

# รายงานการวิจัย

โครงการประชุมและเผยแพร่นวัตกรรมปลอดภัย  
และความรู้ด้านปลอดภัยของอาหาร”

Seminar on Innovation and Knowledge  
of Food Safety Project

เสนอโดย

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน  
ประจำปีงบประมาณ 2551

ครั้งที่ 1

วันที่ 20-21 และ 27 ตุลาคม 2551

## การอบรมครั้งที่ 1 (ปีงบประมาณ 2551)

### **หลักการและเหตุผล**

เป็นที่ทราบกันว่า สินค้าโดยเฉพาะอย่างยิ่งสินค้าอาหารที่ส่งออกไปขายยังประเทศญี่ปุ่น ต้องเป็นสินค้าที่มีคุณภาพดีเยี่ยม ทางกรญี่ปุ่นได้ออกกฏระเบียบต่างๆมาควบคุมมากมาย และเป็นสิ่งที่สังเกตว่า กฏระเบียบต่างๆเหล่านี้ได้มีการปรับปรุงเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ล่าสุดเมื่อเดือนพฤษภาคม 2549 ประเทศญี่ปุ่นได้ประกาศใช้ระบบการควบคุมคุณภาพที่เกี่ยวข้องกับสารตกค้างทางการเกษตรในอาหารฉบับใหม่ที่เรียกว่า “Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods” ซึ่งส่งผลกระทบต่อผู้ส่งออกผู้ผลิตรวมถึงผู้ที่เกี่ยวข้องอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้

### **วัตถุประสงค์**

1. เพื่อให้ผู้ที่เกี่ยวข้องในการส่งออกสินค้าอาหาร ไปยังประเทศญี่ปุ่นเข้าใจแนวคิดและแนวทางที่เกี่ยวข้องกับข้อบังคับของ Japanese Food Law ที่ใช้ในปัจจุบันและที่อาจมีการบังคับใช้ในอนาคต
2. เพื่อให้หมักวิเคราะห์ทางเคมีมีความรู้เกี่ยวกับการใช้ LC MS/MS ในการวิเคราะห์สารตกค้างทางการเกษตรและเรียนรู้การวิเคราะห์ chloramphenicol, melamine ตามวิธีที่ใช้วิเคราะห์ในประเทศญี่ปุ่น

### **วันเวลาและสถานที่**

วันที่ 21 ตุลาคม 2551 เวลา 8.30 น – 17.00 น

ห้องประชุม ชั้น 2 อาคารอัญมณีและตรวจสอบอัญมณี

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วันที่ 22, 27 ตุลาคม 2551 เวลา 8.30 น – 17.00 น

ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร ชั้น 16 อาคารมหามงกุฎ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์

มหาวิทยาลัย

### **ผู้เข้าร่วมสัมมนา**

บุคลากรจากภาครัฐและภาคเอกชนที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบอาหาร และผู้ที่เกี่ยวข้องกับการส่งสินค้าอาหาร ไปยังประเทศญี่ปุ่น

โครงการประชุมและเผยแพร่ความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร  
ครั้งที่ 1 (2551)

การอบรมสัมมนาเชิงปฏิบัติการเรื่อง "Food Safety According to Japanese Food Law :

Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods and Application of LC MS/MS on Analysis of Antibacterial Agents" จัดขึ้นภายใต้โครงการอบรมและเผยแพร่ความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร และห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ให้กับบุคลากรของหน่วยงานรัฐและหน่วยงานเอกชนในอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ที่เกี่ยวข้องกับการส่งออกสินค้าไปญี่ปุ่นและนักวิเคราะห์ทางเคมี ในวันที่ 21, 22 และ 27 ตุลาคม 2551 เวลา 8.30 น-17.00 น โดยวันแรกเป็นการบรรยายโดยวิทยากรจากญี่ปุ่น สิงคโปร์ และไทย วันที่สองและสามเป็นการอบรมเชิงปฏิบัติการทั้งการเตรียมตัวอย่าง chloramphenicol และ melamine และการฉีดตัวอย่างไปยังเครื่อง LCMS/MS การวิเคราะห์ผล วันแรกมีผู้ฟังการบรรยายทั้งหมด 31 คน ส่วนวันที่สองและสามมีผู้เข้าร่วมปฏิบัติการ 12 คน มีการประเมินผลของการอบรมนี้ พบว่าทุกคนได้เรียนรู้กฎระเบียบของญี่ปุ่น ทำให้สามารถเตรียมรับกฎเกณฑ์เหล่านี้ และเรียนรู้เทคนิคการวิเคราะห์สารตกค้างในเมทริกซ์ของอาหาร สามารถนำไปปฏิบัติได้ในหน่วยงานของตนเอง

เลขหมู่

เลขทะเบียน 014735

วัน, เดือน, ปี ๘๓.๑.๕๓

## รายงานการวิจัย

### โครงการประชุมและเผยแพร่นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร

#### Seminar on Innovation and Knowledge of Food Safety Project

ปีงบประมาณ 2551

#### 1. หน่วยงานหลักที่รับผิดชอบโครงการ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

#### 2. หัวหน้าโครงการ

ชื่อ ดร. สิริรัตน์ ก๊กพล (Sirirat Kokpol)

ตำแหน่ง รองศาสตราจารย์ ระดับ 9

ที่ทำงาน ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โทรศัพท์ 0-2218-7583

โทรสาร 0-2218-7598

e-mail sirirat.kokpol@gmail.com

#### 3. หลักการและเหตุผล

อุตสาหกรรมอาหาร เป็นอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญต่อการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศ ปัจจุบันประเทศไทยมีโรงงานอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับอาหารทั้งสิ้นมากกว่า 20 ล้านคน ในปี 2550 มูลค่าของการส่งออกอาหารของประเทศไทยสูงขึ้นไปถึง 617,620 ล้านบาท หรือ 11.78% ของสินค้าส่งออกทั้งหมดหรือ 2.4% ของมูลค่าส่งออกอาหารของโลก และจัดเป็นผู้ส่งออกอาหารอันดับที่ 7 ของโลก ซึ่งโอกาสที่ประเทศไทยจะก้าวขึ้นสู่การเป็นกลุ่มผู้นำการส่งออกอาหารโลกนั้นทำได้ไม่ยาก แต่ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา ประเทศไทยประสบปัญหาในการส่งออกสินค้าอาหารสืบเนื่องจากการกำหนดมาตรฐาน การควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารของประเทศคู่ค้า ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารของประเทศไทยถูกปฏิเสธการนำเข้าสินค้าอาหารสู่ประเทศสหรัฐอเมริกา ยุโรป หลายร้อยรายการ โดยที่ส่วนหนึ่งของสินค้าคืออาหารทะเล พืช ผัก ผลไม้ ส่งผลให้ประเทศไทยสูญเสียรายได้หลายพันล้านบาท และยังส่งผลกระทบต่อความเชื่อถือในระยะยาวอีกด้วย

นอกเหนือจากการเพิ่มผลผลิต การควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารให้เป็นที่ยอมรับของประเทศคู่ค้า จึงเป็นสิ่งสำคัญในอันดับต้นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในภาวะการณ์ปัจจุบันซึ่งมีการเปิดการค้าเสรีระหว่างประเทศ คุณภาพและความปลอดภัยของอาหารยังมีความสำคัญมากขึ้นอีก เพราะนอกจากตลาดการค้าต่างประเทศจะมีการแข่งขันสูงแล้ว ประเทศไทยยังต้องเผชิญกับการกีดกันทางการค้า

ในรูปของมาตรการควบคุมความปลอดภัยด้านอาหารของประเทศคู่ค้าที่สำคัญ และเผชิญกับการแข่งขันในตลาดกับสินค้านำเข้าที่มีราคาถูก เช่นสินค้าจากประเทศจีน การยกระดับผลิตภัณฑ์อาหารไทยให้มีความปลอดภัย จะเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันของประเทศได้

การพัฒนาศักยภาพการแข่งขันในปัจจุบัน เน้นการเสริมสร้างมูลค่าเพิ่มทางด้านความรู้ (knowledge-based) จำเป็นต้องมีการดำเนินยุทธศาสตร์ด้านนวัตกรรมและการวิจัยและพัฒนา การพัฒนาบุคลากร จึงมีความสำคัญที่จะต้องมีการดำเนินการอย่างต่อเนื่อง คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ร่วมกับ และสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้วิจัยและพัฒนา สร้างองค์ความรู้เพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์อาหาร พัฒนาระบบการตรวจวิเคราะห์สารที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัยในอาหาร เพิ่มมูลค่าวัตถุดิบที่มีอยู่ในประเทศเพื่อใช้ในการผลิตและส่งออก และพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ เสริมสุขภาพ และปลอดภัยจากสารอันตราย จึงเห็นสมควรจัดประชุมและเผยแพร่ นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร

#### 4. วัตถุประสงค์

1. เพื่อเผยแพร่ความรู้และนวัตกรรมด้านความปลอดภัยของอาหาร การผลิตและการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารที่ปลอดภัยและมีคุณค่าต่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร
2. เพื่อเพิ่มขีดความสามารถในการวิเคราะห์และตรวจสอบความปลอดภัยของอาหารใน ห้องปฏิบัติการและในภาคสนาม
3. เพื่อสนับสนุนและเพิ่มขีดความสามารถในการใช้นวัตกรรมในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารชนิดใหม่ที่ปลอดภัยและมีคุณค่าต่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร
4. เพื่อเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันของประเทศด้านอุตสาหกรรมเกษตรและอุตสาหกรรมอาหาร
5. เพื่อสร้างความแข็งแกร่งทางวิชาการให้แก่บุคลากรในภาครัฐและภาคอุตสาหกรรมอาหารเพื่อนำไปสู่การสร้างสรรค่นวัตกรรมใหม่ๆ ที่มีคุณภาพและความปลอดภัยสูง

#### 5. เป้าหมาย

จัดประชุมและเผยแพร่ นวัตกรรมและความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหารแก่บุคลากรในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อการส่งออกและจำหน่ายในประเทศ นักวิเคราะห์อาหารในห้องปฏิบัติการ และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชน

## 6. วิธีการดำเนินงาน

### 6.1 หัวข้อการอบรมและเผยแพร่ความรู้ด้านความปลอดภัยของอาหาร

- ความรู้และพัฒนาการด้านความปลอดภัยของอาหาร
- ความรู้และนวัตกรรมการตรวจวิเคราะห์และรับรองคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร ในห้องปฏิบัติการและในภาคสนาม
- ความรู้และนวัตกรรมการผลิตและการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารชนิดใหม่ที่ปลอดภัยและมีคุณค่าต่อสุขภาพ
- ความรู้และนวัตกรรมการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร
- ความรู้และพัฒนาระบบ การจัดการ การควบคุมกำกับดูแลอาหาร ผ่านข้อมูลบาร์โค้ด

### 6.2 รูปแบบการประชุมและเผยแพร่

- การบรรยายโดยวิทยากรพิเศษและหัวโครงการย่อยและ ซึ่งเปิดโอกาสให้ผู้เข้าร่วมสัมมนาได้แสดงความคิดเห็นและแลกเปลี่ยนประสบการณ์ในประเด็นต่างๆ

### 6.3 วิทยากร

- ผู้เชี่ยวชาญด้านความปลอดภัยของอาหาร การวิเคราะห์และตรวจสอบอาหาร และอุตสาหกรรมอาหาร
- นักวิจัยในโครงการบูรณาการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่

### 6.4 สถานที่จัดการประชุมเผยแพร่

- ห้องประชุมของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 7. วันเวลาจัดประชุม

จัดประชุมเผยแพร่ ปีงบประมาณ 2551 คือ ในช่วงตุลาคม 2551 – กันยายน 2552  
(ประมาณ 2-3 ครั้ง)

## 8. ผลการจัดประชุมทำให้

- 1) ผู้เข้าอบรมได้รับความรู้และนวัตกรรมด้านความปลอดภัยของอาหาร การผลิตและการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารที่ปลอดภัยและมีคุณค่าต่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เพื่อประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร
- 2) ผู้เข้าอบรมจะได้นำความรู้และนวัตกรรมที่ได้จากการอบรมไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์และตรวจสอบความปลอดภัยของอาหาร การผลิตและการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารที่ปลอดภัยและมีคุณค่าต่อสุขภาพ
- 3) บุคลากรในอุตสาหกรรมอาหารมีคุณภาพสูงขึ้น
- 4) ประเทศไทยจะมีศักยภาพในการแข่งขันในด้านอุตสาหกรรมเกษตรและอุตสาหกรรมอาหารเพิ่มมากขึ้น

รายชื่อผู้เข้ารับการสัมมนาเชิงปฏิบัติการ

"Food Safety According to Japanese Food Law: Positive List System for Agricultural Residues in Foods and Application of LC-MS/MS on Analysis of Antibacterial Agricultural"

วันที่ 21-22 ตุลาคม 2551 ณ ห้องประชุม อาคารวิจัยและตรวจสอบข้อมูล และห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร ชั้น 16 อาคารมหามงกุฎ

จัดโดย

โครงการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงการสร้างเศรษฐกิจใหม่ ร่วมกับ ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วันที่ 21 - 22 ตุลาคม 2551

ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร

ลำดับ ที่	ชื่อ-นามสกุล	ที่อยู่- บริษัท	21 ตุลาคม 2551		22 ตุลาคม 2551	
			ช่วงเช้า	ช่วงบ่าย	ช่วงเช้า	ช่วงบ่าย
1	นายศศิธ ธีรวัฒน์	ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร				
2	นายสุภัทธรศิ อัคระวิริยะสุข	หน่วยวิเคราะห์ดินเคมี ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร				
3	นายสุพรรณ วัฒนวัฒนา	หน่วยวิเคราะห์ดินเคมี ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร				
4	นายอัฐกฤษ์ เกษิณี	หน่วยวิเคราะห์ดินเคมี ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร				
5	นางสาวบุษมา วงศ์ลา	หน่วยวิเคราะห์ดินเคมี ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร				
6	นางสาวอารีย์ กิ่งฉิม	หน่วยวิเคราะห์ดินจุลชีววิทยา ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร				
7	นางสาวนิลธิญา ทองบุญรอด	หน่วยวิเคราะห์ดินชีววิทยาโมเลกุล ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร				
8	นางสาวนันทวัน พิศอนาค	หน่วยวิเคราะห์ดินชีววิทยาโมเลกุล ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร				
9	นายศจินฐา ประเสริฐกุล	หน่วยวิเคราะห์ดินชีววิทยาโมเลกุล ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร				



รายชื่อผู้เข้าร่วมการสัมมนาเชิงปฏิบัติการ

"Food Safety According to Japanese Food Law: Positive List System for Agricultural Residues In foods And Application of LC-MS/MS on Analysis of Antibacterial Agrichemical"

วันที่ 21-22 ตุลาคม 2551 ณ ห้องประชุม อาคารวิจัยและตรวจสอบอัญมณี และห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร ชั้น 16 อาคารมหามงกุฎ

จัดโดย

โครงการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่ ร่วมกับ ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หน่วยงานราชการ

ลำดับที่	ชื่อ-นามสกุล	บริษัท	21 ตุลาคม 2551		22 ตุลาคม 2551	
			ช่วงเช้า	ช่วงบ่าย	ช่วงเช้า	ช่วงบ่าย
1	ดร. อุภินาถ ชื่นชมรัตน์	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์วังสียง	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	
2	นางสุภาภรณ์ หนูทวี	อุตสาหกรรมพัฒนามูลนิธิสถาบันอาหาร	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>		
3	นางจิตตรา ตอกแก้ว	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์วังสียง	-	-		
4	น.ส. ประภาพร อุวิปัญญากุล	มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>		

รายชื่อผู้เข้ารับการศึกษาเชิงปฏิบัติการ

"Food Safety According to Japanese Food Law: Positive List System for Agricultural Residues In foods And Application of LC-MS/MS on Analysis of Antibacterial Agrichemical"

วันที่ 21-22 ตุลาคม 2551 ณ ห้องประชุม อาคารวิจัยและตรวจสอบข้อมูล และห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร ชั้น 16 อาคารมหามงกุฎ

จัดโดย

โครงการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่เกษตรกรรุ่นใหม่ ร่วมกับ ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หน่วยงานเอกชน

ลำดับที่	ชื่อ-นามสกุล	บริษัท	21 ตุลาคม 2551		22 ตุลาคม 2551	
			ช่วงเช้า	ช่วงบ่าย	ช่วงเช้า	ช่วงบ่าย
1	Mr. Taro Ohazama	บริษัท รับตรวจสินค้าพืชนทะเล จำกัด				
2	นายพิรพล พันธมาศ	บริษัท รับตรวจสินค้าพืชนทะเล จำกัด				
3	นางสาวภัทรวรรณ วรรณเจริญ	บริษัท รับตรวจสินค้าพืชนทะเล จำกัด				
4	นายสมชาติ โลกสันติสุข	บริษัท แคมทองผลิตภัณฑ์อาหาร จำกัด				
5	นายอุทรรษา อุทธการ	บริษัท ยูเนียนโพรเซสโปรดักส์ จำกัด				
6	นางสาววาสนา เอื้อวงศ์สังจะ	บริษัท เอสจีเอส (ประเทศไทย) จำกัด				
7	นางสาวกนกกาญจน์ ทองเหลือง	บริษัท เอสจีเอส (ประเทศไทย) จำกัด				
8	นางสาวอมรพรรณ เดชศิริพันธ์	บริษัท เอสจีเอส (ประเทศไทย) จำกัด				
9	นางสาวปิยาภรณ์ กัลยาศิริ	บริษัทคาร์กิลล์มีท์ส (ไทยแลนด์) จำกัด				

รายชื่อผู้เข้าร่วมการสัมมนาเชิงปฏิบัติการ

"Food Safety According to Japanese Food Law: Positive List System for Agricultural Residues In foods And Application of LC-MS/MS on Analysis of Antimicrobial Agrichemical"

วันที่ 21-22 ตุลาคม 2551 ณ ห้องประชุม อาคารวิจัยและตรวจสอบอัญมณี และห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร ชั้น 16 อาคารพหามฤต

ชื่อลย

โครงการนวัตกรรมการเฝ้าระวังระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารด้วยระบบเศรษฐกิจยุคใหม่ ร่วมกับ ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลำดับ ที่	ชื่อ-นามสกุล	ที่อยู่- บริษัท	21 ตุลาคม 2551		22 ตุลาคม 2551	
			ช่วงเช้า	ช่วงบ่าย	ช่วงเช้า	ช่วงบ่าย
1	นางจิรณภพ นาคา	หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	จี้ร.นศ.	จี้ร.นศ.	จี้ร.นศ.	จี้ร.นศ.
2	นางสาวกัญจวรรณ นนททอง	หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	กัญจวรรณ	กัญจวรรณ	กัญจวรรณ	กัญจวรรณ
3	นางสาวศิริพร สุ่มแก้ว	คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ศิริพร	ศิริพร		
4	นางสาวศิริยา ชาติพร้อม	คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ศิริยา	ศิริยา	ศิริยา	ศิริยา
5	นางสาวพรพรรณ มุ่งอุดมวิทย์	คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	พรพรรณ	พรพรรณ	พรพรรณ	พรพรรณ
6						
7						

รายชื่อผู้เข้ารับการสัมมนาเชิงปฏิบัติการ

"Food Safety According to Japanese Food Law: Positive List System for Agricultural Residues In foods And Application of LC-MS/MS on Analysis of Antibacterial Agrichemical"

วันที่ 21-22 ตุลาคม 2551 ณ ห้องประชุม อาคารวิจัยและตรวจสอบอัญมณี และห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร ชั้น 16 อาคารมหามกุฏ

จัดโดย

โครงการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงการสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่ ร่วมกับ ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยากร

ลำดับที่	ชื่อ-นามสกุล	21 ตุลาคม 2551		22 ตุลาคม 2551	
		ช่วงเช้า	ช่วงบ่าย	ช่วงเช้า	ช่วงบ่าย
1	Mr.Hiroyuki Kurumiya	H-Kurumiya	H-Kurumiya	H-Kurumiya	H-Kurumiya
2	Mr.Keiji Kojima	K-Kojima	K-Kojima	K-Kojima	K-Kojima
3	Mr.Jason Neo	J-Neo	J-Neo	J-Neo	J-Neo
4	ผศ. พรพรรณ อุดมกาญจนนันท์	<del>P-Oudomkarn</del>	<del>P-Oudomkarn</del>	<del>P-Oudomkarn</del>	<del>P-Oudomkarn</del>
5	ผศ. ดร. ธิติพงศ์ ประดิษฐ์วิเศษ	T-Praditsue	T-Praditsue	T-Praditsue	T-Praditsue
6	คุณวิระเดช เทพรักษ์	W-Teprak	W-Teprak	W-Teprak	W-Teprak
7.	Mr. Liao Shuang Yin	L-Liao	L-Liao	L-Liao	L-Liao

รายชื่อผู้เข้าร่วมการสัมมนาเชิงปฏิบัติการ

"Food Safety According to Japanese Food Law: Positive List System for Agricultural Residues In foods And Application of LC-MS/MS on Analysis of Antibacterial Agrichemical"

วันที่ 21-22 ตุลาคม 2551 ณ ห้องประชุม อาคารวิจัยและตรวจสอบยัญมณี และห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร ชั้น 16 อาคารมหามงกุฎ

จัดโดย

โครงการพัฒนาระบบการควบคุมคุณภาพและควบคุมผลิตภัณฑ์ของประเทศไทยสู่มาตรฐานสากล ร่วมกับ ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลำดับ ที่	ชื่อ-นามสกุล	ที่อยู่	21 ตุลาคม 2551		22 ตุลาคม 2551	
			ช่วงเช้า	ช่วงบ่าย	ช่วงเช้า	ช่วงบ่าย
1	รศ. ดร. สุวรรณา สุภิบุตร	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย				
2	รศ. ดร. มินนาท ชินะประพันธ์	ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย				(observe)
3	รศ. จิราภรณ์ ชนิยวัน	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย				
4	รศ. ดร. ศิวรักษ์ เร่งศิริวัฒน์	ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย				
5	นายประวิศ เสถะวาทาน	ศูนย์วิทยาศาสตร์ฮาลาล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย				
6	นายประวิณ ประพฤติชอบ	ศูนย์วิทยาศาสตร์ฮาลาล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย				
	นาง ลพธองี สุโขทัย	กองช่างเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย				

**Food Safety According to Japanese Food Law :  
Positive List System for Agricultural Chemical Residues  
in Foods And Application of LC-MS/MS on Analysis of  
Antibacterial Agrichemical Agents**

วันที่ 21 - 22 และ 27 ตุลาคม 2551

ณ ห้องประชุม อาคารวิจัยและตรวจสอบอัญมณี

และ

ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร

ชั้น 16 อาคารมหามกุฏ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จัดโดย

โครงการอบรมและเผยแพร่ความรู้ภายใต้โครงการนวัตกรรมเพื่อยกระดับคุณภาพและ

ความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงการสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่

ร่วมกับ

ห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถนนพญาไท แขวงวังใหม่

เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โทรศัพท์ 02-218-7653-4 โทรสาร 02-218-7653

## สัมมนาเชิงปฏิบัติการ

**Food Safety According to Japanese Food Law:**

**Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods And  
Application of LC-MS/MS on Analysis of Antibacterial Agrichemical Agents"**

วันที่ 21 – 22 และ 27 ตุลาคม 2551

กำหนดการสัมมนา

21 ตุลาคม 2551

8.30-9.00	Registration
9:00-9:15	Opening address Associate Professor Dr. Sirirat Kokpol Director, Food Research and Testing Laboratory
9:15-10:00	Current and future Japanese Food Regulations: Positive List System for Agricultural Chemical Residues in Foods Mr. H. Kurumiya
10:00-10:45	Role of Instruments in Food Safety Analysis Mr. K. Kojima
10.45-11.00	<i>Coffee Break</i>
11:00-12:00	Introduction of LC-MS/MS by Applied Biosystems Mr. Jason Neo
12:00-13:00	<i>Lunch</i>
13:00-13:45	Quality Control Procedure, Control Sample Preparation and Method Validation Mr. K. Kojima
13:45-14:30	"Chasing zeroes" of residual antibiotics in food Assistant Professor Pornpan Udomkarnjananan
14:30-15:15	Case Studies of Analysis of Antibacterial Agents: Chloramphenicol Mr. H. Kurumiya
15:15-15:30	<i>Coffee Break</i>
15:30-16:30	Case Studies of Analysis of Melamine Mr. H. Kurumiya
16:30-17:00	Questions and answers

**22 ตุลาคม 2551**

8:30-9:00	Registration
9:00-10:30	Preparation of sample, reagents and standard reference Mr. H. Kurumiya
10:30-10:45	<i>Coffee Break</i>
10:45-12:00	Preparation of sample, reagents and standard reference (continue)
12:00-13:00	<i>Lunch</i>
13:00-15:00	Analysis of chloramphenicol using LC-MS/MS Mr. H. Kurumiya
15:00-15:15	<i>Coffee Break</i>
15:15-16:30	Analysis of chloramphenicol using LC-MS/MS (continue)
16:30-17:00	Questions and answers

**27 ตุลาคม 2551**

8:30-9:00	Registration
9:00-10:30	Preparation of sample, reagents and standard reference Mr. H. Kurumiya
10:30-10:45	<i>Coffee Break</i>
10:45-12:00	Preparation of sample, reagents and standard reference (continue)
12:00-13:00	<i>Lunch</i>
13:00-15:00	Analysis of Melamine using LC-MS/MS Mr. H. Kurumiya
15:00-15:15	<i>Coffee Break</i>
15:15-16:30	Analysis of Melamine using LC-MS/MS (continue)
16:30-17:00	Questions and answers



Current and future Japanese  
Food Regulations: Positive List  
System for Agricultural  
Chemical Residues in Foods

Mr. Hiroyuki Kurumiya  
PAI-NET

10/17/2008

20 October 2008

CURRICULUM VITAE

Name HIROYUKI KURUMIYA

Date of Birth 28 January 1936

Nationality Japanese

Address 15-15, 16 chome, Yachiyodaikita, Yachiyo-shi,  
Chiba-Ken, Japan.

Education Nippon University  
Faculty of Engineering and Science  
Industrial Chemistry, Bachelor Degree

Membership PAI-NET NPO in Japan  
The Japan Society for Analytical Chemistry

Profession Chemistry, Instrument Analysis, Environment  
Research and Material Science (Polymer)

Years with Firm

1960-1993 Chemical Inspection and Testing Institute  
(Chemical Evaluation Research Institute)

1960-1964 Tokyo Laboratories of Chemical Inspection  
and Testing Institute Inspection and Testing of rubber  
and plastic goods

1973-1974 Chemical Bio-testing Center Division  
Biodegradation, Bioaccumulation of Chemical  
Substance, Research and development  
Toxicology Research

1980-1984 Environmental Monitoring and Research  
Division

1983-1984 Chemical Standard Division

1985-1994 Overseas work as JICA Expert at Sumatra  
Chemical Research Development and Training  
Center

1989-1993	Director of Overseas Division
1993	Retire
1985-1990	JICA as Expert for Sumatra Chemical Industry Training and Research Center (for 5 years) in Indonesia
1992-1995	Japan-Indonesia Science and Technology Forum (for 3 years) Research and Development Program in Serpon Science Research Center Laboratory Group under BPPT and LIPI in Indonesia
1993-1997	Free Consultant Works, JETRO, JICS, JICA
1997-2000	JICA as Expert for Environmental Management Center (EMC) (for 4 years) In Indonesia
2000-2001	Technical Expert of Nissuicon Co., Ltd. Regional Laboratory Monitoring Capability Development Project (RMCD project by JBIK) in Indonesia
2002-2004	JICA senior volunteer for Pollution Control Department (PCD) in Thailand
2004-Present	PAI-NET
2004-Present	PCD, Khon Kean University and Asia SEED in Thailand
2004-Present	National Institute of Advanced Industrial Science and Technology Training Division as Instructor for Analytical Instrument Training

#### Main Activities of Domestic Experiences

1. Industrial Rubber Products Development  
(Automobile Parts, General Use Products) of manufacturing process, Quality Control Process
2. Special Research Survey of Long life Aging of Vulcanized Rubbers
3. Design and construction management of Biodegradation Testing Facilities and Bioaccumulation Testing Facility
4. Testing Method Development of Biodegradation and Bio-Accumulation of Chemical Substances

5. Toxicology Evaluation Testing Method Development
6. Standard Reference Material Preparation Process

#### Overseas Experiences

1. Latex Application Technology Condom factory construction in Indonesia (1980-1985)
2. Water animal toxicology study in USA (1979)
3. Sumatra Chemical Industrial Development Center (1985- 1989), 3 years Academy School, education
4. 1989-1993 Temporary Survey Works
  - \*Development of Application Research of Eucalyptus essential oil, in Indonesia
  - \*Rubber Industry Survey in South-East Asia Country
  - \*Development Project for Chemical Safety Assessment System in Malaysia
  - \*Higher Education Development System survey in Indonesia (Outer Island Universities, Sumatra, Kalimantan, in Indonesia, survey of facility of Science and Engineering faculty)
  - \*Survey facilities of several universities in Sri-Lanka
5. Consulting and survey works for PusPIPTEK at Serpong (1993-1994)
6. Survey facility of Seed bank in Myanmar (1997)
7. Facility Setting of Mexico Environmental Center (1997)
8. Environmental Management Center at Serpong Indonesia (1997-2001)
9. Regional Laboratory Monitoring Capability Development Project (2001-2002), Strengthen monitoring equipment and Training staffs in Western area of Indonesia
10. As Senior Volunteer of PCD (Pollution Control Department) Establishment of QC/QA system of Air Pollution Monitoring Station and Calibration of Equipment, and development of Technique for Monitoring VOC in Ambient Air (2002-2004) still continue
11. Teaching air monitoring technique in passive sampling system to student at Khon Kean University

## The Regulation of Japan for Food Import

HIROYUKI KURUMIYA  
PAI-NET

---

---

---

---

---

---

---

---

## Officials related to Food Import

- Japanese Government has several organizations for protecting people in health from imported foods from overseas
- Those foods are regulated by several laws, which are governed by the following Ministries :

The Ministry of Health, Labor and Welfare (MHLW)  
The Ministry of Agricultural Forestry and Fishery (MAFF)  
The Ministry of Finance (MoF)

---

---

---

---

---

---

---

---

## Procedure of Import

1. Importer should have a consultation with the Quarantine Station which distributed at many local cities, which harbor and airport ( international ) and/or JETRO
2. Then provide necessary documents by the instruction of the officers of the Quarantine Station

---

---

---

---

---

---

---

---

### Procedure of Import

3. Importer should submit notification of import and application documents to related Office of each Ministry depend on foods, processed goods, various goods

**Officials:**

- Quarantine station of MHLW (keneki jo)
- Quarantine station of MAFF (keneki jo) for cattle
- Communicable prevention office of MAFF (boueki jo) for plant
- Customs of MoF (zeikan)

---

---

---

---

---

---

---

---

### Laws for Regulation

- Ministry of Health and Labor
- 1. The Food Sanitation Law  
Regulation for Food, Food Additive, Packing Material, Toys, Containers, especially Pesticide residues, Antibiotics, Food poisonous bacteria in fish & shell
- 2. The Quarantine Law  
Regulation for infectious bacteria in food
- 3. The Food Safety Basic Law

---

---

---

---

---

---

---

---

### Laws for Regulation

- Ministry of Agricultural, Forestry and Fisheries
- 1. Plant Infectious Prevention Law  
The protection for invasion of harmful insects through grains, beans, fruits, vegetables
- 2. Cattle Infectious Disease Prevention Law  
The protection for invasion of infectious disease through Pork, Beef, Ham etc

---

---

---

---

---

---

---

---

### Laws for Regulation

- Minister of MHLW & Governor of local government
  - The Pharmaceutical Business Law
  - The regulation of Medicine, Instruments of Medical Use, etc
  - The regulation for Medicine for Animal (Minister of MAFF)

---

---

---

---

---

---

---

---

### Laws for Regulation

- Ministry of Finance
  - Tax law, Customs Law
  - Collection of duties, prohibit of goods of social ills, and confirmation of approval of the food sanitation law, the plant infectious law, etc

---

---

---

---

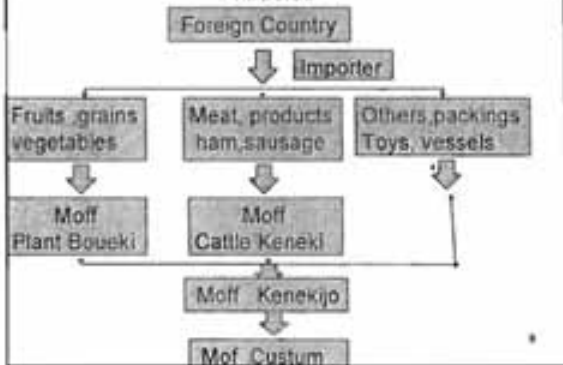
---

---

---

---

### Flow of Submitting Document of each Articles



---

---

---

---

---

---

---

---

### Import Notification

• Importer should notify the following items (stipulated Art 27, Food Sanitation Law )

- 1.Importer's Name and Address
- 2.A list of individual wares, quantity, weight, a kind of packing, uses
- 3.Name of Additives
- 4.Name of raw material, manufacture and process
- 5.Whether genetic modification (GM), or classified distribution production control
- 6.Details of additive components
- 7.Material of utensils, packing, toys
- 8.Any trouble of cargo ( goods)

18

---

---

---

---

---

---

---

---

### Watching System of Food Import

輸入食品の監視体制等の概要



1

---

---

---

---

---

---

---

---

### Inspection

• According to Notification, Official will to check and investigate the notification items

There are three ways:

- inspection by Order
- Monitoring Inspection
- Instruction to do the inspection by importer

19

---

---

---

---

---

---

---

---



### Strengthen watch and inspection

- Inspection and watching focus specifically to agricultural chemicals residue by Food Sanitary Law :

The positive system is enforced on 2003, every agricultural food are banned ,if the food contains residue of Agricultural Chemicals are contained to 0.01 p p m and Officials provide standard analytical method of all agricultural products

13

---

---

---

---

---

---

---

---

### Quarantine station in Japan



14

---

---

---

---

---

---

---

---

### Thank You for Your Attention



15

---

---

---

---

---

---

---

---

タイ王国 (Kingdom of Thailand)

検査機関名 (Name)	検査機関住所 (Address)	コード
A 公的検査機関 (Official laboratories)		
1 Fish Inspection and Quality Control Division, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives	Kaset-klang, Chatuchak, Bangkok 10900	TH10001
2 Department of Medical Science, Ministry of Public Health	Bamrungmuang road, Bangkok	TH10002
3 Department of Science Service , Ministry of Science and Technology	Rama VI Road, Ratchathewi , Bangkok 10400 , Thailand	TH10003
4 Institute of Food Research and Product Development	Kasetsart University, Chatuchak Bangkok 10900	TH10004
5 Food Analysis Division of Medical Science Department.	YOS-SAE, Bangkok 10100	TH10005
6 Veterinary Public Health Laboratory Bureau of Quality Control of Livestock Products Department of Livestock Development	Tivanont Rd., Bang-Kadi, Pathum-Thani 12000 Thailand	TH10006
7 Pesticide Residue Laboratory of Agriculture Department.	Bangkhen, Bangkok 10900	TH10007
8 Agro-Pesticide Monitoring Laboratory of Agriculture Extension Department.	Bangkhen, Bangkok 10900	TH10008
9 Centre of Export Inspection and Certification for Agricultural Products (CEICAP), Postharvest and Processing Research and Development Office, Department of Agriculture, Ministry of Agriculture & Cooperatives, Thailand	Bangkhen, Bangkok 10900	TH10009

検査機関名 (Name)	検査機関住所 (Address)	コード
B 指定検査機関 (Registered laboratories)		
1 Overseas Merchandise Inspection Co.,Ltd.	No.12-14 Yen Akas Soi 3 Chongnonsri Yannawa, Bangkok 10120	TH20001
2 Laboratory Center for Food and Agricultural Products Co., Ltd.	50 Phaholyothin Rd., Khwaeng Ladyao, Khet Chatuchak, Bangkok 10900	TH20002
3 National Food Institute	2008 Soi Jaransanitwong 40, Jaransanitwong Rd., Khwaeng Bangyeekhun, Khet Bang Phlat, Bangkok 10700	TH20003
4 SGS(THAILAND)Limited	41/23 Soi Rama III 59 Rama III Road Chongnonsee Yannawa Bangkok 10120	TH20004

# Introduction of LC-MS/MS by Applied Biosystems

Mr. Jason Neo

10/17/2008

## Curriculum Vitae



Mr Jason Neo  
Applications Team Leader  
Applied Biosystems BV  
South East Asia


Mr Jason Neo is the Application Team Leader, overseeing both Proteomics and Small Molecules applications at Applied Biosystems South East Asia. He has conducted application training for more than 50 customer labs to this day, including customers in Singapore, Malaysia, Vietnam, Thailand, Indonesia and Australia. He has extensive experience in the Mass Spectrometry for over 8 years and is currently actively involved in new method developments, consultation services and collaboration with customers in research. He holds a Bachelor of Science from Curtin University of Technology, Australia and Master of Science from National University of Singapore.

## Introduction of LC-MS/MS by Applied Biosystems

Jason Neo, MSc

Applications Team Leader  
Applied Biosystems Asia

© 2008 Applied Biosystems



Food and Beverage Screening: A Complete Solution

AB Applied Biosystems | MDS Analytical Technologies

The Leader in Mass Spectrometry – Since 1986

**AB Applied Biosystems | MDS SCIEX**

Leading global supplier of analytical instruments and technology solutions

Assuring customer success with technology	12	Global customer support labs
	>170	Global Application scientists
	>300	Global Service support

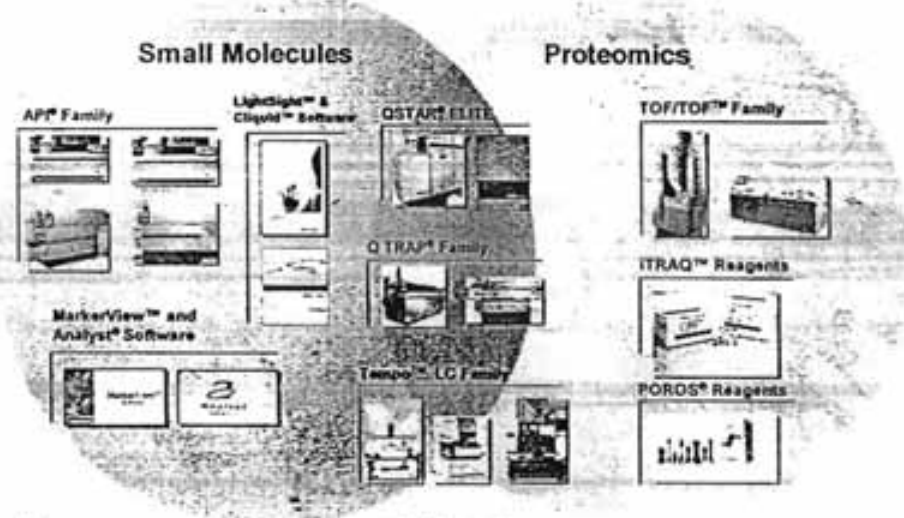
**> 10,000 MS instruments shipped**

3

© 2008 Applied Biosystems

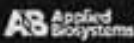
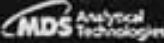
## Proteomics & Small Molecule Portfolio

*Breadth of Instruments, Consumables & Software*




4

© 2008 Applied Biosystems





## AB/MDS SCIEX LC/MS/MS Portfolio


*Hybrid Systems*




**3200 Q TRAP<sup>®</sup>**  
LC/MS/MS System



**QSTAR<sup>®</sup> ELITE**  
LC/MS/MS System



**4000 Q TRAP<sup>®</sup>**  
LC/MS/MS System



**4800 TOF/TOF<sup>®</sup>**  
System

Food and Beverage

Environmental

Forensic

Clinical Research, Protein and Biopharma

*Discovery*

*Level I/II*


*Level Optimization*

*Pre-clinical*


*Clinical*

*Development*


*Triple Quad Systems*




**API 2000<sup>™</sup>**  
LC/MS/MS System



**API 3200<sup>™</sup>**  
LC/MS/MS System



**API 4000<sup>™</sup>**  
LC/MS/MS System



**API 5000<sup>™</sup>**  
LC/MS/MS System

© 2008 Applied Biosystems




## Introducing the New AB SCIEX Platform

**AB SCIEX QTRAP<sup>®</sup> 6500 System**





**AB SCIEX Triple Quad<sup>™</sup> 6500 System**





© 2008 Applied Biosystems




 | 
 

## Portfolio of LC/MS/MS systems







API 2000™  
system




API 3200™  
3200 Q TRAP®  
systems



API 4000™  
4000 Q TRAP®  
systems




API 5000™  
system


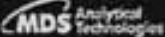


API 5500™  
5500 Q TRAP®  
systems

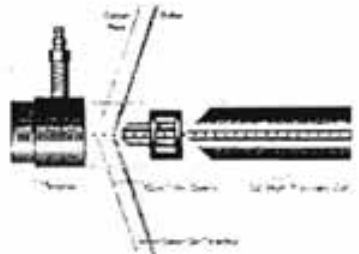
API 3200™, 4000™, 5000™, 5500™ and  
 3200, 4000, 5500 Q TRAP® systems use  
***Turbo V™ source technology.***




© 2008 Applied Biosystems

 | 
 

## QJet™ Technology – Higher Sensitivity



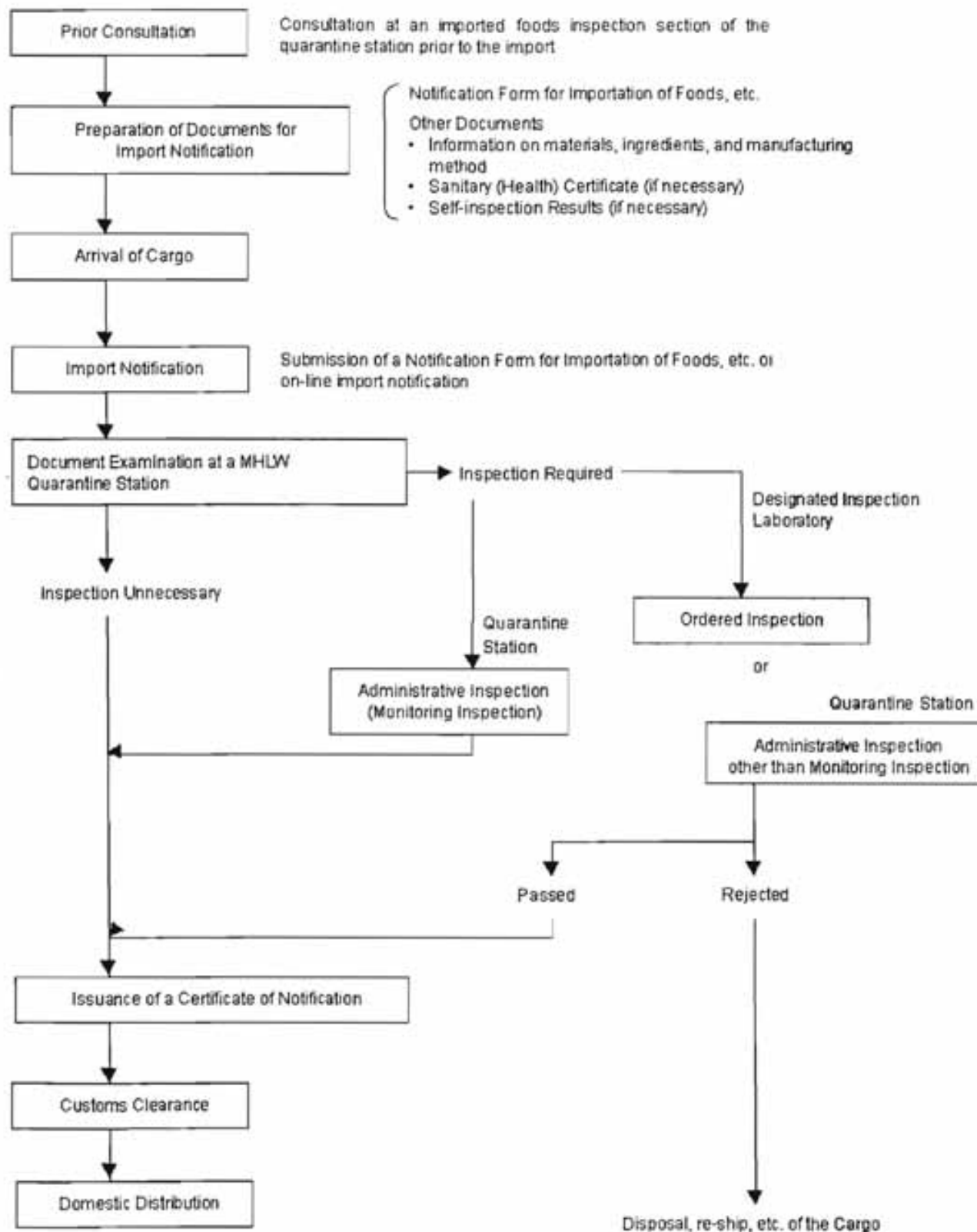


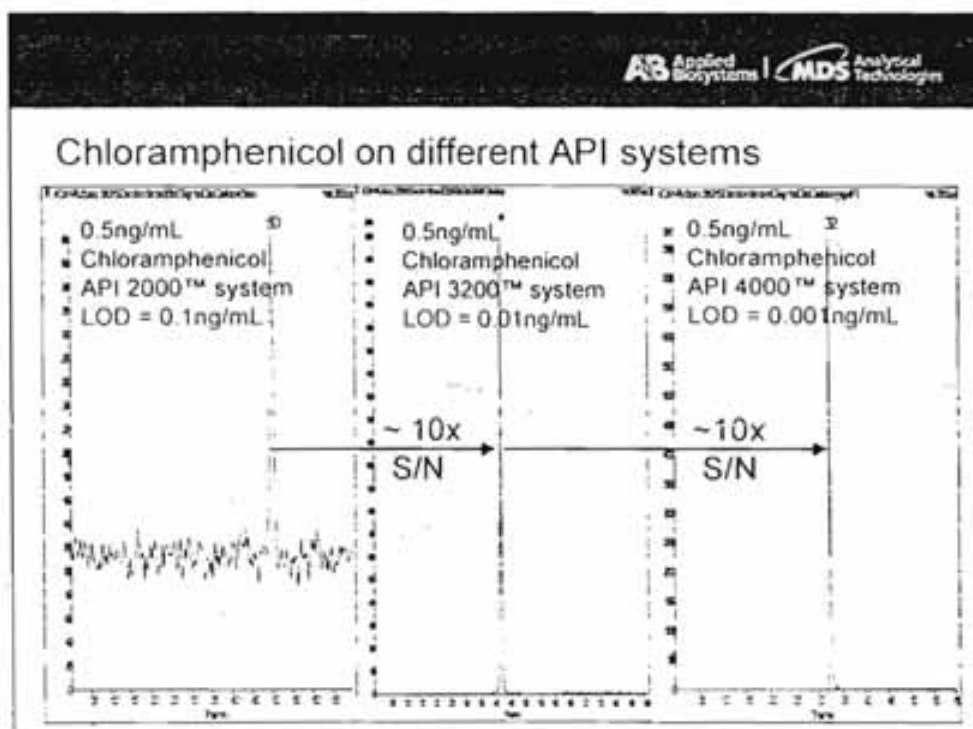

Revolutionary new QJet™ ion guide

- A high-pressure RF-only quadrupole that captures more ions and efficiently separates ions from neutral
  - Captured ions are focused and transferred to Q0
    - More efficient than a skimmer
  - Curtain Gas™ interface maintains ruggedness



© 2008 Applied Biosystems

### Procedures of Import Notification of Foods and Related Products



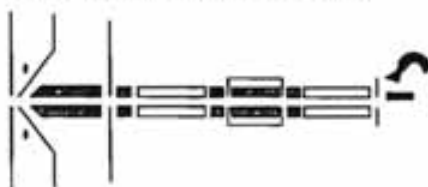
**The Analysis of Emerging Food Contaminants using LC/MS/MS Technology**

 | 
 

## Regulatory Requirements and Bioanalytical Method Challenges

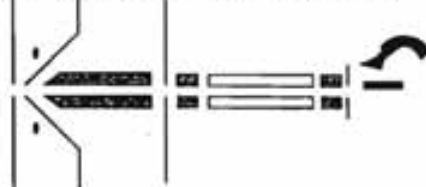
- Highly selective – meat or organs as matrices
- Highly sensitive – low or zero tolerance of residues, trace levels due to protein binding
- Accurate & precise
- Qualification and quantitation at the same time
- Robust & reliable
- Easy sample preparation
- Mass scale screening and fast turn-around time
- Simultaneous assay of multiple drugs/metabolites
  - Trend to use multiple drugs
  - Many drugs rapidly metabolized

### Triple Quad Analyzers



- Provide much more selectivity
- At a user interface level, identical to single quad MS, for single MS experiments
- Triple Quads add another level of mass filter, along with the ability to improve selectivity and obtain structural information
- 4 IP's in a single injection (2 MRM's)

### Single Quad Analyzers

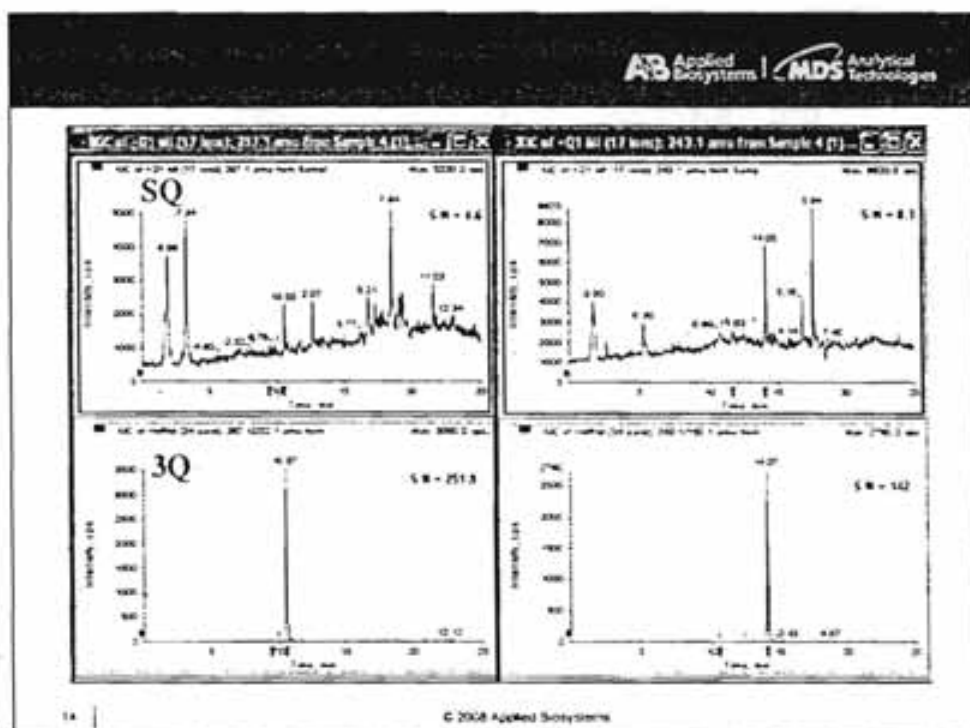
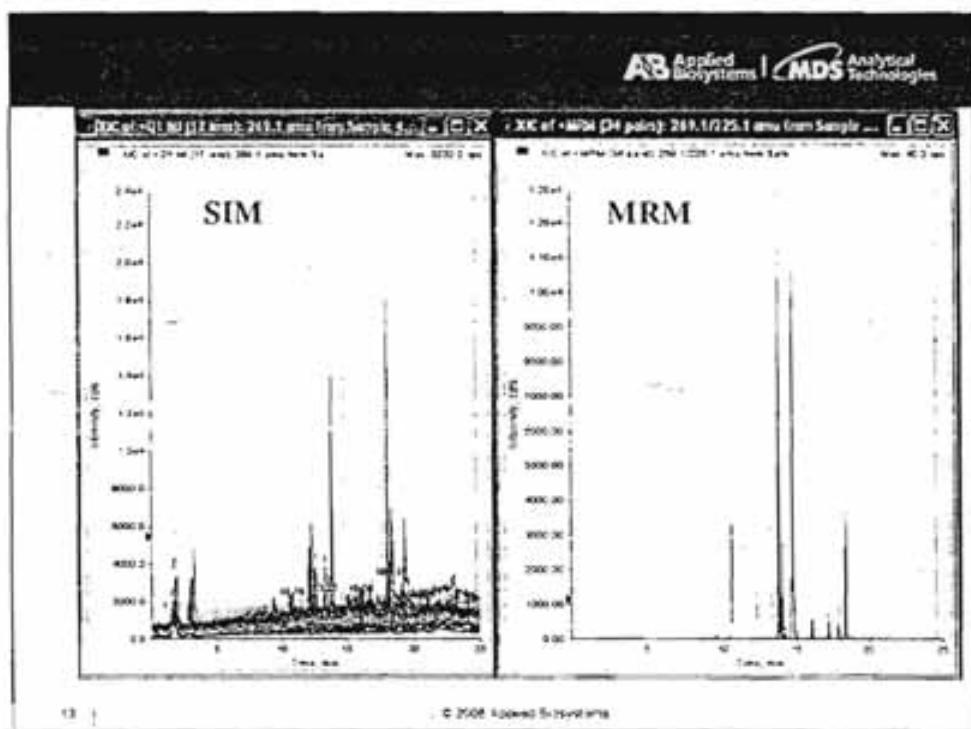


- Single quads provide low sensitivity and low selectivity

#### Guideline 2002/657/EG for residue analysis

- SIM and MRM (4 identification points)
  - MS precursor 1.0
  - MS<sup>n</sup> product 1.5
- Full scan spectra (ions > 10% of base peak mass spectral ion(s))
- High resolution MS (>10 000)

} 3Q

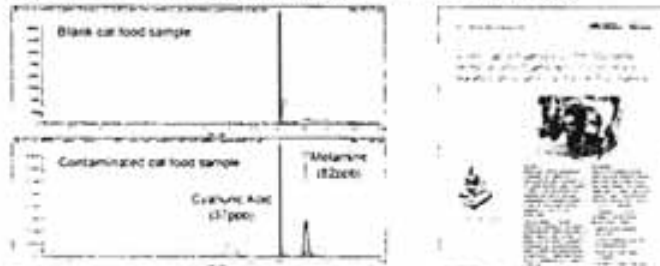


## Outline

- Increasing interest in food testing due to scandals and public interest in safer and healthier food
- LC/MS/MS ideal technology to analyze polar and thermally labile molecules
  - Melamine and Cyanuric Acid in pet food samples
  - Chloramphenicol in various matrices, such as milk, meat, fish, seafood, and honey
  - Screening for antibiotics in honey
  - Quantitation and screening for pesticides in drinking water and fruits and vegetables
- Confirmation based on MRM ratios or library searching
- A turn-key solution for LC/MS/MS in routine food testing

## Look for the Latest Scandal...

- 2007 – Melamine and Cyanuric Acid in pet food samples caused the death of pets in North America
- Analysis by LC/MS/MS using API 3200™ system based on HILIC separation and detection in negative and positive polarity with ESI in MRM
- 2008 – Melamine and Cyanuric Acid in Instant Formula



## Growing list of contaminated food



U.S. Food and Drug Administration



### FDA's Warnings/Advisories -

The FDA is advising consumers not to consume the following products because of possible melamine contamination:

- Kosha's Marsh Creme 50oz Cookies New!
- YILI Brand Sour Milk Drink
- YILI Brand Pure Milk Drink
- Blue Cat Flavored Drinks
- White Rabbit Candies
- Mr. Brown Mandehing Blend Instant Coffee (3-in-1)
- Mr. Brown Arabica Instant Coffee (3-in-1)
- Mr. Brown Blue Mountain Blend Instant Coffee (3-in-1)
- Mr. Brown Caramel Macchiato Instant Coffee (3-in-1)
- Mr. Brown French Vanilla Instant Coffee (3-in-1)
- Mr. Brown Mandehing Blend instant Coffee (2-in-1)
- Mr. Brown Milk Tea (3-in-1)
- Infant formula manufactured in China

<http://www.fda.gov/oc/opacom/topics/melamine.html>

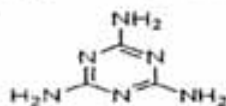
17

© 2008 Applied Biosystems

## Chemical Information

### Analytical Standards

148519 Melamine  
148519-0100



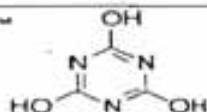
Melamine

$C_3H_6N_6$

MW: 126.12

CAS No. 108-79-1

148518 Cyanuric Acid  
148518-0100



Cyanuric Acid

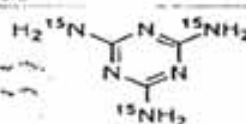
$C_3H_3N_3O_3$

MW: 129.07

CAS No. 108-80-5

### Internal Standard

148519  
15N-labeled melamine  
148519-0100



Melamine- $^{15}N_3$

$C_3H_6^{15}N_3$

MW: 129.10

18

© 2008 Applied Biosystems

## Sample Preparation

- Liquid-Liquid-Extraction (LLE) of pet food samples was performed using the following procedure:
  - Add 5mL of acetonitrile to 5g of homogenized sample
  - Mix thoroughly and let stand for 15-30 minutes
  - Add 5mL of saturated NaCl, mix and let stand for another 15-30 minutes
  - Separate by centrifugation and inject the top layer
- Further dilution of the extract with water/ acetonitrile (50/50) might be necessary if the sample is heavily contaminated.

## Sample Preparation - New Method

- Alternative method
  - Accurately weigh 5g of homogenized sample into a 250mL conical flask.
  - Add 1250µL Melamine-15N3 stock solution (200µg/mL) to the sample and wait 15 minutes.
  - Add 100mL water and vortex to mix sample with water, ensuring there are no clumps in the sample.
  - Connect a condenser apparatus to the top of the conical flask and boil the mixture for 10 minutes.
  - Remove the conical flask from the heat and leave on the bench for one minute.
  - Remove 100µL from the mixture and add to 9900µL water/acetonitrile (50:50) in a 15mL VWR centrifuge tube and vortex.
  - Centrifuge sample at 5000RPM for 10 minutes 4°C.
  - Filter the solution through 0.45 µm (PVDF) Whatman syringe filter.
  - Transfer to LC vials for LC/ESI-MS/MS analysis.



## HPLC Conditions

- Shimadzu 20AD pump x 2 + Gradient mixer SUS-20A + SIL-20AC Autosampler, CBM-20A System controller
- Column : GL Science Inertsil HILIC 5 $\mu$ m 3x150mm, Guard column: Inertsil HILIC guard cartridge, 10x3mm ID, Temp. : 40 $\pm$
- Mobile Phase: A : ACN + 10mM Ammonium acetate; B : Water + 10mM Ammonium acetate
- Flow rate: 0.5ml/min, Injection Vol: 10 $\mu$ l

### • Gradient Table

Time (min)	Flow (mL/min)	% (A)	% (B)
0.1	0.5	97	3
5.0	0.5	20	60
5.5	0.5	3	97
5.6	0.5	97	3
10.0	0.5	97	3

21

© 2008 Applied Biosystems

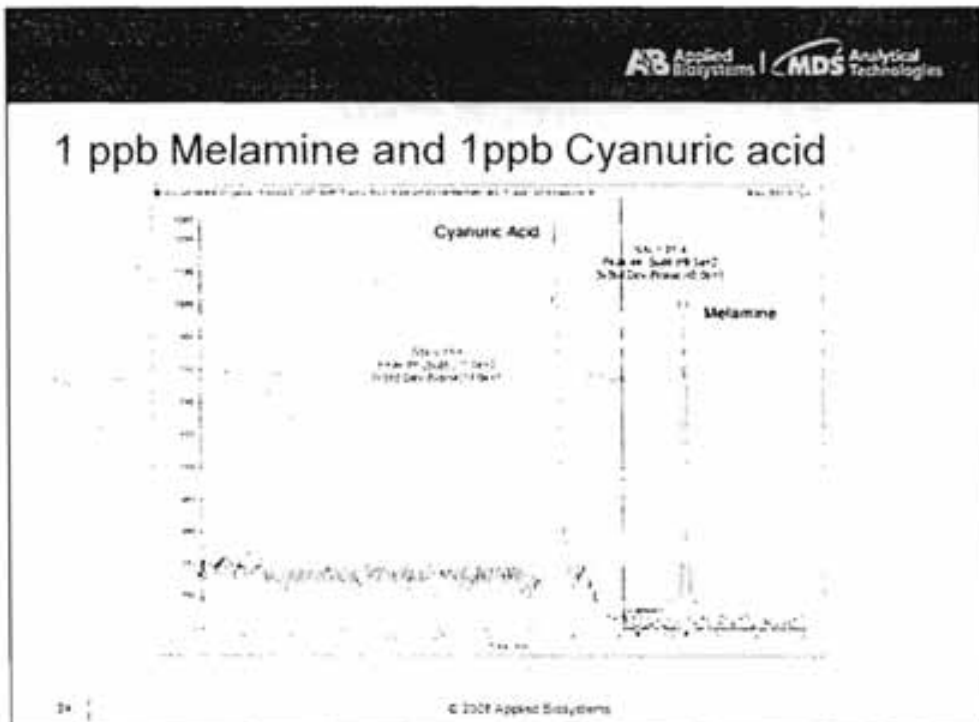
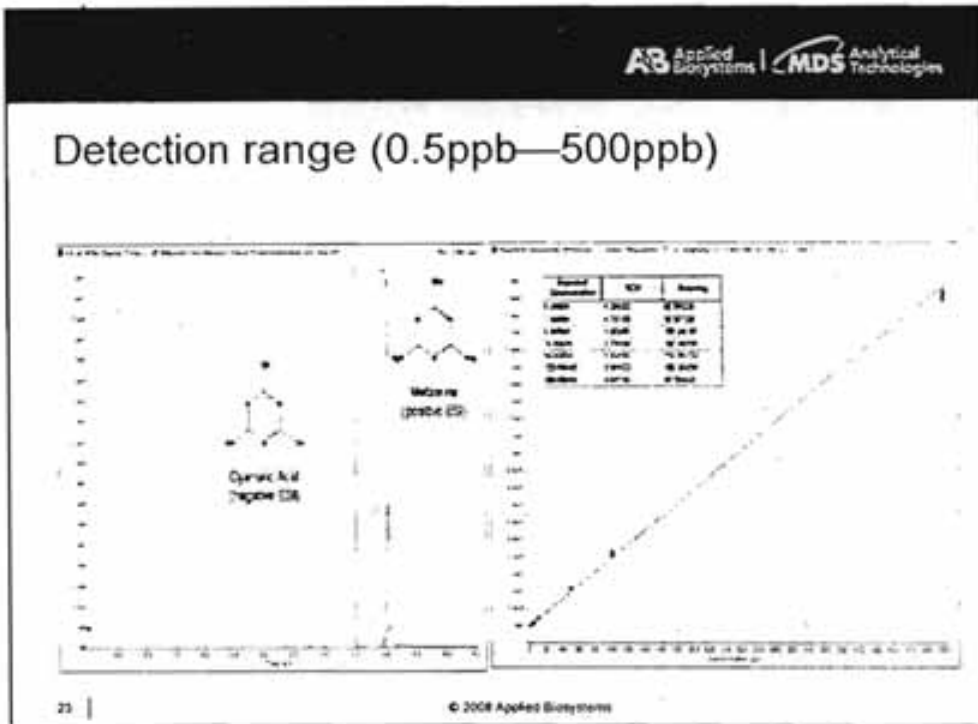
## Mass Spectrometry conditions

- Model : API 3200 (Applied Biosystems)
  - ESI (+), ESI (-)
- MRM Parameters

Compound	Retention Time (min)	Q1 (amu)	Q3 (amu)	DP (V)	CE (V)
Cyanuric acid	2.5	128	42	-30	-30
		128	85	-30	-13
Melamine	4.0	127	85	44	26
		127	68	44	48
		127	60	44	27
Melamine- <sup>15</sup> N <sub>3</sub>	4.0	130	69	44	40
		130	87	44	29

22

© 2008 Applied Biosystems

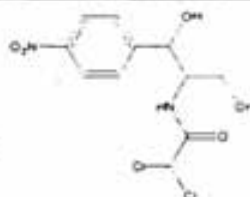


## Chloramphenicol in milk, meat, fish, seafood, honey... API 3200™ LC/MS/MS system

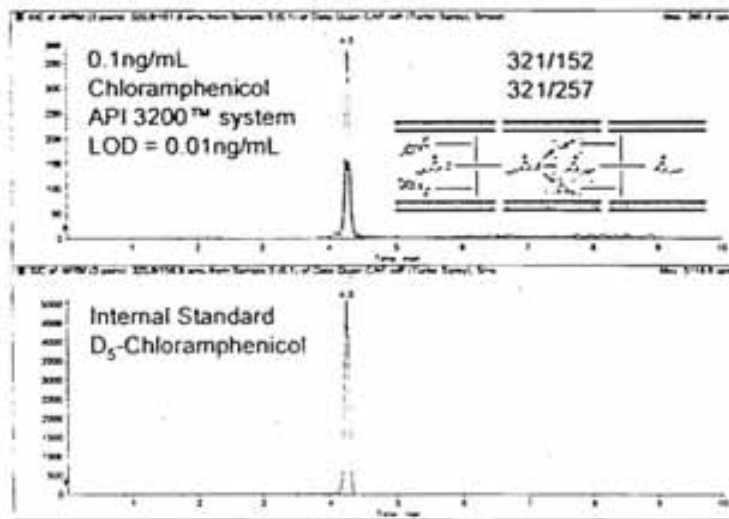


### LC/MS/MS of Chloramphenicol

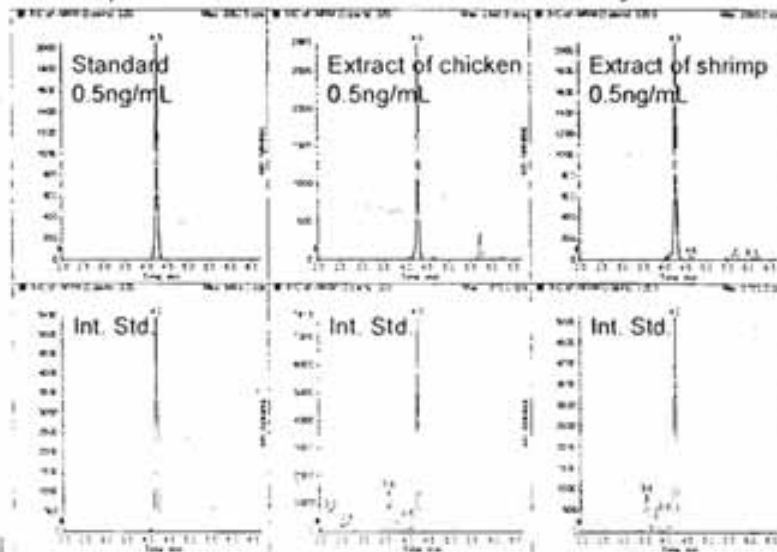
- Broad spectrum antibiotic
- Prohibited to use for food-producing animals
- HPLC and MS/MS
  - Phenomenex Aqua 5u C18 125 A (50x2mm)
  - Flow rate: 400µL/min
  - Gradient: H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH + 0.1% formic acid + 5mM ammonium acetate
  - API 2000™, API 3200™, and API 4000™ LC/MS/MS systems
  - Electrospray Ionization source in negative polarity
  - Chloramphenicol and D<sub>5</sub>-Chloramphenicol in Multiple Reaction Monitoring
- Sample preparation
  - Protein precipitation and Liquid-Liquid-Extraction of milk
  - Liquid-Liquid-Extraction of meat
  - Liquid-Liquid-Extraction of fish and seafood
  - Dilution with water to analyze honey



## LOD of Chloramphenicol on API 3200™ system



## Chloramphenicol in food API 3200™ system





## Screening for antibiotics in honey 4000<sup>®</sup> Q TRAP LC/MS/MS system



### The challenge of an antibiotic screening method

- Quantitation and confirmation of 54 compounds of 7 compound classes (acaricides, aminoglycosides, amphenicols,  $\beta$ -lactams, macrolides, sulfonamides, tetracyclines)
- Targeted concentration 20 $\mu$ g/kg (except for acaricides)
- Broad range of chemical structures
- Molecular weight: 122-916
- Isomeric compounds needs to be separated
- Aminoglycosides: hard to retain on RP-columns
- Tetracyclines: tend to epimerize
- Beta-Lactams: degradation (acid, alcohol, temperature)
- Macrolides: singly and doubly charged

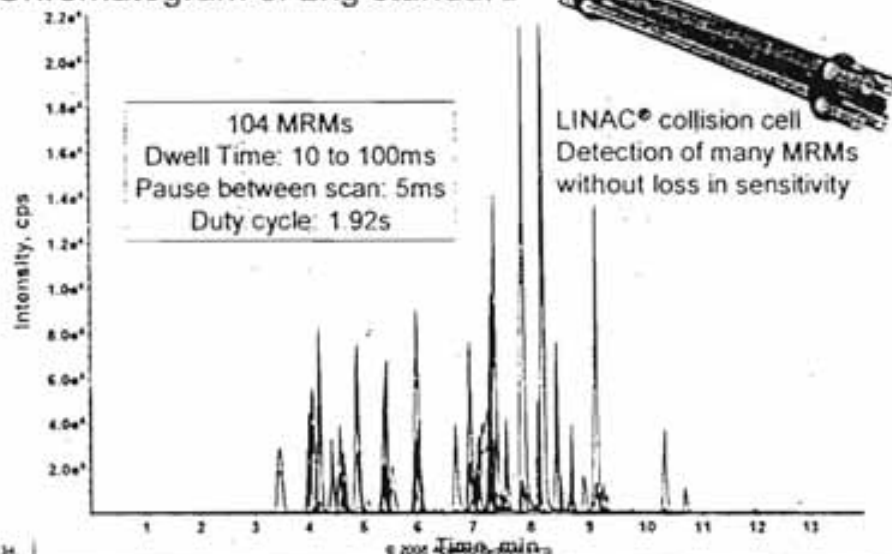
## LC/MS/MS of Antibiotics in Honey Samples

- HPLC separation
  - Column: Zorbax SB-C18 (50x2.1mm) 1.8 $\mu$ m particles
  - Ion pairing with 1mM Heptafluorobutyric acid (HFBA)
- MS/MS detection
  - 4000 Q TRAP<sup>®</sup> LC/MS/MS system
  - Turbo V<sup>™</sup> source with Electrospray probe
  - Detection of 104 MRM transitions at a dwell time of 10-100ms
  - Total cycle time of 1.92s
- Sample preparation
  - Four step Liquid-Liquid-Extraction and serial injections of reconstituted extracts

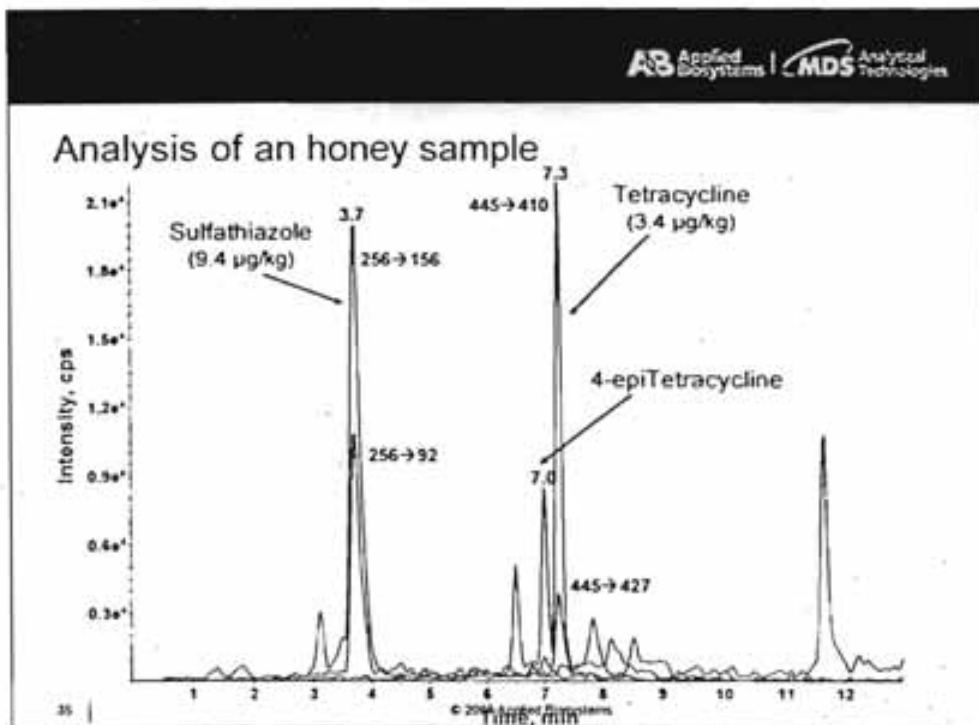
13



© 2008 Applied Biosystems

## Chromatogram of 2ng standard




14

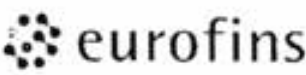


 | 
 

A generic method to quantify pesticides in water  
 and food samples at highest sensitivity



Risiken erkennen - Gesundheit schützen



© 2008 Applied Biosystems



## LC/MS/MS of Pesticides in Water and Food Samples

- Generic HPLC:
  - Phenomenex Synergi 4u Fusion-RP 80A (50x2mm)
  - Eluent A: water + 5mM ammonium formate
  - Eluent B: methanol + 5mM ammonium formate
  - Gradient: 80/20 – 10/90 over 8min
  - Flow of 200 $\mu$ L/min
  - Injection of 20 $\mu$ L
- MS/MS:
  - API 5000™ and 3200® Q TRAP LC/MS/MS system
  - TurboV™ source with Electrospray probe at 500°C
  - 2 MRM transitions or 1 MRM transitions with Enhanced Product Ion spectra to confirm presence of identified pesticide

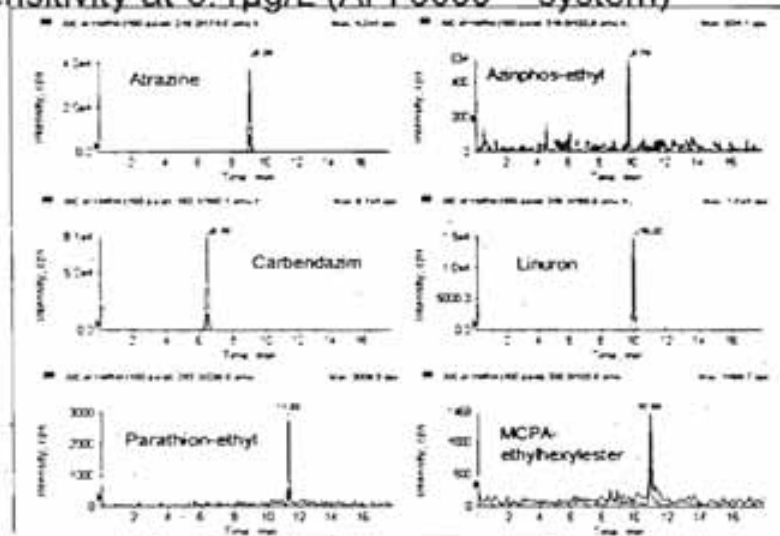
37

© 2004 Applied Biosystems

## Cliqid™ software – MRM catalogue (>500 pesticides)

The screenshot displays the Cliqid software interface. On the left, there is a 'Tests' section with a list of test parameters including 'Test Name', 'Sample Name', 'Injection Volume', and 'Injection Concentration'. In the center, there is a 'MRM Catalogue' section with a search bar and a list of filters. On the right, there is a 'Acquiring' section with status indicators for 'Acquiring' and 'Data Collection'. A small inset image in the top right corner shows a landscape with a river and the text 'Cliqid™ Food & Beverage'.

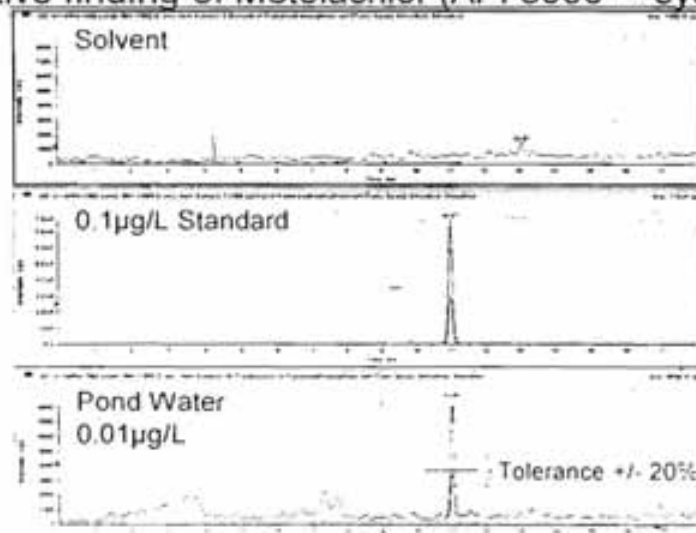
### Sensitivity at 0.1 $\mu\text{g/L}$ (API 5000™ system)



39

© 2001 Applied Biosystems

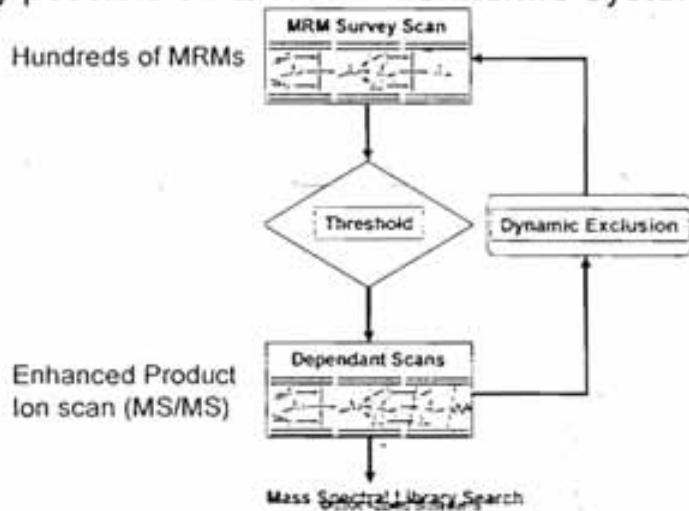
### Positive finding of Metolachlor (API 5000™ system)



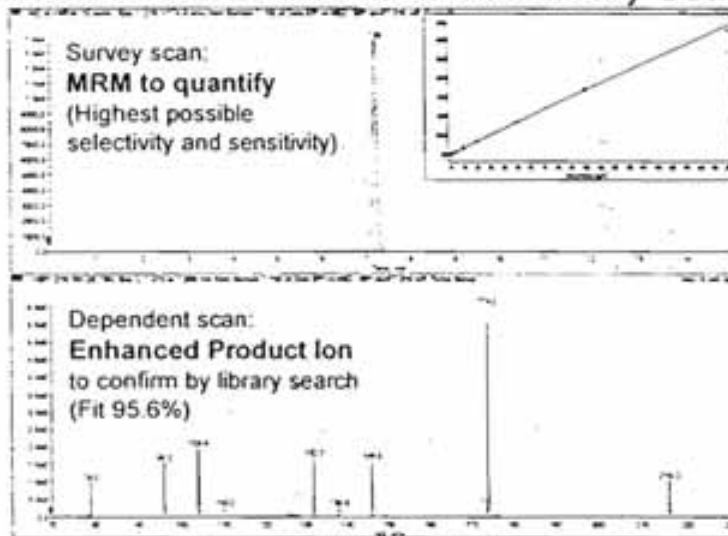
40

© 2001 Applied Biosystems

## Screening with Confirmation on Library Searching (only possible on Q TRAP® LC/MS/MS systems)



## Quantitation and Confirmation with Library Search

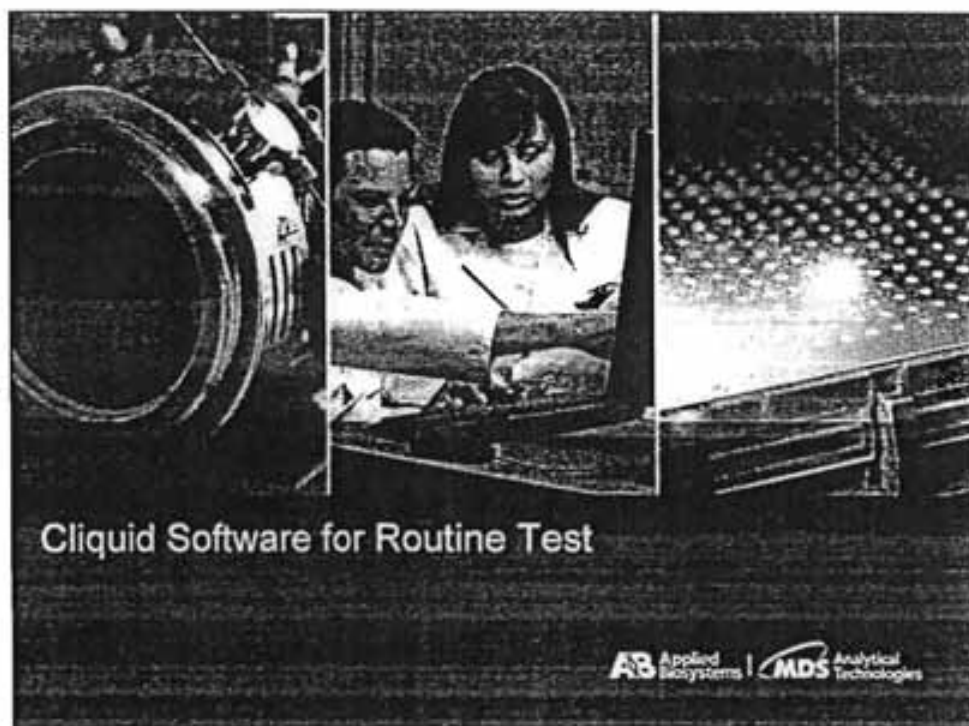


## Summary

- LC/MS/MS ideal technology to quantify and confirm the presence of emerging contaminants in food samples
- API 3200™ LC/MS/MS system provides sensitivity matching current regulations of routine food testing
- API 4000™ and 5000™ give extra sensitivity to simplify sample preparation or to dilute samples to reduce possible matrix effects
- MRM ratios to confirm analytical results (triple quadrupole)
- Enhanced Product Ion spectra (Q TRAP® systems) with highest degree of confirmation based on mass spectral library searching
- Cliquant™ software makes LC/MS/MS easy to use with pre-configured methods, report templates and the MRM catalogue

## Acknowledgements

- University of Guelph – Guelph, ON (Canada)
- ERICo – Velenje (Slovenia)
- LAVES – Cuxhaven (Germany)
- Nestle – Lausanne (Switzerland)
- Eurofins – Hamburg (Germany)
- Federal Institute for Risk Assessment – Berlin (Germany)
  
- And many other food and environmental testing laboratories worldwide



AB Applied Biosystems | MDS Analytical Technologies

## Outline

**Philosophy and Cliquid™ portfolio**

**Key features**

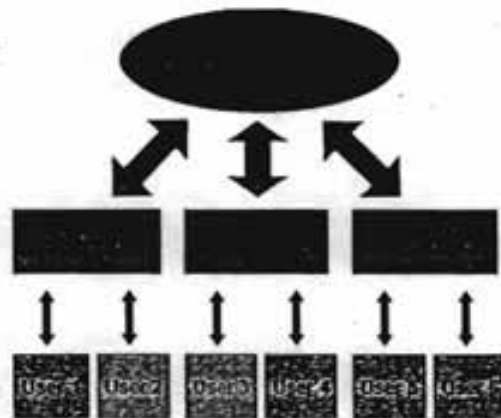
- Security login
- Four step workflow to perform analysis
- Pro-configured tests and automatic reporting
- MRM catalogue and mass spectral libraries
- Customization of tests and report styles

**Languages**

40 | © 2008 Applied Biosystems

## The Current Situation in many Routine Testing Labs

- Expert user(s) adopt new technology or develop new techniques and are responsible to deploy to technicians level users
- Technicians perform routine experiments and data processing using the same software platform
- Food Testing and Forensic Toxicology are good examples of markets where routine analysis by LC/MS/MS has not yet become widespread



47

© 2008 Applied Biosystems

## Cliquid™ Software Goals

- Goal to provide "trainingless" solution for LC/MS/MS applications
- Workflow framework for routine testing
- Provide expert user with the ability to deploy sophisticated methodologies with little or no training to laboratory technicians
- Provide complete solutions with pre-configured tests and reports matching regulatory guidelines

48

© 2008 Applied Biosystems

## Cliquid™ Portfolio



- Pesticides of 5 different classes
- Azo-dyes
- Chloramphenicol
- Nitrofurantol metabolites
- Malachite green
- Mycotoxins
- Acrylamide
- MRM catalogue of ~ 500 pesticides



- 20 Amino Acids



- completely customizable with homemade methods and reports



- Remedi replacement
- Drug Screening
- Mass spectral library
- Benzodiazepines
- Other quant methods to be released
- MRM catalogue of ~1200 drugs and pharmaceuticals

43

© 2008 Applied Biosystems

## Cliquid™ Food & Beverage Software for Routine Food Testing



+



+



**API 3200™ + Shimadzu LC + Cliquid™**

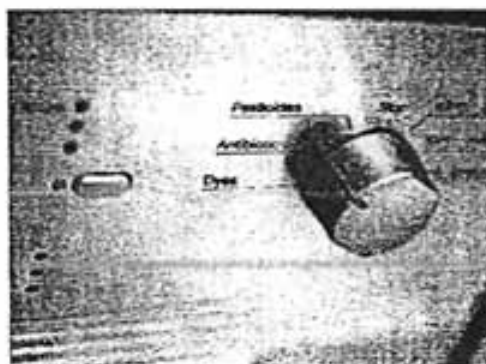
Includes:

- API 3200™ LC/MS/MS system (or any other API XXXX or 3200 Q TRAP® system or 4000 Q TRAP® system)
- Shimadzu Prominence LC or Agilent 1200 LC
- Set of HPLC columns and mix for System Suitability Test
- Installation, Familiarization and One Year Warranty

50

© 2008 Applied Biosystems

## Cliquid™ Software



**Click + Liquid = Cliquid**  
 (Out-of-the-box, high performance LC/MS/MS analysis)

31

© 2008 Applied Biosystems



## Cliquid™ Software – Security Login



Technician... run and reprocess samples to generate reports Analyst LNA  
 Administrator... additionally activate and edit tests and reports

32



 | 
 

## Cliquid™ Software – Profile (name, email, language)

CEN

---


**Initial Setup**

The screen to be the first time you are accessing the Cliquid™ Software for Routine Purvial™ Download.



The software installation you must have installed on your PC. If you are using the software for the first time, the software will install the software to which the installation is done.

**Enter your profile**

Name:       Address:

Role:       


5




 | 
 




## Cliquid™ Software – Homepage

CEN

---

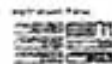






**Wilfried**                  

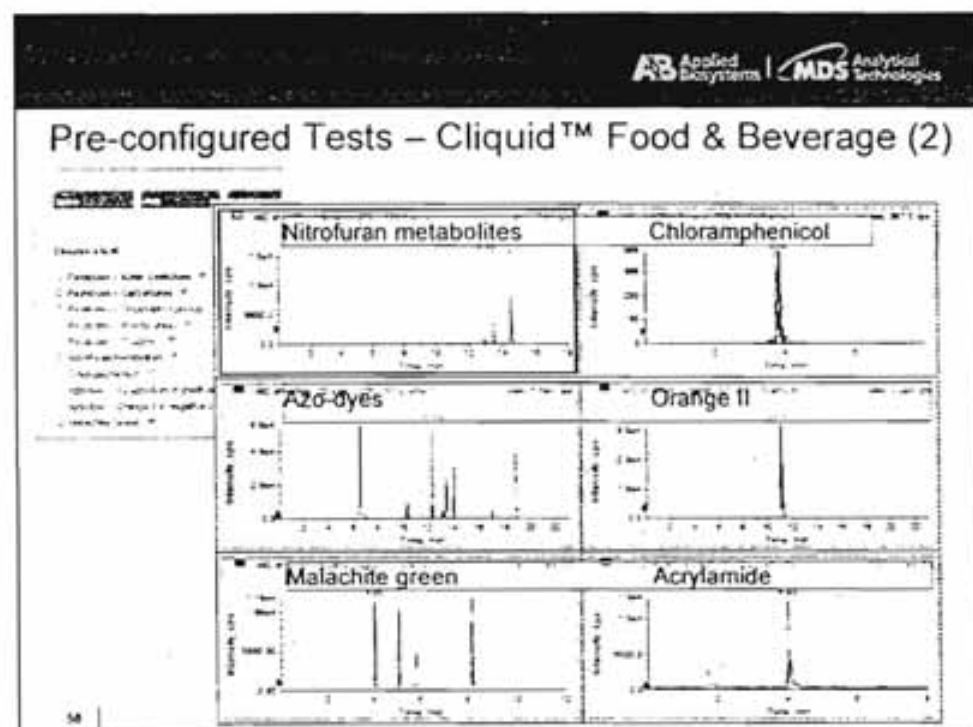
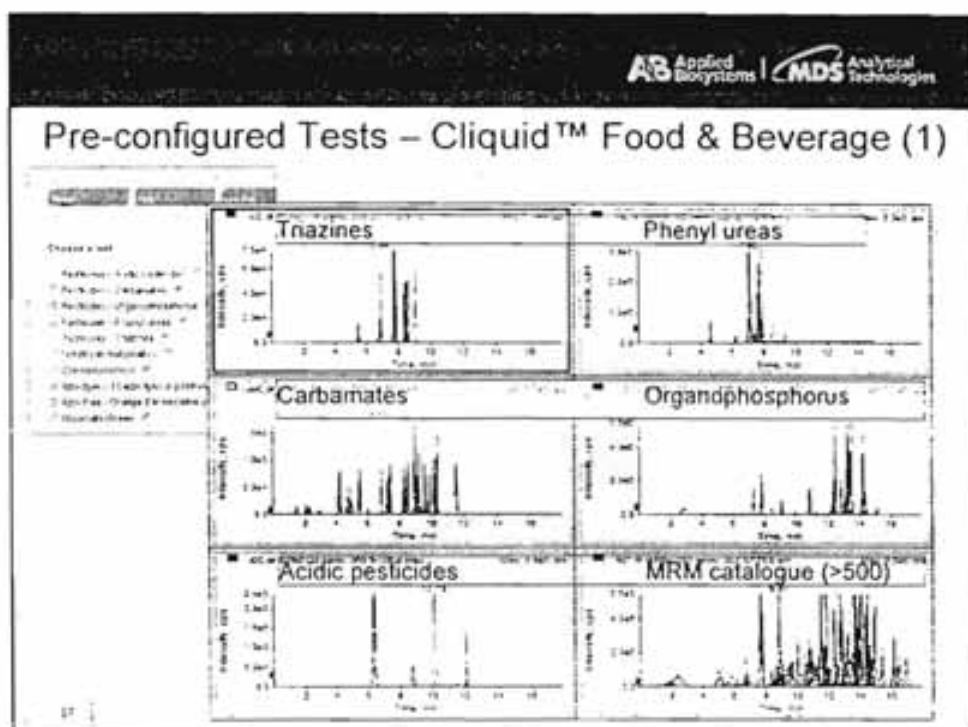
Administrator
Technician

- What would you like to do?
  - Full system settings
  - Full user settings
  - Hardware setup
  - System security
  - Role
  - 
  - Profile
  - User profile
  - System help
  - Manage
  - Tools
  - Full settings
  - Full system
  - System installation


Standby





5





## 2. Step – Build or Import Sample List

**Run Screening**

Step 1: Choose list

Next: Load the Sample List

List Name	Run Name	Run Date	Run Time	Run Status
1	Sample 1	01/01/08	10:00	Completed
2	Sample 2	01/01/08	10:05	Completed
3	Sample 3	01/01/08	10:10	Completed
4	Sample 4	01/01/08	10:15	Completed
5	Sample 5	01/01/08	10:20	Completed
6	Sample 6	01/01/08	10:25	Completed
7	Sample 7	01/01/08	10:30	Completed
8	Sample 8	01/01/08	10:35	Completed
9	Sample 9	01/01/08	10:40	Completed
10	Sample 10	01/01/08	10:45	Completed

Step 2: Customise report

Step 3: Submit samples

Hardware Panel: Standby

59

## 3. Step – Customize Report / Select Report Style(s)

**Run Samples**

Step 1: Choose list

Next: Select report style

- 1 Report all samples with their original English
- 2 Report all samples with their original English
- 3 Report all samples with their original English
- 4 Report all samples with their original English
- 5 Report all samples with their original English
- 6 Report all samples with their original English
- 7 Report all samples with their original English
- 8 Report all samples with their original English
- 9 Report all samples with their original English
- 10 Report all samples with their original English


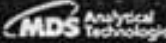
Step 2: Build sample list

Step 3: Customise report

Step 4: Submit samples

Hardware Panel: Standby

60

### 3. Step – Customize Report / Specify Report Output

**Run Screening**    **ANALYZE**    **RESULTS**    **REPORTS**

**Step 1: Choose list**      **Select desired report output format**

**Step 2: Build sample list**      **Save file as version of report**  
 Save full version of report  
 Save full version of report  
 Save full version of report  
 Save full version of report  
 Save full version of report  
 Save full version of report



**Step 3: Customize report**      **Format of the report is already set by the user that created the report**

**Step 4: Submit samples**

**Run Screening Panel**      **Standby**

**ANALYZE**      **RESULTS**      **REPORTS**

12

### 4. Step – Review, Equilibrate, and Submit

**Run Screening**    **ANALYZE**    **RESULTS**    **REPORTS**

**Step 1: Choose list**      **Enter an equilibration time and verify your system setup**

**Step 2: Build sample list**      **Customization**    **INITIALS**

**Step 3: Customize report**      **Report name**  
 Report name:   
 Report name:   
 Report name:   
 Report name:

**Step 4: Submit samples**

**Run Screening Panel**      **Standby**

**ANALYZE**      **RESULTS**      **REPORTS**

13

## Automatic Acquisition – Equilibration and Job List

**What would you like to do?**  
 Run Equilibration  
 Run Sample Acquisition  
 Reconfigure Software  
 System Administration  
 Setup  
 Run Program  
 Auto Acquire  
 Open Method

Job No.	Name	Job Name	Method	Status	Method ID
1	Sample 1	Sample 1	MDS 1000	Acquiring	MDS 1000

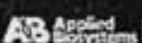
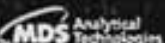
**Acquiring**  
 Current Sample: 1/10

## Automatic Acquisition – Sample List and Live View

**What would you like to do?**  
 Run Equilibration  
 Run Sample Acquisition  
 Reconfigure Software  
 System Administration  
 Setup  
 Run Program  
 Auto Acquire  
 Open Method

Job No.	Name	Job Name	Method	Status	Method ID
1	Sample 1	Sample 1	MDS 1000	Acquiring	MDS 1000
2	Sample 2	Sample 2	MDS 1000	Acquiring	MDS 1000
3	Sample 3	Sample 3	MDS 1000	Acquiring	MDS 1000
4	Sample 4	Sample 4	MDS 1000	Acquiring	MDS 1000
5	Sample 5	Sample 5	MDS 1000	Acquiring	MDS 1000
6	Sample 6	Sample 6	MDS 1000	Acquiring	MDS 1000
7	Sample 7	Sample 7	MDS 1000	Acquiring	MDS 1000
8	Sample 8	Sample 8	MDS 1000	Acquiring	MDS 1000
9	Sample 9	Sample 9	MDS 1000	Acquiring	MDS 1000
10	Sample 10	Sample 10	MDS 1000	Acquiring	MDS 1000

**Acquiring**  
 Current Sample: Sample 010

## Automatic Acquisition – Report List and View Report

600

Home  
 Reports  
 Reports

**Adrianna**

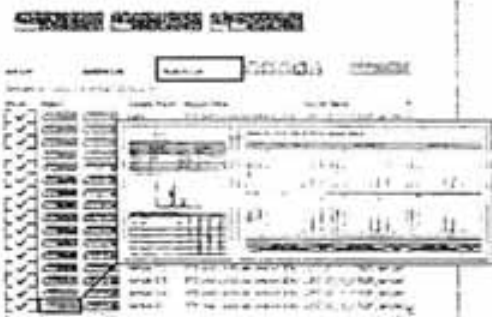
What would you like to do?

- Run pending samples
- Run past samples
- Report on samples
- System calibration
- Setup
- View status
- Acquire job
- View profile
- System search



Home  
 Reports  
 Reports

**Acquiring**

Current Sample: Sample 213



55

## Automatic Acquisition – Report List and Rereport

600

Home  
 Reports  
 Reports

**Adrianna**

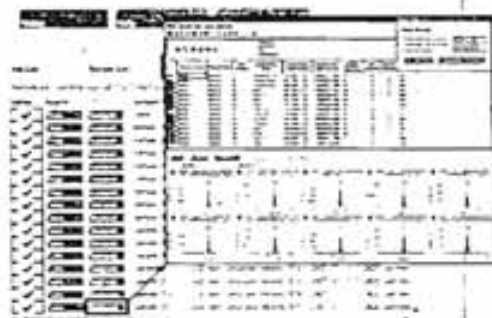
What would you like to do?

- Run pending samples
- Run past samples
- Report on samples
- System calibration
- Setup
- View status
- Acquire job
- View profile
- System search


Home  
 Reports  
 Reports

**Acquiring**

Current Sample: Sample 213

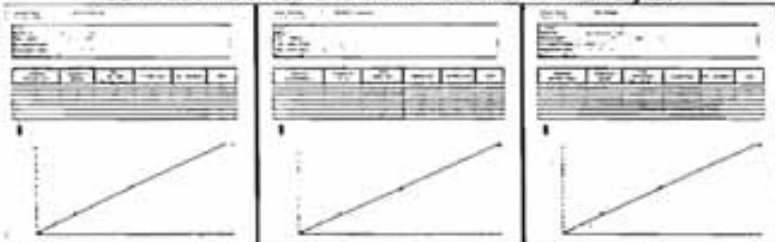


56

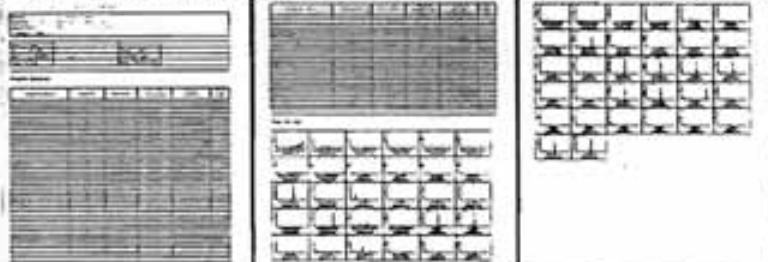


## Example Quantitation Report


Calibration Curves and statistical data for all analytes




Report of an unknown sample with quantitative data and MRM ratio confirmation



67 |





## Customization of Reports Styles Based on \*.dot




68 |








## Cliquid® Software – MRM catalogue



**Tests**

What would you like to do?      Select components to include in the test



Get started today and download these free iMethod™ Tests

 <p><b>Download iMethod</b></p> <p>Free test package for accelerated results</p>	 <p><b>Download iMethod</b></p> <p>Download Japanese Positive List iMethod™ Test</p>	 <p><b>Download iMethod</b></p> <p>Download Fluoroquinolone Antibiotics iMethod™ Test</p>
---	---	--

Download guidelines and installation instructions.

**Acquiring**

71 | © 2008 Applied Biosystems

## iMethod™ Tests - definition

- An iMethod™ is an installer for Cliquid which installs everything a user needs to perform the included tests
  - New test simply “appear” in the SW interface
- iMethods™ may be delivered through download or via CD
  - Utilizes the pack/unpack feature of Cliquid 2.0 Software
- iMethod™ Store to include other updates to key features or content
  - Templates, MRM catalogue, MS/MS libraries, Patches, etc.

72 | © 2008 Applied Biosystems

## iMethod™ Tests Contents

### iMethod Test Package

- All Cliquid Test components
  - Acquisition methods
  - Quant methods
  - Appropriate templates
  - MRM catalogue entries
  - MS/MS entries (where possible due to licensing)
  - All SOP Documents for method, example data, report templates



## iMethods™ Store

### Instant Methods for Accelerated Results.

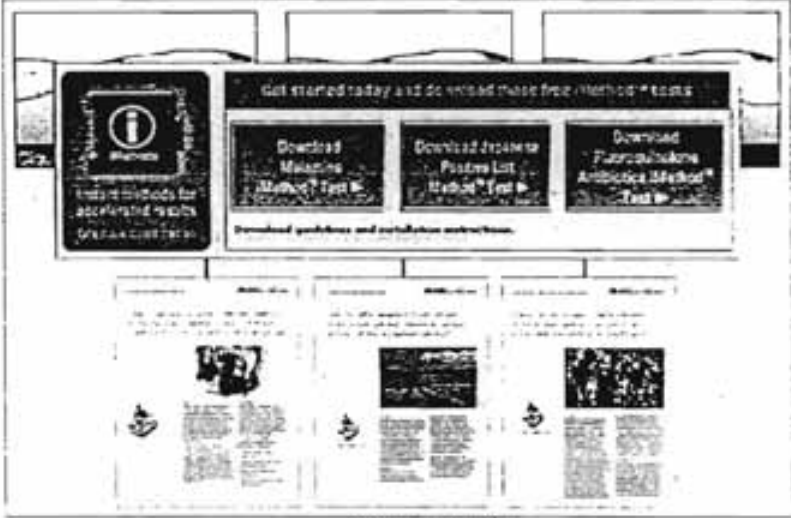
Enabling customers to download pre-configured or user contributed methods at their fingertips into Cliquid Software for Food Testing, Environmental Analysis, Clinical Research and Forensic Toxicology. Instantly accessible methods are available for purchase from the iMethods™ store along with Cliquid Software kits and databases.

- About iMethods
- About Cliquid
- What's new
- Shop by application page per application
- Each application includes:
  - iMethods
  - Kits, Method and Column
  - Databases
  - Free software patches
  - Free templates
  - Selected free iMethods - User contributed
- Submit your own method to share with others




## Cliquid® Software and iMethod™ Tests




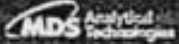
The screenshot shows a website interface with the following elements:

- Header: "Get started today and download these free iMethod™ tests"
- Three main download buttons:
  - Download Melamine iMethod™ Test
  - Download Tricaine Pesticide iMethod™ Test
  - Download Furazolidone Antibiotic iMethod™ Test
- Text below buttons: "Download guidelines and verification instructions."
- Three columns of text and images below, likely representing different test results or applications.

75 | © 2008 Applied Biosystems



Thank you for your attention

*"Chasing zeroes"* of residual  
antibiotics in food

Assis. Prof. Pornpan Udomkarnjananan  
Department of Chemistry  
Faculty of Science  
Chulalongkorn University

10/17/2008

## CURRICULUM VITAE

**Assistant Professor Pornpan Udomkanjananan**

**Contact Information:**

Department of Chemistry, Faculty of Science  
Chulalongkorn University  
Phayathai Road, Patumwan  
Bangkok 10330, THAILAND



**Office:** 1239 Mahamakut Building  
**Tel:** 02-2187614  
**Fax:** 02-2187598  
**E-mail:** pornpan.u@chula.ac.th

**Teaching/Research Field:**

Analytical Chemistry

**Current Research Topics:**

- Physical Chemistry of Surfaces

**Research Unit(s):**

Chemical Education Research Unit

**Education:**

- 1977 B.Sc. Chemistry, Chulalongkorn University
- 1980 M.Sc. Analytical Chemistry, Oregon State University, USA.
- 2000 Special Training in food Analysis (Kyoto, Japan)
- 2002 Special Training in LC-MS/MS Analysis (Austria)

**Work Experiences**

1. สอน Instrumental Analysis in Chemistry มากกว่า 20 ปี
2. ทำงานวิจัยทางด้านการวิเคราะห์อาหาร-สารตกค้าง, สารปนเปื้อนในอาหาร
3. ที่ปรึกษาทางด้านวิชาการของห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
4. Teaching Area: Instrumental Analysis in Chemistry.
5. Research field : Antibiotics, Harmful residues, Additives and other contamination in food.
6. Adviser to the Food Research and Testing Laboratory (F.R.T.L)

## "Chasing zeroes" of residual antibiotics in food

000



---

---

---

---

---

---

---

---

Zero is a small number

- 1950s & 1960s --- part per thousand, ppm
- 1970s & 1980s --- ppm, ppb
- 1990s & 2000s --- ppt, ppq

Analytical technology:

Zero = the current limit of detection (LOD)



---

---

---

---

---

---

---

---

How we chase zero

- A contaminant is found in food and deemed to be unacceptable
- A new instrument or method drops the LOD
- The contaminant is found again & new ones may appear on the scene for the first time
- Society is obliged to chase the receding "zero"



---

---

---

---

---

---

---

---

From AOAC International, May-June 2007

The Seafood Initiative: Doing the Right Thing

- critical and immediate need in developing new methods
- bridge between the international trade of food and agriculture by good analytical method
- food safety issues concern chemical and biological issues --- pesticides, antibiotics, speciation of fish, bacterial pathogens
- some of the banned antibiotics in shrimp culture: Chloramphenicol, Penicillin, Oxytetracycline, ciprofloxacin



---

---

---

---

---

---

---

---

### Chasing zero

FDA actionable levels for unapproved drugs or drugs without established tolerance levels are at the limit of detection (LOD) of the analytical methods.

FDA's methods used in inspections are below the detection limit of currently available rapid test kits.

FDA can inspect only 2% of all imported seafood in the United States.

At present, no kits have achieved the sensitivity or specificity to drug's metabolites needed for drugs like Chloramphenicol, Nitrofurans and Malachite green.



---

---

---

---

---

---

---

---

### Food safety's consensus

A multipurpose method might keep them ahead of emerging problems.

A multi-antibiotic method might be useful.

Prevention is what will save everyone money.

It needed to be done close to the source, preferably before exporting.

AOAC effort is to find pressing analytical issues and to build consensus regarding what is really needed.



---

---

---

---

---

---

---

---



### Analytical problems

Large number of compounds.

Parent drugs and metabolites.

Metabolites: Phase I, oxidized, reduced or hydrolyzed.

Phase II, biotransformed eg. Glucuronation, sulfation, conjugation with glycine.

Extremely low levels (ppb) residues to be analyzed.

Complexity of matrix.



---

---

---

---

---

---

---

---

From "Commission Decision 2002/657/EC"

**Screening methods:** detect the presence of a substance or a class of substances at the level of interest and mainly include bioassays.

**Confirmatory methods:** provide full or complementary information enabling clear identification and quantification of the analyte at levels of interest.



---

---

---

---

---

---

---

---

### Extraction procedures

Trend - able to extract a large number of samples in short time  
- using less sample, less extracted solution, and shorter clean-up cartridges

solvent extraction, followed by SPE

Antibiotics bind to matrix components, esp. proteins and metals.

Antibiotics++divalent or trivalent cations can be displaced by adding EDTA.

Antibiotics++protein can be destroyed by

1. diluting the sample with saline solution
2. protein denaturation
3. enzymatic/chemical hydrolysis



---

---

---

---

---

---

---

---

### Problematic cases

Degradation of analyzed compound due to enzymatic degradation of protein

Determination of metabolites and conjugates from the parent compound

Screening methods – Bioassays: being too specific to allow effective identification of multi-analytes

Screening methods, only semi-quantitative analysis and sometimes give rise to false positives



---

---

---

---

---

---

---

---

### Some cases of chasing zero

#### Chloramphenicol

- Antibiotic used by China in bee colonies 5 or so years ago – deemed to be carcinogenic
- Traces found in honey around the world
- "Can't set an acceptable level" according to regulators
- Each lot tested down to LOD of 0.5 (0.3) ppb
- Canada improved LOD down to 0.05 (0.03) ppb
- Chasing zero causes upset to business, regulation, and consumer confidence



---

---

---

---

---

---

---

---

### Some cases of chasing zero

#### Chloramphenicol (CAP) – Latest Analysis

M. Bories, F. Telen, *Journal of Food Composition and Analysis* 21 (2008) 80-88

"Liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis of chloramphenicol in propolis extracts available on the Italian market"

- LOD = 0.05 µg/kg
- Thiamphenicol (THAP) used as internal standard
- Negative ionization electrospray, selected reaction monitoring (SRM)  
LC-MS/MS triple quadrupoles, ESI
- 2 mass transitions: THAP 354 → 185, 354 → 290  
CAP 321 → 152, 321 → 257
- %recovery 80.0 – 99.0%



---

---

---

---

---

---

---

---

### Some cases of chasing zero

#### Acrylamide

- Carcinogenic in animal tests at ppm levels
- Found in 2002 it is formed in heating sugars, carbohydrate, and amino acids such as asparagine – ppb levels
- Major international meetings
- Extensive product/process testing
- Regulatory agencies looking at interventions
- Toxicity tests still underway to determine relevance in humans



---

---

---

---

---

---

---

---

### Some cases of chasing zero

#### Perchlorate

- Thyroid effects, cancer possible?
- Possibly from military sites, entering ground water
- Found at ppb in lettuce along the Colorado
- Later found in milk, etc. – even FDE's lab water
- Possibly formed naturally from salt, sunlight, and alkali pH



---

---

---

---

---

---

---

---

### Other cases (not antibiotics)

- Packaging residues – BPA, ITX, butadiene, phthalates, etc.
- Processing residues – chloropropanols from acid-hydrolyzed vegetable proteins
- Heavy metals in foods – Hg in fish, Cd in veggies, Pb in chocolate, water
- Mold toxins – AFB1, FMB, OTA, DON, in cereal grains, nuts, oil seeds
- Allergens?



---

---

---

---

---

---

---

---

### Some cases of chasing zero

- Some are intentionally added to the environment
- Some are naturally-occurring
- Some were intentional, but now are unavoidable at levels close to zero
- Some are carcinogenics or metals
- Some have high exposure, some low
- Regulatory mandates differ, but what does the science say?



---

---

---

---

---

---

---

---

### Problems presented by chasing zeroes

- Point is, do we have the resources to pursue all of these as major issues?
- Can society afford to continue to operate using the toxicology model of the mid 20<sup>th</sup> century? (Foreign chemicals are rare in pure food, when found, we chase to zero.)
- Can't toxicology guide us to agree on some toxicologically insignificant exposure level?
- Consumer confidence in food is eroded
- Disruption of business, international trade
- No end in sight... zero rushes ahead of us as sensitivities make quantal gains
- Global sourcing, advances in methods, sensitivity around food defense... will make issue more acute in future



---

---

---

---

---

---

---

---

Some Analyses of residual antibiotics in food

Compound	Matrix	Extraction	Clean up	Recovery %	LOD,LOQ µg/kg	Determination	Ref.
Nitrofurans	Poultry, porcine and bovine feeds	LLP	SPE	60-78	20-50	LC-MS/MS LC-DAD	1
	Poultry muscle	LLP	-	-	-	LC-MS/MS	2
	Prawn	LLP	LLP			LC-MS/MS	3
Tetracyclines	Pig muscle, liver and kidney	Solvent extraction	SPE	61-97	10	LC-MS/MS	4
	Milk and honey				15-25 µg/L (LOD)	SPR-BIA	5
	Milk				0.2 µg/mL (LOQ)	ELISA	6
β-Lactams	Bovine kidney	Solvent extraction	SPE	58-70		LC-MS/MS	7
	Milk, meat juice, eggs and honey				½ EU MRL (LOQ)	ELISA	8
	Bovine muscle, kidney and milk				2-50	LC-MS/MS	9
	Milk based				2.6 µg/kg (LOD)	SPR-BIA	10
	Milk				0.5 µM (LOD)	Fluorescent BIA	11
Sulfonamides	Eggs and pork	Solvent extraction	On-line SPE	66-85		LC-UV	12
	Pig meat	Solvent extraction	Two SPEs	81-99		CE-UV-Visible	13
	Pork tissue	Extraction cell PLE	SPE	79-98		CE-MS/MS	14
	Cattle and fish muscle tissues				3-15	LC-MS	15
	Semi-skimmed milk and minced beef				<50 µg/kg (LOQ)	FIA	16, 17

## Analyses of residual antibiotics in food (con't)

Compound	Matrix	Extraction	Clean up	Recovery %	LOD,LOQ µg/kg	Determination	Ref.
Tetracyclines Sulfonamides Quinolones β-Lactams Macrolides	Muscles from pig, cattle, sheep, horse, deer and reindeer Kidney from pig, cattle, sheep and horse	Solvent extraction	-	44-111		LC-MS/MS	18
Quinolones Macrolides Other veterinary drugs	Salmon	Solvent extraction	SPE	40-100		LC-TOF-MS	19
Amphenicols	Honey and pig kidney	Solvent extraction	SPE	95-120		LC-MS/MS	20
	Honey, prawns and pork kidney	Solvent extraction	Two SPEs	-		LC-MS/MS	21
	Honey	SPE	-	63	0.1-0.2	LC-MS/MS	22
	Honey and pig kidney				0.02-0.04	UPLC-MS/MS	20
	Muscle, eggs, honey and milk				0.11 µg/kg (LOD)	ELISA	23
	Pork, beef, chicken, shrimp and milk				10 <sup>-8</sup> M(LOD)	Chemiluminescent immunosensor	24
	Honey and prawns				0.07-0.10 µg/kg(CCβ)	SPR-BIA	21
	Shrimps				0.1-250 µg/kg(CCβ)	Dual SPR-BIA	25
Tetracyclines Sulfonamides Quinolones	Shrimp	Solvent extraction	SPE	10-90	10-200	LC-MS/MS	26

## Analyses of residual antibiotics in food (con't)

Compound	Matrix	Extraction	Clean up	Recovery %	LOD,LOQ µg/kg	Determination	Ref.
Nitroimidazoles	Chicken and fish	Solvent extraction	Solvent extraction	88-111	0.11-0.60	LC-MS/MS	27
Nitroimidazoles Fluoroquinolones Sulfonamides	Pig kidney, milk, sheep liver, salmon, cheese cattle muscle, trout, chicken and egg	Solvent extraction	SPE	21-104		LC-FLD LC-UV	28
	Bovine, porcine and poultry muscle	Solvent extraction	On-line SPE	70-130	0.1-8.4	LC-MS/MS	29
Quinolones	Chicken liver	Solvent extraction	-	86-106		ELISA	30
	Chicken muscle	Ultrafiltration	SPE	74-88	2.7-5.9 µg/kg(IC50)	LC-TOF-MS BIA Dual SPR- BIA	31
	Bovine raw milk				17-24	CE-MS/MS	32
Five banned antimicrobials	Feed stuff	Solvent extraction	SPE	-		ELISA	33
130 veterinary drugs	Bovine, porcine and chicken	Solvent extraction	LLP	70-110	0.1-10	LC-MS/MS	34
Tylosin	Honey	Solvent extraction	LLP, SPE	47.6-70.4		BIA	35
Macrolide	Milk and yogurt	PLE	-	68-96	0.2-9	LC-MS/MS	2
	Honey				15-25 µg/L(LOD)	SPR-BIA	5
Fluoroquinolones	Egg	-	In-tube SPME	75-94		LC-FLD, LC- DAD	36
β-Lactams Sulfonamides Macrolides	Milk				0.12-32 µg/L(LOD)	BIA-Array	37
Tetracyclines Penicillins	Bovine and swine: muscle, kidney and liver				2-5	LC-MS/MS	38

## Abbreviation

BIA bioassay; CE capillary electrophoresis; CE-MS/MS capillary electrophoresis tandem mass spectrometry; ELISA enzyme-linked immunoassay; FLD fluorometric detector; LC liquid chromatography; LC-MS/MS liquid chromatography tandem mass spectrometry; LLP liquid-liquid partitioning; PLE pressurized liquid extraction; SPME solid-phase microextraction; SPE solid-phase extraction, FIA fluoroimmunoassay; IC50 inhibitory concentration 50%; LOD limit of detection; LOQ limit of quantification; SPR surface plasmon resonance; TOF time-of-flight; UPLC ultra-performance liquid chromatography

## References

1. J. Barbosa, S. Moura, R. Barbosa, F. Ramos, M.I.N. da Silveira, *Anal. Chim. Acta* 586 (2007) 359.
2. E. Verdon, P. Couedor, P. Sanders, *Anal. Chim. Acta* 586 (2007) 336.
3. K.M. Cooper, C.T. Elliott, D.G. Kennedy, *Food Addit. Contam.* 21 (2004) 841.
4. M. Cheriet, E. Zittlau, M. Petz, *Anal. Chim. Acta* 520 (2004) 19.
5. N. Moeller, E. Mueller-Seitz, O. Scholz, W. Hillen, A.A. Bergeweff, M. Petz, *Eur. Food Res. Technol.* 224 (2007) 285.
6. Y.L. Zhang, S.X. Lu, W. Liu, C.B. Zhao, R.M. Xi, *J. Agric. Food Chem.* 55 (2007) 211.
7. C.K. Fagerquist, A.R. Lightfield, S.J. Lehotay, *Anal. Chem.* 77 (2005) 1473.
8. J. Larmar, M. Petz, *Anal. Chim. Acta* 586 (2006) 19.
9. M. Becker, E. Zittlau, M. Petz, *Anal. Chim. Acta* 520 (2004) 19.
10. E. Gustavsson, P. Bjurling, A. Sternesjo, *Anal. Chim. Acta* 468 (2002) 153.
11. P.H. Chan, H.B. Liu, Y.W. Chen, K.C. Chan, C.W. Tsang, Y.C. Leung, K.Y. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 4074.
12. G.Z. Fang, J.X. He, S. Wang, *J. Chromatogr. A* 1127 (2006) 12.
13. J.J. Soto-Chinchilla, A.M. Garcia-Campana, L. Gamiz-Garcia, C. Cruces-Bianco, *Electrophoresis* 27 (2006) 4060.
14. G. Font, A. Juan-Garcia, Y. Pico, *J. Chromatogr. A* 1159 (2007) 233.
15. S. Bogialli, R. Curini, A. Di Corcia, M. Nazzari, R. Samperi, *Anal. Chem.* 75 (2003) 1798.
16. T. Korpimäki, V. Hagren, E.c. Brockmann, M. Tuomola, *Anal. Chem.* 76 (2004) 3091.
17. T. Korpimäki, E.C. Brockmann, O. Kuronen, M. Sareste, U. Lamminmäki, M. Tuomola, *J. Agric. Food Chem.* 52 (2004) 40.
18. K. Granelli, C. Branzell, *Anal. Chim. Acta* 586 (2007) 289.
19. M.D. Hernando, M. Mezcuca, J.M. Suarez-Beroena, A.R. Fernandez-Alba, *Anal. Chim. Acta* 562 (2006) 176.
20. A. Kaufmann, P. Butcher, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19 (2005) 3694.
21. H.M. Ashwin, S.L. Stead, J.C. Taylor, J.R. Startin, S.F. Richmond, V. Homer, T. Bigwood, M. Sharman, *Anal. Chim. Acta* 529 (2005) 103.
22. M.J. Bogusz, H. Hassan, E. Al-Enazi, Z. Ibrahim, M. Al-Tufail, *J. Chromatogr. B* 807 (2004) 343.
23. G. Scortichini, L. Annunziata, M.N. Haouet, F. Benedetti, I. Krusteva, R. Galarini, *Anal. Chim. Acta* 535 (2005) 43.
24. I.S. Park, N. Kim, *Anal. Chim. Acta* 578 (2006) 19.
25. V. Dumont, A.C. Huet, L. Traynor, C. Elliott, P. Delahaut, *Anal. Chim. Acta* 567 (2006) 179.
26. H. Li, P.J. Kijak, S.B. Turnipseed, W. Cui, *J. Chromatogr. B* 836 (2006) 22.
27. P. Mottier, I. Hure, E. Gremaud, P.A. Guy, *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 2018.
28. G. Stubbings, J. Tarbin, A. Cooper, M. Sharman, T. Bigwood, P. Robb, *Anal. Chim. Acta* 547 (2005) 262.



29. H.P.O. Tang, C. Ho, S.S.L. Lai, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20 (2006) 2565.
30. S.X. Lu, Y.L. Zhang, J.T. Liu, C.B. Zhao, W. Liu, R.M. Xi, *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 6995.
31. G.R. Marchesini, W. Haasnoot, P. Delahaut, H. Gercek, M.W.F. Nielen, *Anal. Chim. Acta* 586 (2007) 259.
32. F.J. Lara, A.M. Garcia-Campana, F. Ales-Barrero, J.M. Bosque-Sendra, L.E. Garcia-Ayuso, *Anal. Chem.* 78 (2006) 7665.
33. C. Situ, E. Grutters, P. van Wichen, C.T. Elliott, *Anal. Chim. Acta* 561 (2006) 62.
34. R. Yamada, M. Kozono, T. Ohmori, F. Morimatsu, M. Kitayama, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70 (2006) 54.
35. M. Caldow, S.L. Stead, J. Day, M. Sharman, C. Situ, C. Elliott, *J. Agric. Food Chem.* 53 (2005) 7367.
36. J.F. Huang, B. Lin, Q.W. Yu, Y.Q. Feng, *Anal. Bioanal. Chem.* 384 (2006) 1228.
37. B.G. Knecht, A. Strasser, R. Dietrich, E. Martlbauer, R. Niessner, M.G. Weller, *Anal. Chem.* 76 (2004) 646.
38. T. Goto, Y. Ito, S. Yamada, H. Matsumoto, H. Oka, *J. Chromatogr. A* 1100 (2005) 193.

Case Studies of Analysis  
of Antibacterial Agents:  
Chloramphenical

Mr. Hiroyuki Kurumiya  
PAI-NET

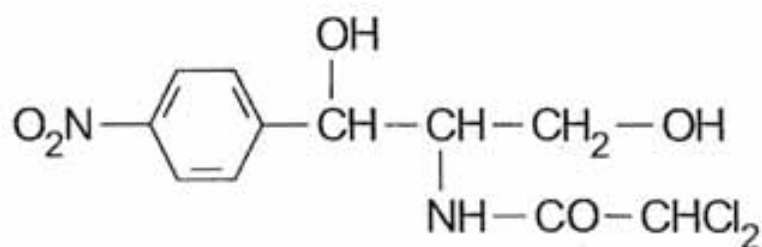
10/17/2008

# Analysis of Chloramphenicol Case Study 1

PAI-NET  
HIROYUKI KURUMIYA

1

## Chemical Structure

 $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ 

M = 322.0123

2

## Basic Information

### Chloramphenicol

(CAP: Simplified in the followings)

Produced from bacteria, *streptomyces venezuelae*  
Recently produced by chemical synthetic method

2,2-dichloro-N-[(1R,2R)-2-hydroxy-1-hydroxy-  
methyl-(4nitrophenyl)ethyl]acetoamide

Molecular Weight : 322.01

3

## Effect of Biological Function

1. Broad-spectrum antibiotic active against a variety of pathogens.

CAP was previously used in veterinary and human medicine.

2. Serious sub-reaction

Plastic anemia in marrow of human arising from its using, so led its use to be banned in EU and US in 1994.

3. In Japan, also, according to newly regulation for food safety law, prohibited in food, and veterinary.

4

## Similar Compounds of CAP

### Thiamphenicol and Florfenicol

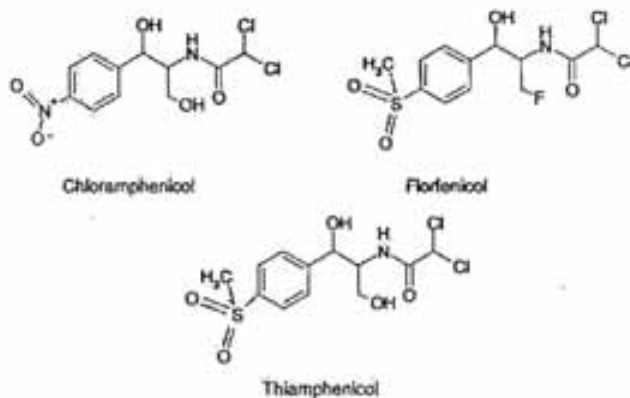


Fig. 17. Structure of amphenicols.

5

## Development of Analytical Method

CAP has specific functional groups, which is not so difficult for analysis.

For example: **Phenyl** composition has UV absorption, LC-UV/PAD, and by **2 Chlorine atoms**, GC-ECD is possible applied.

Please Refer next slide

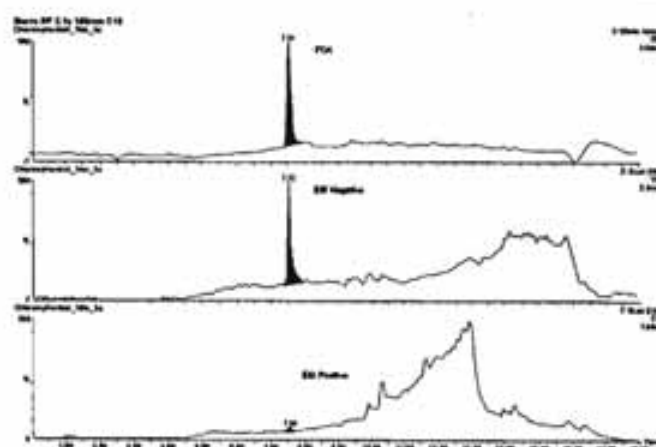
From Waters Technical Application Note AMDJ038

6

## HPLC-PDA, and TIC-MS

- Example 50 ng ( CAP )

50ng Chloramphenicol



## 50 ng Chromatogram of CAP

- Upper Chromatogram  
PDA (Photo Diode Array)
- Middle Chromatogram  
ESI Negative Mode (TIC)
- Lower Chromatogram  
ESI Positive Mode (TIC)

Waters Technical Application Notes: AMDJ038

## Analytical Condition

### HPLC:

Waters 269 separation module

Column: XTerra RP18 5  $\mu\text{m}$ , 2.1x150 mm

Mobile phase:

Acetonitril/pure water (gradient)

0% Acetonitril to 100% in 5 min.

Flow rate: 0.2mL/min.

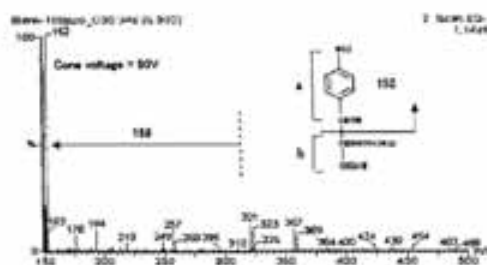
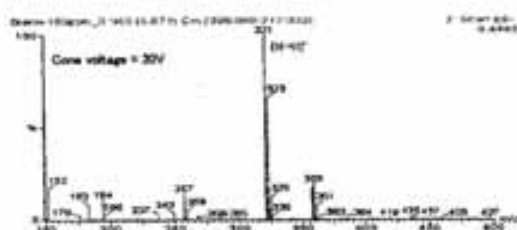
Mass Spectrometer: ZQ 2000 mass detector

Ionization: ESI Negative

9

## MS Spectrum of CAP Standard 100 ppb

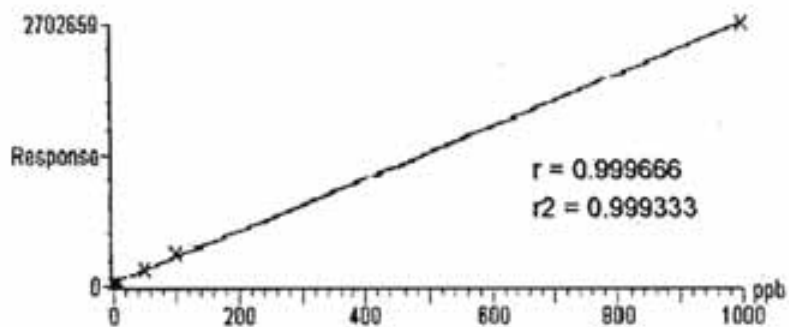
クロラムフェニコール標準品(100ppb)のマススペクトル (Upfront CID)



10

## Linearity of Calibration Curve

Compound name: Chloramphenicol  
 Correlation coefficient:  $r = 0.999666$ ,  $r^2 = 0.999333$   
 Calibration curve:  $2667.96 * x + 34701.5$   
 Response type: External Std, Area  
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: Null, Axis trans: None



11

## LC-PDA & LC MS Waters

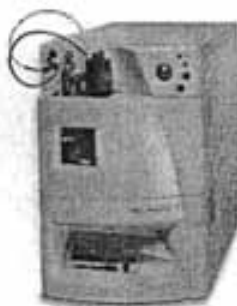
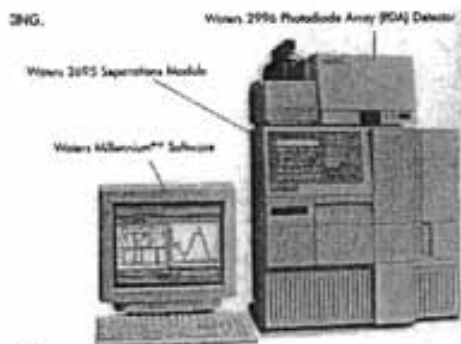


Figure 2A: The 207 mass detector, combined with the

12



## More Sophisticate Method

Recently **LC-tandem-MS** is developed, more higher precise analysis is possible.

Food, Meat and Fish etc. composed by many components.

These material disturb the signals of analysis.

So called **LC-MS/MS**, many models have released.

13

## More Sophisticate Methods

- Meat/Sea Food
 

LC-ESI(-)QqQ-MS	LOD 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$
-----------------	----------------------------------
- Shrimp
 

LC-ESI(-)MS	LOD 0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$
-------------	----------------------------------
- Muscle, urine
 

LC-APCI(-)QqQ-MS	LOD 0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$
------------------	----------------------------------
- Muscle
 

GC-ECD	LOD 2-4 $\mu\text{g}/\text{kg}$
--------	---------------------------------

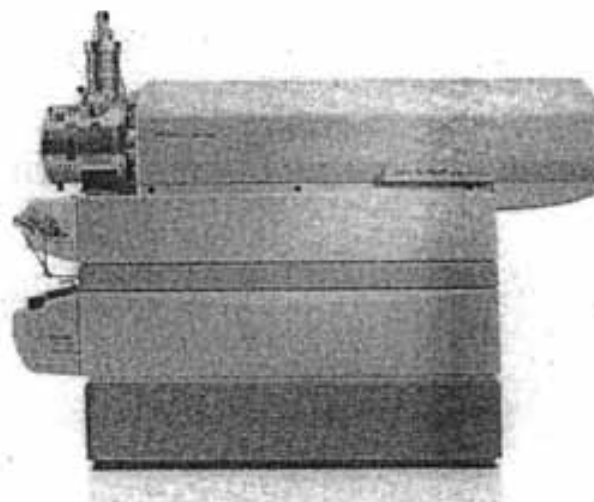
14

## Various LC-MS-MS Models

1. Applied Biosystems  
API 2000, 3000, 4000, 5000, 3200 Q-TRAP etc.  
Q STAR Elite (ToF)
2. Waters  
Micromass Quattro Micro  
Synapt HDMS (IMS, Q-ToF)
3. Varian  
500 LC-MS/MS (ION-Trap)
4. Thermo Electron Corporation  
TSQ Quantum

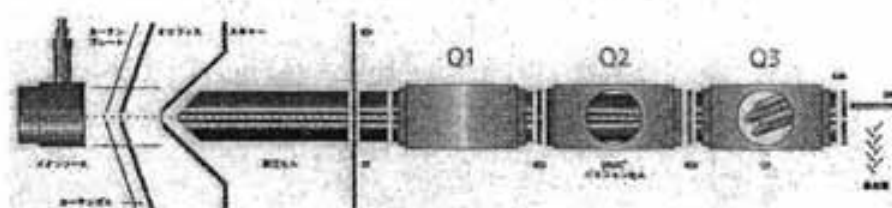
15

## CAP Analysis by API 3200 (Q Trap)



16

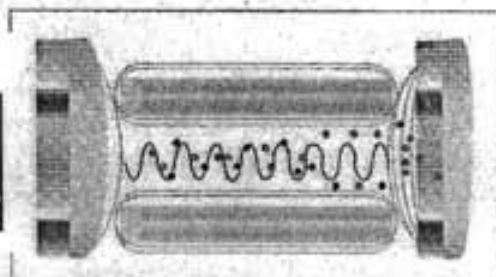
## API 3200 (Q Trap ) Construction



Acid time: 5ms  
Purge time: 1ms



LINAC 20250-010



## Function of Each MS in Triple MS

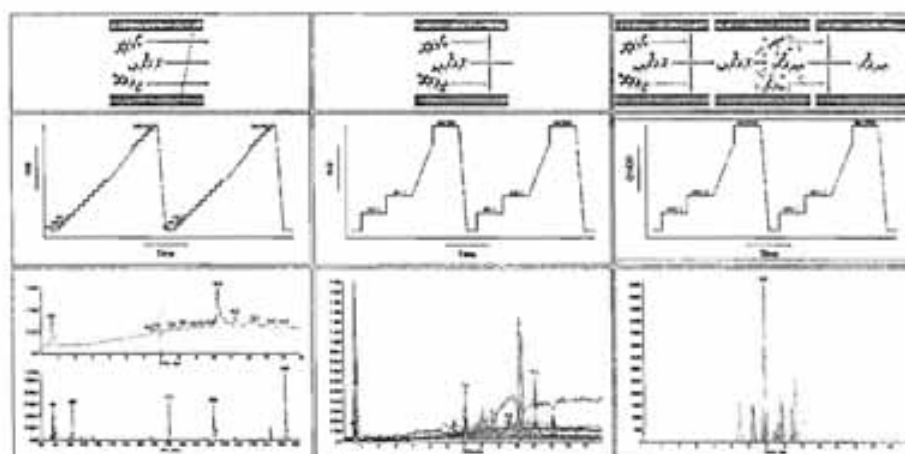
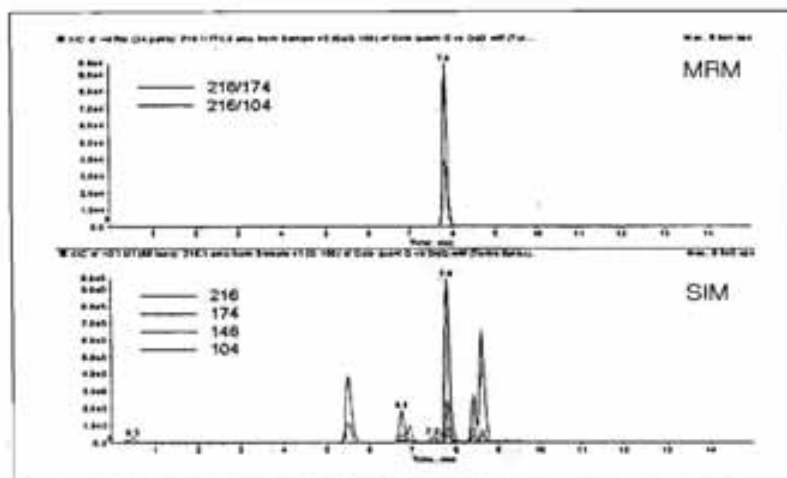


図2. シンガルの質量分析もしくはトリプルの使用が異なるスクリーンモードによる、主要成分中の成分別の分析。(左から右) フルスキャンによるMSスペクトル (5  $\mu\text{eV}$ ), DM (5  $\mu\text{eV}$ ), MRM (5  $\mu\text{eV}$ )

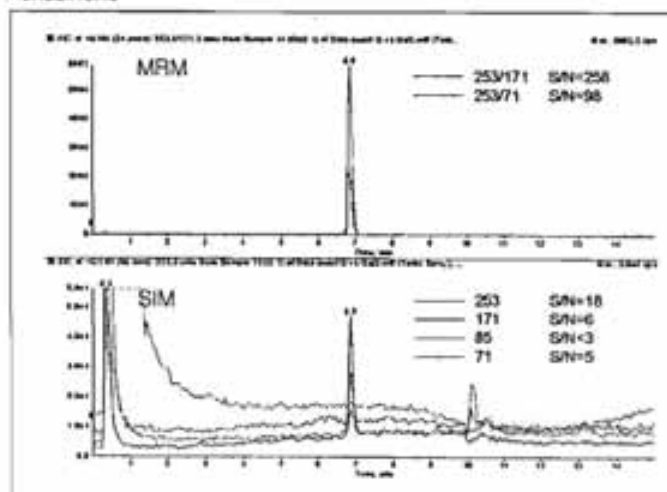
## Comparison of MRM to SIM (1)

Atrazine



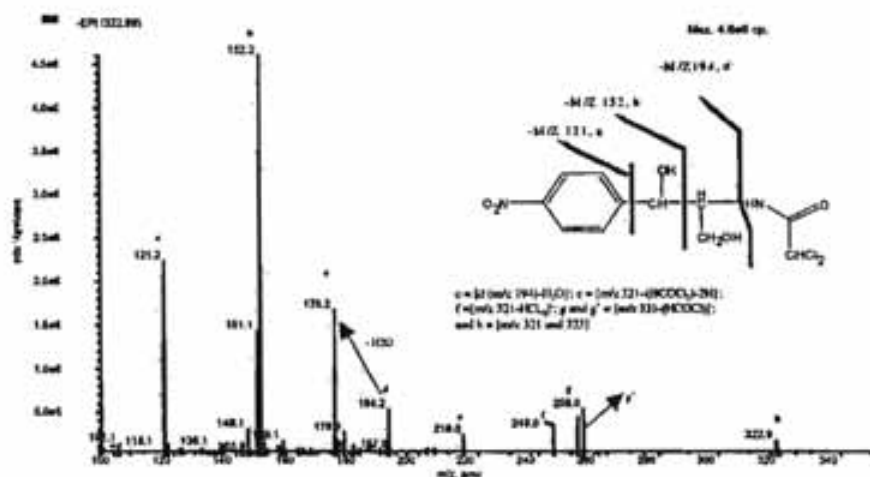
## Comparison of MRM to SIM (2)

Hexazinone



20

## Product Ion Spectrum of CAP

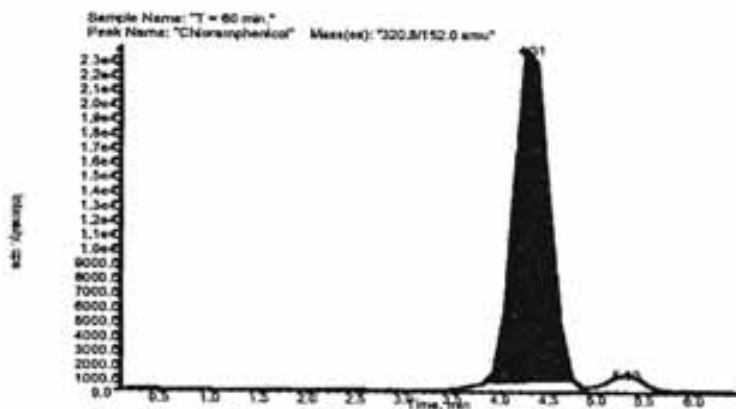


21

## Quantitative by MRM of CAP

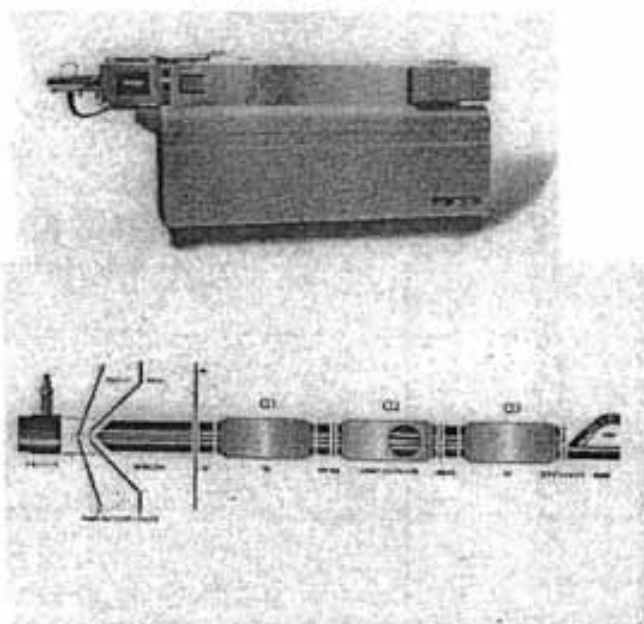
MRM: Multiple Reaction Monitoring

Mass: 320.8 /152.0 amu



22

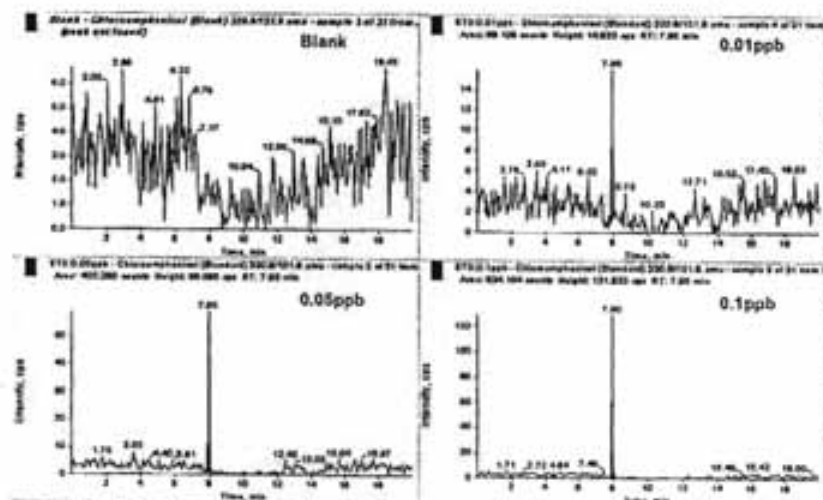
## API 3000



23

## Study of LOQ by API 3000

Good enough peak at 0.01 ppb to 100 ppb



24

## Condition of Measurement

HPLC system	Agilent 1100 series						
Column	Synergi 4u Hydro-RP80A (2.0mm $\phi$ x 150mm, 4 $\mu$ m)						
Mobile phase	0.1%FAA/1%D MeCN						
	A						
	B						
Gradient	Time [min.]	0	8	10	10.01	20	
	A [%]	90	10	10	90	90	
	B [%]	10	90	90	10	10	
Flow rate( $\mu$ l/min)	300						
Column temp. [°C]	40°C						
サンプリングクーラー	8°C						
Injection volume [ $\mu$ l]	25						
Mass spectrometry	API2000						
Ion source	Tubolon Spray [ESI]						
Mode	MFM						
Temperature [°C]	550						
Polarity	Negative						
Ion source voltage [V]	-4500						
Monitoring time [min.]	20						

25

## Practical Example Report

CAP in Sea Bream by API 2000 and HPLC VP  
Shimadzu

Analysis of Chloramphenicol Using Liquid  
Chromatography/Tandem Mass Spectrometry in  
Sea Bream

Authors : Toru Nishikawa, Tsuyomi BABA,  
Masafumi Murakami

Public Health and Pollution Research Laboratory  
in Nagasaki Prefecture

26

## Results

1. Fish sample is 6 bodies, not detected
2. Detection Limit: 0.15 ng/g, S/N=3
3. %Recovery : 71.3% RSD(CV): 9.5 %
4. Clear Codex Standard  
% Recovery 60-120%,  
RSD less than 30%  
at 1 – 10 ng/g concentration of Meicine for animal  
in Food

27

## Force feed of Std to Sample

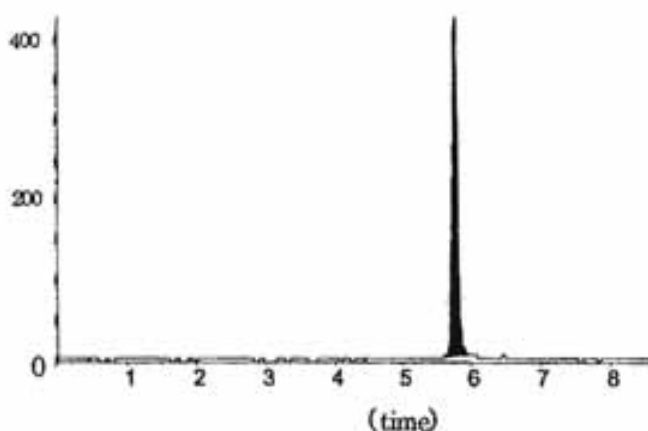


Fig1: マダイのブランク溶液にクロラムフェニコールを  
5ng/g になるように添加した時のクロマトグラム

28



# Case Studies of Analysis of Melamine

Mr. Hiroyuki Kurumiya  
PAI-NET

10/17/2008

# Melamine Analysis

Hiroyuki Kurumiya  
PAI-NET

10/16/2008

1

## Chemical Structure

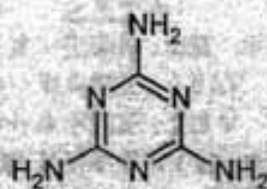


図1 メラミンの構造

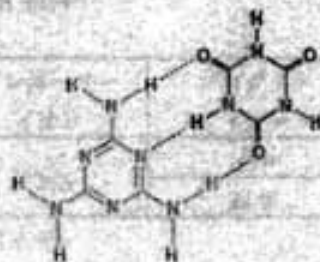
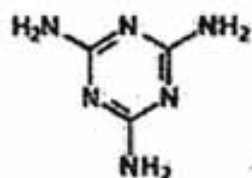


図2 メラミンとシアヌル酸の結合の様子

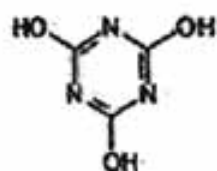
10/11

2

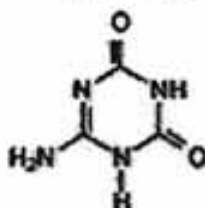
## Friends of Melamine



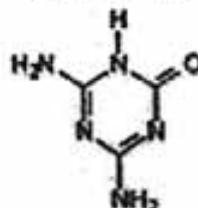
Melamine



Cyanuric Acid



Ammelide



Ammelina

メラミン及び関連物質の構造式

10/16/2008

3

## Friends of Melamine

- Melamine  
2,4,6-Triamino-1,3,5-triazine
- Ammeline  
Atrazine-desethyl-desisopropyl-2-Hydroxy  
4,6 -Diamino-2-hydroxy-1,3,5-triazine
- Cyanuric Acid  
1,3,5-Triazine-2,4,6-triol  
2,4,6-Trihydroxy-1,3,5-triazine

10/16/2008

4

## Friends of Melamine

備考1.メラミン及びその関連物質の構造式は図1のとおりである。メラミンの製造過程においてR1~R3の-NH2が-OHに置き換わった副産物が生ずることがある。

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	MW
メラミン	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	126.12
アンメリン	OH	NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>	127.10
アンメリド	OH	OH	NH <sub>2</sub>	128.09
シアヌル酸	OH	OH	OH	129.07

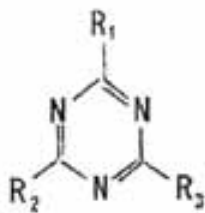


図1 メラミン及びその関連物質の構造式

10/16/2008

5

## Chemical Character

- Molecular formula : C<sub>3</sub> H<sub>6</sub> N<sub>6</sub>
- MW = 126.12
- Solubility : 3.1 g/L into water
- Appearance : White Chrystal
- Mp: 350°C
- Bp: Sublimation
- Density :1.573

10/16/2008

6

## Analysis of Melamine

- According to the accidental event such as many pets died by pet food made in China on mid of March in Canada in March, 2007

And in China, many infants who got suffer or die by taking milk added melamine dishonestly, the suffer is kidney failure in 2008

Government Laboratory in US, FDA and FERN (Food Emergency Response Network) develop for analysis method, and also many analytical instrument companies proposed analytical method

10/16/2008

7

## Analytical Method of Melamine

- There are several methods proposed by official and private sectors
- FDA in US
- FERN in US
- FAMIC in Japan
- Shimadzu
- Applied Biosystems
- Agilent Technologies
- Varian

10/16/2008

8

## Analysis Instrument of Melamine

- Some Screening Analysis
  - GC-MS (Shimadzu,FAMIC,FDA)
  - Hp LC-pDA (Shimadzu)
- More precise analysis
  - GC-MS/MS( VARIAN)
  - LC-MS/MS ( FDA, Applied Bio,Agilent )
  - (Tandem Triple Q-Mass )

10/16/2008

9

## Analysis of Melamine

- Shimadzu Report

### GC-MS

Shimadzu : GCMS-QP2010plus

Column : Rtx-5 (0.32mmLD 30m L 0.25um)

Temp : 100°C(1min) program 7°C/min to 220°C  
program 20°C/min -310°C(15min)

Injection : 270°C, split less

Interface : 230°C

Scan range : 35-700m/z

10/16/2008

10

## Analysis of Melamine

- 4 friends of Melamine was treated with TMS

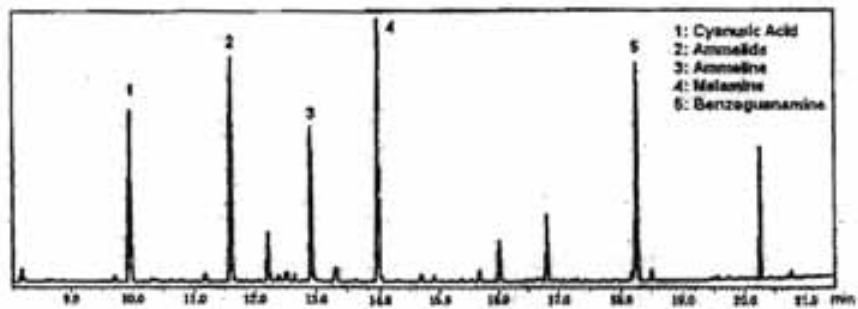


図5 メラミン関連物質4種のクロマトグラム(TIC)

## Analysis of Melamine

- Shimadzu report

By Hp LC-pda

Column : Shim-pack CLC C8  
(46mmIDx150mmL)

Mobile phase : A/B=85/15

A : 10 m mol citric acid contained  
with 10 m mol L-Octane Sulfonic acid

B: Acetonitril

Flow Rate : 1 ml/min

Detector : SD-M20A

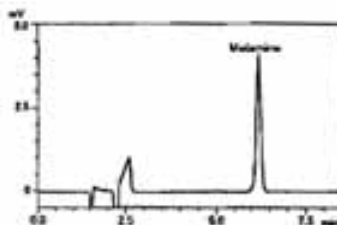


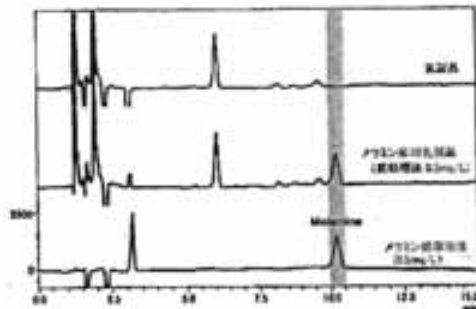
図1 メラミン標準溶液濃度10mg/Lのクロマトグラム

## Analysis of Melamine

- HPLC-PDA(Shimadzu)

Milk product diluted 10 times with water then diluted two times with mobile phase, and centrifuged 12000rpm for 5 min, filtrated (mobile phase A/B=90/10)

LOD 0.5mg/L



10/16/20

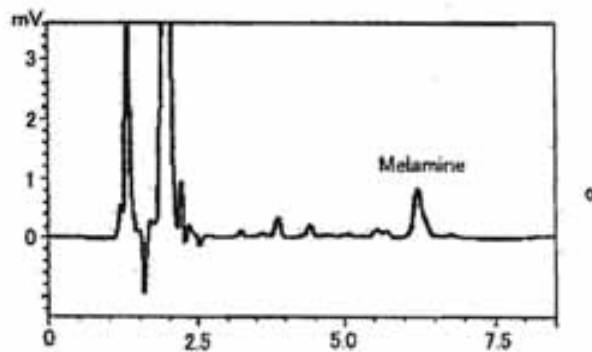
図4 市販乳製品にメラミン添加した(10mg/L)検体のクロマトグラム

13

## Analysis of Melamine

- Pet Food (Shimadzu)

Extracted by Acetonitril, then Centrifuged, filtrated



10/16/2008

図2 市販ペットフード(メラミン1mg/L添加)のクロマトグラム

14



## Analysis of Melamine

- FDA (GC-MS) for Screening (10ug/g)  
Instrument : Agilent GC-MS 5975  
Column DB5-MS capillary  
Extraction by Acetonitril, H<sub>2</sub>O, DEA  
50 : 40 : 10  
DEA: Diethylamine  
Dry up, Silylate by BSTFE (SylonBFT)  
Add pyridine and DACP as Internal Standard  
DACP : 2,6-Diamino-4-chloropyrimidine  
Incubate at 70°C for 45 min

BSTFE : (bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide with 1%  
10-trimethylchlorosilane )

15

## Analysis of Melamine

### 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

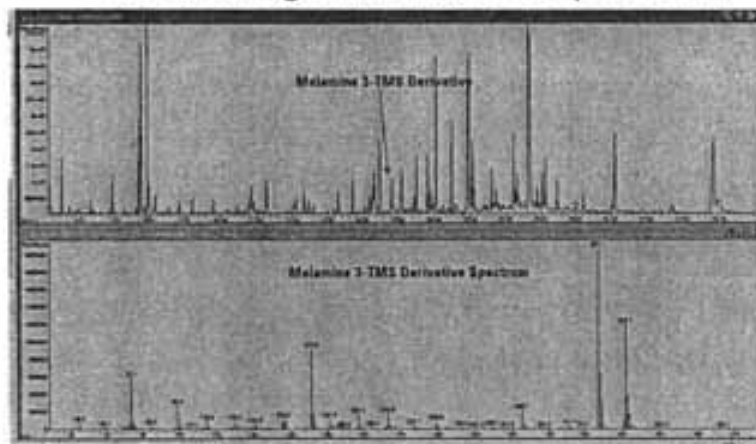
Acquisition parameters	El: scan mode, 50-450 amu
Sampling Rate	2 (scan rate at 3.58 scans/sec)
Threshold	100
Filament Delay	6 minutes
MS Temp	230° C (Source); 150° C (Quad)

10/16/2008

16

## Analysis of Melamine

- Chromatogram & Mass Spectrum

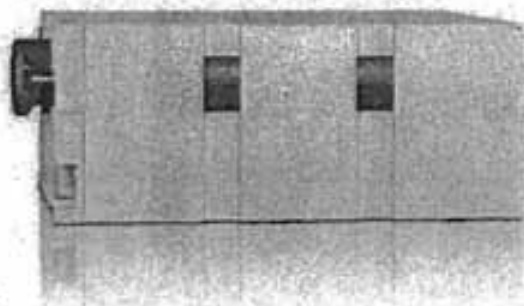


10/16/2008

17

## Analysis of Melamine

- LC-MS/MS Application  
Agilent LC-MS/MS 6410tripleQ-LCMS

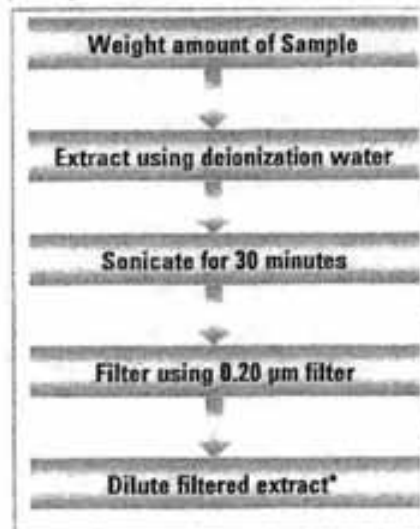


10/16/2008

18

## Analysis of Melamine

- Sample preparation

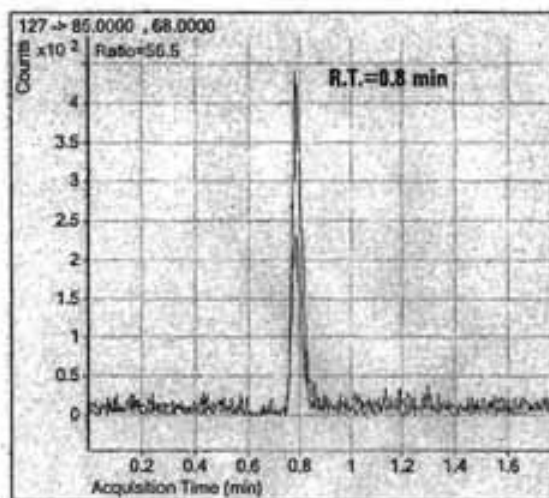


10/16/2008

19

## Analysis of Melamine

- 50 ppt Melamine

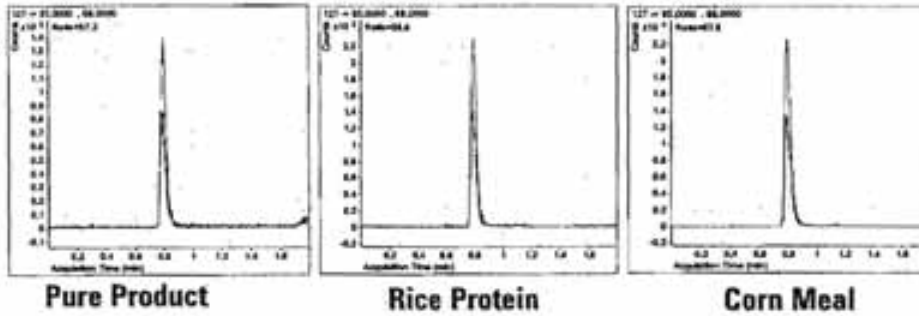


10/16/2008

20

## Analysis of Melamine

- Practical Sample

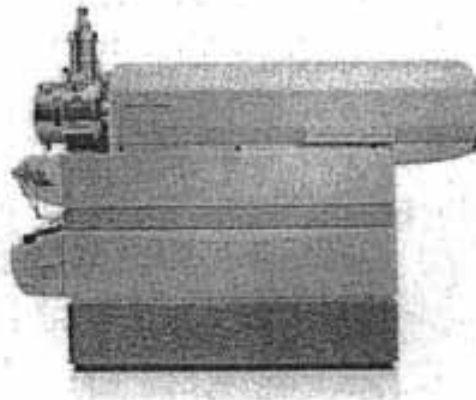


10/16/2008

21

## Analysis of Melamine

- Applied Biosystems Qtrap 3200



10/16/2008

22

## Analysis of Melamine

### Pet food

- Sample preparation : LLE
- Extraction by Water
- (Add Internal Std, Melamine  $^{15}\text{N}_3$ )
- Centrifuge 5000rpm for 10min at 4°C
- Filter through 0.45  $\mu\text{m}$  put into a vial
- Start analysis

10/16/2008

23

## Analysis of Melamine

- LC Shimadzu prominence  
Equipped Gradient Mixer  
Column: Inert Sil HILIC 5  $\mu\text{m}$  (150mmx3mm)  
Temp : 40°C  
Mobile phase : gradient  
A: Acetonitrile + 10mmol Ammonium Acetate  
B: Water + 10mmol Ammonium Acetate  
Injection Volume : 5  $\mu\text{L}$

10/16/2008

24

## Analysis of Melamine

- Gradient Condition

**TABLE 1. LC CONDITIONS FOR THE ANALYSIS OF MELAMINE AND CYANURIC ACID ON AN INERTSIL H-1LC 5- $\mu$ m (150 $\times$ 3mm) COLUMN**

Time (min)	Flow (mL/min)	% (A)	% (B)
0.1	0.5	97	3
5.0	0.5	20	80
5.5	0.5	3	97
5.6	0.5	97	3
10.0	0.5	97	3

10/16/2008

25

## Analysis of Melamine

- MS parameter for detection

**TABLE 2. MS PARAMETERS OF THE DETECTION OF MELAMINE AND CYANURIC ACID USING AN API-3500 IONS/MS SYSTEM**

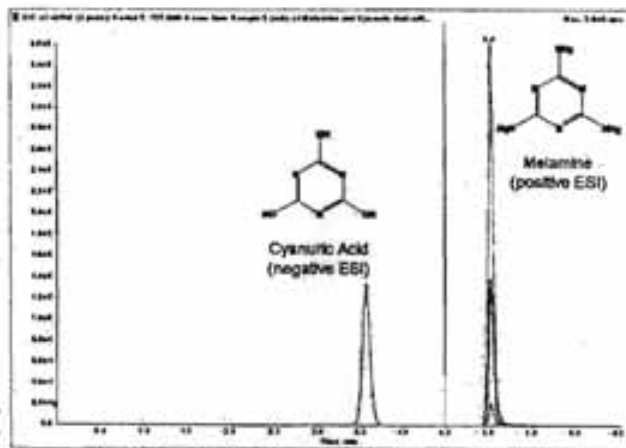
Compound	Retention time	Q1 (amu)	Q3 (amu)	DP (V)	CE (V)
Cyanuric Acid	3.6min	128	42	-30	-30
		128	85	-30	-13
Melamine	5.0min	127	85	44	26
		127	68	44	48
		127	60	44	27
Melamine- $^*H_2$	5.0min	130	69	44	40
		130	87	44	29

10/16/2008

26

## Analysis of Melamine

- LC separation of Melamine & Cyanuric acid



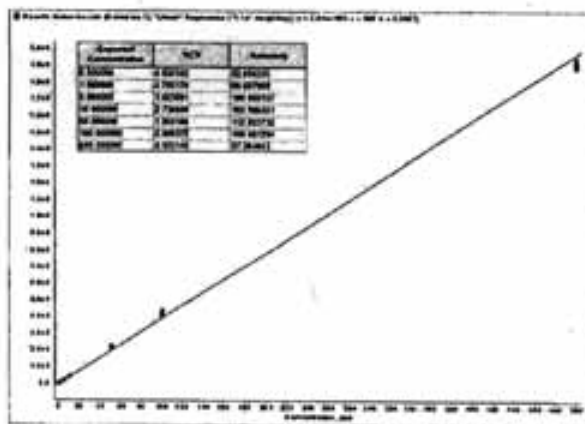
10/16/

**Figure 1.** LC separation of Melamine and Cyanuric Acid with MS/MS detection in negative and positive Electrospray Ionization (ESI)

27

## Analysis of Melamine

- Calibration Line of Melamine (MRM 127/85) over a range 0.5 ppb to 500 ppb



10/16/20

**Figure 2.** Calibration line of Melamine (MRM: 127/85) over a range of 0.5 to 500ppb with coefficients of variation (%CV) and accuracy for each concentration (5 replicate injections)

28

## Analysis of Melamine

- Signal to Noise at 1 ppb

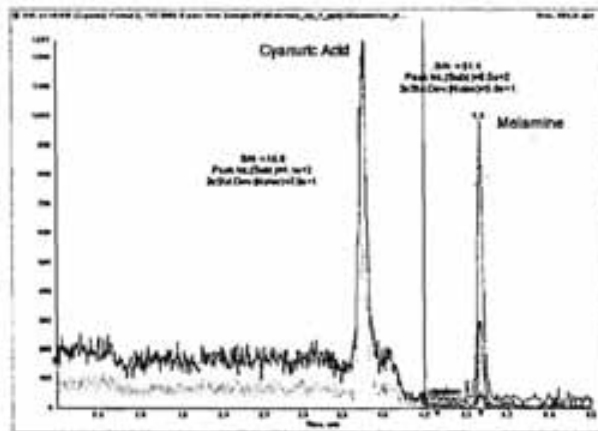


Figure 3. Signal-to-Noise and confirmatory MRM transition at a concentration of 1ppb of Melamine and Cyanuric Acid

10/16

29

## Analysis of Melamine

- Result of Cat pet food

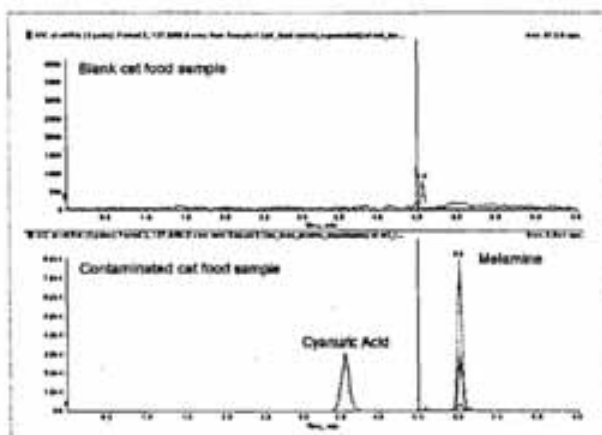


Figure 4. LC/MS/MS chromatograms of a blank and contaminated cat food sample

10/16/2

30



# รูปภาพประกอบการอบรม

วันที่ 21-22 และ 27 ตุลาคม 2551

การอบรมและเผยแพร่ความรู้เกี่ยวกับระดับคุณภาพและความปลอดภัยทางอาหารสู่โครงสร้างเศรษฐกิจยุคใหม่  
วันที่ 21-21 และ 27 ตุลาคม 2551

เรื่อง Food Safety According to Japanese Food Law: Positive List System for Agricultural Chemistry Residues in Foods And  
Application of LC-MS/MS on Analysis of Antibacterial Agricultural Agents

















# Role of Instruments in Food Safety Analysis

Mr. Kenji Kojima  
PAI-NET

10/17/2008

## CURRICULUM VITAE

**Name:** Kenji Kojima

**Date of birth:** February 11, 1947

### Position

Secretary General, Director of PAI-NET(Professional Network in advanced instrumentation Society)

### Work experience

**Feb, 2007- Jan,2000**

General Manager of management strategy planning Office in JEOL Ltd  
Charge of advanced technology and new products

**Oct,1994-Dec,1999**

Be on loan to JST(Japan science and technology agency)  
Research Manager of Takayanagi particle Surface Project):R&D project

**Oct.1992-Sep.1994**

Manager of management strategy planning Office in JEOL Ltd  
Charge of middle term plan

**Apr.1990-Sep,1992**

Manager of technology management division in JEOL Ltd

**Oct 1986-Mar 2000**

Product Manager of Surface analysis division in JEOL Ltd  
Charge of XPS equipment group

**Apr,1975-sept 1986**

Engineer of Surface analysis division in JEOL Ltd  
Charge of design of XPS equipment, programming analytical data processing, operation of XPS equipment, and marketing

**Apr.1970-mar.1975**

Researcher of R&D department in JEOL Ltd  
Charge of development of high power X-ray Diffraction and Electron sustained CO2 laser

## **Volunteer Activitie**

**Oct 2005 -**

Sub-chief examiner of measurement and material evaluation sub-committee of Technology committee in Nanotechnology business Creation Initiative(NBCI)

**Apr.2004 -**

Member of Japanese Mirror committee of the IEC/TC111SC3 (RoHS Standards)

**Apr,2007-mar,2008**

Senior Researcher of Center of the history of Japanese industrial Technology in National museum of Nature and Science

Charge of the survey of the technical development of Transmission electron microscopes

**Apr.2001-mar,2007**

Chairman of Technical affairs committee in JAIMA(Japan analytical instruments Manufacturers Association)

**Apr.2004-mar.2006**

WG chief examiner of standardization committee of the metrology of hazardous substances (RoHS materials) in Japan Chemical Industry Association

**Apr.2003-mar 2004**

Member of Study committee of research program of "Development of Systems and Technology for advanced Measurement and Analysis" in The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology

## **Education**

1970 Graduated of pure and applied science division, department of General Education at Tokyo University

Role of Instruments of Food Safety Analysis



PAI-NET  
KENJI KOJIMA

---

---

---

---

---

---

---

---

C o n t e n t s

1. Material that threatens safety of food
2. Mechanism of security
3. Role of instrumental analysis



---

---

---

---

---

---

---

---

Material that threatens safety of food (1)  
1960~ Environmental pollution

- Cultivated plant  
Ground pollution and water pollution  
of cultivation ground
- Animal that captured it  
factory effluent feeding chain
- Specific metal and compound  
Hg Cd Dioxin

---

---

---

---

---

---

---

---

Material that threatens safety of food (2)  
1980~

- Cultivated plant  
pesticide residue  
GM (genetically-modified)
- Cultured fish or farmed  
antibiotics dietary addition  
Specific compound  
ex acrylamide prion

---

---

---

---

---

---

---

---

Material that threatens safety of food (3)  
1990~

- processed food
- There are a lot of kinds of the raw material.  
Harmful inclusion qualities are small amount.  
It is not possible to detect it by Chemical analysis method. Only the display  
Ex: allergen

---

---

---

---

---

---

---

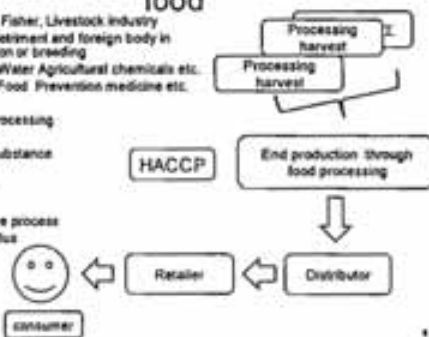
---

Mechanism of securing safety of food

- Farmer, Fisher, Livestock industry  
Mixing of detrimnet and foreign body in  
Cultivation or breeding  
Plant: Soil Water Agricultural chemicals etc.  
Livestock: Food Prevention medicine etc.

- Food processing  
Additive  
Foreign substance  
Bacillus

- Distribute process  
Bacillus




---

---

---

---

---

---

---

---

**Classification of material that threatens safety of food**

1. Biological material  
A disease bacillus, virus, and helminth  
A production life toxin in the inside of the body.
2. Chemical material  
Epidemic included in food caused by chemical, paralysis or health hazard of chronic toxicity
3. Physical Material  
Health hazard by physical action of foreign body contained in food

---

---

---

---

---

---

---

---

**Method of Safety for Foods  
one of example :HACCP**

**HA: Hazard Analysis**

Survey the microorganism, the chemical, and the foreign body that gives food harm under the food processing and the circulation process of the food. What prevention measures in which process you take based on the result of the survey is analyzed.

**CCP: Critical Control Points**

An extremely important management point s, which are most effective prevent to food harm, are decided and determine the criterion (CL) to manage properly. Preparing for coming off the CL on monitor the food process, Corrective action is decided and made documentation

---

---

---

---

---

---

---

---

**HACCP: Effect of execution**

- Securing of Traceability and Transparency

The number of specimen materials is necessary only in the inspection by end-products to detect the harm cause material that exists very much in the low probability.

ISO9000,ISO14000

---

---

---

---

---

---

---

---

### Seven Principles of HACCP

1. Hazard Analysis
2. Critical Control Points
3. Critical Limit
4. Monitoring
5. Corrective Action
6. Verification
7. Recordkeeping

---

---

---

---

---

---

---

---

### Example of harm material: Fresh milk

- Rot microorganism
- Pathogenic microbe
- Anti-fungoid material mixing
- Extraordinary component
- Mixing of detergent and sterilizer
- Mixing of foreign substance

---

---

---

---

---

---

---

---

### Restriction for safety

- As for the danger of toxicity, danger from which the material with toxicity is taken into the inside of the body is different.
- How much actually is taken?
- Food label system method below detection limit

---

---

---

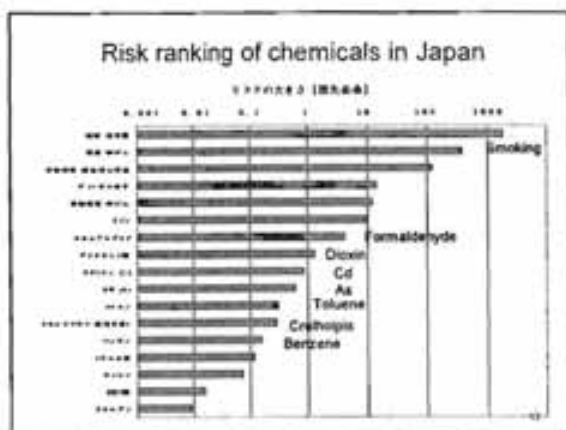
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

### Action of Japan to safety of food

- Investigation of grasp of quality of contaminant taken by way of food in a day (kind) and amount (amount of exposure)
- Public Research Laboratory of Public Health up to ten on average from 1977
- Qualitative and fixed quantity watch of contaminant in food (monitor)
- Contaminant by way of food intake investigation

---

---

---

---

---

---

---

---

### Object of investigation

- Dioxin
- PCB
- Endocrine disrupters (environmental hormone)
- Methylmercuries
- Tributyl tin (TBT) and Tetraethyl tin(TET)
- Cd
- Pb
- Mold and mold poison
- Carcinogen
- Low boiling point organic chloride (trichloroethylene etc.)
- radioactive pollutant
- The good acid ball increase muscle syndrome(EMS)

---

---

---

---

---

---

---

---



### Contaminant measures in food

The Ministry of Health and Welfare (2005)

- Cd
- Hg
- Dioxin
- Mold poison
- Acrylamide

14

---

---

---

---

---

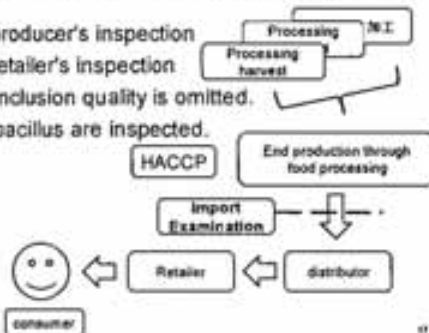
---

---

---

### 2. Securing of safety by inspection

- The producer's inspection
  - The retailer's inspection
- The inclusion quality is omitted.  
The bacillus are inspected.



15

---

---

---

---

---

---

---

---

### Basic approach to Import Inspection

#### Export Countries Inspection

1. Biological material: A disease bacillus, virus, and helminth, A production life toxin in the inside of the body.
2. Chemical material: Epidemic included in food caused by chemical, paralysis or health hazard of chronic toxicity
3. Foreign materials

#### Import Countries Inspection

1. Biological material: A disease bacillus, virus, and helminth, A production life toxin in the inside of the body.
- No food test concerning chemical materials and foreign substance

16

---

---

---

---

---

---

---

---

**Procedure of food imports to Japan**

About the import procedure based on Food Sanitation Law

The obligation of the import written report (Food Sanitation Law Article 27)

The food sanitation inspector examines based on Food sanitation law in quarantine station

---

---

---

---

---

---

---

---

**Examination with the Ministry of Health, Labour and Welfare quarantine station**

- It suited the manufacturing standard provided for by Food Sanitation Law?
- Is the use standard of the additive appropriate?
- Is not a poisonous substance contained?
- Is it a manufacturer who had a sanitary problem in the past and is the place?

---

---

---

---

---

---

---

---

**Food Imports Inspection (1)  
Inspection instruction system**

Direction of the Minister of Health, Labour and Welfare,

Inspection system that cannot advance import procedure until those who import it oneself bearing cost of executing inspection, and being judged legal

---

---

---

---

---

---

---

---

### Food Imports Inspection (2) Monitor inspection system

- Inspection system executed in the Ministry of Health, Labour and Welfare quarantine station based on program for the year that considers amount of import during year of each article and past violation results
- The import procedure can be advanced without waiting for the judgment of the examination result though examination body is gathered from aiming of the monitor inspection system at smooth import circulation.

21

---

---

---

---

---

---

---

---

### Role of Instrumental analysis

- Detection of harmful Chemicals
  - Quantitative Analysis : Detection Limit
- Ex : Amount of metal element of human body  
(include 1 Kg)

Fe	85.7 $\mu\text{g}$
Si	28.5 $\mu\text{g}$
Zn	28.5 $\mu\text{g}$
Mn	1.43 $\mu\text{g}$

22

---

---

---

---

---

---

---

---

### Unit of amount of substance (mole)

1. The mole is the amount of substance of a system which contains as many elementary entities as there are atoms in 0.012 kilogram of carbon 12; its symbol is "mol."
2. When the mole is used, the elementary entities must be specified and may be atoms, molecules, ions, electrons, other particles, or specified groups of such particles.

23

---

---

---

---

---

---

---

---

### Mole and ppm

- 1 mole include entities:  
 $6.02214199 \times 10^{23}$   
 Avogadro number

ppm: parts per million

$$\text{ppm} = \frac{\mu\text{g}}{\text{g}}$$

---

---

---

---

---

---

---

---

### Density of substance in sample

Density level	Problem	Conservation measures
ppm (mg / L)	Acute toxicity	Relapse prevention
ppb ( $\mu\text{g}$ / L)	Chronic toxicity (Carcinogenicity)	Preventive maintenance
ppt (ng / L)	Environmental hormone (Dioxin)	Risk measures

---

---

---

---

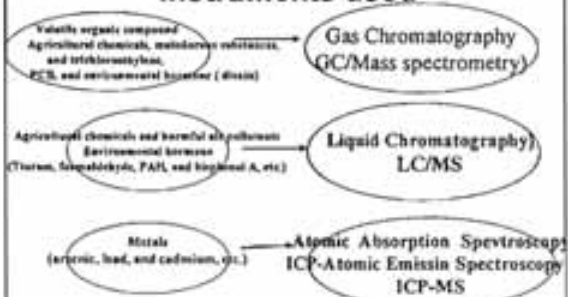
---

---

---

---

### What kind of Analytical Instruments used




---

---

---

---

---

---

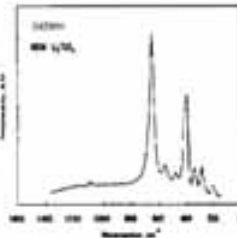
---

---

### What is the chemical analysis?

- The measurement is one dimensional information.
- The chemical analysis is two dimension information.

The numerical value obtained for the analytical instrument is a relative value.




---

---

---

---

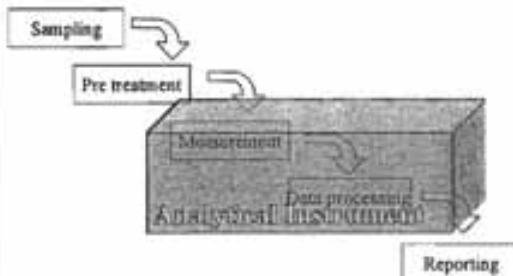
---

---

---

---

### Procedure (process) for instrumental analysis and Analysis instrument




---

---

---

---

---

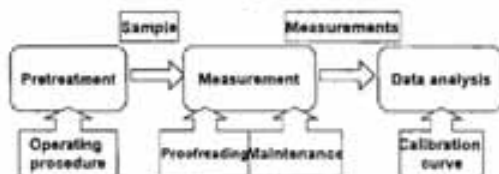
---

---

---

### The chemical analysis process

#### Process of Instrumental analysis




---

---

---

---

---

---

---

---

### Chemical analysis process and Application chemist/operator

- Role of Application chemist
- Make a SOP(Standard Operation procedure)
- Operator's security
- Role of operator
- It analyzes based on SOP and the report is made.
- Control of maintenance of device/apparatus necessary for analysis




---

---

---

---

---

---

---

---

### Note when quantitative analysis is executed

- The sample is uniform.  
The measured value of analytical instruments show the mean value of sample
- The capable density range of quantitative analysis is limited,  
Density adjustment of sample is need before measurement.  
The Work of Quantitative analysis takes times and ability

---

---

---

---

---

---

---

---

### Feature of quantitative analysis

- Obtained measurements are relative values. It is necessary to obtain the standard curve by using a standard sample to make this relative value correspond to the true value (absolute value).
- The numerical value corresponding to the true value is obtained within the range where the standard curve becomes a straight line.

---

---

---

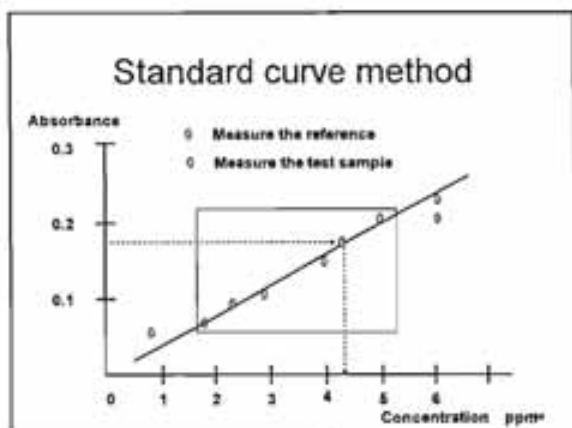
---

---

---

---

---




---

---

---

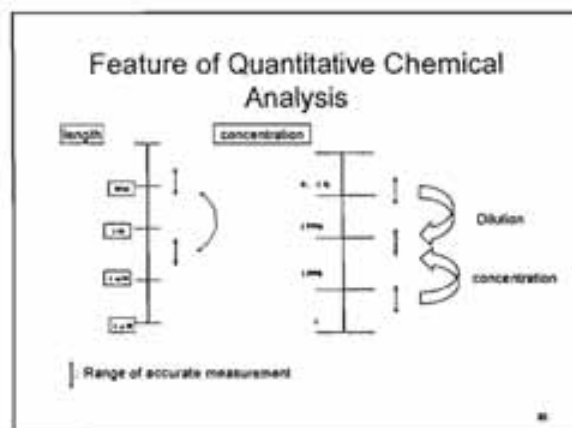
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

Quality Control Procedure,  
Control Sample Preparation  
and Method Validation

Mr. Kenji Kojima  
PAI-NET

10/17/2008



Quality Control Procedure,  
Control Sample Preparation  
and Method Validation

PAI-NET  
KENJI KOJIMA

---

---

---

---

---

---

---

---

CONTENTS

1. Objectivity and reliability of data
2. Measurement data and analytical Value
3. Item of validation for Chemical analysis

---

---

---

---

---

---

---

---

1. Objectivity and reliability of data

- G x P
  - GLP (Good Laboratory Practice)
  - GMP (Good Manufacturing Practice)
  - GCP (Good Clinical Practice)
- Validation
  - DQ (Design Qualification)
  - IQ (Installation Qualification)
  - OQ (Operational Qualification)
  - PQ (Performance Qualification)

---

---

---

---

---

---

---

---

## Measurement & Analytical Values

- Measurement value :  
Numerical Value obtained instruments information
- Analytical Value :  
The numerical value corresponding to the true value is obtained within the range where the working curve becomes a straight line.

2006/10/20

4

---

---

---

---

---

---

---

---

## Objectivity of analysis result

- The analysis value are useful for the society with objectivity.
- Measurements Value are shown by the numerical value compared with a universal amount that becomes a standard.
- The analysis value requests the value according to a standard operating procedure.

2006/10/20

5

---

---

---

---

---

---

---

---

## System of units that gives measurements objectivity

- Systeme International d' Unites(SI)  
The international system of units base units defined in an absolute way without referring to any other units. The base units are consistent with the part of the metric system called the MKS system. In all there are seven SI base units : meter, kilogram, second, ampere, kelvin, mole, candela,  
Other SI units, called SI derived units, are defined algebraically in terms of these fundamental units.

2006/10/20

6

---

---

---

---

---

---

---

---

## Traceability

- A national standard is provided on the international average based on the international unit system.
- First Standard: Equipment proofread based on national standard
- Second Standard : Equipment proofread based on First Standard
- The objectivity of measurements of the measuring instrument is secured with the chain of this proofreading.
- 手元の計測器の値が国家標準までたどれることをトレーサビリティが確立しているという

2008/10/20

---

---

---

---

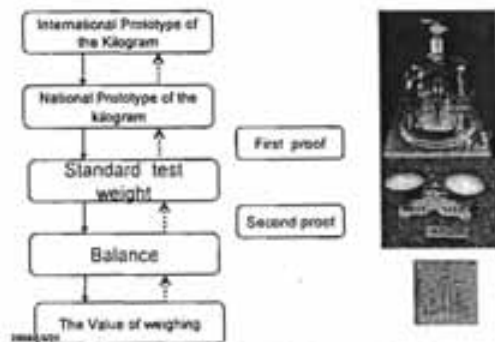
---

---

---

---

## Traceability system : Mass



2008/10/20

---

---

---

---

---

---

---

---

## To secure the reliability of measurements

- About the expression of reliability
- From the error margin to the uncertainty
- Definition of error margin: Value in which true value is pulled from measurement value
- Definition of uncertainty: Parameter that accompanied result of measurement that characterizes difference of value to which it can reasonably tie amount of measurement

2008/10/20

---

---

---

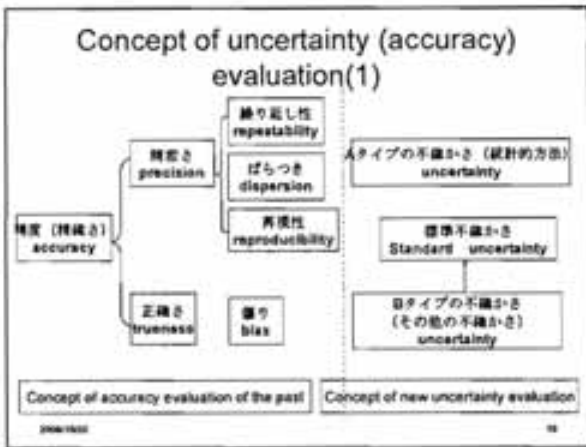
---

---

---

---

---




---

---

---

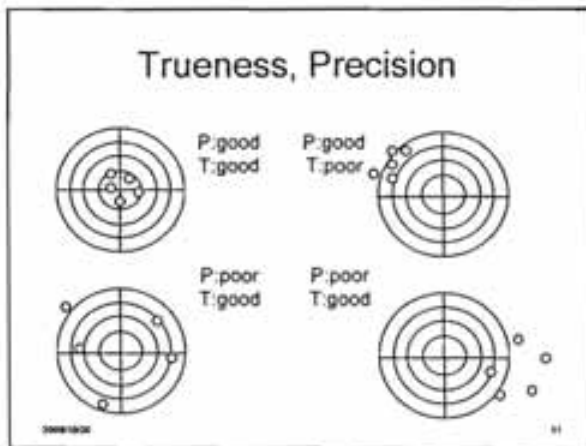
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

### Concept of uncertainty (accuracy) evaluation(2)

標準不確かさ  
Standard uncertainty

合成標準不確かさ  
Combined Standard uncertainty

拡張不確かさ  
Expanded uncertainty

Uncertainty (type B) is presumed as decentralization or standard deviation by the scientific judgement that makes information that obtains the uncertainty that cannot be repeatedly requested from the measurement a radical.

- (1) Measurement data before
- (2) Knowledge and experience concerning measurement object and measurement equipment
- (3) Specification of manufacturer of measurement equipment
- (4) Proofreading certificate and data described in result
- (5) Uncertainty of quoted reference data

---

---

---

---

---

---

---

---

## Uncertainty of A type

- The one that comes from principle of equipment analysis method
- The sampled sample doesn't represent the whole at a certain time by
- the one that exists in a certain space.
- It exists at a certain probability.
- Normal distribution is assumed.

JIS B 9000

13

---



---



---



---



---



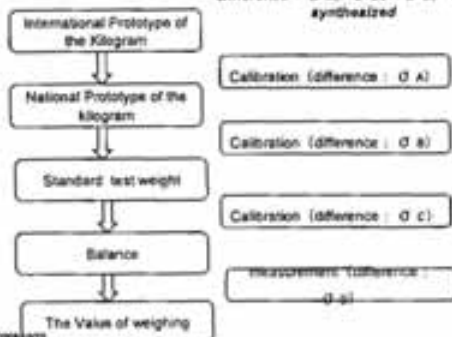
---



---

## A タイプの不確かさの概念

Difference =  $\sigma_A, \sigma_B, \sigma_C, \sigma_D$ ,  
synthesized



JIS B 9000

14

---



---



---



---



---



---



---

## Uncertainty of B type

- It is individual variation in the adjustment and the preprocessing of the sample.
- The habit cannot be averaged.
- The data obtained with the device doesn't necessarily become the same and this is not assumable of normal distribution etc. either.

JIS B 9000

15

---



---



---



---



---



---



---




---

---

---

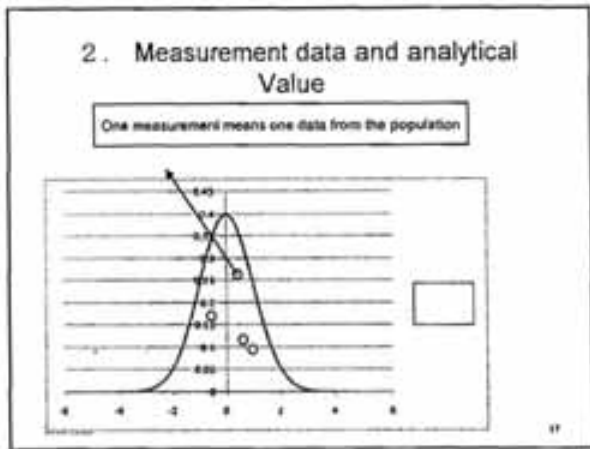
---

---

---

---

---




---

---

---

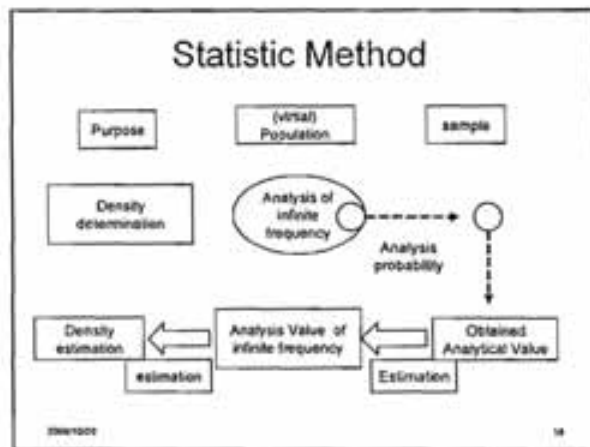
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

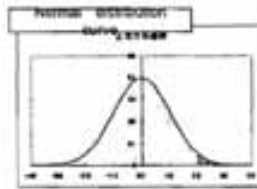
---

---

---

### Normal distribution

- 平均值 Mean
- 中央值 Median
- 標準偏差 Standard Deviation
- For normal distribution curve,  
MEAN=MEDIAN




---

---

---

---

---

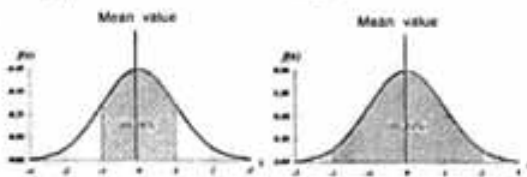
---

---

---

### Normal Distribution vs Standard Deviation

Difference from mean  $\pm$  Difference from mean  
 $1 \sigma$   $\pm 2 \sigma$




---

---

---

---

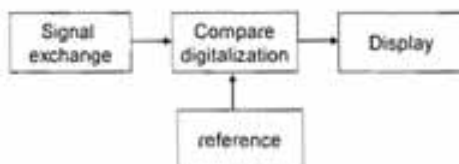
---

---

---

---

### Basic process on measurement




---

---

---

---

---

---

---

---

### 測定値の求め方

- 検量線 : Standard curve  
Calibration Curve  
標準試料が必要
- 測定限界 : 分析機器の性能で決まる限界  
通常は検出限界で代用する
- 検出限界 Detection limit  
原子・分子の性質、試料の状態、装置の性能で決まる

2008/10/20

20

---

---

---

---

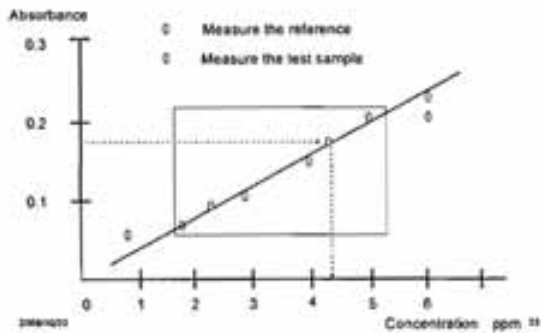
---

---

---

---

### Standard curve method



2008/10/20

21

---

---

---

---

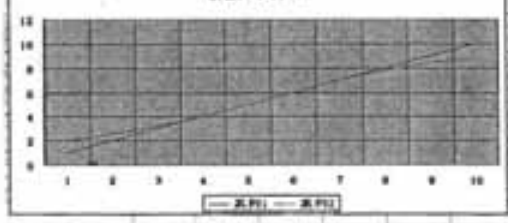
---

---

---

---

検量線のグラフ



- グラフは縦軸が分析により得られた測定値 (数値)
- 横軸が濃度を表す。
- 通常は系列2のようになる。この場合には4~7の範囲に測定値がはいるようにする必要がある。

2008/10/20

22

---

---

---

---

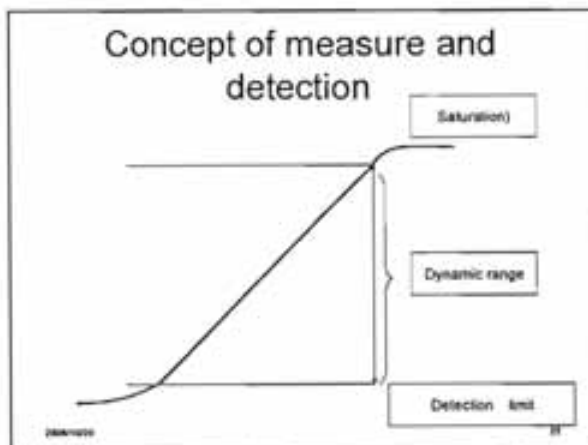
---

---

---

---






---

---

---

---

---

---

---

---

### How to determine density

- Density can be determined by conversion of not peak intensity, but **peak area**.

Actually,

- Obtained peak shape is convolution of several peaks.

⇒ need curve fitting or deconvolution

---

---

---

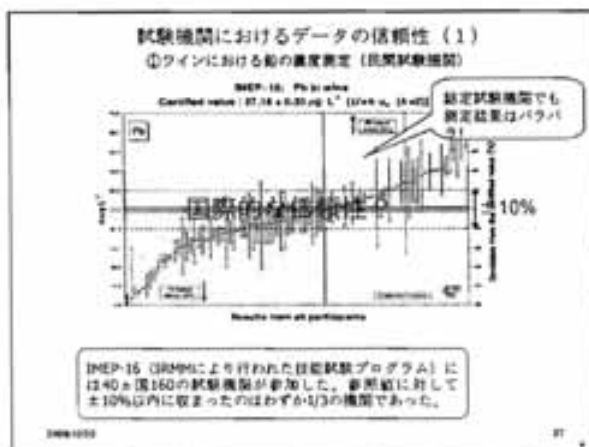
---

---

---

---

---




---

---

---

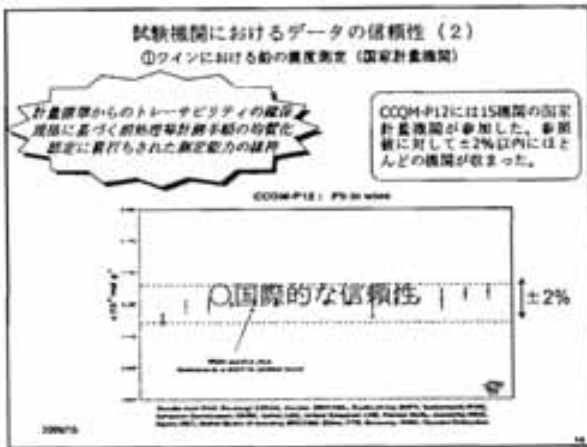
---

---

---

---

---




---

---

---

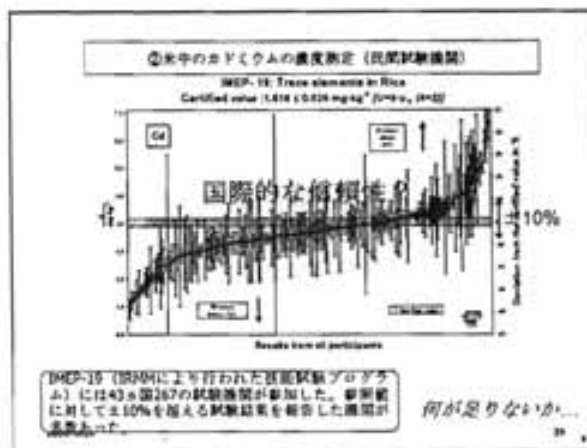
---

---

---

---

---




---

---

---

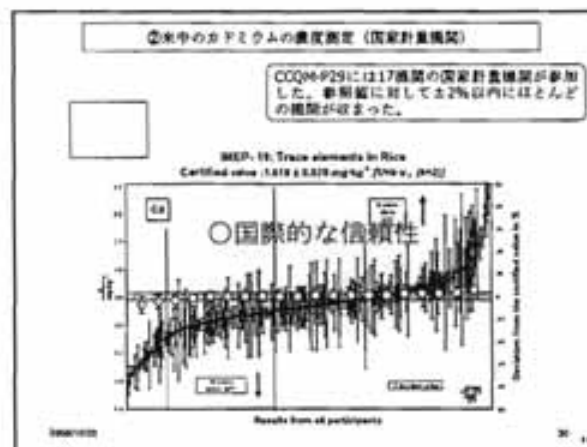
---

---

---

---

---




---

---

---

---

---

---

---

---

### Item of validation for Chemical analysis

To obtain the analysis value it is objective and with reliability. It is necessary to remove vagueness (uncertainty) in not only the measurement of data but also all the processes of the instrumental analysis.

The analysis value is a content (density) in which the composition is required to be uniform, and not to change as for the sample.

10/20/08

11

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### Validation for Analysis

- Specificity
  - Measurement performance with coexist and impurity matter
- Accuracy
  - Gap of the true value or setting value as true value
- Precision
  - Dispersion of measurement
    - Repeatability
    - Intermediate Precision
    - Reproducibility
- Detection Limit or Limit of Detection
- Determination Limit
- Linearity
- Range
- Robustness or Ruggedness

10/20/08

12

---

---

---

---

---

---

---

---

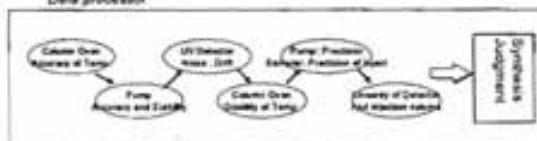
---

---

### SOP of Performance Test for HPLC , example No.1

#### System structure and Test items

- Pump
  - Accuracy and Precision of Flow volume , Stability of Flow
- Autosampler
  - Accuracy and Precision of Injection volume , Linearity , Carry over
- Column Oven
  - Accuracy and Precision of Temperature , Stability
- UV Detector
  - Noise , Drift , Accuracy of wavelength , Linearity of Absorption
- System Controller
- Data processor




---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

Chulalinet



3 0021 00368113 7

### SOP of Performance Test for HPLC , example No.2

- Flow accuracy and stability of Pump
  1. Flowchart of Performance test
    1. Flow water at 1ml/min
    2. Confirm the Stabilization for Pump pressure
    3. Report the Test result
  2. Test Procedure
    1. Output terminal connect with the Recorder and Setting FS:1--5kpa,CS:1--20ml/min
    2. Recording Pressure
    3. Prepare Measflask (10ml) and Stopwatch
    4. Start to uptake water in measflask , and start stopwatch
    5. When water level (correspond with mark , stop stopwatch)
    6. Read the measure time and write this on reporting book
    7. Read max. and min. of pump pressure from recorder chart , and write these difference on reporting book
  3. Criterion of judgment (criterion of management)
    1.  $\pm 2\%$  for setting value (measure time : 500--612sec)
    2. Differential pressure : 0.5MPa  $\pm$  ( Stability )
  4. Proceeding for disqualification
    1. Do to work according the SOP of maintenance for pump

2008/10/20

34

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

### SOP of Performance Test for HPLC , example No.3

- UV Detector ; Noise , Drift
  1. Proceed of test
    1. Output terminal of UV detector connect with the Recorder and Setting to FS:10mV , CS:1--20ml/min
    2. Set wavelength at 254nm , response time 1--3 sec , Sense 1 ~2mV
    3. Adjust Zero of detector and pen level of recorder set the center
    4. Start to record baseline , and recording 20 min
    5. Write test items on chart and write starting time on reporting book
    6. Calculate max. , min. and difference per 1 min. from baseline chart And calculate these average (Noise level)
    7. Calculate max. , min. and difference per 20 min. ( drift)
  2. Criterion of judgment (criterion of management)
    1. Noise : 0.0005ABS  $\pm$
    2. Drift : 0.001ABS  $\pm$
  3. Proceeding for disqualification
    1. Ask to repair to maker

2008/10/20

35

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---