



食品分析の課題に対するソリューション

Agilent SPE 食品安全アプリケーションノートブック

第1巻





目次

	ページ
食品安全性分析の信頼性を高めるアジレントのソリューション	3
SPE とは?	4
メソッド開発	5
■ 農薬と汚染物質	
はじめに	6
Bond Elut ポリマー SCX 固相抽出と高速液体クロマトグラフィによる リンゴ果汁残留ベンゾイミダゾール系防カビ剤の定量 (文献番号 5990-3235JAJP)	7
Agilent 7890A/5975 GC/MSD とAgilent J&W DB-5ms ウルトライナートカラム、 Bond Elut SCX カートリッジを用いた乳製品中メラミンの微量分析 (文献番号 5990-3282EN)	9
液体クロマトグラフィ/タンデム質量分析計による牛乳および 乳製品のメラミンの高速スクリーニングおよび確認 (文献番号 5989-9950EN)	11
Agilent Bond Elut ポリマー SCX 固相抽出および Agilent 1200 シリーズ HPLC/UV を用いた 粉ミルクおよび卵中の残留メラミン残留分析 (文献番号 5990-3365EN)	13
Agilent 1120 Compact LC、1200 Rapid Resolution LC、Bond Elut SCX SPE カートリッジを用いた 乳製品中メラミンの定量的液体クロマトグラフィ分析 (文献番号 5989-9949EN)	15
■ 薬剤/抗生物質	
はじめに	17
Bond Elut OPT 固相抽出カートリッジと高速液体クロマトグラフィによる ヨーロッパナ (Carassius carassius) 中のホルモン類の分析 (文献番号 5990-3845JAJP)	18
固相抽出と高性能液体クロマトグラフィによる 鶏肉中テトラサイクリンの測定 (文献番号 5989-9735EN)	20
固相抽出および液体クロマトグラフィ/タンデム質量分析 (LC/MS/MS) 法による 牛乳中の含有サルファ剤の定量 (文献番号 5990-3713JAJP)	22
Agilent Bond Elut OPT 固相抽出カートリッジと液体クロマトグラフィ/タンデム四重極質量分析による ハチミツ中クロラムフェニコール、フロルフエニコール、チアンフェニコールの測定 (文献番号 5990-3615JAJP)	24
高性能液体クロマトグラフィ (HPLC/UV) と HPLC/MS/MS による 食肉中ペニシリンの測定 (文献番号 5990-3364EN)	26
高速液体クロマトグラフィ/タンデム質量分析 (LC/MS/MS) による 牛乳中のテトラサイクリン系抗生物質とその代謝物の定量 (文献番号 5990-3816JAJP)	28
Agilent Bond Elut OPT 固相抽出カートリッジおよび液体クロマトグラフィ/ タンデム質量分析 (LC/MS/MS) による豚肉に含まれる 2 刺激薬の定量 (文献番号 5990-4180JAJP)	30



信頼性の高い SPE ではじめる 信頼性の高い食品安全分析

お客様各位

食品・飲料業界にとって、一貫した品質管理と安全性の確保は非常に重要です。食品関連の分析にはさまざまなニーズがあり、厳しい仕様が要求されます。

アジレントは、お客様の要求に応えるソリューションを提供しています。

アジレントの機器、システム、カラム、消耗品は、製品検査はもちろん、製品開発、品質確認、梱包にいたるすべてのプロセスできわめて厳しい基準を満たし、お客様の分析の要求にお応えします。

また、アジレントは豊富な経験、幅広い知識、創造性あふれるスタッフ、そして業界の傾向や国際的な規制に関する鋭い見識により、お客様の分析上およびビジネス上の課題の解決をサポートします。

新しい Agilent Bond Elut SPE 製品：食品安全分析の第一歩

高品質の Agilent Bond Elut SPE 製品は、複雑なマトリクスから確実にサンプルを抽出および濃縮し、分析のはじめの一歩から、迅速で正確、かつ再現性の高い結果を約束します。Bond Elut 製品ファミリーは、以下の製品で構成されています：

- **Agilent Bond Elut QuEChERS キット**を使えば、さまざまな残留農薬分析用のサンプルをわずか数ステップで簡単に前処理することができます。
- **Agilent Bond Elut ポリマー**は、幅広い pKa 範囲で分析対象分子を保持することが可能です。シリカベースの相とは異なり、Bond Elut ポリマーなら、コンディショニング中に不注意により乾燥させてしまった場合でも、正確な分析結果を得ることができます。

この資料では、食品安全分析の信頼性とスループットを劇的に向上させる、最先端のテクニックとサンプル前処理メソッドを紹介します。

Ronald E. Majors, Ph. D., シニアケミスト





SPE とは？

サンプル前処理は、特異性の高い検出器や高速高分離能カラムを補完し、クロマトグラフィ分析を成功させるために欠かせない手順です。しかし、サンプルに分析対象ではない化合物が含まれていると、その結果生じる干渉が分離や検出、定量の性能を低下させることがあります。

この問題は、固相抽出 (SPE) により解決できます。SPE は、抽出物を精製し、正確な分析結果を確保するための高速でコスト効率の良いテクニックです。

簡単に言うと、SPE は、複雑なサンプルを単純にするテクニックです。SPE では、HPLC の原則を活用し、食品サンプルや環境サンプル、生体試料といった複雑なマトリックスから、干渉や分析対象物を選択的に除去します。また、液液抽出プロトコルの代わりとなるため、溶媒消費量を大幅に削減することも可能です。

つまり SPE は、確実な結果と、不正確で再現性の低い分析結果とをわけるテクニックといえます。

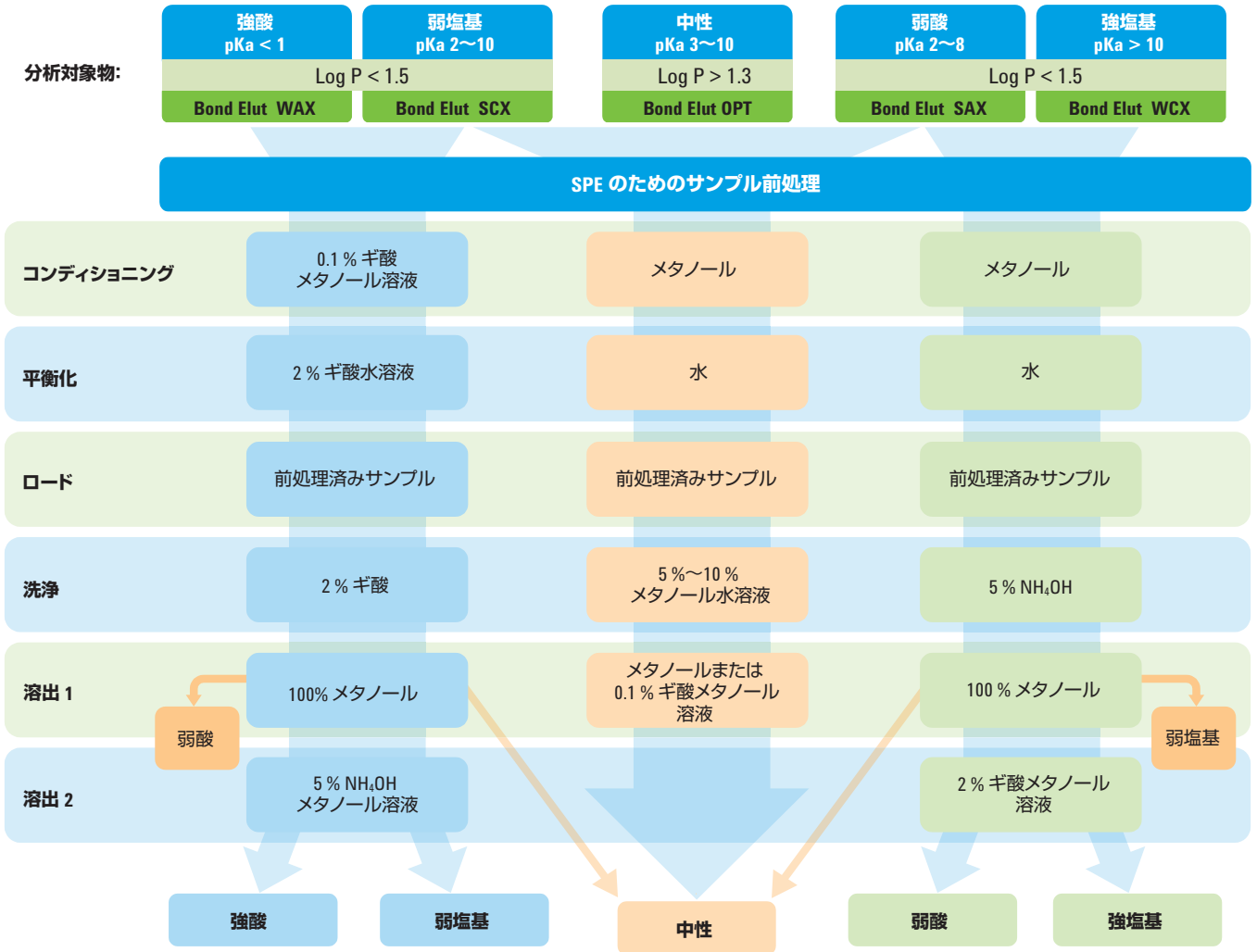
アジレントは Bond Elut 製品ラインの開発により、お客様のワークフローと一体となった SPE の実現に向け、SPE に関する取り組みを強化しています。アジレントでは、さまざまな抽出上のニーズに応えるポリマーベースやシリカベースなどの充填材を、幅広い構成で提供しています。





メソッド開発

Agilent Bond Elut ポリマー 酸性/中性/塩基性 メソッド



迅速で確実な 農薬の検出と定量

ある種の農薬や汚染物質 (グリホサート、ベンゾイミダゾール系殺菌剤、マイコトキシン、メラミンなど) が食品に含まれていると、人体に大きな危険を及ぼすおそれがあります。そのため、食品会社では、規制遵守における微量元素分析の重要性が急速に高まっています。

アジレントは大手分析ラボや規制当局と密に連携し、お客様を支援する戦略を開発しています：

- ・ターゲット化合物と非ターゲット化合物の超微量レベルでの確実なモニタリング
- ・複数残留物 MS メソッドの使用による、幅広い食品マトリックスの検出限界 (LOD) および定量限界 (LOQ) の大幅な向上
- ・1回の分析による数百種類の化合物のルーチンスクリーニング
- ・分析時間の大幅な短縮、ラボの生産性向上、サンプルあたりのコストの削減
- ・産地および純度に関する消費者および規制上の要件の遵守



Bond Elut ポリマー SCX 固相抽出と高速液体クロマトグラフィによる リンゴ果汁残留ベンゾイミダゾール系防カビ剤の定量 (文献番号 5990-3235JAJP)

はじめに

殺菌剤は、農業分野で使用される全農薬の 20~25 % ほどを占めています。なかでも、ベンゾイミダゾール系殺菌剤は、収穫前後に各種病原体を抑制する目的で使われています。ベンゾイミダゾール系化合物のなかでも、主要な化合物がカルベンダジムとチアベンダゾールの 2 つです。HPLC と組み合わせた SPE を最適化し、リンゴジュースに含まれるこれらの殺菌剤の抽出および定量を実施しました。

サンプル前処理

リンゴ果汁を 10 g 計り、水で 100 mL に希釈し、ガラス製の攪拌棒で 1 分間混ぜます。希釈したサンプルを 250 mL の三角フラスコに移し、2 mol/L の NaOH 溶液で pH を 10 に調整します。サンプルを 2~3 本の 50 mL ポリプロピレン遠心分離管に分け、4,000 rpm で 10 分間遠心分離機にかけます。各分離管の上澄み液を 1 つのガラスビーカーに集めます。

機器条件

HPLC 条件

カラム:	ZORBAX Eclipse Plus C18 100 mm x 2.1 mm 3.5 μ m (p/n 959793-902)
流量:	1.0 mL/min
注入量:	20 μ L
検出波長:	288 nm
移動相:	リン酸緩衝液 - アセトニトリル (73:27)

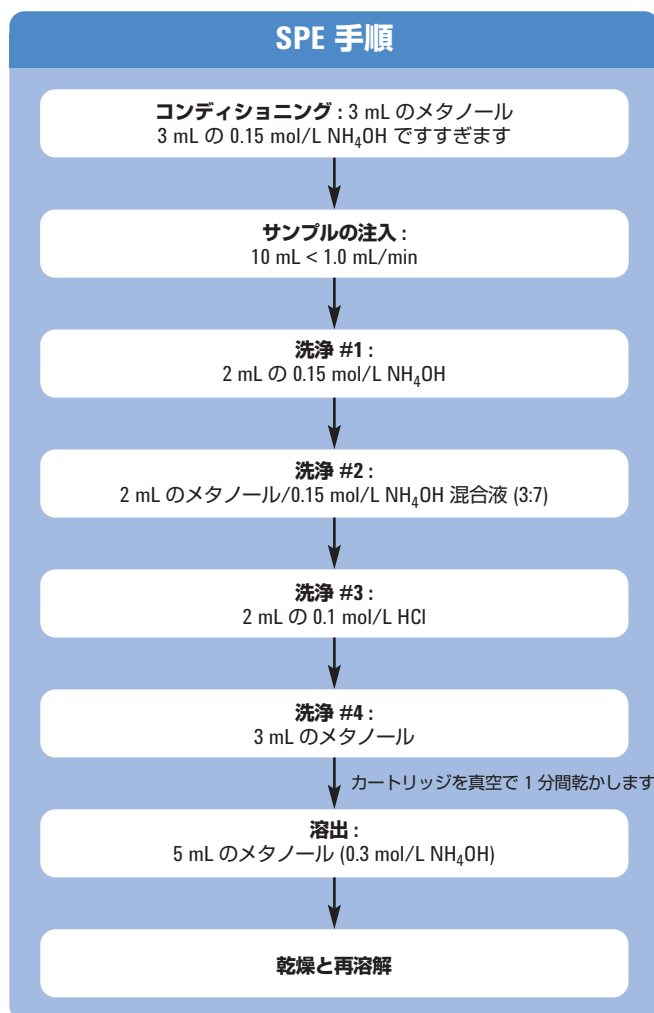


図 1. リンゴ果汁に残留した防カビ剤の SPE (固相抽出) 手順

結果

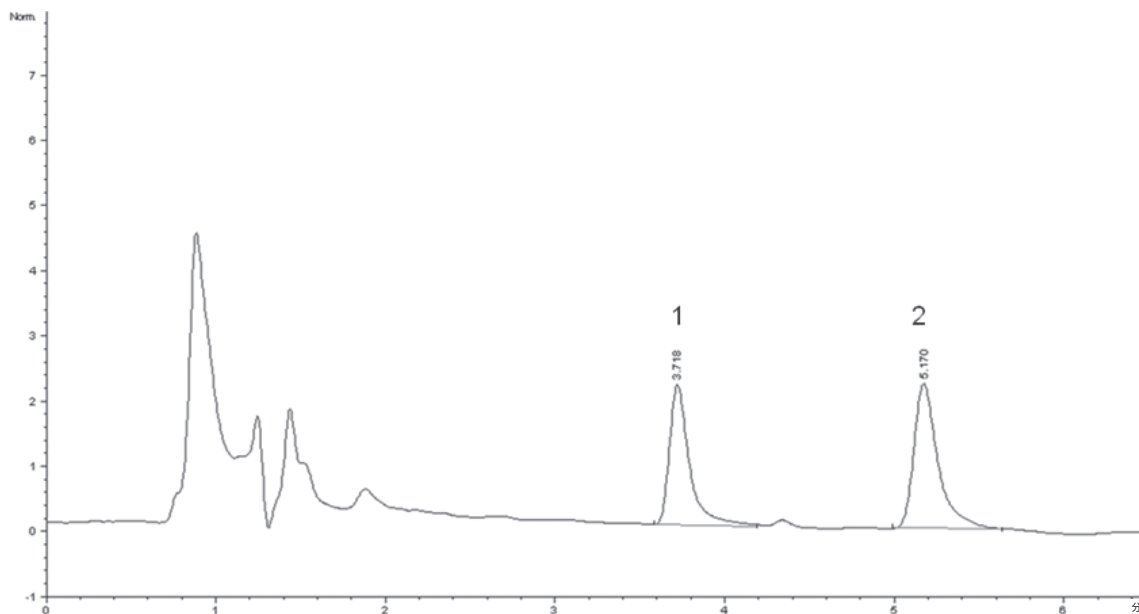


図 2. 100 µg/kg のスパイクを添加したリンゴ果汁のクロマトグラム (1 - カルベンダジム、2 - チアベンダゾール)

化合物	添加レベル (µg/kg)	回収率 (%)	% RSD (n = 6)
カルベンダジム	25	98.6	3.99
	50	99.4	3.24
	100	95.9	3.27
チアベンダゾール	25	99.0	2.38
	50	92.1	4.90
	100	93.0	3.79

表 1. SPE (固相抽出) によるリンゴ果汁残留防カビ剤の回収率と RSD

注文情報

Agilent Bond Elut SCX、3 mL、60 mg、部品番号 5982-3236

Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 LC カラム、100 mm x 2.1 mm、
3.5 µm、部品番号 959793-902

Agilent 0.45 µm フィルタメンブラン、部品番号 5185-5836

このアプリケーションノートの完全版をご覧になるには、www.agilent.com/chem/jp で
5990-3235JAJP を検索してください。

Agilent 7890A/5975 GC/MSD と Agilent J&W DB-5ms ウルトライナートカラム、 Bond Elut SCX カートリッジを用いた乳製品中メラミンの微量分析 (文献番号 5990-3282EN)

はじめに

乳製品中の残留メラミンの定量的分析および確認に使用する GC/MS メソッドを紹介します。アジレントの新しい Bond Elut SCX SPE カートリッジを用いて牛乳サンプルを精製したのち、誘導体化を実施しました。これにより得られた抽出物を、GC/MS で分析しました。同時 SIM/スキャンモードの EI を組み合わせ、新しい Agilent J&W DB-5ms ウルトライナートカラムを使用しました。

機器条件

GC 条件

使用機器:	Agilent 7890A/5975C GC/MSD Agilent 7683 オートサンブラ (ALS)
カラム:	Agilent J&W DB-5ms ウルトライナート GC カラム、30 m x 0.25 mm、0.25 μ m (部品番号 122-5532UI)
注入口温度:	EPC、スプリット/スプリットレス、250 °C
注入量:	1 μ L、スプリット比 3:1
キャリアガス:	ヘリウム、コンスタントフローモード、1.3 mL/min
オープンプログラム:	75 °C (1 分)~30 °C/min~300 °C (2 分)
トランスファーライン:	290 °C

MS 条件

MS:	EI、SIM/スキャン
溶媒待ち時間:	4.2 分
MS 温度:	230 °C (イオンソース)、150 °C (四重極)
スキャンモード:	質量範囲 (40~450 amu)
SIM モード:	モニタリングイオン (342、327*、171、99)
*定量イオン	

サンプル調整

サンプル前処理

抽出:

40 mL 1% トリクロロ酢酸 (TAA) で粉ミルク 5.0 g を抽出。ボルテックス混合、超音波分解 (15 分)。22 g/L の酢酸鉛 2 mL を添加し、1% TAA により容積 50 mL に。4,000 rpm で遠心分離 (10 分)。

SPE 手順

コンディショニング/平衡化:

メタノール 3 mL / H₂O 5 mL

ロード:

牛乳上澄み液 5 mL

洗浄:

H₂O 3 mL / メタノール 3 mL

溶出:

5% 水酸化アンモニウムメタノール溶液 3 mL

蒸発:

N₂ を吹き付けて 50 °C で乾燥

誘導体化:

ピリジン 600 μ L、BSTFA 200 μ L を添加、70 °C で 30 分間置く

図 1. サンプル前処理プロセスの概略

結果

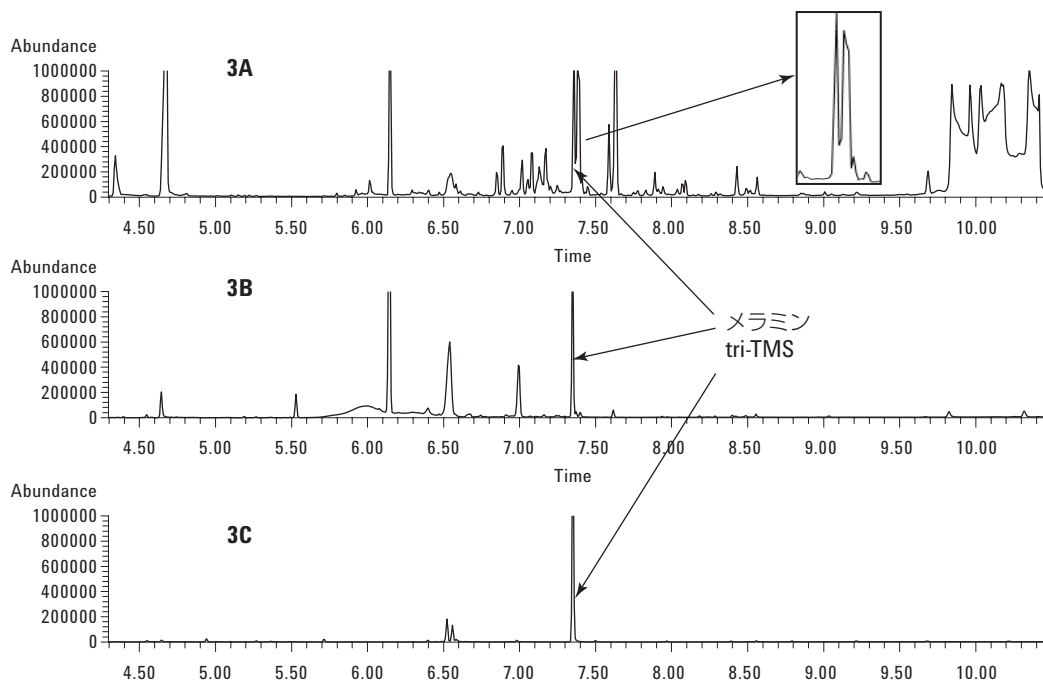


図 2. メラミン tri-TMS の GC/MS SIM クロマトグラム (3A : SPE 精製を実施していないサンプル、3B : SPE 精製を実施したサンプル、3C : 標準サンプル)

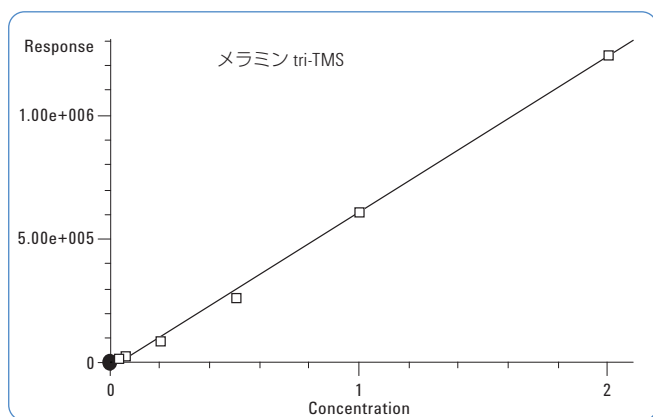


図 3. メラミン tri-TMS の検量線

化合物	添加量 (mg/g)	回収率 (%)	RSD (%) (n = 6)
メラミン	0.080	82.1	2.04
tri-TMS	0.800	82.8	4.88
	1.600	80.8	3.58

表 1. 添加サンプルの回収率と再現性

注文情報

Agilent Bond Elut SCX SPE カートリッジ、60 mg、3 mL、
部品番号 5982-3236

Agilent J&W DB-5ms ウルトライナート GC カラム、
30 m x 0.25 mm、0.25 μm、部品番号 122-5532UI

このアプリケーションノートの完全版をご覧になるには、www.agilent.com/chem で
5990-3282EN を検索してください。

液体クロマトグラフィ/タンデム質量分析計による牛乳および乳製品のメラミンの高速スクリーニングおよび確認 (文献番号 5989-9950EN)

はじめに

この高速メソッドでは、Agilent 6410 トリプル四重極 (QQQ) と陽イオン交換カラムを用いて、液体クロマトグラフィ/タンデム質量分析 (LC/MS/MS) により、乳製品中のメラミンを分析しています。新しい Agilent Bond Elut SCX カートリッジを用いた簡単な SPE 精製メソッドにより、牛乳と乳製品を前処理しています。

機器条件

LC 条件

カラム:	Agilent ZORBAX 300-SCX カラム、2.1 mm x 150 mm、5 μm (部品番号 883700-704)
注入量:	10 μL
流量:	0.2 mL/min
温度:	40 °C
移動相:	A: 10 mM NH ₄ アセテート/酢酸、pH を 3.0 に調整 B: ACN A : B = 20:80
ストップタイム:	10 分

MS 条件

Agilent 6410A LC/MS	トリプル四重極
イオン源:	エレクトロスプレー
極性:	ポジティブ
ネブライザガス:	窒素
イオンスプレー電圧:	4,000 V
乾燥ガス温度:	350 °C
乾燥ガス流量:	9 L/min
ネブライザ圧力:	40 psi
分解能:	Q1 (ユニット) Q3 (ユニット)

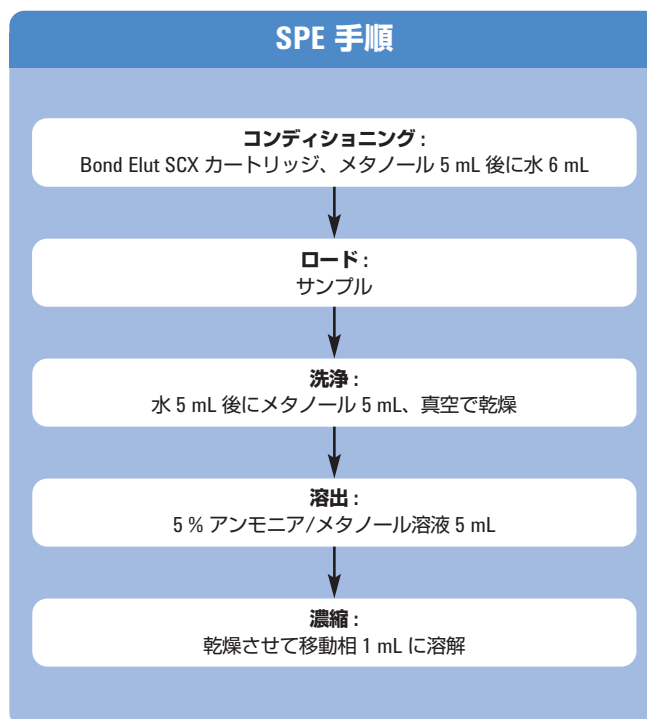


図 1. サンプル前処理プロセスの概略

結果

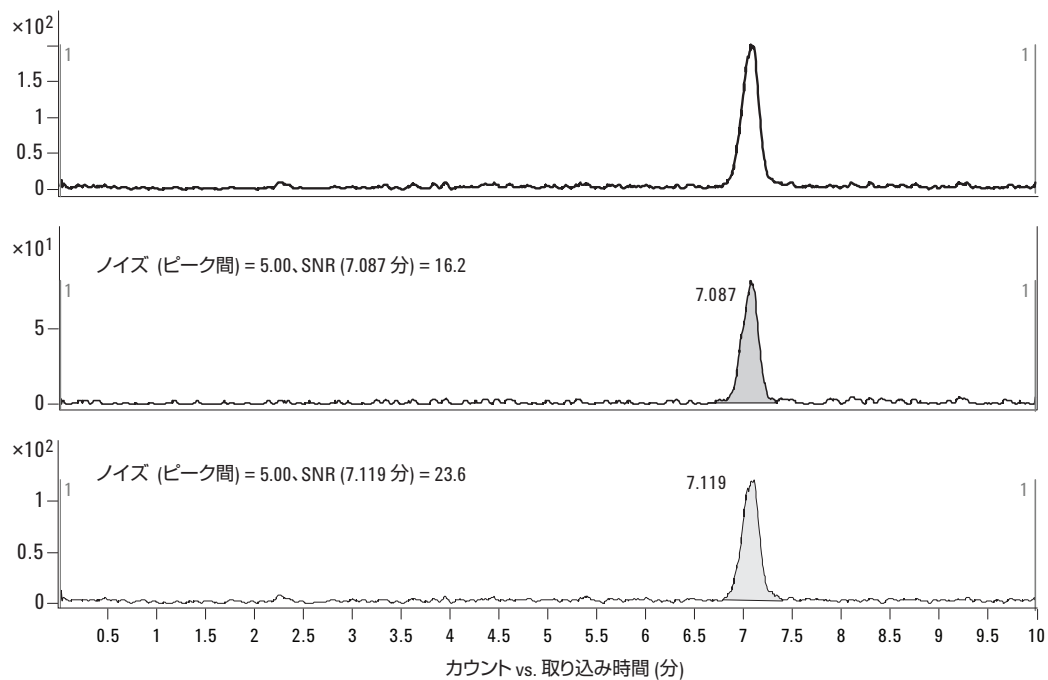


図 2. 1 ppb で牛乳サンプルに添加したメラミンのレスポンス

	濃度 = 50 ppb (n = 3)	濃度 = 80 ppb (n = 3)
回収率 (%)	83.4	62.5
RSD (%)	2.78	1.02

表 1. 粉ミルクの回収率—外部標準計算により求めた粉ミルク中添加メラミン 50 ppb および 80 ppb の回収率は、それぞれ 83.4 % と 62.5 % でした。RSD は 3 % 未満です。

注文情報

Agilent Bond Elut SCX ポリマー SPE、150 mg、6 mL、
部品番号 5982-3267

Agilent 再生セルロースメンブランフィルタ、0.2 μm 、
部品番号 5064-8222

Agilent ZORBAX 300-SCX カラム、2.1 mm x 150 mm、5 μm 、
部品番号 883700-704

このアプリケーションノートの完全版をご覧になるには、www.agilent.com/chem で
5990-3282EN を検索してください。

Agilent Bond Elut ポリマー SCX 固相抽出および Agilent 1200 シリーズ HPLC/UV を用いた 粉ミルクおよび卵中の残留メラミン残留分析 (文献番号 5990-3365EN)

はじめに

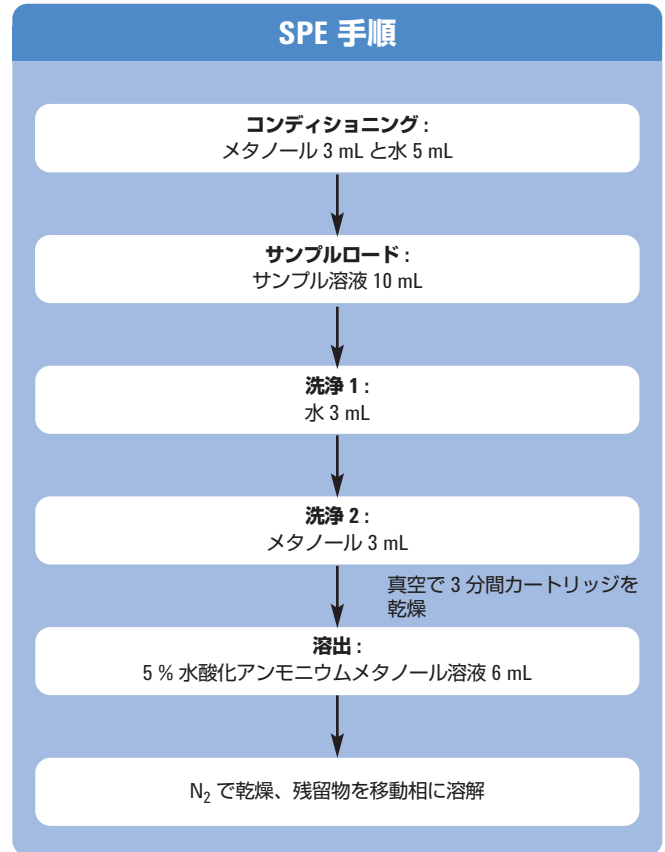
粉ミルクおよび卵に含まれるメラミンを測定する手法を開発しました。中国規制当局の基準に沿った固相抽出 (SPE) および HPLC/UV を使用しました。サンプル前処理には、ポリマー混合モード強陽イオン交換樹脂を使用しました。分離と検出には HPLC/UV を使用しました。

機器条件

HPLC 条件

Agilent 1200 シリーズ HPLC とダイオードアレイ検出器を用いてサンプルを分析しました。

カラム:	Agilent ZORBAX SB-C8 LC カラム 250 mm x 4.6 mm、 5 μm (部品番号 880975-906)
流量:	1.0 mL/min
カラム温度:	40 °C
検出器波長:	240 nm
注入量:	20 μL
移動相:	アセトニトリルバッファ (15:85)
バッファ:	10 mmol/L クエン酸および 10 mmol/L オクタンスル ホン酸ナトリウム、pH 3.0
クロマトグラフィ:	アイソクラティック



結果

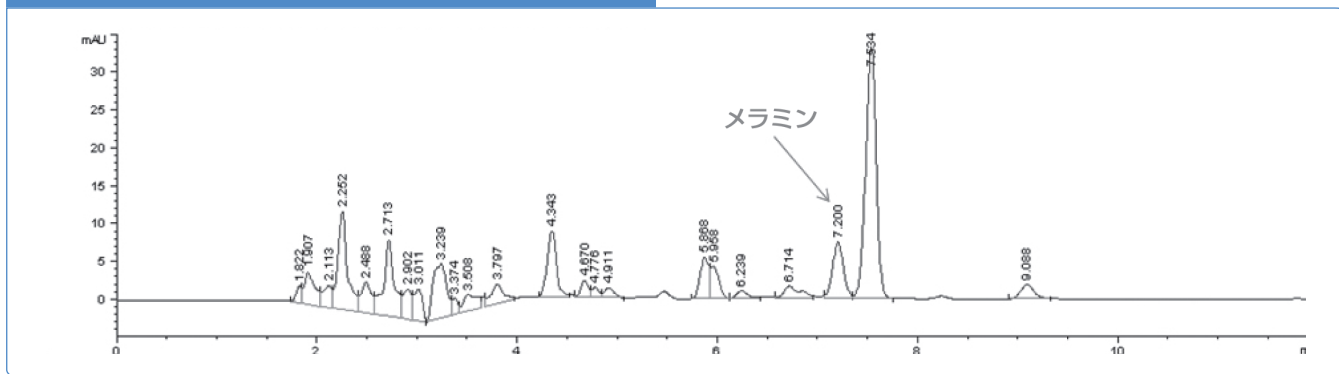


図 2. 2 mg/kg で添加した粉ミルクサンプルのクロマトグラム

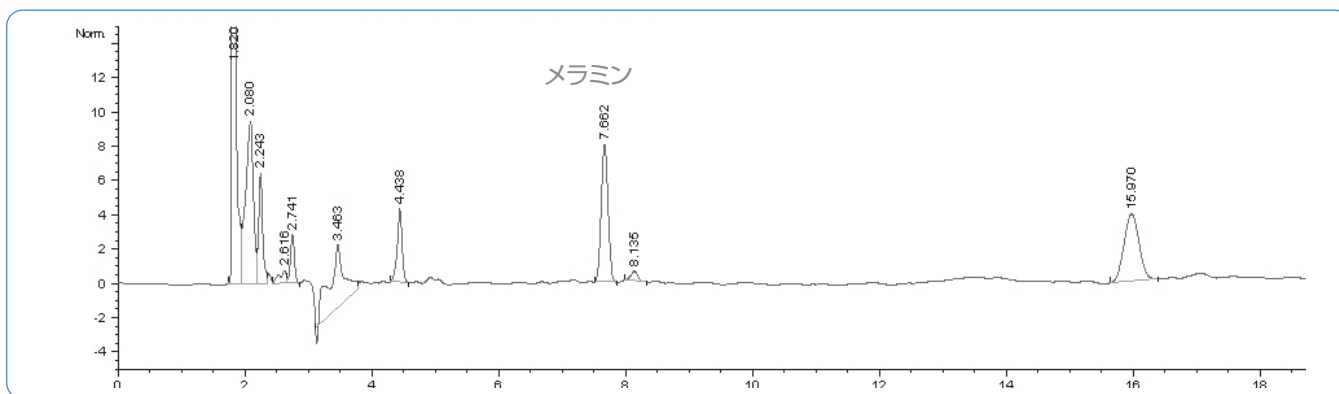


図 3. 2 mg/kg で添加した卵サンプルのクロマトグラム

化合物	回帰方程式	相関係数	LOD (µg/kg)
-----	-------	------	-------------

メラミン $Y = 77.4698x + 0.2117$ 0.9999 10

表 1. メラミンの直線性と LOD

化合物	サンプル	添加量 (mg/kg)	回収率 (%)	RSD (%)
メラミン	粉ミルク	2	84.5	2.83
		5	85.3	2.56
		10	86.7	1.18
	卵	2	95.2	3.00
		5	93.0	2.01
		10	95.7	2.89

表 2. Agilent Bond Elut SCX SPE を用いた粉ミルクおよび卵中メラミンの回収率と標準偏差

注文情報

Agilent Bond Elut SCX ポリマー SPE カートリッジ、60 mg、3 mL、部品番号 5982-3236

Agilent ZORBAX SB-C8 LC カラム、250 mm x 4.6 mm、5 µm、部品番号 880975-906

このアプリケーションノートの完全版をご覧になるには、www.agilent.com/chemで 5990-3365EN を検索してください。

Agilent 1120 Compact LC、1200 Rapid Resolution LC、 Bond Elut SCX SPE カートリッジを用いた 乳製品中メラミンの定量的液体クロマトグラフィ分析 (文献番号 5989-9949EN)

はじめに

メラミンは本来、工業用途で使用されている化学物質ですが、牛乳および乳製品の不法な混和物として、食品から検出されることがあります。世界的に懸念が高まっているため、広範囲にわたるテストが行われています。以下のメソッドでは、複雑なマトリックス (タンパク質、糖、脂肪) の干渉を除去し、乳製品に含まれるメラミンの LC 分析を実施しています。

機器条件

1120 Compact LC または 1200 LC を用いた従来の HPLC メソッド:

- グラジエントポンプ (デガッサ内蔵)、オートサンブラ、カラムコンパートメント、可変波長検出器 (VWD) を搭載した Agilent 1120 Compact LC システム、あるいは同等のシステム構成である 1200 シリーズ
- EZChrom Elite Compact ソフトウェアまたは ChemStation ソフトウェア (バージョン B.04.01 以降)

カラム:	Agilent ZORBAX SB-C8 LC カラム (別名 Agilent ZORBAX Rx-C8)、4.6 mm x 250 mm、5 μm (部品番号 880975-906)
バッファ:	10 mM クエン酸、10 mM オクタンサルホン酸ナトリウム、pH 3.0 に調整
移動相:	92:8 バッファ : アセトニトリル
流量:	1.5 mL/min
注入量:	20 μL
カラム温度:	30 °C
検出波長:	240 nm
分析時間:	20 分

サンプル前処理

液体の牛乳、粉ミルク、ヨーグルト、アイスクリーム、クリームキャンディのサンプル:

- サンプル 2 ± 0.01 g を計量して 50 mL 遠心分離チューブに入れ、5 % トリクロロ酢酸水溶液 15 mL とアセトニトリル 5 mL を添加し、キャップをしめます。
- 10 分間超音波分解したのち、垂直攪拌器でサンプルを 10 分間攪拌します。4,000 rpm で 10 分間遠心分離します。
- 5 % トリクロロ酢酸水溶液でフィルタペーパーを湿らせ、上澄みをろ過して 25.0 mL 容積測定フラスコに入れ、5 % トリクロロ酢酸水溶液で容積を調節します。
- 抽出物 5.0 mL をガラスチューブに移し、純水 5.0 mL を添加します。ボルテックスミキサーなどを使用し、内容物を完全に混合します。

チーズ、クリーム、チョコレートのサンプル:

- サンプル 2 ± 0.01 g を計量し、乳鉢内で海砂 8~12 g とともにすりつぶしたのち、50 mL 遠心分離チューブに移します。
- 使用した乳鉢を 5 % トリクロロ酢酸水溶液 5 mL で 3 回洗浄し、洗浄液を 50 mL 遠心分離チューブに移し、アセトニトリル 5 mL を添加します。
- 超音波分解などの手順は、先の手順で述べられているとおりに実施します。
- サンプルの脂肪分が多い場合は、SPE 精製を実施する前に、5 % トリクロロ酢酸水溶液とヘキサンを用いた液液抽出により脱脂します。

SPE 手順

メタノール 5 mL、その後水 6 mL により SPE カートリッジを
コンディショニング

コンディショニングしたカートリッジにサンプル抽出物をロード
水 5 mL、その後メタノール 5 mL によりカートリッジを洗浄

真空によりカートリッジを乾燥させ、
5 % アンモニアメタノール溶液 5 mL により溶出

約 50 °C の窒素流により、溶出物を蒸発させて乾燥させる

乾燥した抽出物を移動相 1.0 mL に溶解し、1 分間ボルテックスし、
0.2 μm 再生セルロースメンブランフィルタ (部品番号 5064-8222) で
ろ過してガラス製 LC バイアルに入れる

図 1. 乳製品中メラミンの SPE 概略

結果

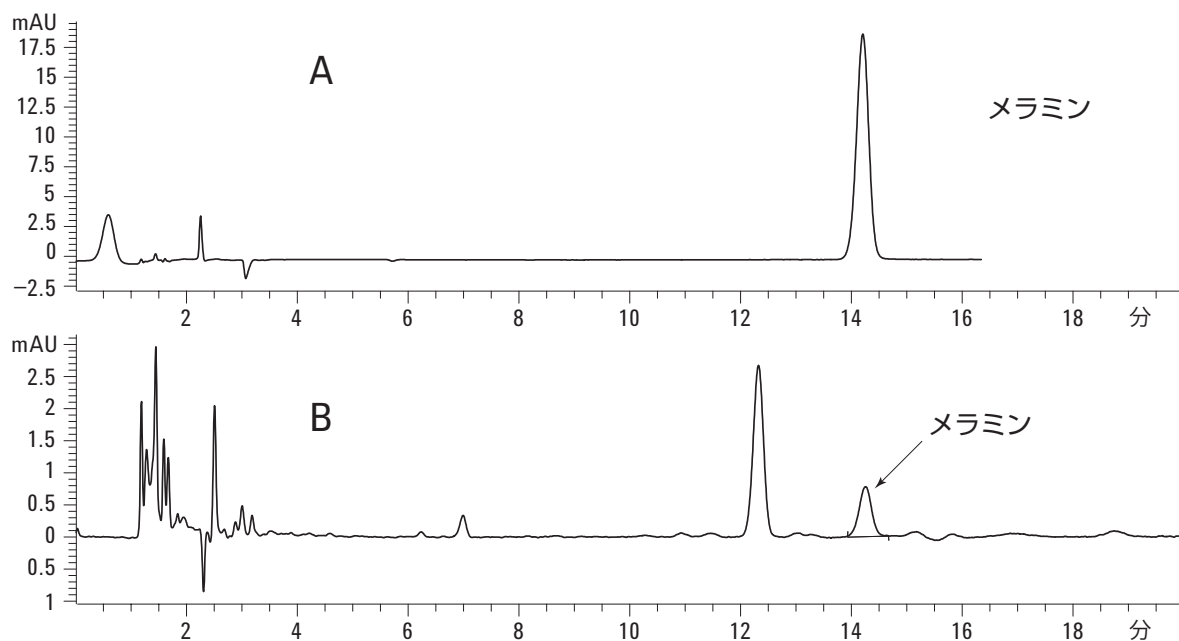


図 2. Bond Elut SCX SPE カートリッジで精製したあとの A: 20 µg/mL メラミン標準サンプル、B: ヨーグルトサンプルの分離。
メラミンのリテンションタイムは 14.2 分です。

注文情報

Agilent Bond Elut SCX SPE カートリッジ、
3 mL、60 mg、部品番号 5982-3236

Agilent Bond Elut SCX SPE カートリッジ、
6 mL、150 mg、部品番号 5982-3267

Agilent ZORBAX SB-C8 LC カラム (別名 Agilent ZORBAX Rx-C8)、
4.6 mm x 250 mm、5 µm、部品番号 880975-906

このアプリケーションノートの完全版をご覧になるには、www.agilent.com/chem で
5989-9949EN を検索してください。

抗生物質、ホルモンなどの化学物質による 食品汚染を防止する

ウィルス、バクテリア、原虫、菌類などが引き起こす動物の病気は、抗生物質により予防や治療が可能です。

しかし、微量の抗生物質 (または成長ホルモンなどのその他の薬剤) が牛乳や食肉、卵、魚、ハチミツなどに溶け出すと、撲滅したと考えられていた病原体の耐性菌の発生など、長期的に見て重大な影響を及ぼすおそれがあります。



Bond Elut OPT 固相抽出カートリッジと高速液体クロマトグラフィによる ヨーロッパナ (Carassius carassius) 中のホルモン類の分析 (文献番号 5990-3845JAJP)

はじめに

ホルモンは一般的な食品添加物ですが、長期間にわたって摂取すると、健康に害を及ぼすおそれがあります。多くの国の規制では、食品中のホルモン残留量の上限が明確に規定されています。固相抽出 (SPE) を組み合わせた高性能液体クロマトグラフィ (HPLC) を最適化し、フナ肉に含まれる 16 種類のホルモンを抽出および測定しました。

機器条件

HPLC 条件

カラム:	ZORBAX Eclipse Plus C18 250 mm x 4.6 mm, 5 µm		
流量:	1.0 mL/min		
注入量:	5 µL		
カラム温度:	18 °C		
検出波長:	230 nm		
移動相:	水/アセトニトリルのグラジエント		
	時間 (分)	% 水	% アセトニトリル
	0	70	30
	10	65	35
	23	50	50
	30	20	80

SPE 手順

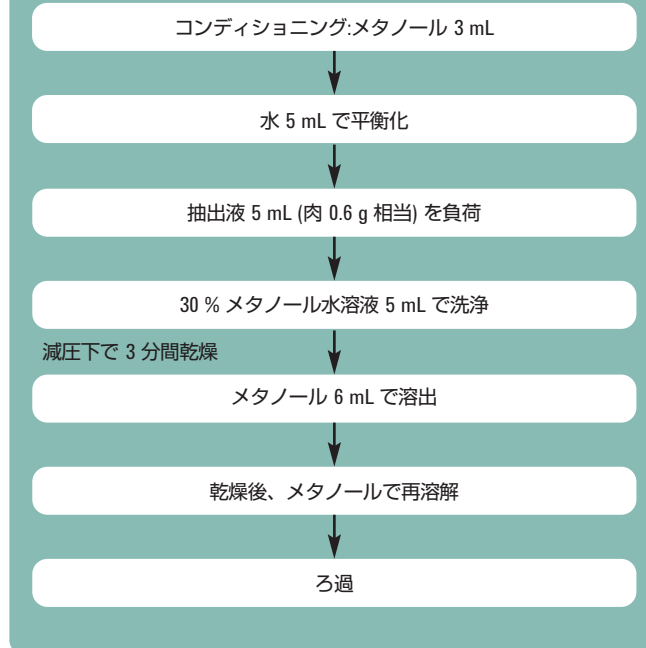


図 1. ヨーロッパナ肉に含まれるホルモンの SPE 手順

サンプル前処理

1. ヨーロッパナ肉 200 g をホモジナイズし、清浄な密封容器にて -18 °C で保管します。
2. ホモジナイズされたサンプル 1 g (0.01 g まで秤量) を 10 mL ポリプロピレン製遠心分離管に入れ、メタノール 5 mL を加えます。
3. 1 分間攪拌します。
4. 氷浴しながら 10 分間超音波抽出を行います。
5. サンプルを 4,000 rpm で 5 分間遠心分離し、上澄 3 mL を採取します。
6. 清浄な試験管に上澄を移し、40 °C 以下の温度で窒素ガスを吹き付けて溶媒を蒸発させます。
7. 残渣を、5% メタノール水溶液 5 mL で再溶解します。

結果

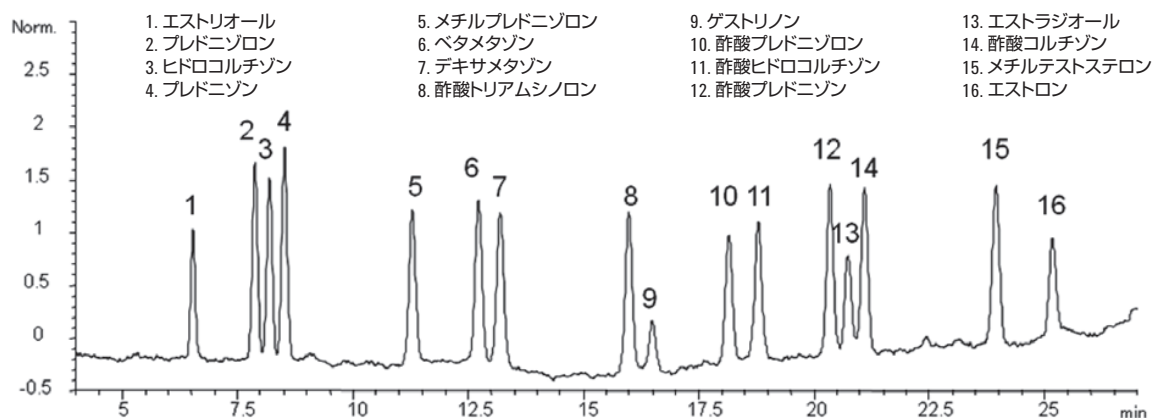


図 2. ヨーロッパパナ肉のホルモン標準液添加サンプル (2 mg/kg) のクロマトグラム

化合物名	スパイク添加レベル (mg/kg)	Recovery (%)	RSD (n = 6, %)
エストリオール	2	100.4	2.2
プレドニゾン	2	89.4	3.8
ヒドロコルチゾン	2	85.3	6.7
プレドニゾン	2	82.5	7.2
メチルプレドニゾン	2	83.2	8.3
ベタメタゾン	2	88.3	8.9
デキサメタゾン	2	79.1	4.3
酢酸トリアムシノロン	2	86.7	8.4
ゲストリノン	2	78.0	6.6
酢酸プレドニゾン	2	86.9	7.3
酢酸ヒドロコルチゾ	2	87.3	6.8
酢酸プレドニゾン	2	76.7	7.7
エストラジオール	2	78.7	4.2
酢酸コルチゾン	2	82.8	6.9
メチルテストステロン	2	82.9	3.4
エストロン	2	76.2	6.4

表 1. ヨーロッパパナ肉に含まれるホルモン類の SPE による回収率および相対標準偏差

注文情報

Agilent OPT ポリマーボックス、30 x 6 mL チューブ、150 mg、
部品番号 5982-3067

Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 LC カラム、250 mm x 4.6 mm、
5 μm、部品番号 959990-902

Agilent PTFE 0.45 μm プレミアムシリンジフィルタ、
部品番号 5185-5836

このアプリケーションノートの完全版をご覧になるには、www.agilent.com/chem/jp で
5990-3845JAJP を検索してください。

固相抽出と高性能液体クロマトグラフィによる 鶏肉中テトラサイクリンの測定 (文献番号 5989-9735EN)

はじめに

鶏肉中に含まれる 7 種類の抗生物質残留物 (ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、テトラサイクリン、デメクロサイクリン、クロルテトラサイクリン、メタサイクリン、ドキシサイクリン) の同時測定メソッドを開発しました。このメソッドでは、中国規制当局のメソッドに準じた固相抽出 (SPE) と HPLC/UV を使用しています。

機器条件

HPLC 条件

カラム: Agilent ZORBAX SB-C8 LC カラム、250 mm x 4.6 mm、5 μm (部品番号 880975-906)

流量: 1.5 mL/min

カラム温度: 30 °C

注入量: 100 μL

検出器波長: 350 nm

移動相: メタノール-アセトニトリル-10 mM TFA 溶液、グラジエント溶出

時間 (分)	% メタノール	% アセトニトリル	% 10 mM TFA
0	1	4	95
7.5	6	24	70
13.5	7	28	65
15	1	4	95

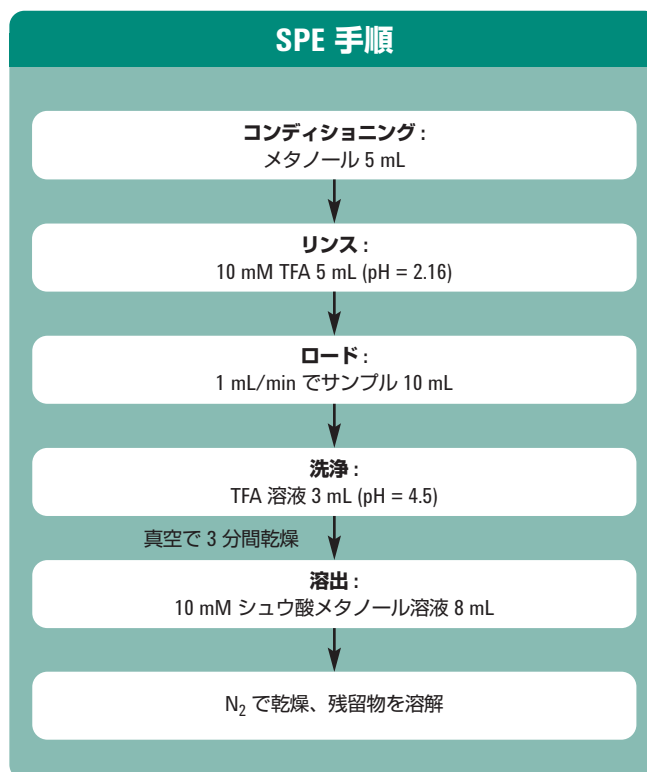


図 1. テトラサイクリンの SPE 手順

結果

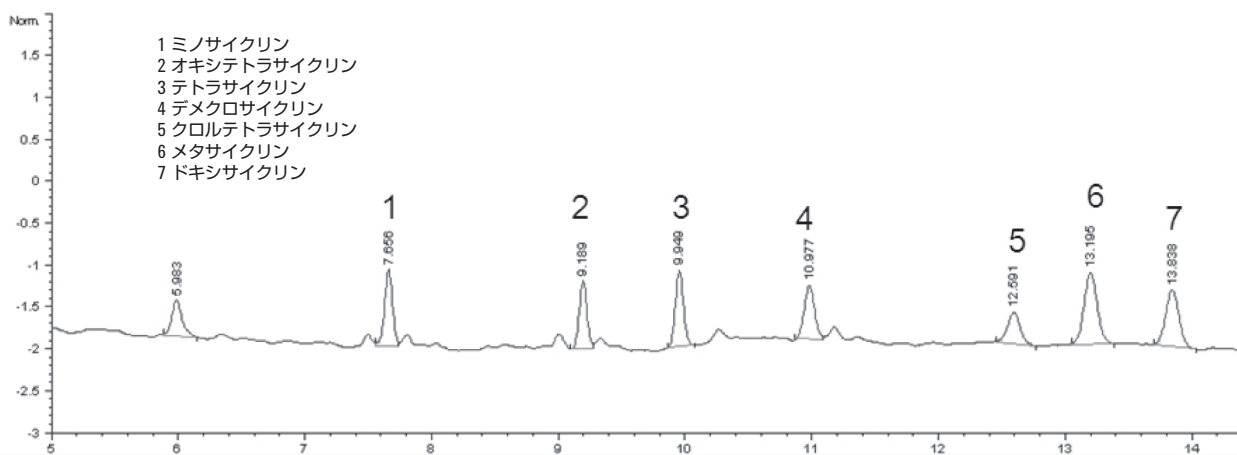


図 2. 50 µg/kg で添加した鶏肉サンプルのクロマトグラム

化合物	添加量 (µg/kg)	回収率 (%)	RSD (%)
ミノサイクリン	50	87.6	4.13
	100	80.8	5.68
	200	81.3	4.19
オキシテトラサイクリン	50	68.8	6.49
	100	63.0	4.87
	200	59.4	4.35
テトラサイクリン	50	81.0	4.46
	100	70.0	3.47
	200	72.3	4.38
デメクロサイクリン	50	92.0	2.06
	100	94.8	3.78
	200	92.9	1.92
クロルテトラサイクリン	50	93.3	3.16
	100	92.4	4.01
	200	87.7	2.54
タサイクリン	50	93.3	2.89
	100	91.9	2.51
	200	86.6	3.39
ドキシサイクリン	50	95.6	4.38
	100	96.4	1.00
	200	92.0	3.02

表 1. SPE を行った鶏肉中テトラサイクリンの回収率と RSD

注文情報

Agilent Bond Elut OPT SPE カートリッジ、60 mg 3 mL、
部品番号 5982-3036

Agilent ZORBAX SB-C8 LC カラム、250 mm x 4.6 mm、5 µm、
部品番号 880975-906

このアプリケーションノートの完全版をご覧になるには、www.agilent.com/chem で
5989-9735EN を検索してください。

固相抽出および液体クロマトグラフィ/ タンデム質量分析 (LC/MS/MS) 法による牛乳中の含有サルファ剤の定量 (文献番号 5990-3713JAJP)

はじめに

Agilent Bond Elut 高分子強カチオン交換樹脂 (SCX) カートリッジを使用して、牛乳サンプルに含まれる 9 種類の微量な含窒素サルファ剤 (スルファメトキサゾール、スルファジアジン、スルファチアゾール、スルファメラジン、スルファメチゾール、スルファメタジン、スルファメトキシピリダジン、スルファクロロピリダジン、およびスルファジメトキシシン) の固相抽出法を検討しました。サルファ剤の分離および定量には Agilent 6410 トリプル四重極 LC/MS システムを使用しました。逆相クロマトグラフィには、0.1 % のギ酸 / アセトニトリル溶液グラジエントで Agilent ZORBAX Eclipse Plus カラム (C18、3.0 mm x 50 mm、1.8 μm) を使用しました。

サンプル前処理

全乳 1 mL ごとに 20 μL の 45 % ギ酸水溶液 (10 mL の 90 % ギ酸溶液と 10 mL の水を混ぜて調製した水溶液) を加えてタンパク質と脂質を沈殿させました。その後、牛乳サンプルを遠心分離器 (Eppendorf 5810R 15 amp、ニューヨーク州ウェストバリー) にかけて 8000 rpm で 10 分間遠心分離しました。遠心分離は、3500 rpm で 20 分間でも構いません。上澄み液 (調製全乳抽出液) の一定量を採取して Bond Elut SCX カートリッジに負荷しました。

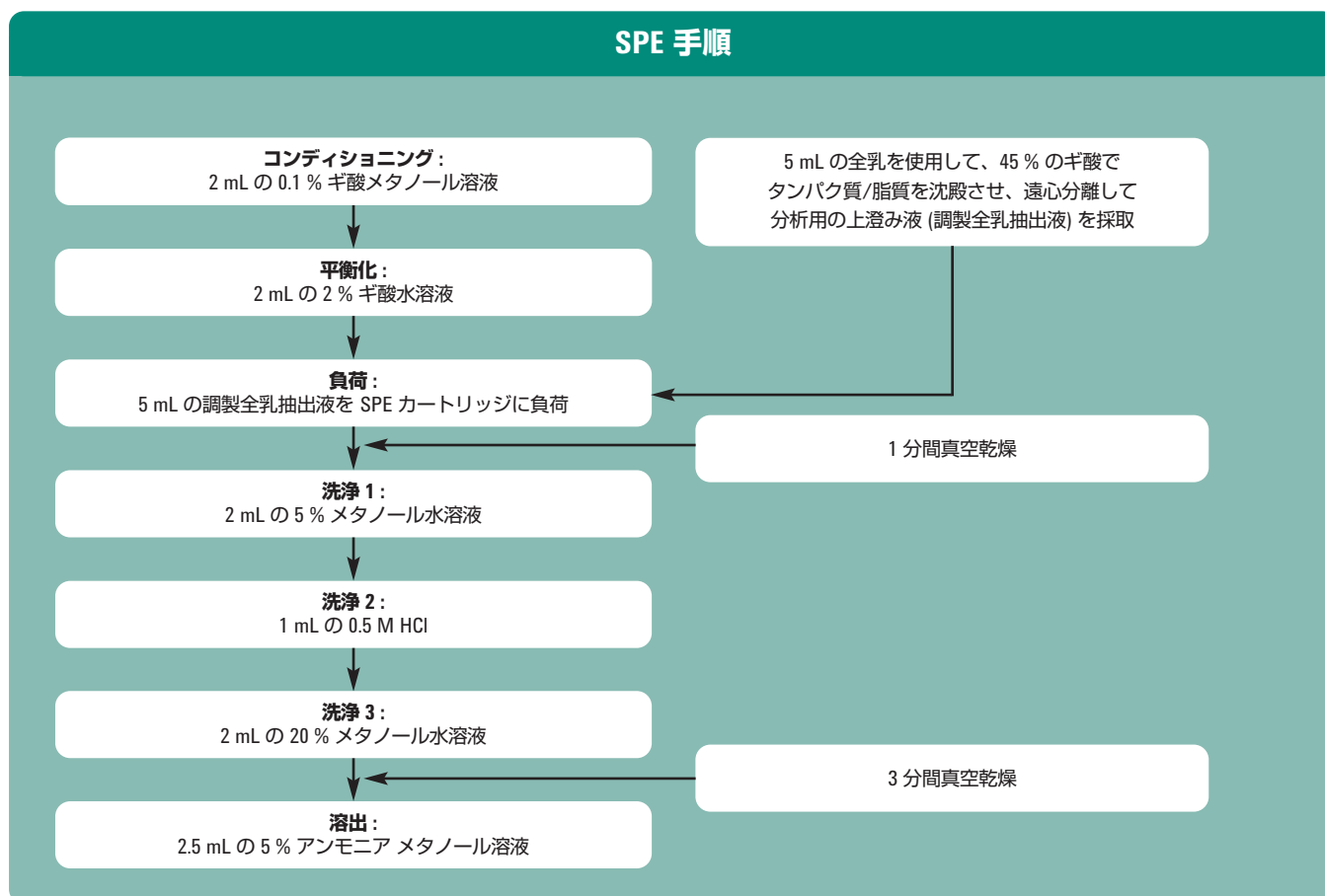


図 1. 固相抽出の手順

機器条件

HPLC の設定

カラム:	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 3.0 x 50 mm, 1.8 μm (部品番号 959941-302)		
流量:	0.42 mL/min		
カラム温度:	35 °C		
注入量:	1.7 μL + ニードル洗浄 (MeOH/H ₂ O (混合比 5:1) を 用いてフラッシュポートで 30 秒間洗浄)		
移動相:	A: H ₂ O/アセトニトリル混合液 (混合比 9:1) + 0.1% のギ酸 B: 0.1% のギ酸アセトニトリル溶液		
分析時間:	8 min		
ポストタイム:	3 min		
グラジエント:	時間	0	3.5
	% B	0	65

エレクトロスプレーイオン源に関する条件

ガス温度:	350 °C
ガス流量:	12 L/min
噴霧器:	40 psi
キャピラリ:	4000 V

結果

化合物名	牛乳中添加濃度レベル (ng/mL)	回収率	相対標準偏差 (%)
スルファジアジン	5	74.2	8.3
	10	99.7	5.7
スルファチアゾール	5	76.8	4.4
	10	83.2	4.7
スルファメラジン	5	73.2	6.3
	10	84.8	0.6
スルファメタジン	5	78.3	7.5
	10	89.0	3.1
スルファメチゾール	5	78.4	7.0
	10	94.5	5.3
スルファメトキシピリダジン	5	76.3	6.2
	10	86.9	2.2
スルファクロロピリダジン	5	78.3	9.4
	10	84.3	6.0
スルファメトキサゾール	5	74.0	4.3
	10	87.7	6.4
スルファジメトキシシン	5	75.4	3.1
	10	82.5	5.4

表 1. 本研究で使用した各サルファ剤の回収率と正確さ

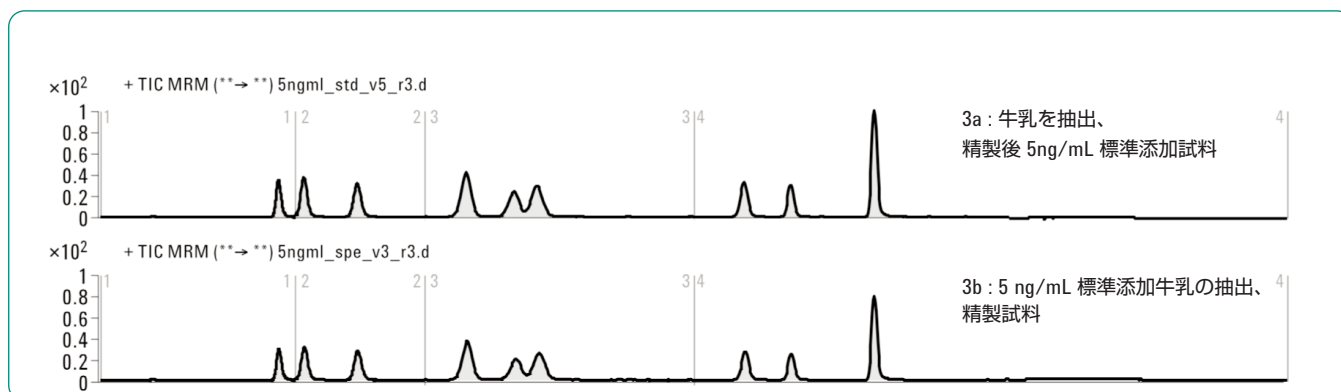


図 2. 標準添加牛乳抽出液及び牛乳ブランク抽出液のトータルイオンクロマトグラム。(3a) 牛乳ブランク抽出、SPE精製液に 5ng/mL 相当の標準を添加した試料 (3b) 5 ng/mL 相当の標準を添加した牛乳抽出、SPE 精製試料

注文情報

Agilent Bond Elut SCXポリマー SPE カートリッジ、60 mg、
3 mL、部品番号 5982-3236

Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 LC カラム、3.0 mm x 50 mm、
1.8 μm、部品番号 959941-302

このアプリケーションノートの完全版をご覧になるには、www.agilent.com/chem/jp で
5990-3713JAJP を検索してください。

Agilent Bond Elut OPT 固相抽出カートリッジと液体クロマトグラフィ/ タンデム四重極質量分析によるハチミツ中クロラムフェニコール、 フロルフェニコール、チアンフェニコールの測定 (文献番号 5990-3615JAJP)

はじめに

ハチミツに含まれる 3 種類の残留抗生物質、クロラムフェニコール (CAP)、フロルフェニコール (FF)、チアンフェニコール (TAP) を同時に測定するメソッドを開発し、有効性を確認しました。液液抽出と固相抽出 (SPE) により分析化合物を精製し、ネガティブイオンマルチプルリアクションモニタリング (MRM) モードのエレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析と組み合わせた液体クロマトグラフィ (LC-ESI-MS/MS) により定量しました。内部標準としてクロラムフェニコール-D₅ を使用しました。再現性、性能の十分性、定量結果により、メソッドの有効性が実証されています。

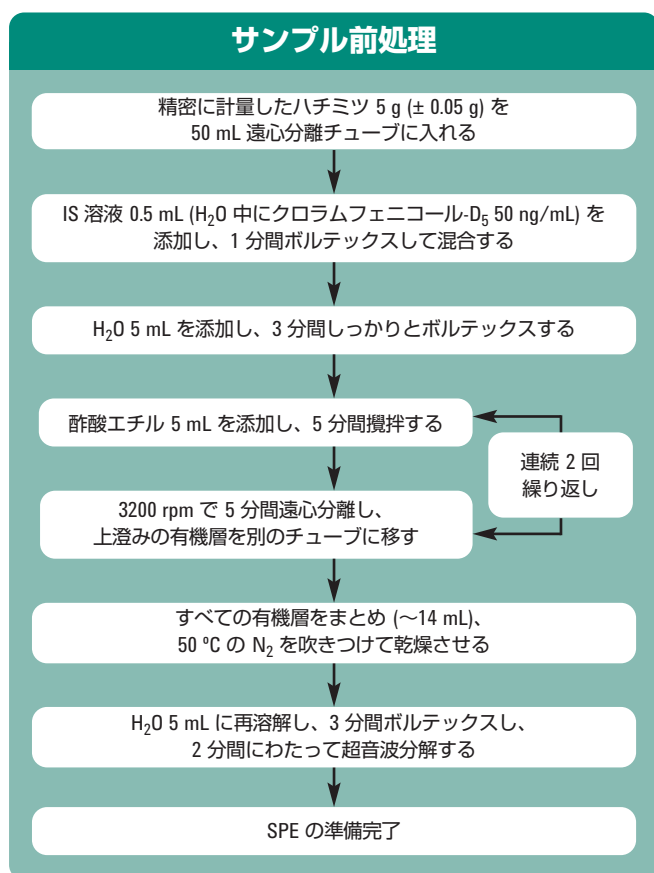


図 1. サンプル前処理—ハチミツ中フェニコールの液液抽出

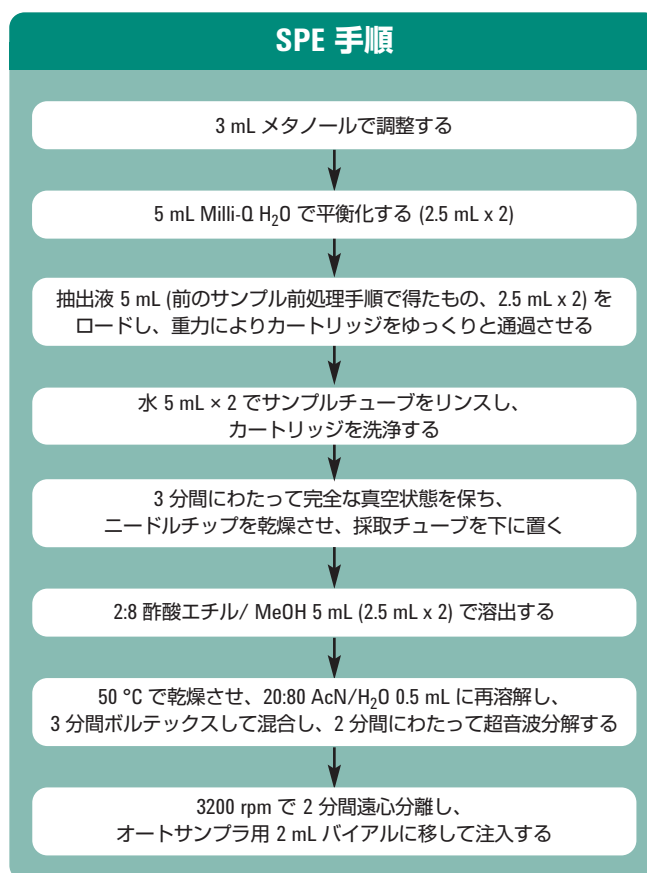


図 2. サンプル精製— Bond Elut 固相抽出

機器条件

HPLC 条件		グラジエント:	時間	アセトニトリル %	流量 (mL/min)
カラム:	Agilent ZORBAX Eclipse Plus 150 mm x 2.1 mm, 5 μm (PN : 959701-906)		0	20	0.3
流量:	0.3 mL/min		0.5	20	0.3
カラム温度:	30 °C		6.0	80	0.3
注入量:	20 μL		6.01	100	0.5
移動相:	0.05 % NH ₄ OH 水溶液で pH 8.5 に調整した H ₂ O (A)、アセトニトリル (B)		6.50	100	0.5
			6.51	20	0.3
			7.00	STOP	

結果

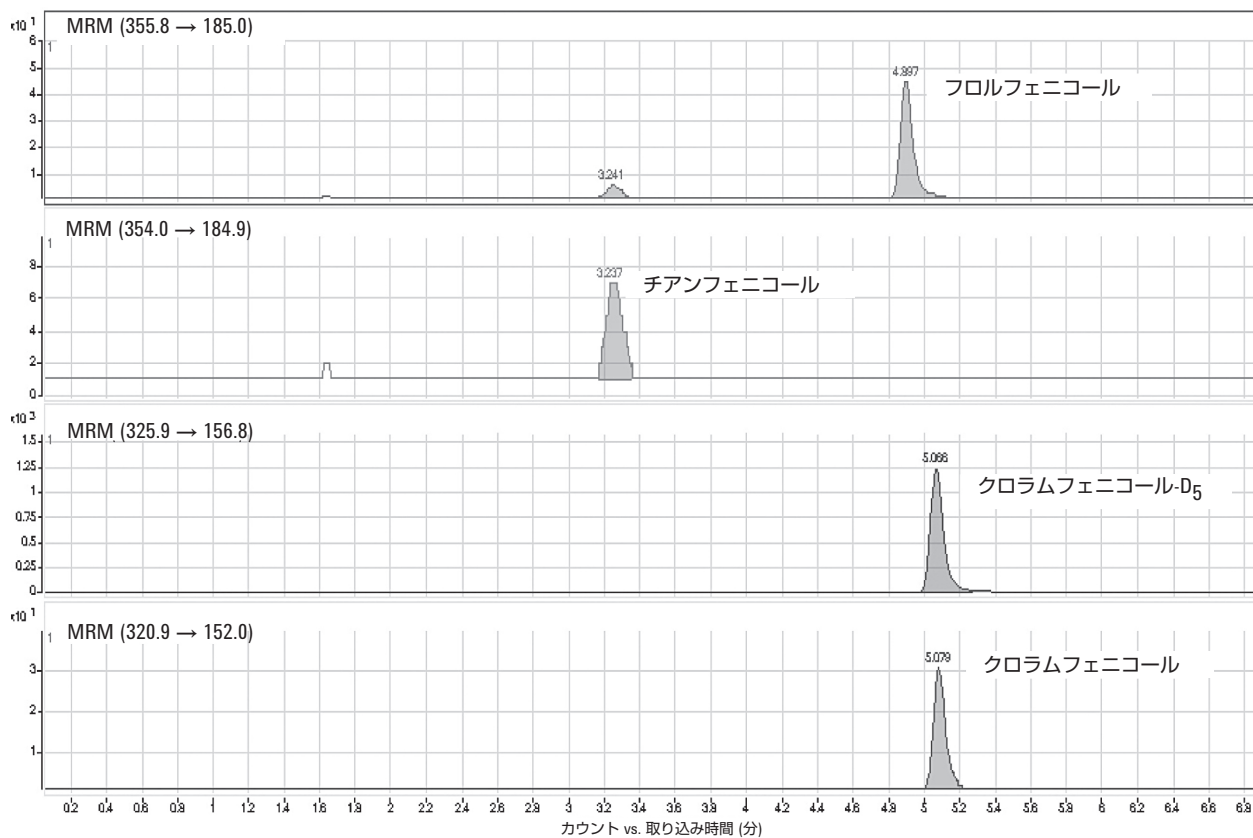


図 3. 強化ハチミツ抽出液 0.2 ng/g のクロマトグラム

化合物	添加濃度 (ng/ ハチミツ1 g)	回収率 (%)	RSD (%) n = 6
クロラムフェニコール	0.10	96.94	3.51
	5.00	98.88	0.87
	20.00	107.32	0.46
フロルフェニコール	0.10	100.67	9.77
	5.00	100.28	2.84
	20.00	107.49	2.55
チアンフェニコール	1.00	76.00	4.39*
	5.00	74.89	2.34
	20.00	89.81	3.83

* 4 回繰り返し分析

表 1. 強化ハチミツ中フェニコールの回収率と再現性

注文情報

Agilent Bond Elut OPT ポリマー SPE カートリッジ、
60 mg、3 mL、部品番号 5982-3036

Agilent ZORBAX Eclipse Plus LC カラム、
150 mm x 2.1 mm、5 μm、部品番号 959701-906

このアプリケーションノートの完全版をご覧になるには、www.agilent.com/chem/jp で
5990-3615JAJP を検索してください。

高性能液体クロマトグラフィ (HPLC/UV) と HPLC/MS/MS による 食肉中ペニシリンの測定 (文献番号 5990-3364EN)

はじめに

ペニシリンは、動物の疾患治療に広く用いられている抗生物質です。このメソッドでは、逆相カラム Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 (100 mm x 2.1 mm, 3.5 μm) と Agilent 混合モードポリマー固相抽出カートリッジ (Agilent Bond Elut OPT) を組み合わせ、残留ペニシリン分析のトータルソリューションを実現しています。微量残留物における固相抽出手順の性能を、HPLC/MS/MS により定量的に評価しました。

機器条件

HPLC 条件

カラム:	Agilent ZORBAX Eclipse Plus LC カラム、 2.1 mm x 100 mm, 3.5 μm (部品番号 959793-902)	
流量:	0.6 mL/min	
移動相:	A: 水/10 mM 酢酸アンモニウム B: アセトニトリル	
分析時間:	12 分	
ポストラン:	3 分	
温度:	30 °C	
注入量:	10 μL	
グラジエント:	時間	% B
	0	2
	1.2	2
	2.0	10
	6.0	30
	8.0	40
	8.5	80
	11.9	80
	12.0	2

SPE 手順

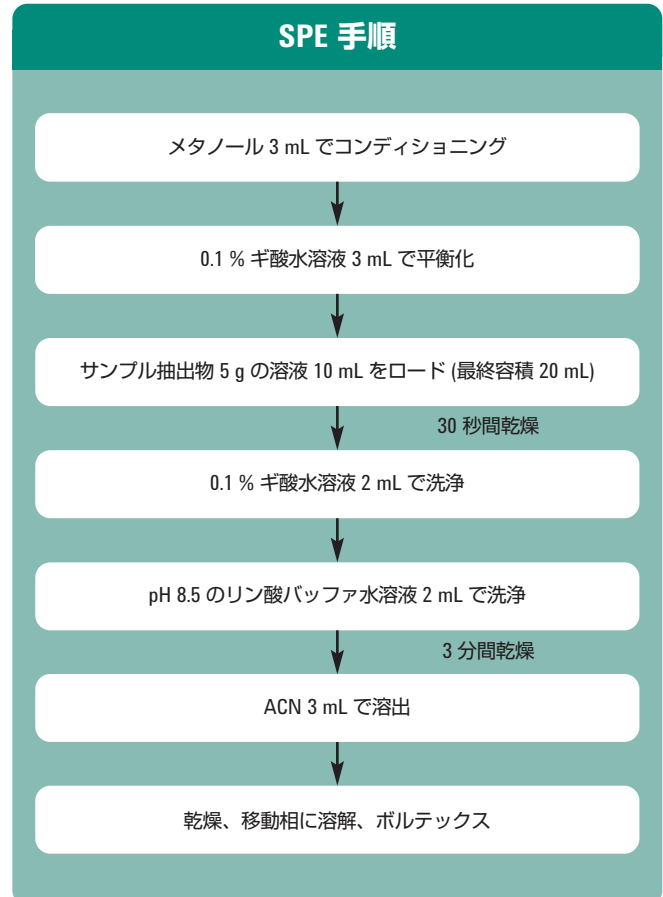


図 1. 豚肉中ペニシリンの Agilent Bond Elut OPT 固相抽出

結果

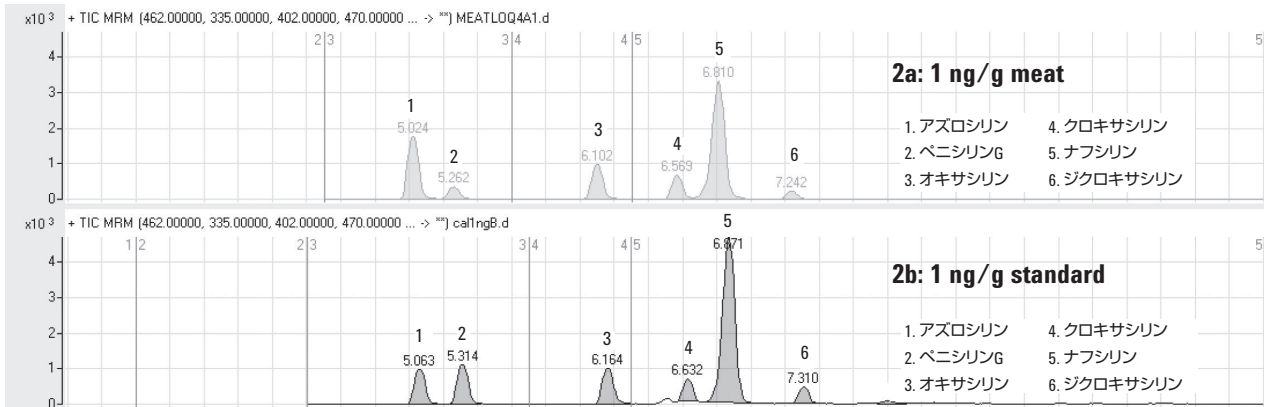


図 2. 抽出および SPE 精製により得られた 1 ng/g 添加食肉 (2a)、抽出および精製後に 1 ng/g を添加した食肉 (2b)

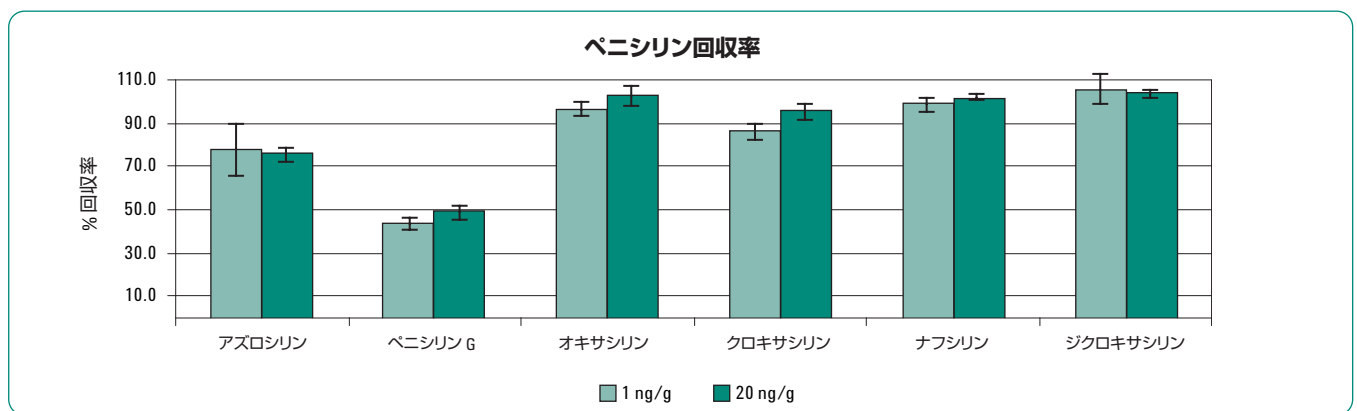


図 3. 1.0 および 20 ng/g の食肉抽出物の回収率データ

注文情報

Agilent Bond Elut OPT ポリマー SPE、150 mg、6 mL
部品番号 5982-3067

Agilent シリンジフィルタ、13 mm、45 µm PTFE
部品番号 5185-5836

Agilent ZORBAX Eclipse Plus LC カラム、2.1 mm x 100 mm、3.5 µm
部品番号 959793-902

このアプリケーションノートの完全版をご覧になるには、www.agilent.com/chem で 5990-3364EN を検索してください。

高速液体クロマトグラフィ/タンデム質量分析(LC/MS/MS)による 牛乳中のテトラサイクリン系抗生物質とその代謝物の定量 (文献番号 5990-3816JAJP)

はじめに

牛乳および動物組織中に残留したテトラサイクリン系抗生物質を同時に定量する高速液体クロマトグラフィ/タンデム質量分析 (HPLC/MS/MS) メソッドを開発しました。定量の対象となる抗生物質は、ミノサイクリン、4 エピオキシテトラサイクリン、4 エピテトラサイクリン、テトラサイクリン、4 エピクロルテトラサイクリン、デメクロサイクリン、クロルテトラサイクリン、メタサイクリン、ドキシサイクリン、オキシテトラサイクリンの 10 種類です。このメソッドでは、精製および分離にアジレントの新しい固相抽出カートリッジと Agilent ZORBAX RX C8 逆相カラム (5 μm 、150 mm \times 2.1 mm) を使用しました。全体の回収率は 76.4 %~101 % の範囲になり、相対標準偏差 (RSD、n = 6) は 8.4 % 未満でした。

機器条件

HPLC システム

カラム: ZORBAX RX-C8、2.1 mm \times 150 mm、5 μm
(部品番号 883700-906)
流量: 0.3 mL/min
移動相: A: 0.1 % のギ酸水溶液 B: メタノール
グラジエント: 0~10 min、移動相 B、5%~30 %
10~12 min、移動相 B、30%~40 %
12.5~18 min、移動相 B、65 %
18.5~25 min、移動相 B、95 %
25.5 min、移動相 B、5.0 %
トータル分析時間: 28 min
ポストタイム: 5 min
温度: 30 $^{\circ}\text{C}$
注入量: 5 μL

MS のイオン源設定

イオン源: ESI
極性: ポジティブ
乾燥ガス温度: 350 $^{\circ}\text{C}$
乾燥ガス流量: 10 L/min
ネブライザー: 45 psi
キャピラリー電圧: 4000V

化合物名	フラグメント 電圧	プリカーサ イオン	プロダクト イオン	CE	リテンション タイム (分)
ミノサイクリン	120	458	352 441	35 20	8.58
4 エピテトラ サイクリン	120	445	410 427	20 10	8.60
4 エピオキシテトラ サイクリン	120	461	426 444	20 15	9.47
テトラサイクリン	120	445	410 427	20 15	9.90
オキシテトラ サイクリン	120	461	426 443	20 10	9.95
デメチルクロ サイクリン	120	465	430 448	25 15	11.25
4 エピクロルテトラ サイクリン	120	479	444 462	22 15	11.59
クロルテトラ サイクリン	120	479	444 462	22 15	12.95
メタサイクリン	120	443	381 426	25 15	13.98
ドキシサイクリン	120	445	154 428	30 15	14.08

SPE 手順

抽出手順:

牛乳サンプルを (0.01 g の精度で計量) 5 g 計量して 50-mL の比色管に移し、0.1 mol/L の Na_2EDTA Mcllvaine 緩衝液で希釈して 50 mL の量にします。

1 分間攪拌し、氷を入れた水槽の中で抽出液を 10 分間超音波振盪器にかけます。

サンプルを 50 mL のポリプロピレン遠心分離管に移し、0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ まで冷却します。

サンプルを 5000 rpm の速度で 10 分間 (15 $^{\circ}\text{C}$ 未満の温度で) 遠心分離します。

ろ過します。

精製手順:

抽出液を 10 mL (サンプル 1 g に相当する量) を正確に計り、Bond Elut OPT カートリッジ (部品番号 5982-3036) に毎秒 1 滴の速度で注入 (滴下) します

サンプルを完全に溶出させたのち、トリフルオロ酢酸で pH4.5 に調整した 3 mL の水でカートリッジを洗浄してから溶出物をすべて破棄します。

2.0 kPa 未満の陰圧でカートリッジを 5 分間乾かします。

シュウ酸 10 mmol を含んだメタノール溶液 10 mL で溶出します。

溶出液を捕集し、40 $^{\circ}\text{C}$ 未満の窒素で乾固します。

乾燥後の残さを 1.0 mL の初期移動相で溶解します。

0.45 μm のフィルタでろ過したものをカラムに注入します。

図 1. 牛乳中のテトラサイクリン系抗生物質の Agilent Bond Elut OPT 固相抽出

結果

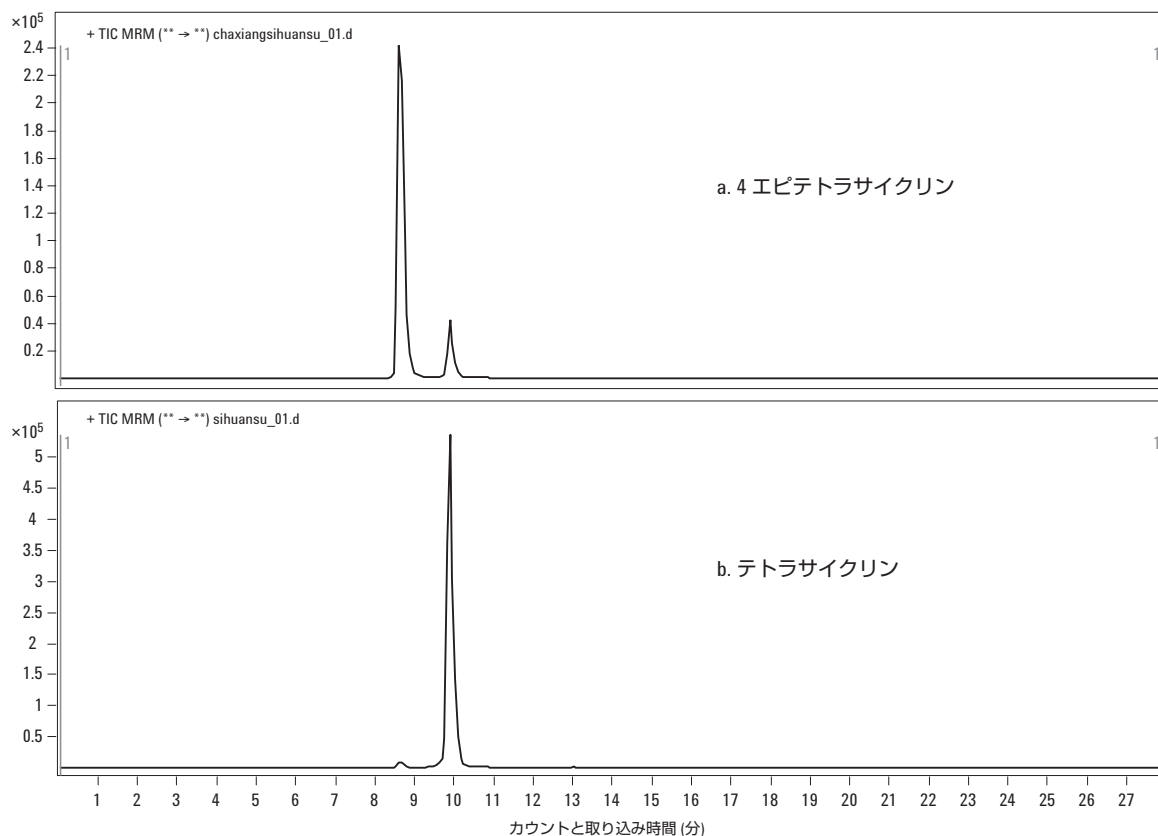


図 2. テトラサイクリンとその劣化物 (4 エピテトラサイクリン) との分離

化合物名	牛乳マトリックスでの回収率			牛乳マトリックスでの回収率		
	(濃度 50 ppbn=6)	RSD % (シグナルレスポンス n=6)	RSD % (イオン比 n=6)	(濃度 100 ppbn=6)	RSD % (シグナルレスポンス n=6)	RSD % (イオン比 n=6)
ミノサイクリン	96.5	4.9	2.1	101.4	1.6	1.0
4 エピテトラサイクリン	89.2	3.8	1.5	96.3	1.6	0.9
4 エピテトラサイクリン	84.4	5.4	1.3	88.2	0.9	0.6
テトラサイクリン	86.1	2.5	1.2	90.7	1.1	1.2
オキシテトラサイクリン	77.6	3.8	1.6	82.5	1.2	0.9
デメチルクロサイクリン	79.2	2.0	3.1	84.7	0.9	0.6
4 エピクロルテトラサイクリン	76.4	5.5	5.4	84.3	1.1	0.5
クロルテトラサイクリン	94.3	4.5	1.5	100.9	1.8	1.1
メタサイクリン	86.3	1.0	1.9	91.2	1.2	0.8
ドキシサイクリン	78.7	3.6	6.7	82.4	1.0	0.8

表 1. 牛乳マトリックスでの回収率と再現性

注文情報

Agilent Bond Elut OPT ポリマー SPE カートリッジ、60 mg、3 mL、部品番号 5982-3036

Agilent ZORBAX Rx-C8 LC カラム、2.1 mm x 150 mm、5 μ m、部品番号 883700-906

このアプリケーションノートの完全版をご覧になるには、www.agilent.com/chem/jp で 5990-3816JAJP を検索してください。

Agilent Bond Elut OPT 固相抽出カートリッジおよび 液体クロマトグラフィ/タンデム質量分析 (LC/MS/MS) による 豚肉に含まれる 2 刺激薬の定量 (文献番号 5990-4180JAJP)

はじめに

豚肉中の 4 種類の b2 刺激薬残留物、テルブタリン、サルブタモール、クレンブテロール、およびホルモテロールを同時定量するためのメソッドを開発および検証しました。分析対象物を液液抽出 (LLE) および固相抽出 (SPE) で精製し、ポジティブイオンマルチプルリアクションモニタリング (MRM) モードで操作するエレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析 (LC-ESI-MS/MS) と組み合わせた液体クロマトグラフィにより定量しました。

機器条件

HPLC 条件

カラム:	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18、 2.1 mm x 50 mm、1.8 μm (部品番号 959741-902)		
流量:	0.4 mL/min		
カラム温度:	40 °C		
注入量:	5 μL		
移動相:	水 (0.1 % FA + 2 mM NH ₄ Ac、A)、 アセトニトリル (0.1 % FA、B)		
グラジエント:	時間 (分)	% A	% B
	0	90	10
	0.5	90	10
	1.8	20	80
	2	90	10
	3.5	90	10

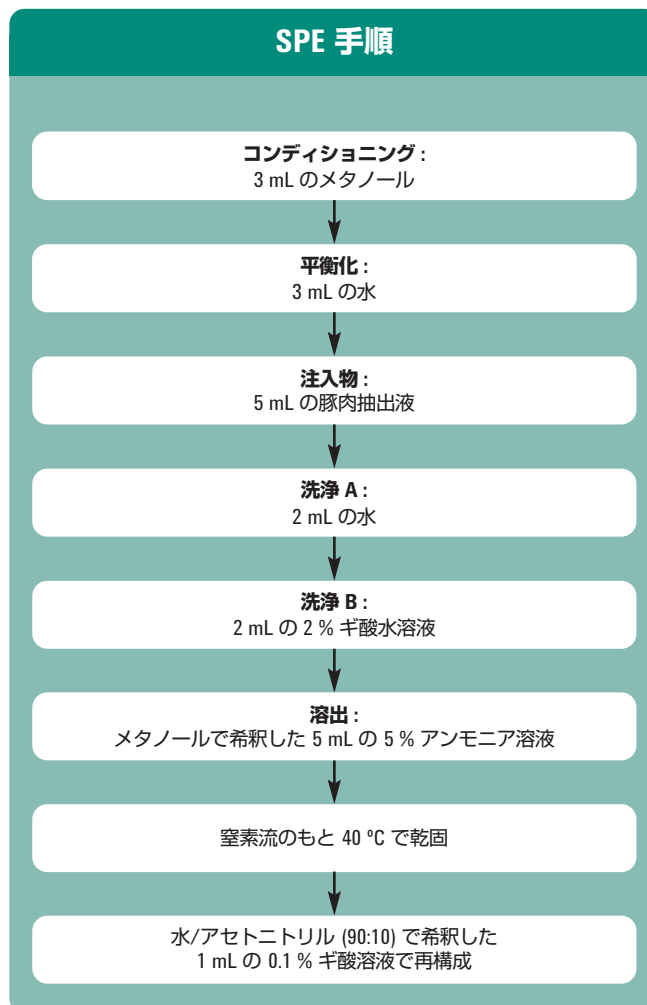


図 1. 豚肉のクリーンアップおよび濃縮 - SPE 手順。

結果

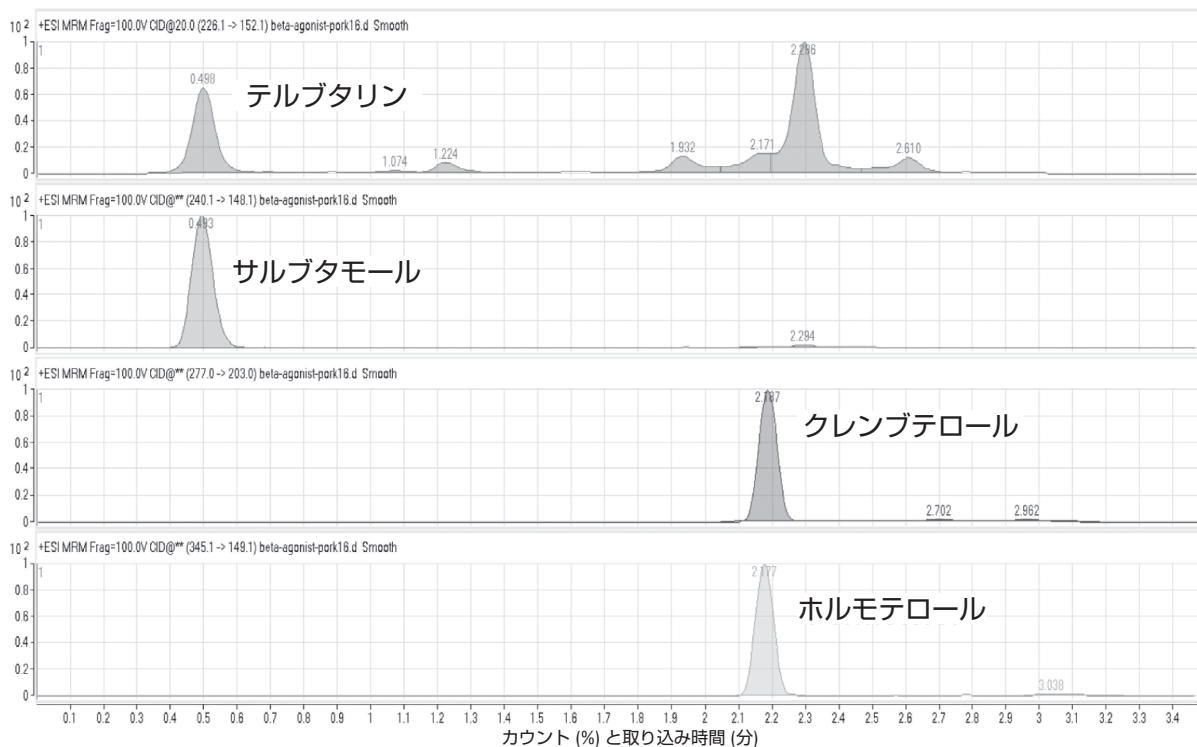


図 2. スパイクした豚肉サンプル抽出液 1.0 ng/g のクロマトグラム。

化合物名	スパイク添加レベル (ng/g pork)	回収率 (%)	RSD (n=6)
テルブタリン	0.5	88.7	5.4
	1	98.0	7.2
	2	100.8	5.9
サルブタモール	0.5	100.6	1.8
	1	92.9	2.1
	2	97.4	3.9
クレンブテロール	0.5	82.3	5.0
	1	91.5	6.3
	2	90.6	4.3
ホルモテロール	0.5	85.1	1.9
	1	83.0	4.0
	2	77.9	2.5

表 1. SPE を用いた Agilent Bond Elut OPT (部品番号 5982-3236) による豚肉に含まれる b2 刺激薬の回収率および再現性、平均回収率 90 % および平均 RSD 4.4 %

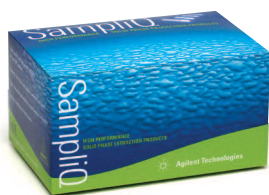
注文情報

Agilent Bond Elut OPT ポリマーカートリッジ、50 x 3 mL チューブ、60 mg、部品番号 5982-3036

Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 LC カラム、50 mm x 2.1 mm、1.8 μm、部品番号 959741-906

このアプリケーションノートの完全版をご覧になるには、www.agilent.com/chem/jp で 5990-4180JAJP を検索してください。

シンプルなサンプル前処理で高品質の結果を実現できる Agilent Bond Elut QuEChERS キット



Agilent Bond Elut QuEChERS キットは、QuEChERS 手法を用いた時間の節約と効率の向上を容易にするキットです。他の QuEChERS 抽出キットとは異なり、Bond Elut の塩とバッファは、防湿パックに充填されているため、標準的な QuEChERS 手順で規定されているとおり、溶媒のあとにサンプルに添加することができます。

QuEChERS キットは、アジレントの Bond Elut SPE 製品の 1 つです。米国で厳密な ISO-9001 基準に沿って製造されている Bond Elut SPE 製品は、クロマトグラフィ機器やカラム、補用品の業界最大手メーカーであるアジレントならではの品質と性能を備えています。詳細については、www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

QuEChERS 標準実施要領のライブデモを www.agilent.com/chem/quechersdemo でご覧いただけます。

食品分析についてはホームページでもご紹介しています。

Agilent Bond Elut SPE 製品 :

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2012

Printed in Japan May 14, 2012

5990-4917JAJP



Agilent Technologies