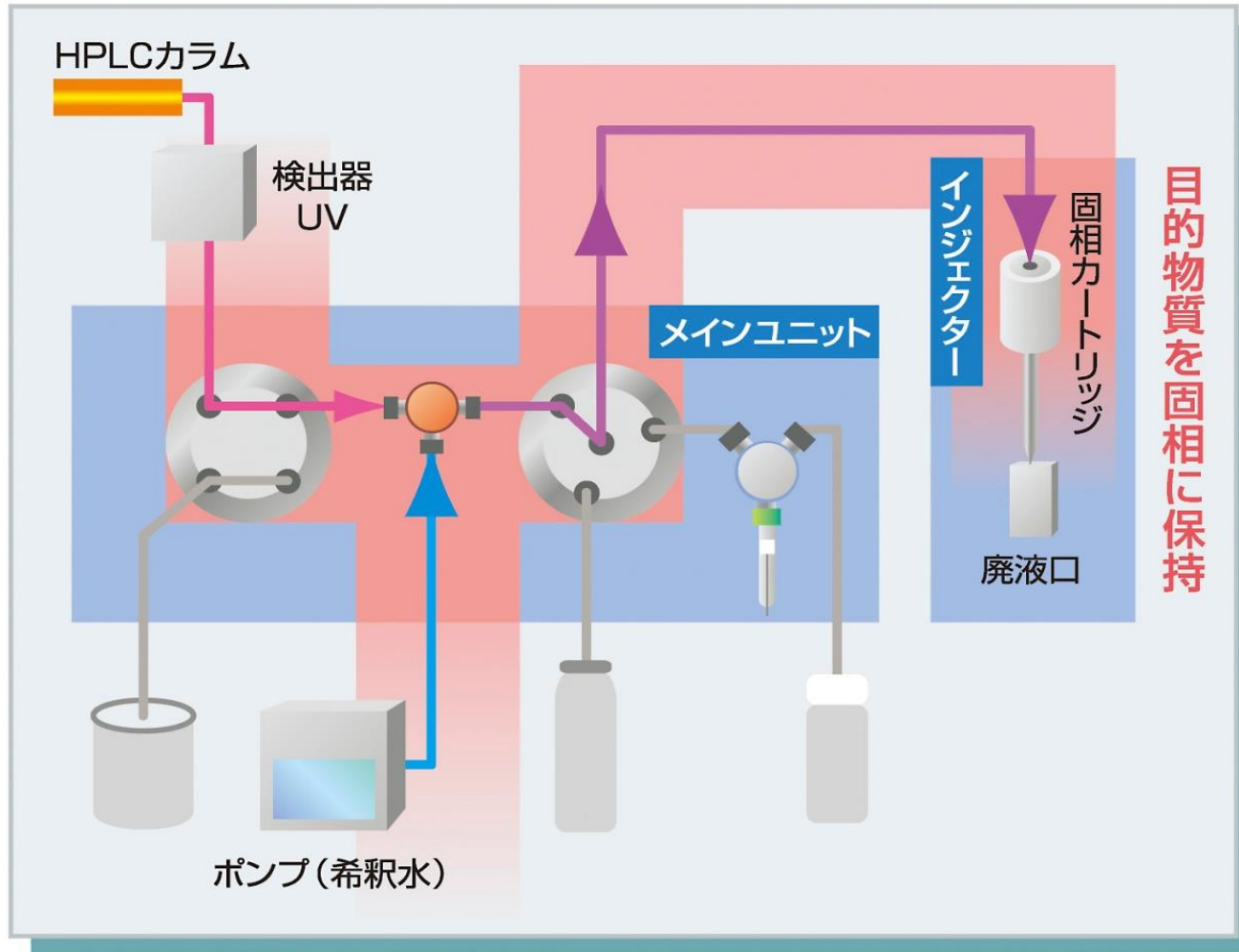


HPLC/UV

GC/MS

1

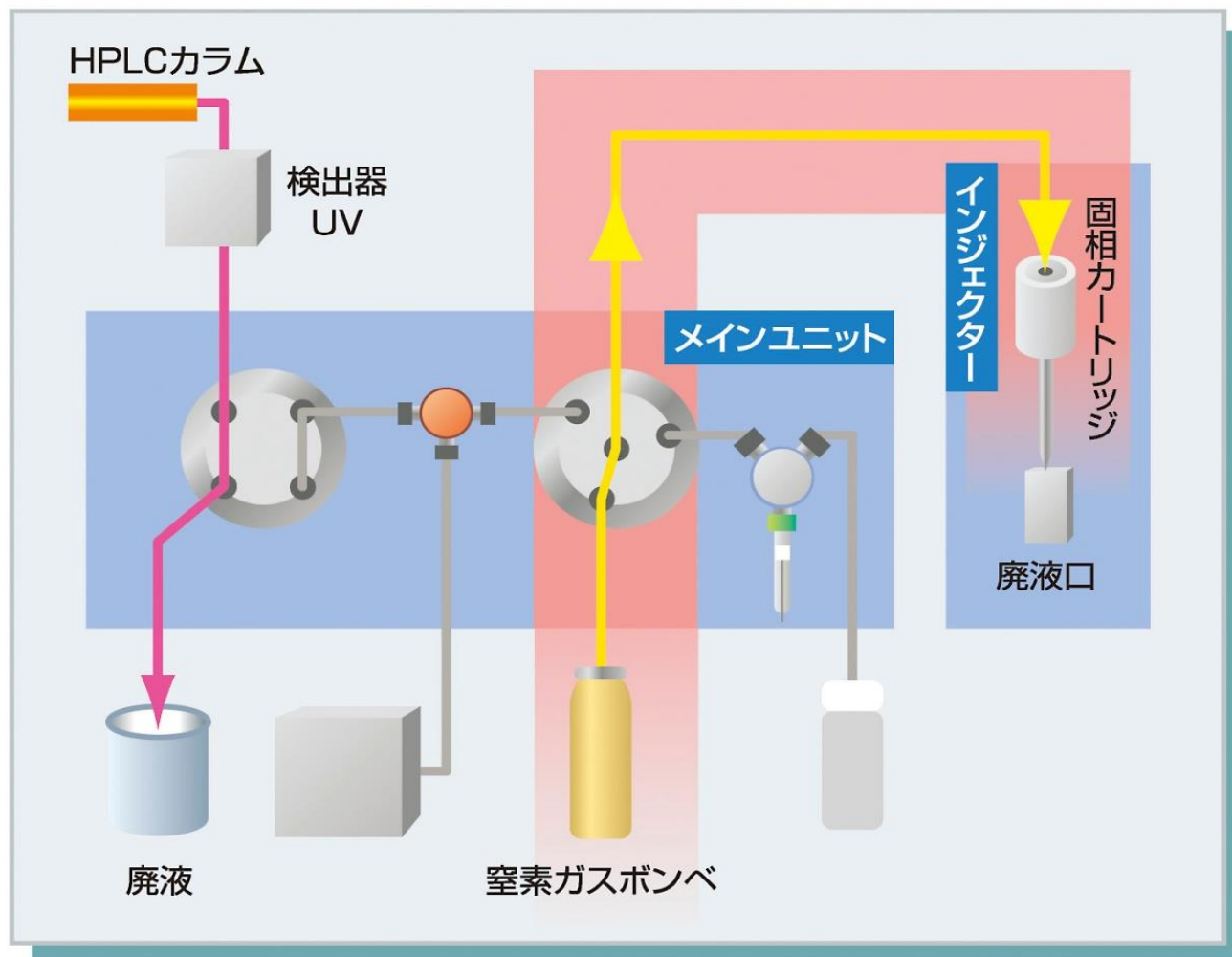
## 分取 & 濃縮



HPLCから分取しながら水を加えて溶媒濃度を下げ、そのまま固相カートリッジに通し、目的物質を固相に保持させます。

2

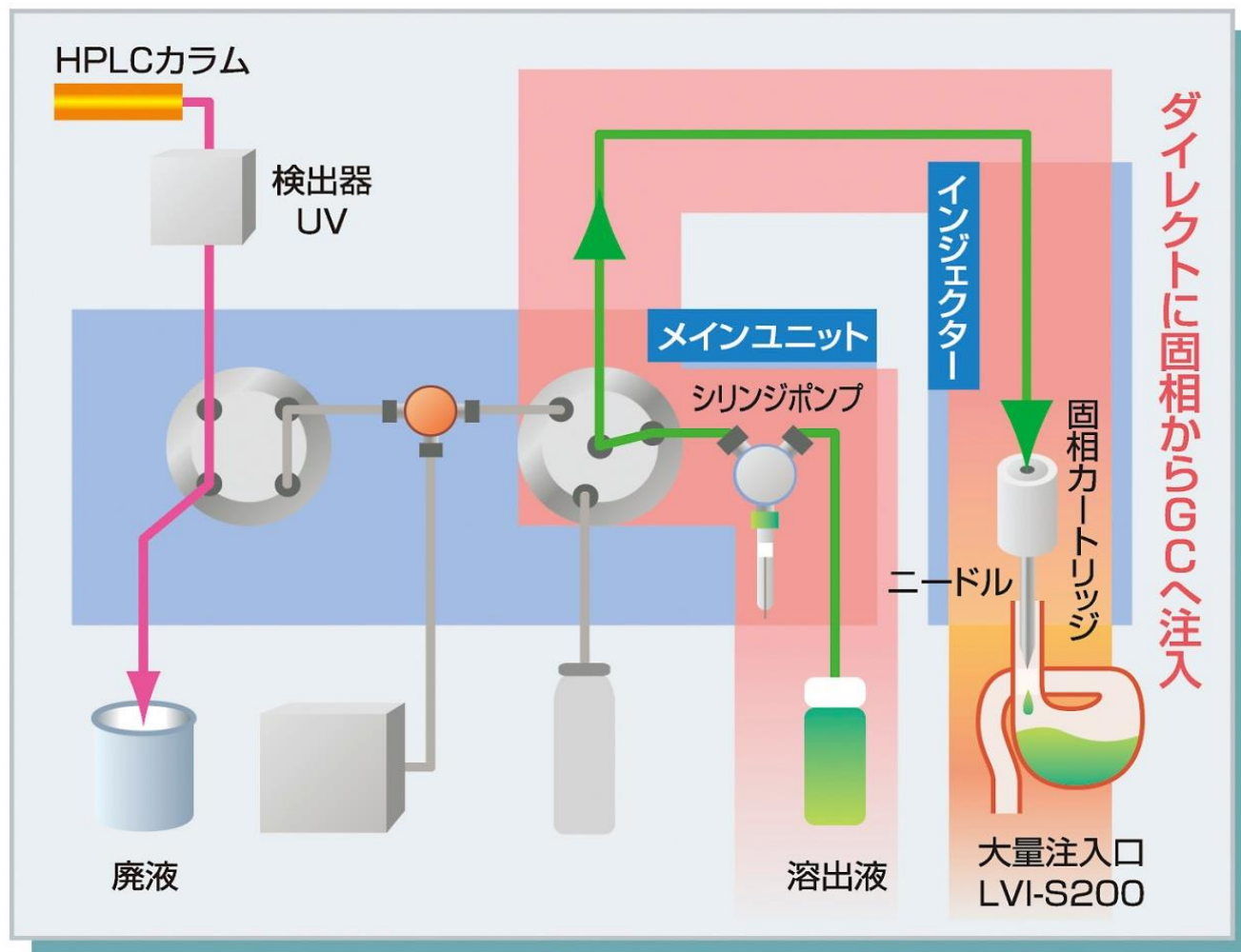
## 乾燥



窒素ガスで配管および固相中に残存しているHPLCの溶離液および水を除去します。

3

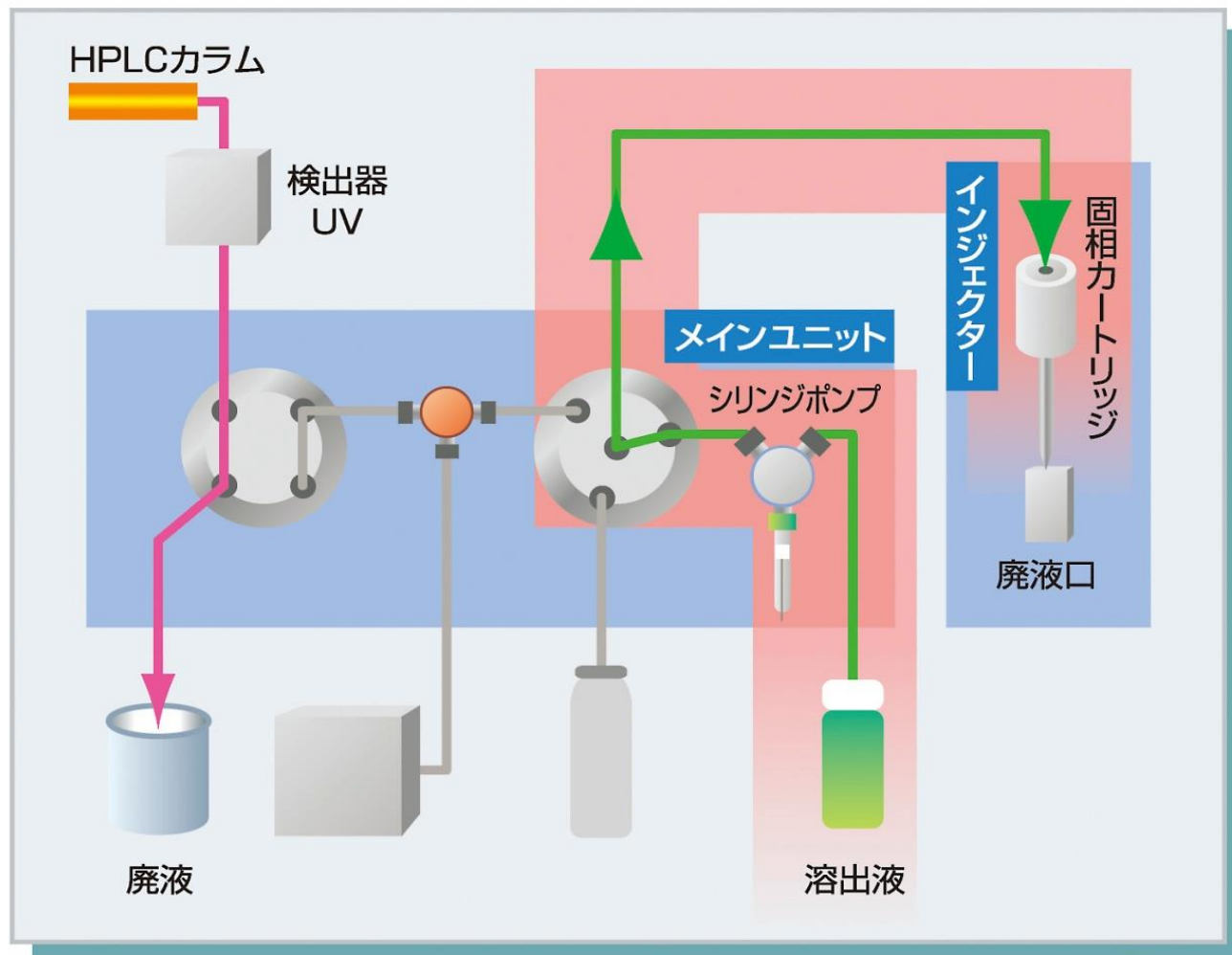
## 溶出 &amp; 注入



ニードルのついた固相カートリッジが自動的にGC注入口へ連結され、目的物質を固相から溶出しながら、GCへ直接注入します。

4

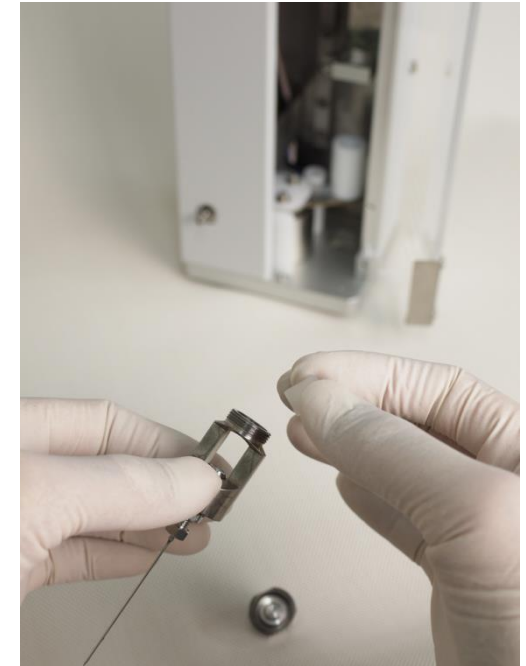
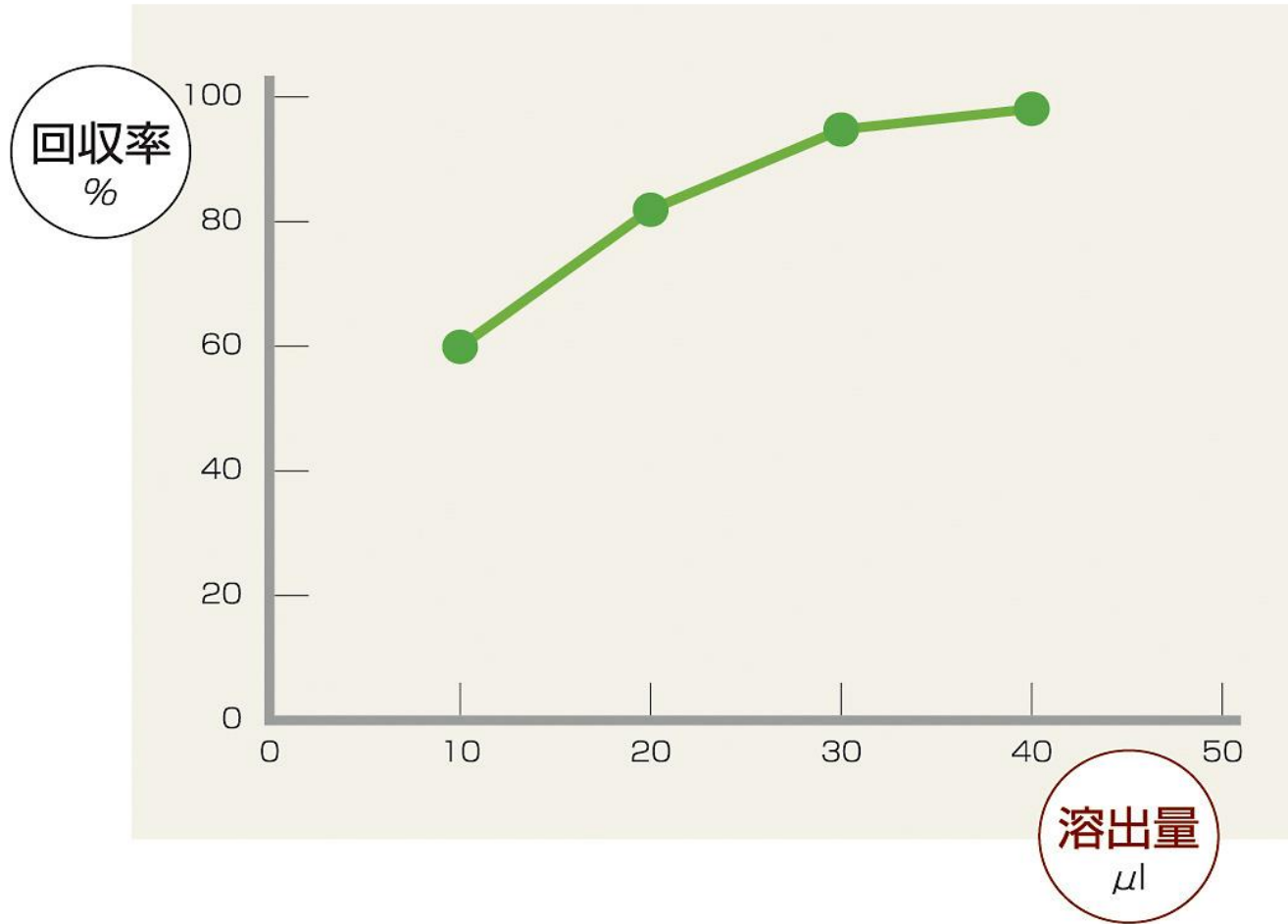
## 洗 浄



固相カートリッジが再び廃液口に連結され、溶出溶媒で配管および固相を洗浄します。



## □ 溶出量と回収率の関係

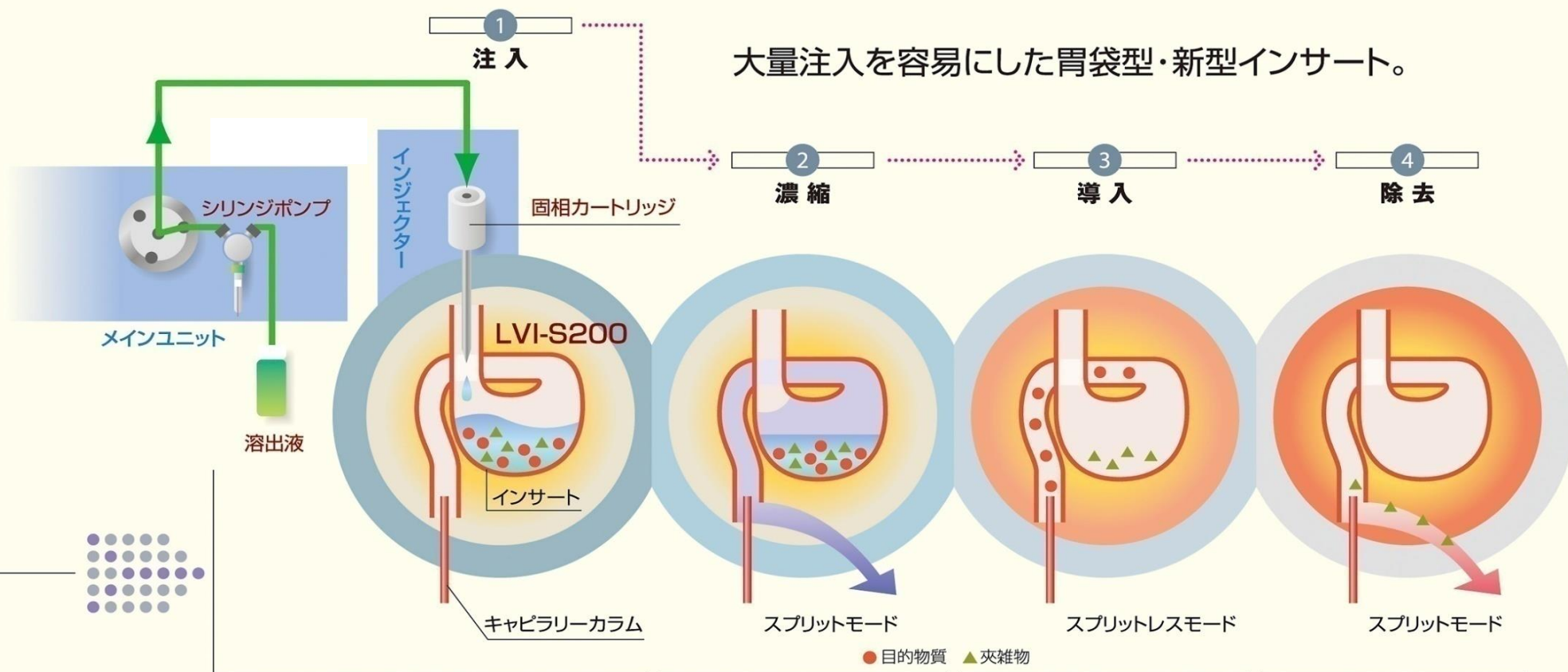


SPE:

2mm i.d. × 10mm ODS

# GC大量注入法

大量注入を容易にした胃袋型・新型インサート。



インサート内で試料溶媒が突沸をおこさないように、注入口温度を溶媒沸点より低めに設定した状態で試料を注入し、液体状態でインサート内に保持。

スプリットモードで揮発してくる溶媒蒸気を排出し、インサート内で試料を濃縮する。

スプリットレスモードで注入口温度を上げ、目的物質を分離カラムに導入し、分析を行う。

スプリットモードにし、インサートに残存している夾雑物を除去。

# ソフトウェアによる設定

**LGI メソッド編集**

LGI メソッドファイル: LC-GC080915.lgim 開く 新規 保存 削除 印刷 LGI メソッド保存日: 2008/09/16(16:22)

LGI コメント: コメント入力

LGI メソッド  LVI メソッド

**タイムチャート**

0 10 20 (min)

■ 分取待ち  
■ 濃縮時間

No.	分取待ち	濃縮時間
1	8.00	1.00
2	12.00	1.00
3	15.00	1.00
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

LC時間: 20 min

溶出

量: 100  $\mu$ L

速度: 20  $\mu$ L/s

洗浄

量: 200  $\mu$ L

速度: 50  $\mu$ L/s

吸引速度: 20  $\mu$ L/s    乾燥時間: 20 s

LVI メソッドファイル: 090908-AH.lvim 開く    LVI コメント: Acetone/Hexane(3/7) 25uL Inj.Temp.70

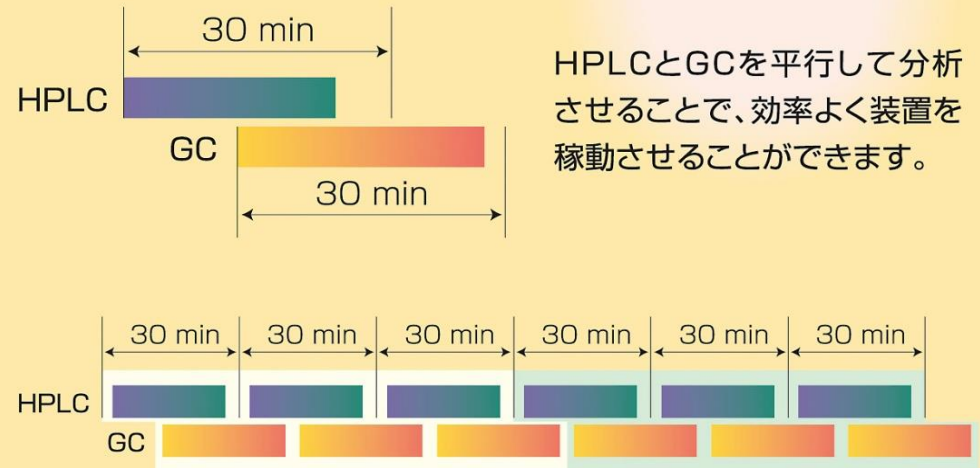
## 測定の流れ

- ① LCのメソッド作成  
(移動相、グラジエント条件等)
- ② 目的成分のLCにおける保持時間確認  
(標準試料を用いて)
- ③ LC-GCインターフェースのメソッド作成  
(分取時間の設定等)
- ④ GCのメソッド作成  
(GC昇温条件等)
- ⑤ LC-GCシステムを用いた測定  
(検量線作成→試料測定→定量・定性)

※接続したLCからの信号を自動的にLC-GCシステムが受信し、測定を行います。

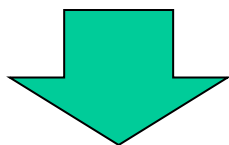
## 分析サイクル時間

### 稼動効率に優れたLC-GCシステム



# □1分画分取

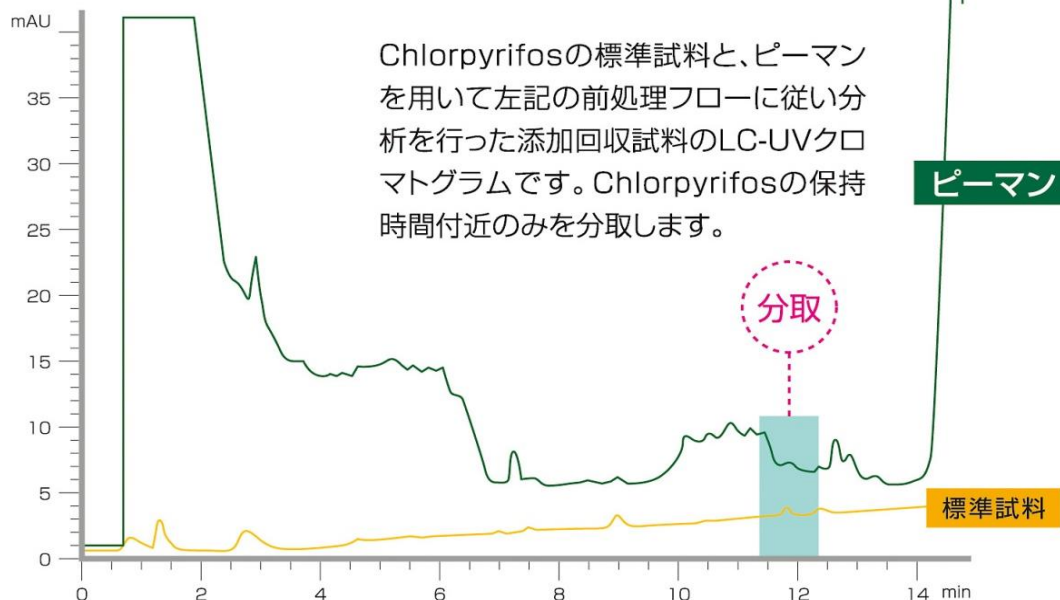
- 夾雑物の中から目的物質のみをピンポイントで分取。



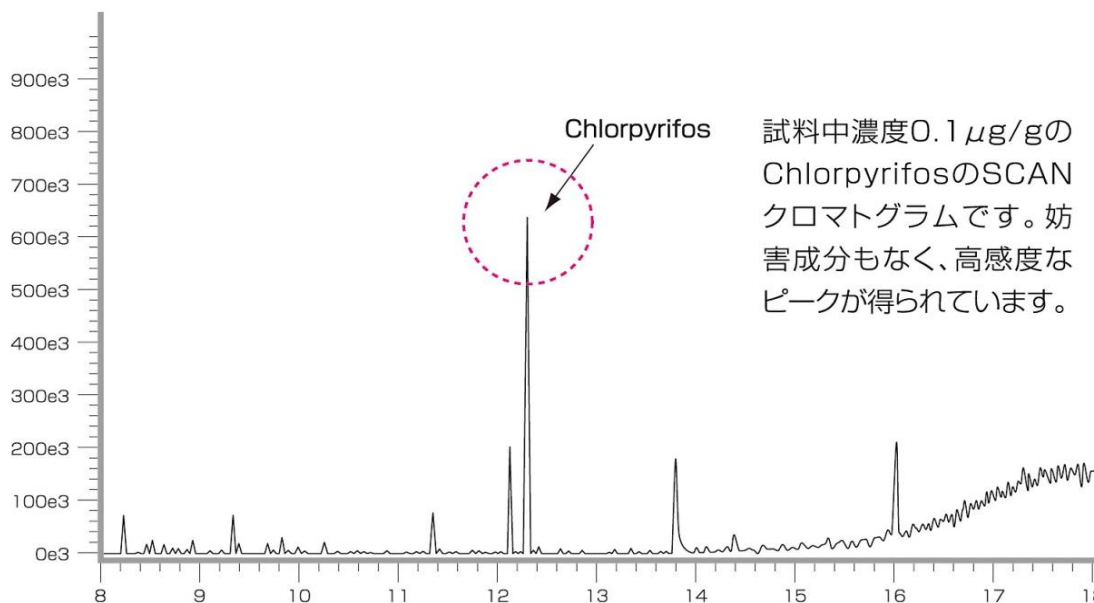
## ◆ クリーンアップ効果が高い！

- 前処理に時間を要する単品分析
- 複雑なマトリックス中の単品分析

□LC-UV クロマトグラム (ピーマン)



□LC-GC/MS クロマトグラム (ピーマン)



# 実試料による再現性

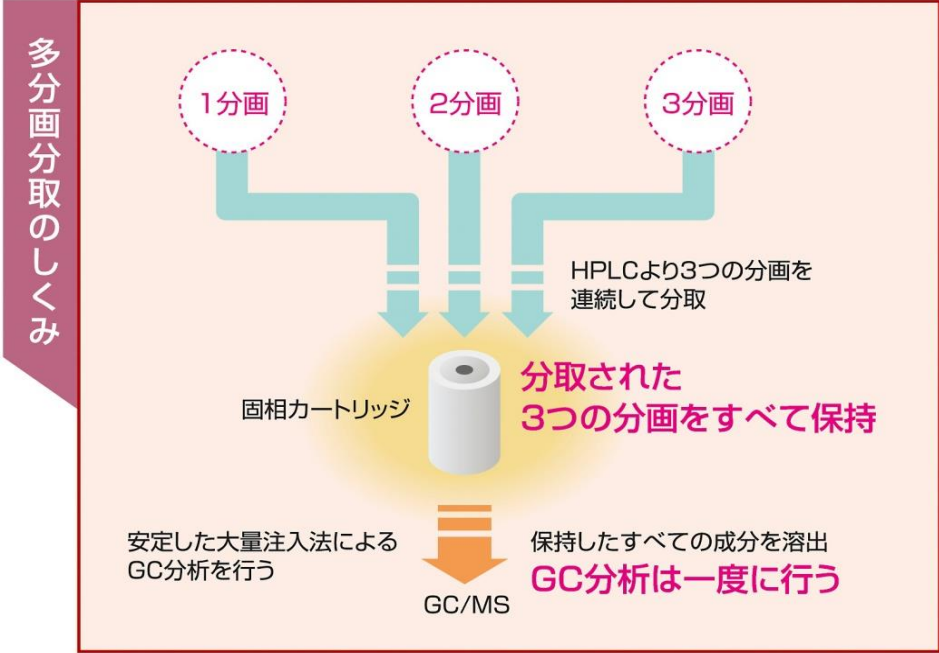
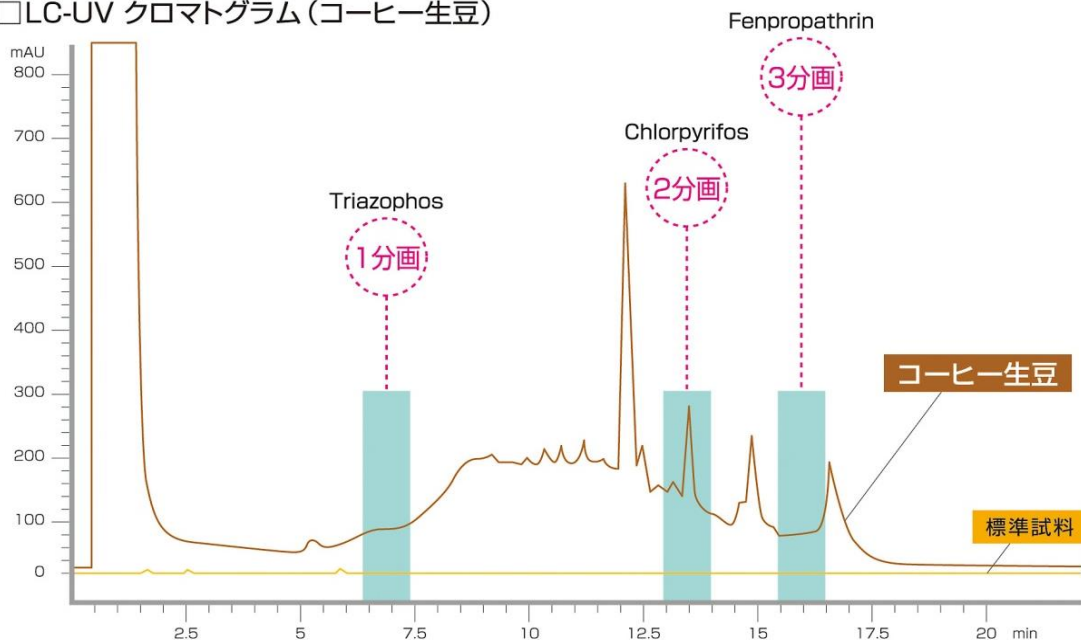
表. 添加回収試験 (試料中50 ppb)繰り返し分析の再現性 (n=6)

農作物	No.1 (ppb)	No.2 (ppb)	No.3 (ppb)	No.4 (ppb)	No.5 (ppb)	No.6 (ppb)	<i>Ave.</i> (ppb)	<i>REC</i> (%)	R.S.D. (%)
ミズナ	53.3	52.7	56.5	56.6	50.8	51.0	<i>53.5</i>	<i>107.0</i>	<b>4.82</b>
イチゴ	46.0	45.7	51.0	43.9	44.5	45.6	<i>46.1</i>	<i>92.2</i>	<b>5.46</b>

\* ホシヅナは抽出後にFosthiazateを試料中0.05ppmになるように添加

# □ 多分画分取

□ LC-UV クロマトグラム (コーヒー生豆)



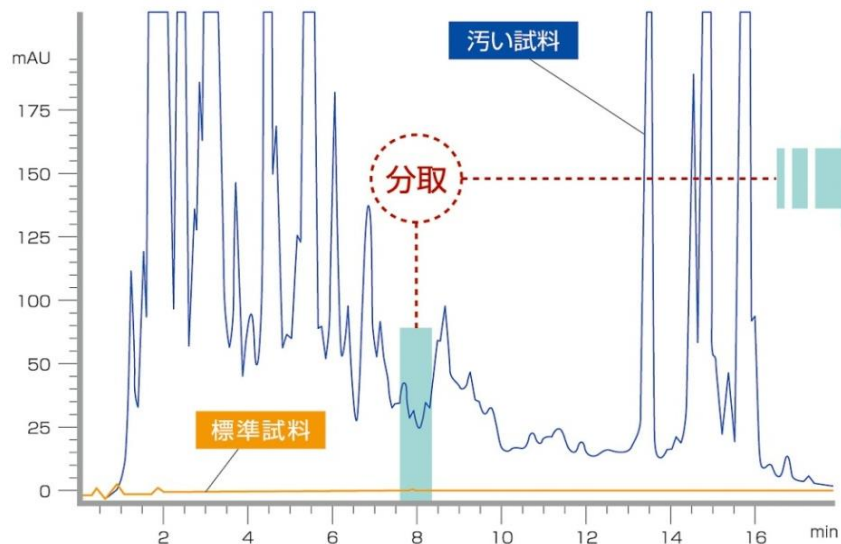
□ LC-GC/MS 再現性

● 3成分分析における再現性試験: Standard 10ppb (n=10,面積値)

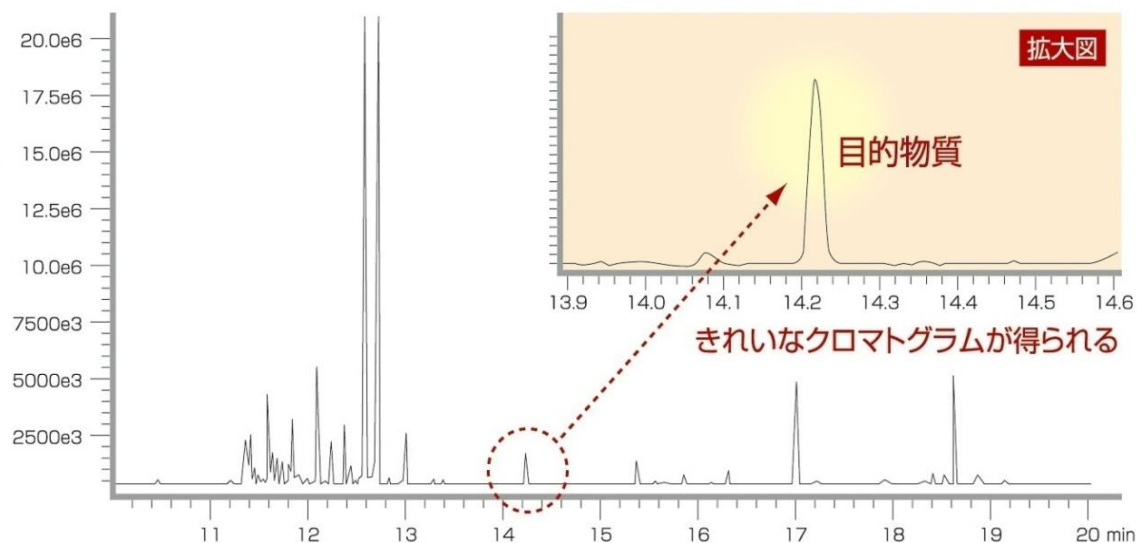
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均値	RSD (%)
Triazophos	398820	370422	384138	374211	405096	380765	353695	354973	392279	392547	380694	4.6
Chlorpyrifos	955029	932427	922668	946459	933931	909174	926909	922079	905470	916197	927034	1.7
Fenpropathrin	2284362	2216026	2101529	2277510	2222315	2012931	2282718	2214258	2021899	2300805	2193435	5.0
Phenanthrene-D10*	12514544	12421002	12368811	12609669	12552106	12223500	12571698	12430529	12378538	12127502	12419790	1.2

Standard 10ppbを10回連続分析したときの再現性を示します。n=10でのRSD (%)が5%以下と、良好な再現性を得ることができます。また、注入精度を確認するため溶出溶媒中に添加した内部標準物質 (Phenanthrene-D10\*) の再現性も良好であり、高い注入精度が確認できています。

□ LC-UV クロマトグラム



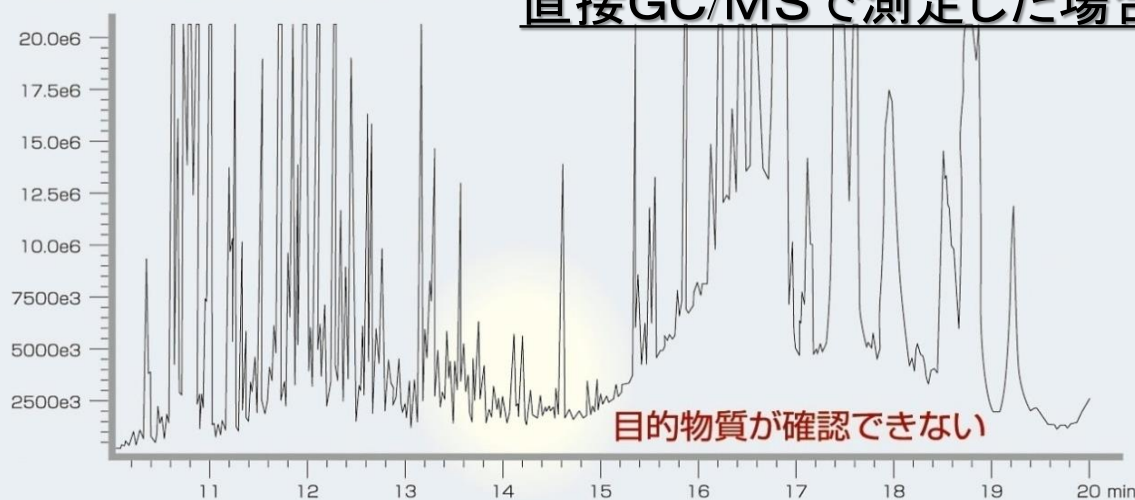
□ LC-GC/MS クロマトグラム



## LC/GC/MSで測定した場合

## 比較分析例

□ GC/MS クロマトグラム



## 直接GC/MSで測定した場合



# 加工食品中マラチオン分析への応用

## ■抽出操作

試料 5g + 水 8mL

※添加水量は試料含水量によって調節する。

— アセトン 10mL

ホモジナイズ

— NaCl (食塩) 1g

クエン酸3Na2水和物 1g

クエン酸水素2Na1.5水和物 0.5g

MgSO<sub>4</sub> (無水硫酸マグネシウム) 4g

— 攪拌 (手で振とう 1分間)

— 遠心分離 (3500rpm 5分間)

— 冷凍 : 60分

— アセトン層



クリームコロケ



からあげ



ピザ

## ■精製操作

分取 抽出液 0.5 mL (試料0.25g相当)

— 添加 水 0.1mL

**C18-50 mg : 精製**

— 洗液 アセトリル-水(4/1) 0.35mL

定容 (1 mL, アセトリル-水で調製)

**HPLC-GC/MS** (注入量100 uL : 試料25mg相当)



# LC-GC/MS条件

HPLC (MIDAS;Spark, Agilent 1100)

**Injection: 100  $\mu$ L, Sample loop**

Column: 4.6 mm i.d.  $\times$ 150 mm  
Inertsil ODS-3

Solvents: A: Water

B: Acetonitrile

Flow rate 0.5 mL/min

Detector: UV 235 nm

Interface Injector (LVI-S200; AiSTI Science)

**Insert: Spiral Type Insert**

Solvent Vent: 0.5min, Purge flow 150mL/min

Splitless: 4 min

Inj. Temp.: 70°C(3min)-120°C/min-240°C/min  
-50°C/min-290°C(12min)

Interface SPE (LGI-S110; AiSTI Science)

**SPE: 2 mm i.d. $\times$ 10 mm C18**

Diluting: Water 1 mL/min

Purge: N<sub>2</sub> gas, 1 min

**Elution: Acetone/Hexane(1/3), 50mL**

GC/MS (Agilent 7890A / Agilent 5975C )

Column: ENV-5MS

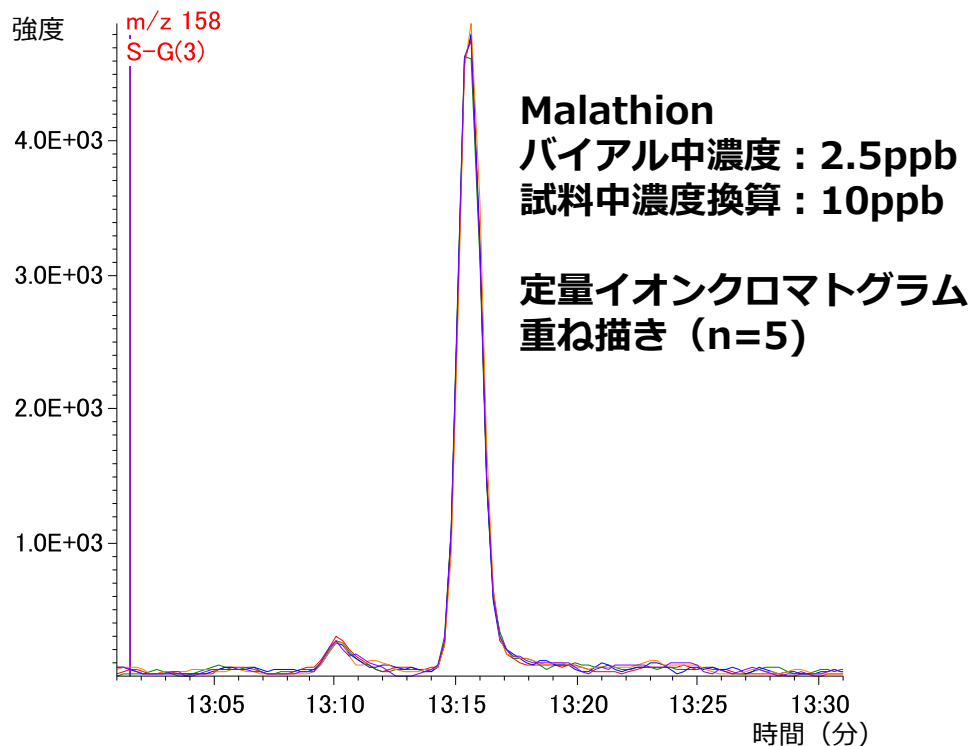
0.25 mm i.d. $\times$ 30 m, 0.25  $\mu$ m

Oven: 60°C(4min)-20°C/min-300°C(4min)

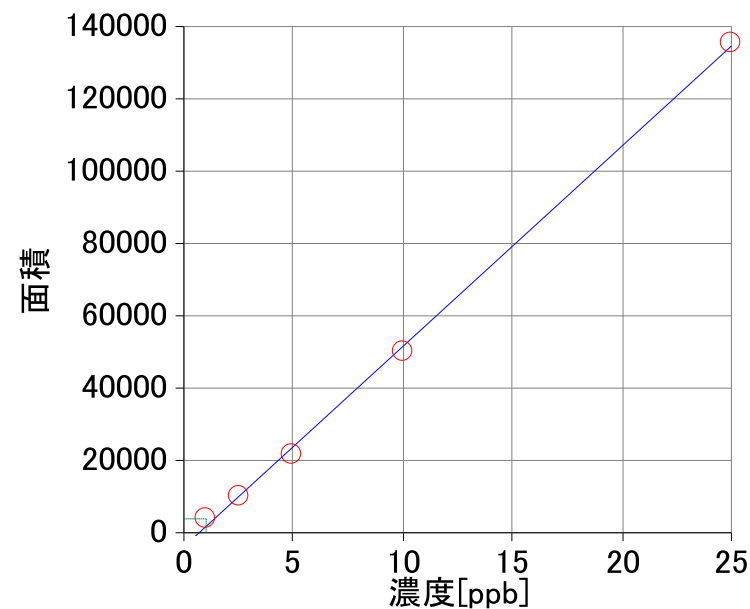
Carr. gas: He, 1 mL/min

MS: SCAN;100-300 m/z

# 再現性および検量線



検量線:直線  
面積(比率)=5551.63536\*Q-4111.82213  
相関係数=0.9994790



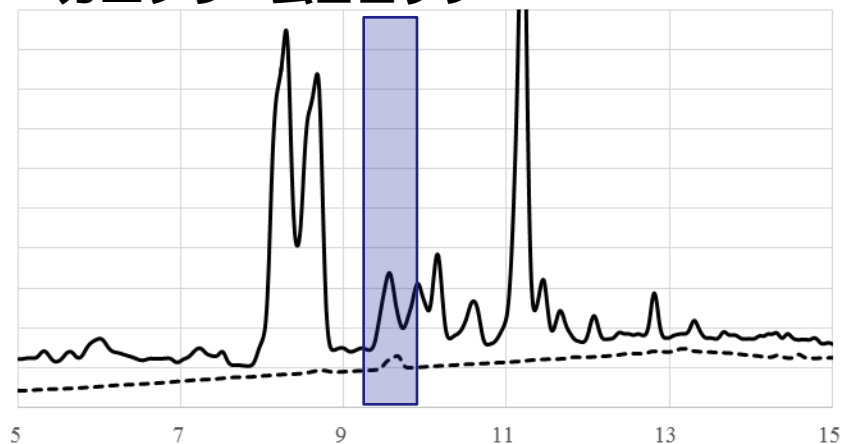
検量線 (5点)

## HPLC-GC/MSによる繰り返し測定 (再現性)

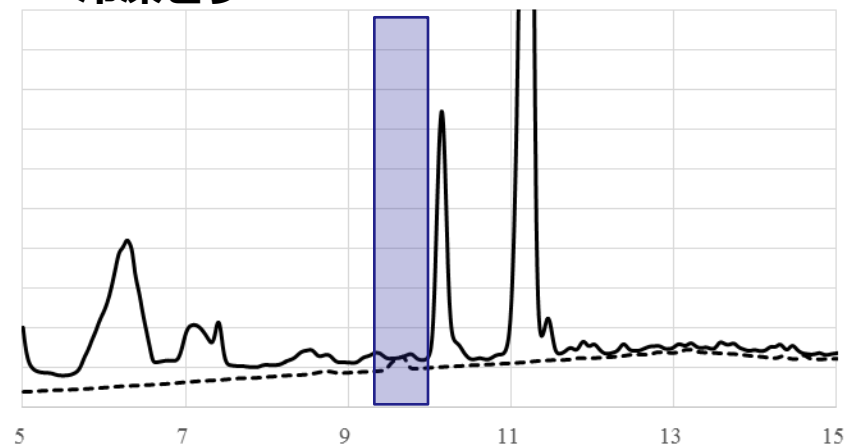
No.	1	2	3	4	5	Ave.	RSD(%)
ピーク面積値	10582	10707	10615	10800	10778	10696	<b>0.90</b>

# HPLCによるクリーンアップ効果

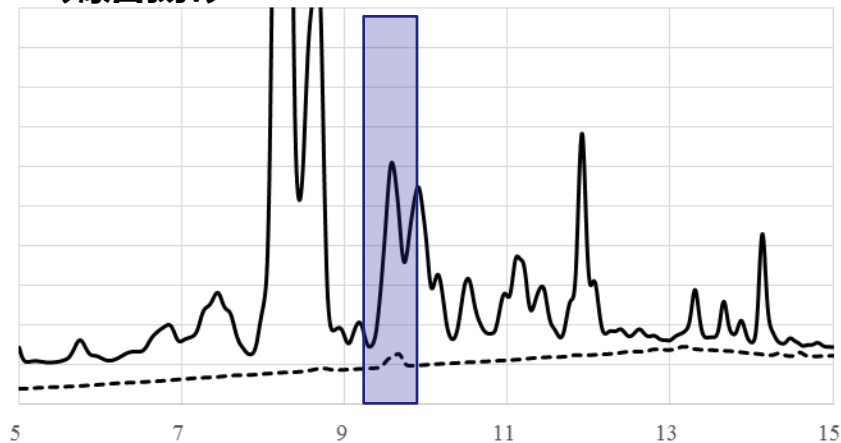
■ カニクリームコロッケ



■ 冷凍ピザ



■ 鶏唐揚げ

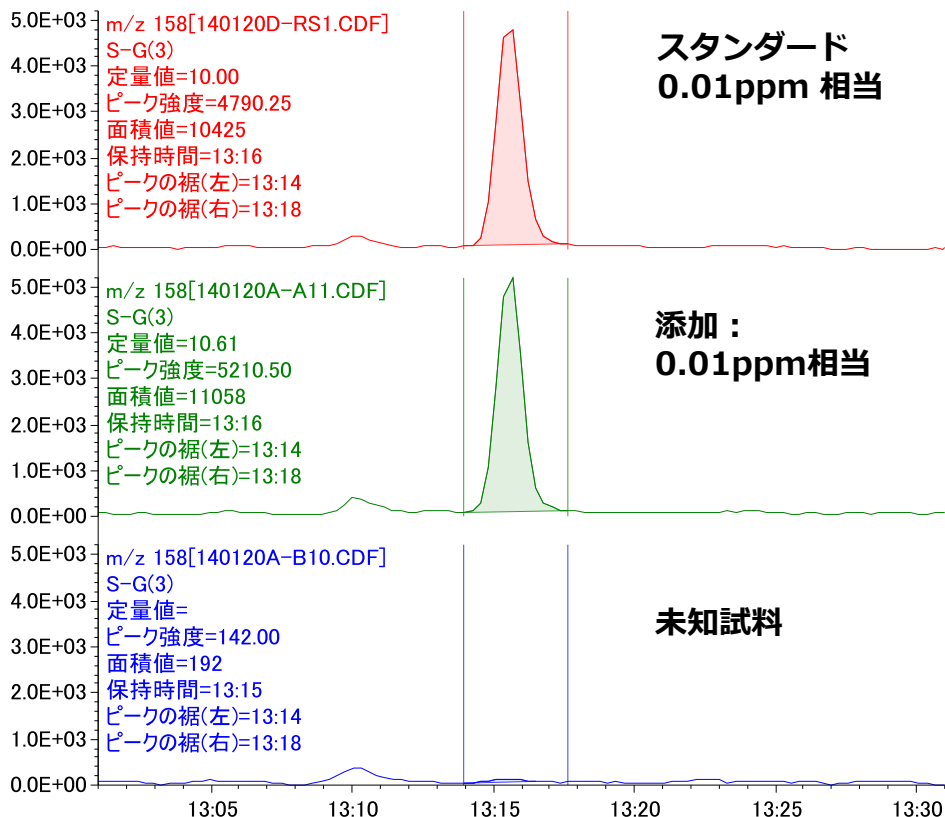


実線：試料測定 of UVクロマトグラム  
 点線：スタンダード測定 of UVクロマトグラム

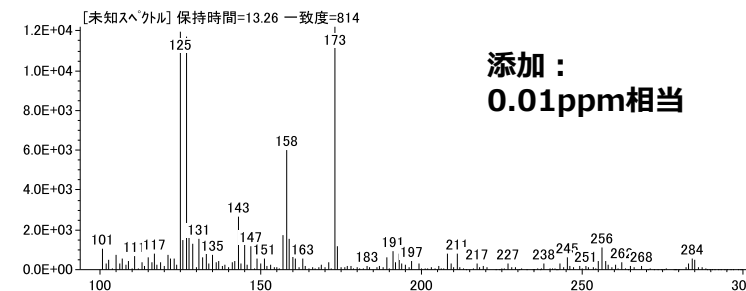
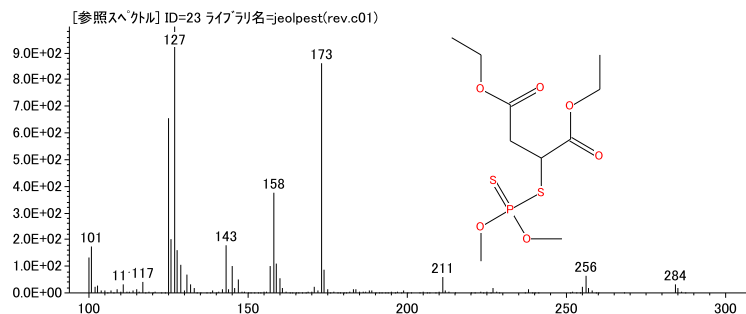
測定波長：UV 235nm

分画部分：9.3 -10.0 min

# カニクリームコロッケ（冷凍品）



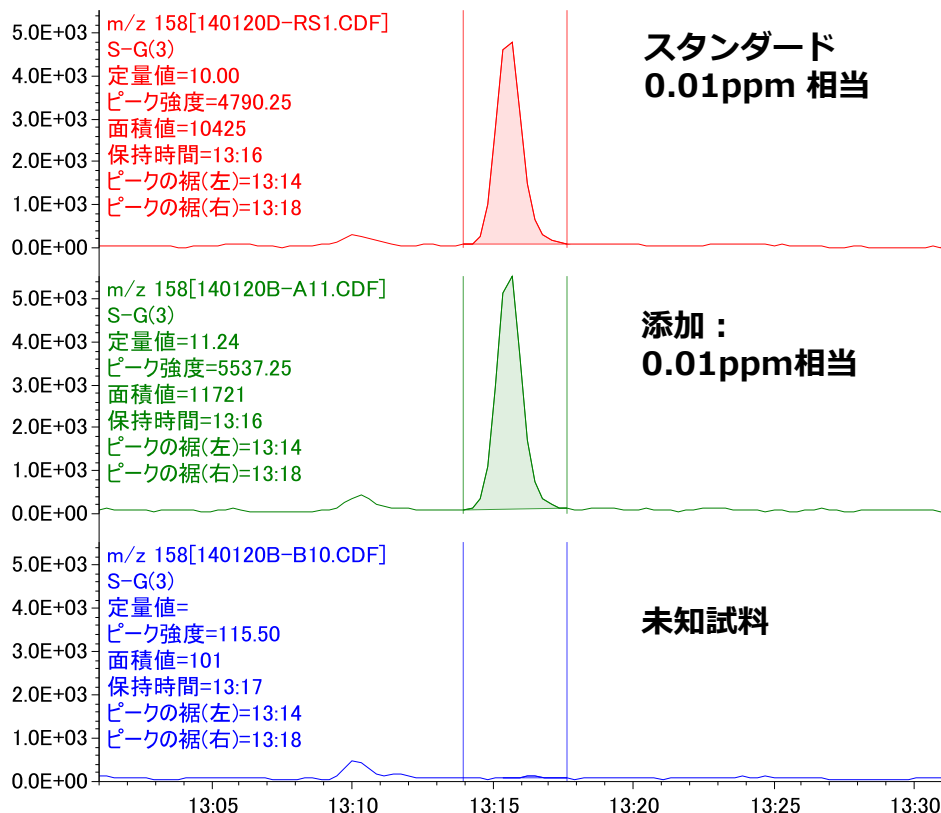
定量イオンクロマトグラム比較



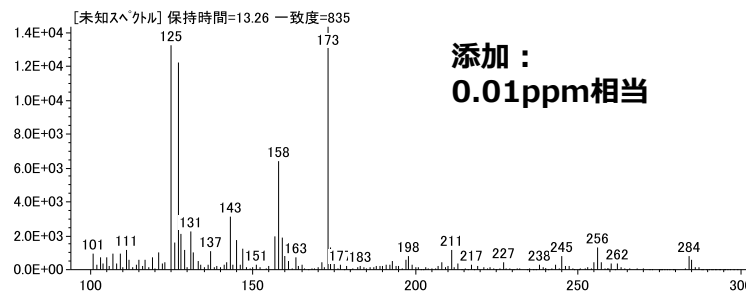
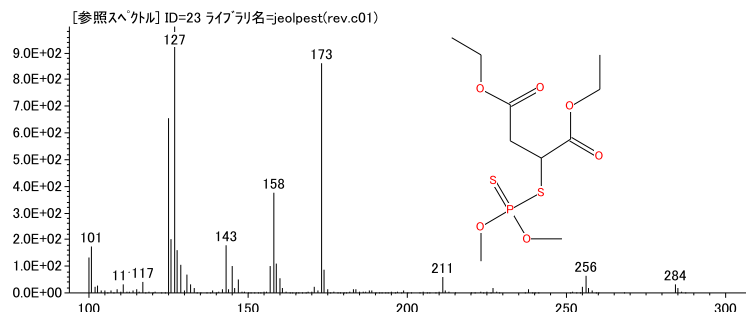
ライブラリと定量ピークのスペクトル比較

**添加回収試験**  
回収率：106%

# 鶏唐揚げ（冷凍品）



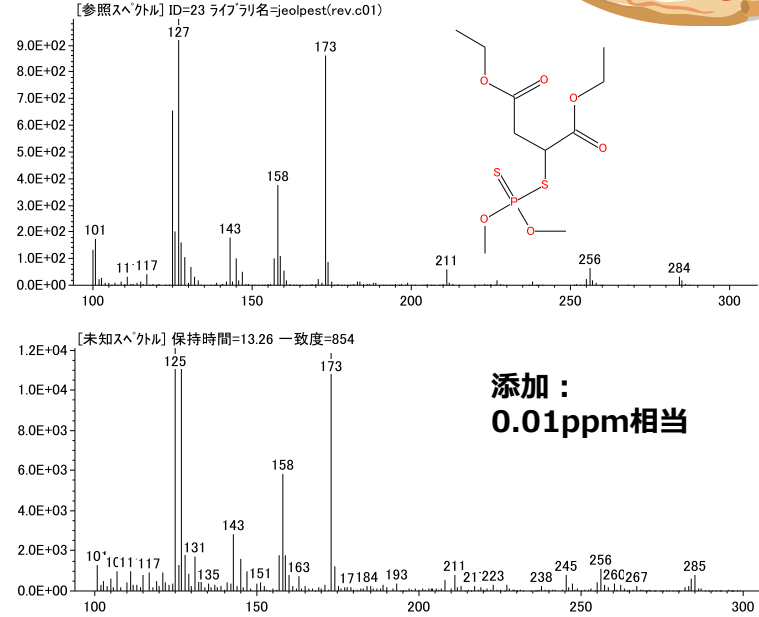
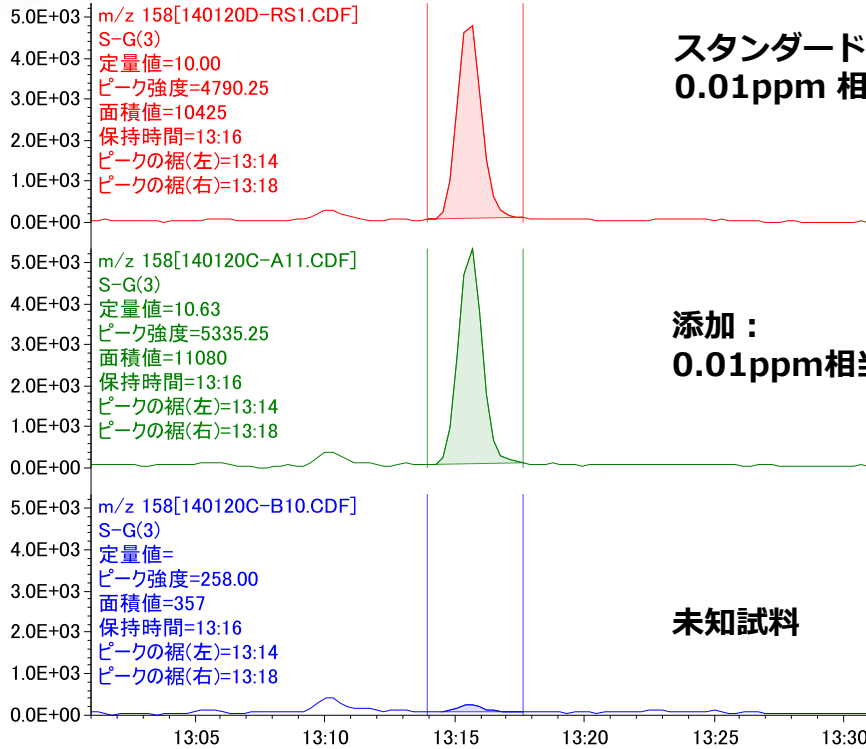
定量イオンクロマトグラム比較



ライブラリと定量ピークのスペクトル比較

**添加回収試験**  
回収率：112%

# 冷凍ピザ



**添加回収試験 回収率 : 106%**

- ◇ 全量注入による高感度分析が可能に !
- ◇ SCAN分析が可能になるため、定性分析も同時に !
- ◇ 個別分析の完全自動化により、検出時の確認分析にも有効 !

## □まとめ

- ◆ LC-GCのインターフェースに固相抽出法（SPE）を取り入れることで、逆相HPLCからの分取液を、GCへ注入可能な少量の溶媒へ転溶することが可能
- ◆ 逆相HPLCを前処理に用いることで、汚い試料でも非常に優れたクリーンアップ効果を発揮
- ◆ HPLCの前に固相でクリーンアップすることでLCの負担を軽減することが可能
- ◆ 前処理の自動化・簡易化・省略化が図れ、迅速な分析法として有効
- ◆ メインでないGC-MSの有効活用
- ◆ 個別分析を自動化するために最適なシステム

