

オンライン固相抽出 LC-MS によるマイクロシスチンの分析

Analysis of Microcystins using PROSPEKT2 and LC-MS

マイクロシスチンは肝臓毒や発ガンプロモータ活性を有し、湖沼の富栄養化により異常発生したラン藻類により生産される肝臓毒です。そのため、水道原水を湖沼としている地域では測定的重要性が高まってきており、2003年上水試験法改定では、マイクロシスチンLRが要検討項目に挙げられています。

2001年上水試験法では固相抽出法で検水500mLを固相カラムに吸着し、有機溶媒で溶出したものを1mLまで濃縮した後、HPLC、LC-MS法を用いて測定することになっていますが、従来からの固相抽出法では固相のロットや検水の流速の違いによる回収率への影響などがあり、抽出操作に熟練を要していました。また、窒素バージ等の前処理操作にかなりの時間がかかることも分析者にとって問題でした。

今回、オンライン自動固相抽出システムPROSPEKT2をLC-MSに接続することにより、分析者はただ検水をオートサンプラーにセットするだけでマイクロシスチンRR、YR、LRの基準値の10分の1まで測定できるようになりました。Fig.1に示すようにPROSPEKT2では固相の活性化(Activation)、平衡化(Equilibration)、通水(Sample loading)等を自動で行い、固相カートリッジに保持された成分をオンラインでHPLCの移動相によって溶出するため、窒素バージ(Evaporation)、再溶解(Reconstitution)といった操作は必要なくなりました。また、種々の前処理メソッドを組み合わせることにより、固相抽出条件の検討を自動で行ったり、バルブ切換えや洗浄操作(Washes)によって夾雑成分を除去したりすることもできます。

Fig.2に50ng/L精製水添加試料を5mL固相抽出した時の選択イオン検出(SIM)クロマトグラムを示しました。グラジエントの初期濃度で平衡化している間に固相の活性化から通水までの固

相抽出過程が終了しますので、前処理も含め35分で1検体が処理できることとなります。また、ミネラルウォーターでの添加回収実験を行った結果、回収率は80-100%となり、オンラインシステムとして十分な性能であることがわかりました。

この分析については第64回分析化学討論会にてジーエルサイエンス株式会社と共同でポスター発表を行いました。

K.Arakawa

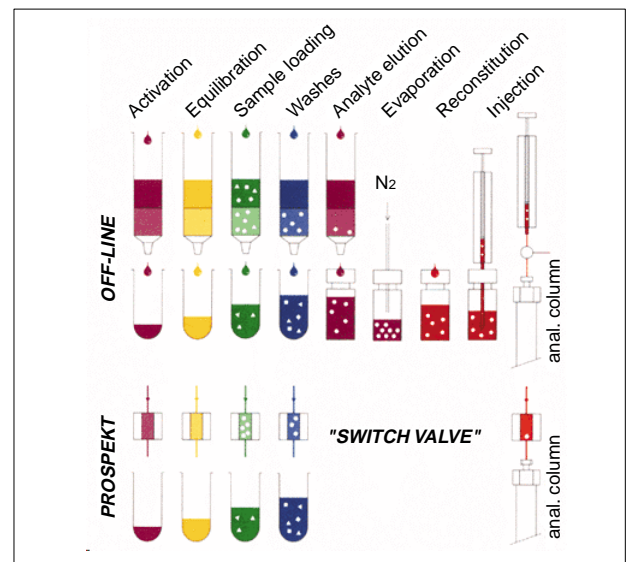


Fig.1 固相抽出操作
Scheme of solid phase extraction(SPE)

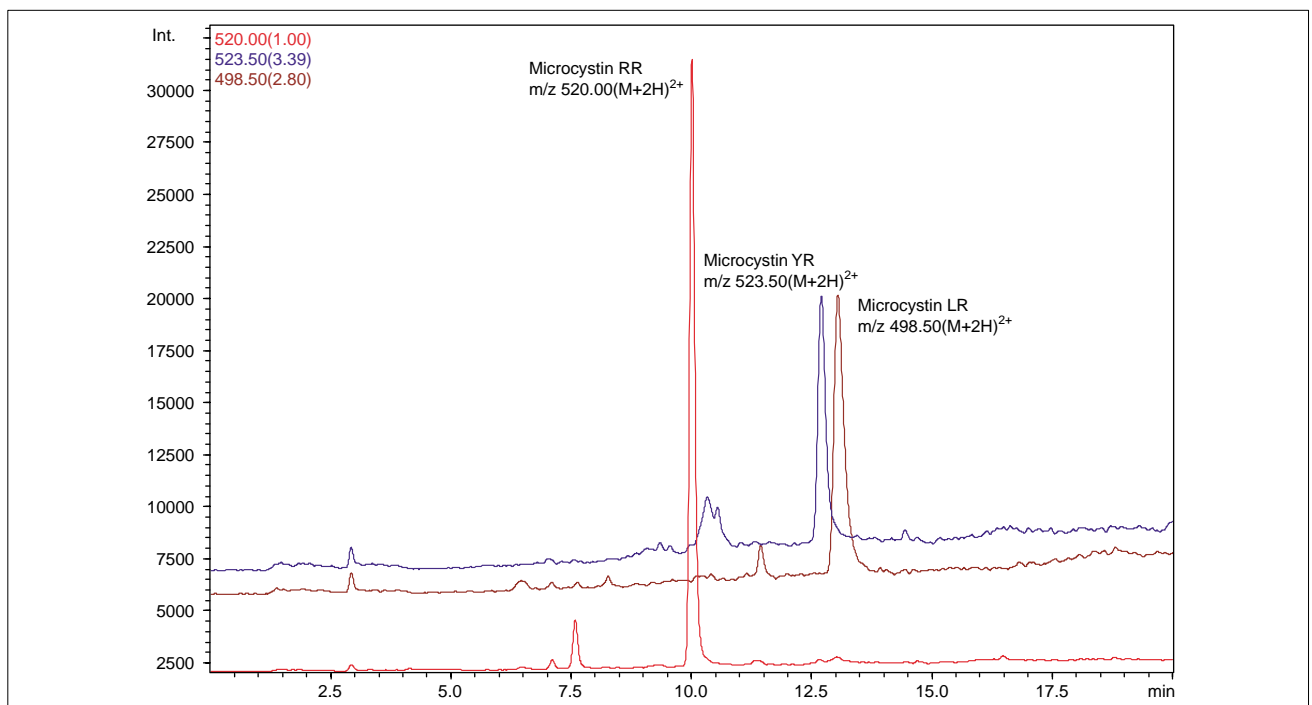


Fig.2 ミクロシスチンRR YR LRのSIMクロマトグラム(50ng/L)
SIM chromatograms of microcystins RR, YR and LR (each 50ng/L)

Fig.3にマイクロシスチンRR, YR, LRの5ng/LでのSIMクロマトグラム, Fig.4に検量線を示しました。従来の100分の1の検水5mLで1, 5, 10, 25, 50ng/Lの範囲で十分な直線性が得られました。また, 5ng/L以上では前処理も含めたCV値が2~10%と良

好な結果を示し, PROSPEKT2&LCMS-2010Aシステムを用いれば, 検水数mLの前処理で十分な感度のマイクロシスチン分析を安定して行うことができます。

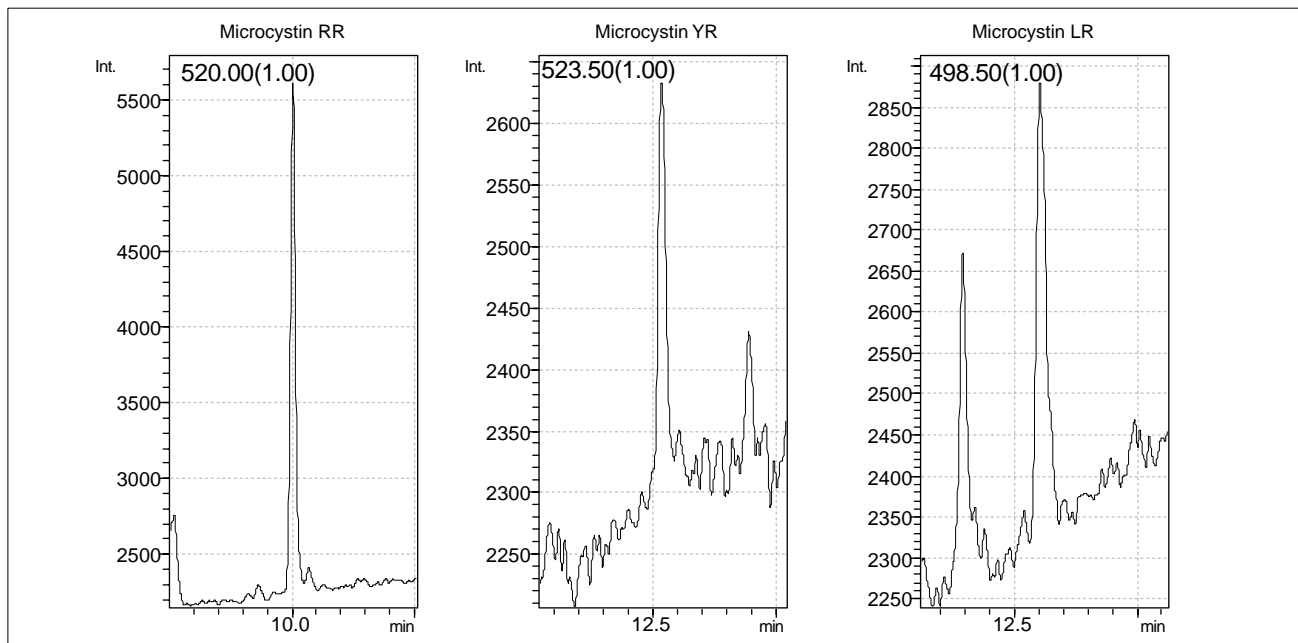


Fig.3 ミクロシスチンRR YR LRのSIMクロマトグラム (5ng/L)
SIM chromatograms of microcystins RR, YR and LR (each 5ng/L)

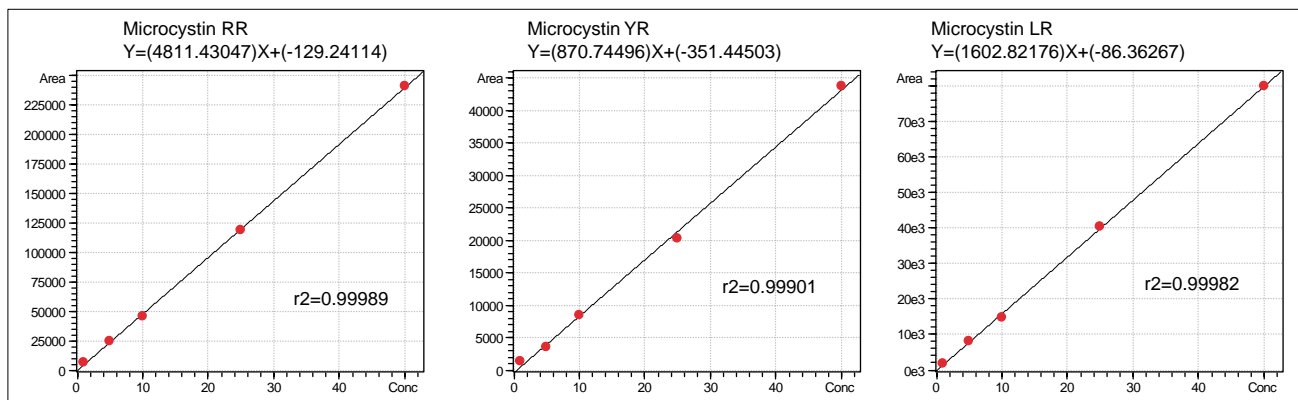


Fig.4 ミクロシスチンRR YR LRの検量線
Calibration curves of microcystins RR, YR and LR

Table 1 分析条件
Analytical conditions for LC-MS

Column	: Shimadzu VP-ODS (2.0 mmI.D. ×150 mm)
Mobile phase A	: water containing 0.1% formic acid
Mobile phase B	: acetonitrile
Gradient program	: 10% B-60%B(15-20min)-100%B(20.01-25min) -10%B(25.01-35min)
Flow rate	: 0.2 mL/min
Cartridge	: Inertsil ODS-3 7μm (2.0 mmI.D. ×10 mm)
Injection volume	: 5mL(PROSPEKT2)
Column temperature	: 40°C
Probe voltage	: +4.5 kV (ESI-Positive mode)
CDL temperature	: 200°C
Block Heater temperature	: 200°C
Nebulizing gas flow	: 1.5 L/min
Drying gas pressure	: 0.1MPa
CDL voltage	: +25 V (ESI-Positive mode)
Q-array DC voltage	: S-mode
Q-array RF	: 150

 島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

●東京 ☎(03)3219-1691
●京都 ☎(075)813-1691

いろいろな分析アプリケーションニュース類は
<http://www.an.shimadzu.co.jp/support/support.htm>
でご覧いただけます。

会員情報提供サービス「Shim-Solutions Club」にご登録下さい。
<http://solutions.shimadzu.co.jp/>
いろいろな情報提供サービスが受けられます。

3100-09313-17A-IK
2003.9