



オンラインLC-GCシステムを用いた 食品分析への応用

株式会社アイスティサイエンス 技術営業部 谷澤春奈

Development work  LGI-S100
For LC-GC Interface

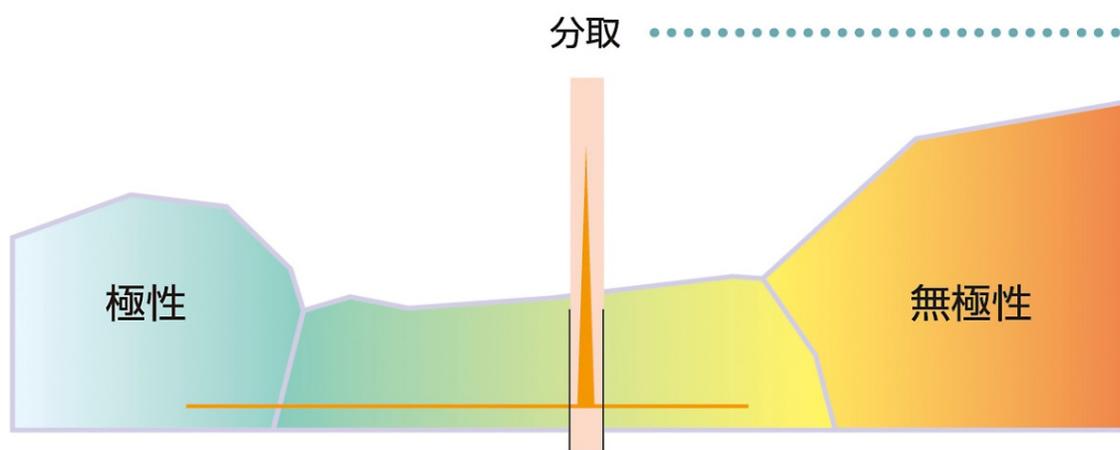
確証への架け橋。

LC GC

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

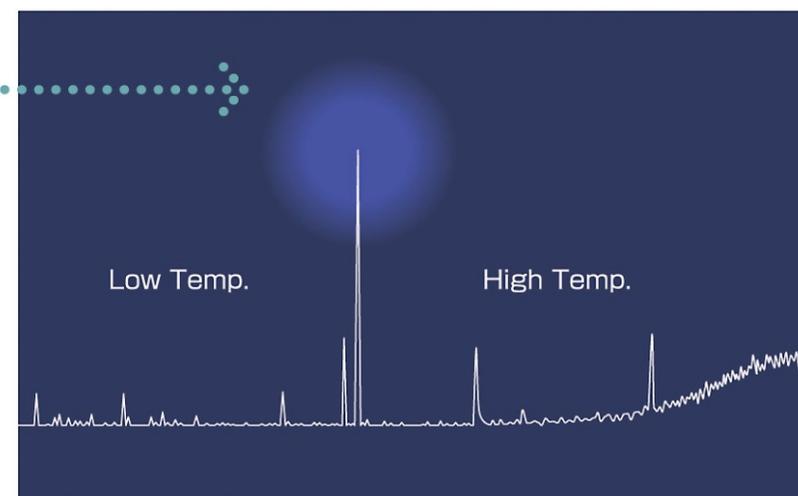
□ 逆相HPLC (前処理装置)



溶解度、極性、Log Pow

逆相HPLCによるクリーンアップ効果

□ GC (測定装置)



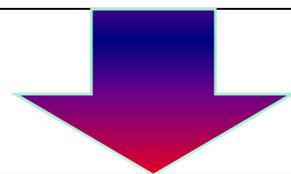
温度、沸点

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が苦手とする水やメタノールなど極性の溶媒が大量に含まれている



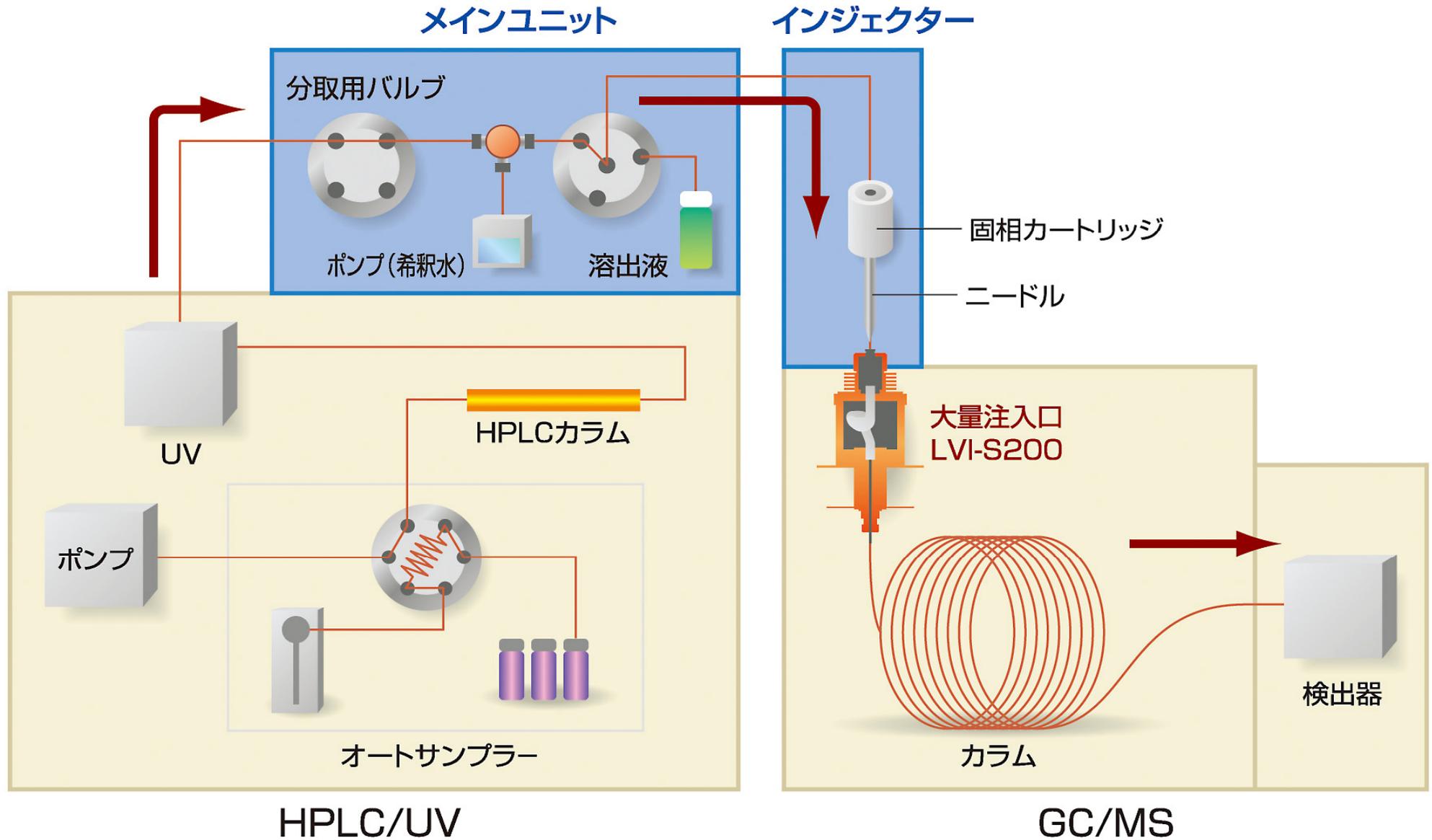
◎解決策は、

従来の問題点を克服した

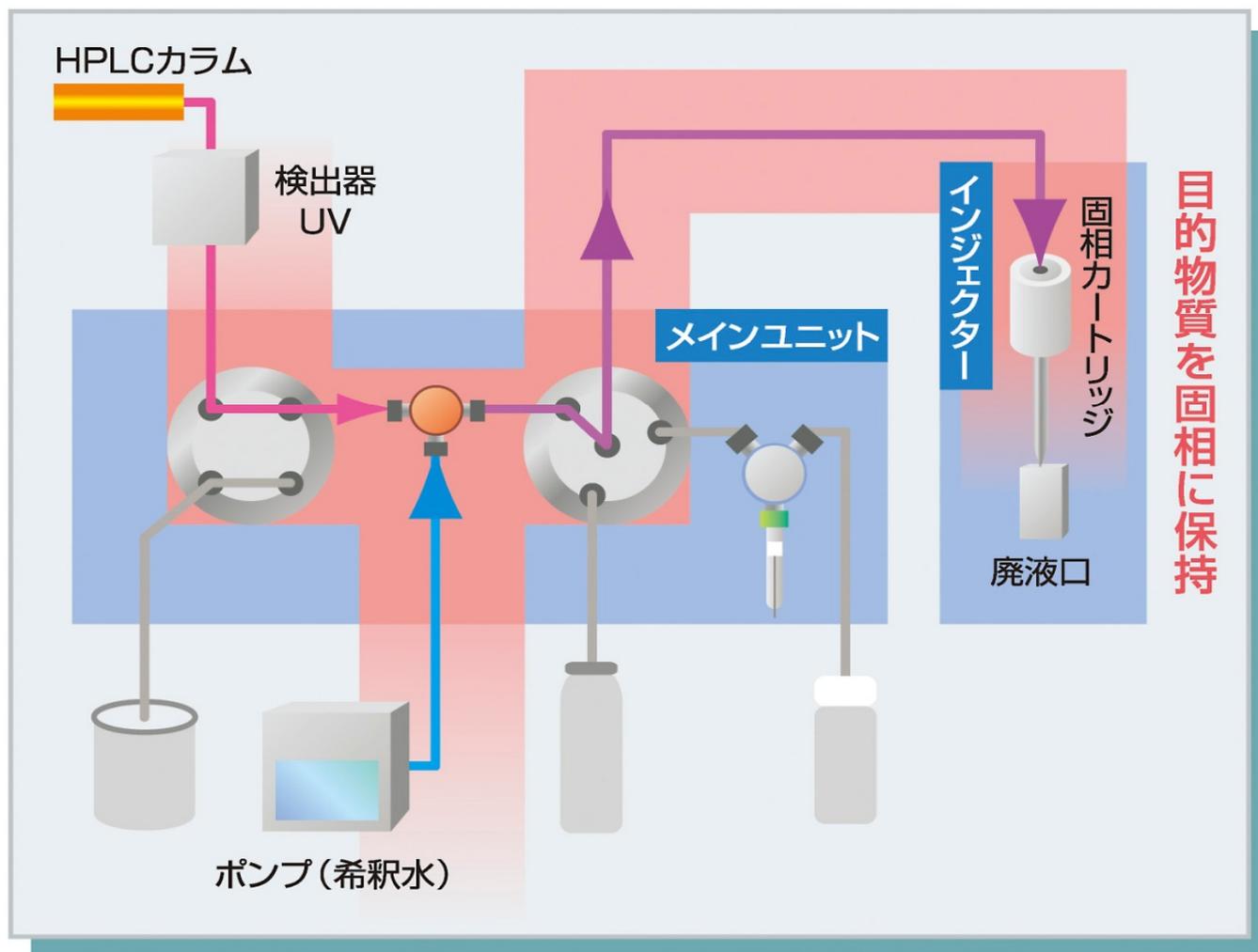
『固相抽出法(SPE)』と、『安定したGC大量注入法』

- 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

逆相HPLC-SPE-GCシステム(LGI-S100)の概要



①分取&濃縮

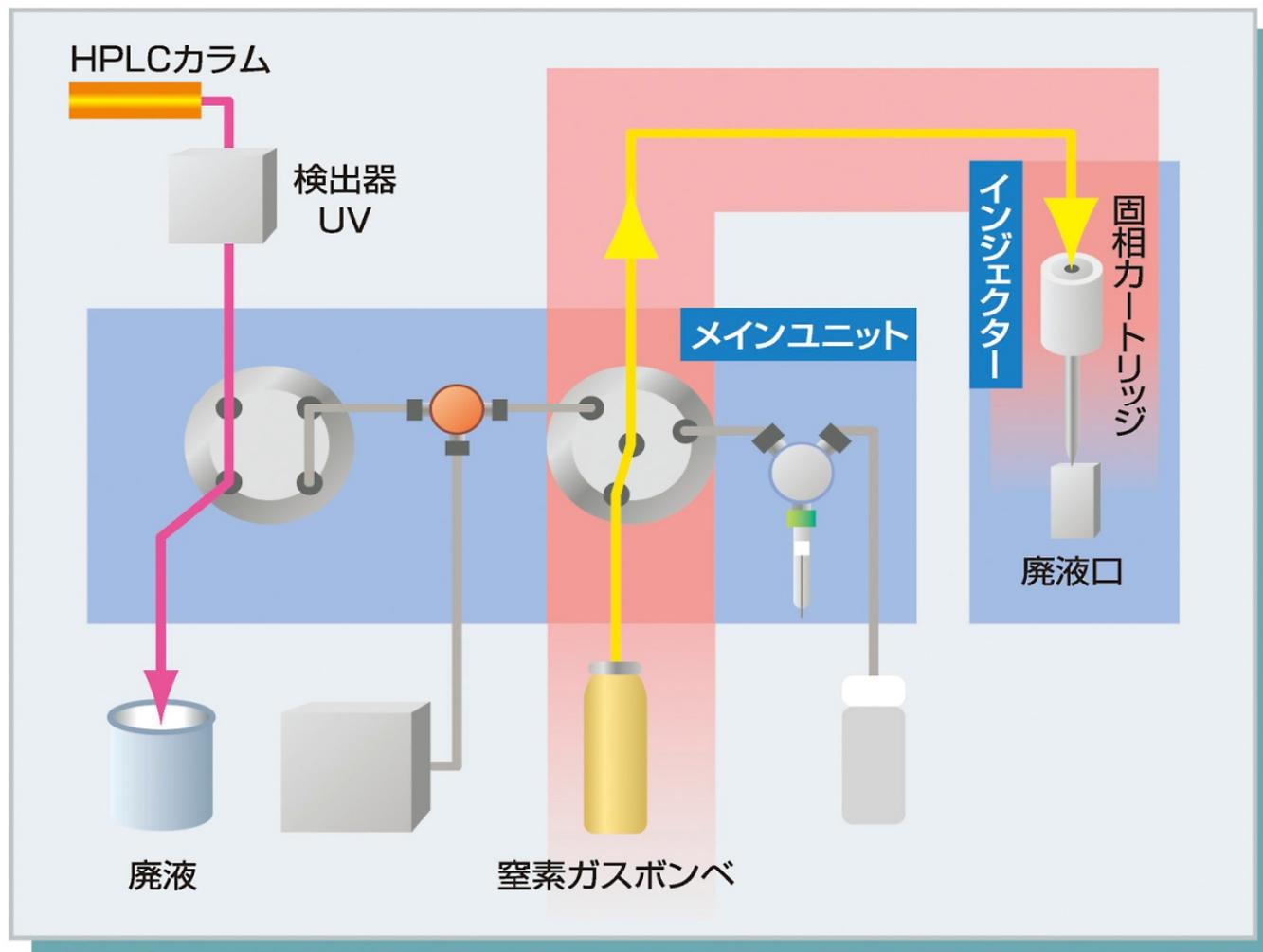


固相カートリッジ (ODS)



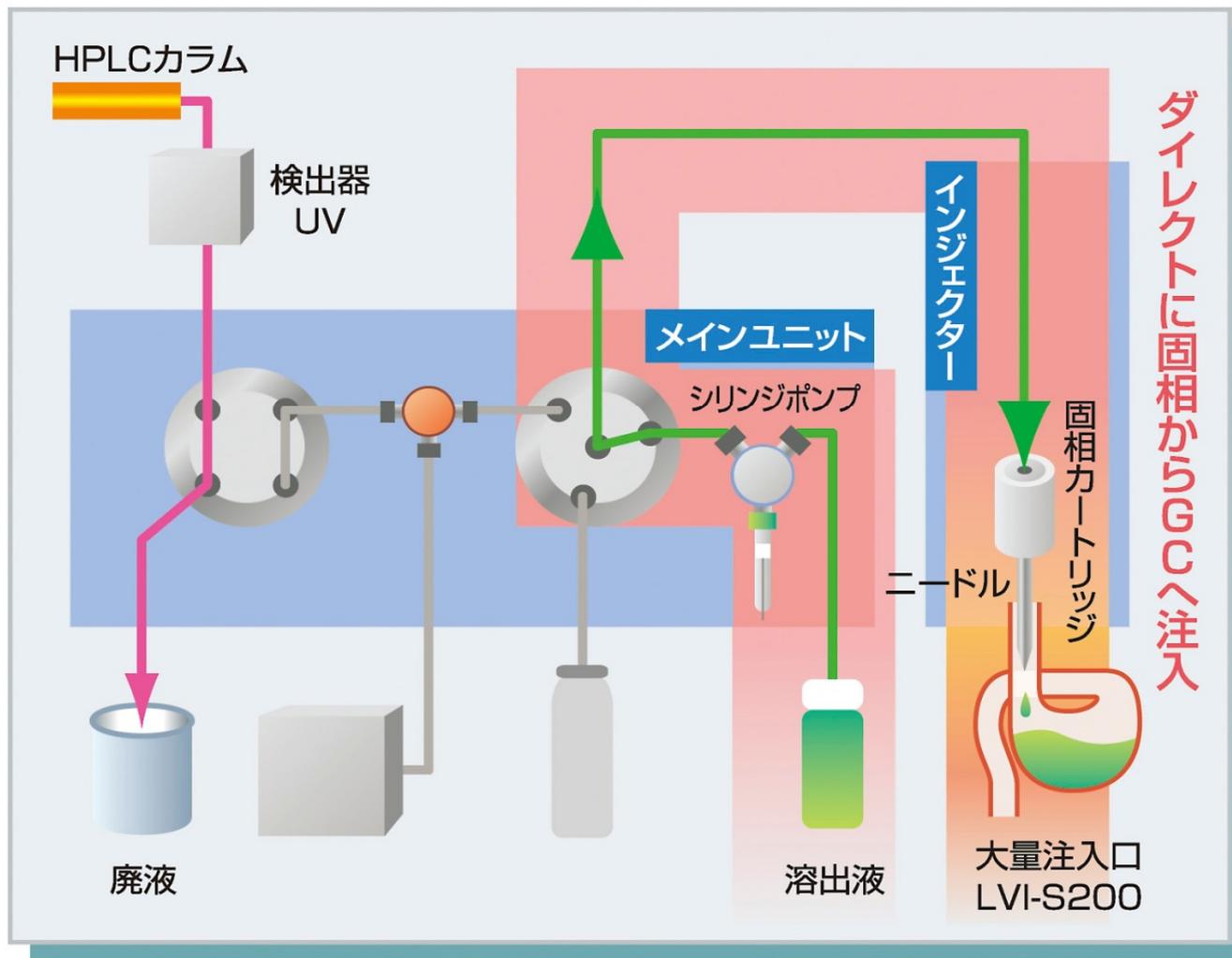
HPLCからの分取しながら水を加えて溶媒濃度を下げ、そのまま固相カートリッジに通し、目的物質を固相に保持させます。

②乾燥



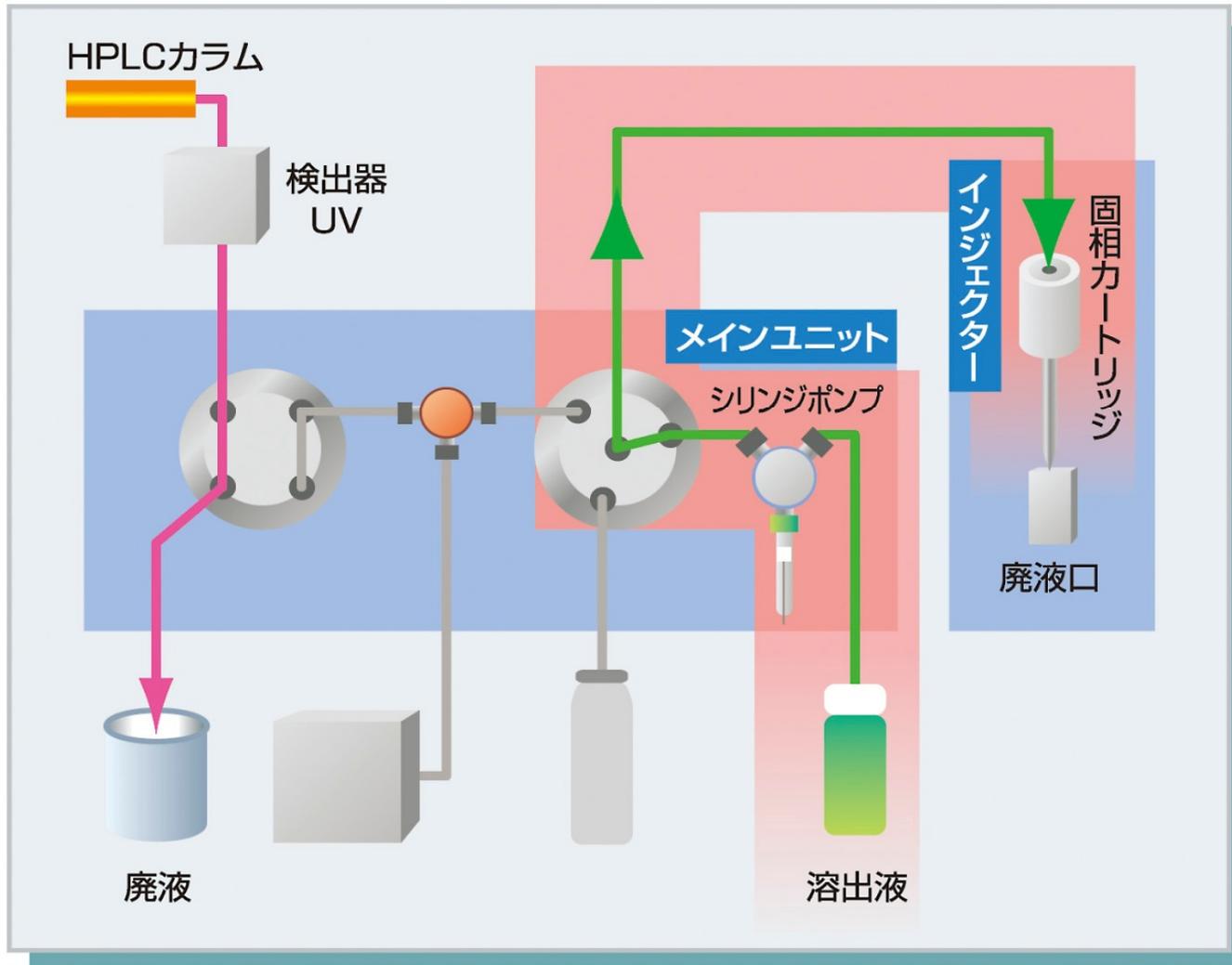
窒素ガスで、配管および固相中に残存しているHPLCの溶離液および水を除去します。

③ 溶出 & GCへ注入



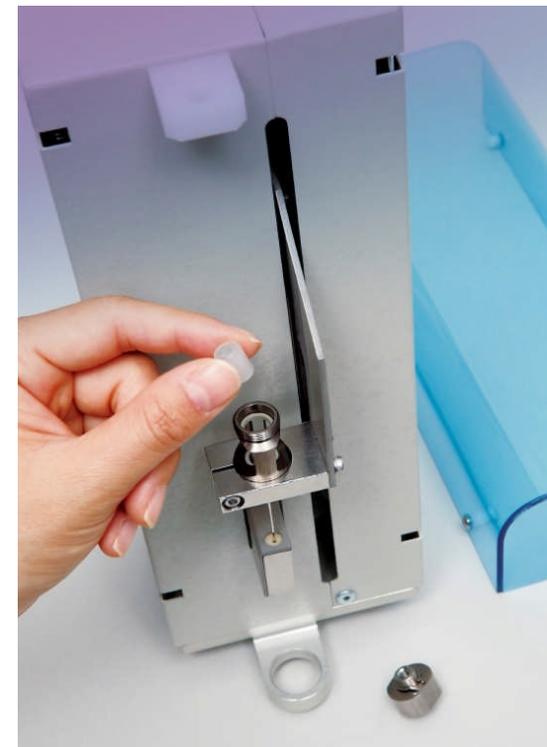
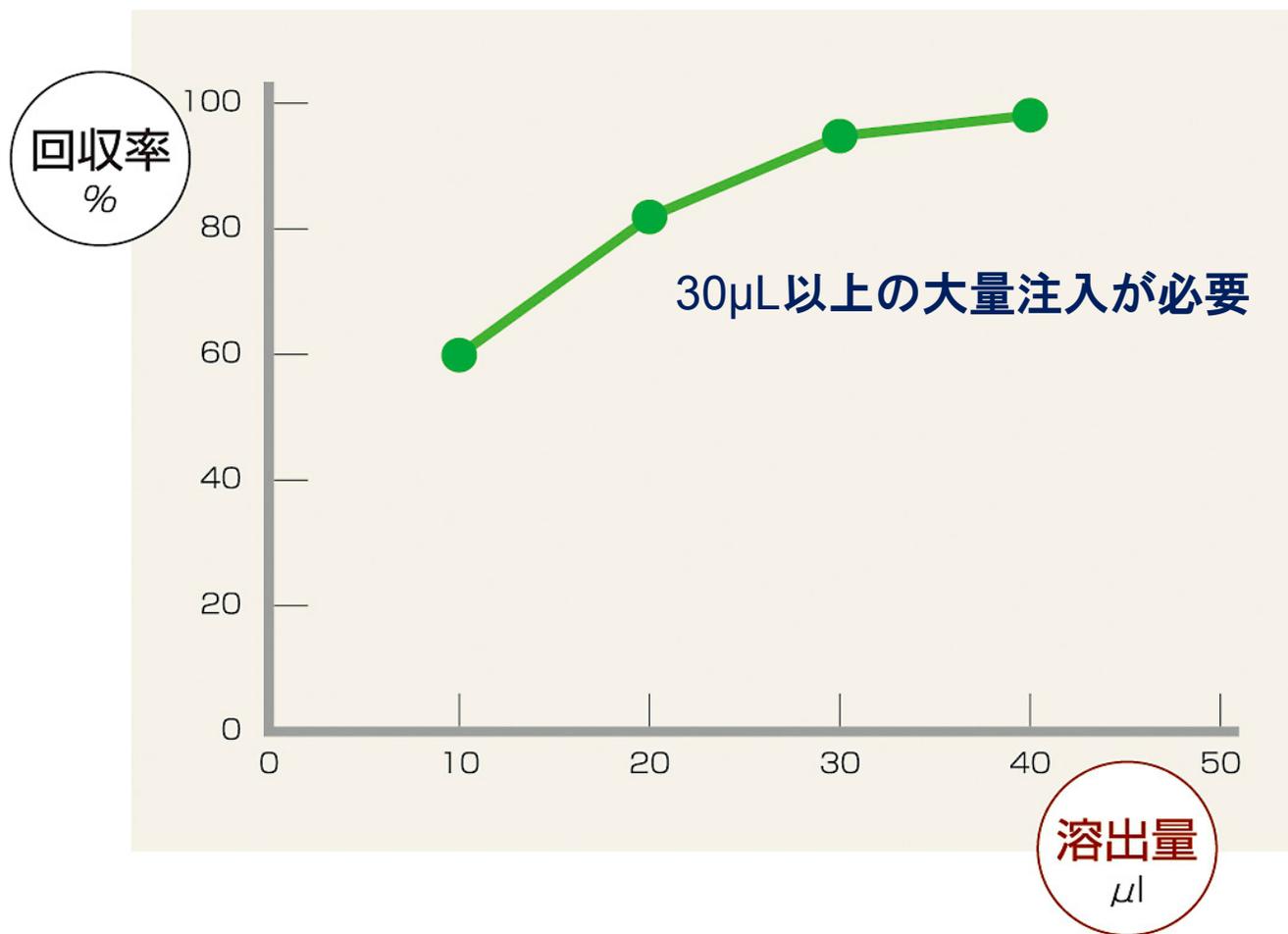
ニードルのついた固相カートリッジが自動的にGC注入口へ連結され、目的物質を固相から溶出しながら、GCへ直接注入します。

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。

固相カートリッジからの溶出量と回収率の関係



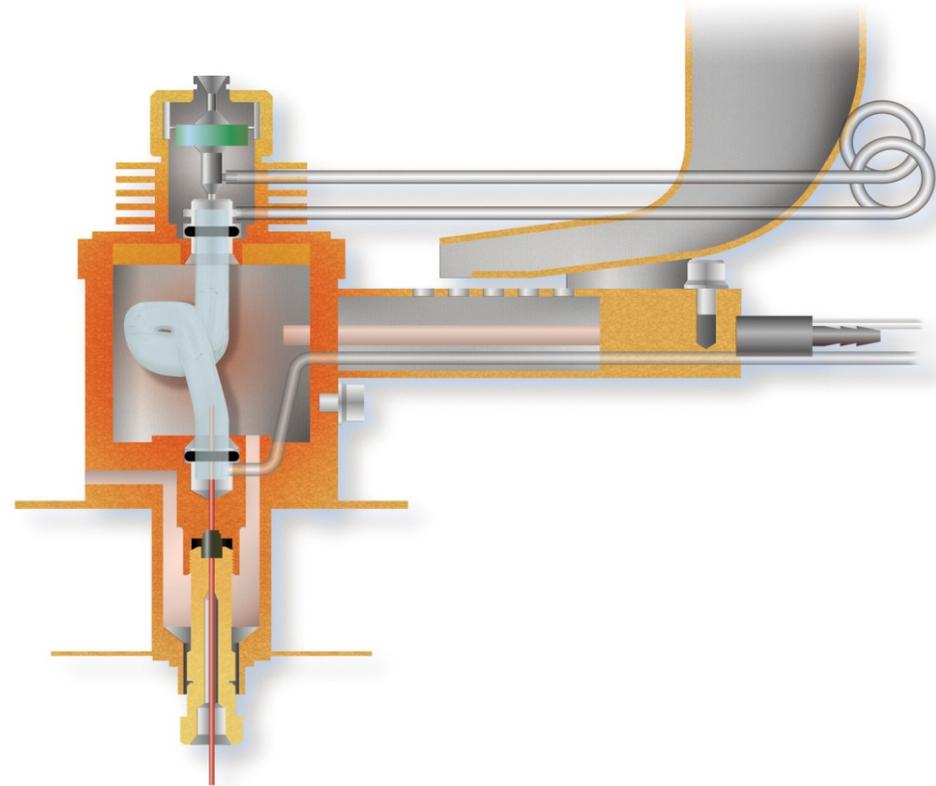
SPE: 2mm i.d. \times 10mm
ODS

GC用大量注入口装置 LVI-S200

胃袋型インサート

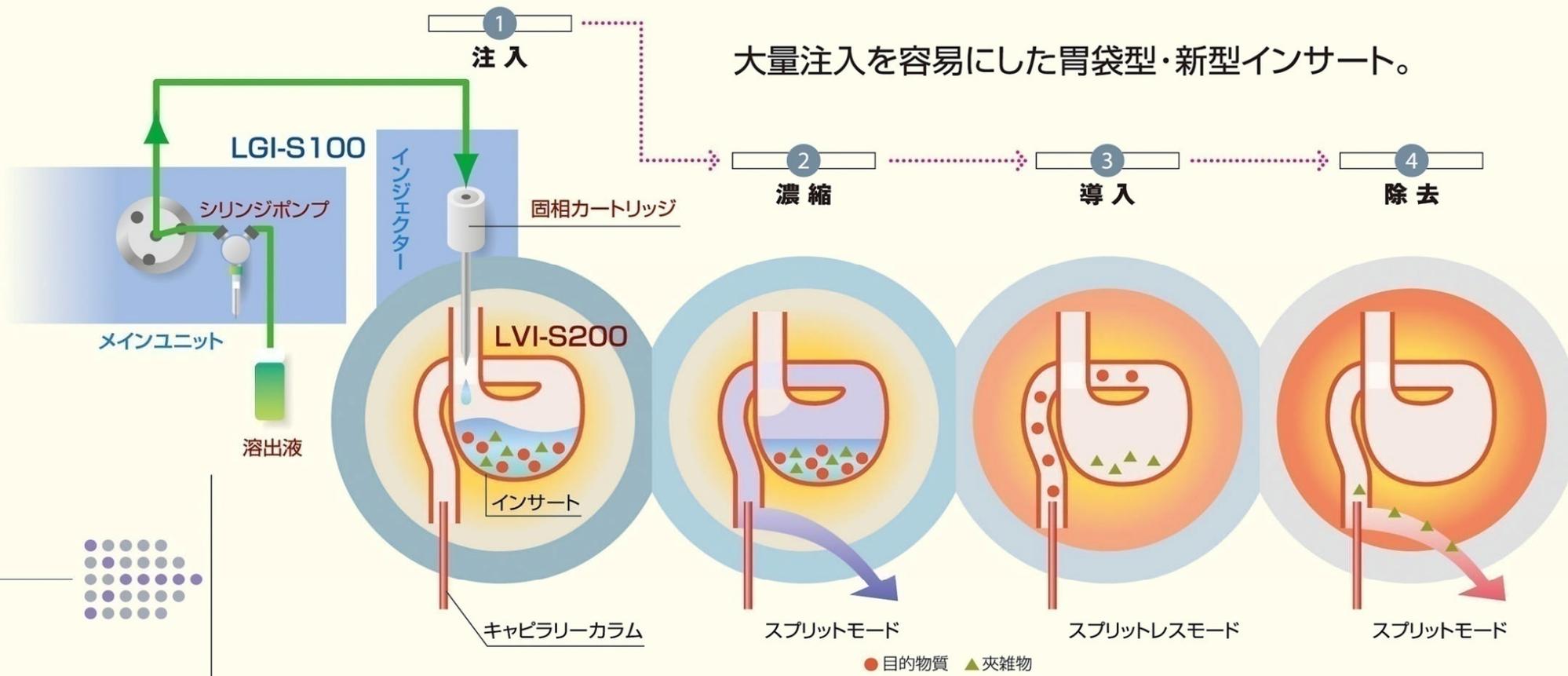


従来の
インサート



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。



LC-GC/MS測定条件

■ HPLC (MIDAS;Spark, Agilent 1100)

Injection: 100 μ L, Sample loop

Column: 3.0 mm i.d. \times 100 mm

Inertsil ODS-3

Solvents: A: Water

B: Acetonitrile

Flow rate 0.5 mL/min

Detector:UV 210 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

(0.5min)-50°C/min-270°C(15min)

■ Interface SPE(LGI-S100; AiSTI Science)

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

Diluting: Water 1 mL/min

Purge: N₂ gas, 1 min

Elution: Acetone/Hexane(1/3), 50 μ L

■ GC/MS (Jms-Q1000GC; JEOL)

Column: ENV-5MS

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

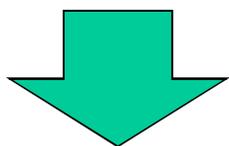
Oven: 60°C(4min)-15°C/min-300°C(3min)

Carr. gas: He, 1 mL/min

MS: SCAN;50-300 mz

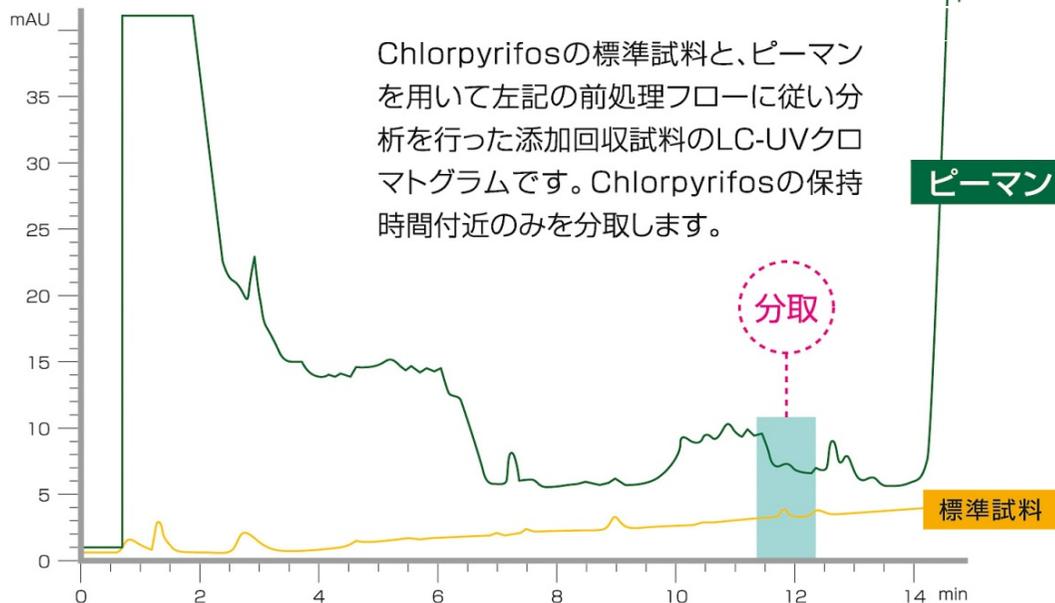
□ 1分画分取

- 夾雑物の中から目的物質のみをピンポイントで分取。

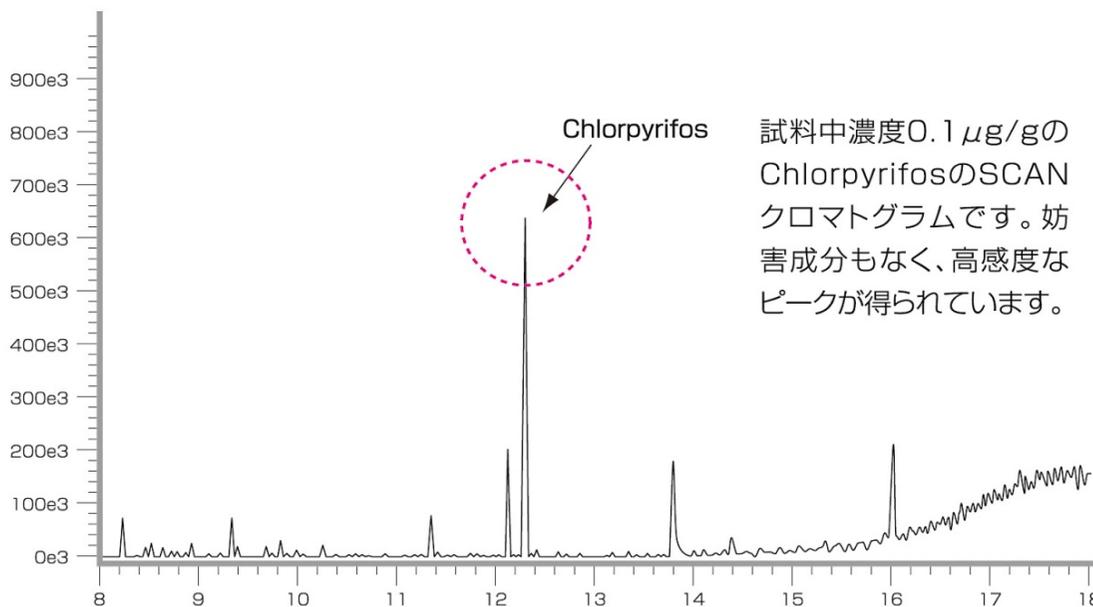


- ◆ クリーンアップ効果が高い！
- 前処理に時間を要する単品分析
- 複雑なマトリックス中の単品分析

□ LC-UV クロマトグラム (ピーマン)

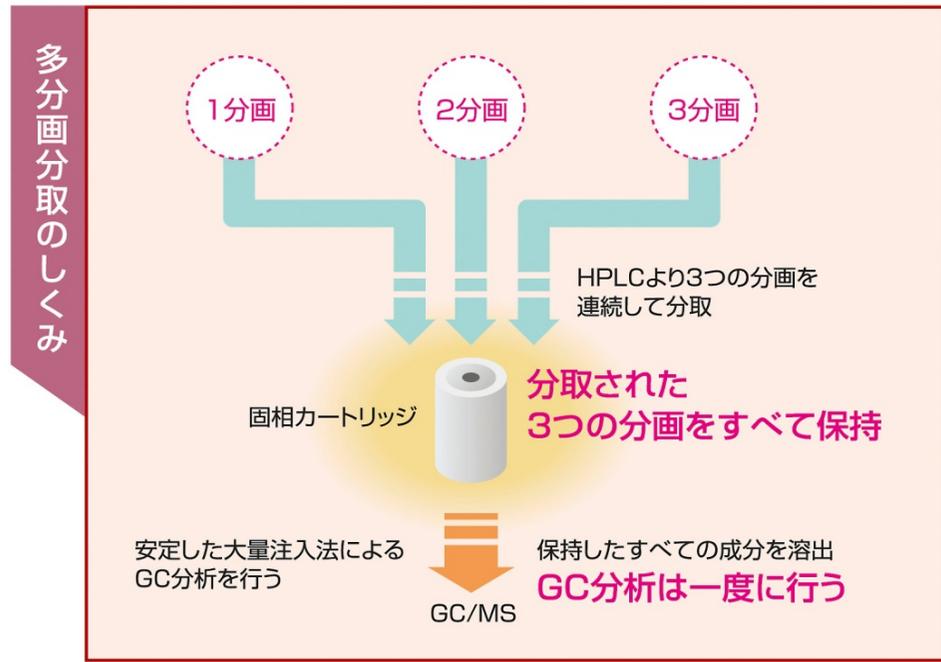
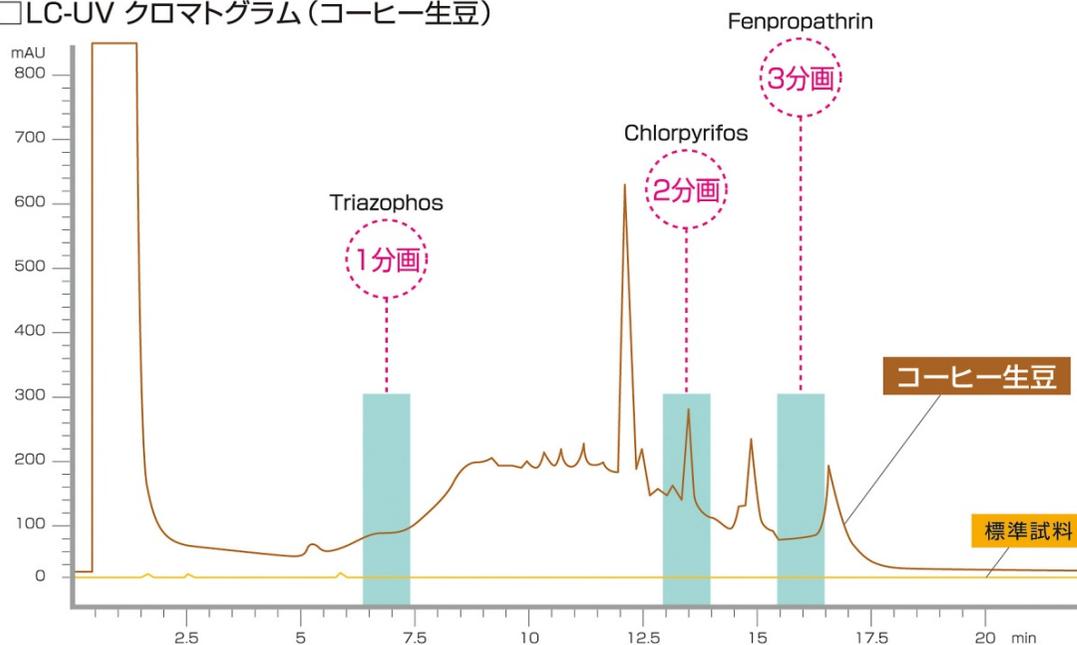


□ LC-GC/MS クロマトグラム (ピーマン)



□ 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。

クロルピリホス (Chlorpyrifos)

●物性

Mol. wt. 350.6

Chemical Formula C₉H₁₁Cl₃NO₃PS

Chemical Group 有機リン系農薬

Pesticide Type 殺虫剤

B.p. 198 °C/0.5 mmHg

V.p. 2.7 mPa (25 °C)

Log Pow = 4.7

Solubility In water 1.4 mg/l (20 °C).

●構造式



抽出フロー

◎前処理フロー 抽出

抽出操作
15分/検体

試料 10g
 — アセトニトリル 20mL
 ホモジナイズ
 吸引ろ過
 — 洗液 アセトニトリル 20mL
 ろ液を定容
 — 水で50mLに定容
 分取2mL(試料0.4g相当)
 ↓
固相 C18-30 mg:精製
 ↓
 — 80%アセトニトリル水 1mL
 流出液
 ↓
 定容 4mLに定容

→ LC-GC/MSシステムへセット



試験液はHPLCカラムの劣化を防ぐために、
試料の抽出液を予めC18ミニカラムに通し
たものを用いた。

HPLC-UVクロマトグラム

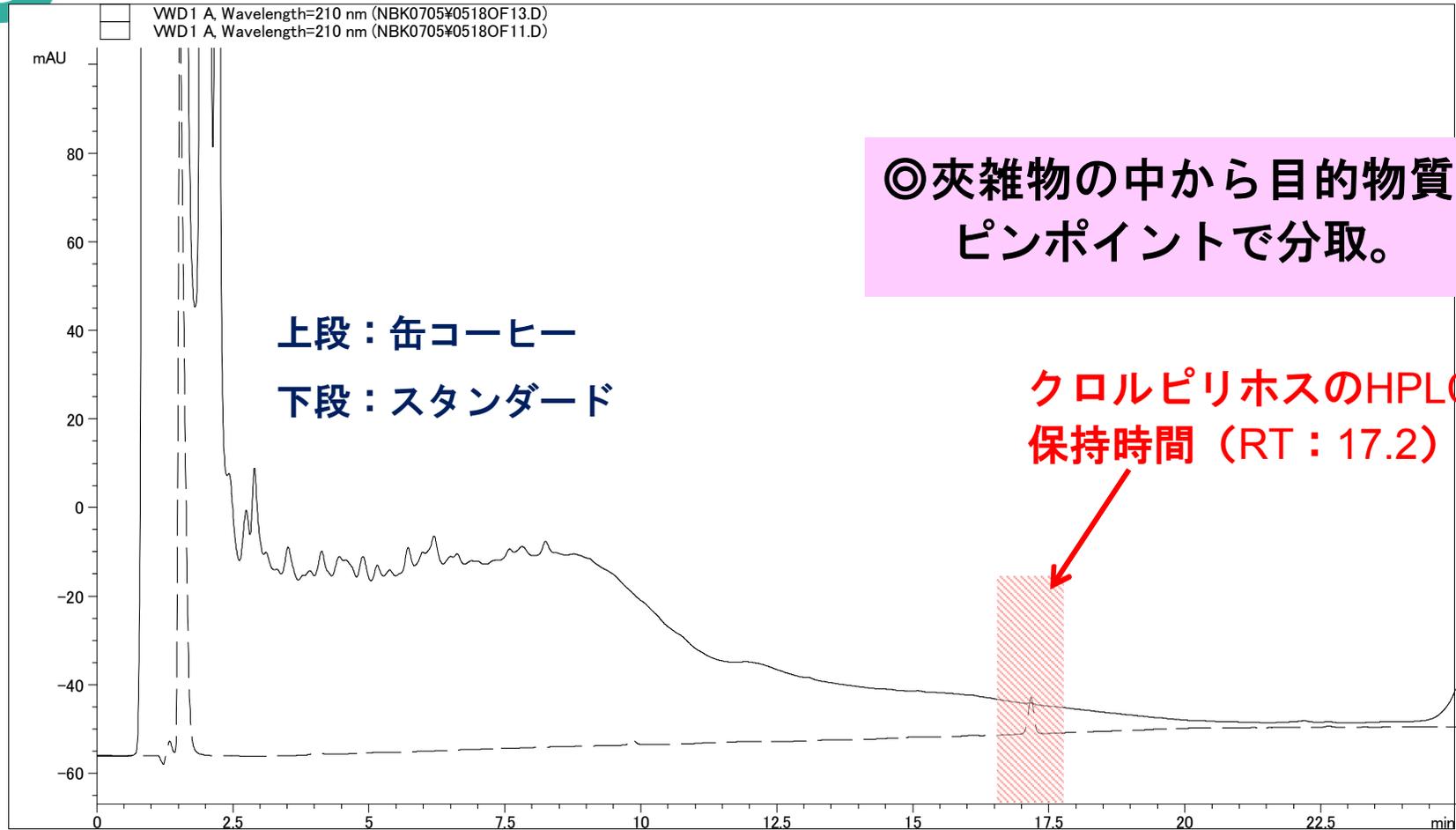


図. 缶コーヒーのHPLC-UVクロマトグラム(実線)と分取部分(斜線)

GC/MS定量イオンクロマトグラム

[クロマトグラム] 197 : 31179 - 0

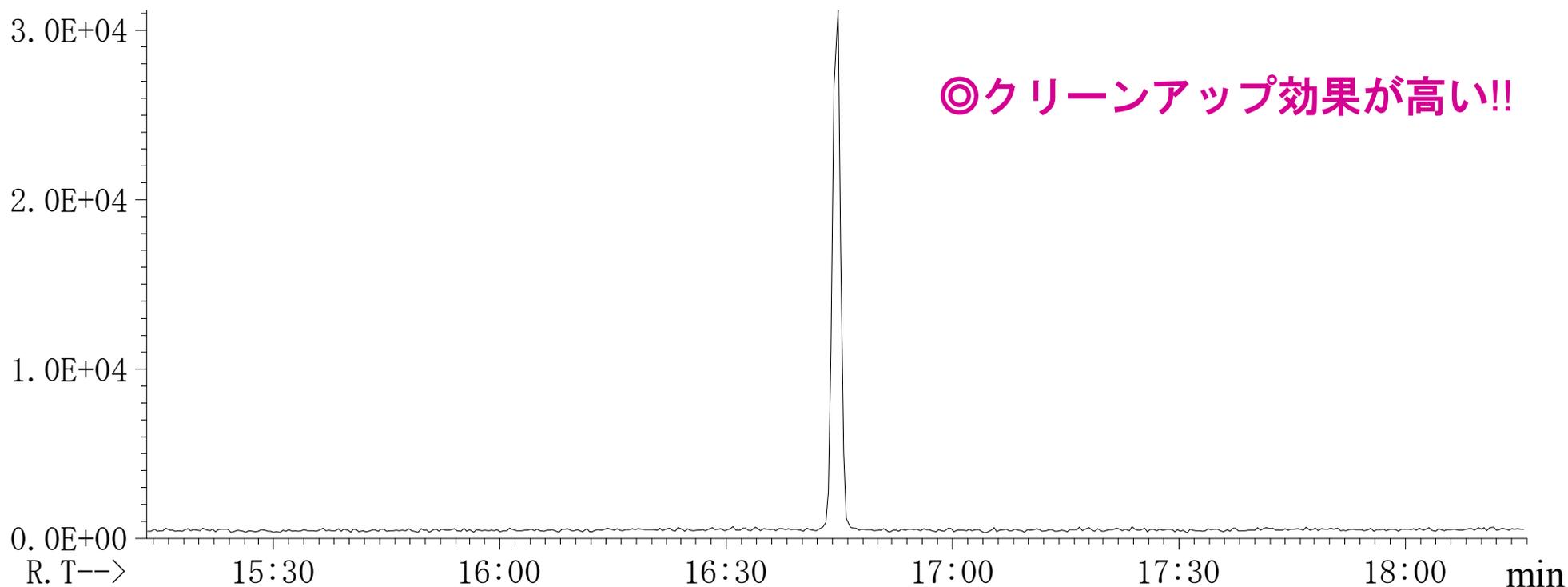
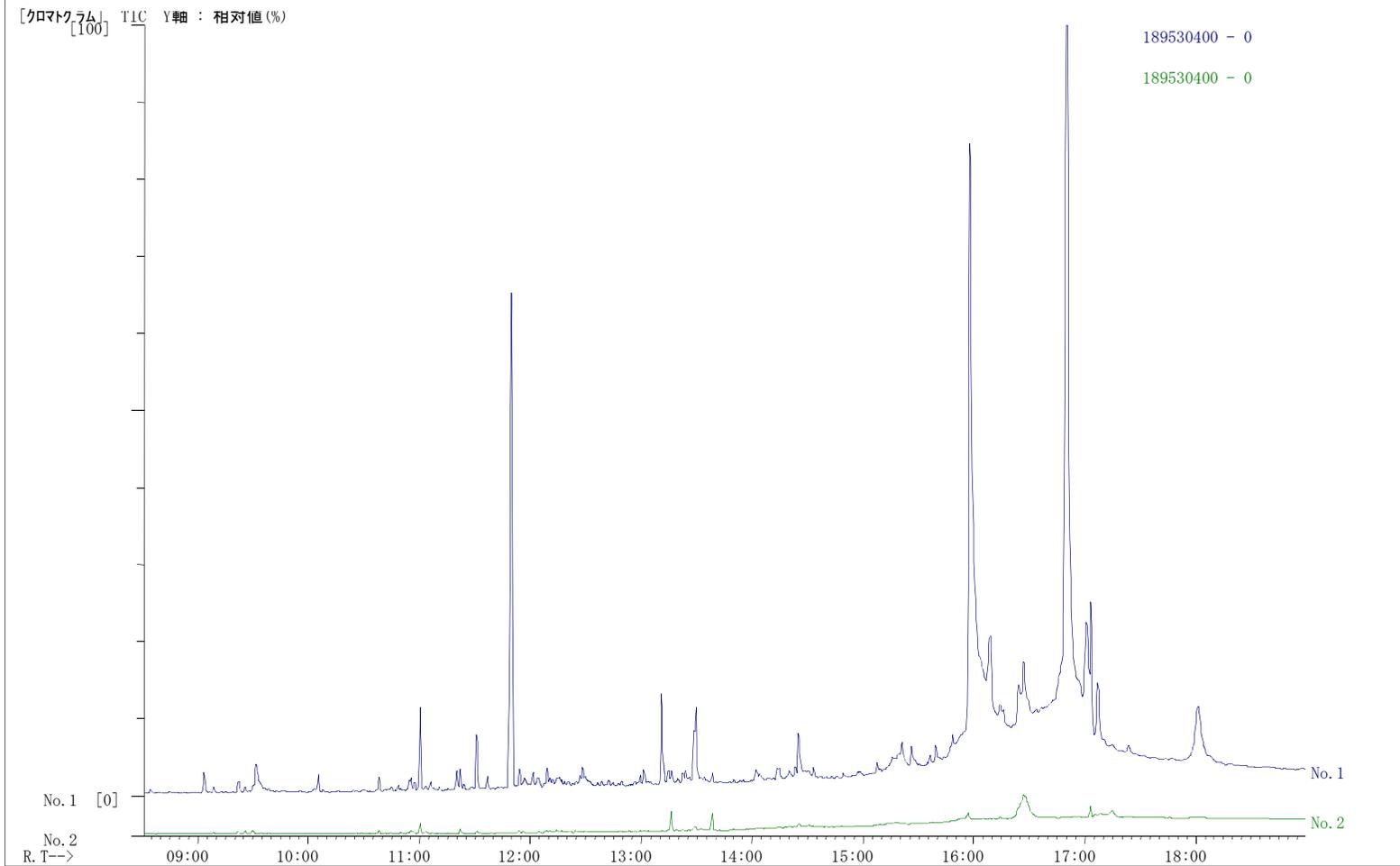


図. 缶コーヒー中クロルピリホス添加試験における
GC/MS定量イオンクロマトグラム(m/z=197)

缶コーヒー中クロルピリホス

固相抽出による前処理後、GC/MS測定したSCANクロマトグラム



HPLC-UVクロマトグラム

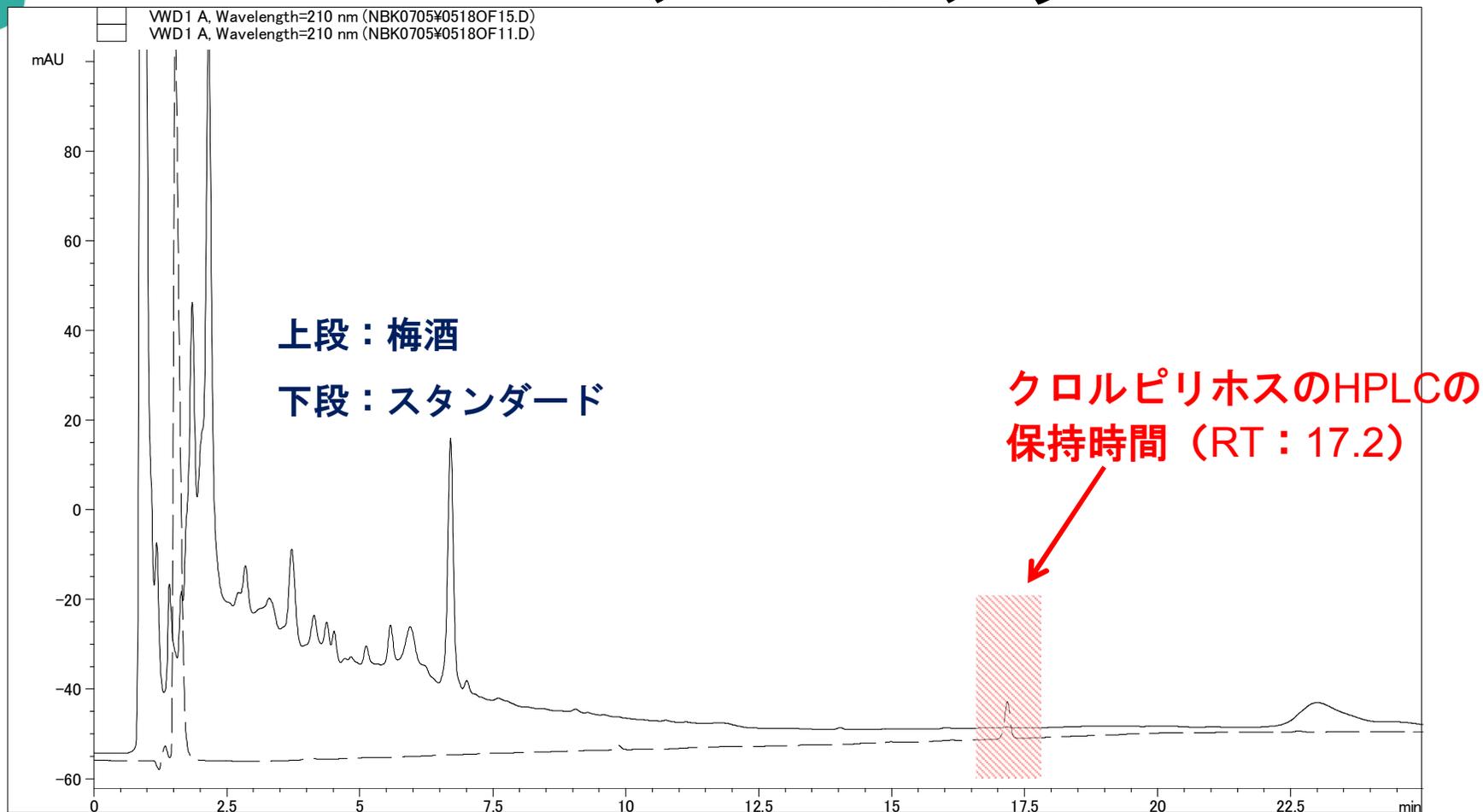


図. 梅酒のHPLC-UVクロマトグラム(実線)と分取部分(斜線)

GC/MS定量イオンクロマトグラム

[クロマトグラム] 197 : 20638 - 0

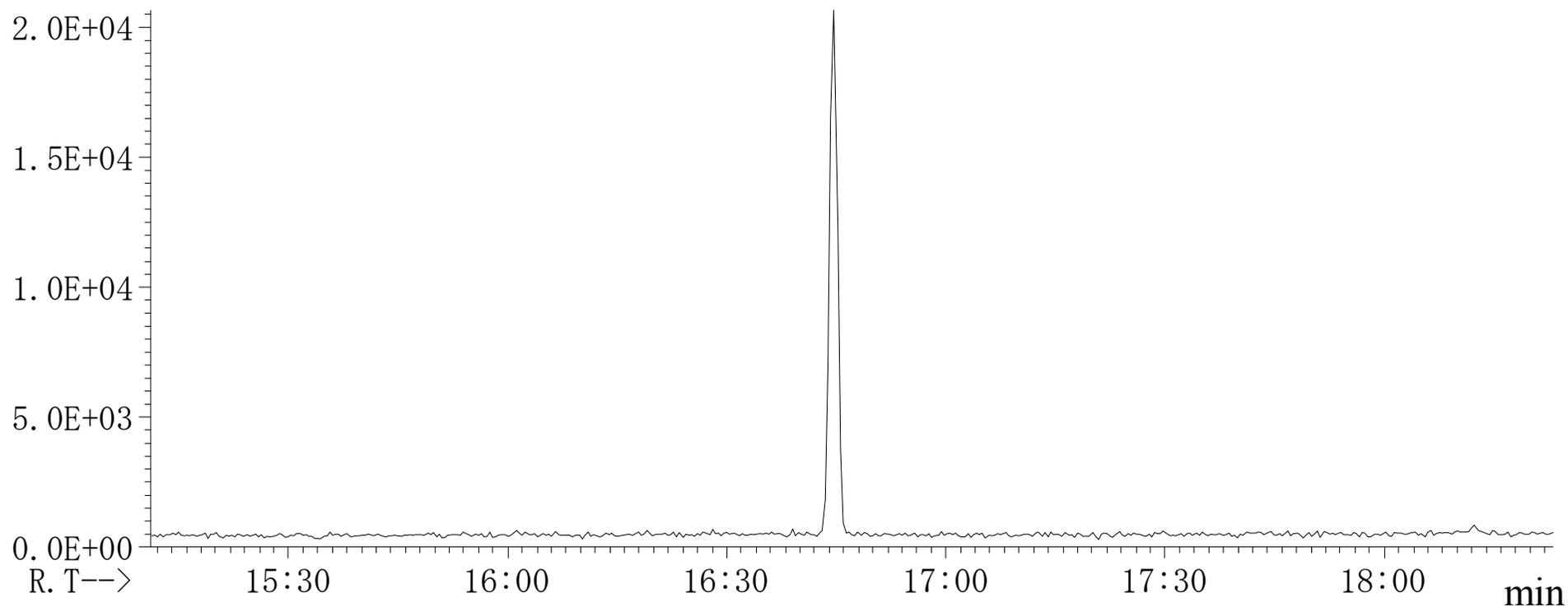


図. 梅酒中クロルピリホス添加試験における
GC/MS定量イオンクロマトグラム(m/z=197)

HPLC-UVクロマトグラム

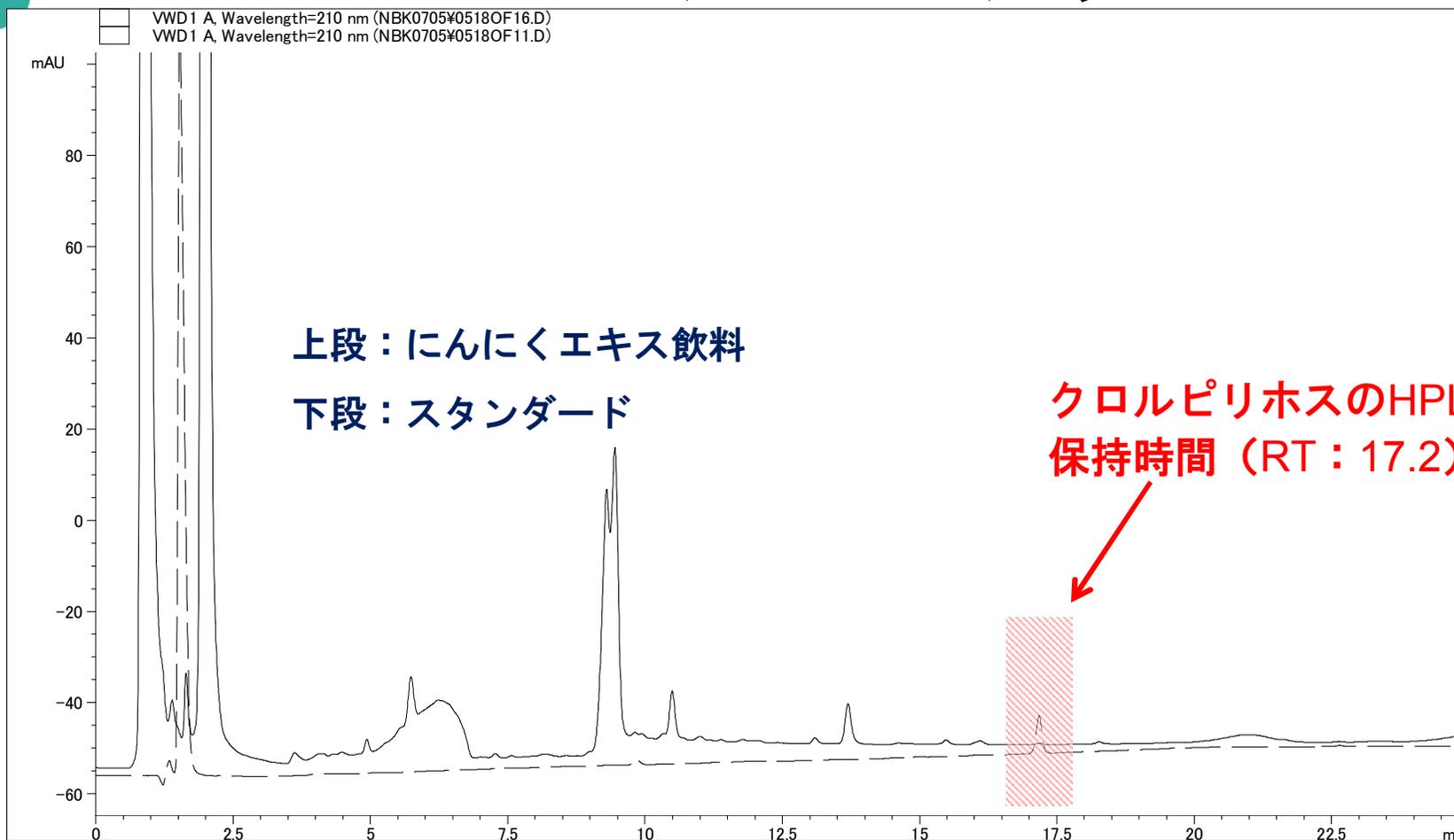


図. にんにくエキス飲料のHPLC-UVクロマトグラム(実線)と分取部分(斜線)

GC/MS定量イオンクロマトグラム

[クロマトグラム] 197 : 19320 - 0

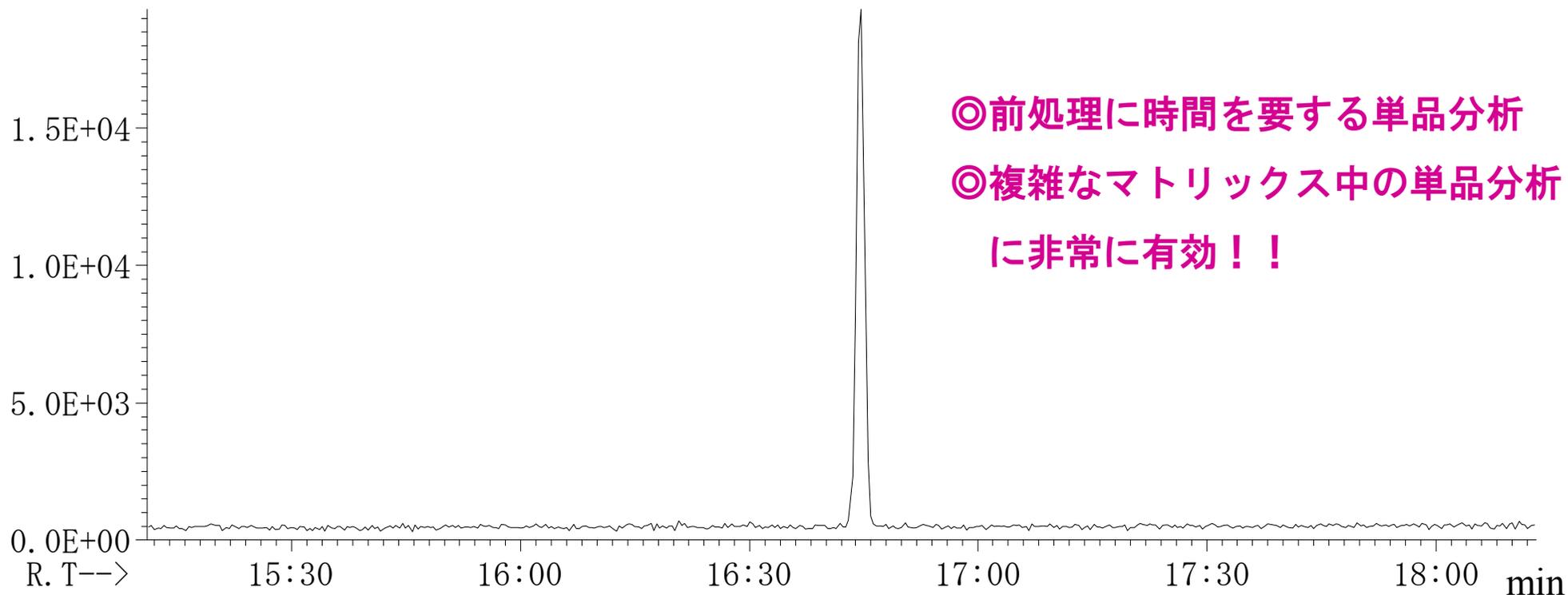
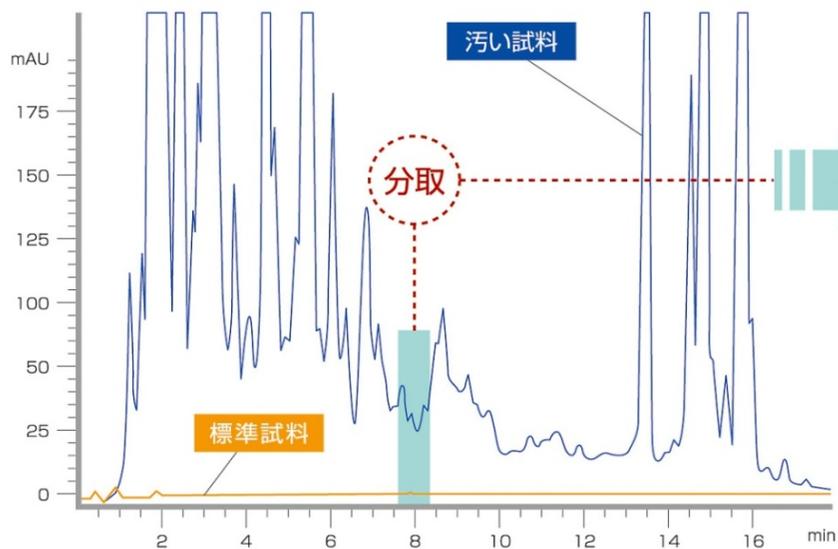
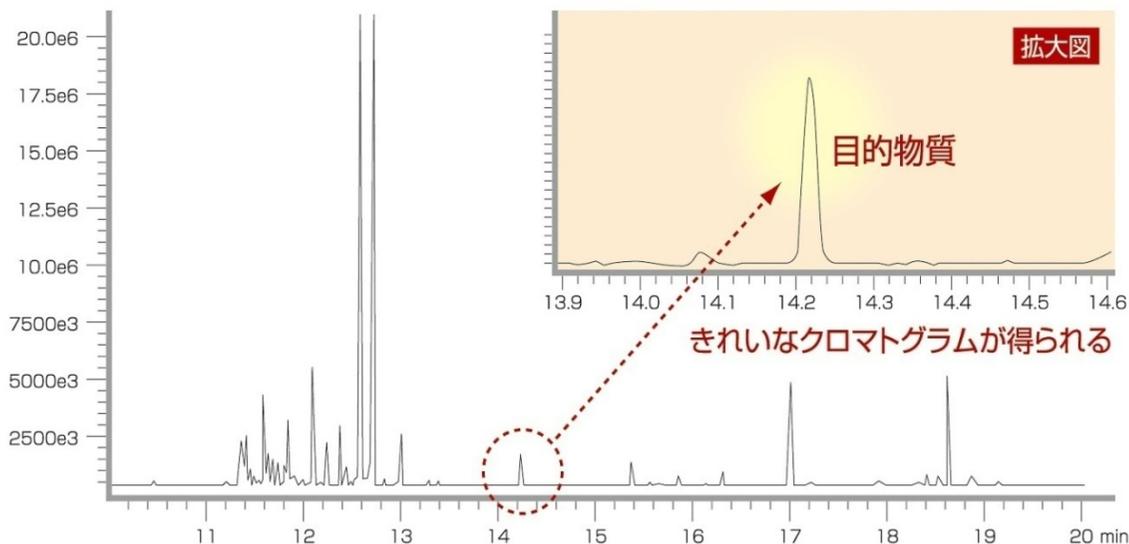


図. にんにくエキス中クロルピリホス添加試験における
GC/MS定量イオンクロマトグラム(m/z=197)

□ LC-UV クロマトグラム



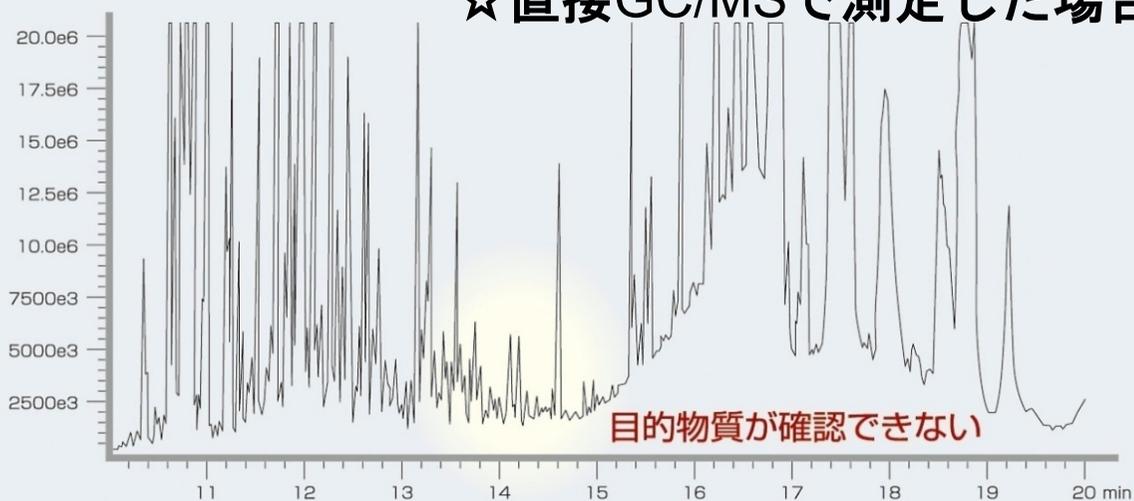
□ LC-GC/MS クロマトグラム



☆ 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

ホスチアゼート (Fosthiazate)

物性

Mol. wt. 283.3

Chemical Formula C₉H₁₈NO₃PS₂

Physical State Pale yellow liquid

Chemical Group 有機リン系農薬

Pesticide Type 殺虫剤、線虫駆除剤

B.p. 198 °C/0.5 mmHg

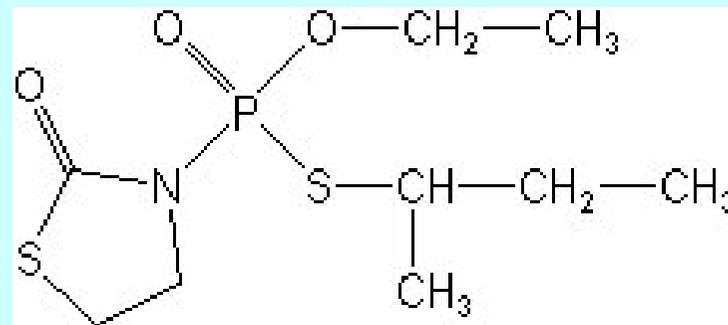
V.p. 0.56 mPa (25 °C)

Log Pow = 1.68

Solubility In water 9.85 g/l (20 °C).

Stability In water, DT50 3 d (pH 9, 25 °C)

構造式



基準値

ミズナ: 0.1 ppm

イチゴ: 0.05 ppm

HPLC-UVクロマトグラム

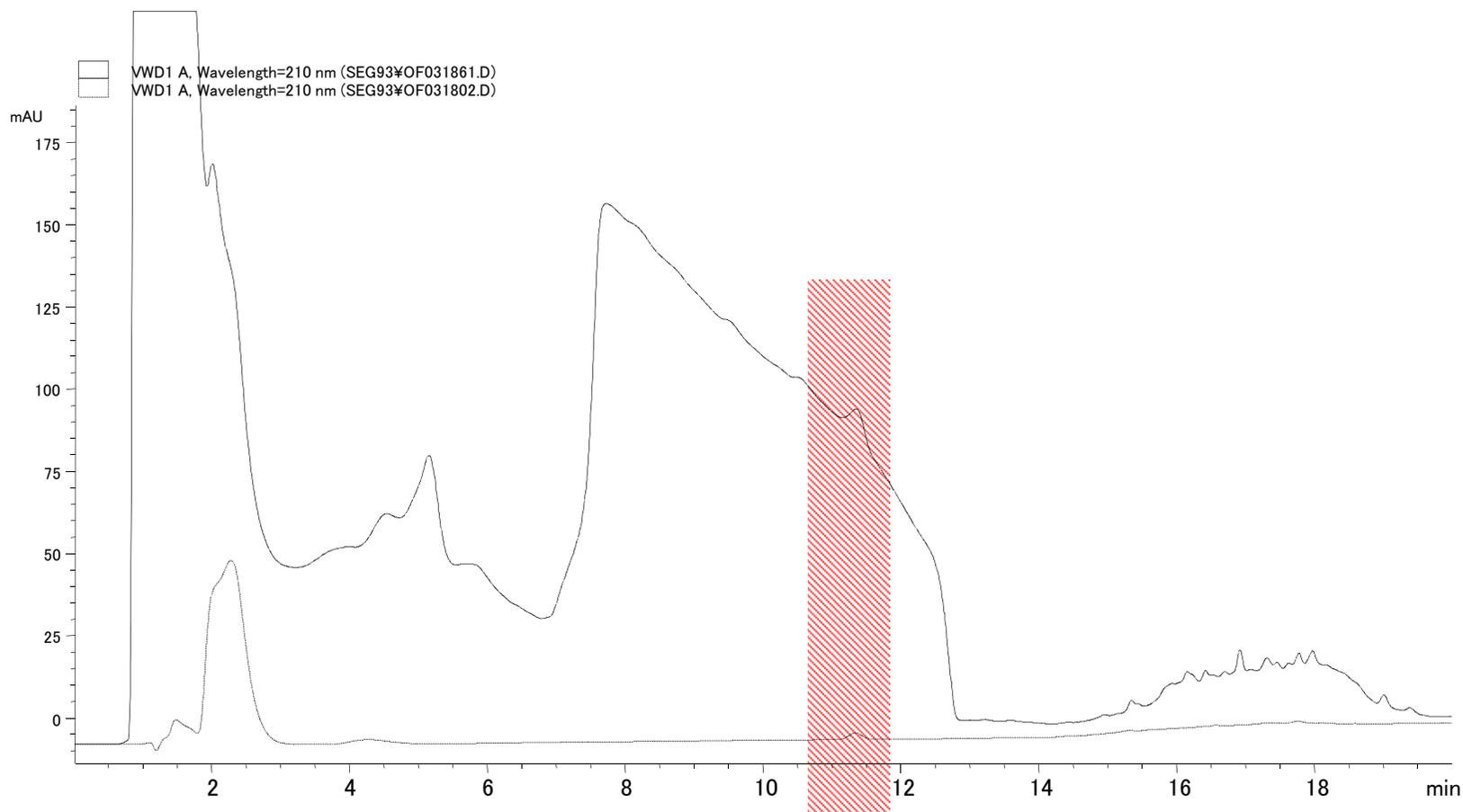


図2. ミズナのHPLC-UVクロマトグラム(実線)と分取部分(斜線)

GC/MS定量イオンクロマトグラム

[クロマトグラム] 195 : 10955 - 183 面積 : 46716 (16:41 - 16:46)

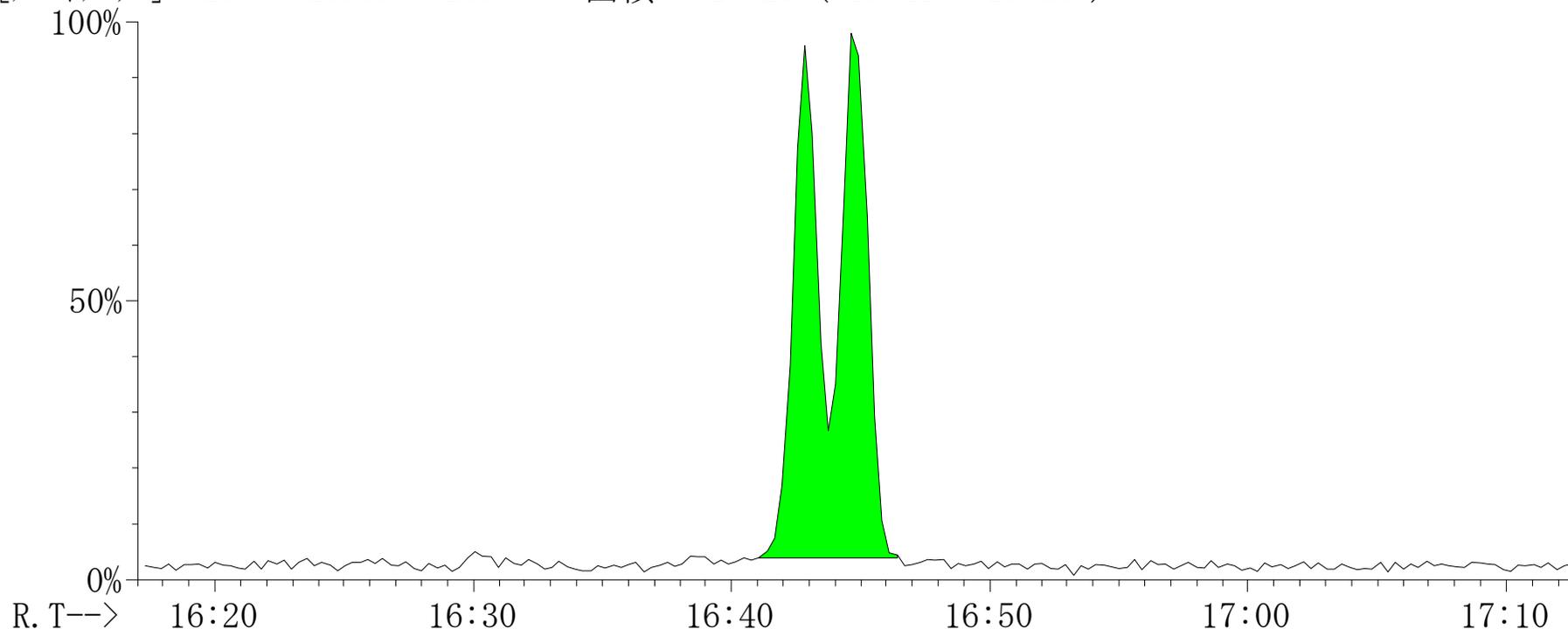
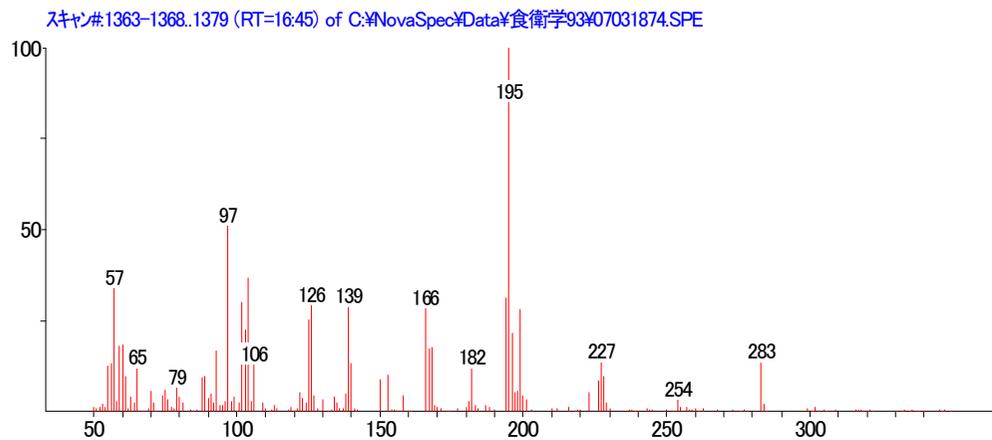
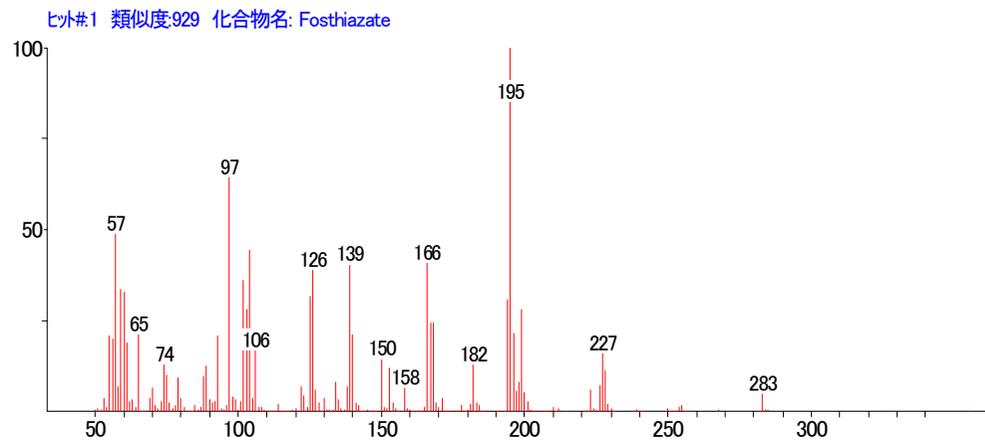


図3. ミズナ中ホスチアゼート添加回収試験(0.05ppm)における
GC/MS定量イオンクロマトグラム(m/z=195)

スペクトル比較



分析結果のスペクトル



ライブラリーのスペクトル

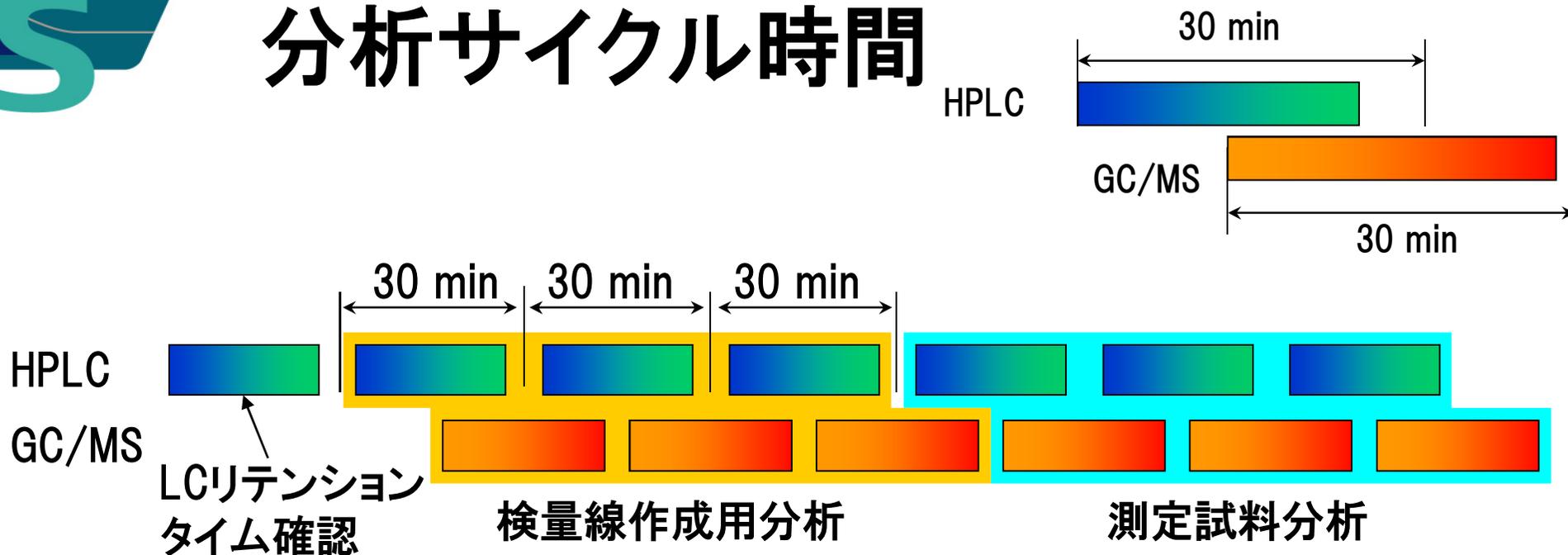
再現性

● 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)	Ave. (ppb)	REC (%)	R.S.D. (%)
ミズナ	53.3	52.7	56.5	56.6	50.8	51.0	53.5	107.0	4.82
イチゴ	46.0	45.7	51.0	43.9	44.5	45.6	46.1	92.2	5.46

*ホモジナイズ抽出後にFosthiazateを試料中0.05ppmになるように添加

分析サイクル時間



◎分析例

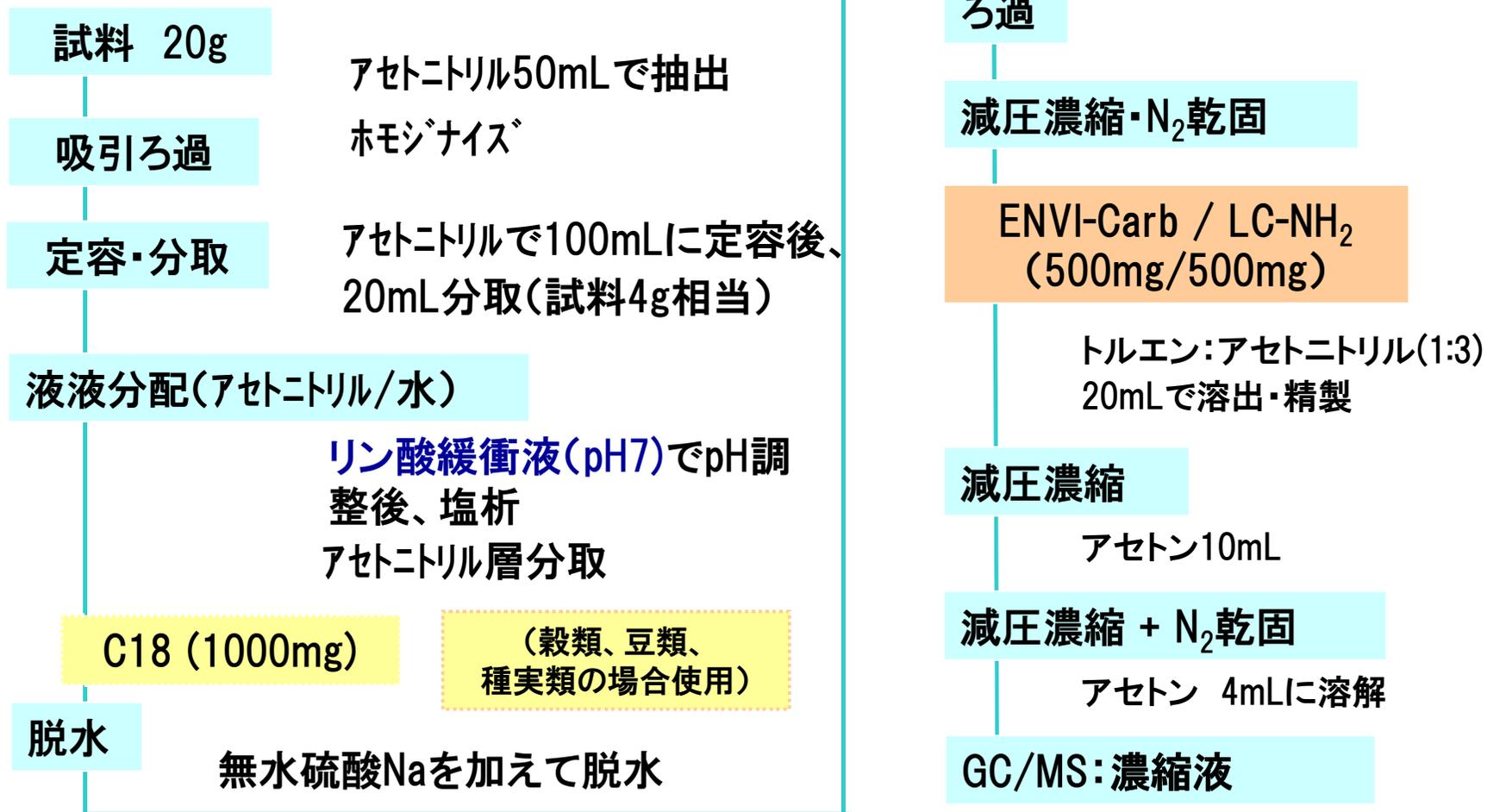
6検体/1人(同一対象農薬)

9:30-11:00; 抽出・前処理
 11:00-15:30; LC-GC/MS測定
 15:30-16:30; 解析・報告書作成

20検体/1人(同一対象農薬)

13:00-16:30; 抽出・前処理
 16:30-翌日10:00; LC-GC/MS測定
 10:00-11:00; 解析
 11:00-12:00; 報告書作成

通知法 GC/MS一斉分析法で分析すると・・・



通知法での分析時間 & コスト

残留農薬分析前処理コスト(通知法)

n=10 試験を行う場合

項目	メーカー	使用量および時間	費用(円)
アセトニトリル5000	関東	1260mL	4200
アセトン5000	関東	2155mL	4741
アセトン1級(洗浄)	関東	2000mL	2567
トルエン5000	関東	80mL	299
ヘキサン5000	関東	200mL	484
塩化ナトリウム	関東	100g	1430
リン酸水素二カリウム	関東	21g	92
リン酸二水素カリウム	関東	12g	37
硫酸ナトリウム	関東	50g	198
C18(1000mg)	Varian	10本	7300
Envi-carb/NH2(500mg/500mg)	スペルコ	10本	10000
合計金額(円)			31348
前処理時間(器具洗浄含む)		7時間00分 ^{*2}	12600
合計金額(円):人件費含む			43948

*2 内訳:抽出1時間30分、分取後の前処理4時間、洗い物1時間30分

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になった
- ◆ 逆相HPLCを前処理に用いることで、加工食品などマトリックスの多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
- ◆ 機器による精度管理や保証にも最適なシステム

