

バイアル抽出法

(独)産業技術総合研究所

計測標準研究部門

有機分析科 バイオメディカル標準研究室

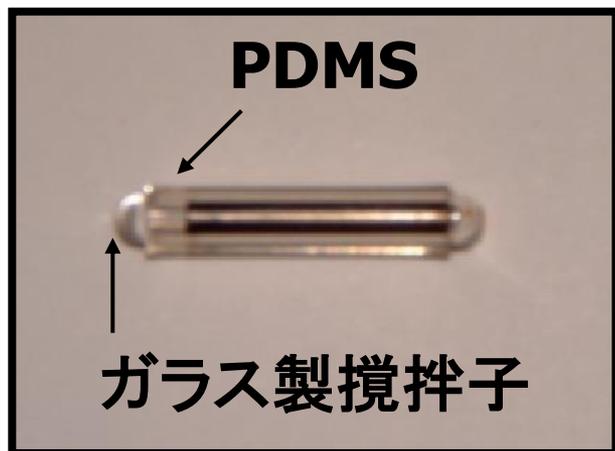
川口 研

2014年5月30日GC研究懇談会

薬業健保会館

スターバー抽出の問題点

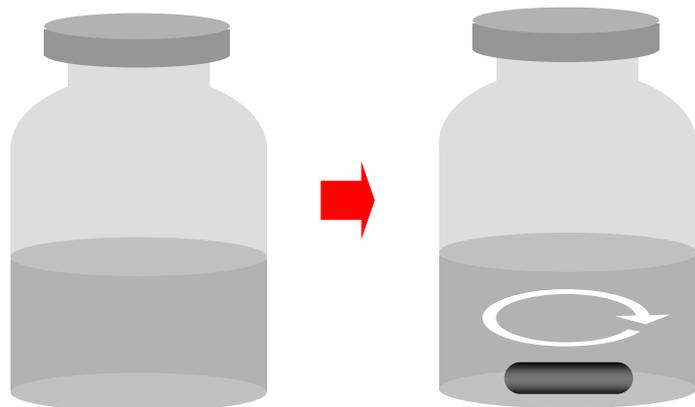
スターバー抽出(SBSE)法



- PDMSをスターラーの撹拌子にコーティング
- 撹拌するだけという極めて簡便な操作
- 液々抽出の原理
- 抽出・濃縮・精製

<SBSEの欠点>

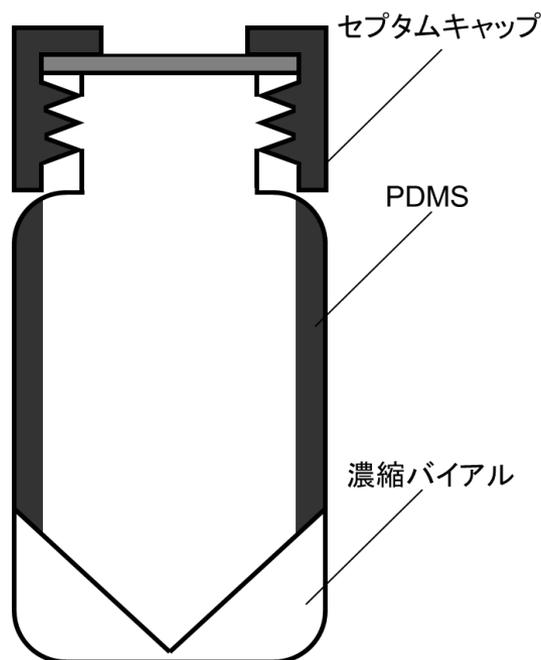
- ・撹拌子にコーティングできるPDMS量に制限がある
 - ・撹拌子のサイズ制限により、微量な試料に適用する場合、試料を希釈する必要がある
 - ・高疎水性化合物はバイアル内面に吸着される
- ⇒ **回収率の低下**
- ・自動化が困難



Vial

バイアル抽出法(VWSE)の開発

- バイアル内面への分析対象物質の吸着
→ バイアル内面に効率的に分析対象物質を抽出させてみては？



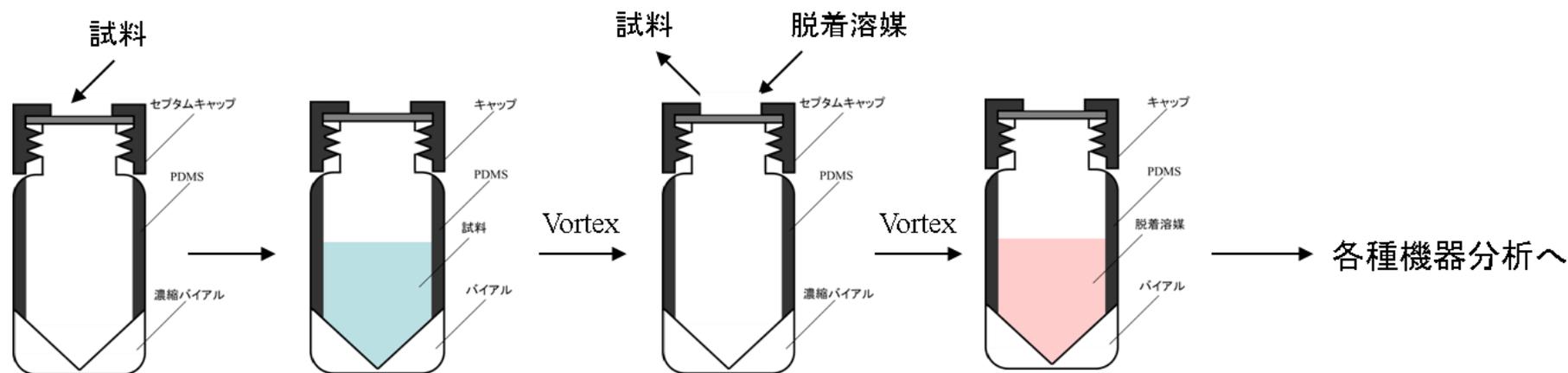
<期待できるメリット>

- ・大量のPDMSをコーティング可能
- ・微量な試料に適用可能
- ・疎水性化合物の回収率低下を防ぐ
- ・自動化が容易

<特許第5142276号>

“試料採取容器および容器抽出・分析方法”

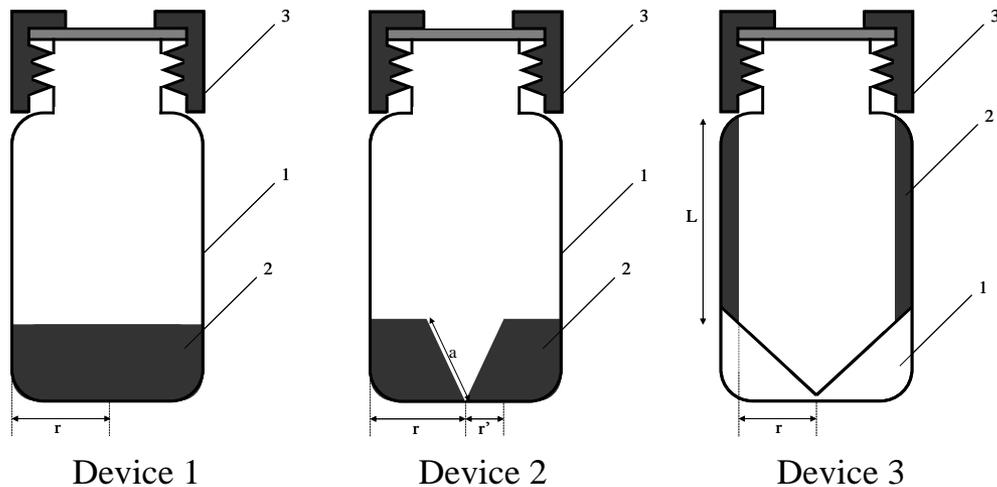
バイアル抽出法の操作概要



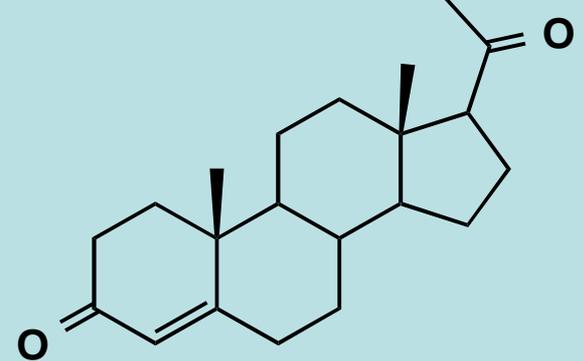
- ・抽出バイアルに試料を添加し、**振とうするだけ**で、目的化合物を効率良く抽出・濃縮
- ・少量の脱着溶媒(アセトニトリルまたはメタノール)を添加し、目的成分を脱着
- ・各種機器分析(大量注入-GC/MS、LC-MS/MSなど)で測定

M. Kawaguchi, et al, J. Chromatogr. A, 1216 (2009) 7553-7556.

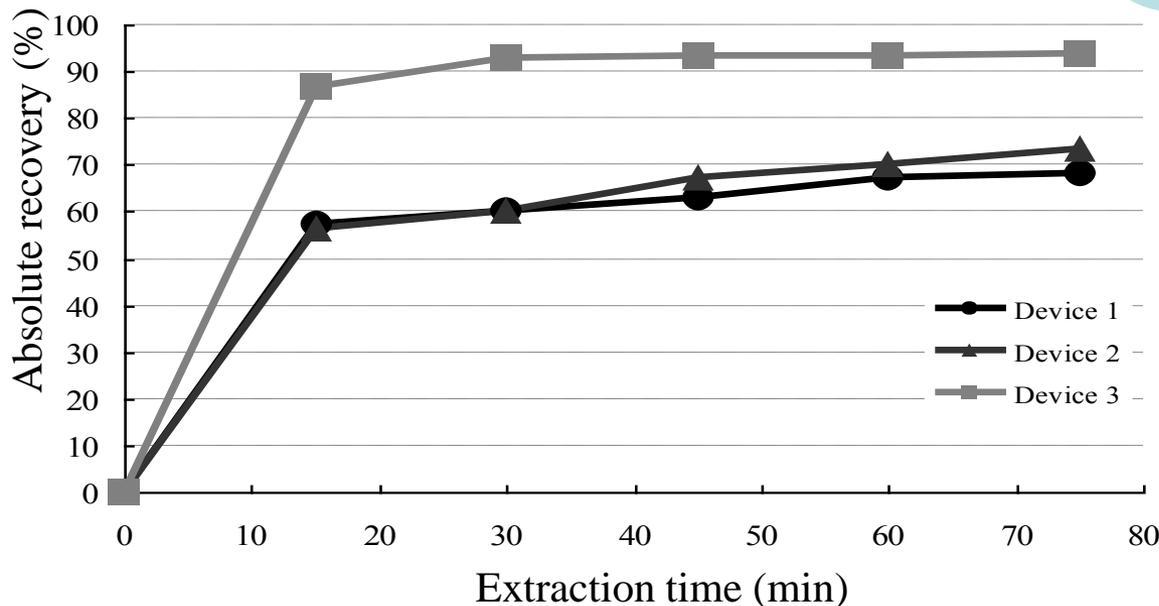
デバイスの形状による抽出効率の変化



分析対象物質



プロゲステロン



Device 3が最も効率的



Device 1: Contact area = 0.785 cm²
 Device 2: Contact area = 0.899 cm²
 Device 3: Contact area = 5.20 cm²



試料とPDMSの接触面積が影響？

バイアル抽出法 vs. スターバー抽出法①

- 試料量

バイアル抽出法

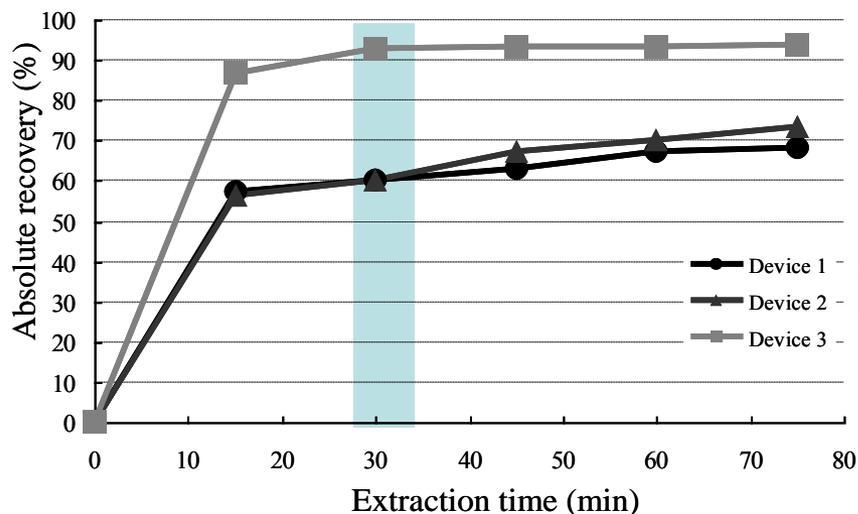
バイアルサイズを変更することで、**様々な試料量に容易に対応**

スターバー抽出法

攪拌子のサイズ制限により、微量な試料の場合、希釈させる必要がある。

バイアル抽出法 vs. スターバー抽出法②

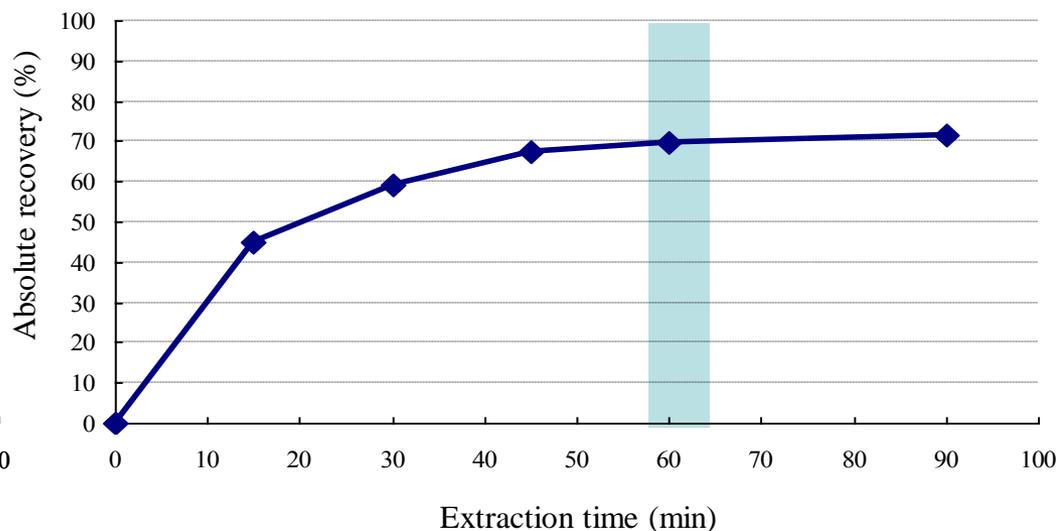
- 抽出時間と抽出効率



バイアル抽出法

抽出時間: 30 min

抽出効率: 94 %



スターバー抽出法

抽出時間: 60 min

抽出効率: 70 %

バイアル抽出法 vs. スターバー抽出法③

• 溶媒脱着

脱着溶媒の種類 → 差はない

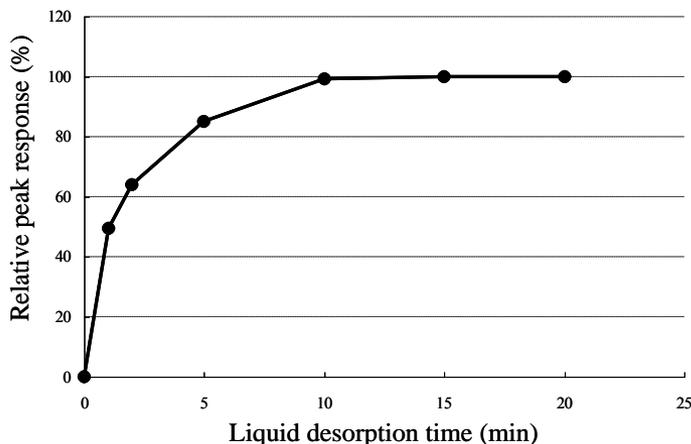
脱着方法 → バイアル抽出法: **ボルテックス**

スターバー抽出法: 超音波

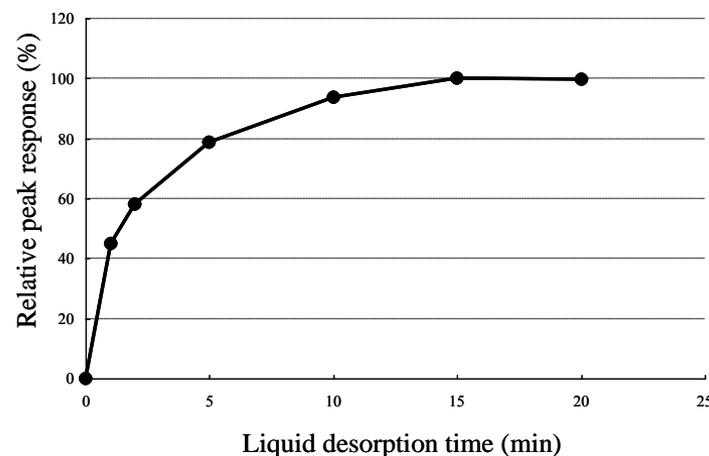
脱着溶媒 → バイアル抽出法: **微量(50 μ L以下)**

スターバー抽出法: サイズ制限を受ける(150 μ L)

• 脱着時間



バイアル抽出法: **10 min**



スターバー抽出法: **15 min**

バイアル抽出法 vs. スターバー抽出法④

- 感度

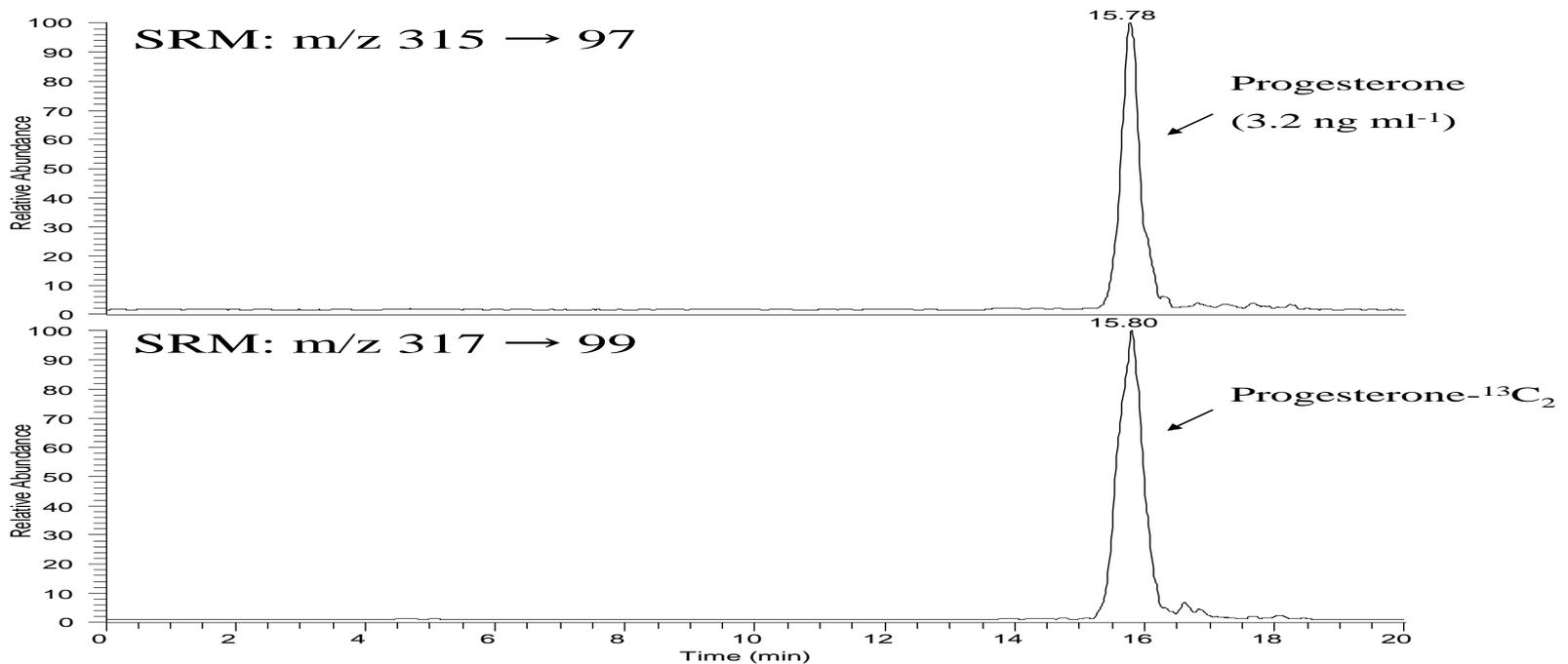
ヒト血清中プロゲステロンに関して

方法	検出下限	定量下限
	ng/mL	ng/mL
バイアル抽出法	0.1	0.5
スターバー抽出法	0.5	2.0

バイアル抽出法がスターバー抽出法より、**4-5倍高感度**

認証標準物質の測定

- European Reference Material (ERM)-DA 347
LC-MS/MS測定



バイアル抽出法

3.2 ± 0.1 ng/mL

認証値

3.19 ± 0.07 ng/mL

小括

- バイアル抽出法の開発

バイアル内面での積極的な抽出(**逆転の発想**)
簡便で、自動化も容易

- バイアル抽出法とスターバー抽出法との比較

スターバー抽出法よりも優れた利点

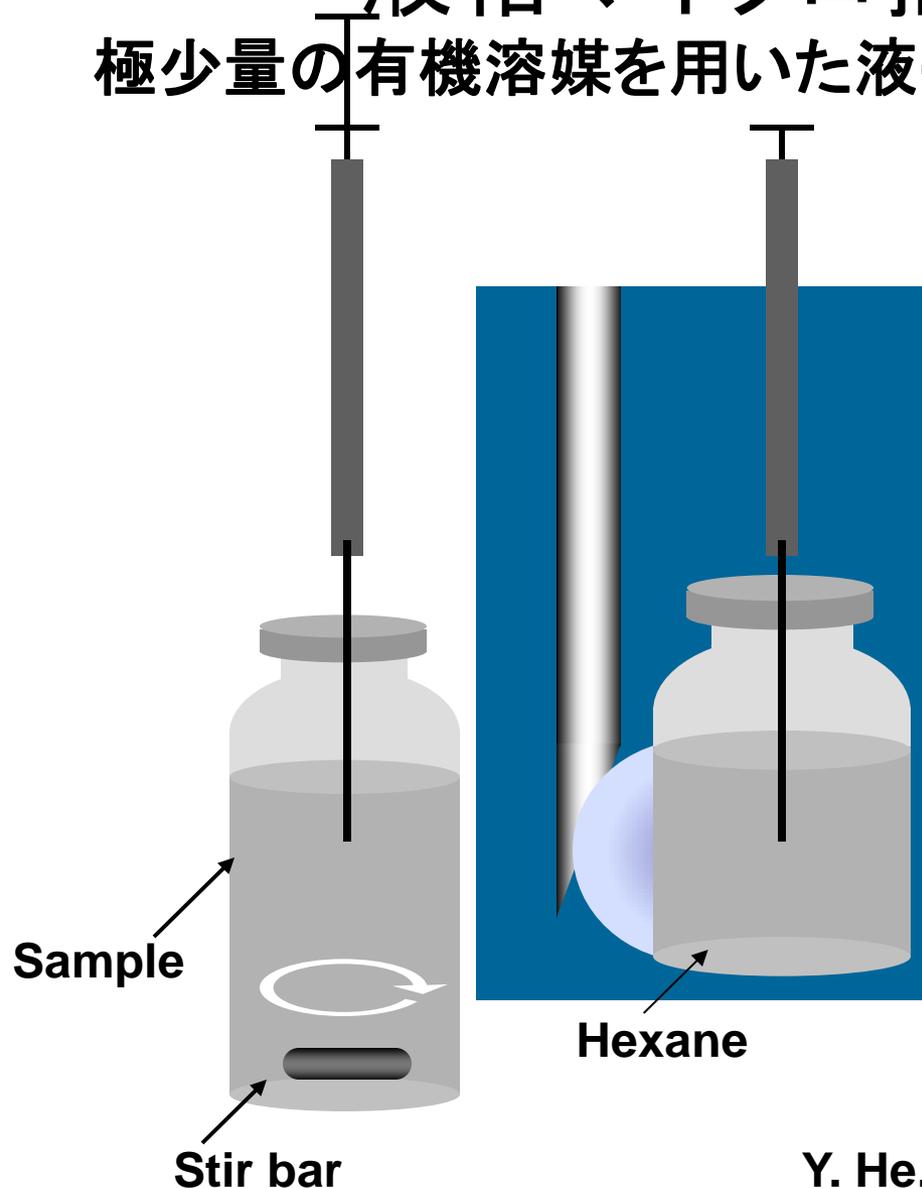
メリット

- ・大量のPDMSをコーティング可能
- ・微量な試料に適用可能
- ・疎水性化合物の回収率低下を防ぐ

その他の前処理法

液相マイクロ抽出(LPME)法

極少量の有機溶媒を用いた液-液抽出法



<概要>

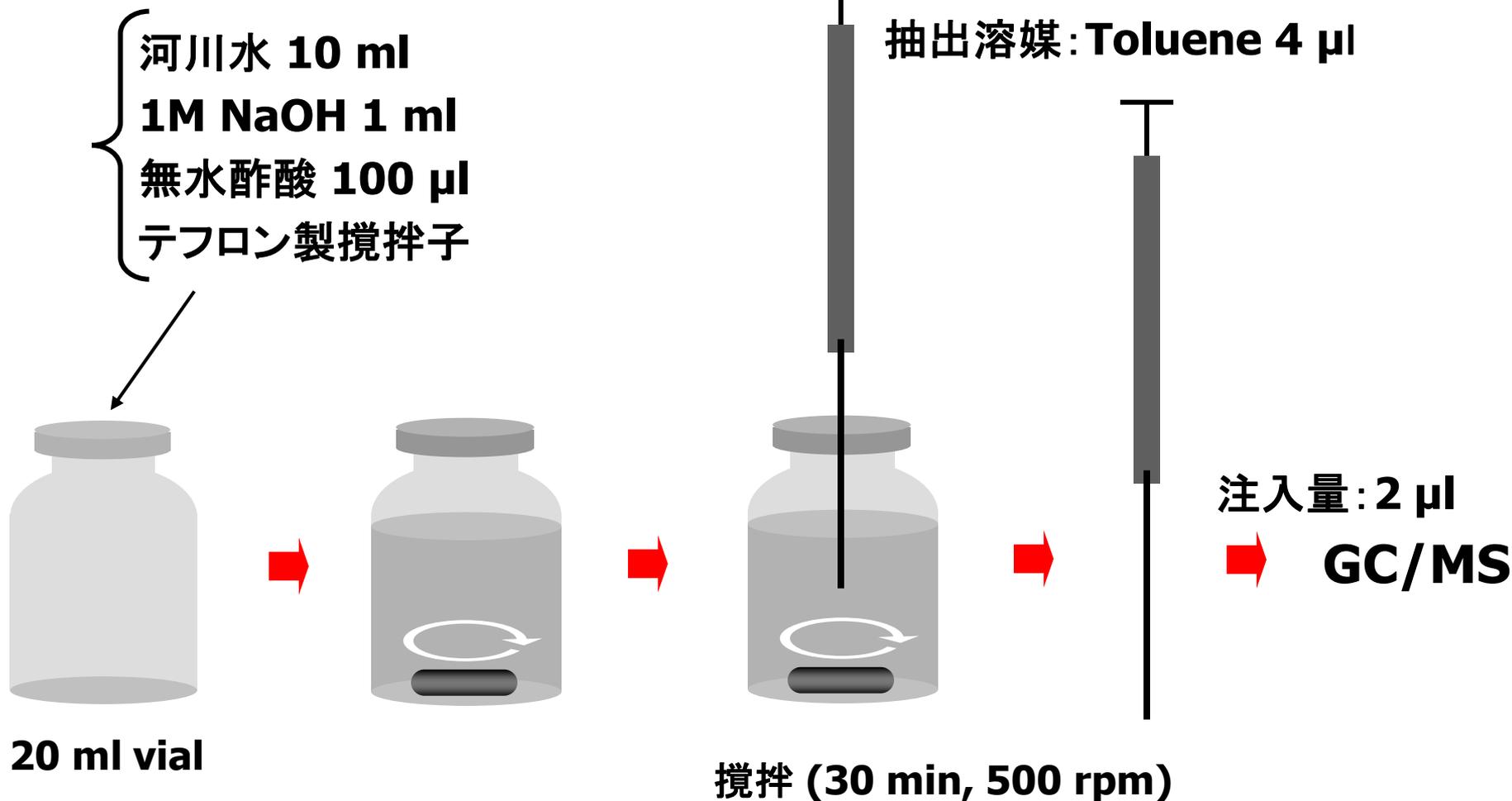
- 液相マイクロ抽出(LPME)法は、マイクロシリンジを用いて極少量の抽出溶媒により、分析対象物質を抽出・濃縮する方法

<利点>

- 簡便
- 高感度
- 低コスト

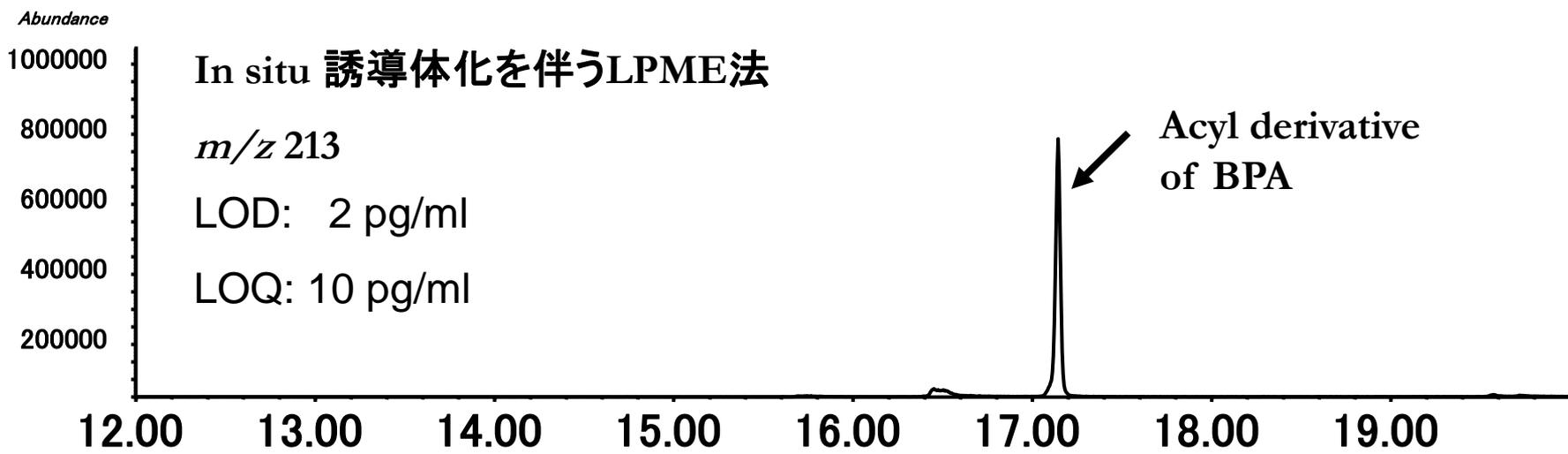
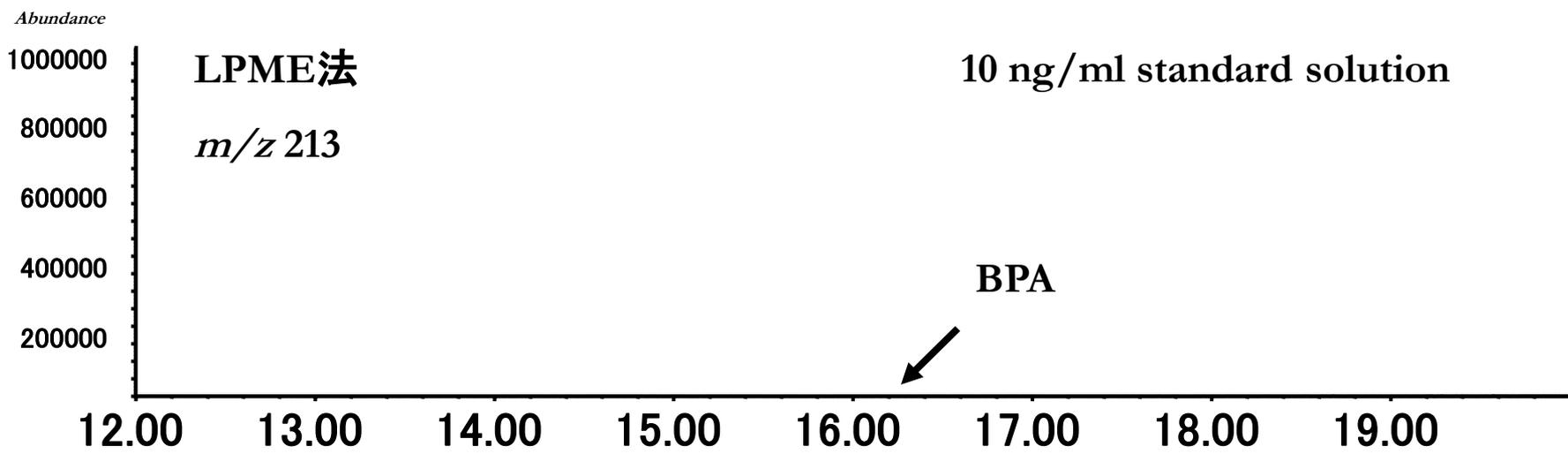
Y. He, H.K. Lee, Anal. Chem. 69 (1997) 4634.

In situ 誘導体化を伴うLPME法による 河川水中BPAの測定



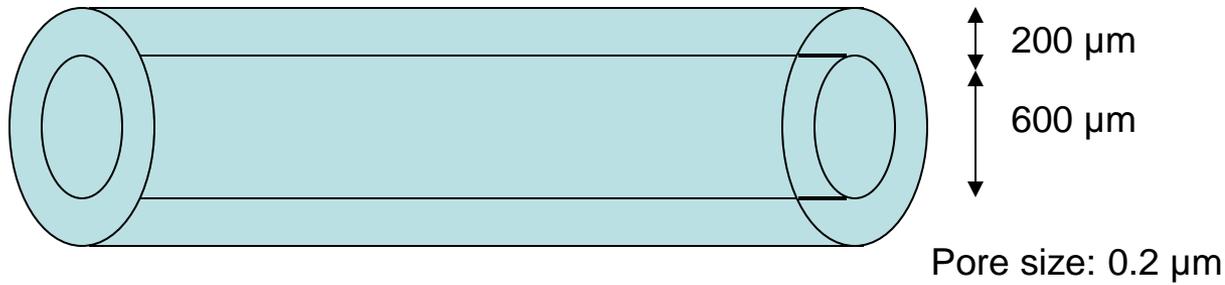
M. Kawaguchi et al. J. Chromatogr. A, 1110 (2006) 1-5

誘導體化の比較



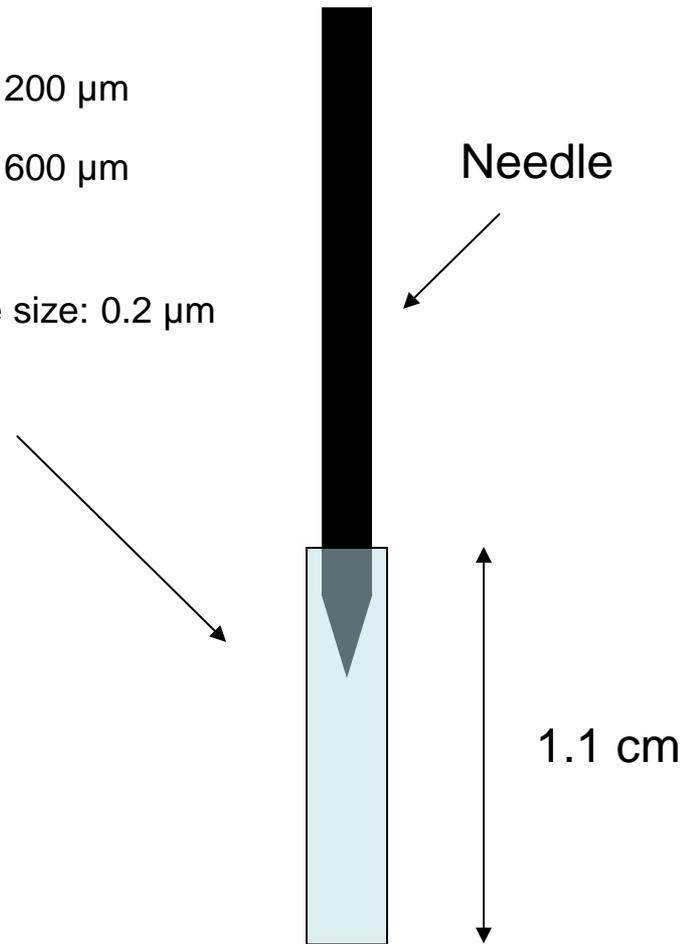
In situ 誘導體化により100 倍程度の感度上昇

多孔性中空糸保護膜



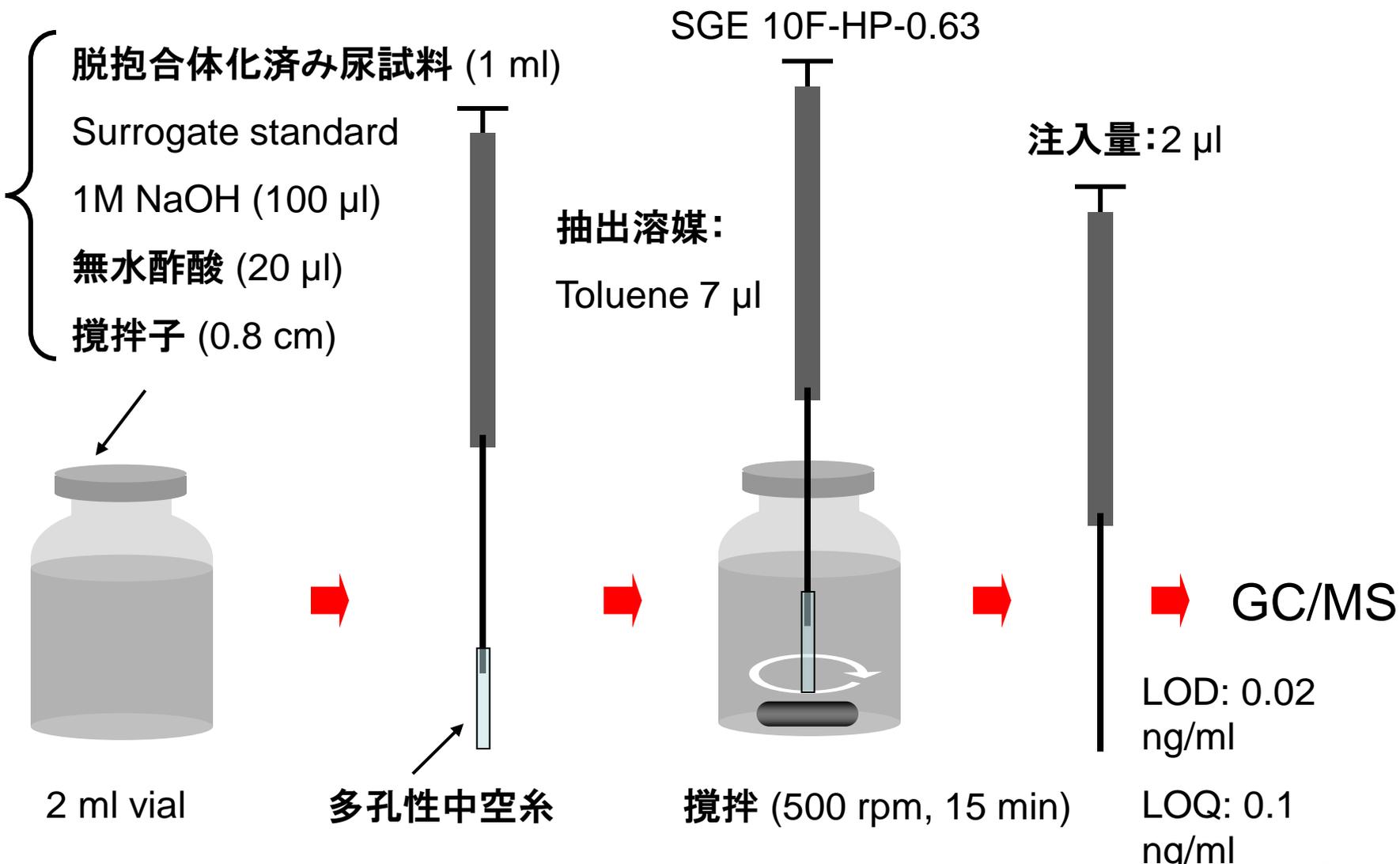
Porous hollow fiber (多孔性中空糸)

- 安定性
- 簡便性
- 経済性



Q3/2 Accurel polypropylene

LPME法を用いたヒト尿中BPAの測定

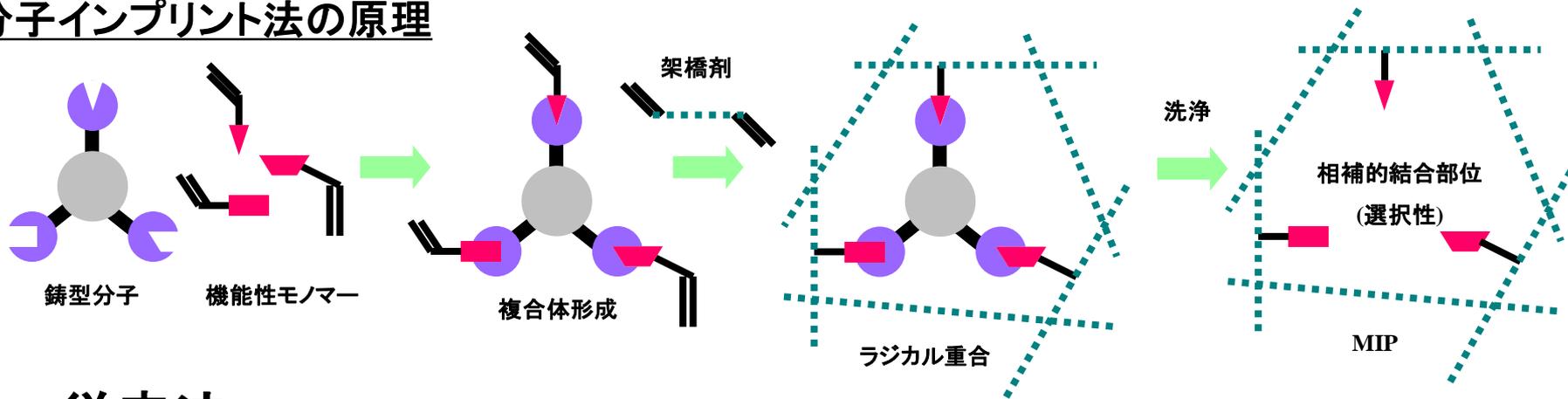


小型化 → 抽出時間の短縮

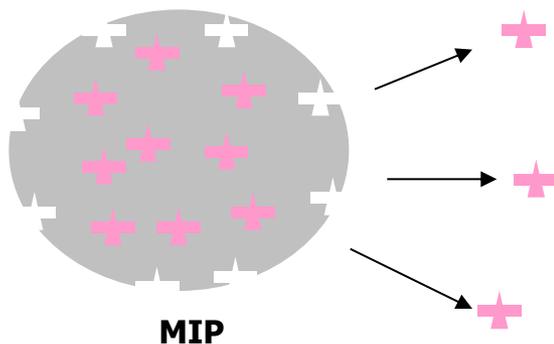
簡便且つ高感度な測定法

分子インプリントポリマー(MIP)の開発

分子インプリント法の原理



従来法

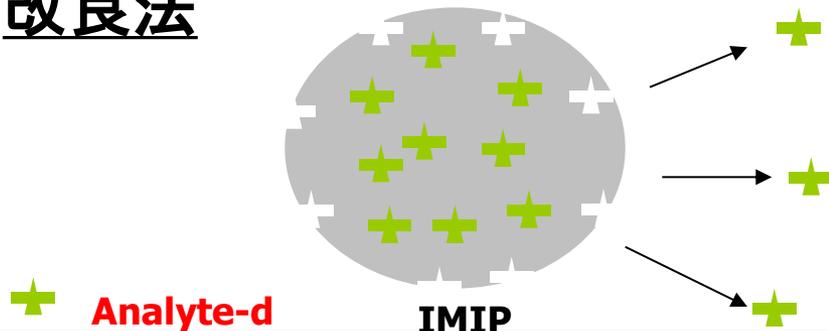


MIP自身からのAnalyteの溶出

微量分析への応用は困難

実用化に至っていない

改良法



安定同位体ラベル化物質をインプリントし、質量分析計(MS)で検出

MSで Analyte と Analyte-d を識別

分子インプリント固相抽出法の性能評価

<分子インプリントポリマーの種類>

No.	Name	Print molecule
①	NIP	None
②	MIP	Bisphenol A (BPA) ← 従来法
③	DMIP	4- <i>tert</i> -Butylphenol
④	IMIP	Bisphenol A-d ₁₆ ← 改良法

→ ポリマー合成 → 固相抽出用カートリッジ

<実験の概要>

精製水 100 ml (BPA + BPA-¹³C₁₂)

↓
分子インプリント固相抽出法

↓
LC-MSで測定

<結果>

- ・従来法では、コンタミネーション
- ・選択性

MIP = IMIP > DMIP > NIP

- ↓
- ・河川水中BPAの分析に適用
 - LOD: 1 pptの超高感度分析

<分子インプリント固相抽出法の回収率>

回収率 (%)	NIP	MIP	DMIP	IMIP
BPA	74.6	507.9	83.8	97.2
BPA- ¹³ C ₁₂	75.3	99.3	85.2	98.9
補正後	99.1	511.5	98.4	98.3

総括

- マイクロ抽出法
- スターバー抽出法
- バイアル抽出法
- 液相マイクロ抽出法

様々な誘導体化法や試料導入法を組み合わせることで、簡便かつ高感度な測定が可能