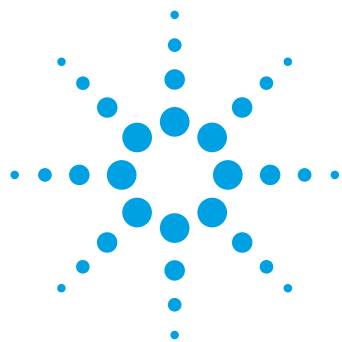




食品分析の課題に対するソリューション

Agilent Bond Elut QuEChERS
食品安全アプリケーションノートブック
第2巻





目次

	ページ
■ QuEChERS	
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
QuEChERS とは？	4
QuEChERS に推奨する Agilent Bond Elut 標準作業手順	5
■ オリジナル QuEChERS メソッド	
Agilent Bond Elut QuEChERS キットを用いて前処理を行った リンゴ中の残留農薬の GC/MS 分析 (文献番号 5990-4468EN)	7
■ EN メソッド	
Agilent Bond Elut QuEChERS EN キットを用いた LC/MS/MS 検出によるリンゴ中残留農薬の分析 (文献番号 5990-3938EN)	10
Agilent Bond Elut QuEChERS EN キットを使用した GC/MS による リンゴ中の残留農薬分析 (文献番号 5990-4073JAJP)	13
Agilent Bond Elut QuEChERS EN キットを使用した LC/MS/MS によるハウレン草中の残留農薬分析 (文献番号 5990-4395JAJP)	16
■ AOAC メソッド	
Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC キットを用いた LC/MS/MS 検出によるリンゴ中残留農薬の分析 (文献番号 5990-3937EN)	19
Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC キットを使用した GC/MS による リンゴ中の残留農薬分析 (文献番号 5990-4068JAJP)	21
Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC キットを使用した GC/MS による ハウレン草中の残留農薬分析 (文献番号 5990-4305JAJP)	23
Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC キットを使用した LC/MS/MS 検出によるハウレン草中の残留農薬分析 (文献番号 5990-4248JAJP)	26
グラファイトカーボンを含む Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC キット およびトルエンを用いたハウレン草中の平面構造を持つ農薬回収率の最適化 (文献番号 5990-4247JAJP)	29
■ その他の食品メソッド	
Agilent Bond Elut QuEChERS キットを用いた ウシ肝臓中残留キノロンの LC/MS/MS 分析 (文献番号 5990-4974EN)	32
Agilent Bond Elut QuEChERS EN キットを用いた ウシ肝臓中残留スルホンアミドの LC/MS/MS 分析 (文献番号 5990-4975EN)	34



信頼性の高いサンプル前処理による 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 QuEChERS および SPE 製品： 食品安全分析の第一歩

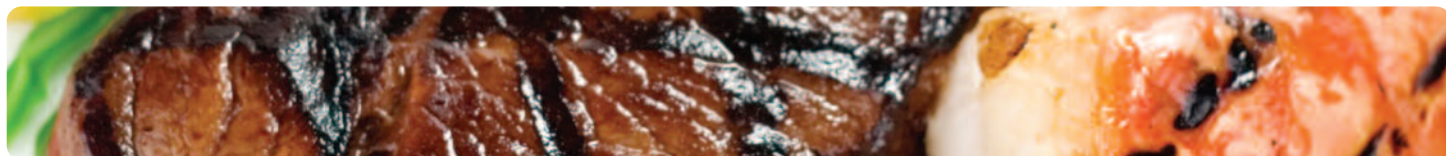
高品質の Agilent Bond Elut SPE 製品は、複雑なマトリクスから確実にサンプルを抽出および濃縮し、分析のはじめの一歩から、迅速で正確、かつ再現性の高い結果を約束します。Bond Elut 製品ファミリーは、以下の製品で構成されています：

- **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。
- **あらかじめパッケージされた抽出および分散 SPE キット**は、各種の食品タイプやスクリーニングプロトコルに応じて構成されているため、推測や計量作業は不要です。
- **抽出塩**はあらかじめ測定され、便利な防湿バケットに密封されているため、必要な時にタイミングよく添加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



QuEChERS とは？

米国農務省 (USDA) が 2003 年に開発した QuEChERS (「キャッチャーズ」と発音) は、食品サンプルの前処理のためのメソッドで、このメソッドの特長を示す Quick Easy (簡単で高速)、Cheap (低価格)、Effective (効果的)、Rugged (堅牢)、Safe (安全) の頭文字から名づけられています。最小限のステップで構成されるきわめて簡単なテクニックで、複雑なサンプルを効果的に精製することができます。

QuEChERS は、果実や野菜に含まれるさまざまな残留農薬の分析用に開発されたテクニックですが、最近では、食肉や魚など、植物以外の食品に含まれる微量汚染物質にまで対象が広がっています。各種の果実や野菜、食肉、豆類やナッツなどの堅果類の乾燥食材に含まれる多くの農薬について、メソッドが公開されています。「公式」メソッドも公開されており、世界規模でのテクニックの標準化も進行しています。米国では、公認分析化学者協会 (AOAC) により、2007.01 メソッドが公開されています。欧州の EN 15662 2007 でも、それと同様の手法が用いられています。

QuEChERS では、2 つのステップを実施します：

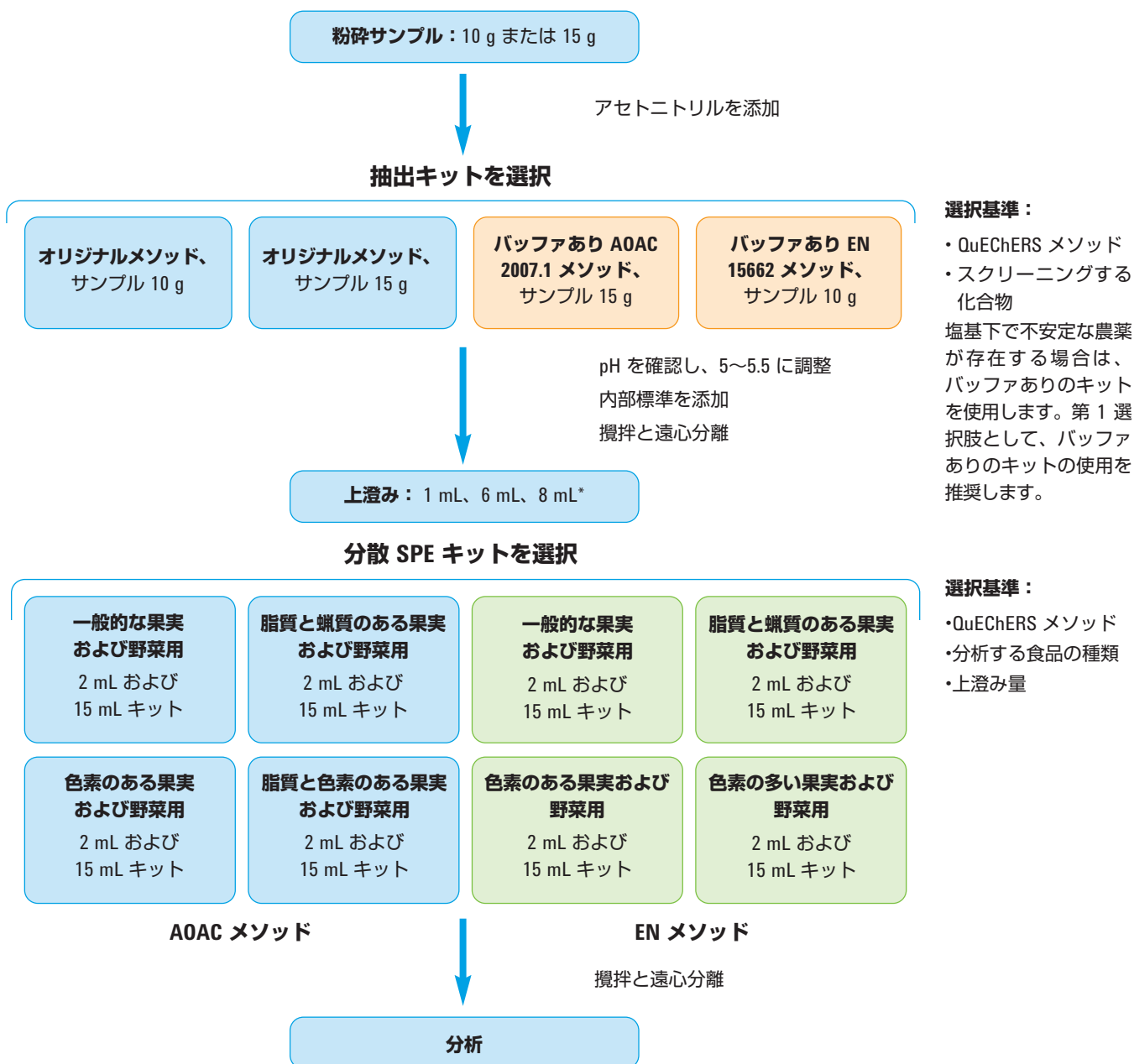
1. 水性層と有機層の平衡化を用いた塩析抽出による分配をベースにした抽出ステップ
2. さまざまな組み合わせの塩と多孔質吸着剤を用いて干渉物質を除去し、さらなる精製を行う分散固相抽出 (SPE) ステップ

分散 SPE ステップでは、1 級-2 級アミン (PSA)、C18、グラファイトカーボンブラックなどの多孔質吸着剤を用いて、ステップ 1 でともに抽出される各種のマトリクス成分を除去します。抽出した化合物の測定に用いられる一般的な分析手法は、LC/MS、GC/MS、およびタンデム質量分析計 LC/MS/MS、GC/MS/MS です。



QuEChERS に推奨する Agilent Bond Elut 標準作業手順

ここでは、任意の果実または野菜サンプルにおける QuEChERS メソッドの基本的な手順を紹介します。簡単な数ステップのみで、さまざまな残留農薬分析用のサンプル前処理を実施することができます。



* 採取量は、メソッドにより規定されています。キットはこれらの規定量に応じて作成されています。酸性基（フェノキシアルカノール酸）を持つ農薬については、この段階で LC/MS/MS により直接分析します（分散 SPE ステップを省略）。これらの酸性基は、分散 SPE 手順の一部である PSA と相互作用します。

オリジナル QuEChERS メソッド



Agilent Bond Elut QuEChERS キットを用いて前処理を行った リンゴ中の残留農薬の GC/MS 分析 (文献番号 5990-4468EN)

はじめに

このアプリケーションノートでは、簡単で高速、低価格、効果的、堅牢、安全なサンプル前処理メソッドである QuEChERS を用いて、リンゴに含まれる 15 種類の農薬の抽出を検証しています。この測定には、一般的な果実サンプルで検出される可能性のある揮発性および半揮発性農薬で、標準的に検出される濃度を使用しました。この方式のバッファなし QuEChERS 抽出メソッドは、もともとは 2003 年に発表されたものです。測定は、選択イオンモニタリング (SIM) を組み合わせた GC/MS を使用し、濃度 10 ng/g までの農薬で行いました。

機器条件

GCMS 条件

注入ソース: マニュアル
注入口: スプリットレス
カラム: Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート GC キャピラリカラム、30m x 0.25mm、0.25µm (部品番号 19091S-433UI)
キャリアガス: ヘリウム、コンスタントフローモード
オープン温度プログラム: 70 °C (2 分) ~ 25 °C/min ~ 150 °C (0 分) ~ 3 °C/min ~ 200 °C (0 分) ~ 8 °C/min ~ 280 °C (7 分)

注入量: 1 µL

MS 条件

チューンファイル: Atune.u
モード: SIM
イオン源、四重極、それぞれ、230 °C、150 °C、280 °C
トランスファーライン温度
溶媒待ち時間: 4.00 分
マルチプライヤ電圧: オートチューン電圧

注文情報

Agilent Bond Elut QuEChERS バッファなし抽出キット
部品番号 5982-5550

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 分散キット、一般的な果実および野菜用、2 mL、部品番号 5982-5022

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 分散 SPE キット、一般的な果実および野菜用、15 mL、部品番号 5982-5058

Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート GC キャピラリカラム、30 m x 0.25 mm、0.25 µm、部品番号 19091S-433UI

QuEChERS 手順

QuEChERS 抽出手順 (ステップ 1)

均質化したリンゴ 10 g を 50 mL 遠心分離チューブに入れる

スパイクサンプルを添加および 1 分間ボルテックスする

ACN 10mL を添加

MgSO₄ 4 g および NaCl 1 g (部品番号 5982-5550)

内部標準 50 µL (TPP)

30 秒間ボルテックスする

5,000 rpm で 5 分間遠心分離

QuEChERS 分散 SPE (ステップ 2) および分析

上澄み 1 mL を PSA 50 mg および MgSO₄ 150 mg とともに 1.5 mL 遠心分離チューブに入れる (部品番号 5982-5022)

30 秒間ボルテックスする

5 分間遠心分離

0.5 mL をサンプルバイアルへ入れる

1.5 µL を GC/MS に注入

図 1: 一般的な果実および野菜の QuEChERS 抽出手順

結果

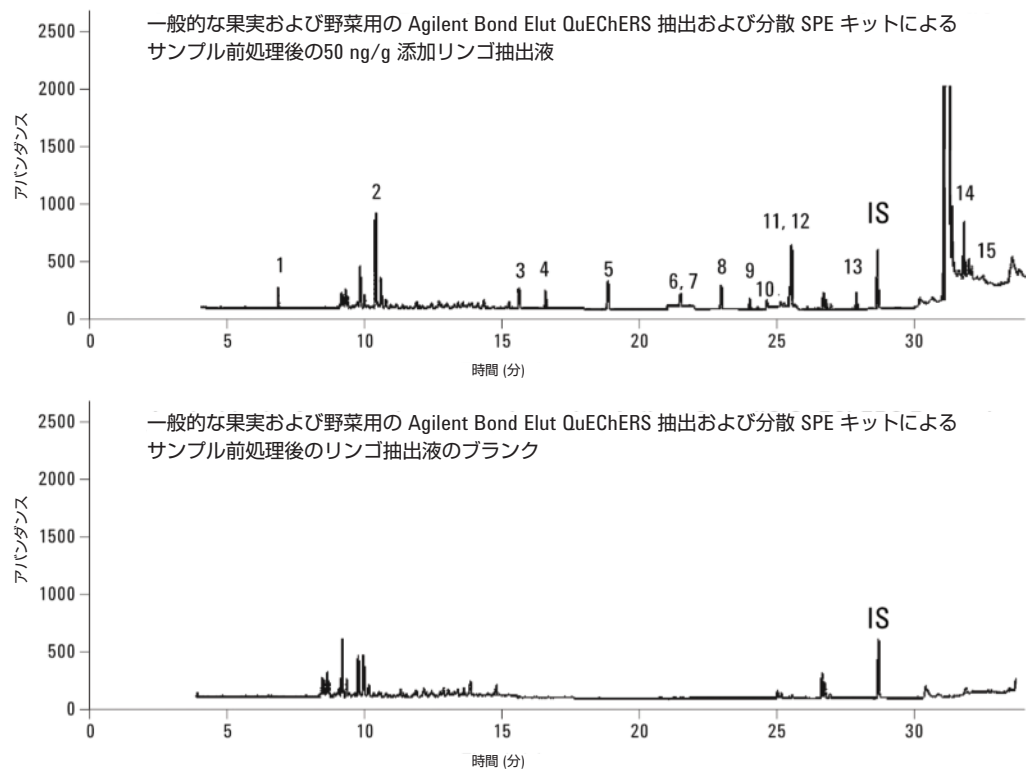


図 2: リンゴ抽出液のブランクと添加リンゴ抽出物の比較

農薬	低 QC 10 ng/g		中 QC 50 ng/g		高 QC 200 ng/g	
	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD
ジクロロボス	102.8	5.0	96.7	10.8	99.4	2.8
α-フェニルフェノール	92.0	6.1	79.6	6.8	89.5	6.3
リンデン	97.9	2.0	88.5	9.7	92.6	4.2
ダイアジノン	90.5	9.1	98.8	5.5	102.1	4.4
メチルクロルピリホス	88.7	7.1	90.0	4.3	98.5	3.1
クロルピリホス	93.5	6.5	95.6	4.0	100.2	1.2
ジクロロベンゾフェノン	90.3	5.0	89.1	6.4	99.4	0.6
ヘプタクロルエポキシド	87.0	3.2	85.6	5.4	95.4	3.9
γ-クロルデン	92.3	3.5	90.0	6.8	95.9	2.0
α-クロルデン	95.5	4.7	85.8	6.9	93.5	2.6
ディルドリン	99.4	4.2	93.6	5.3	99.9	1.8
DDE	94.5	4.2	87.1	5.7	92.7	1.9
硫酸エンドスルファン	97.8	2.3	90.8	2.8	99.5	2.3
ペルメトリン	100.7	4.8	93.0	3.4	97.6	2.1
クマホス	72.5	4.5	79.6	3.5	96.6	3.0

表 1. オリジナル QuEChERS メソッドを用いたリンゴ中農薬の回収率と再現性 (n=4)

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
5990-4468EN を検索してください。

EN メソッド



Agilent Bond Elut QuEChERS EN キットを用いた LC/MS/MS 検出によるリンゴ中残留農薬の分析 (文献番号 5990-3938EN)

はじめに

このアプリケーションノートでは、欧州委員会基準 (EN) で定められた高速、簡単、低価格、効果的、堅牢、安全な (QuEChERS) サンプル前処理アプローチを用いて、リンゴに含まれる 16 種類の残留農薬を抽出および精製する手法を紹介しています。その後、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) モードのエレクトロスプレーイオン化タンデム質量分析を組み合わせた液体クロマトグラフィ (LC-ESI-MS/MS) により、リンゴ抽出物中の分析対象農薬を測定しました。

機器設定

HPLC 条件

カラム:	Agilent ZORBAX ソルベントセーバプラス Eclipse Plusフェニルヘキシル LC カラム カラム 3.0 mm x 150 mm, 3.5 μ m (部品番号 959963-312)		
流速:	0.3 mL/min		
カラム温度:	30 °C		
注入量:	10 μ L		
移動相:	A: 20:80 メタノール/H ₂ O 中5 mM 酢酸アンモニウム、pH 5.0 B: ACN 内の5 mM 酢酸アンモニウム、pH 5.0		
ニードル洗浄:	1:1:1:1 ACN/MeOH/IPA/H ₂ O (0.2 % 酢酸)		
グラジエント:	時間	% B	流速 (mL/min)
	0	20	0.3
	0.5	20	0.3
	8.0	100	0.3
	10.0	100	0.3
	10.01	20	0.5
	12.0	100	0.5
	13.0	終了	
ポストラン:	4 分		
合計サイクルタイム:	17 分		

MS 条件

ポジティブモード	
ガス温度:	350 °C
ガス流量:	10 L/min
ネブライザ:	40 psi
キャピラリ:	4,000 V

QuEChERS 手順

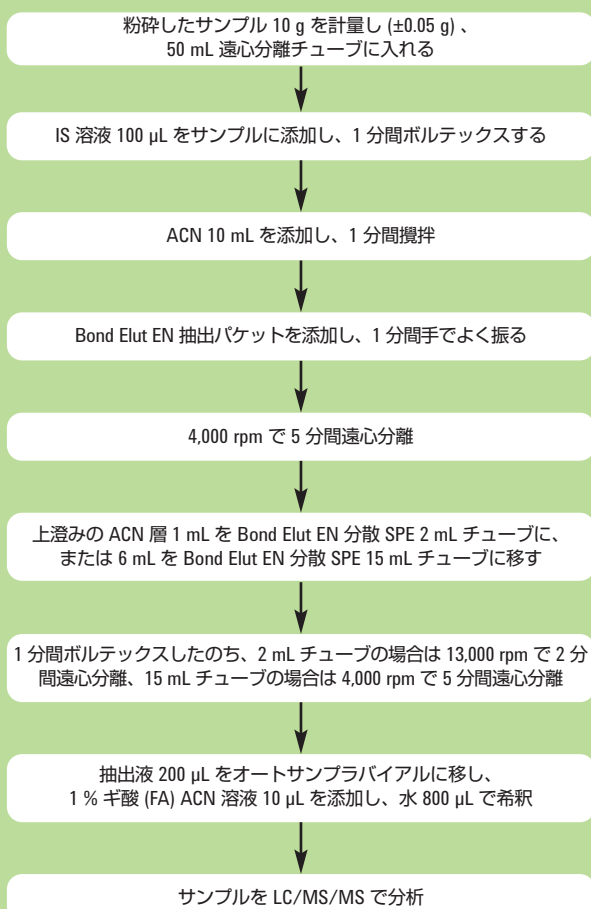


図 1. QuEChERS EN サンプル前処理手順のフローチャート

結果

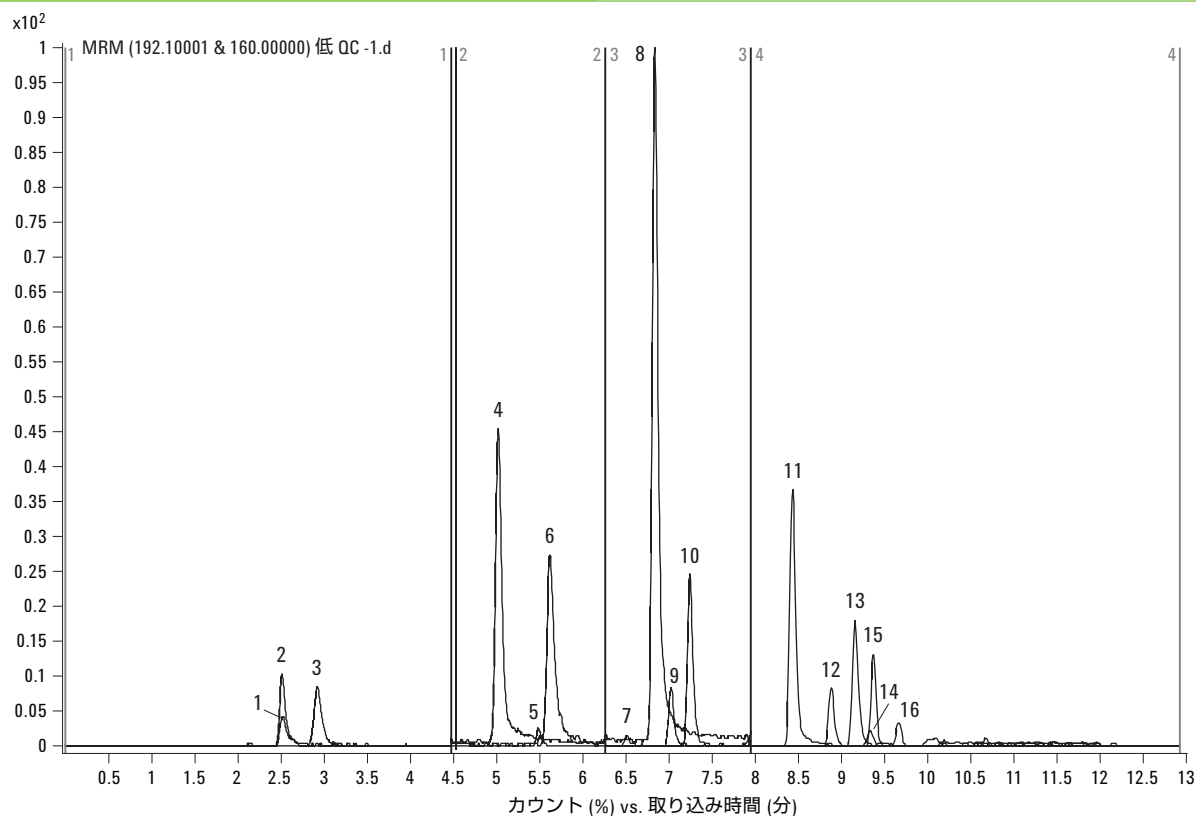


図 2. 10 ng/g 添加リンゴ抽出物のクロマトグラム。ピーク番号: 1. メタミドホス、2. アセフェート、3. ピメトロジン、4. カルベンダジム、5. イミダクロプリド、6. チアベンダゾール、7. ジクlorルボス、8. プロボクスル、9. チオファネートメチル、10. カルバリル、11. エトプロホス、12. ベンコナゾール、13. シプロジニル、14. ジクロフルアニド、15. クレソキシムメチル、16. トリフルアニド

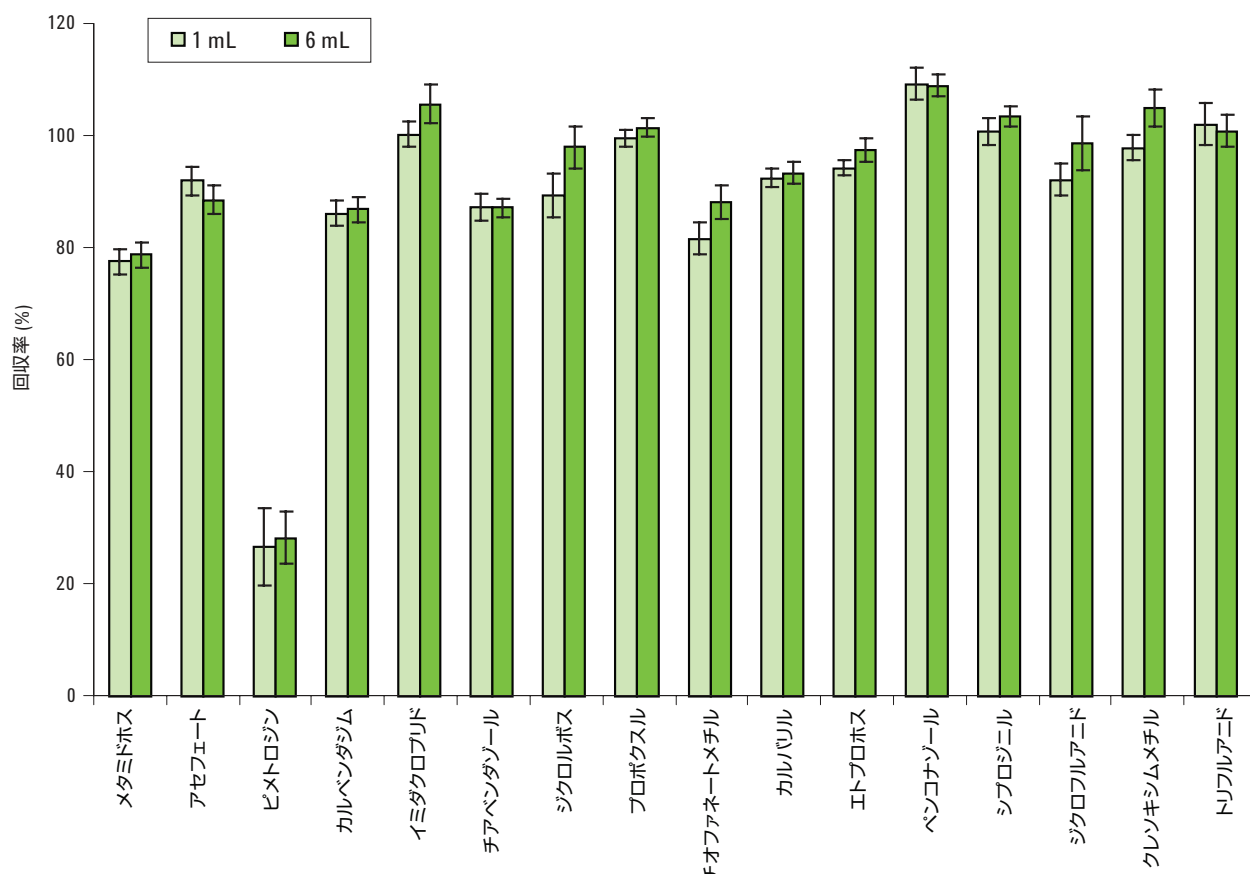


図 3. 1 mL 分散 SPE と 6 mL 分散 SPE の結果の比較

注文情報

Agilent Bond Elut QuEChERS EN メソッド抽出キット

部品番号 5982-5755

Agilent Bond Elut QuEChERS EN 分散 SPE キット、一般的な果実および野菜用、2 mL、部品番号 5982-5021

Agilent Bond Elut QuEChERS EN 分散 SPE キット、一般的な果実および野菜用、15 mL、部品番号 5982-5056

Agilent ZORBAX ソルベントセーバプラス Eclipse Plus フェニルヘキシル LC カラム、3.0 mm x 150 mm、3.5 μm、部品番号 959963-312

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 5990-3938EN を検索してください。

Agilent Bond Elut QuEChERS EN キットを使用した GC/MS による リンゴ中の残留農薬分析 (文献番号 5990-4073JAJP)

はじめに

本アプリケーションノートでは、欧州規格 (EN) に記載のあるサンプル前処理法、QuEChERS (quick (迅速)、easy (簡単)、cheap (低価格)、effective (効果的)、rugged (高耐久性)、safe (安全)) を使用した、リンゴに残留する GC で分析可能な 17 種類の農薬の抽出とクリーンアップへの応用について説明します。このメソッドには、水/アセトニトリル系での初期抽出、塩類付加後の抽出/分離ステップ、分散固相抽出 (分散SPE) を使用したクリーンアップステップが伴います。リンゴ抽出液に含まれる目的の農薬の分析には、選択イオンモニタリング (SIM) モードのガスクロマトグラフィ/質量分析法 (GC/MS) を使用しました。

機器設定

GC 条件

注入口:	スプリットレス
注入口ライナ:	ヘリックスダブルテーパー、不活性処理済み (部品番号 5188-5398)
キャリアガス:	ヘリウム
注入口圧力:	実行時 20.18 psi (コンスタントプレッシャーモード)、バックフラッシュ時 1.0 psi
注入口温度:	250 °C
注入力:	1.0 µL
スプリットベントの バージ流量:	0.75 分で 30 mL/min
オープン温度プログラム:	70 °C (1 分) ~50 °C/min~150 °C (0 分) ~6 °C/min~200 °C (0 分) ~16 °C/min~280 °C (6 分)
ポストラン:	3 分
キャピラリー・フロー・ テクノロジー:	Purged Ultimate Union (部品番号 G3186B) – 分析カラムと注入口のバックフラッシュに使用。
Aux EPC ガス:	Purged Ultimate Union に配管されたヘリウム
Aux EPC 圧力:	実行時 4.0 psi、バックフラッシュ時 80.0psi
カラム:	Agilent J&W HP-5ms ウルトラライナート 15 m × 0.25 mm × 0.25 µm (部品番号 19091S-433UI)
接続部:	注入口と Purged Ultimate Union の間 (部品番号 G3186B)
リストリクタ:	65 cm × 0.15 mm × 0.15 µm DB-5MS ウルトライ ナート
接続部:	Purged Ultimate Union と MSD の間

MS 条件

チューニングファイル:	Atune.u
モード:	SIM (設定の詳細は、5990-4073JAJP を参照して ください)
イオンソース、四重極、 トランスファライン温度:	それぞれ、230 °C、150 °C、280 °C
溶媒待ち時間:	2.30 分
マルチプライヤ電圧:	オートチューン電圧

QuEChERS 手順



図 1. Agilent Bond Elut QuEChERS EN 抽出作業のフローチャート

結果

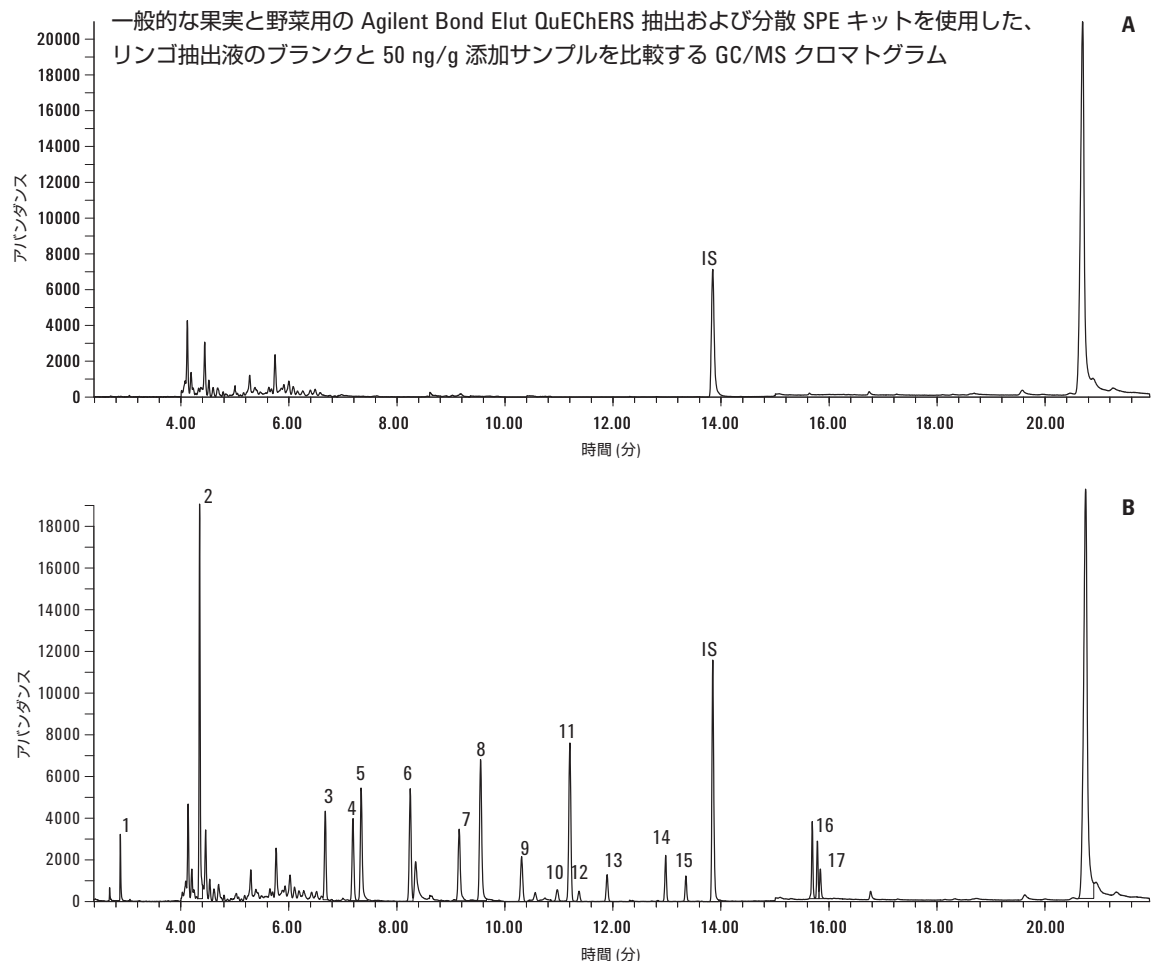


図 2.リンゴ抽出液の GC/MS クロマトグラム(A) リンゴ抽出液のブランク、(B) 50 ng/g 添加リンゴ抽出液。ピーク同定:1. ジクロルボス、2. σ -フェニルフェノール、3. リンデン、4. ダイアジノン、5. クロロタロニル、6. クロルピリホスメチル、7. ジクロフルアニド、8. ジクロロベンゾフェノン、9. ヘプタクロルエポキシド、10. γ -クロルデン、11. DDE、12. α -クロルデン、13. ディルドリン、14. エチオン、15. 硫酸エンドスルファン、16、ペルメスリン、17. クマホス。
内部標準: リン酸トリフェニル (TPP)

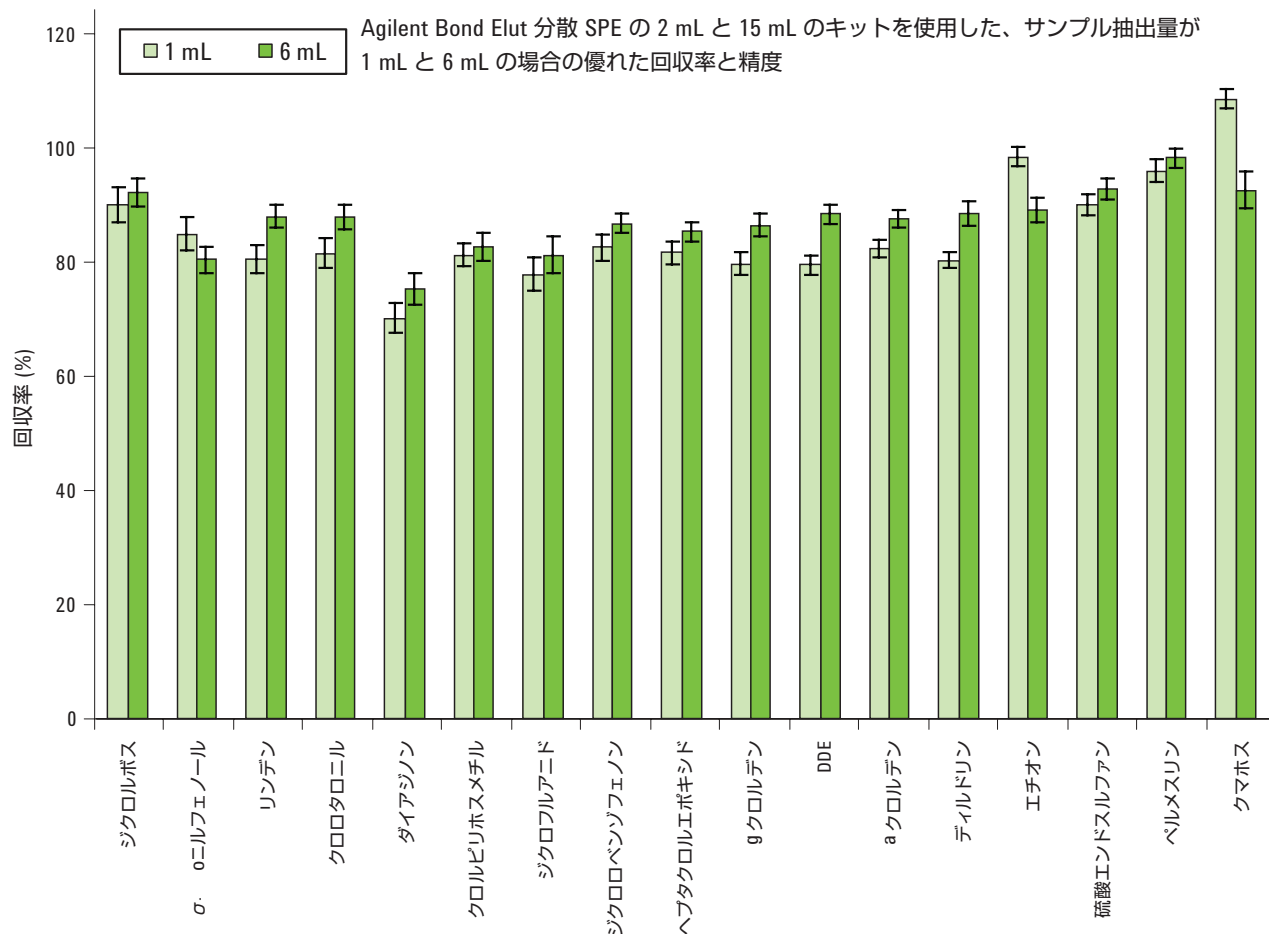


図 3. Agilent Bond Elut 分散 SPE の 2 mL と 15 mL のキットを使用した、サンプル抽出量が 1 mL と 6 mL の場合の回収率と精度

注文情報

Agilent Bond Elut QuEChERS EN メソッド抽出キット

部品番号 5982-5650

Agilent Bond Elut QuEChERS EN メソッド分散 SPE キット、

一般的な果実および野菜用、2 mL、部品番号5982-5021、15 mL、部品番号 5982-5056

Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート GC カラム、

15 m x 0.25 mm、0.25 μm、部品番号 19091S-431UI

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 5990-4073JAJP を検索してください。

Agilent Bond Elut QuEChERS EN キットを使用した LC/MS/MSによるホウレン草中の残留農薬分析 (文献番号 5990-4395JAJP)

はじめに

本アプリケーションノートでは、QuEChERS (quick (迅速)、easy (簡単)、cheap (低価格)、effective (効果的)、rugged (高耐久性)、safe (安全)) EN サンプル前処理法を使用した、ホウレン草に残留する代表的な 13 種類の農薬の抽出とクリーンアップについて説明します。ホウレン草は、色素を多く含みますので、グラファイトカーボンブラック (GCB) を 7.5 mg/mL 含む色素の多い果実と野菜用の EN 分散 SPE キットを選択し、ACN 抽出液をこのキットに追加します。ホウレン草抽出物に含まれる標的農薬を、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) モードの電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。

機器設定

HPLC 条件

カラム:	Agilent ZORBAX ソルベントセーバプラス Eclipse Plus フェニル-ヘキシルカラム、 3.0 × 150 mm、3.5 μm (部品番号959963-312)		
流量:	0.3 mL/min		
カラム温度:	30 °C		
注入量:	10 μL		
移動相:	A、20:80 メタノール/H ₂ O 中5 mM 酢酸アンモニウム、pH 5.0 B、ACN 内の5 mM 酢酸アンモニウム、pH 5.0		
ニードル洗浄:	1:1:1 ACN/メタノール/IPA/H ₂ O、0.2 % ギ酸を含む		
グラジエント:	時間	アセトニトリルの 混合比	流量 (mL/min)
	0	20	0.3
	0.5	20	0.3
	8.0	100	0.3
	10.0	100	0.3
	13.0	終了	
ポストラン:	4 分		
合計サイクルタイム:	17 分		

MS 条件

ポジティブモード	
ガス温度:	350 °C
ガス流量:	10 L/min
ネブライザ:	40 Psi
キャピラリ:	4000 V

QuEChERS 手順

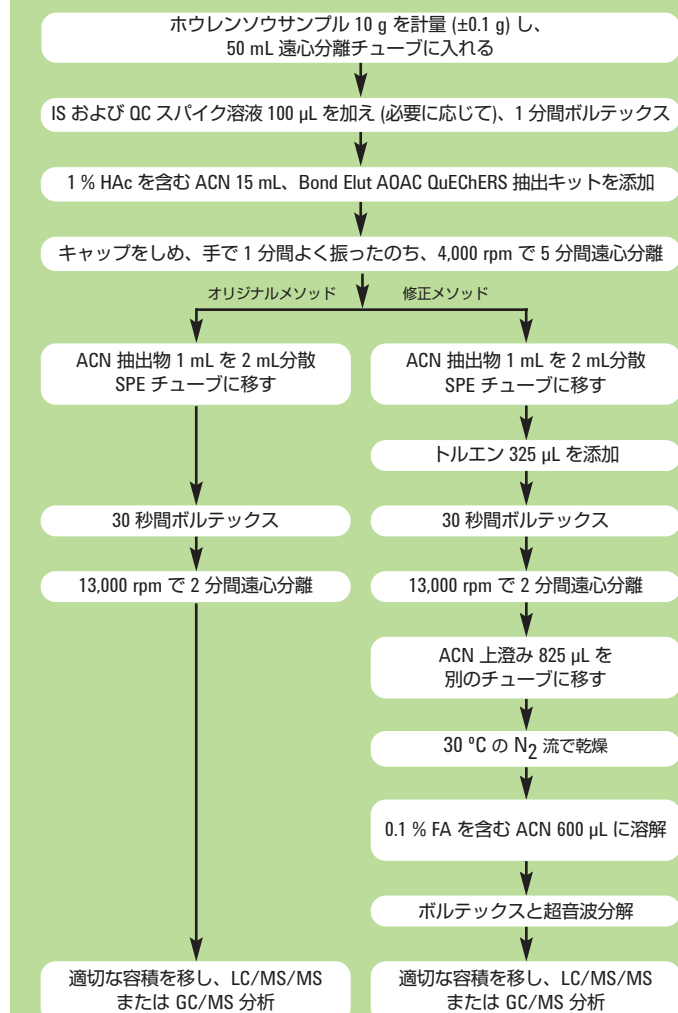


図 1. QuEChERS EN 手順のフローチャート (オリジナルおよび修正分散 SPE、2 mL サイズ)

結果

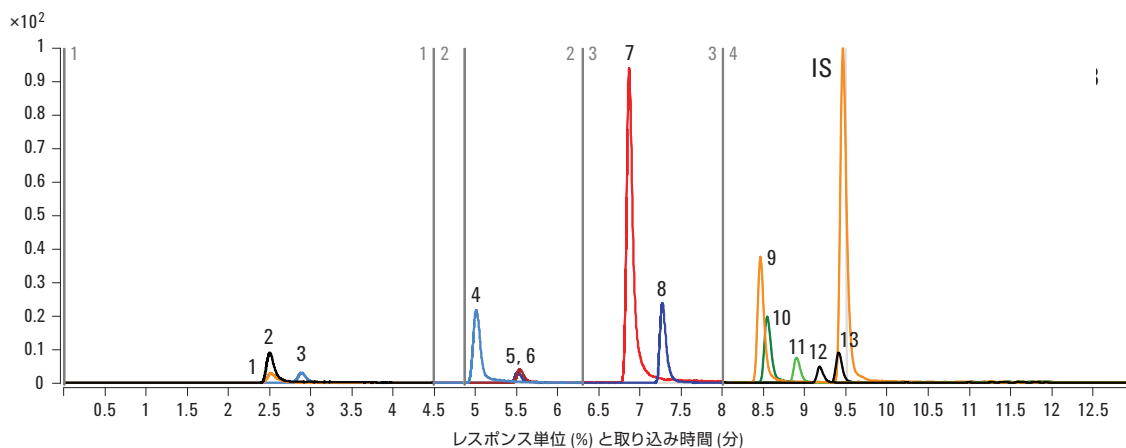


図 2. EN メソッドで処理したハウレン草マトリクスブランク (A) および50 ng/g 添加したサンプル (B) の MRM クロマトグラム。ピーク同定:1. メタミドホス、2. アセフェート、3. ビメトロジン、4. カルベンダジム、5. イミダクロプリド、6. チアベンダゾール、7. プロボクスル、8. カルバリル、9. エトプロホス、10. イマザリル、11. ベンコナゾール、12. シプロジニル、13. クレンキシムメチル。IS: 内部標準、TPP。

分析対象物	10 ng/g QC 添加 回収率	RSD (n=6)	50 ng/g QC 添加 回収率	RSD (n=6)	200 ng/g QC 添加 回収率	RSD (n=6)
メタミドホス	85.0	8.3	87.7	2.7	95.0	9.4
アセフェート	88.6	5.1	84.6	3.1	94.6	9.3
ビメトロジン *	68.7	3.7	65.7	1.5	71.9	10.8
カルベンダジム *	94.0	5.4	91.4	2.7	53.5	9.3
イミダクロプリド	102.0	8.9	85.4	6.1	100.1	7.7
チアベンダゾール *	77.2	4.4	77.6	2.4	79.2	9.7
プロボクスル	98.2	5.7	96.3	1.8	93.9	7.2
カルバリル	98.5	3.6	94.0	1.7	97.4	7.2
エトプロホス	102.3	6.0	95.3	1.7	91.0	6.8
イマザリル	88.8	6.4	86.8	2.8	93.5	7.7
ベンコナゾール	104.5	2.5	96.4	2.0	84.6	5.5
シプロジニル *	101.5	4.2	92.2	2.4	86.8	7.6
クレンキシムメチル	99.7	6.1	97.4	1.6	95.3	6.9

* 平面構造を持つ農薬

表 1. 6 mL の分散 SPE 試験管 (部品番号 5982-5356) による添加ハウレン草に含まれる農薬の回収率および再現性

注文情報

Agilent Bond Elut QuEChERS EN 抽出キット

部品番号 5982-5650

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 分散 SPE キット、色素を含む果実と野菜用、部品番号 5982-5321 および 5982-5356

Agilent ZORBAX ソルベントセーバプラス Eclipse Plus フェニルヘキシル LC カラム、3.0 x 150 mm、3.5 µm、部品番号 959963-312

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 5990-4395JAJP を検索してください。

AOAC メソッド



Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC キットを用いた LC/MS/MS 検出による リンゴ中残留農薬の分析 (文献番号 5990-3937EN)

はじめに

このアプリケーションノートでは、公認分析化学者協会 (AOAC) 公式メソッド 2007.01 で定められた高速、簡単、低価格、効果的、堅牢、安全な (QuEChERS) サンプル前処理アプローチを用いて、リンゴに含まれる 16 種類の残留農薬を抽出および精製する手法を紹介しています。

本アプリケーションノートで得られた 5 ng/g というリンゴ中農薬の定量下限 (LOQ) は、最大残留限界値 (MRL) を大きく下回っています。回収実験の添加量は、10、50、200 ng/g でした。平均回収率は 76~117 % (平均 95.4 %) で、RSD は 15 % を下回りました (平均 4.3 %)。

機器設定

HPLC 条件

カラム:	Agilent ZORBAX ソルベントセーバプラス Eclipse Plus フェニルヘキシル LC カラム、3.0 mm x 150 mm、3.5µm (部品番号 959963-312)		
流速:	0.3 mL/min		
カラム温度:	30 °C		
注入量:	10 µL		
移動相:	A: 5 mM 酢酸アンモニウム、20:80 MeOH/H ₂ O で pH 5.0 B: 5 mM NH ₄ OAc、ACN 中で pH 5.0		
ニードル洗浄:	1:1:1 ACN/MeOH/IPA/H ₂ O (0.2 % FA)		
グラジエント:	時間	% B	流速 (mL/min)
	0	20	0.3
	0.5	20	0.3
	8.0	100	0.3
	10.0	100	0.3
	10.01	20	0.5
	12.0	100	0.5
	13.0	終了	

ポストラン: 4 分
合計サイクルタイム: 17 分

MS 条件

ポジティブモード	
ガス温度:	350 °C
ガス流速:	10 L/min
ネブライザ:	40 psi
キャピラリ:	4,000 V

QuEChERS 手順

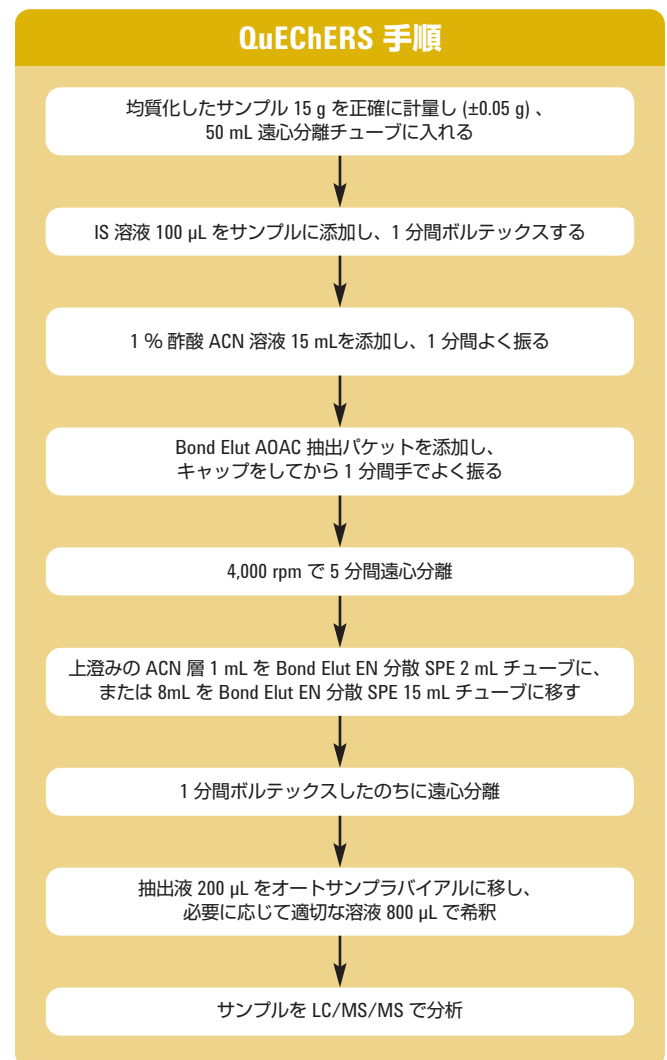


図 1. QuEChERS AOAC サンプル前処理手順のフローチャート

注文情報

Agilent Bond Elut QuEChERS バッファあり AOAC 抽出キット
部品番号 5982-5755

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 分散 SPE キット、一般的な果実および野菜用、2 mL、部品番号 5982-5022

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 分散 SPE キット、一般的な果実および野菜用、15 mL、部品番号 5982-5058

Agilent ZORBAX ソルベントセーバプラス Eclipse Plus フェニルヘキシル LC カラム、3.0 mm x 150 mm、3.5 µm、部品番号 959963-312

結果

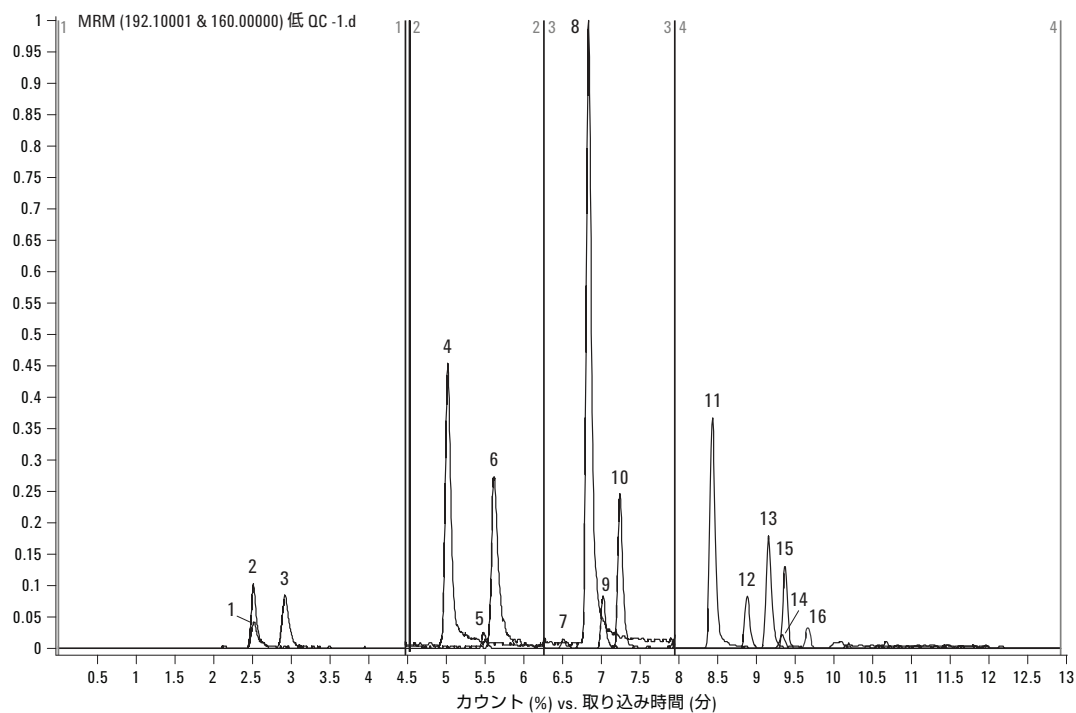


図 2. 10 ng/g 添加リンゴ抽出液のクロマトグラム。ピーク番号: 1. メタミドホス、2. アセフェート、3. ピメトロジン、4. カルベンダジム、5. イミダクロプリド、6. チアベンダゾール、7. ジクロルボス、8. プロボクスル、9. チオファネートメチル、10. カルバリル、11. エトプロホス、12. ペンコナゾール、13. シプロジニル、14. ジクロフルアニド、15. クレンキシムメチル、16. トリフルアニド

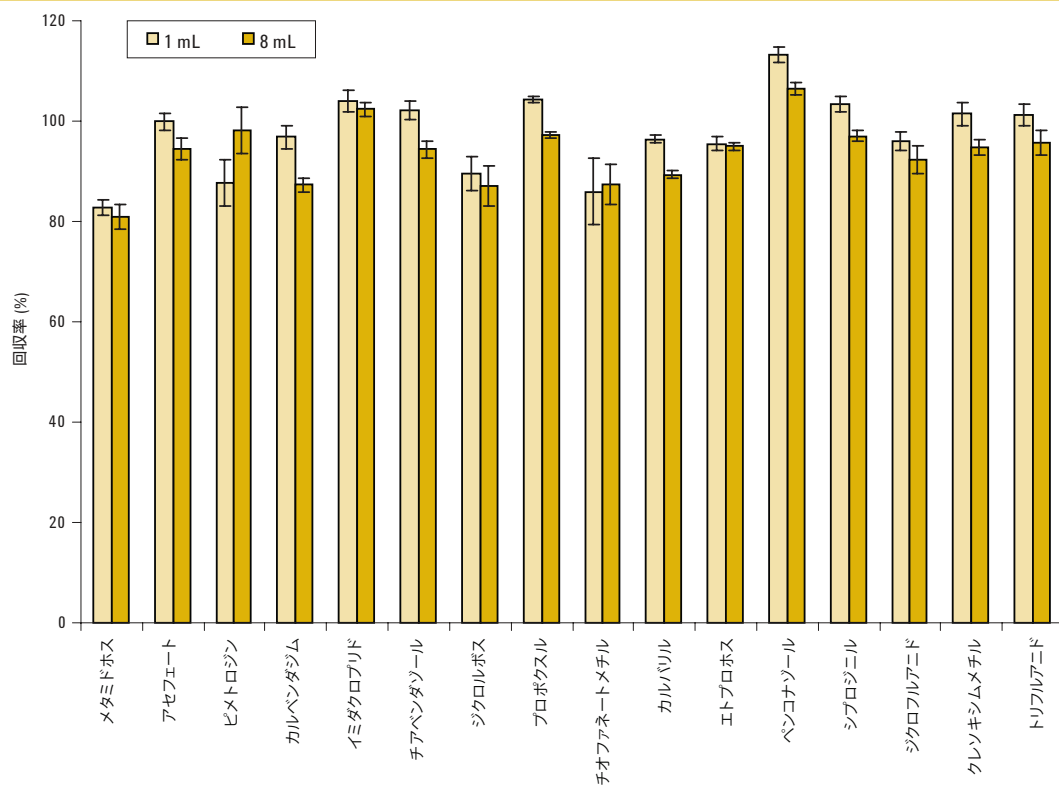


表 1. 1 mL 分散 SPE と 8 mL 分散 SPE の結果の比較

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 5990-3937EN を検索してください。

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC キットを使用したGC/MS による リンゴ中の残留農薬分析 (文献番号 5990-4068JAJP)

はじめに

本アプリケーションノートでは、QuEChERS (quick (迅速)、easy (簡単)、cheap (低価格)、effective (効果的)、rugged (高耐久性)、safe (安全)) AOAC サンプル前処理法を使用した、リンゴに残留する GC で分析可能な 17 種類の農薬の抽出とクリーンアップへの応用について説明します。リンゴ抽出液に含まれる標的の農薬の分析には、選択イオンモニタリング (SIM) モードのガスクロマトグラフィ/質量分析法 (GC/MS) を使用しました。

機器設定

GC 条件

オートサンプラ:	Agilent 7683 オートサンプラ
注入口:	スプリットレス
カラム:	Agilent 30 m × 0.25 mm × 0.25 µm HP-5ms ウルトライナート (部品番号 19091S-433UI)
キャリアガス:	ヘリウム、コンスタントプレッシャモード
リテンションタイム ロッキング:	クロルピリホスメチルを 16.596 分にロック (標準カラムヘッド圧力= 22.0 psi)
オープン温度プログラム:	70 °C (2 分) ~25 °C/min ~150 °C (0 分) ~3 °C/min ~200 °C (0 分) ~8 °C/min ~ 280 °C (11.5 分)
注入量:	1.0 µL

MS 条件

チューニングファイル:	Atune.u
モード:	SIM (設定の詳細は、5990-4068JAJP を参照してください)
イオンソース、四重極、 トランスファライン温度:	それぞれ、230 °C、150 °C、280 °C
溶媒待ち時間:	3.00 分
マルチプライヤ電圧:	オートチューン電圧

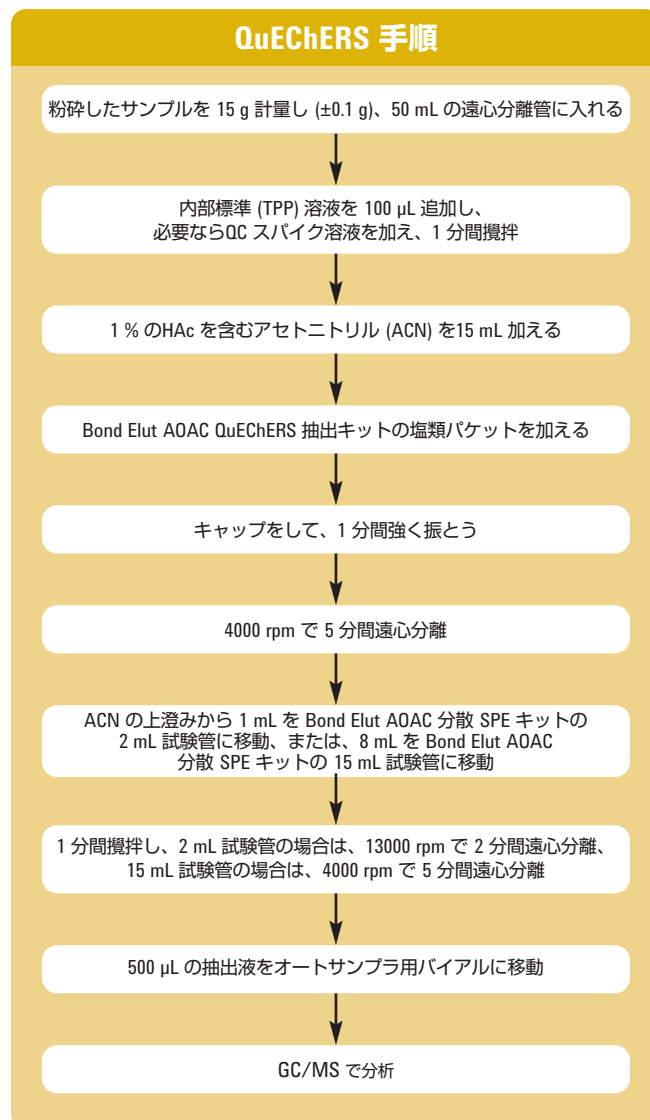


図 1. Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 抽出作業のフローチャート

注文情報

Agilent Bond Elut QuEChERS バッファあり AOAC 抽出キット
部品番号 5982-5755.

**Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 分散 SPE キット、一般的な
果実および野菜用、2 mL、** 部品番号 5982-5022

**Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 分散 SPE キット、一般的な
果実および野菜用、15 mL、** 部品番号 5982-5058

**Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート GC カラム、0 m × 0.25 mm、
0.25 µm、** 部品番号 19091S-433UI

結果

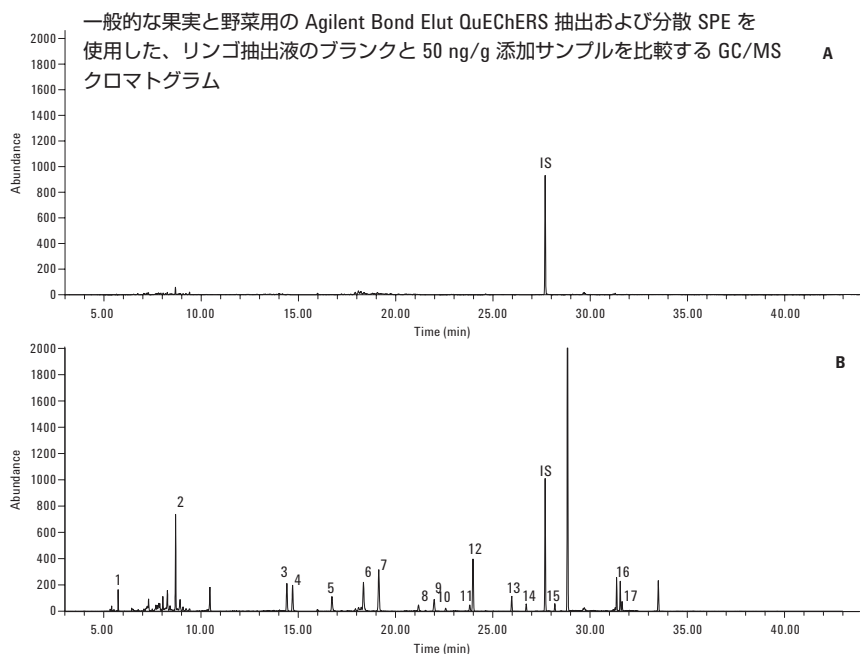


図 2. リンゴ抽出液の GC/MS クロマトグラム。(A) リンゴ抽出液のブランク、(B) 50 ng/g 添加リンゴ抽出液。ピーク同定: 1. ジクロロボス、2. σ -フェニルフェノール、3. ダイアジノン、4. クロロタロニル、5. カルバリル、6. ジクロロフルアニド、7. ジクロロベンゾフェノン、8. フォルベット、9. g -クロルデン、10. エンドスルフアン、11. デイルドリン、12. DDE、13. エチオン、14. 硫酸エンドスルフアン、15. エンドリンケトン、16. ペルメスリン、17. クマホス。内部標準、リン酸トリフェニル (TPP)。

Agilent Bond Elut 分散 SPE の 2 mL と 15 mL のキットを使用した、サンプル抽出量が 1 mL と 8 mL の場合の優れた回収率と精度

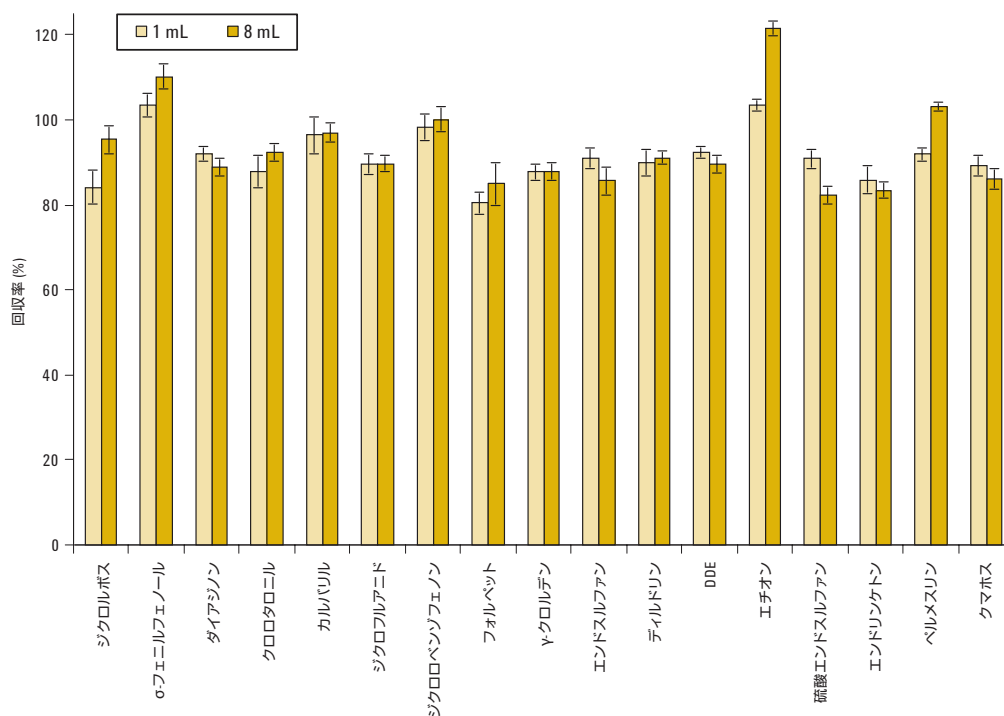


図 3. Agilent Bond Elut 分散 SPE の 2 mL と 15 mL のキットを使用した、サンプル抽出量が 1 mL と 8 mL の場合の回収率と精度

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 5990-4068JAJP を検索してください。

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC キットを使用したGC/MS による ホウレン草中の残留農薬分析 (文献番号 5990-4305JAJP)

はじめに

本アプリケーションノートでは、QuEChERS (quick (迅速)、easy (簡単)、cheap (低価格)、effective (効果的)、rugged (高耐久性)、safe (安全)) AOAC サンプル前処理法を使用した、ホウレン草中に残留する GC で分析可能な 18 種類の農薬残留物の抽出とクリーンアップへの応用について説明します。分散 SPE に含まれるグラファイトカーボンブラック (GCB) により、平面構造を持つ農薬が著しく失われる問題に対処するために、トルエンを添加した修正メソッドを使用しました。ホウレン草抽出液に含まれる標的の農薬の分析には、選択イオンモニタリング (SIM) モードのガスクロマトグラフィ/質量分析法 (GC/MS) を使用し、回収率および再現性に関して、このメソッドを検証しました。

機器設定

GC 条件

注入口:	スプリットレス
注入口ライナ:	ヘリックスダブルテーパー、不活性処理済み (部品番号 5188-5398)
キャリアガス:	ヘリウム
注入口圧力:	実行時 19.6 psi (コンスタントプレッシャーモード)、バックフラッシュ時 1.0 psi
注入口温度:	250 °C
注入量:	1.0 µL
スプリットベントの パージ流量:	0.75 分で 30 mL/min
オープン温度プログラム:	70 °C (1 分) ~ 50 °C/min ~ 150 °C (0 分) ~ 6 °C/min ~ 200 °C (0 分) ~ 16 °C/min ~ 280 °C (6 分)
ポストラン:	3 分
キャピラリー・フロー・ テクノロジー:	Purged Ultimate Union (部品番号 G3186B) - 分析カラムと注入口のバックフラッシュに使用。
Aux EPC ガス:	Purged Ultimate Union に配管されたヘリウム
Aux EPC 圧力:	実行時 4.0 psi、バックフラッシュ時 80.0 psi
カラム:	Agilent J&W HP-5MS ウルトライナート 15 m × 0.25 mm × 0.25 µm (部品番号 19091S-431UI)
接続部:	注入口と Purged Ultimate Union の間 (部品番号 G3186B)
リストリクタ:	65 cm × 0.15 mm、 0.15 µm DB-5MS ウルトライナート
接続部:	Purged Ultimate Union と MSD の間
MS conditions	
チューニングファイル	Atune.u
モード	SIM (設定の詳細は、5990-4305JAJP を参照してください)
イオンソース、四重極、 トランスファライン温度:	それぞれ、230 °C、150 °C、280 °C
溶媒待ち時間	2.30 分
マルチプライヤ電圧	オートチューン電圧

QuEChERS 手順

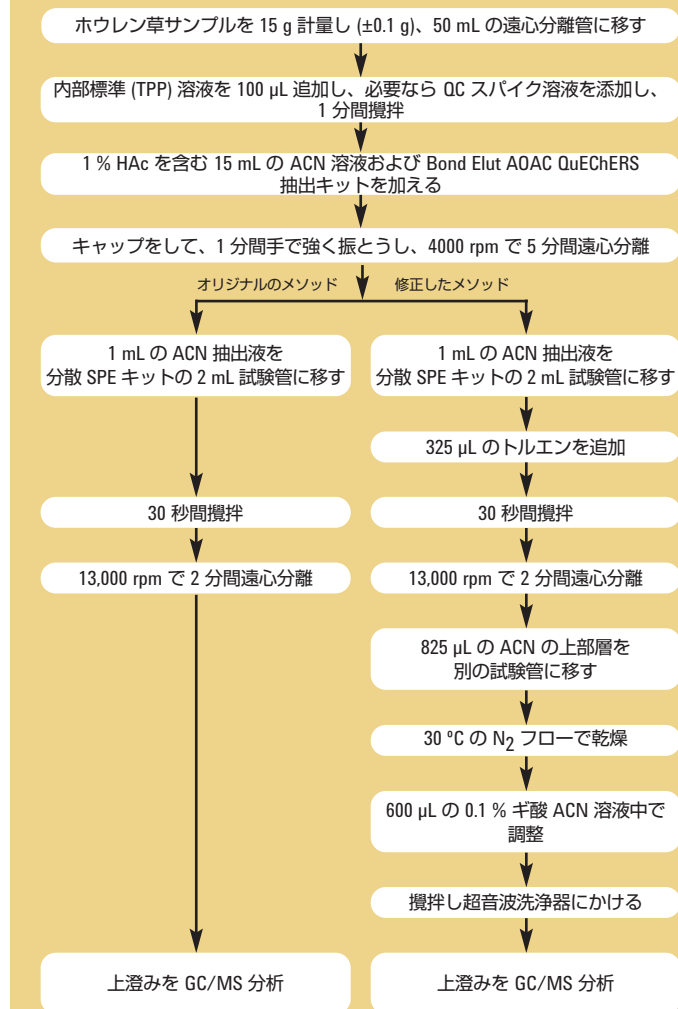


図 1. ホウレン草サンプルについての QuEChERS AOAC 抽出作業のフローチャート (2 mL のサイズのオリジナルの分散 SPE メソッドおよび修正した分散 SPE メソッド)

結果

オリジナルの A0AC 分散メソッドおよび修正した A0AC 分散メソッドを実施した
50 ng/g 添加のホウレン草サンプルの GC/MS クロマトグラム

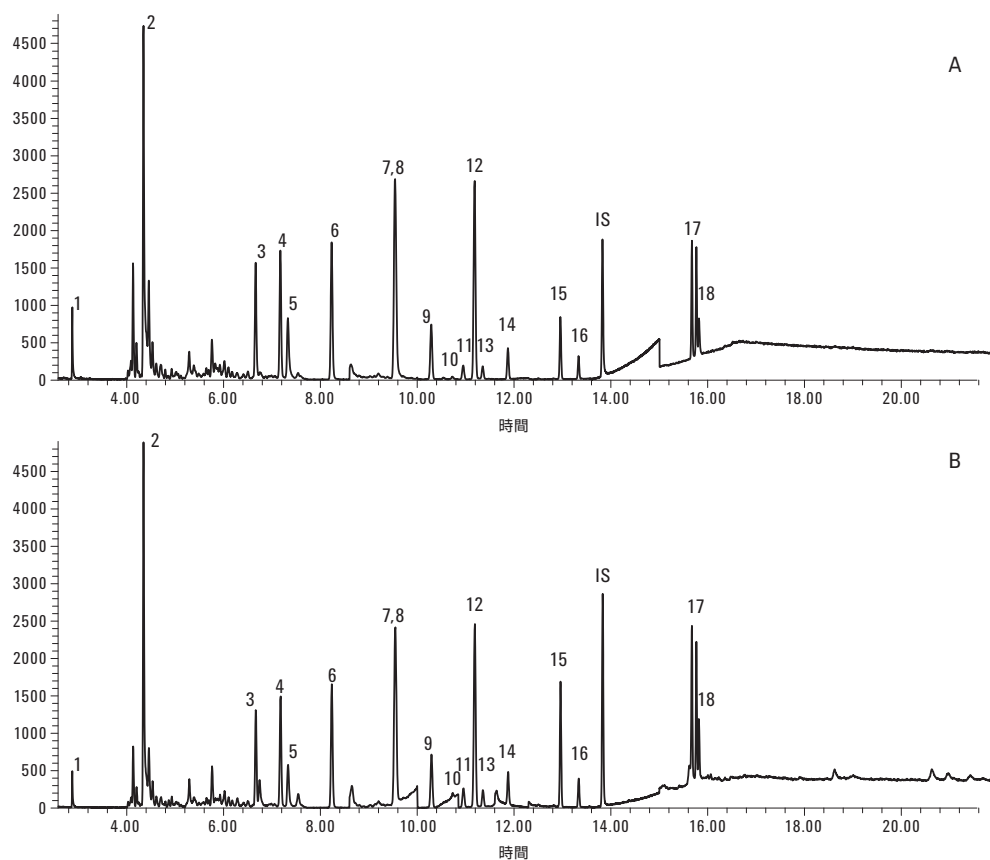


図 3. オリジナルの分散SPEメソッド(A) および修正した分散SPEメソッド(B) により処理した50 ng/g 添加したホウレン草サンプル抽出液のGC/MS クロマトグラム。
ピーク同定:1. ジクロロボス、2. *o*-フェニルフェノール、3. リンデン、4. ダイアジノン、5. クロロタロニル、6. クロルピリホスメチル、7. ジクロロベンゾフェノン、
8. クロルピリホス、9. ヘプタクロルエポキシド、10. フォルベット、11. α -クロルデン、12. DDE、13. γ -クロルデン、14. ディルドリン、15. エチオン、16. 硫酸エンドスルファン、
17. ベルメスリン、18. クマホス。IS: 内部標準、TPP

農薬	低いQC濃度(10 ng/g)		中程度のQC濃度(50 ng/g)		高いQC濃度(200 ng/g)	
	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD
ジクロロボス	94.0	3.0	91.7	10.5	80.9	4.6
σ-フェニルフェノール	95.0	2.2	92.0	7.9	78.7	3.8
リンデン	83.7	3.1	93.9	12.2	91.8	3.3
ダイアジノン	97.3	4.3	95.6	9.9	91.8	3.3
クロロタロニル*	47.5	6.8	44.9	6.6	49.4	4.3
クロルピリホスメチル	74.1	4.6	71.7	4.5	72.2	5.8
ジクロロベンゾフェノン*	97.5	7.6	66.8	3.9	68.8	6.8
クロルピリホス	88.3	3.0	79.6	3.5	77.0	3.5
ヘプタクロルエポキシド	74.9	1.9	81.6	11.7	78.2	3.9
フォルベット*	NA	NA	98.8	6.0	77.7	6.7
γ-クロルデン	106.0	4.9	112.2	3.3	93.6	5.3
DDE	80.3	2.2	86.8	9.6	75.4	3.5
α-クロルデン	107.6	4.2	108.4	3.5	91.6	3.7
ディルドリン	99.7	2.6	93.7	9.6	78.9	3.4
エチオン	91.4	3.4	100.0	5.0	107.4	7.6
硫酸エンドスルファン	93.7	4.8	97.3	8.8	89.8	4.3
ベルメスリン	84.7	5.7	74.8	9.9	84.6	6.0
クマホス*	98.4	5.5	84.2	9.5	81.2	3.2

* 修正した分散 SPE メソッドでの結果

表 1. ホウレン草のAOAC 分散メソッド、1 mL のサンプル量、2 mL の試験管、LC/MS/MS の結果より

注文情報

Agilent Bond Elut QuEChERSバッファあり AOAC 抽出キット
部品番号 5982-5755

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 分散 SPE キット、色素を含む果実および野菜用、2 mL、 部品番号 5982-5222

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 分散 SPE キット、色素を含む果実および野菜用、15 mL、 部品番号 5982-5258

Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート GC カラム、15 m x 0.25 mm、0.25 μm、 部品番号 19091S-431UI

Agilent Ultimate Union、 部品番号 G3186B

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 5990-4305JAJP を検索してください。

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC キットを使用した LC/MS/MS 検出によるホウレン草中の残留農薬分析 (文献番号 5990-4248JAP)

はじめに

本アプリケーションノートでは、AOAC に記載のあるサンプル前処理法、QuEChERS (quick (迅速)、easy (簡単)、cheap (低価格)、effective (効果的)、rugged (高耐久性)、safe (安全)) を使用した、ホウレン草に残留する代表的な 13 種類の農薬の抽出とクリーンアップについて説明します。分散 SPE に含まれるグラファイトカーボンブラック (GCB) により、平面構造を持つ農薬が著しく失われる問題に対処するために、トルエンを添加した修正メソッドを使用しました。オリジナルの分散 SPE メソッドと修正した分散 SPE メソッドを組み合わせ、分析対象物すべての回収率と再現性からメソッドを検証しました。

機器設定

HPLC 条件

カラム: Agilent ZORBAX ソルベントセーバプラス Eclipse Plus フェニル－ヘキシルカラム、
3.0 × 150 mm、3.5 µm (部品番号 959963-312)

流量: 0.3 mL/min

カラム温度: 30 °C

注入量: 10 µL

移動相: A:20:80 メタノール/H₂O 中 5 mM NH₄OAc、pH 5.0
B:ACN 中 5 mM NH₄OAc、pH 5.0

ニードル洗浄: 1:1:1:1 ACN/メタノール/イソプロピルアルコール(IPA)/H₂O、0.2 % ギ酸

グラジェント:

時間	% B	流量 (mL/min)
0	20	0.3
0.5	20	0.3
8.0	100	0.3
10.0	100	0.3
10.01	20	0.5
13.0	停止	

ポストラン:

合計サイクルタイム: 17 分

MS 条件

ポジティブモード

ガス温度: 350 °C

ガス流量: 10 L/min

ネブライザ: 40 psi

キャピラリ: 4000 V

QuEChERS 手順

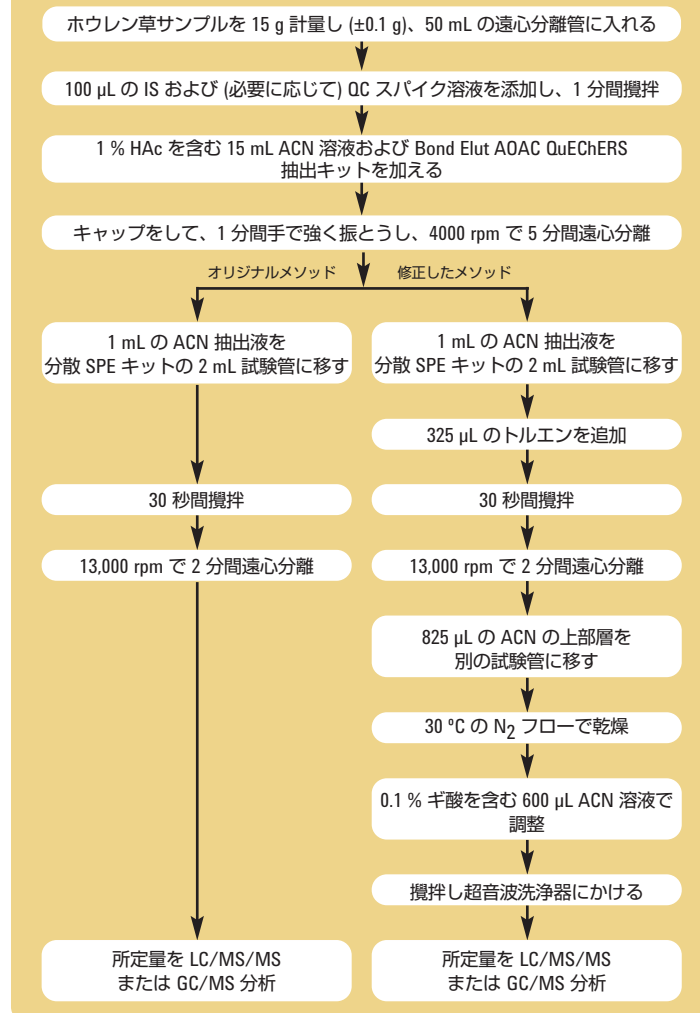


図 1. ホウレン草サンプルについての (2 mL サイズのオリジナルの分散 SPE メソッドおよび修正した分散 SPE メソッド) QuEChERS AOAC 抽出作業のフローチャート

結果

LC/MS/MS クロマトグラムの比較。トルエン添加により平面構造を持つ農薬の回収率が向上する

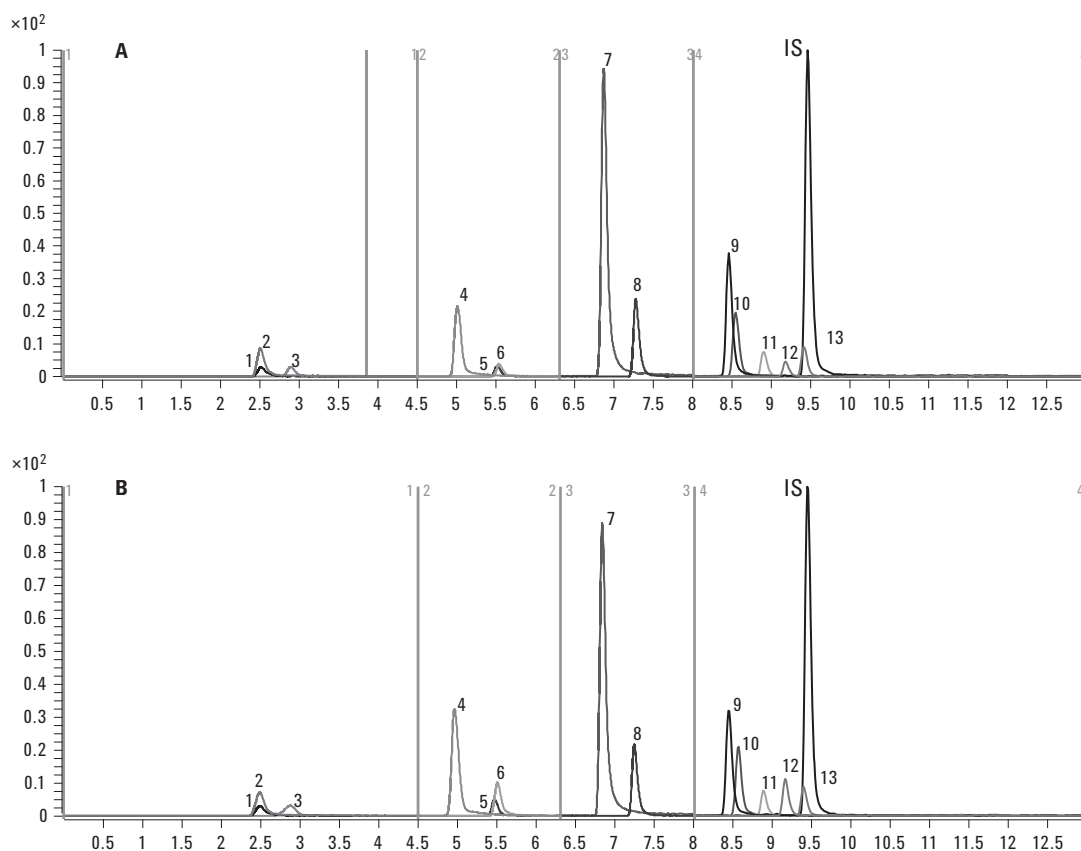


図 2. オリジナルの分散 SPE (A) および修正した分散 SPE (B) により処理した 50 ng/g 添加したホウレン草サンプル抽出液の LC/MS/MS クロマトグラム。
ピーク同定: 1. メタミドホス、2. アセフェート、3. ピメトロジン、4. カルベンダジム、5. イミダクロプリド、6. チアベンダゾール、7. プロボクスル、8. カルバリル、
9. エトプロップ、10. イマザリル、11. ペンコナゾール、12. シプロジニル、13. クレソキシムメチル。IS: 内部標準、TP

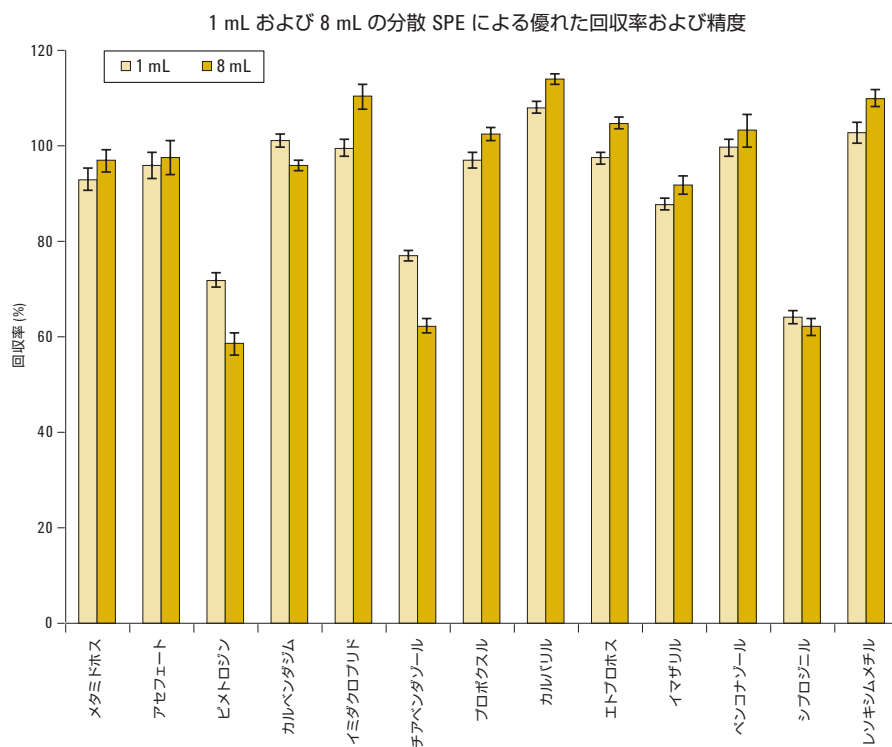


図 3. 1 mL 分散 SPE と 8 mL 分散 SPE の回収率および精度

注文情報

Agilent Bond Elut QuEChERS バッファあり AOAC 抽出キット
 部品番号 5982-5755

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 分散 SPE キット、色素を含む果実および野菜用、2 mL、部品番号 5982-5222

Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 分散 SPE キット、色素を含む果実および野菜用、15 mL、部品番号 5982-5258

Agilent ZORBAX ソルベントセーバプラス Eclipse Plus フェニルヘキシル LC カラム、3.0 mm x 150 mm、3.5 μ m、部品番号 959963-312

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 5990-4248JAJP を検索してください。

グラファイトカーボンを含む Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC キット およびトルエンを用いたハウレン草中の平面構造を持つ農薬回収率の最適化 (文献番号 5990-4247JAJ)

はじめに

本アプリケーションノートでは、色素のある果実および野菜用の Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC キットを使用して、ハウレン草中の農薬分析の分散固相抽出 (SPE) の手順でトルエン添加を行った場合の影響について解説します。修正した AOAC メソッドを使用すると、8 種類の農薬の回収率は 50 ~100 % に、RSD は 10 % 未満にそれぞれ大きく向上しました。

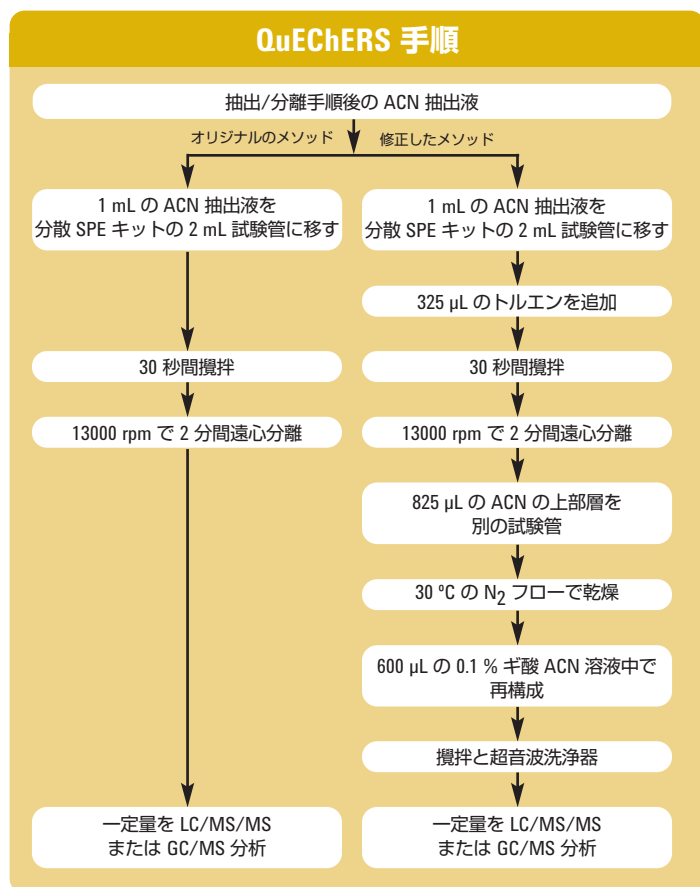


図 1. オリジナルのメソッド (トルエンなし) および修正したメソッド (トルエンあり) の分散 SPE 手順

注文情報

Agilent Bond Elut QuEChERS バッファあり AOAC 抽出キット、
部品番号 5982-5755

**Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 分散 SPE キット、色素を含む果実
および野菜用、2 mL、**部品番号 5982-5222

**Agilent Bond Elut QuEChERS AOAC 分散 SPE キット、色素を含む果実
および野菜用、15 mL、**部品番号 5982-5258

**Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート GC カラム、115 m × 0.25 mm
× 0.25 µm、**部品番号 19091S-431UI

**Agilent ZORBAX ソルベントセーバプラス Eclipse Plus フェニルヘキ
シル LC カラム、15 m × 0.25 mm、0.25 µm、**部品番号 959963-312

機器設定

HPLC 条件

カラム: Agilent ZORBAX ソルベントセーバプラス
Eclipse Plus フェニルヘキシルカラム、
3.0 mm × 150 mm、3.5 µm
(部品番号 959963-312)

流量: 0.3 mL/min

カラム温度: 30 °C

注入量: 10 µL

移動相: A:20:80 メタノール/H₂O 内の 5 mM 酢酸アン
モニウム、pH 5.0
B:ACN 内の 5 mM 酢酸アンモニウム、pH 5.0

ニードル洗浄: 1:1:1:1 ACN/メタノール/IPA/H₂O、
0.2 % 酢酸を含む

グラジエント:

時間	% B	流量 (mL/min)
0	20	0.3
0.5	20	0.3
8.0	100	0.3
10.0	100	0.3
10.01	20	0.5
13.0	終了	

ポストラン: 4 分

合計サイクル時間: 17 分

GC 条件

注入口: スプリットレス

注入口ライナ: ヘリックスダブルテーパー、不活性処理済
(部品番号 5188-5398)

キャリアガス: ヘリウム

注入口圧力: 実行時 19.6 psi (コンスタントプレッシャーモード)、
バックフラッシュ時 1.0 psi

注入口温度: 250 °C

注入量: 1.0 µL

スプリットベントの
パージ流量: 0.75 分で 30 mL/min

オープン温度プログラム: 70 °C (1 分) ~50 °C/min ~150 °C (0 分) ~6 °C/min
~200 °C (0 分) ~16 °C/min ~280 °C (6 分)

ポストラン: 3 分

キャピラリー・フロー・
テクノロジー: Purged Ultimate ユニオン
(部品番号 G3186B) – 分析カラムと注入口のバック
フラッシュに使用。

Aux EPC ガス: Purged Ultimate ユニオンに配管されたヘリウム

Aux EPC 圧力: 実行時 4.0 psi、バックフラッシュ時 80.0 psi

カラム: Agilent J&W HP-5ms ウルトライナート
15 m × 0.25 mm × 0.25 µm (部品番号 19091S-433UI)

接続部: 注入口と Purged Ultimate ユニオンの間
(部品番号 G3186B)

リストリクタ: 65 cm × 0.15 mm、
0.15 µm DB-5 ms ウルトライナート

接続部: Purged Ultimate ユニオンと MSD の間

結果

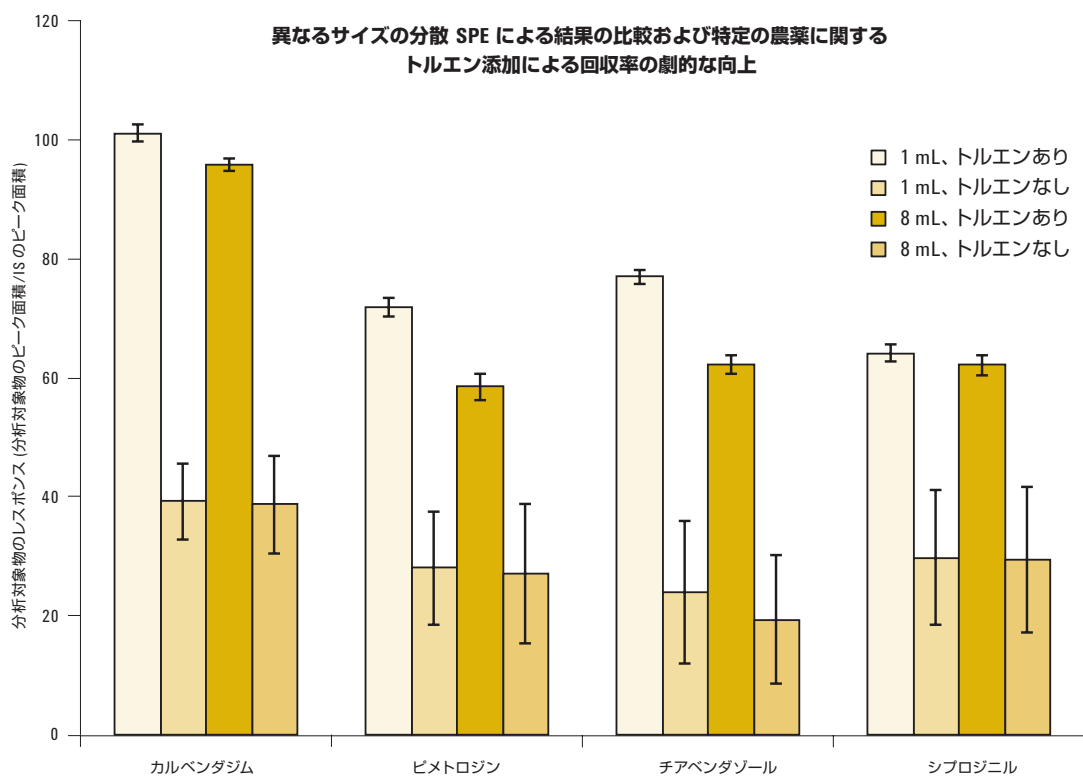


図 2. 修正したメソッド (トルエンあり) およびオリジナルのメソッド (トルエンなし) の場合の 1 mL および 8 mL の分散 SPE の結果の比較。

分析対象物	オリジナルのメソッド(トルエンなし)		修正したメソッド(トルエンあり)		修正したメソッドによる影響	検出方法
	回収率	RSD (n=6)	回収率	RSD (n=6)		
カルベンダジム	38.9	14.6	98.5	2.5	ポジティブ	LC/MS/MS
チアベンダゾール	21.8	19.7	69.7	2.7	ポジティブ	LC/MS/MS
ビメトロジン	27.6	21.2	65.2	3.7	ポジティブ	LC/MS/MS
シプロロジニル	29.6	23.4	63.1	3.2	ポジティブ	LC/MS/MS
クロロタロニル	21.1	16.4	47.3	5.9	ポジティブ	GC/MS
クマホス	30.1	24.0	87.9	6.1	ポジティブ	GC/MS
ジクロロベンゾフェノン	53.7	4.5	77.7	6.1	ポジティブ	GC/MS
フォルベット	62.0	14.6	88.2	6.3	ポジティブ	GC/MS
ジクロルボス	88.8	6.0	20.4	89.8	非常にネガティブ	GC/MS
σ-フェニルフェノール	88.6	4.6	73.7	7.4	わずかにネガティブ	GC/MS
ダイアジノン	94.9	5.9	81.3	4.0	わずかにネガティブ	GC/MS
クロルデン	103.9	4.5	101.3	4.5	なし	GC/MS
ペルメスリン	81.4	7.2	83.3	5.1	なし	GC/MS
アセフェート	95.5	5.6	99.8	4.7	なし	LC/MS/MS
カルバリル	108.0	2.5	109.1	1.9	なし	LC/MS/MS
プロボクスル	97.0	3.19	6.7	2.5	なし	LC/MS/MS

表 1. トルエン添加を実施した場合の修正されたメソッドによる分散 SPE 特定の農薬への影響

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 5990-4247JAJP を検索してください。

その他の食品メソッド



Agilent Bond Elut QuEChERS キットを用いたウシ肝臓中残留キノロンの LC/MS/MS 分析 (文献番号 5990-4974EN)

はじめに

ウシ肝臓中に含まれる 11 種類のキノロン系抗生物質を測定するメソッドを開発しました：

- ウシ肝臓からの分析物の抽出と精製には、Agilent Bond Elut QuEChERS キットを使用しました。
- 抽出には、Bond Elut EN 抽出キットおよび 5 % 酢酸 (FA) アセトニトリル溶液を使用しました。
- 精製には、Bond Elut 分散 SPE キット (部品番号 5982-4921、25 mg C18 および 150 mg MgSO₄) を使用しました。
- 抽出したサンプルを LC/MS/MS で分析しました。
- 定量下限 (LOQ) は 5.0 ng/g でした。
- 5.0~400 ng/g の範囲で検量線の直線性が得られました。
- サンプル回収率は 62.0~113.1 % で、RSD (n=6) 値は 2.2~3.4 % でした。

機器条件

HPLC 条件

カラム：	Agilent ZORBAX ソルベントセーバプラス Eclipse Plus フェニルヘキシル LC カラム、150 mm x 3.0 mm、3.5 µm (部品番号 959963-312)		
流量：	0.3 mL/min		
カラム温度：	30 °C		
注入量：	10 µL		
移動相：	A) 5 mM 酢酸アンモニウム水溶液、pH 3.0 B) 1:1 メタノール/アセトニトリル		
ポストラン：	4 分		
グラジエント：	時間 (分)	% B	流量 (mL/min)
	0	15	0.3
	0.2	15	0.3
	8.0	75	0.3
	9.0	100	0.3
	11.5	停止	

MS 条件

極性：	ポジティブ
ガス温度：	325 °C
ガス流量：	8 L/min
ネブライザ：	50 psi
キャピラリ：	4,000 V

QuEChERS 抽出手順

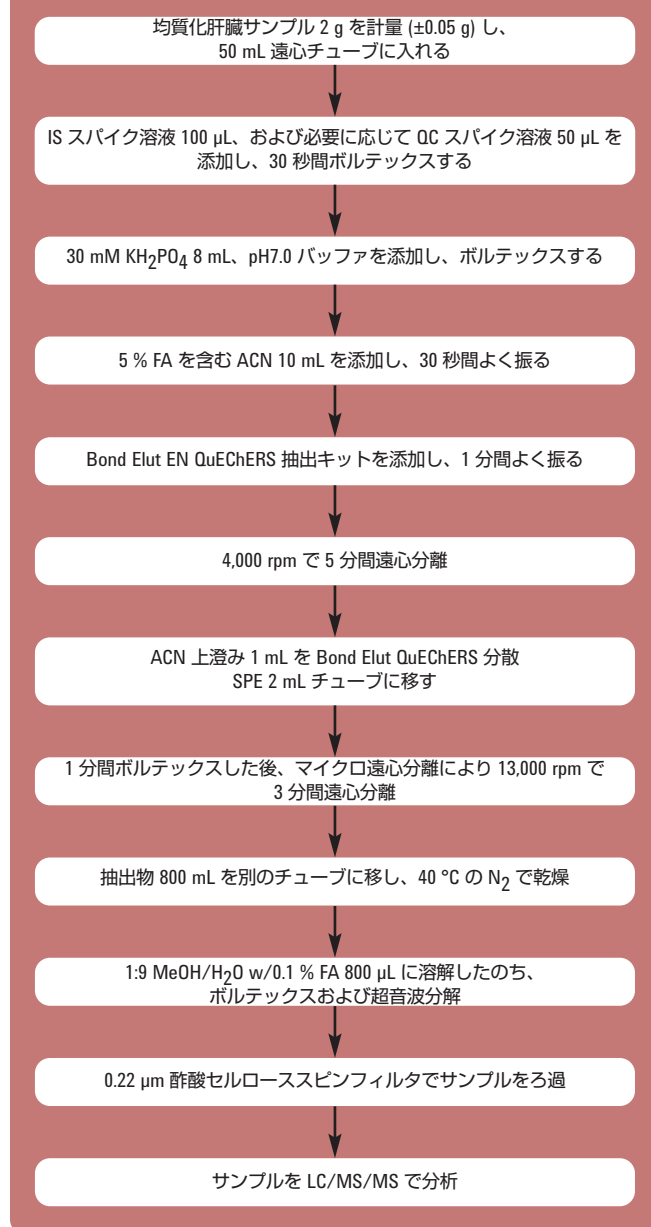


図 1: 抗生物質用の Agilent QuEChERS 手順のフローチャート

結果

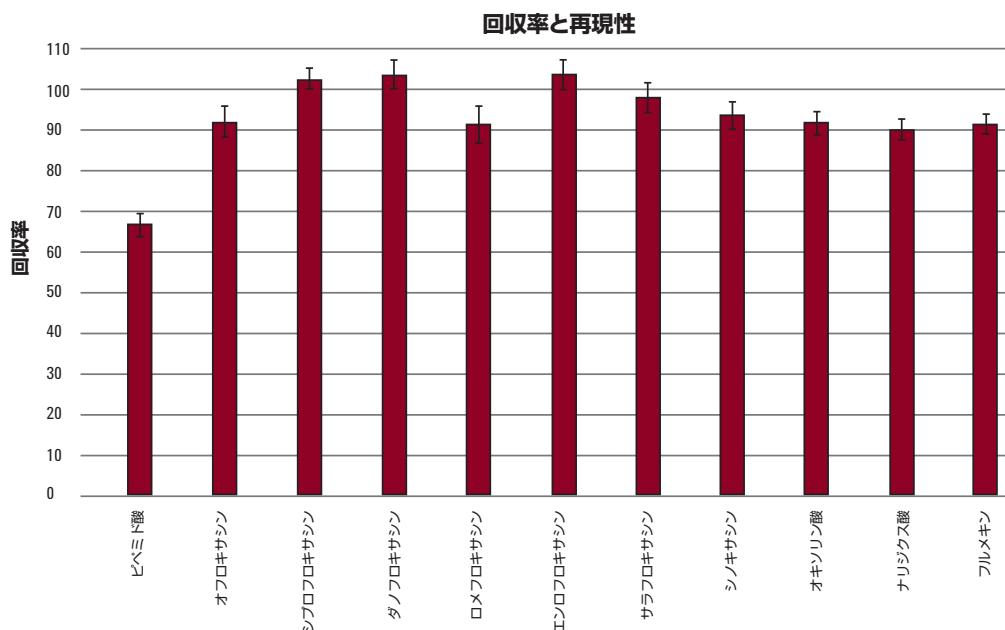


図 2: ウシ肝臓に含まれる抗生物質 11 種類の回収率

注文情報

Agilent Bond Elut QuEChERS EN 抽出キット、部品番号 5982-5650

Agilent Bond Elut QuEChERS 分散 SPE キット、部品番号 5982-4921、5982-4956

Agilent ZORBAX ソルベントセーブプラス Eclipse Plus フェニルヘキシル LC カラム、150 mm x 3.0 mm、3.5 μ m、部品番号 959963-312

Agilent スピンフィルタ、0.22 μ m 酢酸セルロース、部品番号 5185-5990

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 5990-4974EN を検索してください。

Agilent Bond Elut QuEChERS EN キットを用いた ウシ肝臓中残留スルホンアミドの LC/MS/MS 分析 (文献番号 5990-4975EN)

はじめに

ウシ肝臓中に含まれる 9 種類のスルホンアミド系抗生物質を測定するメソッドを開発しました：

- ウシ肝臓からの分析物の抽出と精製には、Agilent Bond Elut QuEChERS キットを使用しました。
- 抽出には、Bond Elut EN 抽出キットおよび 1 % 酢酸 (AA) を含むアセトニトリルを使用しました。
- 精製には、Bond Elut 脂質用分散 SPE キット 6 mL (150 mg PSA, 150 mg C18 および 900 mg MgSO₄) を使用しました。
- 抽出したサンプルを LC/MS/MS で分析しました。
- 定量下限 (LOQ) は 2.0 ng/g でした。
- 2.0~400 ng/g の範囲で検量線の直線性が得られました。
- サンプル回収率は 53.0~92.8 % で、RSD (n=6) 値は 2.1~16.8 % でした。

機器条件

HPLC 条件

Cカラム:	Agilent ZORBAX Eclipse Rapid Resolution HT Plus C18 LC カラム、50 X 3.0 mm、1.8 µm (部品番号 959941-302)		
流量:	0.3 mL/min		
カラム温度:	30 °C		
注入量:	10 µL		
移動相:	A) 5 mM 酢酸アンモニウム水溶液、pH 3.0 B) 1:1メタノール/アセトニトリル		
ポストラン:	3.5 分		
グラジエント:	時間 (分)	% B	流量 (mL/min)
	0	15	0.3
	0.2	15	0.3
	6.0	60	0.3
	6.01	100	0.3
	7.0	停止	

MS 条件

極性:	ポジティブ
ガス温度:	325 °C
ガス流量:	8 L/min
ネブライザ:	50 psi
キャピラリ:	4,000 V

QuEChERS 抽出手順

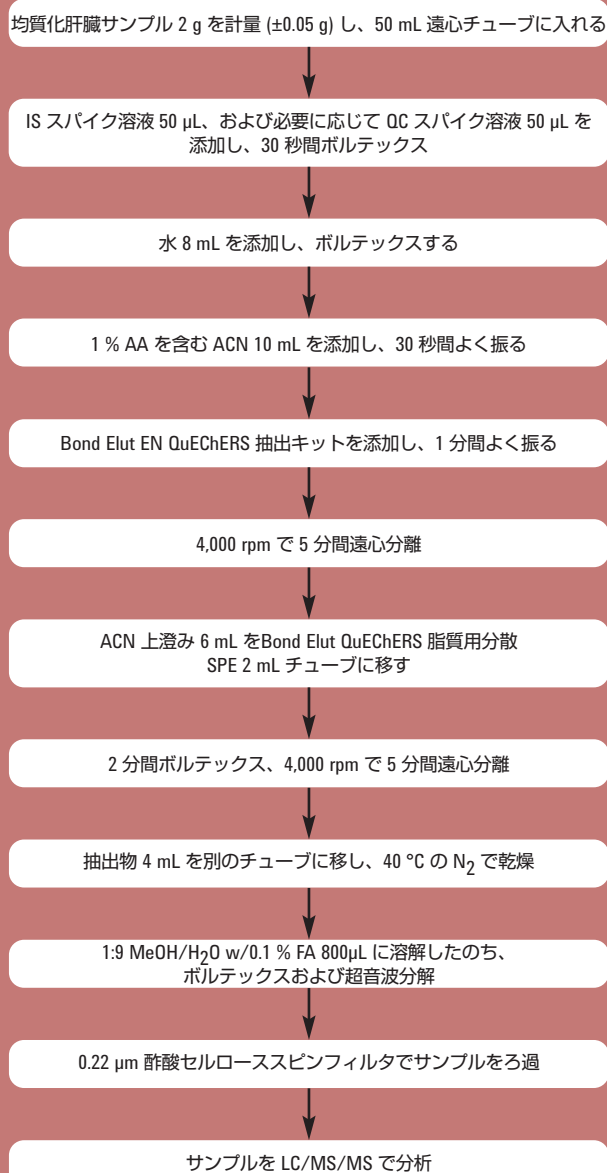


図 1: Agilent QuEChERS 手順のフローチャート

注文情報

Agilent Bond Elut QuEChERS EN 抽出キット、部品番号 5982-5650

Agilent Bond Elut QuEChERS EN 脂質用分散 SPE キット、部品番号 5982-5156

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

Agilent スピンフィルタ、0.22 µm 酢酸セルロース、部品番号 5185-5990

結果

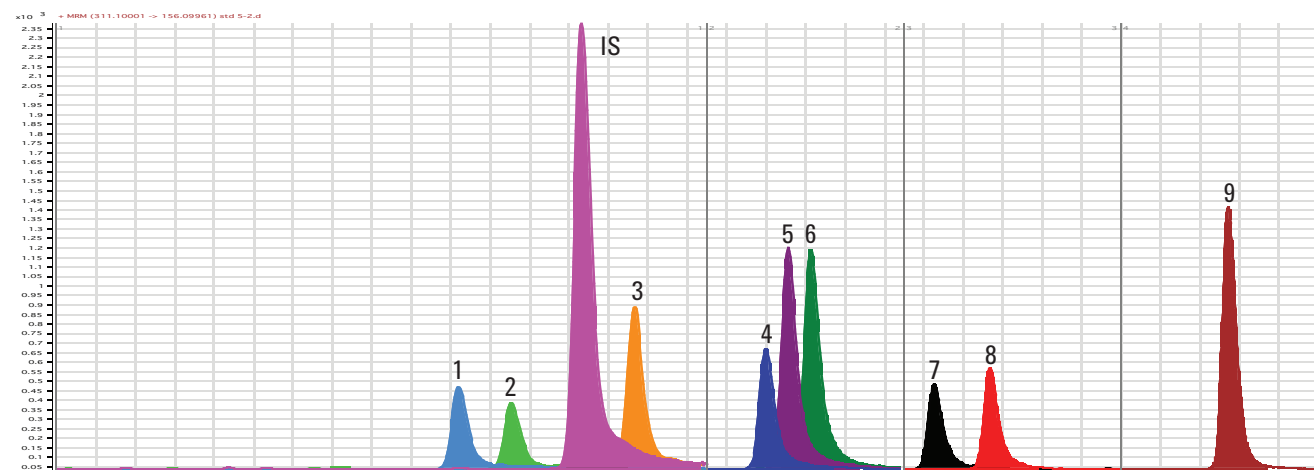


図 2. 100 ng/g 強化肝臓抽出物の LC/MS/MS クロマトグラム。ピーク番号：1. スルファジアジン、2. スルファチアゾール、3. スルファメラジン、4. スルファメチゾール、5. スルファメサジン、6. スルファメトキシピリダジン、7. スルファクロロピリダジン、8. スルファメトキサゾール、9. スルファジメトキシ、IS (内部標準)

化合物	低 QC (5 ng/g)		中 QC (100 ng/g)		高 QC (400 ng/g)	
	回収率	RSD	回収率	RSD	回収率	RSD
スルファジアジン	73.9	15.6	90.0	13.7	81.9	5.3
スルファチアゾール	62.9	16.8	75.3	8.4	67.9	5.8
スルファメラジン	77.6	11.5	92.8	6.6	82.0	4.2
スルファメチゾール	62.8	4.7	60.7	6.5	53.0	2.1
スルファメサジン	87.4	6.9	90.0	10.7	83.4	3.4
スルファメトキシピリダジン	81.8	9.4	84.8	8.1	76.4	2.9
スルファクロロピリダジン	84.2	10.0	78.6	6.3	73.8	3.6
スルファメトキサゾール	85.9	7.6	82.3	5.9	78.1	3.3
スルファジメトキシ	77.8	8.4	80.9	4.9	75.6	3.3

表 1. 定量結果- 回収率と再現性 (n=6)

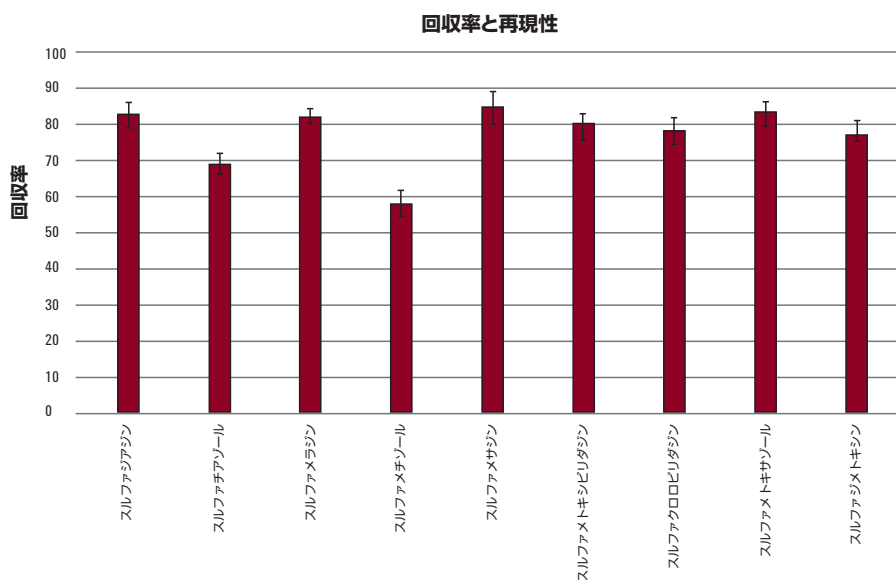


図 3. ウン肝臓に含まれるスルホンアミド 9 種類の回収率と再現性

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 5990-4975EN を検索してください。

Agilent Bond Elut SPE – お客様のラボをサポートする 幅広いサンプル前処理製品



QuEChERS キットは、アジレントの Bond Elut SPE 製品の一つです。アジレントの Bond Elut SPE 製品は、米国で厳密な ISO-9001 基準に沿って、世界的に有名な ZORBAX HPLC カラム充填材に用いられているものと同じプロセスで製造されています。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。

- 複数のカートリッジサイズから 96 ウェルプレートまでのフォーマットで利用できる、幅広いポリマー、シリカなどの吸着剤
- 単量体結合よりも優れた安定性を備え、幅広い溶媒にも対応できる三官能性シリカ結合
- 一貫した粒子サイズを確保する業界最高の品質管理プロセスにより、優れたフロースルーとパフォーマンスを実現
- あらゆる SPE の難問を解決する幅広い真空マニフォールドとアクセサリ

QuEChERS 標準実施要領のライブデモ (英語) 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
5990-4977JAJP



Agilent Technologies