

Agilent Captiva EMR-Lipid を用いた LC/MS/MS による豚肉、鶏卵、牛乳中の アセチルプロゲステロンの分析

著者

Cuiling Wu, Juan An, and
Limian Zhao
Agilent Technologies, Inc.

概要

本研究では、豚肉、鶏卵、牛乳中の 4 種類の人工アセチルプロゲステロンの定量分析のメソッドを開発し、検証しました。開発したメソッドでは Agilent QuEChERS 抽出キットの後に Agilent Captiva EMR-Lipid でクリーンアップして LC/MS/MS による分析を実施しました。このメソッドは新たなアプリケーション試験に信頼できるソリューションを提供し、回収率と再現性はほぼ満足のいくものでした。

実験方法

ターゲット化合物

このアプリケーションノートでは、酢酸フルオロゲストン (FGA)、酢酸メゲストロール (MA)、酢酸メレンゲステロール (MGA)、および酢酸クロルマジノン (CMA) の4種類のターゲット化合物を対象としました。

機器メソッド

サンプルは、Agilent 1290 Infinity II バイナリポンプ (G7120A)、Agilent 1290 Infinity II 高性能オートサンプラ (G7167B)、および Agilent 1290 Infinity II サーモスタットカラムコンパートメント (G7116B) で構成される Agilent 1290 Infinity II LC システムで分析しました。この UHPLC システムを、Jet Stream エレクトロスプレーイオンソースを備えた Agilent G6470 トリプル四重極 LC/MS システムに接続して使用しました。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, 3.0 × 100 mm, 2.7 μm (p/n 685975-302)												
流量	0.4 mL/min												
カラム温度	40 °C												
注入量	10 μL												
移動相	A) 2 mM 酢酸アンモニウムおよび 0.1 % ギ酸含有水溶液 B) 0.1 % ギ酸含有アセトニトリル												
グラジエント	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (min)</th> <th>%B</th> <th>流量 (mL/min)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>60</td> <td>0.4</td> </tr> <tr> <td>4.0</td> <td>90</td> <td>0.4</td> </tr> <tr> <td>6.0</td> <td>100</td> <td>0.4</td> </tr> </tbody> </table>	時間 (min)	%B	流量 (mL/min)	0	60	0.4	4.0	90	0.4	6.0	100	0.4
時間 (min)	%B	流量 (mL/min)											
0	60	0.4											
4.0	90	0.4											
6.0	100	0.4											
ポストタイム	2.0 分												

MS 条件

パラメータ	設定値
ガス温度	250 °C
ガス流量	7 L/min
ネブライザ	35 psi
シースガスヒーター	325 °C
シースガス流量	11 L/min
キャピラリ	3,500 V (POS) 0 V (NEG)
データ取り込み	MRM は表 1 のとおり

表 1. ターゲット化合物 MRM 条件

分析対象物	極性	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 (V)	CE (V)
CMA	POS	405.5	345	130	10
			309.1	130	15
			301	130	20
MGA	POS	397.4	337.2	138	13
			279.1	138	20
MA	POS	385.5	267.1	138	20
			224.1	138	30
FGA	POS	407.4	285.1	138	25
			267	138	25
			225.1	138	30

サンプル抽出

サンプル前処理には以下の製品を使用しました。

- Agilent Captiva EMR-Lipid、3 mL カートリッジ、300 mg (p/n 5190-1003)
- Agilent Vac Elut 20 大型マニホールド、16 × 150 mm 試験管用コレクションラック付き (p/n 12234104)
- Agilent Bond Elut QuEChERS 抽出キット、動物用医薬品、バッファなし (p/n 5982-0032)
- 50 mL チューブ用セラミックホモジナイザ (p/n 5982-9313)
- Agilent Captiva ナイロンシリンジ フィルタ、0.2 μm、13 mm (p/n 5190-5133)

図 1 に手順を示します。

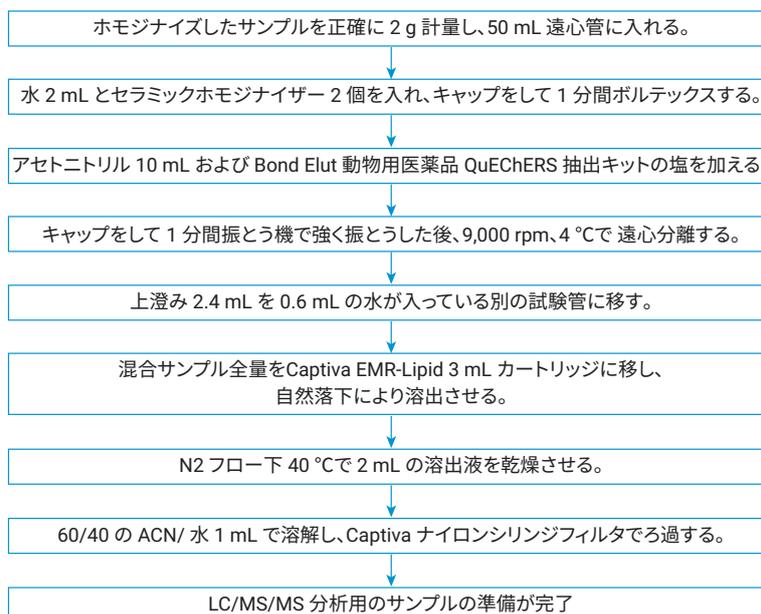


図 1. サンプル前処理のワークフローチャート。*豚肉と鶏卵のマトリックスについては、ホモジナイズしたサンプル 2 g と水 2 mL を抽出に使用しました。牛乳の場合、牛乳 10 mL を抽出に使用しました。牛乳のサンプルには水は加えていません。

結果と考察

表 2. メソッドの回収率および RSD

分析対象物	添加濃度 (ng/g)	豚肉		ブタ肝臓		ブタ腎臓		鶏卵		牛乳	
		Rec (%)	RSD (%)								
FGA	1	114.2	4.7	90.2	2.5	93.9	5.9	93.7	2.7	87.1	0.6
	2	103.6	4.7	84.3	4.8	96.0	4.9	101.7	4.3	92.6	7.8
	10	99.7	8.2	95.1	3.5	112.8	1.2	107.4	9.3	92.1	2.7
CMA	1	104.0	6.3	97.1	9.9	88.6	4.3	94.4	3.3	98.7	2.8
	2	108.7	5.6	100.7	4.8	97.8	5.4	94.4	4.8	99.6	4.1
	10	103.0	2.3	98.5	2.3	102.0	9.8	99.8	6.3	92.9	2.4
MA	1	95.7	3.3	80.1	2.1	91.1	9.6	87.1	2.8	103.1	1.1
	2	112.2	3.5	91.6	3.6	105.7	9.4	98.8	8.2	102.7	1.3
	10	111.6	5.3	101.3	5.5	102.4	9.8	98.7	5.0	80.8	0.4
MGA	1	93.3	7.3	96.7	5.8	96.0	4.0	90.1	7.6	88.1	8.5
	2	109.0	4.5	97.7	9.3	104.2	3.3	99.1	6.6	85.2	4.3
	10	110.6	3.3	108.3	8.8	103.7	8.2	99.1	5.2	92.6	2.2

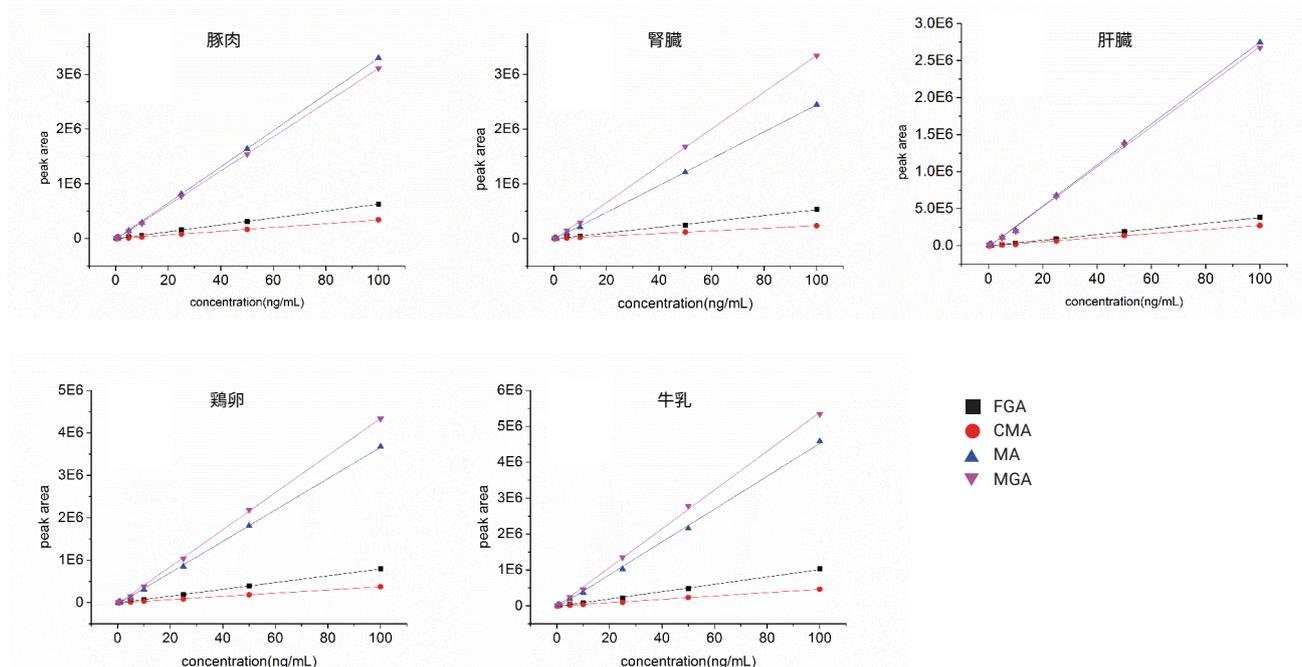


図 2. サンプルマトリックスの検量線

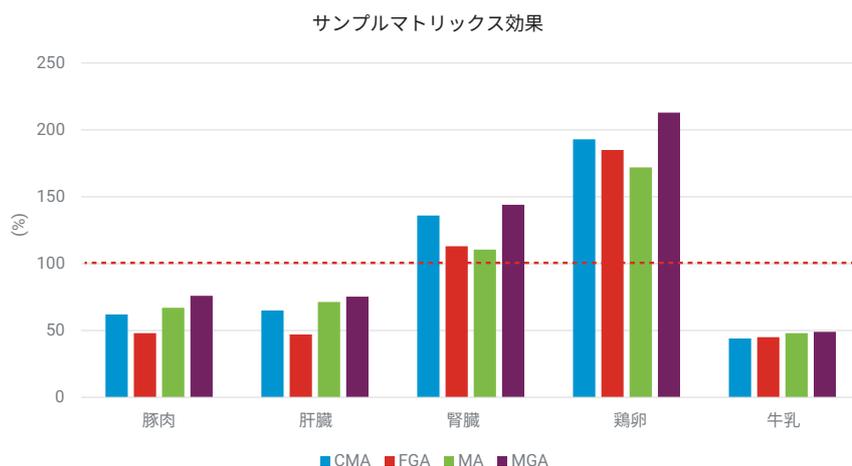


図 3. サンプルマトリックスのマトリックス効果

結論

肉、鶏卵および牛乳中の 4 種類のアセチルプロゲステロン化合物を LC/MS/MS を使用して迅速かつ高い信頼性で分析するために、Agilent QuEChERS 抽出キットの後に Agilent Captiva EMR-Lipid によるクリーンアップを実施する新規メソッドを確立しました。開発したメソッドにより、分析対象物の優れた回収率と再現性、効率的なマトリックス除去が実現し、ワークフローを簡素化できました。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

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, May 28, 2020
 5994-2007.JAJP
 DE.2818865741