

食用油中の多環芳香族炭化水素化合物 13 種の測定

Captiva EMR-Lipid クリーンアップと GC/MS/MS

著者

Limian Zhao
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、5 種類の食用油に含まれるヘビー多環芳香族炭化水素 (PAH) (4 環以上) 残留物を分析するための多成分残留分析メソッドを開発し、その有効性を検証した結果を紹介します。油サンプルには、カボチャ種子油、オリーブ油、アボカド油、アーモンド油、およびブドウ種子油を使用しました。油サンプルを、20:80 酢酸エチル/アセトニトリルを抽出溶媒とした液液抽出 (LLE) で抽出した後、Captiva EMR-Lipid と Bond Elut Jr PSA の連結カートリッジによるパススルークリーンアップを行いました。その後、クリーンアップしたサンプル溶出液をイソオクタンで逆抽出して脱水し、GC/MS/MS で分析しました。EMR-Lipid と PSA を組み合わせたパススルークリーンアップにより、油マトリックスが効率よく選択的にクリーンアップされ、95 % 以上の油共溶出残留物が除去されました。これによってサンプルのバックグラウンドノイズが大幅に抑制されたことで、大容量注入メソッドを使用した GC/MS/MS 分析が可能になり、欧州委員会の規制で義務付けられている定量下限 (LOQ) (0.9 ~ 2 ng/g) を十分な定量真度と定量精度で満たすことができました。

はじめに

PAH は、熱力学的に安定した縮合芳香族環構造を持つ、遍在毒性化合物の大分類です。PAH 化合物は、縮合芳香環の数に応じてライト PAH (2～3 環) とヘビー PAH (4～6 環) に分類されます。ヘビー PAH はライト PAH より安定性と毒性が高くなります。食用油に関しては、直火を使用した種子および穀粒の乾燥プロセスが PAH の発生源として最有力視されています。種子のロースト加工で用いられる高温も、汚染原因の 1 つとして考えられています。また、PAH には、その高い脂溶性により油中に生体蓄積しやすい性質があるうえ、変異原性や発がん性が疑われるか実証されているものもあります。こういった懸念から、これらの化合物は世界各地で調査が行われ、規制対象物質として指定されています。例えば、米国食品医薬品局 (FDA) では、魚介類中の PAH を low-ppb レベルで分析することを義務付けています¹。また、欧州委員会 (EC) では、4 種類のヘビー PAH 化合物 (ベンゾ(a)ピレン、ベンゾ(a)アントラセン、ベンゾ(b)フルオランテン、およびクリセソ) に対する分析メソッドの基準を、LOQ 0.9 µg/kg、検出下限 (LOD) 0.3 µg/kg として定めています²。

油中の PAH、特にヘビー PAH の分析では、主に次のことが課題となります。

- 油マトリックスから、油共溶出物を最小限に抑えながら PAH 成分を抽出すること
- 選択的なサンプル抽出クリーンアップにより、ターゲット PAH 化合物を維持しながら、不要な油共溶出物を除去すること

抽出効率を高め、油マトリックスをよりクリーンにするための手段として、メソッドでは、大量の溶媒を用いた複数回の抽出、長い抽出時間、SPE や凍結または GPC によるクリーンアップ、大量の抽出液を濃縮するための反復的な乾燥が一般的に行われています^{3~7}。

Agilent Enhanced Matrix Removal—Lipid (EMR—Lipid) dSPE クリーンアップは、2015 年の発売以来、大きな注目を集めてきました。EMR—Lipid dSPE の充填剤は、脂質の非分岐炭化水素鎖と選択的に相互作用し、ターゲット成分の大部分を、以降の分析に用いる溶液中に残すことができます。このため、脂肪の多い食品マトリックス中の複数種類の多成分残留分析に最適です。Captiva EMR—Lipid カートリッジでは、溶媒の活性化に必要な水が 20% で、従来の Bond Elut EMR—Lipid (50%) より少なく済みす。これが、ワークフローを簡略化し、クリーンアップ時の疎水性化合物の回収率を高めるうえで役立ちます⁸。一方、1 級-2 級アミン (PSA) 充填剤は、脂肪酸と効率的に相互作用するた

め、Captiva EMR—Lipid に続く追加クリーンアップに有効であり、中性 PAH の回収率に影響を与えることもありません。Bond Elut Jr PSA は、EMR—Lipid カートリッジに簡単に連結できます。加圧または吸引により、サンプルを 2 種類の充填剤に連続的に通し、油マトリックスの最適なクリーンアップを実現できます。

今回の研究では、Captiva EMR—Lipid と Bond Elut Jr PSA の連結カートリッジによるパススルークリーンアップを使用してサンプル前処理を行った後、油に含まれる 13 種類の PAH 化合物を GC/MS/MS で分析して、このメソッドの有効性を検討しました。メソッドの開発時には、食品中の PAH を測定するため以前開発した、Bond Elut EMR—Lipid dSPE クリーンアップを用いたメソッドの制限を解消することを目指しました^{9, 10}。図 1 に、今回の研究で調査した高分子量 PAH の構造と LogP 値を示します。

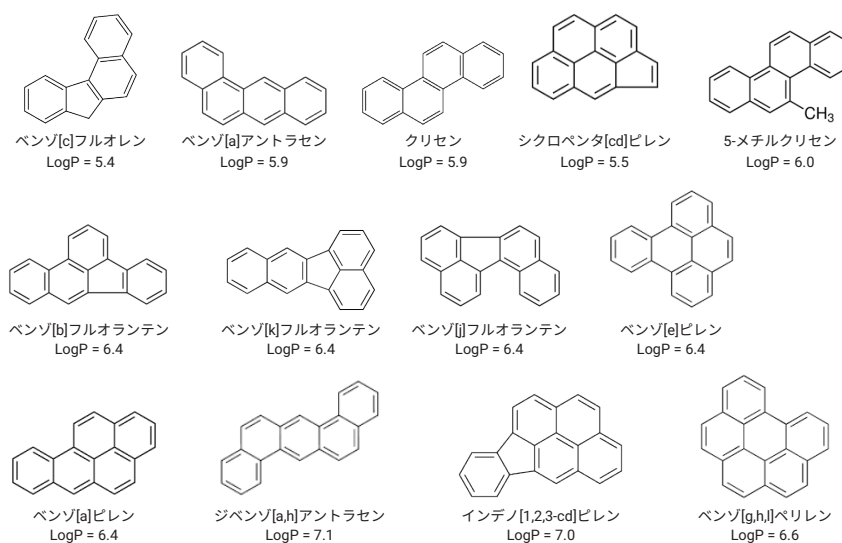


図 1. ヘビー PAH 成分の構造と LogP

実験方法

材料および試薬

PAH 標準混合試料 (部品番号 5191-4508) および重水素化 PAH 内部標準 (IS) 混合試料 (部品番号 5191-4509) は、Agilent Technologies, Inc. から入手しました。HPLC グレードのアセトニトリル (ACN)、アセトン、および酢酸エチル (EtOAc) は Honeywell 社 (米国ミシガン州マスキーゴン) から、また試薬グレードのイソオクタンは Sigma-Aldrich 社 (米国ミズーリ州セントルイス) から購入しました。

溶液および標準試料

PAH 標準混合試料原液をアセトンで希釈し、2 種類の濃度 (4 µg/mL および 250 ng/mL) の作業用溶液を調製しました。また、IS 混合試料をアセトンで希釈し、10 µg/mL の IS 作業用溶液を調製しました。どちらの作業用溶液も茶色のガラス製バイアルに入れ、4 °C の冷蔵庫内で保管しました。

100 mL の EtOAc と 400 mL の ACN を混合して 20:80 EtOAc/ACN 抽出溶媒を調製し、室温で保管しました。また、200 mL の抽出溶媒と 50 mL の水を混合して 16:64:20 ACN/EtOAc/水溶出液を調製し、室温で保管しました。

実験装置と材料

今回の研究には、Agilent 7890B GC と Agilent 7000D トリプル四重極 GC/MS を組み合わせて使用しました。GC システムには、エレクトロニックニューマティクスコントロール (EPC)、空気冷却式マルチモード注入口 (MMI)、Agilent 7693A オートサンブラ (ALS)、および AUX EPC モジュールで制御されるパージ付き Ultimate ユニオンに基づくバックフラッシュシステムを搭載しました。データの取得と分析には、Agilent MassHunter ワークステーションソフトウェアを使用しました。

サンプル前処理には、Centra CL3R 遠心分離機 (Thermo IEC 社米国マサチューセッツ州)、Multi Reax 試験管振とう機 (Heidolph 社、ドイツ シュヴァーバツハ)、ピペットおよびリピーター (Eppendorf 社、米国ニューヨーク州)、Agilent 加圧式マニホールド 48 本用 (PPM-48) (部品番号 5191-4101)、Captiva EMR—Lipid カートリッジ、6 mL、600 mg (部品番号 5190-1004)、および Bond Elut Jr PSA、500 mg (部品番号 12162042B) を使用しました。

分析条件

GC/MS/MS 機器の条件は、以前のアプリケーションノートで取り上げたメソッドにもとづいて確立しました¹¹。表 1 に GC/MS/MS の使用条件を、表 2 に PAH の dMRM メソッドパラメータを示します。

表 1. Agilent 7890B GC および Agilent 7000D GC/MS/MS の使用条件

パラメータ	設定値
カラム 1	Agilent J&W DB-EUPAH、30 m × 0.25 mm、0.25 µm (p/n 122-9632)、フロント MM 注入口から AUX EPC 4
カラム 2	Agilent J&W Silcotek 不活性化チューブ、1.36 m × 0.15 mm、0 µm (p/n 160-7625-5)、AUX EPC 4 から MSD
キャリアガス	ヘリウム
モード	定流量
カラム 1 流量	1.106 mL/min
カラム 2 流量	1.942 mL/min
注入口	MMI 注入口
注入モード	大容量注入 (溶媒ベント)
注入量	5 µL
注入口温度グラジエント	85 °C で 0.03 分間保持、600 °C /min で 325 °C まで昇温、5 分間保持
溶媒排出	注入口温度: 85 °C、バンド圧力: 5 psi、ベント流量: 100 mL/min、0.03 分間ベント
注入口ライナ	ウルトラライナート、内径 4 mm、シングルテーパ、ウール入り、p/n 5190-2293
オープン温度プログラム	80 °C で 1 分間保持、25 °C /min で 200 °C まで昇温、その後 8 °C /min で 335 °C まで昇温、9.325 分間保持
最高オープン温度	340 °C
分析時間	32 分
バックフラッシュ条件	ポストラン 2 分間 オープン温度 335 °C AUX EPC 圧力 50 psi、注入口圧力 2 psi
トランスファーライン温度	320 °C
イオン源温度	320 °C (Xtr 350 EI イオン源)
四重極温度	150 °C
データモニタリング	ダイナミック MRM モード
溶媒待ち時間	3 分
ゲイン係数	20

サンプル前処理

食用油を計量 (2.5 g) して 50 mL 遠心分離チューブに入れ、必要に応じて標準溶液と IS 溶液をスパイクしました。次に、サンプルをボルテックスミキサーで 1 分間攪拌して十分に混合し、15 分間平衡化しました。その後、油サンプルを図 2 の手順に従って前処理しました。この手順は、大まかに次の 3 つの部分で構成されています。

1. 2 段階の液液抽出 (LLE) によるサンプル抽出
2. Captiva EMR—Lipid と Bond Elut Jr PSA の連結カートリッジによるサンプル抽出液のパススルークリーンアップ
3. 後処理としての、イソオクタンでの逆抽出 (BE) による脱水

ワークフロー全体で、元のサンプル濃度は 4 倍に希釈されました。

マトリックス共溶出物の除去率の評価

サンプルの共溶出残留物の重量測定によって、マトリックス除去を調査しました。共溶出残留物の重量データは、最終的なサンプル抽出液 1 mL に対する重量として収集し、希釈係数で適宜補正しました。

Captiva—EMR のクリーンアップ効率は、サンプル抽出液 1 mL の乾燥後に残った残留物の量として視覚的に確認することもできます。なお、「クリーンアップなし」は、抽出とイソオクタンによる BE 後に収集されたサンプル抽出液を指します (クリーンアップ未実行)。「EMR—Lipid+PSA クリーンアップ」は、抽出後に、Captiva EMR—Lipid と Bond Elut Jr PSA の連結カートリッジによるクリーンアップとイソオクタンによる BE を行ったサンプル抽出液を指します。サンプルは 2 回繰り返し収集し (n = 2)、その平均重量をもとにマトリックス除去率を求めました。

表 2. 分析した PAH と、各 PAH のリテンションタイム (RT) および MS/MS 条件

PAH 化合物	RT (分)	定量用の MS/MS (m/z)	CE (V)	確認用の MS/MS (m/z)	CE (V)
ベンゾ[c]フルオレン	16.49	215.8 -> 214.8	50	215.8 -> 212.8	50
ベンゾ[a]アントラセン-D ₁₂	18.96	240 -> 240	50	240 -> 240	50
ベンゾ[a]アントラセン	19.05	228.1 -> 226.1	30	228.1 -> 224.1	35
クリゼン-D ₁₂	19.22	240.1 -> 236.1	35	240.1 & 238.1	50
クリゼン	19.32	228.1 -> 226.1	30	226.1 -> 224.1	40
シクロペンタ[cd]ピレン	19.33	226 -> 226	50	226 -> 225	50
5-メチルクリゼン	20.59	241.8 -> 240.8	50	241.8 -> 238.8	50
ベンゾ[b]フルオランテン-D ₁₂	22.3	264 -> 264	50	264 -> 262	50
ベンゾ[b]フルオランテン	22.38	252.1 -> 250.1	30	252.1 -> 252.1	50
ベンゾ[k]フルオランテン-D ₁₂	22.38	264.1 -> 264.1	50	264.1 -> 262.1	50
ベンゾ[k]フルオランテン	22.45	252.1 -> 252.1	50	252.1 -> 250.1	50
ベンゾ[j]フルオランテン	22.55	251.8 -> 251.8	50	251.8 -> 249.8	50
ベンゾ[e]ピレン	23.5	251.8 -> 251.8	50	251.8 -> 249.8	50
ベンゾ[a]ピレン-D ₁₂	23.57	264 -> 264	50	264 -> 262	50
ベンゾ[a]ピレン	23.66	252 -> 250	50	125.1 -> 124.1	10
ジベンゾ[a,h]アントラセン-D ₁₄	27.28	292 -> 292	50	292 -> 290	50
ジベンゾ[a,h]アントラセン	27.44	277.8 -> 277.8	50	277.8 -> 275.8	50
インデノ[1,2,3-cd]ピレン-D ₁₂	27.41	288 -> 288	50	288 -> 286	50
インデノ[1,2,3-cd]ピレン	27.54	277 -> 277	50	276 -> 274	50
ベンゾ[g,h,i]ペリレン-D ₁₂	28.97	287.8 -> 287.8	50	287.8 -> 285.8	50
ベンゾ[g,h,i]ペリレン	29.12	275.8 -> 275.8	50	275.8 -> 273.8	10

メソッドバリデーション

最適化されたサンプル前処理メソッドを、カボチャ種子油中の成分の回収率、定量真度と定量精度、LOQ、および検量線の直線性の観点から検証しました。その後、このメソッドの LOQ レベルでの回収率と再現性を、オリーブ油、アボカド油、ブドウ種子油、およびアーモンド油でクロス検証しました。まず、カボチャ種子油中濃度 1、2、5、10、20、50、100、250、400、および 500 ng/g の標準溶液を使用して検量線を作成しました。カボチャ種子油中濃度が LOQ レベル (0.9 ng/g)、低濃度 (2 ng/g)、中濃度 (10 ng/g)、および高濃度 (100 ng/g) の 4 種類の QC サンプルをそれぞれ 6 回測定し、検量線をもとに定量しました。次に、メソッドをクロス検証するため、他の 4 種類の油について、LOQ レベル (0.9 ng/g) と低濃度 (2 ng/g) の 2 種類の濃度の QC サンプルを 6 回測定し、回収率と再現性を評価しました。成分の同定と定量は、リテンションタイムと MRM トランジションから測定しました。

結果と考察

EMR—Lipid および PSA の充填剤

EMR—Lipid の充填剤は、サイズ排除と疎水性相互作用を組み合わせた画期的な結合相を採用しており、脂質除去の選択性と効率性に優れています。EMR—Lipid 充填剤のポアには、脂質様分子の非分岐炭化水素鎖のみが入ることができ、これらの分子が疎水性相互作用によってポア内に保持されます。脂質様構造を持たないターゲット成分は充填剤のポアに入ることができず、その後の分析に用いる溶媒中に残ります。その結果、EMR—Lipid 充填剤は、高い成分回収率を達成し、多くの脂質クラスの脂質を効率的に除去することができます。ただし、脂肪酸分子、特に短鎖脂肪酸との相互作用が不安定なため、脂肪酸の除去能力は限定的です。

一方、PSA は、酸性化合物との効率的な相互作用により脂肪酸を除去することのできる充填剤です。PSA 充填剤は、果物および野菜中の酸のクリーンアップに広く使用されていますが、酸性成分の回収率に悪影響をおよぼす傾向にあります。ただし、ターゲット成分が PAH のような中性化合物の場合は、PSA 充填剤を用いることで、ターゲット成分の回収率を損なうことなくクリーンアップ効果を高めることができます。

サンプル前処理の最適化

メソッドは、サケおよび牛肉中の PAH の分析メソッドをベースに開発しました¹²。ベースとしたメソッドは、サケおよび牛肉マトリックスには有効でしたが、カボチャ種子油など複雑な油マトリックスではそれほど良好な結果は得られませんでした。除去されなかったマトリックス干渉物質がベースラインの上昇を引き起こし、油中でのメソッド感度が低下しました。目的とする検出/定量下限を達成するためには、さらなるクリーンアップが必要でした。

PSA 充填剤を使用することで、中性の PAH 化合物に悪影響を与えることなく、EMR-Lipid によるクリーンアップを補強できました。Bond Elut Jr PSA カートリッジは Captiva EMR-Lipid カートリッジと簡単に連結でき、連続クリーンアップを 1 ステップで行えます (図 3)。このように Jr PSA を利便的に使用することにより、サンプル前処理ステップを増やすことなく、追加のクリーンアップを容易に行えました。ただし、Jr PSA カートリッジの連結により自然落下での溶出が困難になったため、溶出を開始して流量を一定に保つために、加圧または吸引などの操作が必要でした。

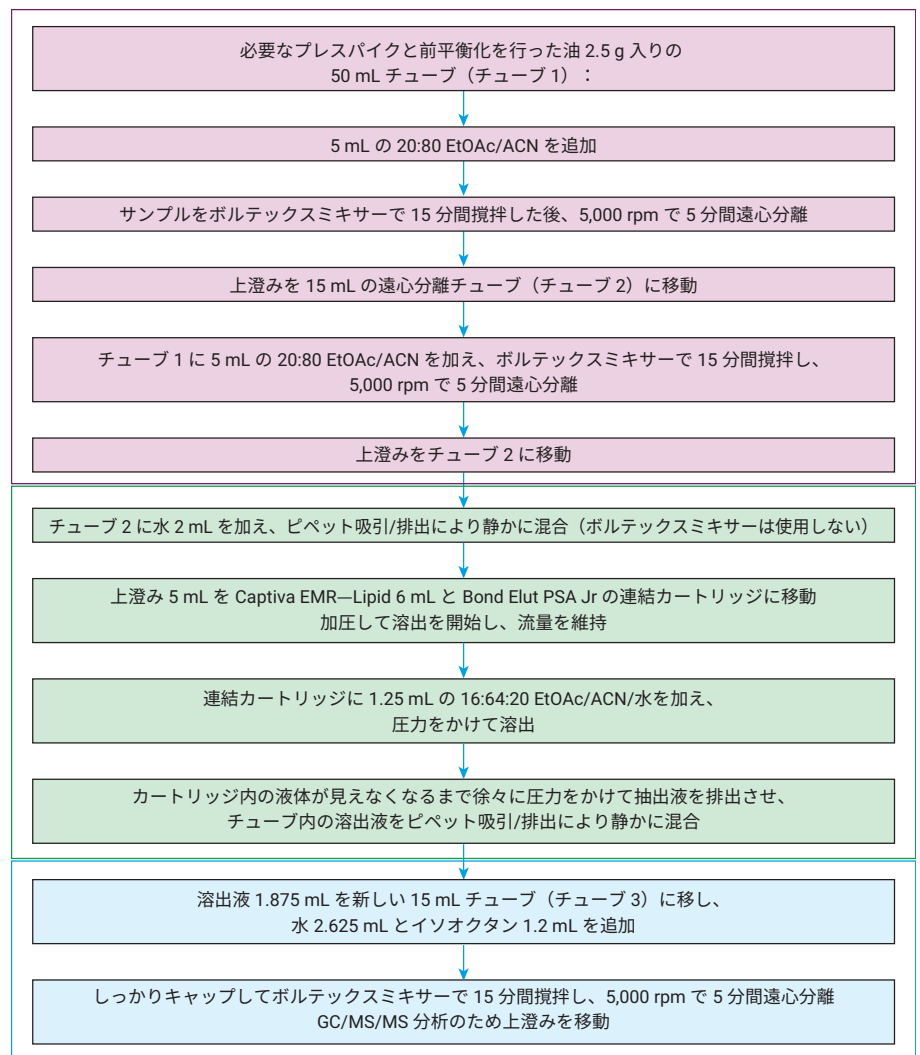


図 2. 液液抽出に続いて Agilent Captiva EMR-Lipid と Bond Elut Jr PSA の連結カートリッジによるクリーンアップを用いた食用油の前処理手順のフロー図

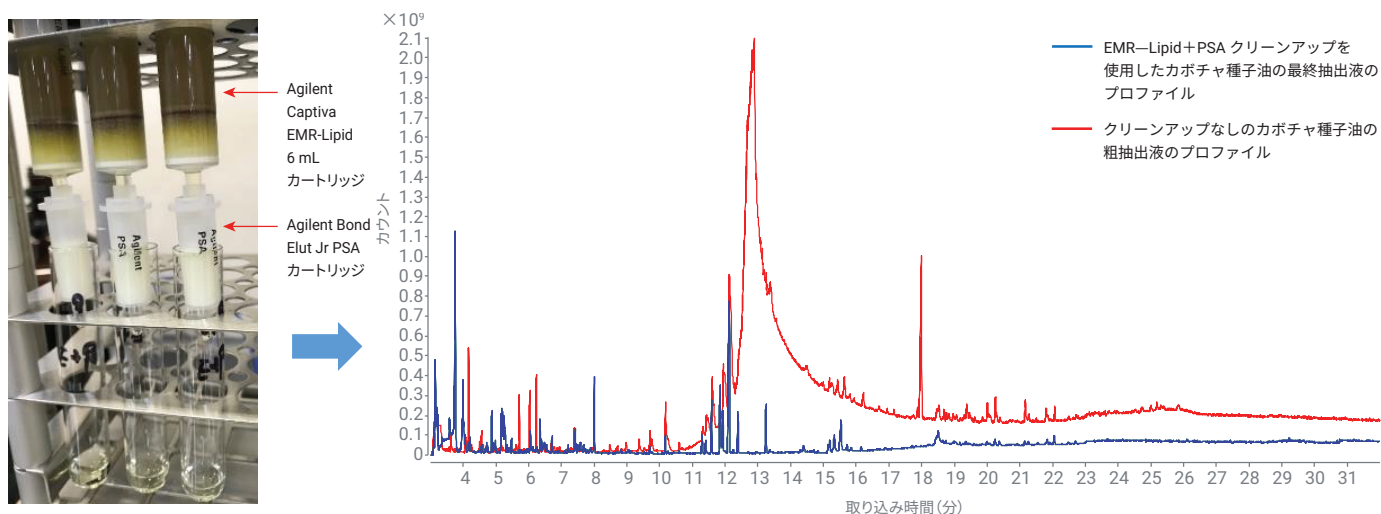


図 3. Agilent Captiva EMR-Lipid と Bond Elut Jr PSA を連結することにより、カボチャ種子油マトリックスを効率的にクリーンアップできます。左：連結したカートリッジ、右：クリーンアップ効率を示す GC/MS フルスキャン

メソッドバリデーション

定量メソッドの検証では、LOD、検量線の直線性、3つのスパイク濃度での成分の真度および精度が評価基準になります。今回の研究では、定量成分として8種類のIS化合物（ベンゾ[a]アントラセン-D₁₂、クリセン-D₁₂、ベンゾ[b]フルオランテン-D₁₂、ベンゾ[k]フルオランテン-D₁₂、ベンゾ[a]ピレン-D₁₂、ジベンゾ[a,h]アントラセン-D₁₄、インデノ[1,2,3-cd]ピレン-D₁₂およびベンゾ[g,h,i]ペリレン-D₁₂）を使用し

た。図4に、マトリクスブランクと、カボチャ種子油中にLOQレベル（0.9 ng/g）で含まれる重要なPAH化合物のクロマトグラムを示します。

表3に、このメソッドの、カボチャ種子油における定量結果を示します。また、図5Aは、最適化されたメソッドにより4種類のスパイク濃度で得られたカボチャ種子油中のPAH化合物の回収率データです。図5Bは、4種類の食用油において低スパイク濃度（0.9 および

2 ng/g）で得られた回収率データです。これらの油には、オリーブ油、アボカド油、ブドウ種子油、およびアーモンド油を使用しました。

ヘビー PAH 化合物は疎水性が高く、logP は5を超えています。この特性により、油マトリクスからの抽出が非常に困難になります。また、図5に示すデータを見るかぎり、スパイク濃度が高いほど、またPAHの疎水性が高いほど、回収率が低下しています。

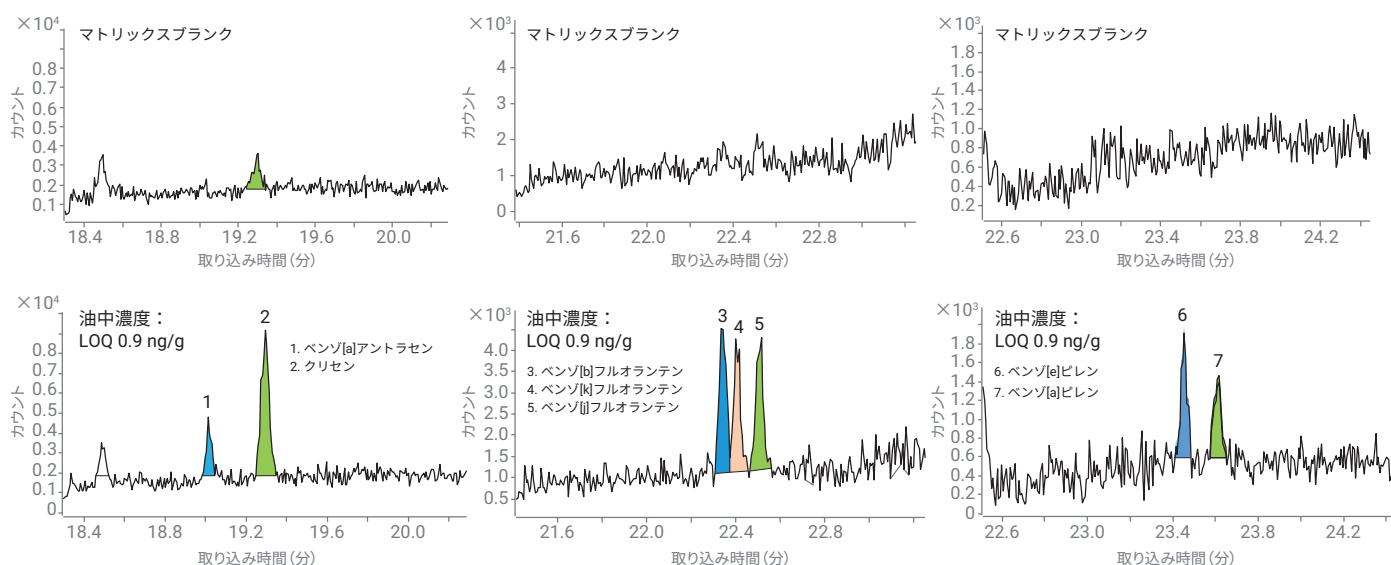


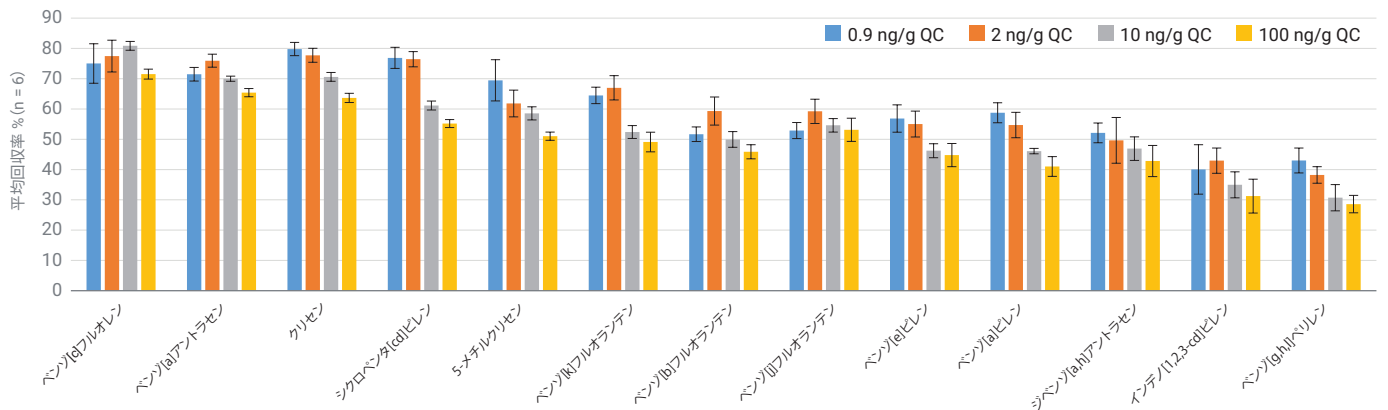
図 4. EU 委員会指定のモニタリング対象 PAH の分離結果。上段：マトリクスブランクの MRM クロマトグラム、下段：カボチャ種子油中濃度が LOQ (0.9 ng/g) 時の MRM クロマトグラム。

表 3. カボチャ種子油中の PAH の分析における、最適化されたメソッドの定量検証結果

ターゲット PAH	定量に使用した IS	検量線			平均真度および RSD%, n = 6							
		LOQ (ng/g)	HOQ (ng/g)	R ²	LOQ (0.9 ng/g)		低 QC (2 ng/g)		中 QC (10 ng/g)		高 QC (100 ng/g)	
					真度 (%)	RSD	真度 (%)	RSD	真度 (%)	RSD	真度 (%)	RSD
ベンゾ[a]フルオレン	ベンゾ[a]アントラセン-D ₁₂	0.9	200	0.9876	104	11.3	94	11.4	107	11.5	109	3.4
ベンゾ[a]アントラセン		0.9	200	0.9935	109	7.0	97	7.0	90	4.8	95	3.2
クリセソ	クリセソ-D ₁₂	0.9	200	0.9961	112	5.3	93	6.2	88	3.1	87	3.0
シクロペンタ[cd]ピレン		0.9	200	0.9940	105	7.0	101	7.6	85	4.7	84	2.9
5-メチルクリセソ	ベンゾ[b]フルオランテン-D ₁₂	0.9	200	0.9885	106	3.5	96	4.5	98	4.9	105	5.1
ベンゾ[b]フルオランテン		0.9	200	0.9944	114	7.8	101	6.8	93	3.8	96	4.3
ベンゾ[k]フルオランテン	ベンゾ[k]フルオランテン-D ₁₂	0.9	200	0.9954	100	8.6	94	4.3	90	6.5	91	5.6
ベンゾ[j]フルオランテン		0.9	200	0.9942	108	10.0	108	5.2	101	6.1	105	6.9
ベンゾ[e]ピレン	ベンゾ[a]ピレン-D ₁₂	0.9	200	0.9953	113	4.7	104	5.6	101	3.1	109	4.6
ベンゾ[a]ピレン		0.9	200	0.9917	110	7.2	96	6.5	90	1.4	94	3.7
ジベンゾ[a,h]アントラセン	ジベンゾ[a,h]アントラセン-D ₁₄	0.9	200	0.9944	104	9.4	87	15.4	87	4.3	90	2.7
インデノ[1,2,3-cd]ピレン	インデノ[1,2,3-cd]ピレン-D ₁₂	0.9	200	0.9967	105	8.1	103	6.7	88	4.3	89	3.4
ベンゾ[g,h,i]ペリレン	ベンゾ[g,h,i]ペリレン-D ₁₂	0.9	200	0.9963	103	5.6	94	7.1	88	2.7	89	6.0

IS = 内部標準, LOQ = 定量下限, HOQ = 定量上限, QC = 品質管理

A カボチャ種子油中の PAH の回収率 (n = 6)



B 油中の低濃度 (0.9 および 2 ng/g) PAH の平均回収率 (n = 12)

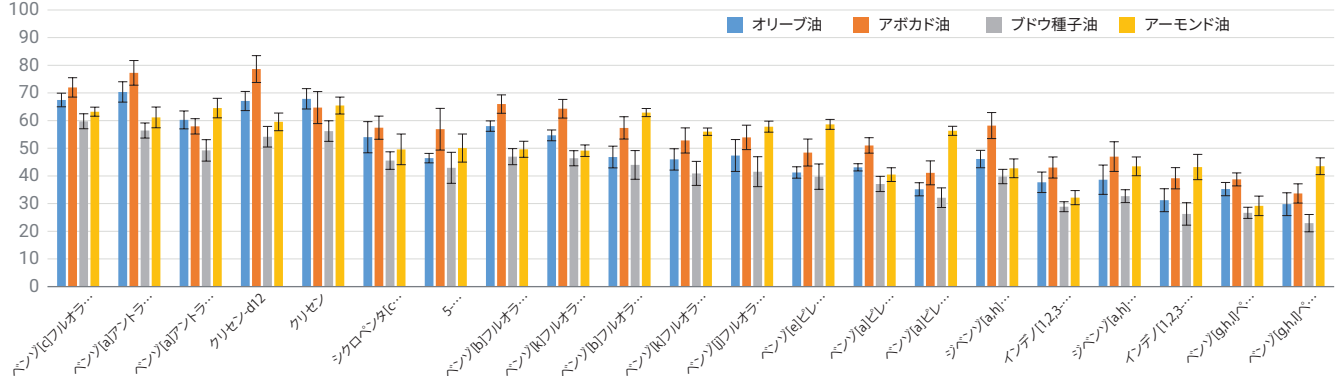


図 5. 食用油中のヘビー PAH 化合物の回収率。A) カボチャ種子油における 4 種類のスパイク濃度での回収率データ、B) その他 4 種類の油における 2 種類の低スパイク濃度での平均回収率データ

回収率の調査から、高分子量 PAH の主な損失が抽出ステップで起こっていることがわかりました。この問題を解決するために、より疎水性が高く、水混和性のある溶媒混合液を使用した抽出や、超音波処理による成分分離の促進など、抽出効率を高める手段について検討する予定です。

低い回収率は、安定性の高い適切なラベル化された内部標準を使用することで対処できます。今回の研究では、非常にクリーンなサンプルマトリックスが得られたため、大容量注入メソッドにより感度を高め、優れた再現性も達成できました。その結果、このシンプルなメソッドで、規制要件を満たす良好な定量結果が得られました。カボチャ種子油での検証結果を表 3 に、その他 4 種類の食用油でのクロス検証により得られた相対回収率の結果を図 6 に示します。

マトリックスのクリーンアップ効率の評価

各油について、最終的な抽出液中のサンプルマトリックス残留物と、クリーンアップによるマトリックス残留物の除去率を検討しました。図 7 に、カボチャ種子油とオリーブ油のサンプル乾燥残留物の外観を示します。また、実際の残留物重量を表に示します。クリーンアップなしのサンプルと EMR-Lipid+PSA クリーンアップサンプルとの乾燥残留物重量の差から求めた、Captiva EMR-Lipid と Bond Elut Jr PSA の連結カートリッジによるクリーンアップのマトリックス除去率は、5 種類の食用油について 95% を超えています。

また、図 3 に示した GC/MS フルスキャンクロマトグラムの重ね表示から、最適化されたメソッドが、カボチャ種子油サンプルのバックグラウンドのクリーンアップ能力に優れていることがわかります。他の 4 種類の食用油と比較するために、同様のクロマトグラムを採取しました。これらの結果から、効率的なマトリックスクリーンアップによりクロマトグラフィーのバックグラウンドが格段にクリーンになり、信頼性の高い分析結果が得られることが実証されました。

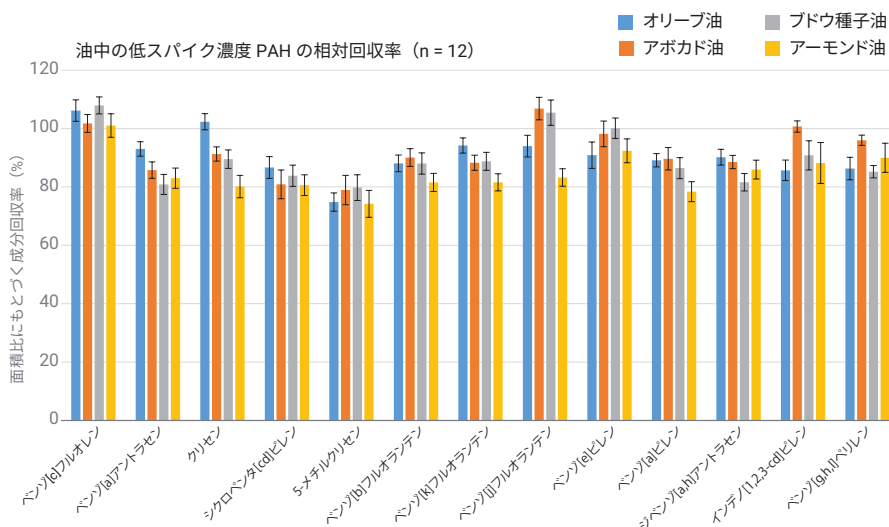


図 6. 4 種類の食用油における低スパイク濃度 (油中濃度 0.9 および 2 ng/g) での面積比にもとづくヘビー PAH の回収率

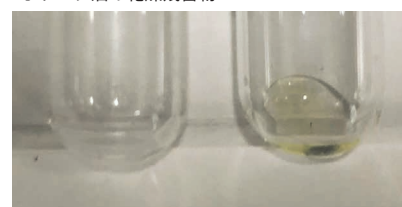
食用油	カボチャ種子油	オリーブ油	アボカド油	ブドウ種子油	アーモンド油	
油抽出液、クリーンアップなし (mg/mL 粗抽出液、n = 2)	15.85	14.11	19.00	19.10	11.51	
EMR-Lipid+PSA クリーンアップ	残留物 (mg/mL 最終抽出液、n = 2)	0.82	0.46	0.68	0.37	0.09
	マトリックス残留物の除去率 (%)	95%	97%	96%	98%	99%

カボチャ種子油の乾燥残留物



クリーンアップなし
EMR-Lipid + PSA クリーンアップ

オリーブ油の乾燥残留物



EMR-Lipid + PSA クリーンアップ
クリーンアップなし

図 7. 残留物の重量と外観によるマトリックス残留物除去の評価

結論

食用油中の高分子量 PAH を分析するために、液液抽出に続いて Agilent Captiva EMR—Lipid と Bond Elut Jr PSA の連結カートリッジによるクリーンアップを用いた、シンプルで堅牢かつ信頼性の高いメソッドを開発し、その有効性を検証しました。利便的にカートリッジを連結して使用することで、サンプル前処理ステップを増やすことなく、油マトリックスを連続クリーンアップできました。これにより、油マトリックスの共溶出残留物を 95 % 以上除去し、大幅にクリーンなクロマトグラフィーバックグラウンドを実現できました。また、定量分析では、LOQ レベル (0.9 ng/g) の油中濃度で優れた真度 (100 ± 15 %) と再現性 (RSD < 15 %) が得られました。今後、食用油の PAH 抽出ステップの効率向上を目指し、さらに検討を行う予定です。以上の結果から、最適化されたメソッドにより、食用油中の高分子量 PAH の分析において、優れたマトリックスクリーンアップ効率と信頼性の高い定量結果が得られることが実証されました。

参考文献

1. U.S. Food and Drug Administration, 2010. Protocol for Interpretation and Use of Sensory Testing and Analytical Chemistry Results for Re-Opening Oil-Impacted Areas Closed to Seafood Harvesting Due to the Deepwater Horizon Oil Spill, <http://www.fda.gov/food/ucm217601.htm>.
2. European Commission Regulation (EC) 836/2011, *Official Journal of the European Union* **2011**, 215, 9.
3. Moret, S.; Conte, L. S. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Edible Fats and Oils: Occurrence and Analytical Methods, *Journal of Chromatography A* **2000**, 882, 245–253.
4. Amzad Hossain, M.; Salehuddin, S. M. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Edible Oils by Gas Chromatography Coupled With Mass Spectroscopy, *Arabian Journal of Chemistry* **2012**, 5, 391–396.
5. Barranco, A.; *et al.* Solid-Phase Clean-Up in the Liquid Chromatographic Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Edible Oils, *Journal of Chromatography A* **2003**, 988, 33–40.
6. Payanan, T.; Leepipatpiboon, N.; Varanusupakul, P. Low-Temperature Cleanup with Solid-Phase Extraction for the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Edible Oils by Reversed Phase Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Food Chemistry* **2013**, 141, 2720–2726.
7. Wang, J. H.; Guo, C. Ultrasonication Extraction and Gel Permeation Chromatography Clean-Up for the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Edible Oil by an Isotope Dilution Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2010**, 1217, 4732–4737.
8. Zhao, L. Determination of Multiclass, Multiresidue Pesticides in Olive Oil by Captiva EMR—Lipid Cleanup and GC/MS/MS. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5994-0405EN.
9. Lucas, D.; Zhao, L. PAH Analysis in Salmon with Enhanced Matrix Removal. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-6088EN, **2015**.
10. Chemisches, T. B.; *et al.* EU Priority PAH Analysis in Pumpkin Seed Oil Using Bond Elut EMR—Lipid Cleanup by GC/MS/MS, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5994-0593EN, **2019**.
11. Szelewski, M.; Quimby, B. D. Optimized PAH Analysis Using the Agilent Self-Cleaning Ion Source and the Enhanced PAH Analyzer. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-3003EN.
12. Zhao, L.; Wong, D. Determination of 19 Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Compounds in Salmon and Beef Using Captiva EMR-Lipid Cleanup by GC/MS/MS. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5994-0553EN.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

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。

DE50443544

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2019, 2023

Printed in Japan, August 14, 2023

5994-1483JAJP

