

演題名

固相抽出技術を基盤とした自動前処理システムの開発とその応用

Title in English

Application and development of an automatic pretreatment system based on solid-phase extraction techniques

要旨 (Abstract)

弊社は GC 用大量注入口や固相抽出を基盤とした自動前処理装置を開発・製造している会社であり、農作物・加工食品・河川水の残留農薬分析やメタボローム分析をはじめとして自動化による省力化や分析精度・再現性の向上、溶媒使用量の削減、精製効率アップによる分析装置のメンテナンス頻度低下など、簡便かつ迅速で安定した分析の長期運用を提案している。

オンライン SPE-GC システム SPL-M100 はメタボローム分析に特化したシステムである。誘導体化処理（メトキシ化およびトリメチルシリル化）と GC/MS を組み合わせたプラットフォームは幅広い代謝物をカバーできることから、メタボローム分析の第一選択肢として挙げられる。しかしながら、水が誘導体化物の生成を阻害するため遠心濃縮（1 時間）や凍結乾燥処理（>8 時間）が必須であること、2 段階の反応による煩雑さなどが作業者の負担になっていた。固相誘導体化法（特許取得）はこれらの課題を解決する手法である。対象成分を固相に吸着させることで脱水・乾燥を容易かつ短時間で行うことができ、従来は十数時間かかっていた前処理をわずか 15 分で完了することができる。オンライン SPE-GC システムは上記の手法を最大限に活用したものであり、固相カートリッジのコンディショニングから試料負荷、洗浄、脱水、乾燥、誘導体化、溶出など一連の操作のみならず、溶出液を全量 GC へ注入することが可能な全自動前処理装置である。また、濃縮液数百 μL から 1-2 μL を注入するこれまでの固相抽出とは異なり、試料溶液の分析対象成分を全量 GC に導入することによって少ない試料でも同等の感度を得ることができる。血清/血漿、尿、唾液、糞便、肝臓など様々な生体試料でいずれも良好な再現性が得られている。

オンライン SPE-GC システムは代謝物分析に加えて、におい分析にも適用可能である。におい分析で頻用される手法としては、ジクロロメタンによる固-液または液-液抽出法、シリカモノリス捕集剤による溶媒抽出法、固相マイクロ抽出（SPME）に代表される加熱脱着法が挙げられる。溶媒抽出では前項で述べたようにサンプルの導入効率が低く、SPME では 1 本のファイバーを使い回すためキャリーオーバーや消耗による再現性の低下が懸念される。さらに加熱脱着法では吸着した成分を加温によって固相から脱離させるため熱に弱い成分では分析が困難になる。オンライン SPE-GC システムではこれらの課題を解決するため、気相中のにおい成分を固相カートリッジに吸着し、溶媒で溶出した成分を大量注入口に全量導入する“固相捕集-溶媒溶出法”による前処理を行う。溶出液の全量導入による高感度

化に加えて、固相カートリッジは前処理ごとに交換されるため濃縮部でキャリーオーバーが発生することがなく、溶媒溶出による常温での脱離が可能である。本システムを用いた液体調味料の分析では、原材料に由来する様々な香気成分を検出可能であった。

固相抽出技術による自動前処理システムの応用例の 1 つにオンサイトサンプリングへの活用が挙げられる。河川水分析の例を挙げると 1 分析あたり 500 mL の河川水を現場で複数採取し全て持ち帰る必要があるが、本システムでは必要試料量 0.5 mL と少ないことから現場で固相カートリッジに通液・濃縮した状態でサンプルを運搬することができ、それらをトレイにセットするだけで残りの前処理から分析までを自動で実施する。現在取り組んでいるプロジェクトもオンサイトサンプリングの一例であり、本プロジェクトを通じて現場で活用できる技術開発を目指したい。

日本動物学会第95回長崎大会2024

学際的アプローチによるバイオセンシング技術の実用化研究～生物学・工学・化学・農学による新展開～

2024年9月13日（金）18:00-20:00 F会場 A-31

固相抽出技術を基盤とした 自動前処理システムの開発とその応用



株式会社アイスティサイエンス
○新川翔也、浅井智紀、佐々野僚一

Beyond your Imagination

AiSTI SCIENCE

株式会社アイスティサイエンス



Analytical instrument developed by Saika Technological Institute

※雑賀技術研究所（和歌山市）

オンラインSPE-GCシステム基本構成

固相カートリッジを用いて抽出以降の前処理とGC測定を全自動化



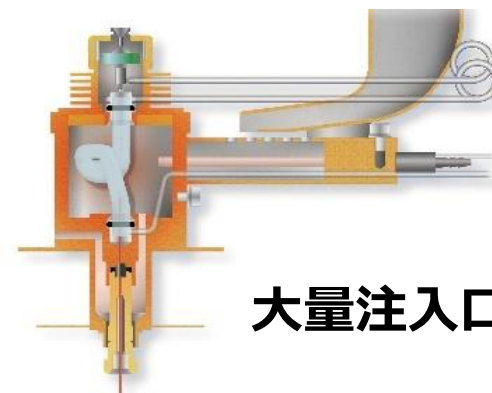
Flash-SPE

For Gas & Liquid Chromatography

特許
取得

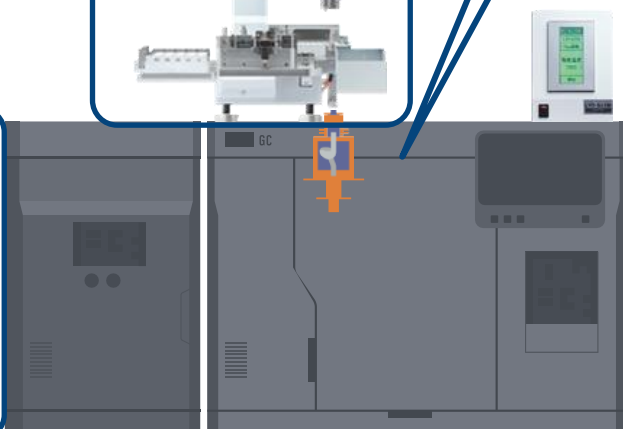
オンライン専用
固相カートリッジ

前処理ユニット



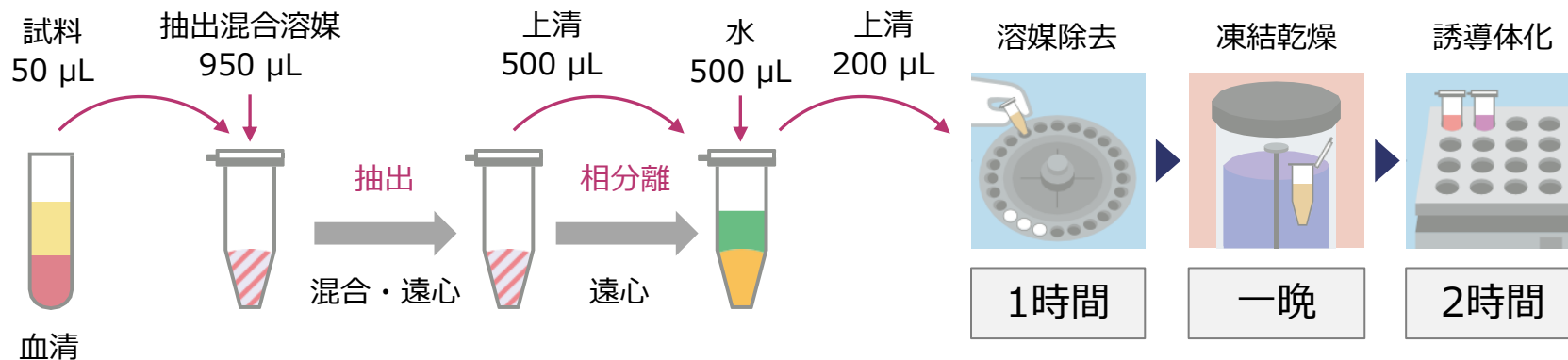
大量注入口

送液
ユニット

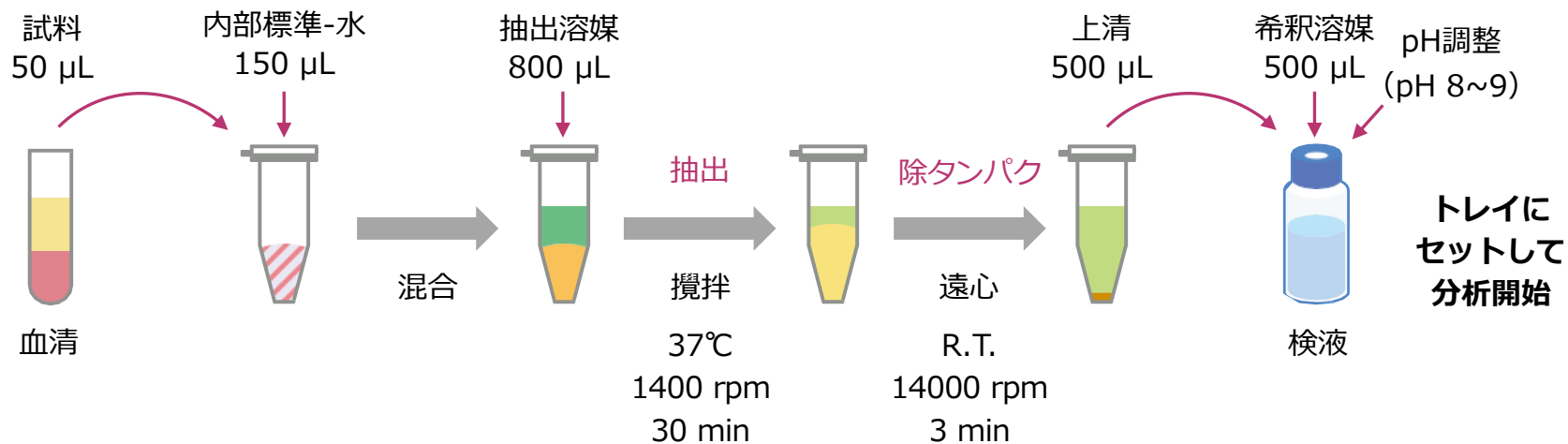


メタボローム分析例：ヒト正常血清

従来法（抽出：Bligh&Dyer法）

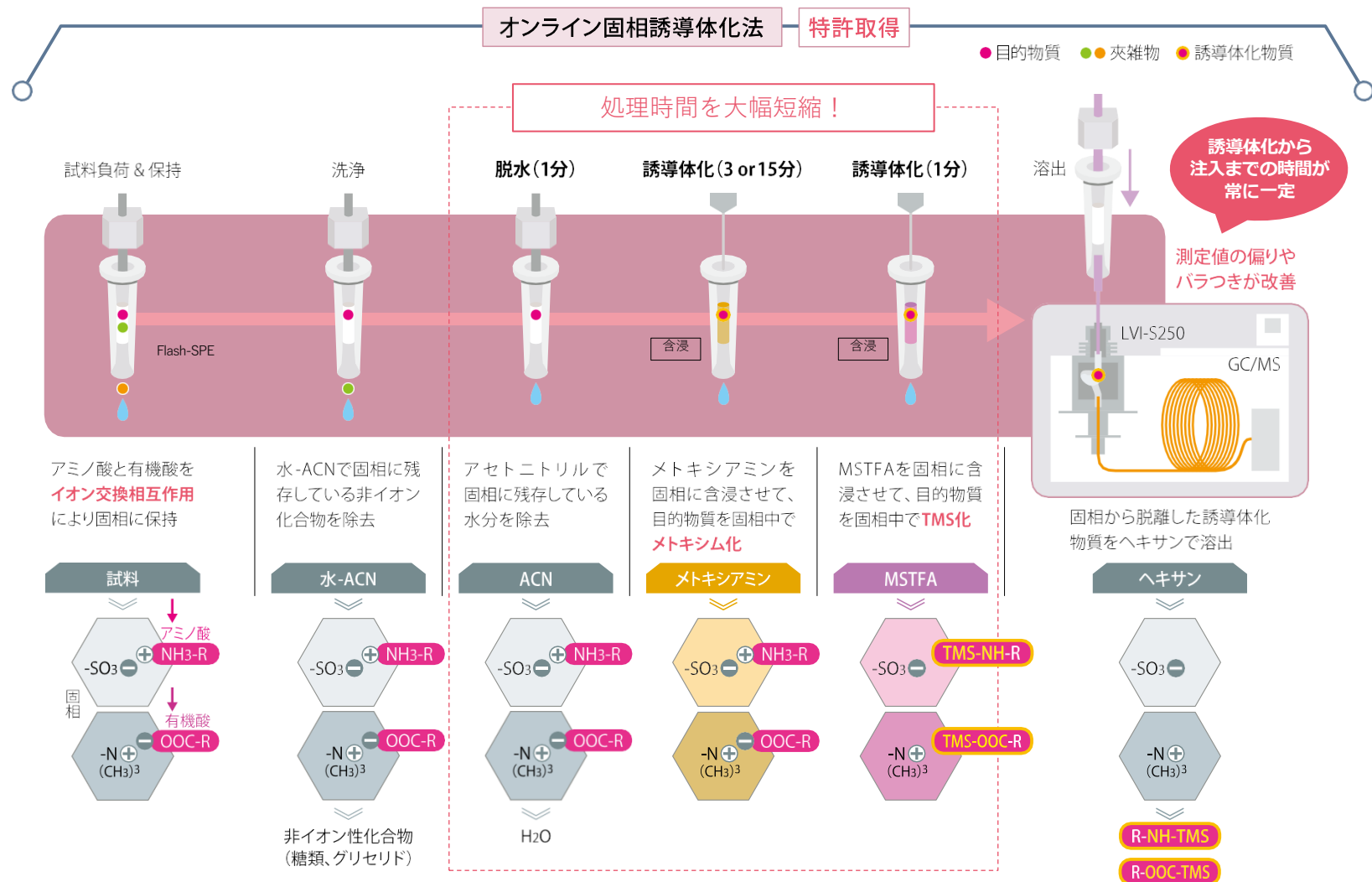


オンラインSPE-GC用 前処理例



誘導体化処理の効率化

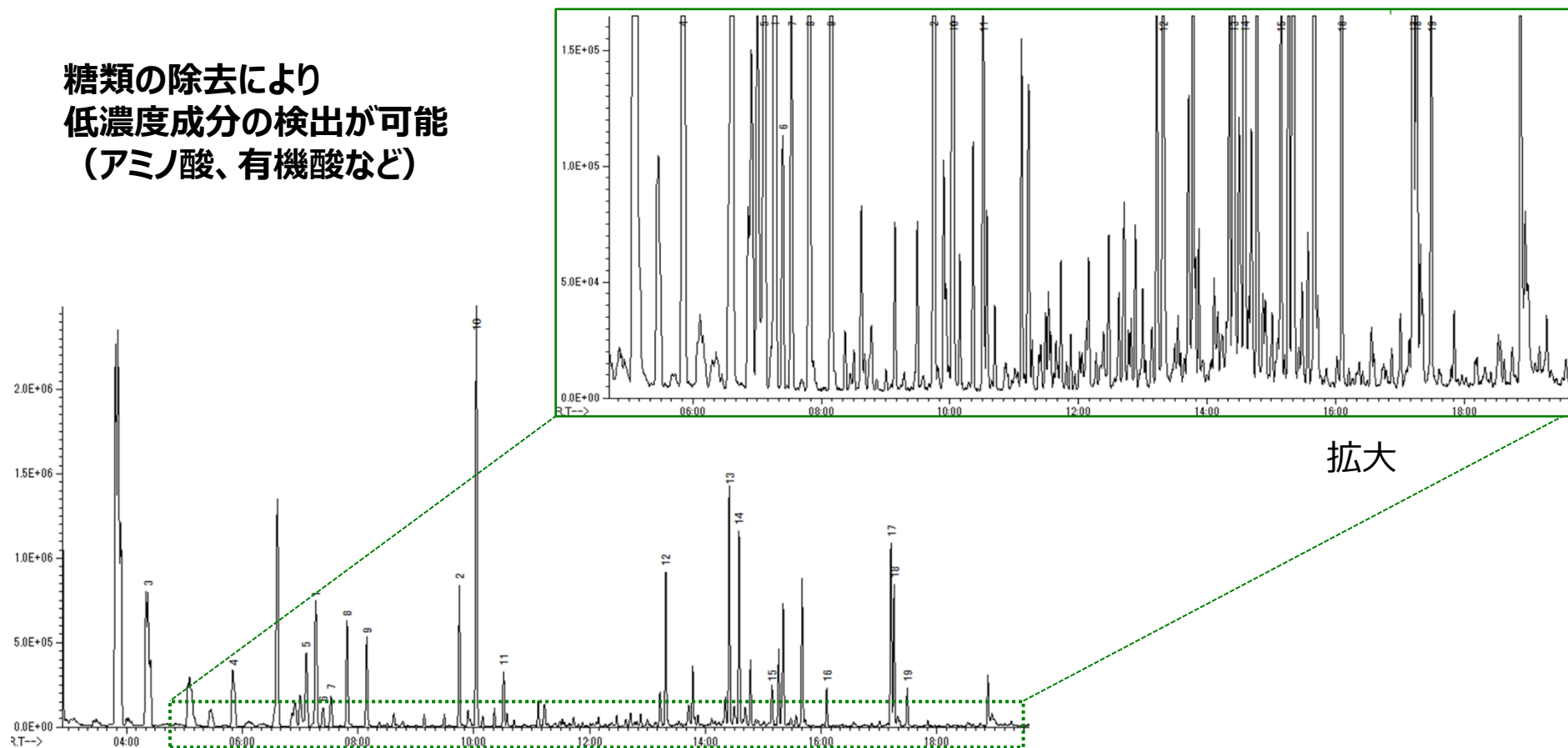
例：メタボローム分析



メタボローム分析例：ヒト正常血清

GC/MS トータルイオンクロマトグラム

糖類の除去により
低濃度成分の検出が可能
(アミノ酸、有機酸など)



メタボローム分析例：ヒト正常血清

表：血清試料における検出ピーク面積値（内部標準補正なし、n=5）

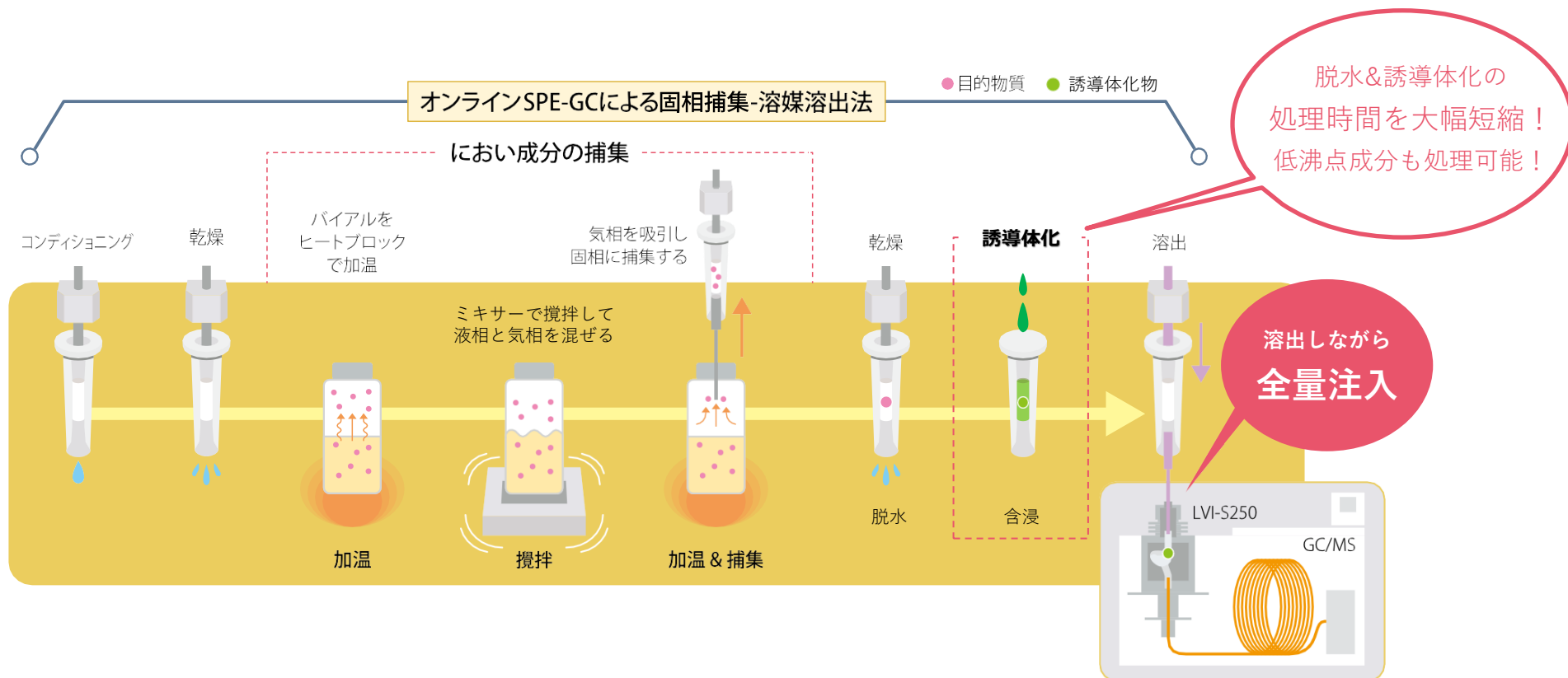
No.	化合物名	血清-1	血清-2	血清-3	血清-4	血清-5	Ave.	RSD, %
1	Alanine_2TMS	334,600	350,200	355,900	354,900	346,900	348,500	2.5
2	Valine_2TMS	243,400	249,100	252,400	250,000	240,600	247,100	2.0
3	Glycine_3TMS	41,200	45,320	44,200	41,390	41,800	42,782	4.4
4	Serine_3TMS	43,120	45,950	45,350	42,740	44,340	44,300	3.1
5	Aspartic acid_3TMS	20,790	20,680	18,860	21,390	25,040	21,352	10.6
6	Threonic acid_4TMS	16,010	17,030	16,220	19,310	20,380	17,790	11.0
7	Glutamic acid_3TMS	56,340	51,980	52,690	51,270	54,720	53,400	3.9
8	L-Glutamine_3TMS	61,450	60,640	62,000	65,270	66,760	63,224	4.2
9	Myristic acid_TMS	25,350	25,520	25,690	25,130	25,660	25,470	0.9
10	L-Lysine_4TMS	19,610	22,540	21,750	21,620	22,150	21,534	5.3
11	Tyrosine_3TMS	73,360	72,320	75,530	71,580	78,300	74,218	3.7
12	Palmitate_TMS	653,500	659,600	653,400	639,400	647,500	650,680	1.2
13	Linoleic acid_TMS	103,700	107,100	107,000	108,100	101,300	105,440	2.7
14	Oleic acid_TMS	109,200	117,900	116,900	114,200	111,500	113,940	3.2
15	Stearic acid_TMS	308,600	310,500	307,700	305,100	312,100	308,800	0.9
16	Arachidonic acid_TMS	18,280	17,290	17,470	17,450	17,750	17,648	2.2

におい分析への適用

表：揮発性成分の代表的なサンプリング方法

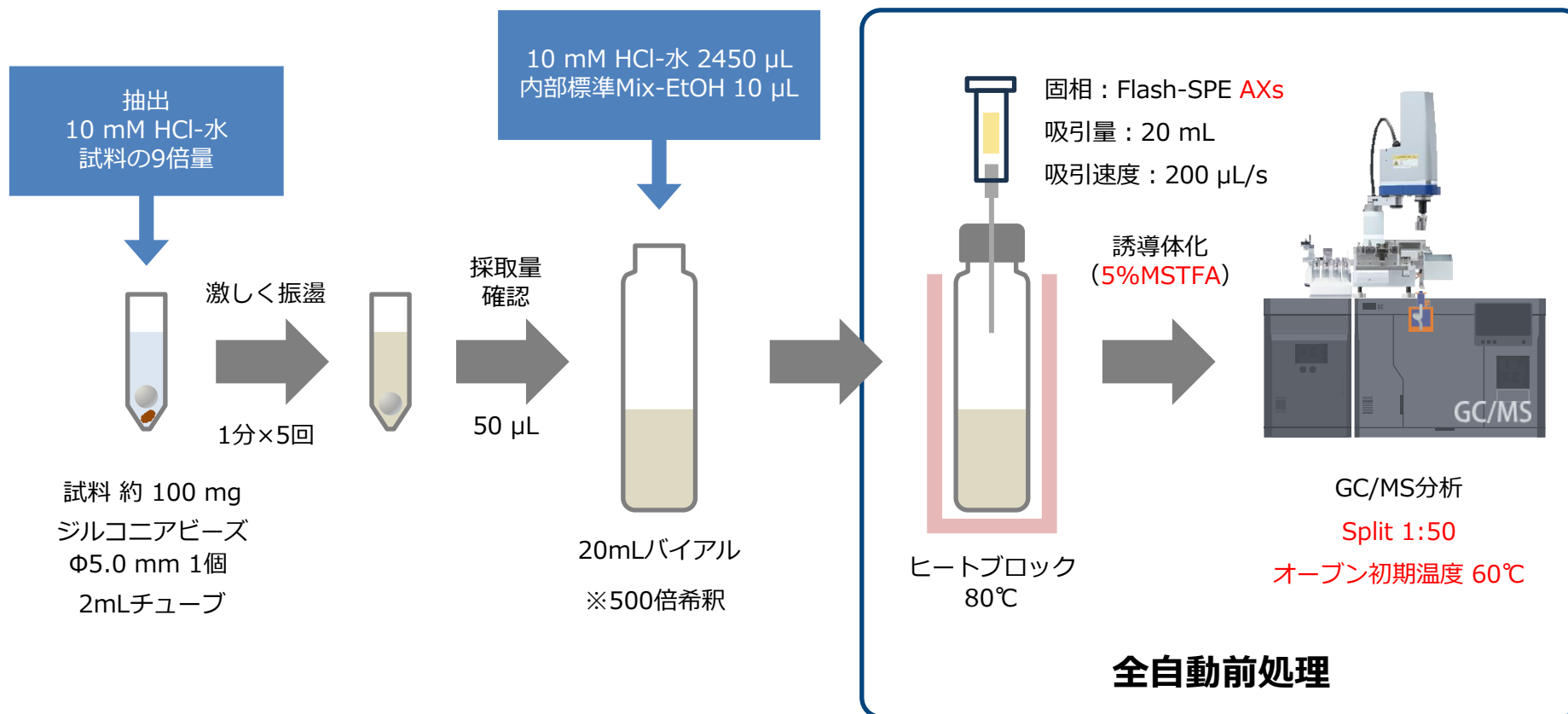
	溶媒抽出 ジクロロメタン	減圧蒸留 (SAFE)	スタティック ヘッドスパー ス法	捕集材＋加熱 脱着 (TD) SPME, Tenax, Monotrap	捕集材＋溶媒 溶出 SPE, Monotrap	オンライン SPE-GCによ る固相捕集- 溶媒溶出法
網羅性	◎	◎	◎	○	○	○
感度	△	○	△	◎	△	◎
自動化	△	×	◎	◎	△	◎
吸着剤の劣化	—	—	—	あり	なし	なし
誘導体化	△	△	×	△	△	○
熱分解	なし	なし	なし	あり	なし	なし
オンサイト サンプリング	×	×	×	○	○	○

固相捕集 – （誘導体化） – 溶媒溶出法



誘導体化分析例：糞便中短鎖脂肪酸

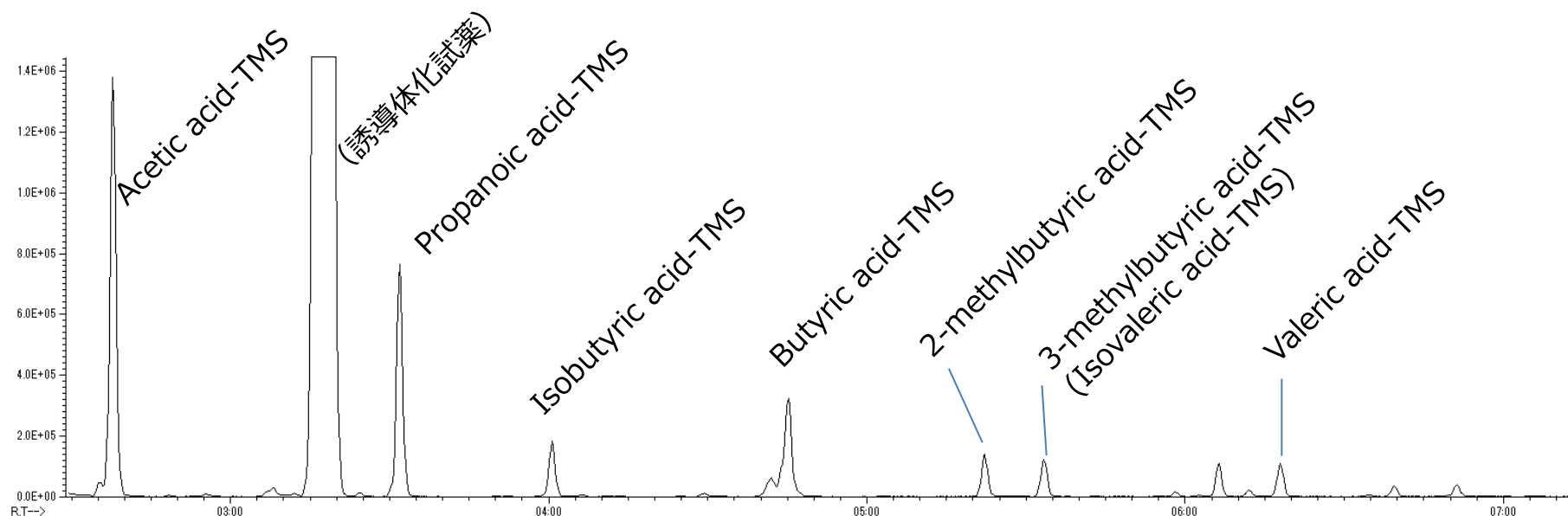
対象成分：短鎖脂肪酸（C2～C6）



誘導体化分析例：糞便中短鎖脂肪酸

GC/MS トータルイオンクロマトグラム

試料：糞便500倍希釈液 2.5 mL (10 mM 塩酸-水)



誘導体化反応により
良好なピーク形状が得られた

誘導体化分析例：糞便中短鎖脂肪酸

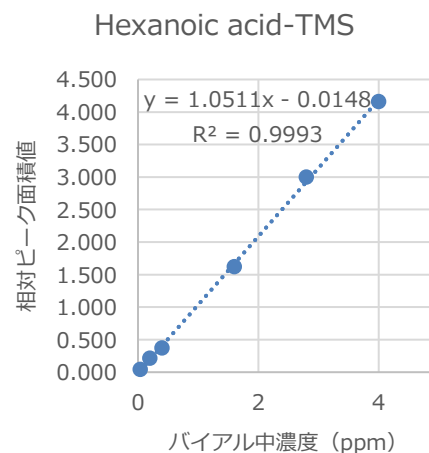
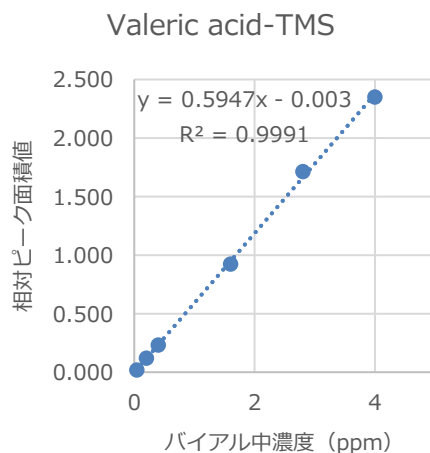
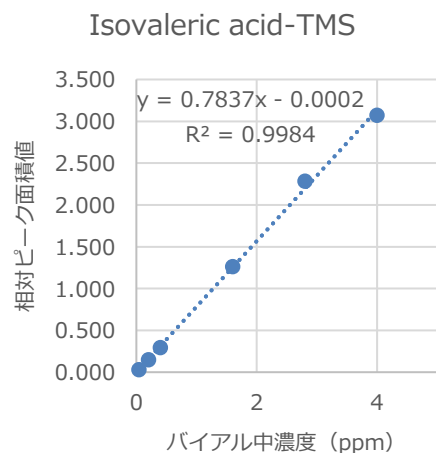
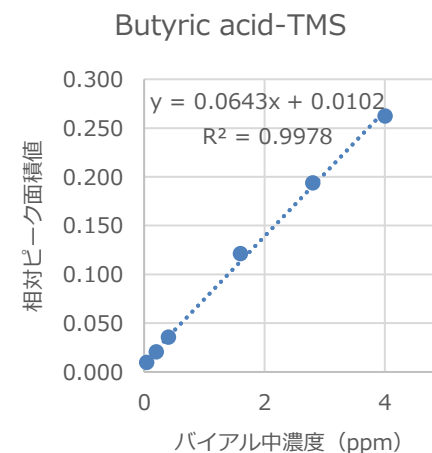
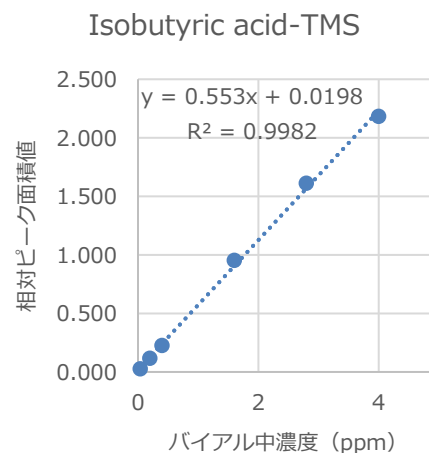
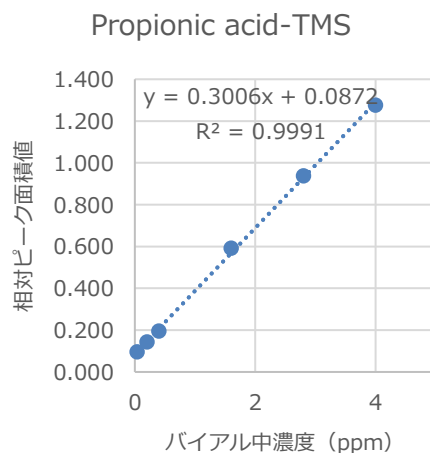
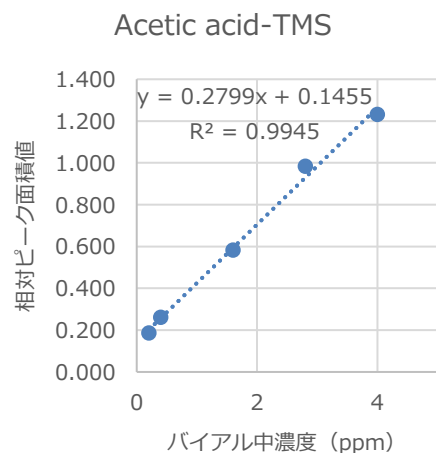
再現性

成分名	内部標準物質に対する相対面積値, N.D.: Not Detected (絶対面積値<1000)								
	水 (Blank)	糞便1	糞便2	糞便3	糞便4	糞便5	糞便6	平均	RSD (%)
Acetic acid-d4-TMS (IS)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	—	—
Acetic acid-TMS	0.172	1.649	1.614	1.666	1.629	1.616	1.670	1.641	1.5
Propionic acid-TMS	0.085	0.692	0.691	0.673	0.705	0.670	0.763	0.699	4.8
Isobutyric acid-TMS	N.D.	0.190	0.198	0.174	0.181	0.188	0.197	0.188	5.0
Butyric acid-TMS	N.D.	0.377	0.361	0.351	0.354	0.348	0.366	0.359	3.0
Crotonic acid-TMS (IS)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	—	—
Isovaleric acid-TMS	N.D.	0.199	0.204	0.191	0.192	0.196	0.193	0.196	2.6
Valeric acid-TMS	N.D.	0.143	0.157	0.148	0.156	0.138	0.136	0.147	6.1
Tiglic acid-TMS (IS)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	—	—
Hexanoic acid-TMS	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	—	—
Hexenoic acid-TMS (IS)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	—	—

各炭素数に応じた内部標準物質の補正によって良好な再現性が得られた

誘導体化分析例：糞便中短鎖脂肪酸

直線性



バイアル中濃度
0.04~4 ppmの範囲で
直線性を確認
(酢酸のみ 0.2 ppm~)

オンサイトサンプリングへの応用

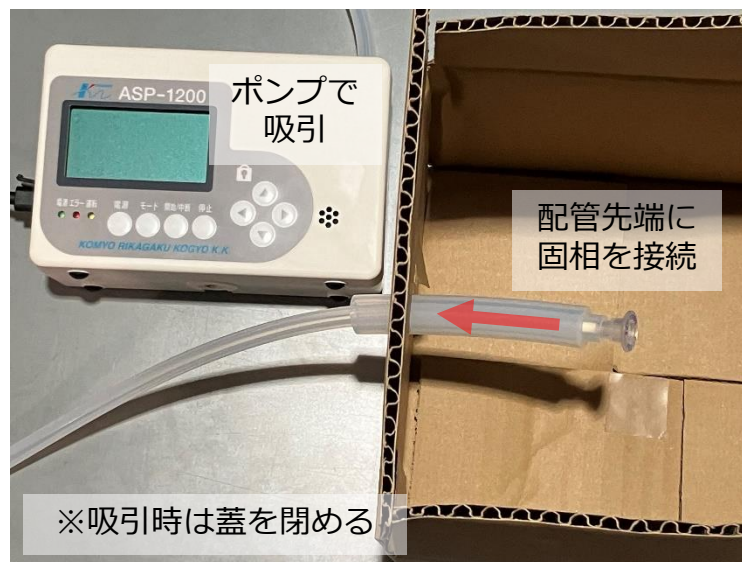
現場でサンプリングして持ち帰り

- 試料量の削減
- 試料の分解抑制
- サンプリング後（運搬・前処理）の省力化

予備実験：段ボール雰囲気からのサンプリング



オフライン用固相カートリッジ
Smart-SPE PBX-10

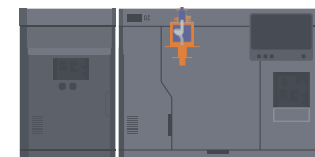


サンプリング量：5 L（約 500 mL/min、10分）



溶出溶媒 1 mL
アセトン/ヘキサン（1/3）
バイアルに受ける

直接注入 40 µL



大量注入口 + GC/MS

段ボール雰囲気からのサンプリング

1-octen-3-ol

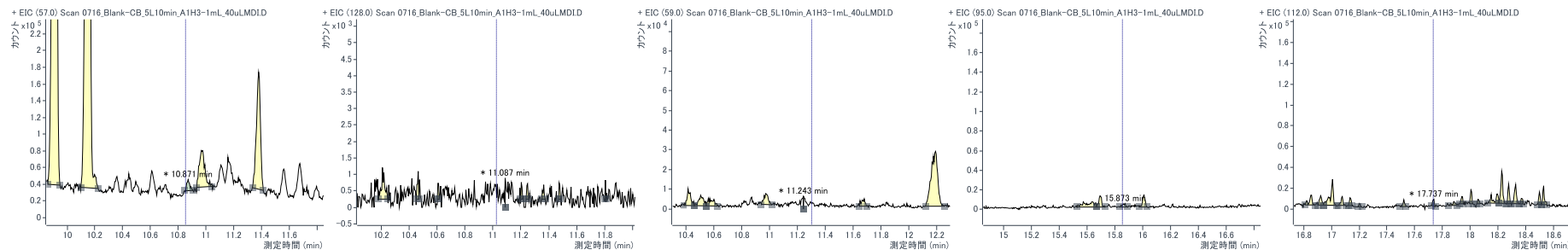
3-octanol

3-octanone

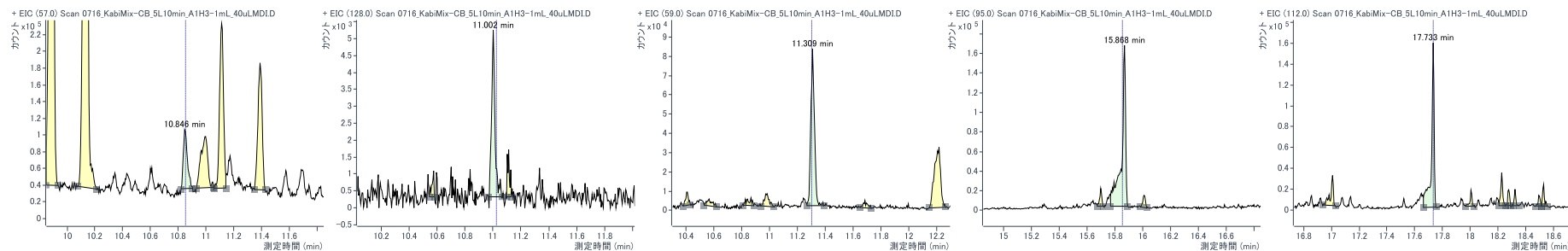
2-MIB

Geosmin

Blank



STD



Blank : 段ボールのみ

STD : 段ボール中パラフィルムに 100 ppmメタノール溶液を 10 μ L滴下

使用固相 : Smart-SPE PBX-10

サンプリング条件 : 定体積モード (5 L, 約 500 mL/min)

段ボール雰囲気から
カビ臭成分の濃縮・検出が
確認できた

- 固相カートリッジを用いたオンラインSPE-GCシステムによる自動前処理によって、分析作業の効率化が可能。
- GC/MSメタボローム分析で必須となる脱水＋誘導体化処理の時間を大幅に短縮し、逐次前処理によって再現性も改善。
- 揮発性成分分析においては誘導体化処理によってテーリングし易い成分（短鎖脂肪酸）でも良好なピーク形状が得られた。
- オンサイトサンプリングへの適用を検討し、段ボール雰囲気から指定成分を濃縮・検出することが可能であった。

ご清聴ありがとうございました

詳細はHPの下記フォームよりお問い合わせください



株式会社
アイスティサイエンス

Tel.073-475-0033

イベント

サポートお問合せ

その他お問合せ

Metabolomics ソリューション 製品情報 分析方法 アプリケーションノート ピックアップ 会社概要 テクニカルサポート