

## SPE と LC/MS/MS を用いた飼料中の オラキンドックスの分析

### 著者

Congcong Zhang, Cuiling Wu,  
and Xia Yang  
Agilent Technologies, Inc.

### 概要

この研究では、SPE と LC/MS/MS 分析を用いた飼料中のオラキンドックスの定量分析用のメソッドを開発して検証しました。メタノール：水（5：95）により飼料からオラキンドックスを抽出した後、Agilent Bond Elut PPL で SPE によるクリーンアップを実施しました。今回のメソッドでは、飼料中のオラキンドックスのモニタリングにおいて、回収率と再現性に優れた信頼性の高いソリューションを提供します。

## 実験方法

### 機器メソッド

サンプルの分析には、Agilent 1260 Infinity II LC システムと Agilent 6470 トリプル四重極 LC/MS システムを連結して使用しました。MS には、Agilent Jet Stream エレクトロスプレーイオンソースを搭載しました。データの取り込みと解析には、Agilent MassHunter ワークステーションソフトウェアを使用しました。

### HPLC 条件

| パラメータ  | 設定値   |        |    |    |   |    |   |     |    |   |     |    |    |     |    |    |     |   |    |     |   |    |     |    |   |
|--------|---|--------|----|----|---|----|---|-----|----|---|-----|----|----|-----|----|----|-----|---|----|-----|---|----|-----|----|---|
| カラム    | Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18、100 × 2.1 mm、2.7 μm (p/n 685775-902)   |        |    |    |   |    |   |     |    |   |     |    |    |     |    |    |     |   |    |     |   |    |     |    |   |
| カラム温度  | 35 °C   |        |    |    |   |    |   |     |    |   |     |    |    |     |    |    |     |   |    |     |   |    |     |    |   |
| 注入量    | 5 μL  |        |    |    |   |    |   |     |    |   |     |    |    |     |    |    |     |   |    |     |   |    |     |    |   |
| 移動相    | A) 水 (0.1 % 酢酸)<br>B) ACN (0.1 % 酢酸)  |        |    |    |   |    |   |     |    |   |     |    |    |     |    |    |     |   |    |     |   |    |     |    |   |
| グラジエント | <table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>%A</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>95</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>0.5</td> <td>95</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>1.0</td> <td>85</td> <td>15</td> </tr> <tr> <td>5.0</td> <td>55</td> <td>45</td> </tr> <tr> <td>5.5</td> <td>2</td> <td>98</td> </tr> <tr> <td>7.5</td> <td>2</td> <td>98</td> </tr> <tr> <td>7.6</td> <td>95</td> <td>5</td> </tr> </tbody> </table> | 時間 (分) | %A | %B | 0 | 95 | 5 | 0.5 | 95 | 5 | 1.0 | 85 | 15 | 5.0 | 55 | 45 | 5.5 | 2 | 98 | 7.5 | 2 | 98 | 7.6 | 95 | 5 |
| 時間 (分) | %A  | %B     |    |    |   |    |   |     |    |   |     |    |    |     |    |    |     |   |    |     |   |    |     |    |   |
| 0      | 95  | 5      |    |    |   |    |   |     |    |   |     |    |    |     |    |    |     |   |    |     |   |    |     |    |   |
| 0.5    | 95  | 5      |    |    |   |    |   |     |    |   |     |    |    |     |    |    |     |   |    |     |   |    |     |    |   |
| 1.0    | 85  | 15     |    |    |   |    |   |     |    |   |     |    |    |     |    |    |     |   |    |     |   |    |     |    |   |
| 5.0    | 55  | 45     |    |    |   |    |   |     |    |   |     |    |    |     |    |    |     |   |    |     |   |    |     |    |   |
| 5.5    | 2   | 98     |    |    |   |    |   |     |    |   |     |    |    |     |    |    |     |   |    |     |   |    |     |    |   |
| 7.5    | 2   | 98     |    |    |   |    |   |     |    |   |     |    |    |     |    |    |     |   |    |     |   |    |     |    |   |
| 7.6    | 95  | 5      |    |    |   |    |   |     |    |   |     |    |    |     |    |    |     |   |    |     |   |    |     |    |   |

### MS 条件

| パラメータ     | 設定値           |
|-----------|---------------|
| ガス温度      | 300 °C        |
| ガス流量      | 7 L/min       |
| ネブライザ圧力   | 35 psi        |
| シースガスヒーター | 350 °C        |
| シースガス流量   | 11 L/min      |
| キャピラリー電圧  | 3,000 V (POS) |
| データ取り込み   | MRM (表 1 参照)  |

### サンプル抽出

手順を図 1 に示しています。

表 1. ターゲット化合物の MRM 条件

| 分析対象物    | プリカーサイオン (m/z) | プロダクトイオン (m/z) | フラグメンター電圧 (V) | CE (V) |
|----------|----------------|----------------|---------------|--------|
| オラキンドックス | 264            | 212            | 110           | 20     |
|          |                | 143            | 110           | 30     |

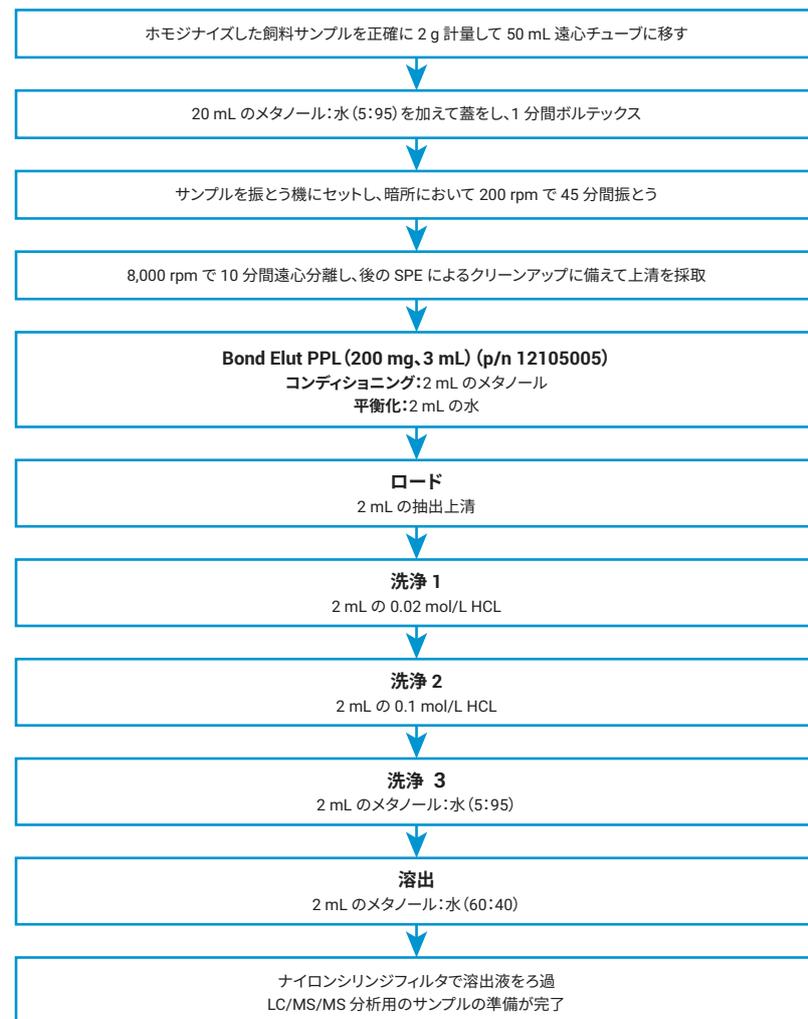


図 1. サンプル前処理のワークフロー図

## 結果と考察

今回のメソッドでは、25 ~ 1,000 ng/mL の範囲のオラキンドックスに対して良好な直線性が得られています (表 2 および図 2 ~ 4)。スパイクレベル 200、400、1,000 µg/kg において、回収率は 78 ~ 92 % の間 (RSD ≤ 3.6) でした。定量下限と検出下限はそれぞれ、200 µg/kg および 60 µg/kg です。

表 2. メソッドの回収率と RSD

| 飼料   | スパイクレベル (µg/kg) | 回収率 (%) | RSD% (n = 3) |
|------|-----------------|---------|--------------|
| 鶏用飼料 | 200             | 86.9    | 1.0          |
|      |                 | 87.7    |              |
|      |                 | 85.9    |              |
|      | 400             | 81.4    | 3.2          |
|      |                 | 86.2    |              |
|      |                 | 81.8    |              |
|      | 1,000           | 78.2    | 1.8          |
|      |                 | 81.2    |              |
|      |                 | 81.3    |              |
| 豚用飼料 | 200             | 89.0    | 1.3          |
|      |                 | 90.4    |              |
|      |                 | 91.3    |              |
|      | 400             | 81.8    | 3.6          |
|      |                 | 87.5    |              |
|      |                 | 83.2    |              |

## 結論

極性修飾したスチレンジビニルベンゼンポリマー SPE である Bond Elut PPL によるクリーンアップと HPLC/MS/MS を組み合わせたメソッドにより、オラキンドックスの分析において優れた回収率と再現性が得られています。今回のメソッドでは、鶏用飼料と豚用飼料の分析において優れた結果が得られました。粒子サイズの大きい Bond Elut PPL を使用すると、粘性の高い水系サンプルまたは微粒子を多く含んだ水系サンプルが通過しやすくなります。表面積が広く疎水性が強いため、高回収率で再現性の高い抽出が可能になります。

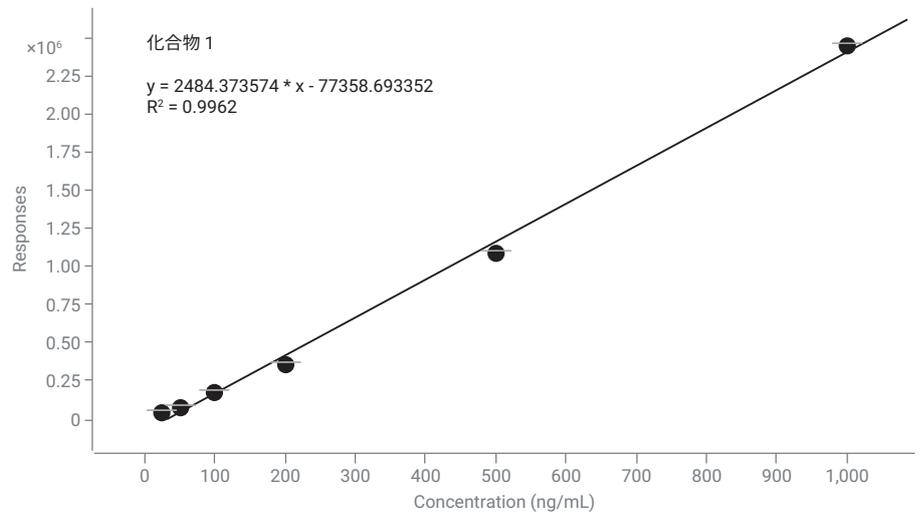


図 2. オラキンドックスの検量線

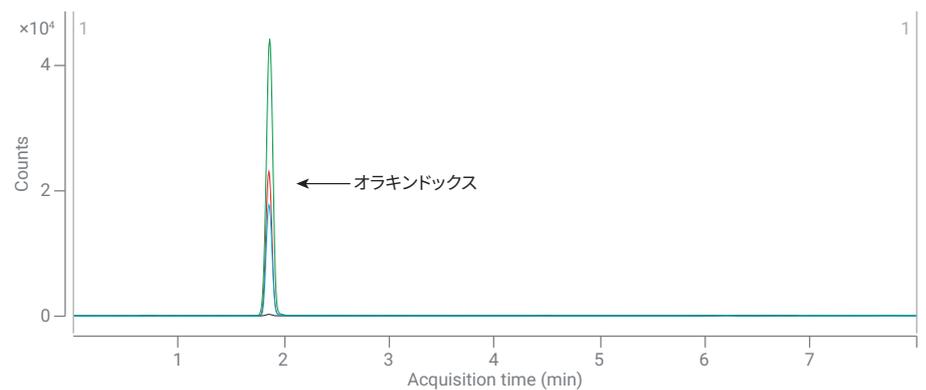


図 3. 200 ppb の標準原液 (緑)、鶏用飼料に 200 µg/kg でポストスパイク (赤)、鶏用飼料に 200 µg/kg でプレススパイク (青)、マトリックスブランク (黒) 中のオラキンドックスの MRM クロマトグラム

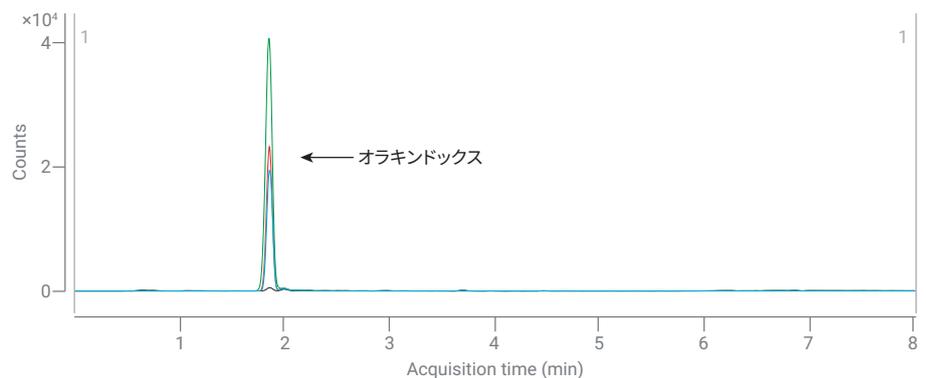


図 4. 200 ppb の標準原液 (緑)、豚用飼料に 200 µg/kg でポストスパイク (赤)、豚用飼料に 200 µg/kg でプレススパイク (青)、マトリックスブランク (黒) 中のオラキンドックスの MRM クロマトグラム

ホームページ

**[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)**

カスタマコンタクトセンター

**0120-477-111**

**[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)**

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、  
医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。  
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。

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc. 2020  
Printed in Japan, April 28, 2020  
5994-1942JAJP  
DE.5309259259

