

食品中のメラミン分析のためのトータルソリューション Agilent 5975C GCMS, 1200RRLC および 6410 トリプル四重極 LCMS システム

Agilent Technologies



概要

1. 食品中のメラミン問題についてのレビュー

2. Agilent の3つのソリューション

スクリーニング分析: 5975C GCMS

定量分析: 1200RRLC

高感度 & 高選択性分析: 6410 トリプル四重極 LCMS

3. ソリューションの比較

食品に混入したメラミン問題のレビュー

- ⇒2007年3月15日:カナダのペットフード製造業者が US Food and Drug Administration (FDA)に、ペットフードを食べた動物の死亡を通知
- ⇒獣医専門家のDr. Dan McChesney はFDAとともに、メラミンがペットの死亡に「確実に関連している」と提言し、他の要因があるかどうかの確認をするさらなる研究が行われた
- ⇒FDAは、汚染されたペットフードに関して、1,950匹の猫と2,200匹の犬の死亡を含む1万7000以上の消費者の苦情を受けたとの声明を出す
- ⇒FDAはペットフードリコールに関連した16件の動物の死亡を公式に記録。約100のペットフードブランド、6000万個以上のパッケージを含むリコールに拡大

- ⇒2008年、中国においてメラミンが混入された粉ミルクの摂取で、乳幼児に腎不全などの健康障害が多数発生
- ⇒2008年9月20日:日本において、中国から輸入した加工食品の原料に、メラミンの混入が確認された製造者からの牛乳を使用していることが確認され、事業者による自主回収が行われる旨の情報提供があったため、厚生労働省よりメラミン混入事業への対応について通知が出された

メラミンについて

Name: 1,3,5-Triazine-2,4,6-triamine

Formula: C₃H₆N₆

Molecular Weight: 126

CAS No.: 108-78-1

Utilities:

- ⇒結晶は白色もしくは無色で、食器や他のプラスチック製品の製造に用いられる合成樹脂
- ⇒人体の目、皮膚、鼻、およびのどの軽い炎症をひきおくことがある
- ⇒Etc.

Sources: OSHA, CDC

メラミン分析におけるAgilentのソリューション

⇒Agilent **5975 シリーズ GC-MS**、Agilent DB5-MS キャピラリカラムは、**US FDA** によって、さまざまなマトリクス中におけるメラミン有無のスクリーニングに用いられました

⇒Agilent **Zorbax Rx-sil C8 LC カラム** は、**US FDA** によってメラミンの定量分析に用いられました

⇒Agilent **6410 トリプル四重極 LCMS** は、**シンプル, 高感度, 高選択性** を必要とするメラミン分析に非常に有効です

<FDA情報>

<http://www.fda.gov/cvm/GCMSMelamine.htm>

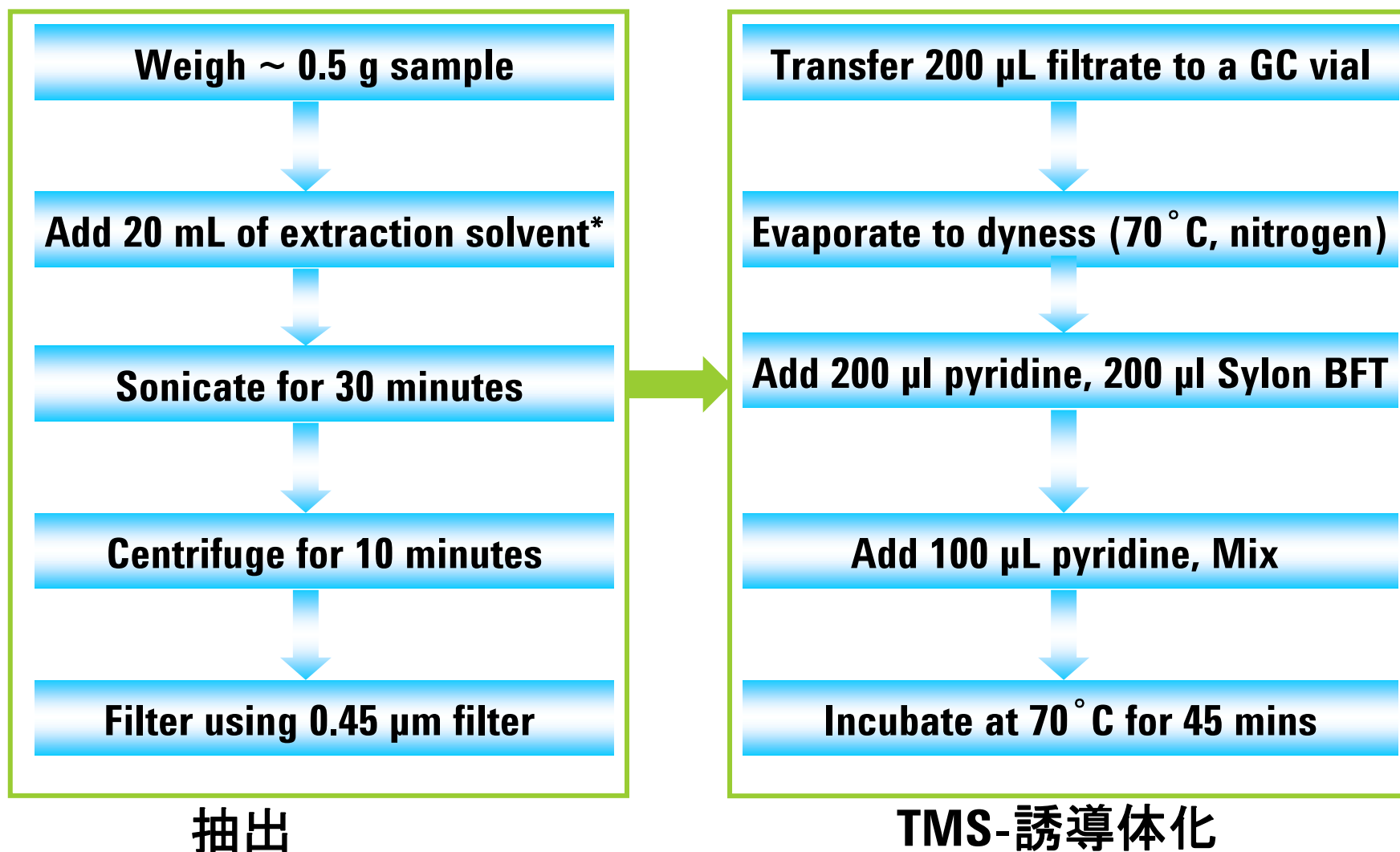
<http://www.fda.gov/cvm/melamine04022007.htm>

GCMS ソリューション

- ⇒ GC/MSはさまざまなマトリクス中における、メラミンおよび関連物質の有無のスクリーニングに用いられる
- ⇒ スクリーニングの濃度レベルは 約10 $\mu\text{g/g}$ 以上
- ⇒ サンプルは acetonitrile/water/diethylamineの混合溶媒を用いて抽出
- ⇒ 分析対象成分は、トリメチルシリル誘導化



GCMS ソリューション—サンプル前処理 (FDAによる)



*10:40:50 DEA : H₂O : Acetonitrile

GCMS ソリューション—装置パラメータ(FDAによる)

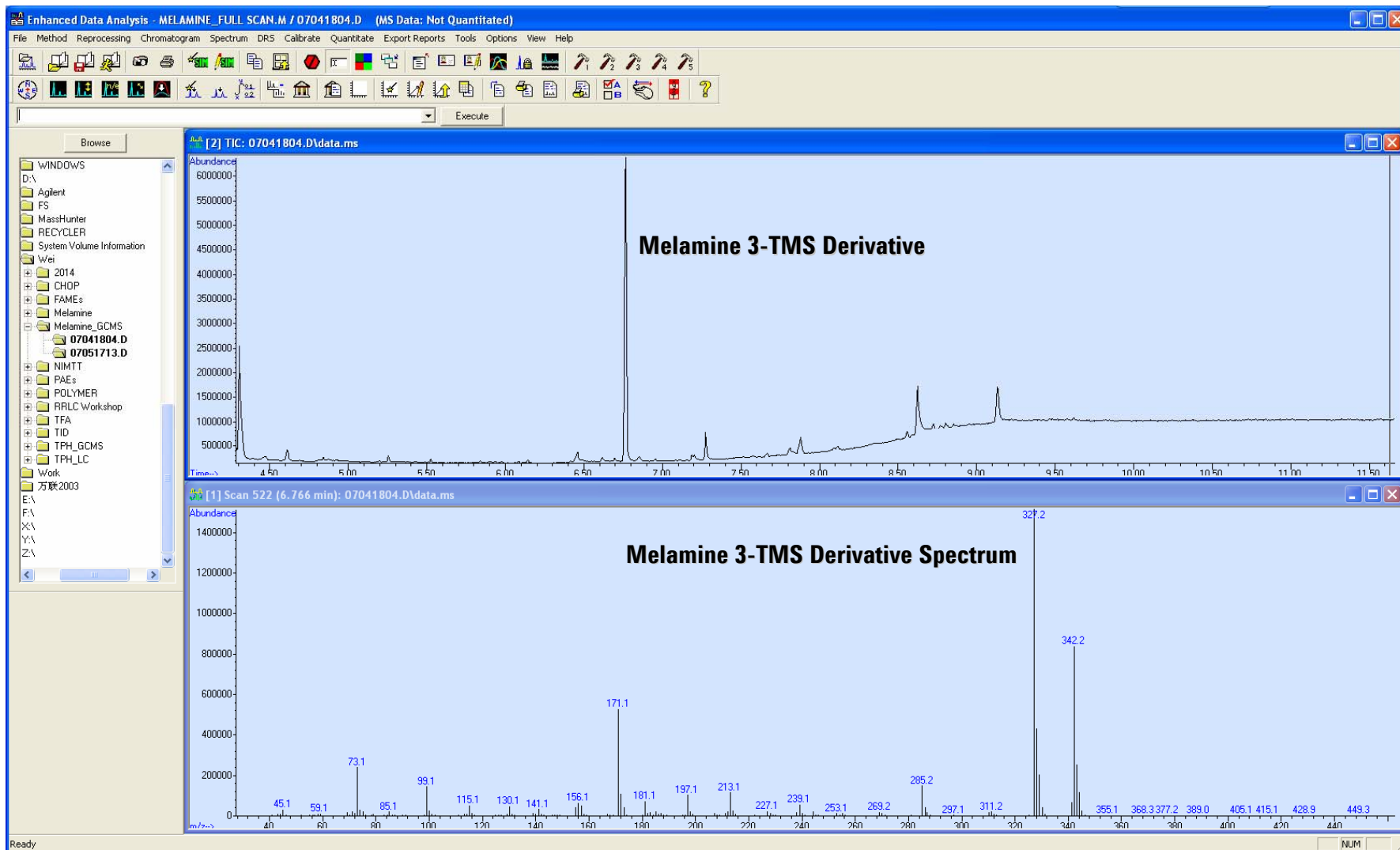
GC

Column	30m DB-5MS 5% phenyl 95% dimethyl-polysiloxane
	ID: 0.25mm Film Thickness: 0.25 microns
Inlet Temperature	280 ° C
Detector Temperature	290 ° C
Injection Mode	Splitless
Injection Volume	1 µL
Carrier Gas Flow	He at 35 cm/sec (constant flow)
Oven Program	75° C (hold 1 minute) to 320° C at 15° C/minute (hold 2.67 min)

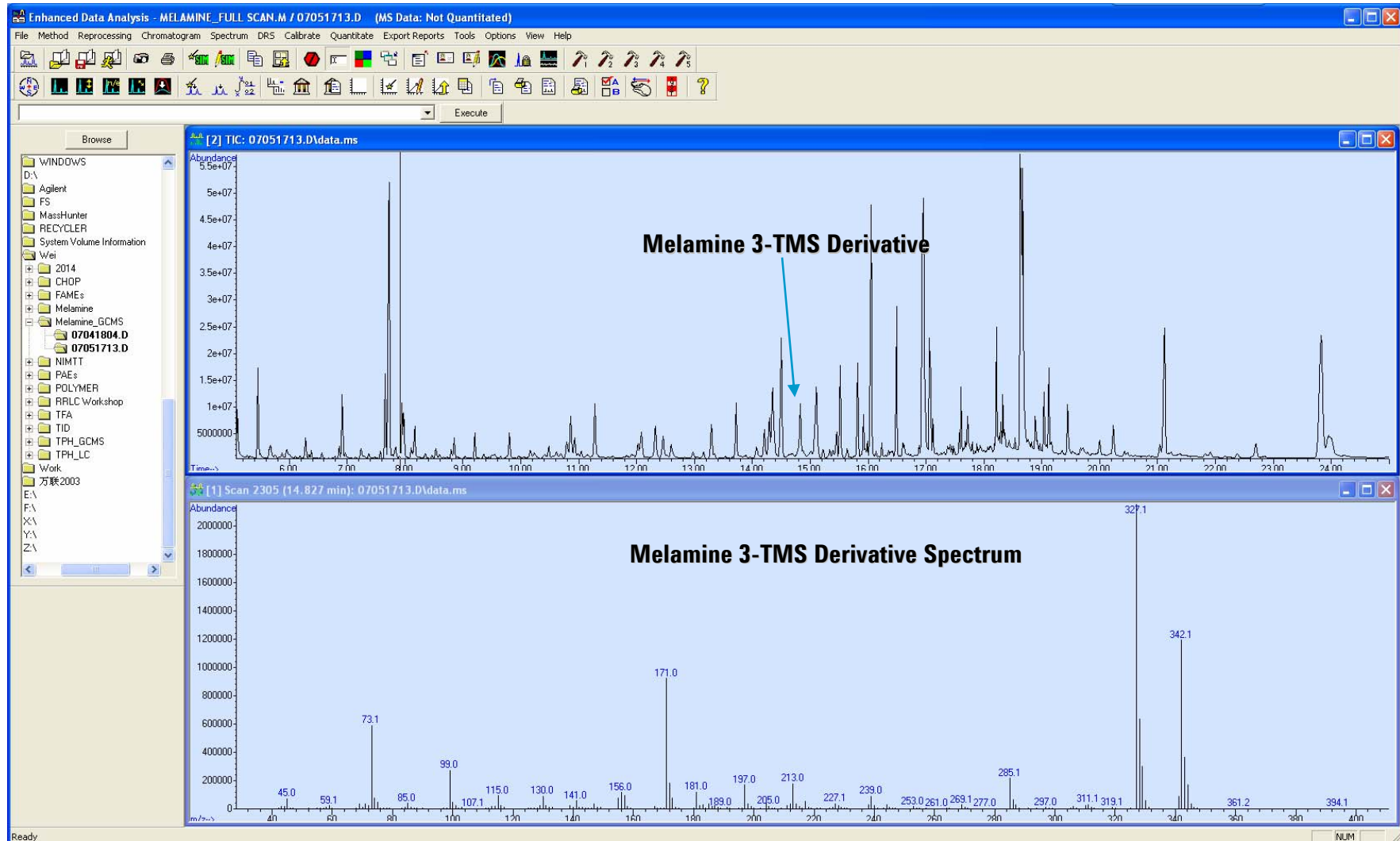
MS

Acquisition parameters	El; scan mode, 50-450 amu
Sampling Rate	2 (scan rate at 3.58 scans/sec)
Threshold	100
Filament Delay	6 minutes
MS Temp	230° C (Source); 150° C (Quad)

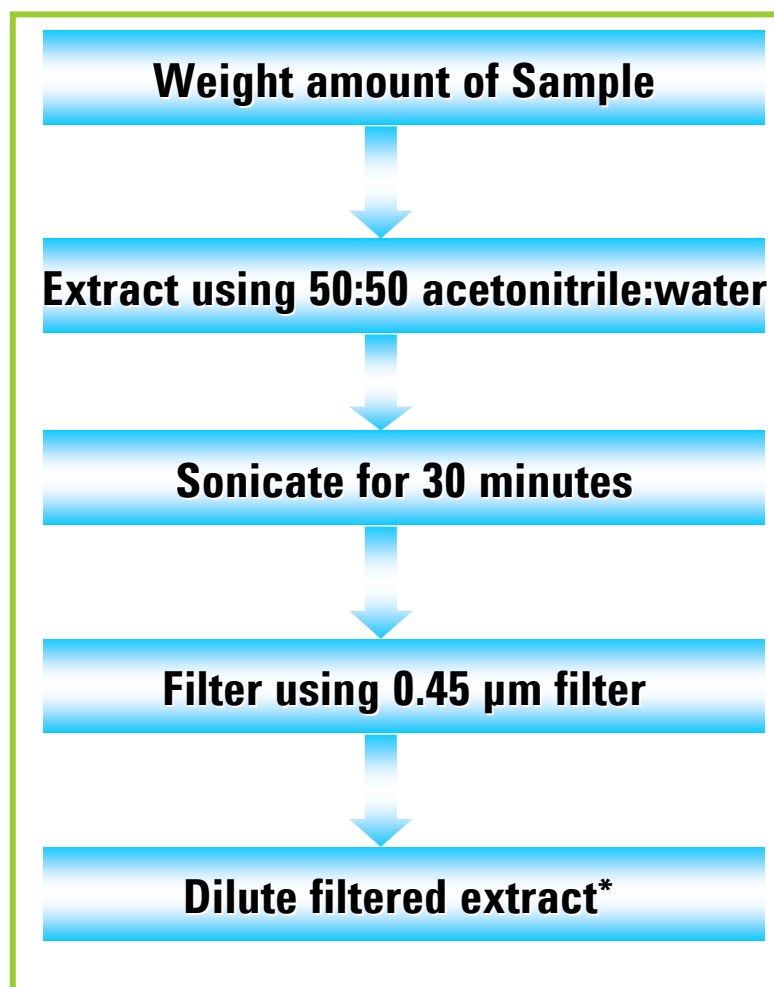
GCMS ソリューション—標準物質のクロマトグラム & スペクトル



GCMS ソリューション—サンプルのクロマトグラム & スペクトル



LC ソリューション



サンプル前処理 (FDAによる)

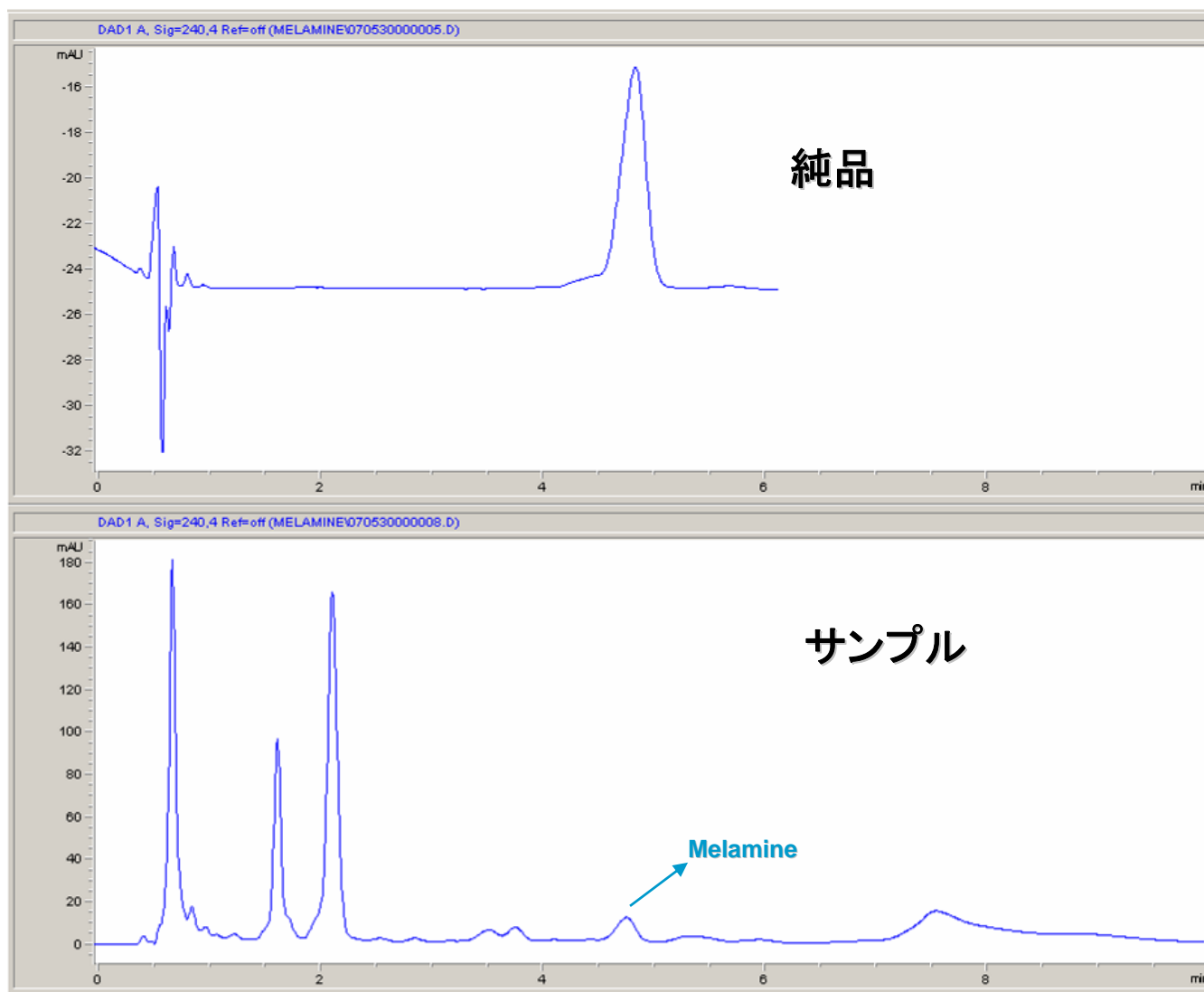
*250 µl extract + 750 µl solvent 2 to maintain solubility of matrix components



Column: Zorbax Rx C8
Buffer: 10 mM citric acid, 10 mM sodium octane sulfonate adjusted to pH 3.0
Mobile phase: 85:15 buffer: acetonitrile
Flow rate: 1.0 ml/min.
Injection volume: 10 µL
Column thermostat: 40 °C
Detection wavelength: 240 nm
Spectral collection: 200 – 400 nm
Run time: 10 min.

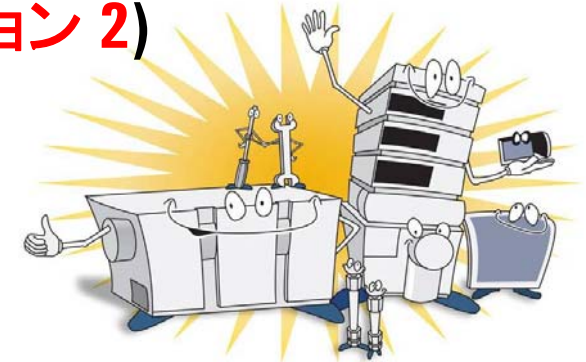
装置パラメータ (FDAによる)

LC ソリューション—典型的なクロマトグラム



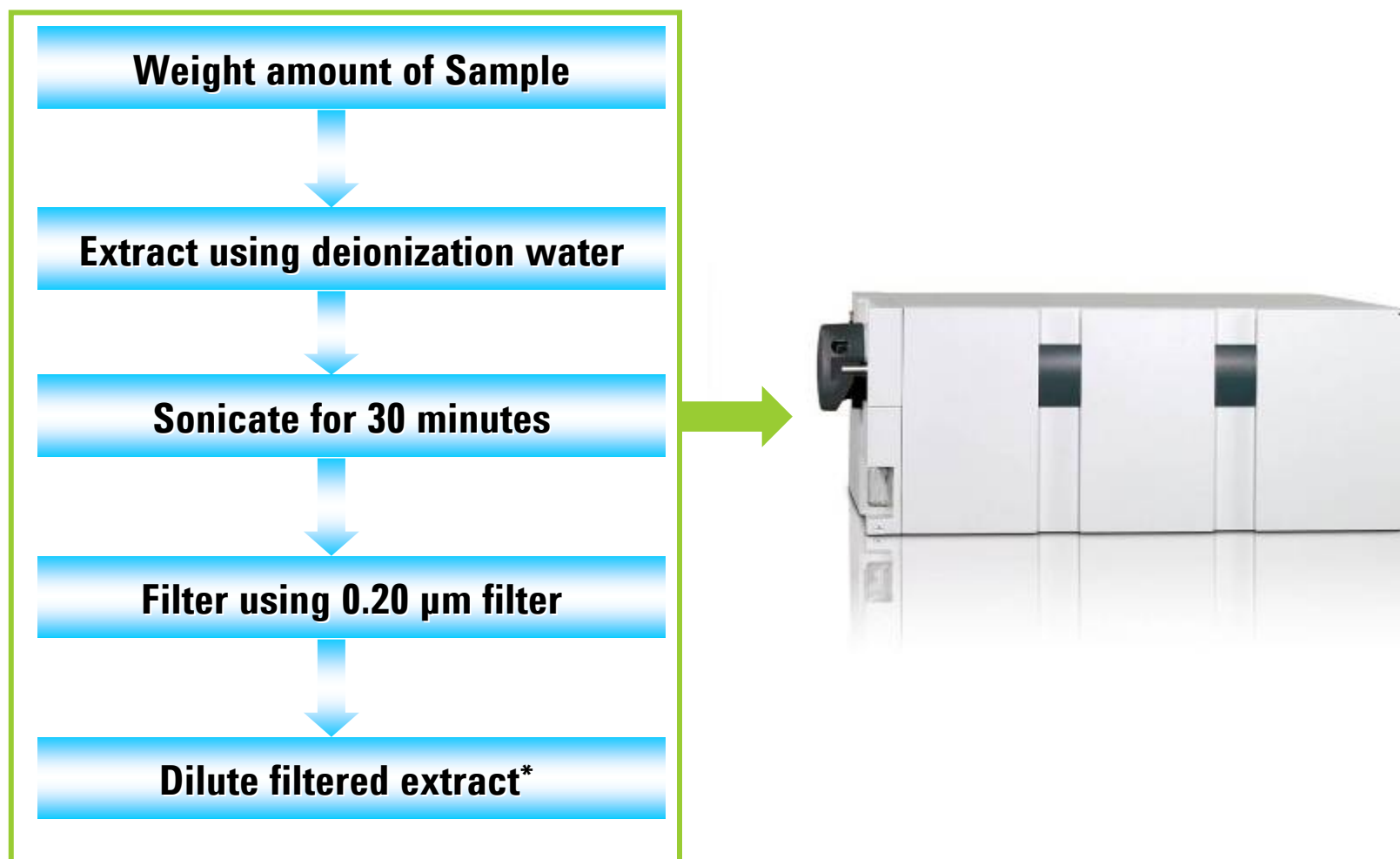
LCMS ソリューション

- ⇒ Agilent 6410 トリプル四重極 LCMSは、非常に高感度で高選択的なメラミン分析を提供
- ⇒ メラミンは通常の逆相クロマトグラフィーでは保持(分離)しきれない
- ⇒ トリプル四重極の原理的な特徴により、カラムで十分に保持(分離)されなくてもマトリクスを除去できる (ソリューション 1)
- ⇒ TDFHA* はC18 カラムでメラミンの保持(分離)を向上させるためのイオンペア剤として用いられる (ソリューション 2)



*TDFHA: tridecafluoroheptanoic acid

LCMS ソリューション 1,2—サンプル前処理



*diluted with DI water, when separating on ion pair reverse phase chromatography, add 50 µL 250 mM TDFHA into 1 mL sample

LCMS ソリューション 1—装置パラメータ

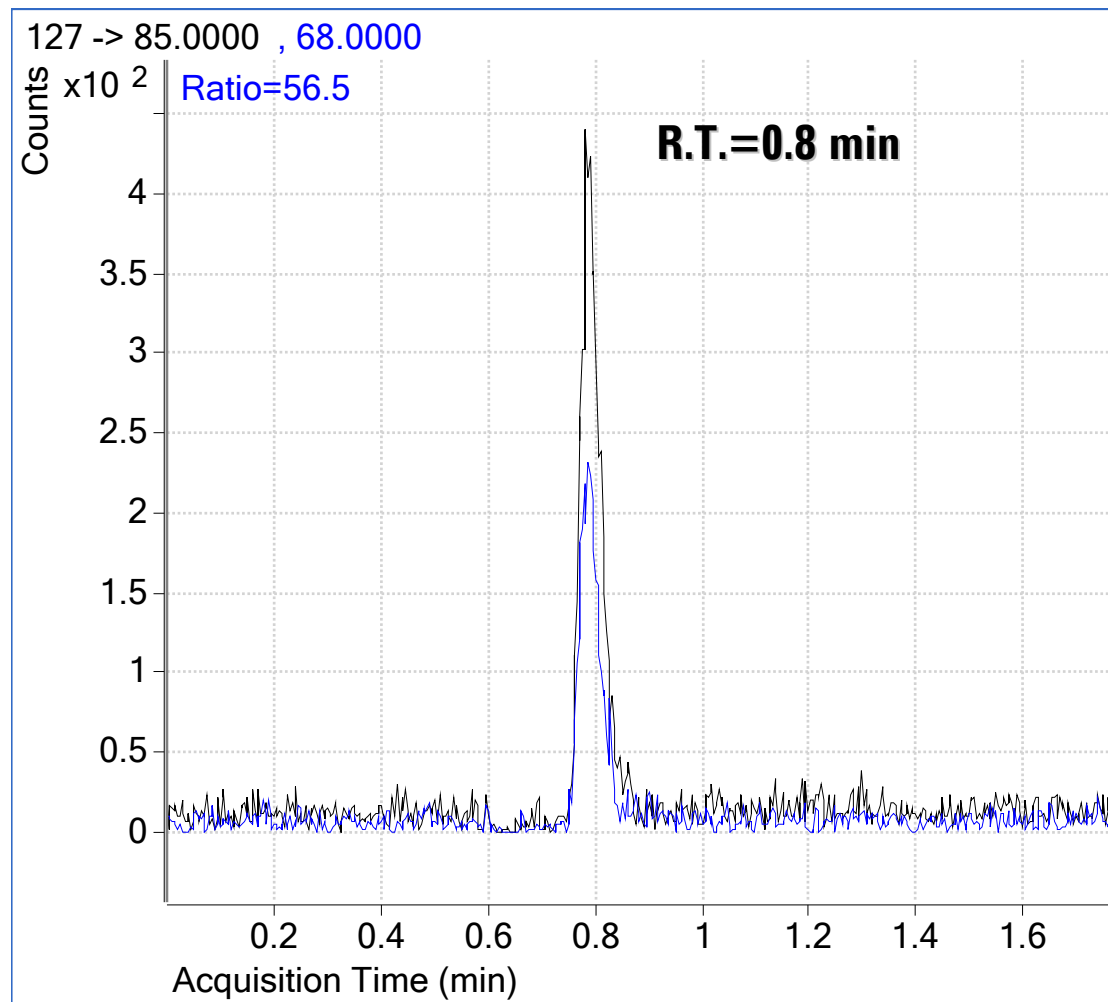
LC

Column	Zorbax Eclipse Plus-C18, 2.1 x 50 mm, 1.8 um
Flow Rate	0.2 mL/min
Mobile Phase	A=aqueous 20 mM ammonium acetate pH 5.1 B=Methanol
Isocratic	10%B
Anal. Time.	3 min
Injection Vol.	5 uL

MS

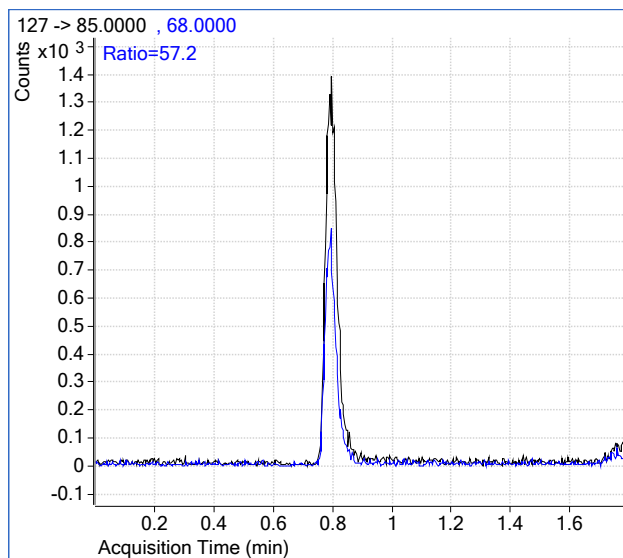
Source	ESI
Ion polarity	Positive
Drying Gas Temp.	350° C
Drying Gas Flow.	10 L/min
Nebulizer	45 psi
Vcap	4000 V
Fragementor	120 V
Collision energy	20 V for Transition 127.0->85.0 (quantiation ion) 35 V for Transition 127.0->68.0 (qualifier ion)

LCMS ソリューション 1 — 検出限界

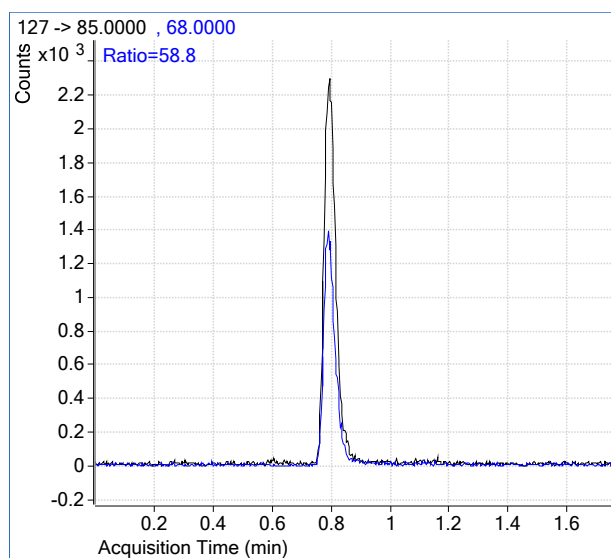


Melamine- Aldrich Std 50 ppt

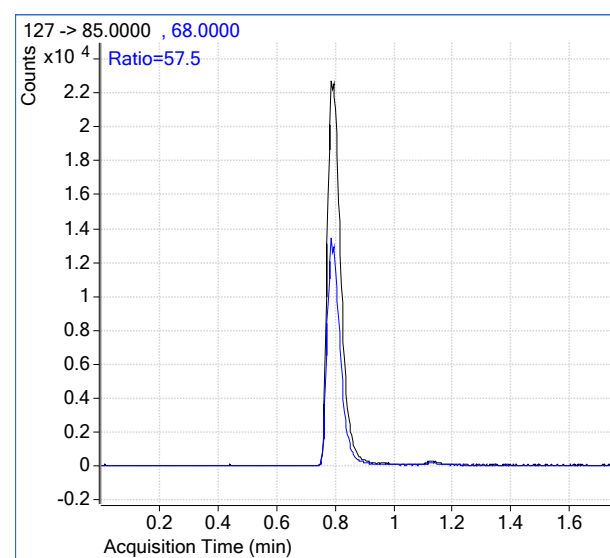
LCMS ソリューション1—実サンプル



Pure Product



Rice Protein



Corn Meal

マトリクスの影響を受けない、良好なピーク形状

LCMS ソリューション 2—装置パラメータ: イオンペア RPLC

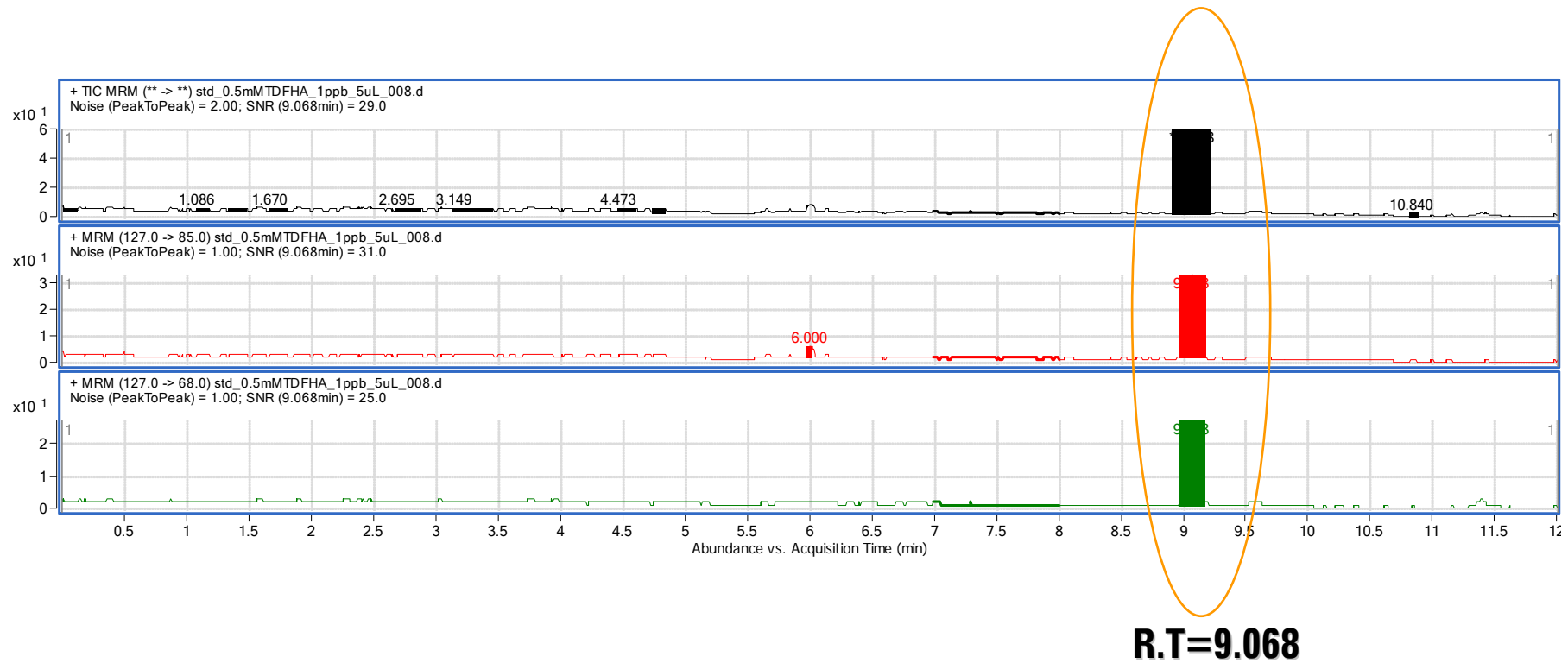
LC

Column	Zorbax Eclipse XDB-C18, 2.1 x 50 mm, 1.8 um
Flow Rate	0.3 mL/min
Mobile Phase	A=Water (0.5mM TDFHA) B=Methanol (0.5mM TDFHA)
Gradient	0min, 5%B; 3min, 5%B;6min, 50%B; 7min, 50%B; 8min, 95%B; 12 min, 5%B
Anal. Time.	12 min
Injection Vol.	5 uL

MS

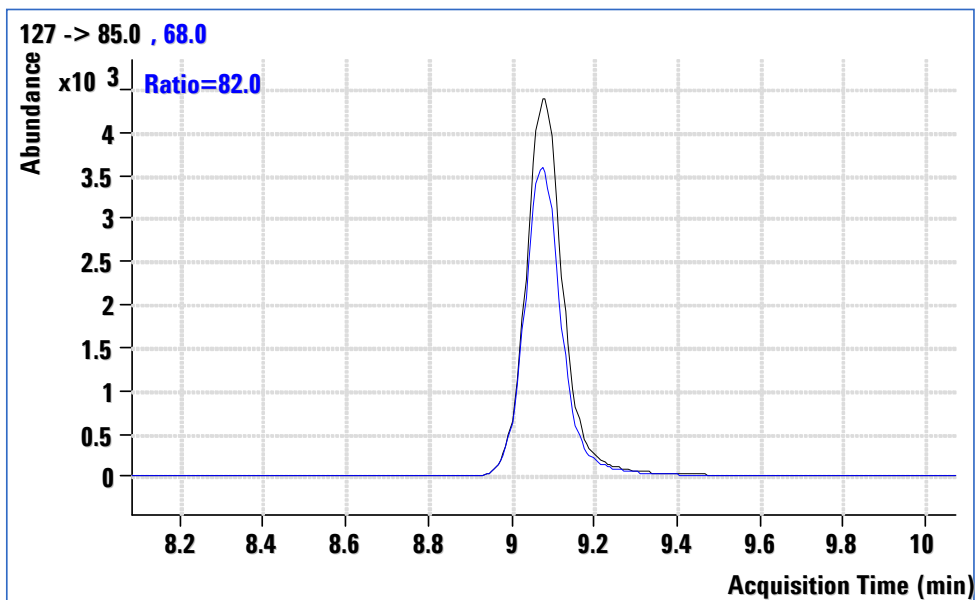
Source	ESI
Ion polarity	Positive
Drying Gas Temp.	350° C
Drying Gas Flow.	10 L/min
Nebulizer	45 psi
Vcap	4000 V
Fragementor	120 V
Collision energy	20 V for Transition127.0->85.0 (quantiation ion) 35 V for Transition127.0->68.0 (qualifier ion)

LCMS ソリューション 2 — 検出限界: イオンペア RPLC

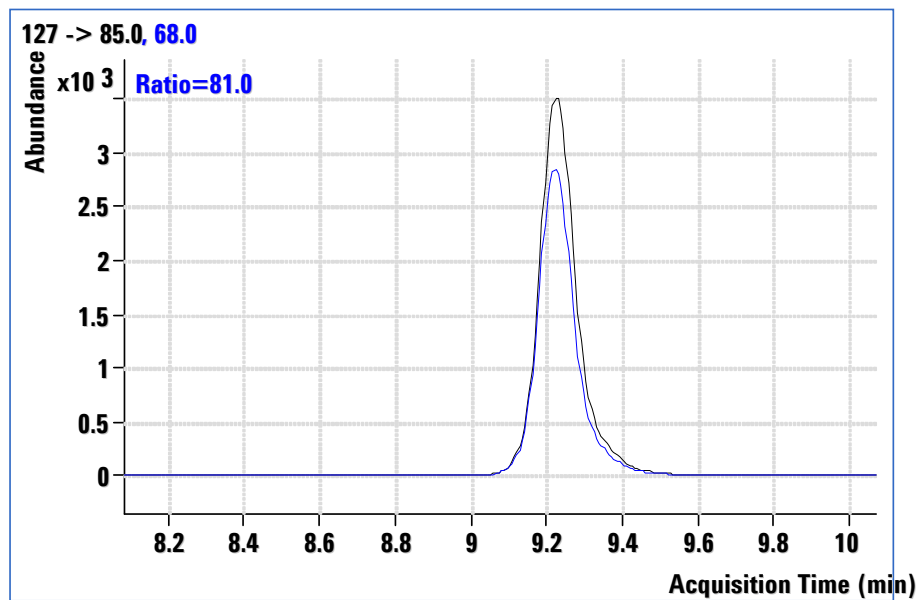


Melamine- Pure product 1 ppb

LCMS ソリューション2—実サンプル:イオンペア RPLC













純品



実サンプル

ソリューションの比較

	GCMS		LC	LCMSMS
サンプル前処理	要誘導体化 		Simple 	Simple 
感度	Enough 		Enough 	High 
選択性	Scan 	SIM 	None 	Excellent 

Agilent Provide Total Solution to Melamine Analysis!!!!!!

