

【香気分析】

SPE-GC/MSシステムによる オンライン固相捕集-溶媒溶出法の開発



2021年11月10日
株式会社アイスティサイエンス
佐々野僚一

Beyond your Imagination

AiSTI SCIENCE

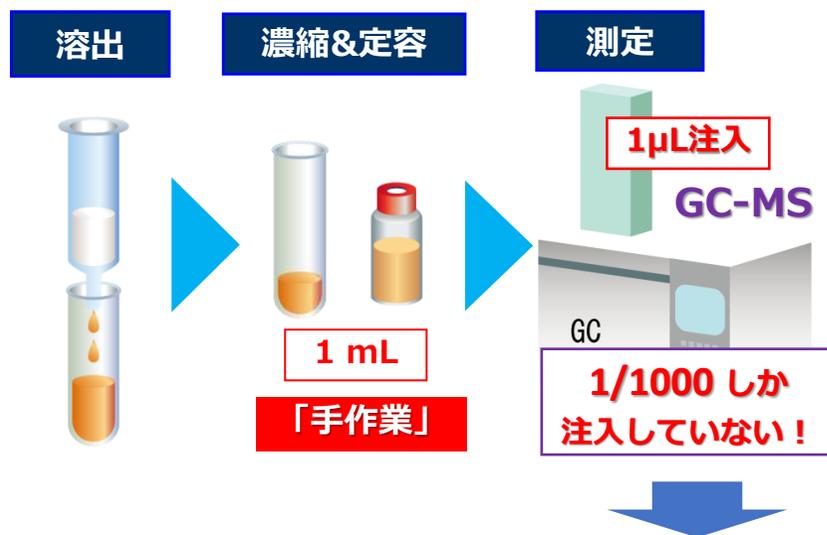
固相捕集-溶媒抽出法について

カビ臭の原因物質である2-メチルイソボルネオール及びジェオスミンは、水道法に基づく水質基準が10pptで、その基準値の1/10の定量が求められている。そこで演者らはカビ臭の高感度分析を目的として、固相からの溶出液をGCに全量導入するオンラインSPE-GC/MSシステムによる新しい固相捕集-溶媒抽出法を開発した。

従来の固相捕集-溶媒抽出法

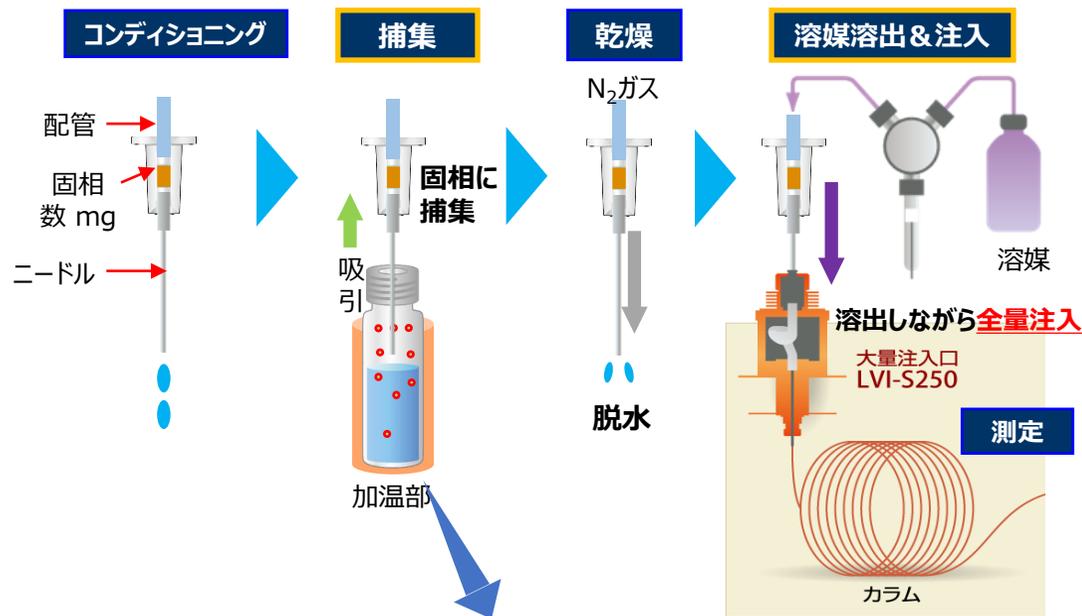
- 長所
- 捕集材が安価で使い捨てが可能
 - オンサイトサンプリングが可能
 - 大量の気相を捕集可能
 - 水分の影響を受けにくい

短所 捕集した目的物質を固相から溶媒で溶出し、その溶出液の一部をGCに注入するため、効率が悪く感度が低い



**固相からの溶出液をGCに全量導入する
オンラインSPE-GC/MSシステムによる
新しい固相捕集-溶媒抽出法の開発**

オンライン固相捕集-溶媒溶出法



【捕集方法】



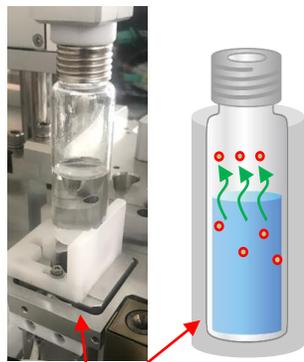
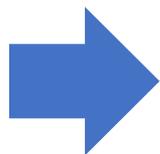
固相からの溶出液をGCに全量導入するオンラインSPE-GC/MSシステムによる新しいオンライン固相捕集-溶媒抽出法を開発した。

- 迅速に気相を一定量捕集可能。
- 熱に弱い成分を分析可能。
- 気相中の水分を除去可能。
- オンサイトサンプリングが可能。
- 誘導体化が可能。

前処理時間14分

- ① 試料を一定時間加温 (50℃)
- ② 固相を溶媒でコンディショニング
- ③ 窒素ガスで固相を乾燥
- ④ 試料を一定時間攪拌
- ⑤ 試料の気相を固相に一定量吸引
- ⑥ 窒素ガスで固相を乾燥
- ⑦ 注入口へニードルを挿入
- ⑧ 目的物質を溶媒で固相から溶出させながらGCへ全量注入。

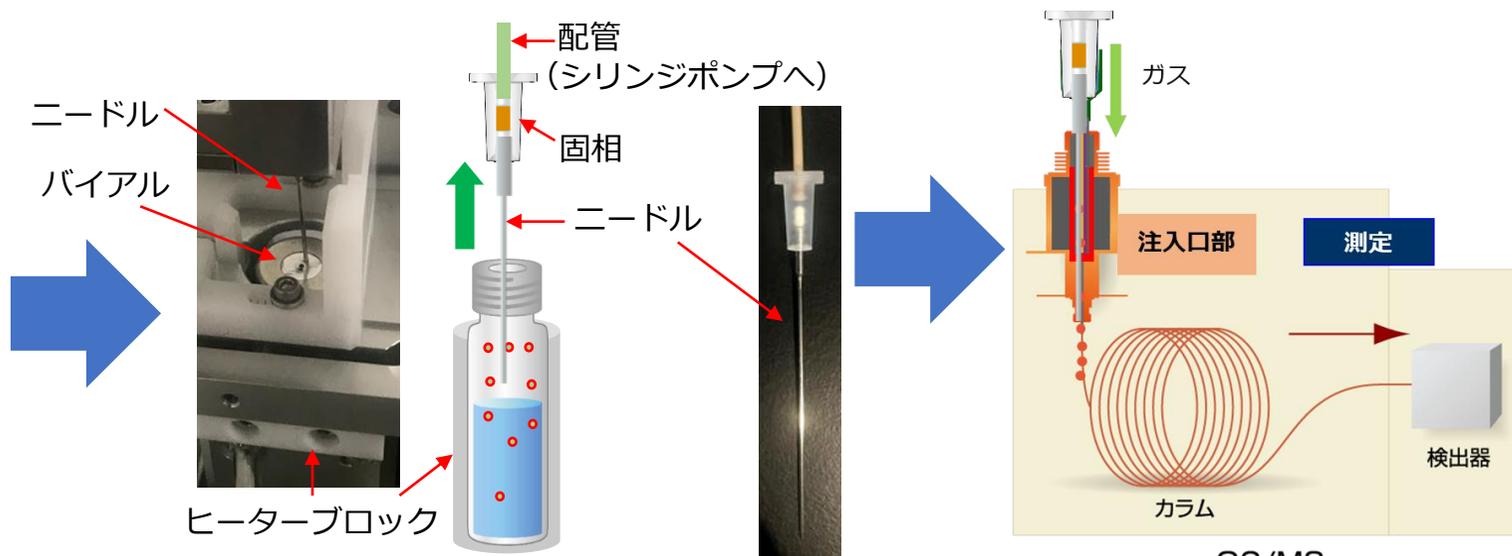
全体の工程



① トレーに試料バイアルを置く
(これ以降の操作は全自動)

② バイアルをヒーター
ブロックで加熱

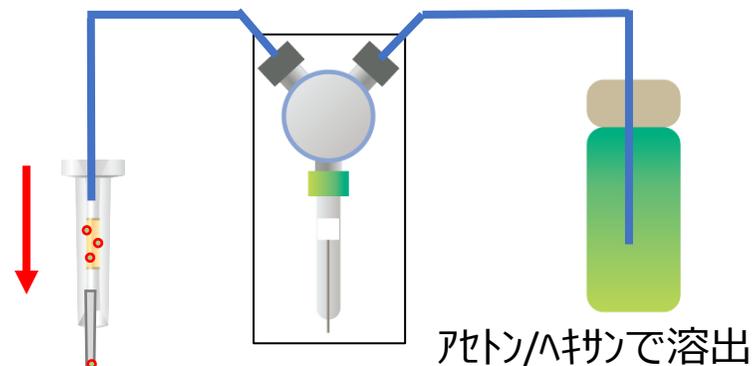
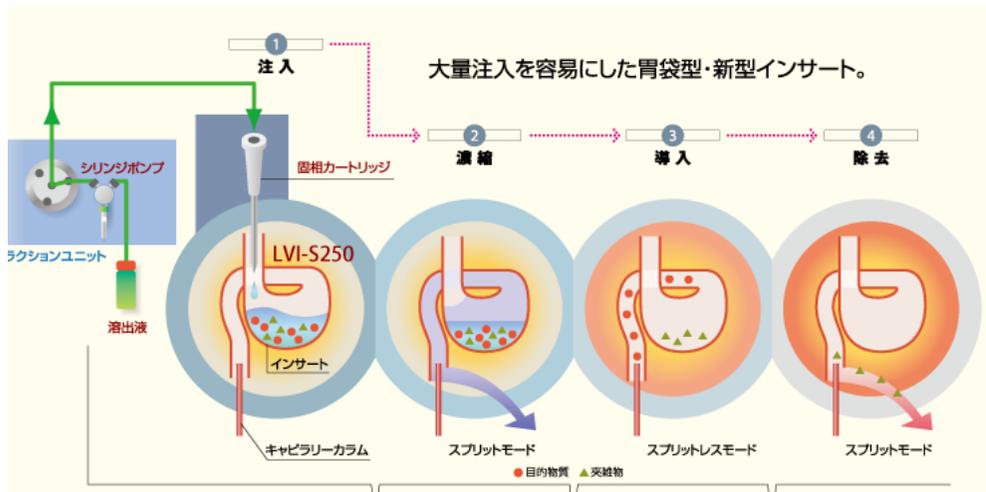
③ ミキサーで攪拌して
液相と気相を混ぜる



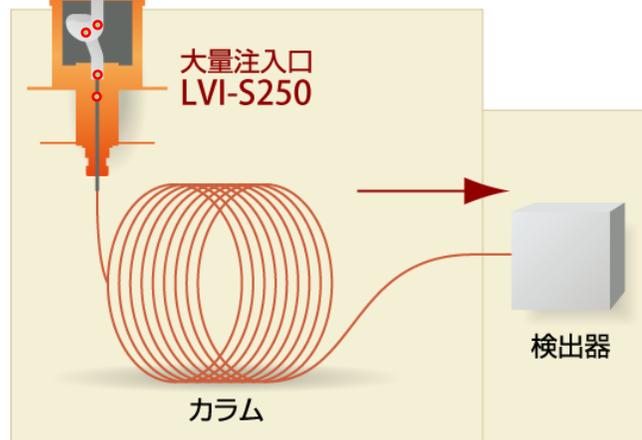
④ 固相に気相を吸引する。

⑤ ニードルを注入口へ挿入し溶出&注入。

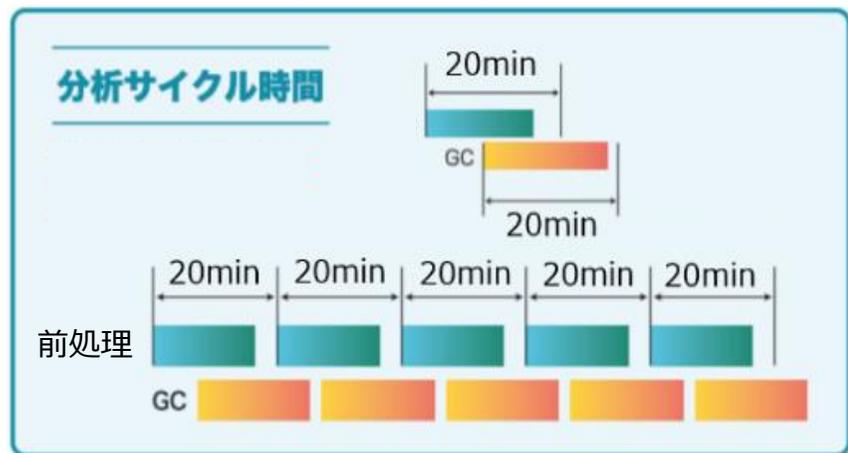
溶出・注入方法と分析時間について



胃袋型インサートに注入



GC/MS



GC/MS条件

PTV Injector	LVI-S250 (AiSTI Science)
Insert Type	Spiral Insert
Injector Temp.	70°C(0.25min)-120°C/min-240°C(18min)

GC-MS

Split Flow	150mL/min(0.15)-Splitless(3min)-50mL/min
Flow Mode	Constant Flow, 1 ml/min
Pre-Column	0.25mm i.d. x 0.5m
Column	Vf-5ms, 0.25mm i.d. x 30m, df;0.25µm
Oven Temp.	50°C(2min)-10°C/min-120°C-20°C/min-170°C- 40°C/min-280°C(2min)
Trans. Line Temp.	260°C
MS Method	SIM

前処理時間は約14分で、GC/MSによる測定時間は20分サイクルであった。
GC/MSで測定している間に次の検体の前処理を並行することで、全体として20分サイクルの効率よい迅速な分析が可能となった。

捕集流量

実験方法

- 試料瓶：20mL
- 試料：精製水8mL, NaCl 3g添加
- 精製水中 100 ppt 添加
- 捕集量：5 mL
- **捕集流量：30, 15, 6, 3 mL/min**

捕集流量, mL/分	30	15	6	3
捕集時間, 秒	10	20	50	100



ピーク面積値

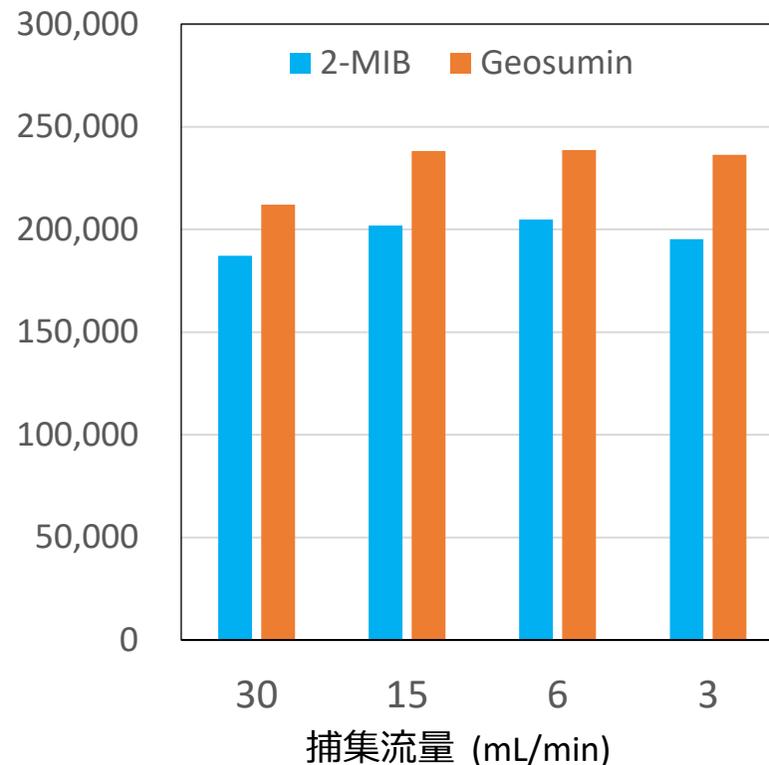


Fig. 捕集流量とピーク面積値の関係

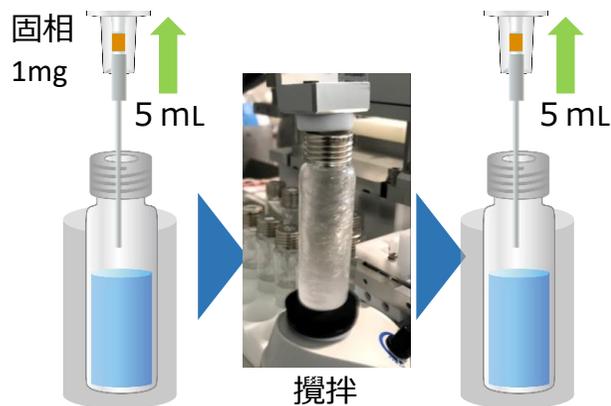
捕集流量による大きな違いは見受けられず、固相の保持が強いことが分かった。捕集流量条件は15 mL/minとした。迅速な分析が可能となった。

捕集量

実験方法

- ・ 試料瓶：20mL
- ・ 試料：精製水8mL, NaCl 3g添加
- ・ 精製水中 10 ppt 添加
- ・ **捕集量：10, 20, 30, 40 mL**
- ・ 捕集流量：15 mL/min

捕集量10mLの場合
固相に気相を5mL吸引、攪拌し、再び固相に5mL吸引



目的物質の濃度は捕集毎に薄くなっていく。

ピーク面積値

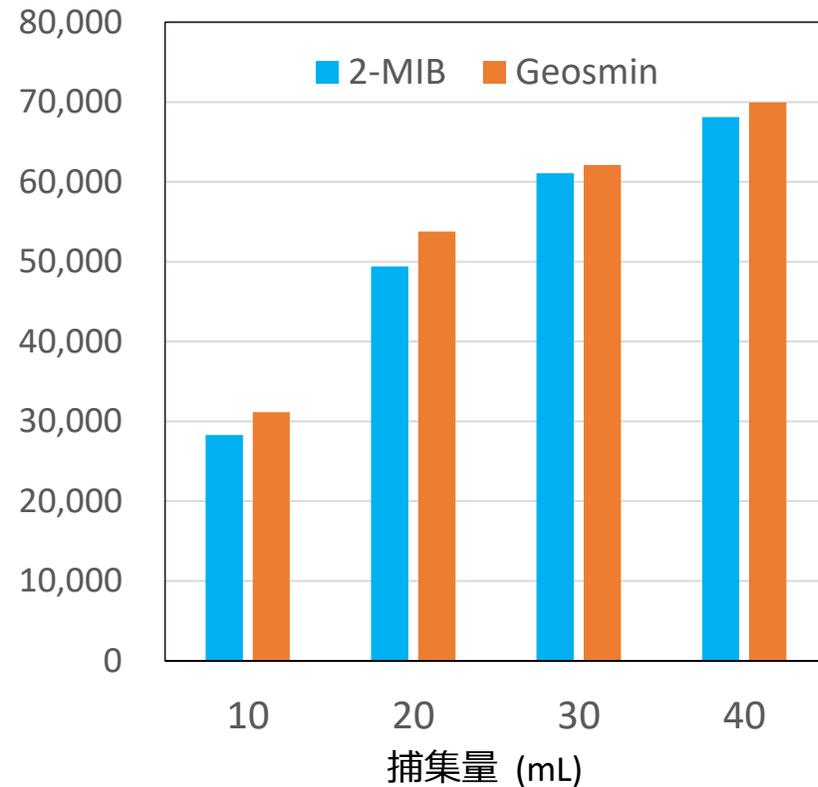
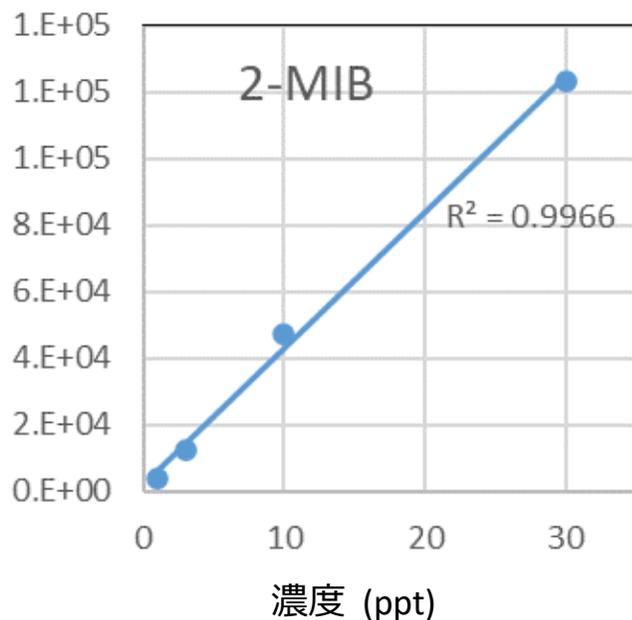


Fig. 捕集量とピーク面積値の関係

捕集量 20mL以上は捕集毎に試料濃度が薄くなることから、捕集量に対する効率が落ちている。
捕集量条件は20mLとした。

精製水添加による検量線

ピーク面積値



ピーク面積値

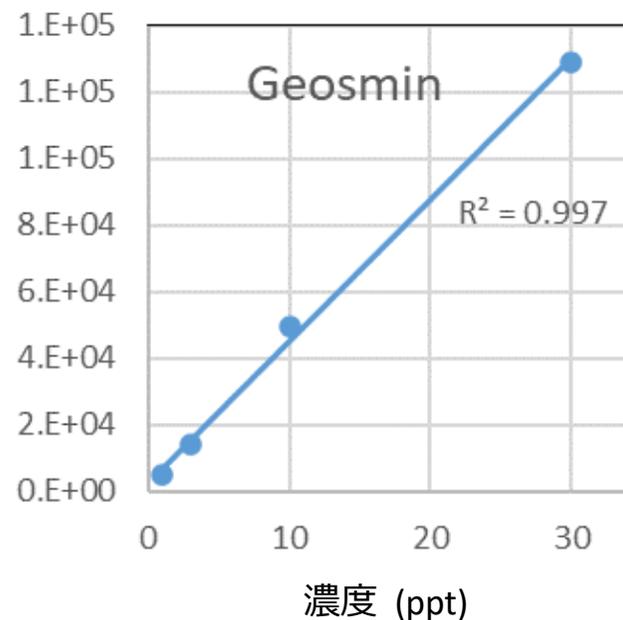


Fig. 精製水中濃度 1, 3, 10, 30 ppt とピーク面積値の関係

- 精製水添加による試料中濃度とピーク面積値の関係を調べたところ直線性のある比例関係を得ることができ、検量線として使用できることが分かった。

本法による再現性：ピーク面積値

実験方法

- 試料瓶：20mL
- 試料量：8mL
NaCl 3g添加
- 加熱温度：50°C
- 捕集量：20 mL (5mL x 4)
- 捕集流量：15 mL/min

No.	精製水				河川水	
	10 ppt 添加		1 ppt 添加		10 ppt 添加	
	2-MIB	Geosmin	2-MIB	Geosmin	2-MIB	Geosmin
1	53,040	60,804	3,886	4,745	57,689	59,470
2	51,746	55,131	3,718	4,367	53,566	56,392
3	51,775	56,763	3,259	4,260	56,997	58,675
4	52,973	58,263	3,883	4,736	54,269	55,197
5	54,340	58,312	3,473	4,292	54,815	60,921
Ave.	52,775	57,855	3,644	4,480	55,467	58,131
RSD,%	2.0	3.6	7.5	5.4	3.2	4.0

河川水に10pptになるように添加して連続測定 (n=5) した結果、2-MIBは3.2%, Geosminは4.0%と良好な結果を得ることができた。また、精製水に1pptになるように添加して連続測定した結果、2-MIBは7.5%, Geosminは5.4%と良好な結果を得ることができた。

本法による再現性：定量イオンクロマトグラム

河川水中 10 ppt 添加

精製水中 1 ppt 添加

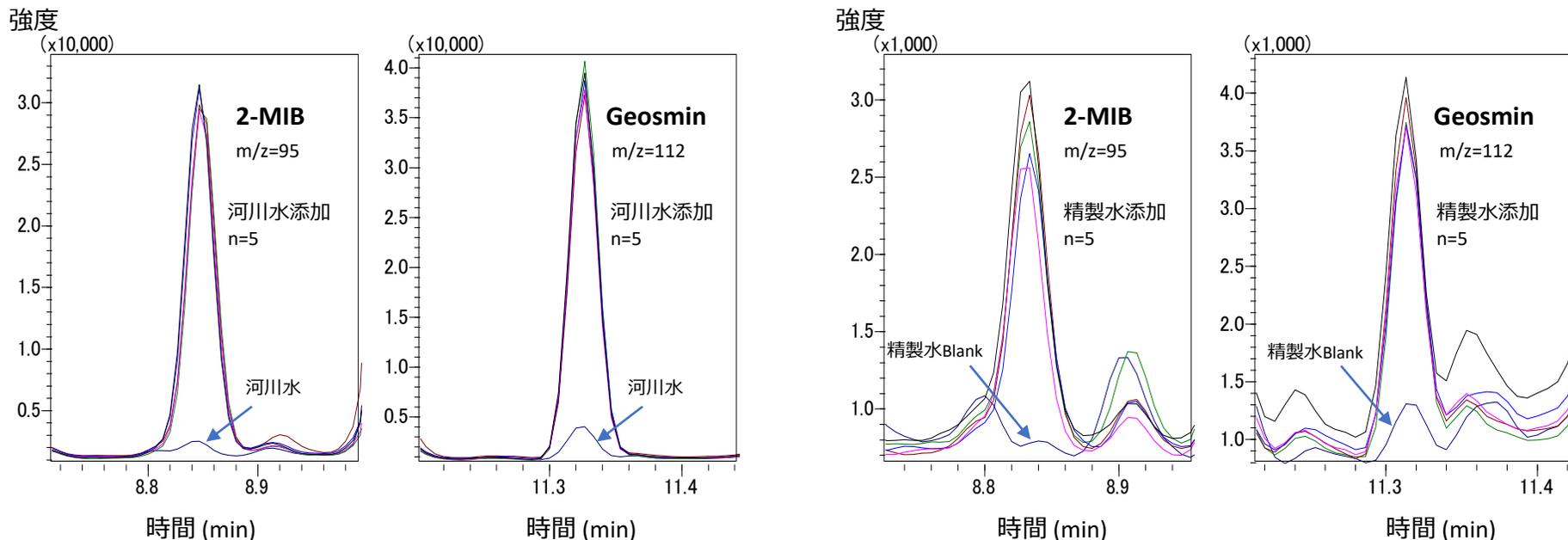
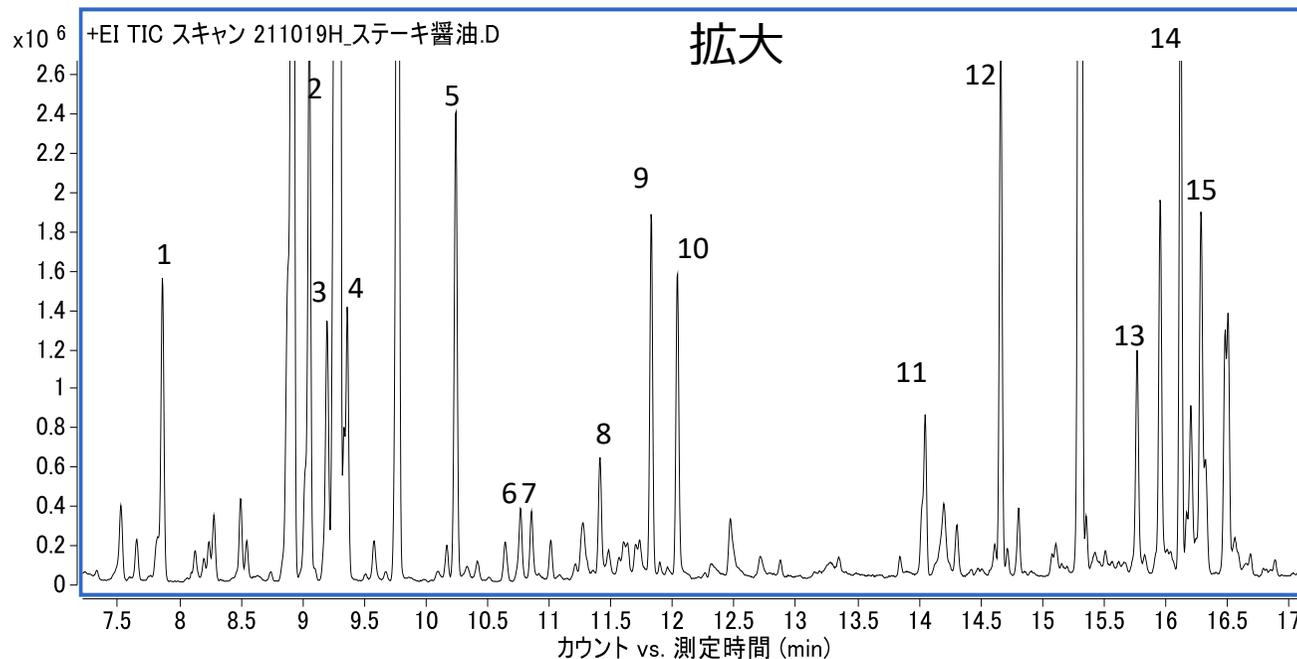
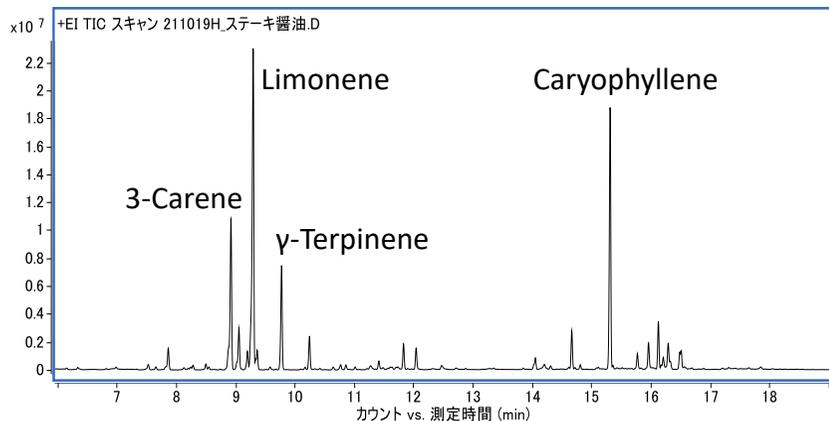


Fig. 連続測定(n=5)による定量イオンクロマトグラムの重ね描き

河川水中10ppt添加では夾雑物の影響を受けない良好な再現性のある良好なイオンクロマトグラムを得た。また、精製水中1ppt添加では低濃度にも関わらず、定量イオンピークをしっかりと確認することができた。

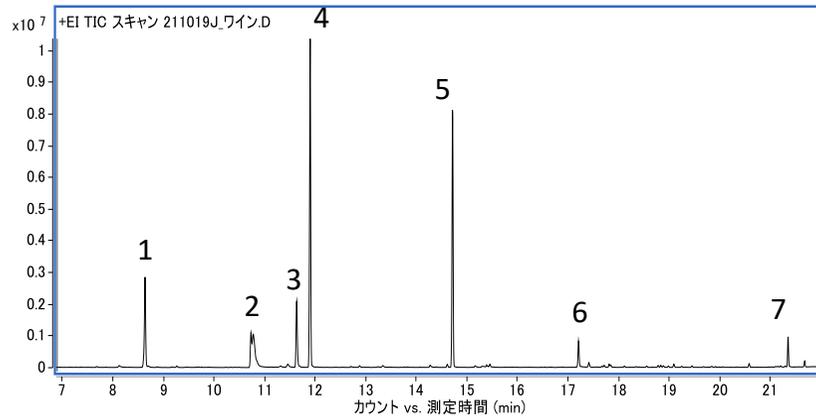
今回開発したオンラインSPE-GC/MSシステムによる固相捕集-溶媒抽出法は固相に迅速に多量の気相を一定量捕集し、さらに固相に捕集した目的成分を溶出しながらGC/MSに全量導入することで、カビ臭原因物質の高感度かつ迅速な分析を可能とした。

ステーキ醬油：におい分析

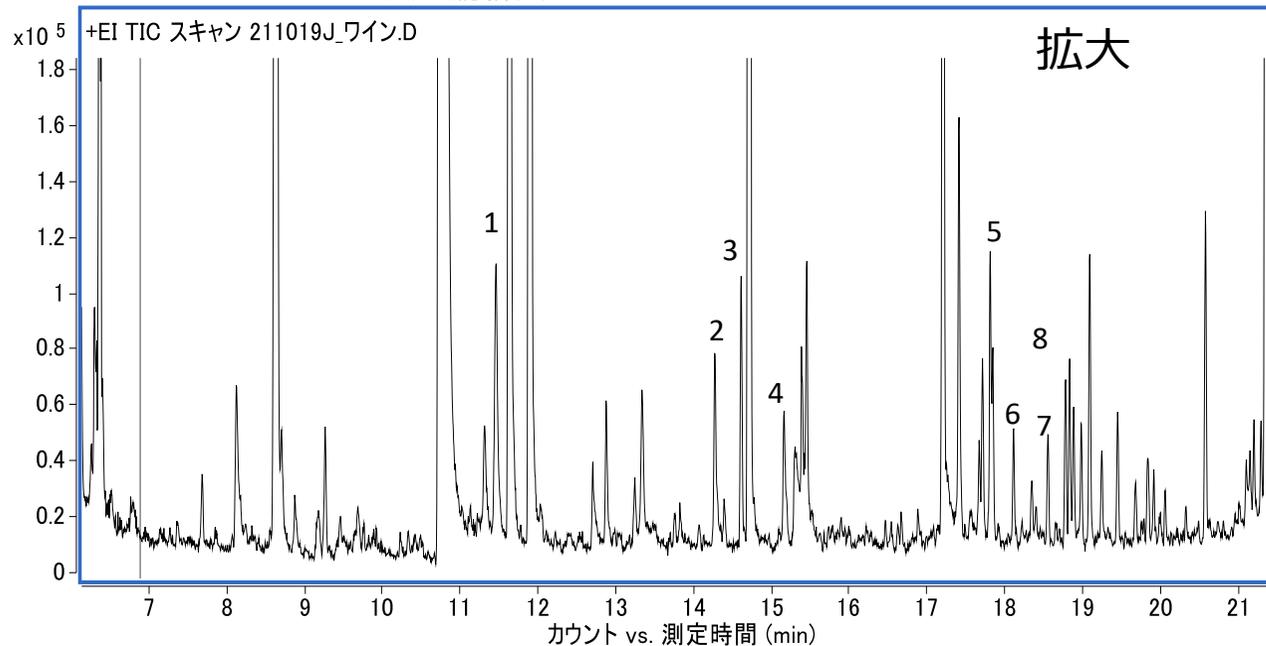


1. Camphene
2. Terpinolene
3. Cymene
4. Eucalyptol
5. Terpinolene
6. 1-Allyl-2-isopropylidysulfane
7. Fenchol
8. Trisulfide, methyl propyl
9. 4-terpineol
10. Terpineol
11. Elemene
12. Copaene
13. Humulene
14. Zingiberene
15. Bisabolene

ワイン : におい分析

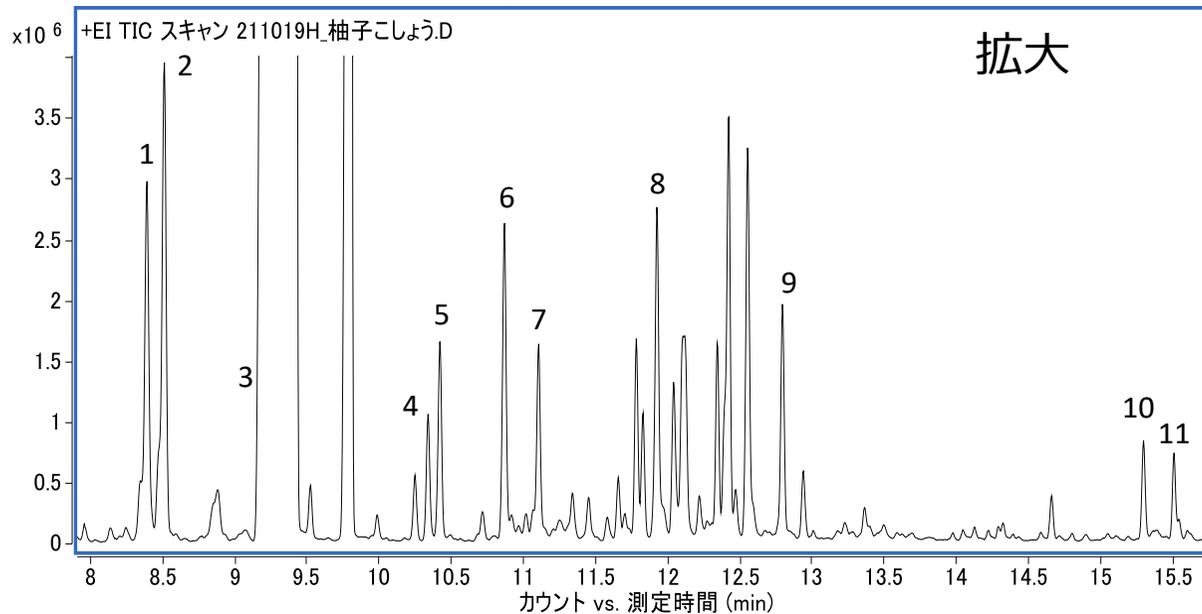
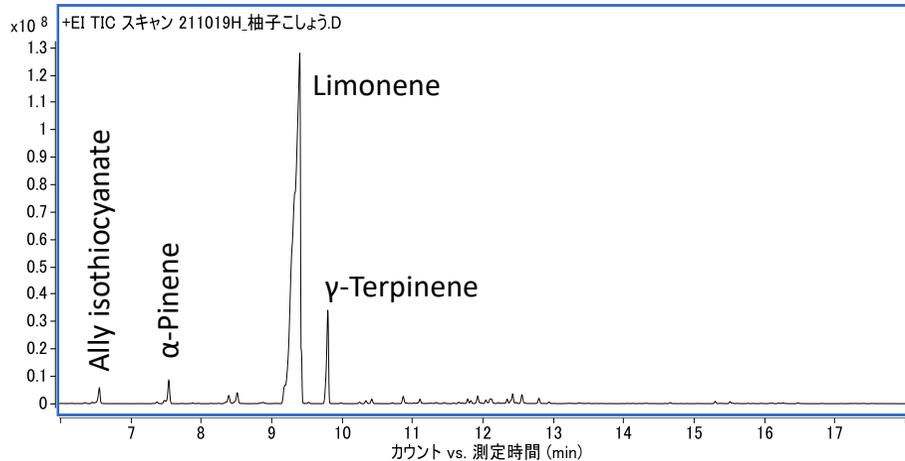


- 1.Hexanoic acid, ethyl ester
- 2.Phenylethyl Alcohol
- 3.Succinic acid, diethyl ester
- 4.Octanoic acid, ethyl ester
- 5.Decanoic acid, ethyl ester
- 6.Dodecanoic acid, ethyl ester
- 7.Hxadecanoic acid, ethyl ester



1. n-Caprylic acid
2. n-Capric acid
3. Ethyl dec-9-enoate
4. Butanedioic acid, ethyl 3-methylbutyl ester
5. Iso-Amyl n-decanoate
- 6.3-Phenylundecane
- 7.2-Phenylundecane
- 8.6-Phenylundecane

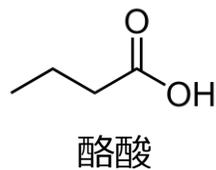
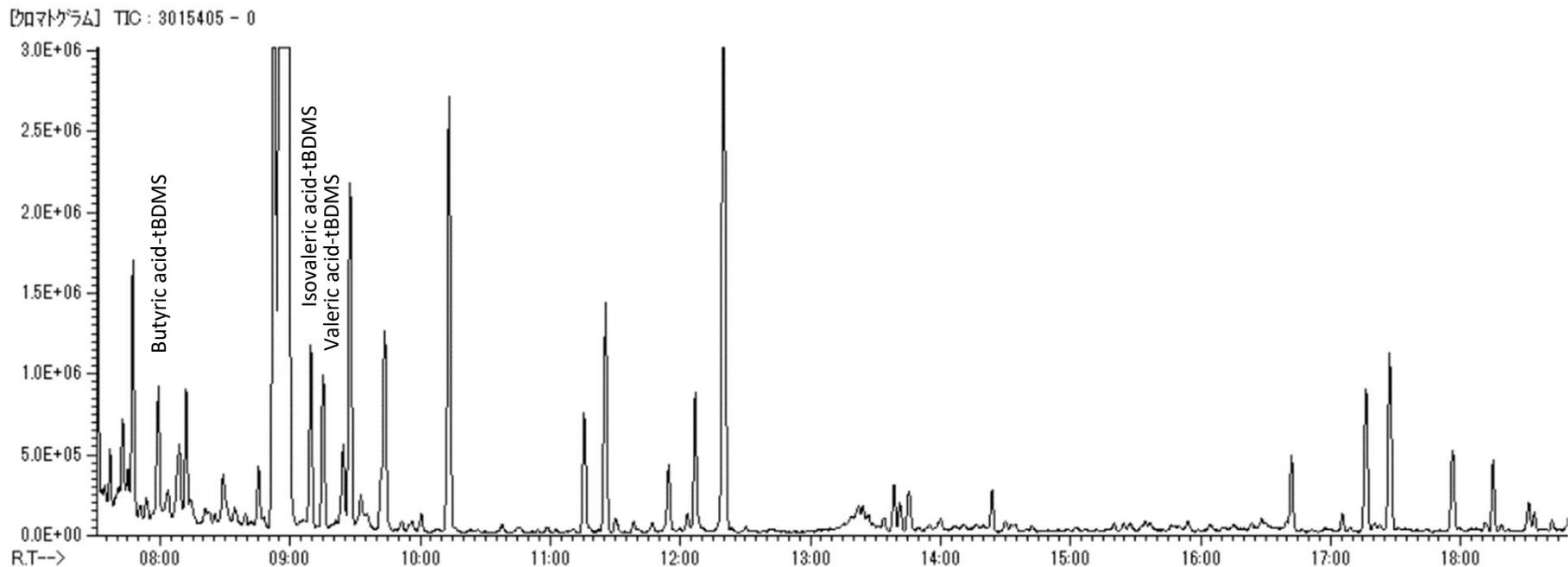
柚子胡椒：におい分析



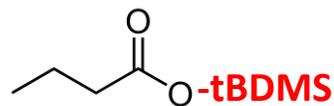
1. β -Pinene
2. Myrcene
3. o-Cymene
4. p-Cymene
5. Linalool
6. Mentha-2,8-dienol
7. Mentha-2,8-dienol
8. Isocarveol
9. Carvone
10. Caryophyllene
11. Famesene

納豆：におい-誘導体化分析

誘導体化試薬 MTBSTFAを溶出溶媒に混液させて、t-BDMS化を行った。



誘導体化試薬



酪酸 - tBDMS

オンラインSPE-GCシステム

SPL-M100FE

メタボローム分析（アミノ酸 / 有機酸 / 糖など）のみならず、**におい分析**にも対応！

メタボローム
+におい分析



アミノ酸

有機酸

単鎖脂肪酸

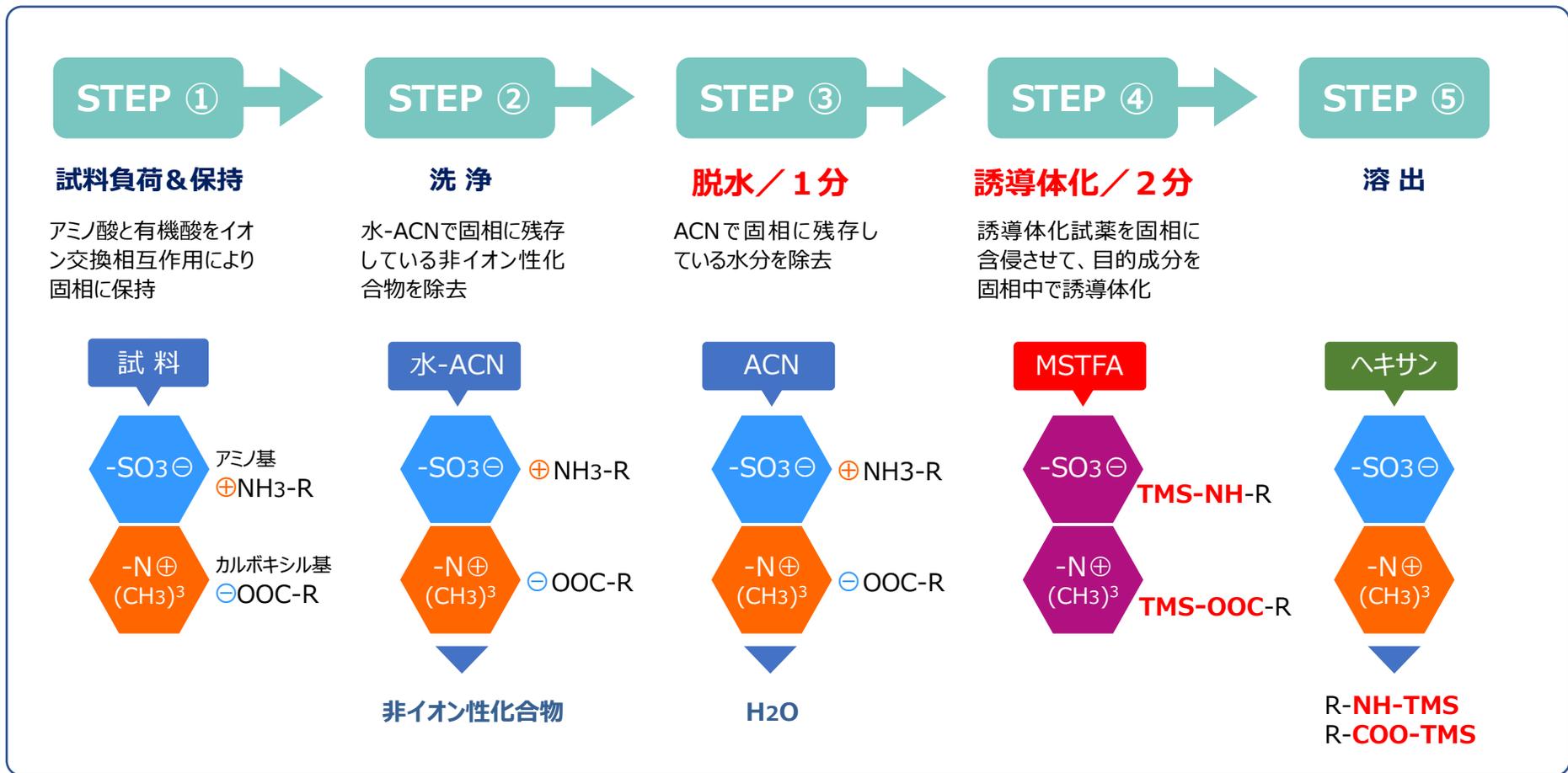
核酸塩基

糖類



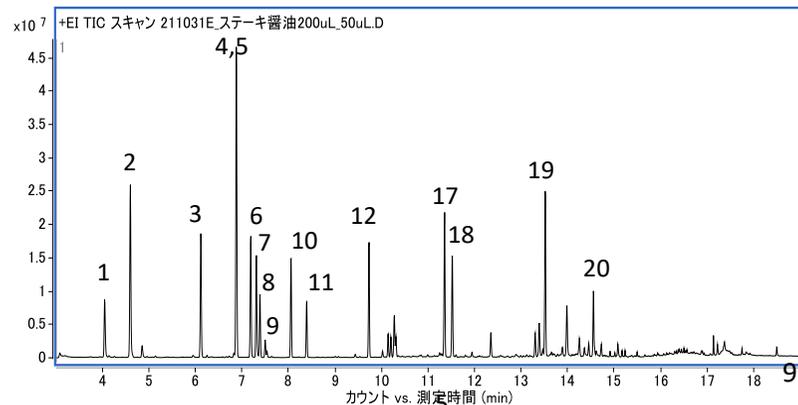
におい分析

メタボロミクス 固相誘導体化法

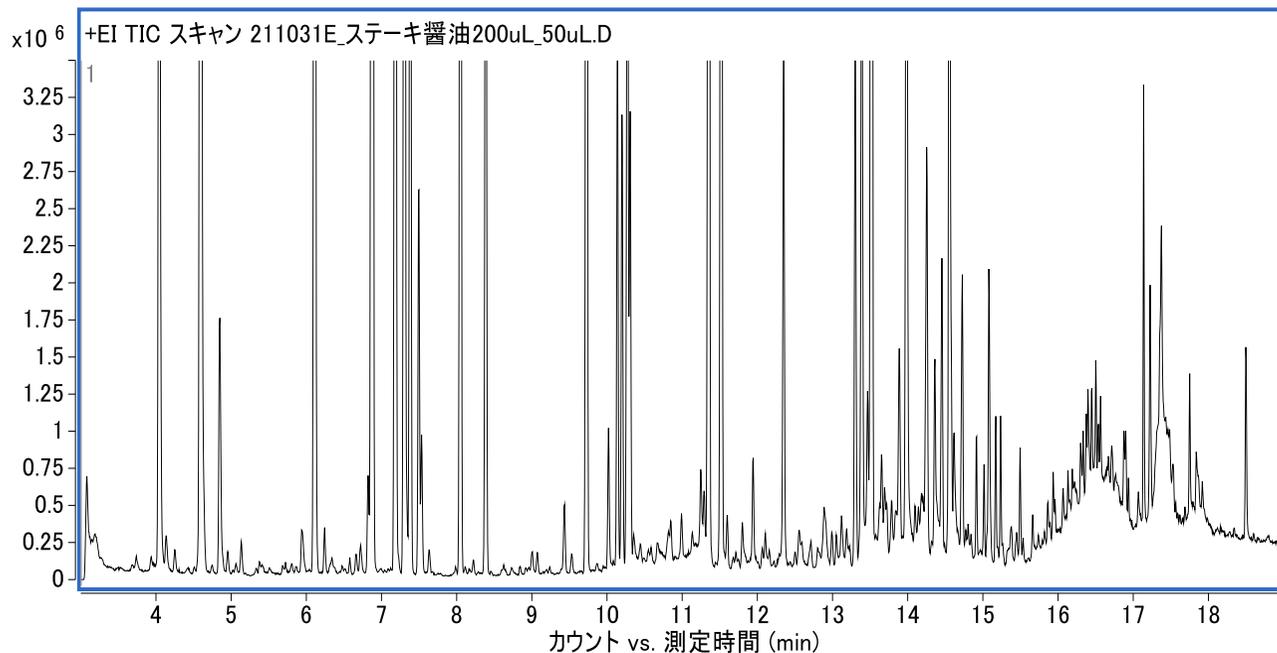


特許登録：(株)アイスティサイエンス

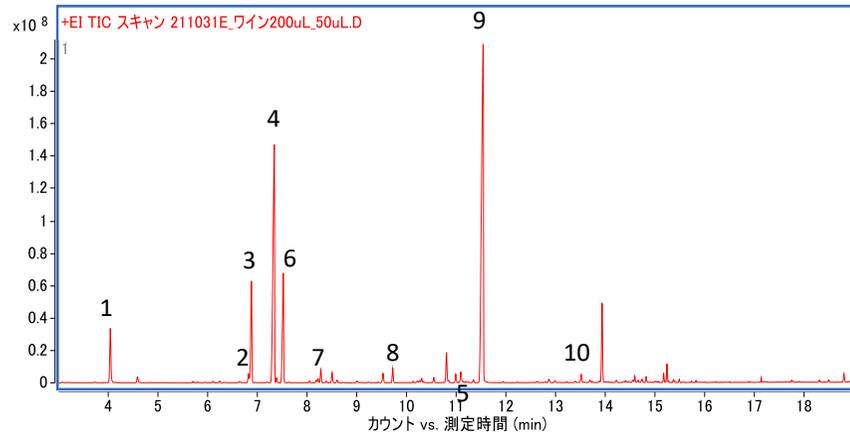
ステーキ醬油：アミノ酸/有機酸分析



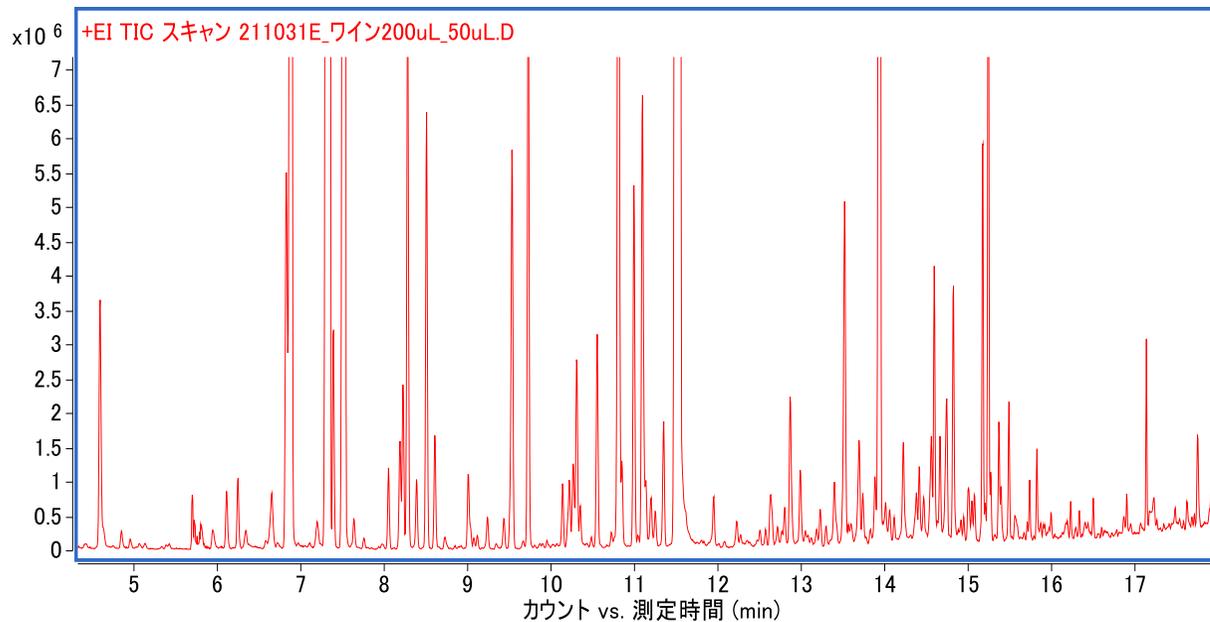
- | | |
|-------------------------|----------------------------|
| 1. Lactic acid-2TMS | 11. Threonine-3TMS |
| 2. Alanine-2TMS | 12. Malic acid-3TMS |
| 3. Valine-2TMS | 13. Aspartic acid-3TMS |
| 4. Phosphoric acid-3TMS | 14. Methionine-2TMS |
| 5. Leucine-2TMS | 15. Pyroglutamic acid-2TMS |
| 6. Isoleucine-2TMS | 16. GABA-3TMS |
| 7. Proline-2TMS | 17. Glutamic acid-3TMS |
| 8. Glycine-3TMS | 18. Phenylalanine-2TMS |
| 9. Succinic acid-2TMS | 19. Citric acid-4TMS |
| 10. Serine-3TMS | 20. Lysine-4TMS |
| | 21. Tyrosine-3TMS |



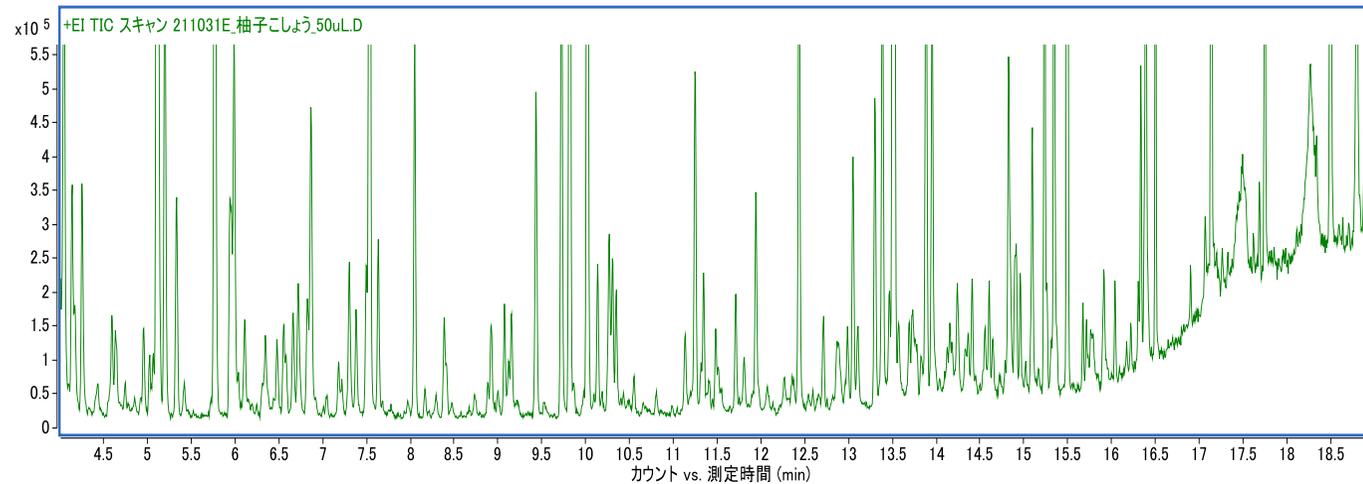
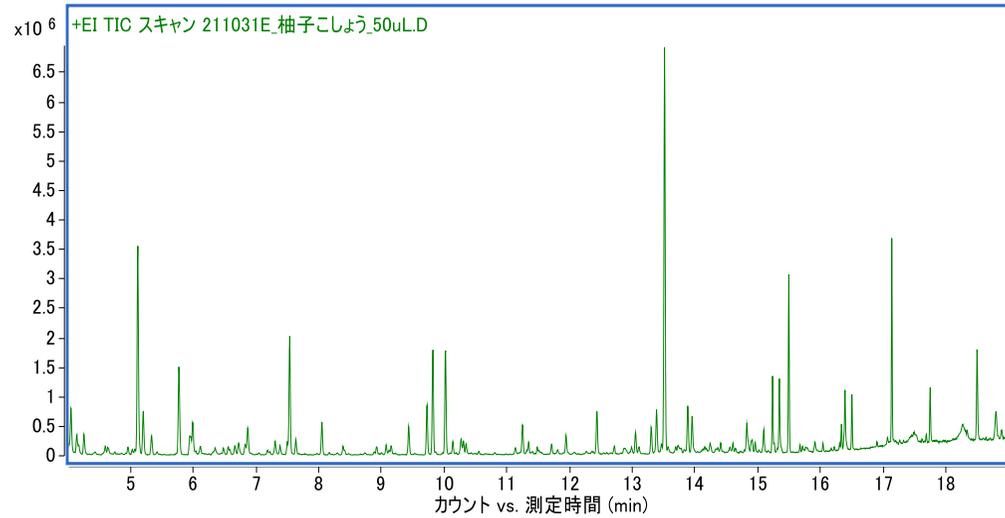
ワイン：アミノ酸有機酸分析



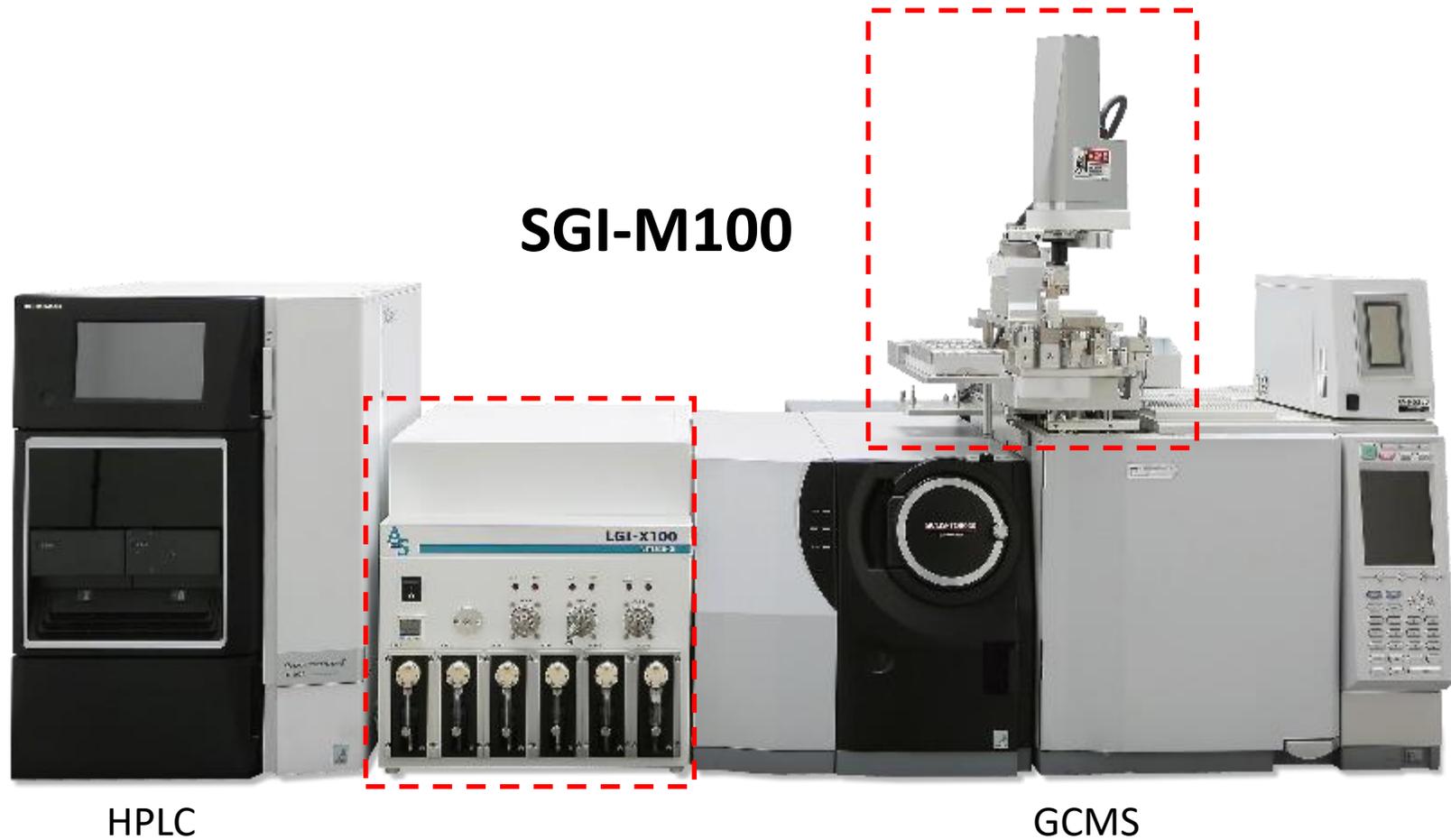
1. Lactic acid-2TMS
2. Ethanolamine-3TMS
3. Phosphoric acid-3TMS
4. Proline-2TMS
5. Glycine-3TMS
6. Succinic acid-2TMS
7. Serine-3TMS
8. Malic acid-3TMS
9. Tartaric acid-4TMS
10. Citric acid-4TMS



柚子胡椒：アミノ酸有機酸分析



オンラインSPE-LC-GC/MSシステム

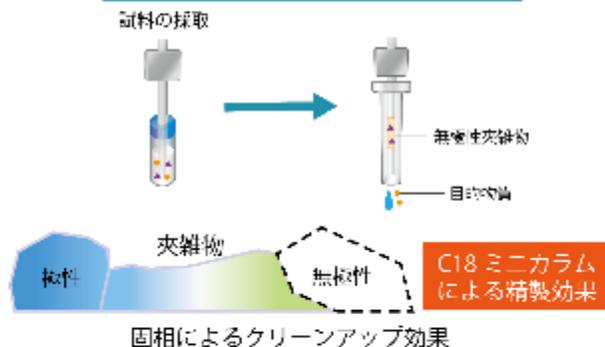


オンライン固相精製-分取液クロ-GC/MS

SPE → LC → GC

固相抽出のメリット

SPE (固相抽出装置)

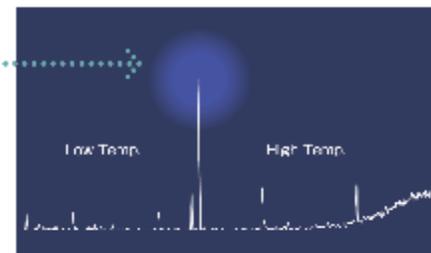
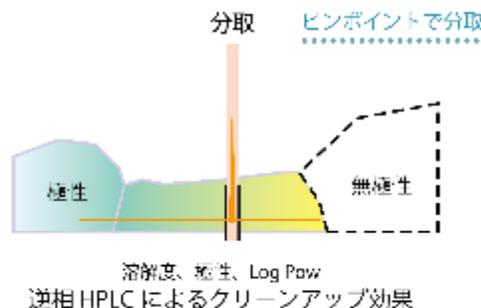


LC カラムにダメージを与えるような夾雑物を予め固相で除去します。また、固相で濃縮することで高感度分析が可能になります。

逆相HPLC-GCシステムのメリット

逆相 HPLC (分画装置)

GC (測定装置)



温度、沸点

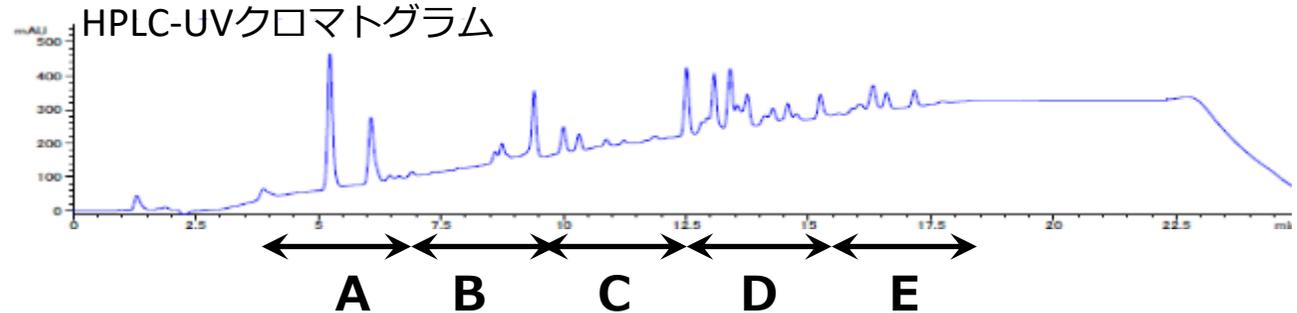
GC による高い分離機能

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。

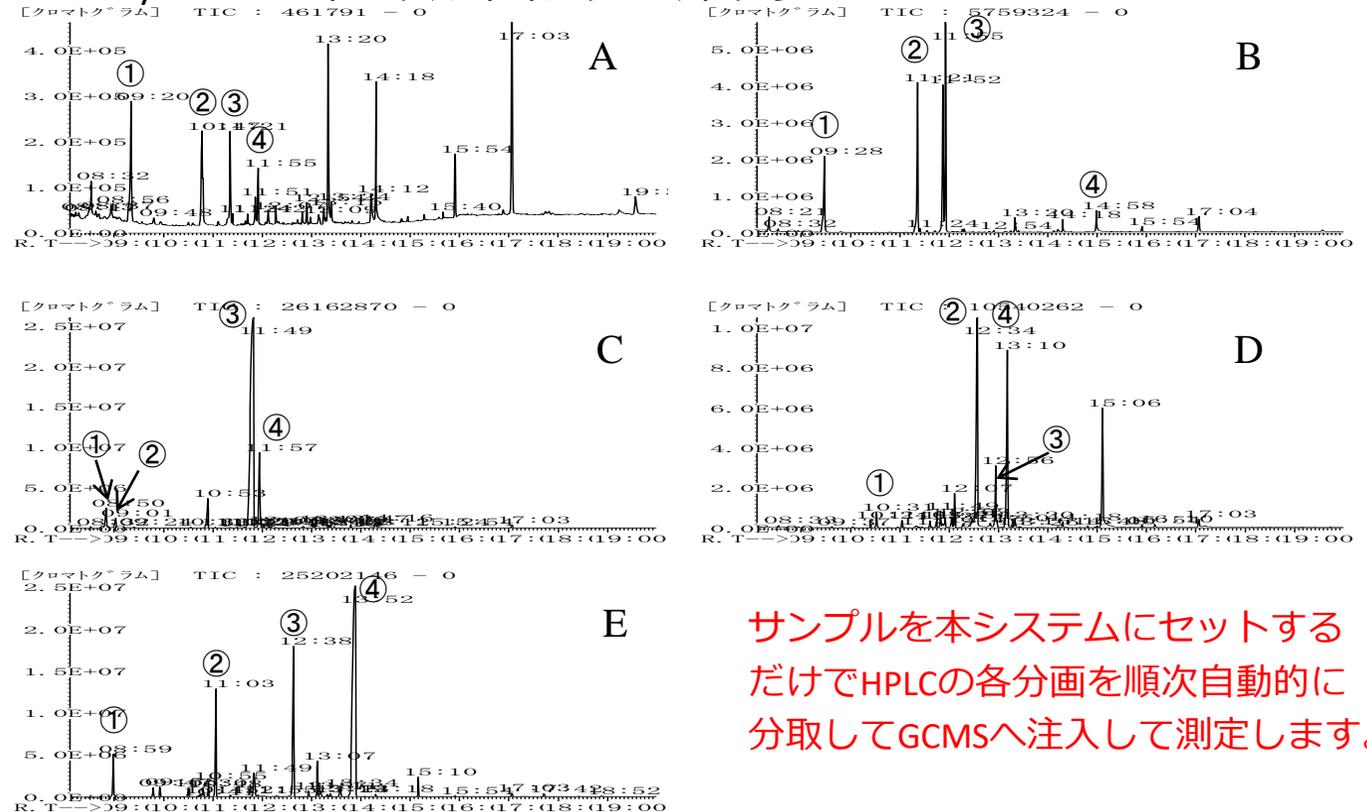
HPLCを分画装置として扱います。

分取液クロ全分画自動分析法

香水



GC/MS:SCANトータルイオンクロマトグラム



サンプルを本システムにセットするだけでHPLCの各分画を順次自動的に分取してGCMSへ注入して測定します。

アイスティサイエンスのブース

■ Hall6 6A-504 (島津製作所様の横)



是非お立ち寄りください！