

サケと牛肉に含まれる 19 種類の 多環芳香族炭化水素化合物の測定

Captiva EMR-Lipid クリーンアップと GC/MS/MS

著者

Limian Zhao and Diana Wong
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、サケと牛肉に含まれる多環芳香族炭化水素（PAH）残留物の多成分残留分析メソッドの開発と検証について説明します。このメソッドでは、固液抽出の後に Agilent Captiva EMR-Lipid クリーンアップと GC/MS/MS による分析を使用します。サケや牛肉のサンプルは、固液抽出（SoLE）で抽出した後、Captiva EMR-Lipid クリーンアップを実行しました。次に、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、GC/MS/MS 分析の前に脱水しました。酢酸エチルとアセトニトリルの混合物による 2 段階の SoLE によって、脂肪の多い食品マトリックスからの PAH の抽出効率を高めました。Agilent Captiva EMR-Lipid カートリッジによって、サケと牛肉のサンプルマトリックスを効率的かつ選択的にクリーンアップし、開発したメソッドを検証しました。その結果、サケと牛肉に含まれるすべての試験対象 PAH 化合物で、欧州委員会の規制で許容される回収率（50 ～ 120 %）を RSD < 20 % で達成しました。また、1 ～ 500 ng/g での検量線は $R^2 > 0.99$ でした。自然落下によるマトリックス共溶出残留物の除去効率は、サケで 60 %、牛肉で 92 % でした。

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。これらの化合物は原油や石炭にも天然に含まれますが、食品加工の過程でも形成されます。PAH 化合物は、縮合芳香族環の数によって、小さい PAH (2 ~ 3 個) と大きい PAH (4 ~ 6 個) に分類されます。大きい PAH は小さい PAH より安定性と毒性が高くなります。米国食品医薬品局 (FDA) では、魚介類に含まれる低 ppb レベルの PAH の分析を求めています¹。欧州委員会 (EC) では、4 種類の大きい 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、クリセン) の分析メソッド条件として、各 PAH の定量下限 (LOQ) を 0.9 µg/kg、検出下限 (LOD) を 0.3 µg/kg と定めています²。

PAH は脂溶性が高く、魚、肉、油、牛乳などの脂肪の多い食品に生体蓄積しやすい化合物です。脂肪の多い食品マトリックス中の PAH の分析においては、食品マトリックス中の大量の脂質化合物から分析対象成分を分離することが特に困難です。例えば、脂質の多いマトリックスから PAH を効率的に抽出してから、このマトリックスの不要な共溶出物を選択的に除去する作業などが必要です。一般的なサンプル前処理技術としては、ソックスレー抽出³、超音波抽出による固液抽出⁴、加圧溶媒抽出⁵、QuEChERS 抽出⁶などがあります。これらの技術は、固相抽出⁷ (SPE) やゲル浸透クロマトグラフィー⁸ などのクリーンアップ手順と組み合わせることができます。

Agilent Enhanced Matrix Removal-Lipid (EMR-Lipid) dSPE クリーンアップは、2015 年に発表されて以来大きな注目を集めています。EMR-Lipid dSPE 充填剤は、脂質の枝分かれのない炭化水素鎖に選択的に作用するため、その後の分析用の大量のターゲット化合物が溶媒内に残ります。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。Captive 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。このためワークフローが簡素化され、クリーンアップ時の疎水性化合物の回収率が向上します⁹。

今回の実験では、Captive EMR-Lipid カートリッジのパススルークリーンアップでサンプルを前処理し、GC/MS/MS でサケと牛肉に含まれる 19 種類の PAH 化合物を分析して調査しています。このメソッドは、以前の Bond Elut EMR-Lipid dSPE クリーンアップによる食品中の PAH 測定メソッドの限界を改善するために開発されました¹⁰。表 1 に試験対象の PAH の分類、Log P 値、リテンションタイム、MS/MS トランジションを示します。

表 1. 分析用の PAH、Log P 値、リテンションタイム (RT)、および MS/MS 条件

PAH 化合物 (省略記号)	Log P	RT (分)	定量用の MS/MS (m/z)	CE (V)	確認用の MS/MS (m/z)	CE (V)
ナフタレン (Na)	3.3	6.12	128.1 -> 102.1	20	128.1 -> 78	20
アセナフチレン (Ac)	3.9	8.28	152.1 -> 126	30	152.1 -> 150.1	50
フルオレン (F)	4.2	9.21	166.1 -> 165	50	165.1 -> 164.1	20
フェナントレン (Pa)	4.5	11.50	178.1 -> 152.1	25	178.1 -> 176.1	50
アントラセン (A)	4.5	11.65	178.1 -> 176.1	50	178.1 -> 152.1	25
ピレン (P)	4.9	15.61	202.0 -> 202.0	50	202.0 -> 200.0	50
ベンゾ[c]フルオレン (BcF)	5.4	16.62	215.8 -> 214.8	50	215.8 -> 212.8	50
ベンゾ[a]アントラセン (BaA)	5.9	19.29	228.1 -> 226.1	30	226.1 -> 224.1	35
クリセン (Ch)	5.9	19.45	228.1 -> 226.1	30	226.1 -> 224.1	40
5-メチルクリセン (5MeCh)	6.4	20.73	241.8 -> 240.8	50	241.8 -> 238.8	50
ベンゾ[b]フルオランテン (BbF)	6.4	22.52	252.1 -> 226.1	30	252.1 -> 252.1	50
ベンゾ[k]フルオランテン (BkF)	6.4	22.59	252.1 -> 252.1	50	252.1 -> 250.1	50
ベンゾ[j]フルオランテン (BjF)	5.7	22.69	251.7 -> 251.7	50	251.7 -> 249.7	50
ベンゾ[e]ピレン (BeP)	6.4	23.66	251.8 -> 251.8	50	251.8 -> 249.8	50
ベンゾ[a]ピレン (BaP)	6.4	23.81	252.1 -> 250.1	50	125.1 -> 124.1	10
ペリレン	6.4	24.21	252.1 -> 252.1	50	252.1 -> 250.1	50
ジベンゾ[a,h]アントラセン (DBahA)	7.1	27.68	277.8 -> 277.8	50	277.8 -> 275.8	50
インデノ[1,2,3-cd]ピレン (IP)	7.0	27.78	277.0 -> 277.0	50	276.0 -> 274.0	50
ベンゾ[g,h,i]ペリレン (BghiP)	6.6	29.39	275.8 -> 275.8	50	275.8 -> 273.8	50

実験方法

材料および試薬

PAH と IS の標準試料は Ultra-Scientific (ノースキングスタウン、ロードアイランド州、米国) またはアジレントの製品を使用しました。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 (マスキーゴン、ミシガン州、米国) から購入しました。試薬グレードのイソオクタンは Sigma-Aldrich (セントルイス、ミズーリ州、米国) から購入しました。

溶液および標準品試料

2 種類の PAH 原液をアセトンで調製しました (2,000 µg/mL または 500 µg/mL)。作業用溶液は、原液からアセトンで 4 µg/mL に調整しました。次に通常のサンプルスパイク用として、スパイク溶液をアセトンで 1 µg/mL に新たに調製しました。5 種類の IS 化合物が含まれる IS 作業用溶液を、アセトン (20 µg/mL) で調製しました。両方の作業用溶液を茶色のガラス製バイアルに入れ、4 °C の冷蔵庫で 1 か月保管しました。

20:80 の EtOAc/ACN 抽出溶媒と 16:64:20 の ACN/EtOAc/水溶出溶液を調製し、室温で保管しました。

実験装置と材料

実験には 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 シリーズオートサンプラ (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。

サンプル前処理の使用機器は次のとおりです。

- Centra CL3R 遠心管 (Thermo IEC、マサチューセッツ州、米国)
- Multi Reax 試験管シェーカー (Heidolph、シュヴァーバツハ、ドイツ)
- 2010 ジェノグラインダー (メアチエン、ニュージャージー州、米国)
- ピペットとリピーター (エッペンドルフ、ニューヨーク州、米国)
- Agilent 加圧式マニホールド SPE カートリッジ 48 本用 (PPM-48) (p/n 5191-4101)
- Captiva EMR-Lipid カートリッジ、3 mL、300 mg (p/n 5190-1003)
- セラミックホモジナイザ (p/n 5992-9312)

分析条件

GC/MS/MS 機器の条件は公開されているメソッドに基づいて設定しました¹¹。表 2 に GC/MS/MS 操作の条件を示します。

表 2. 7890B と 7000D GC/MS/MS の条件

パラメータ	設定値
カラム 1	J&W DB-EUPAHI、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	J&W Silcotek の不活性チューブ、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	1.1063 mL/min
カラム 2 流量	1.942 mL/min
注入量	2 µL パルスドスプリットレス
注入口ライナ	内径 4 mm ウルトライナートライナシングルテーパ、ウール入り (p/n 5190-2293)
オープン温度プログラム	80 °C で 1 分間維持、 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 分間維持
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	2 分間のポストラン 335 °C のオープン温度 50 psi の Aux EPC 圧力、および 2 psi の注入口圧力
トランスファーライン温度	320 °C
イオン源温度	EI イオン源、320 °C
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
溶媒ディレイ	3 分

図 1 に、所定の GC/MS/MS 条件による、1 ng/g レベルで添加したサケサンプルに含まれる各 PAH 化合物の典型的な MRM クロマトグラムを示します。

サンプル前処理

深海で捕獲したサケと有機牛肉を地域の食料品店で購入し、小さく切って -20 °C で保管しました。この冷凍サンプルを、グラインダーを使ってドライアイスでホモジナイズしました。

次に、ホモジナイズしたサンプルを計量 (2.5 g) して 50 mL の遠心分離チューブに入れ、必要に応じて標準溶液と IS 溶液でスパイクしました。その後、サケと牛肉のサンプルを図 2 の手順で調製しました。主な手順は次の 3 つです。

1. 2 段階の固液抽出 (SoLE) によるサンプル抽出 (背景が水色の部分)

2. Captiva EMR-Lipid カートリッジによるサンプル抽出物のクリーンアップ (背景が薄い灰色の部分)
3. イソオクタン逆抽出 (BE) による後処理での脱水 (背景が黄緑色の部分)

ワークフロー全体で、元のサンプルを 4 倍に希釈しました。

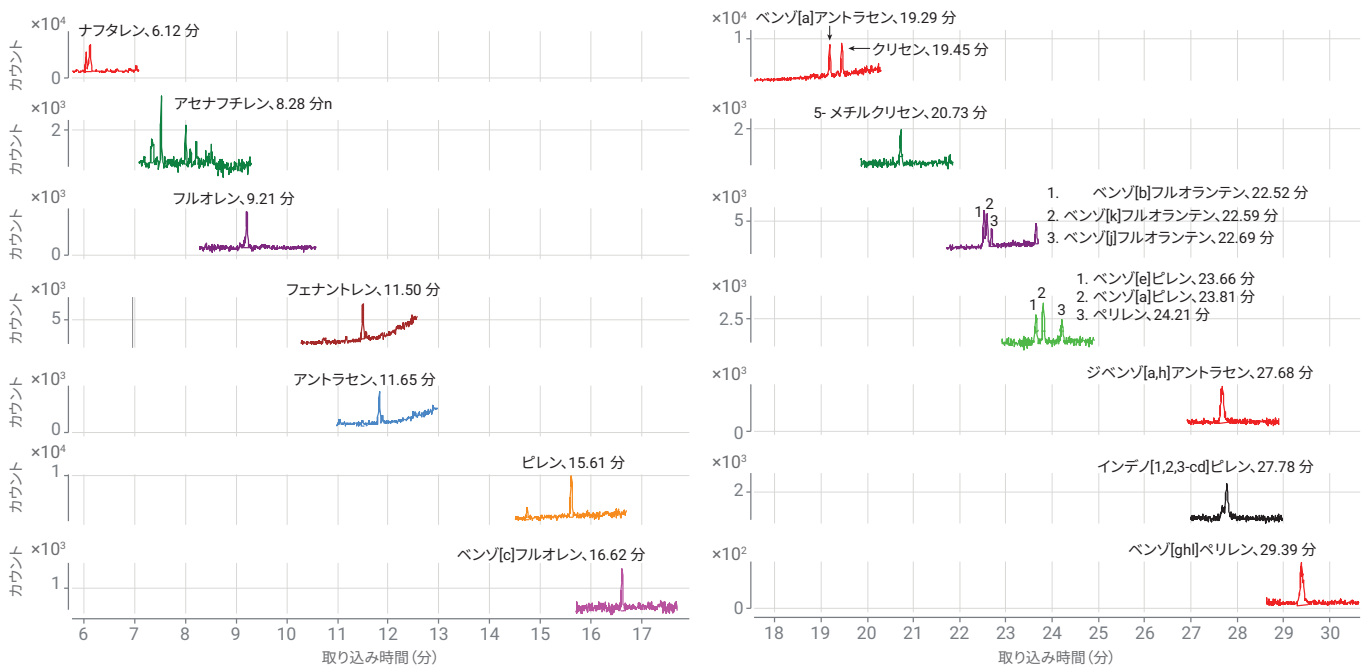


図 1. 添加したサケサンプルに含まれる PAH の、1 ng/g レベルでの GC/MS/MS MRM クロマトグラム

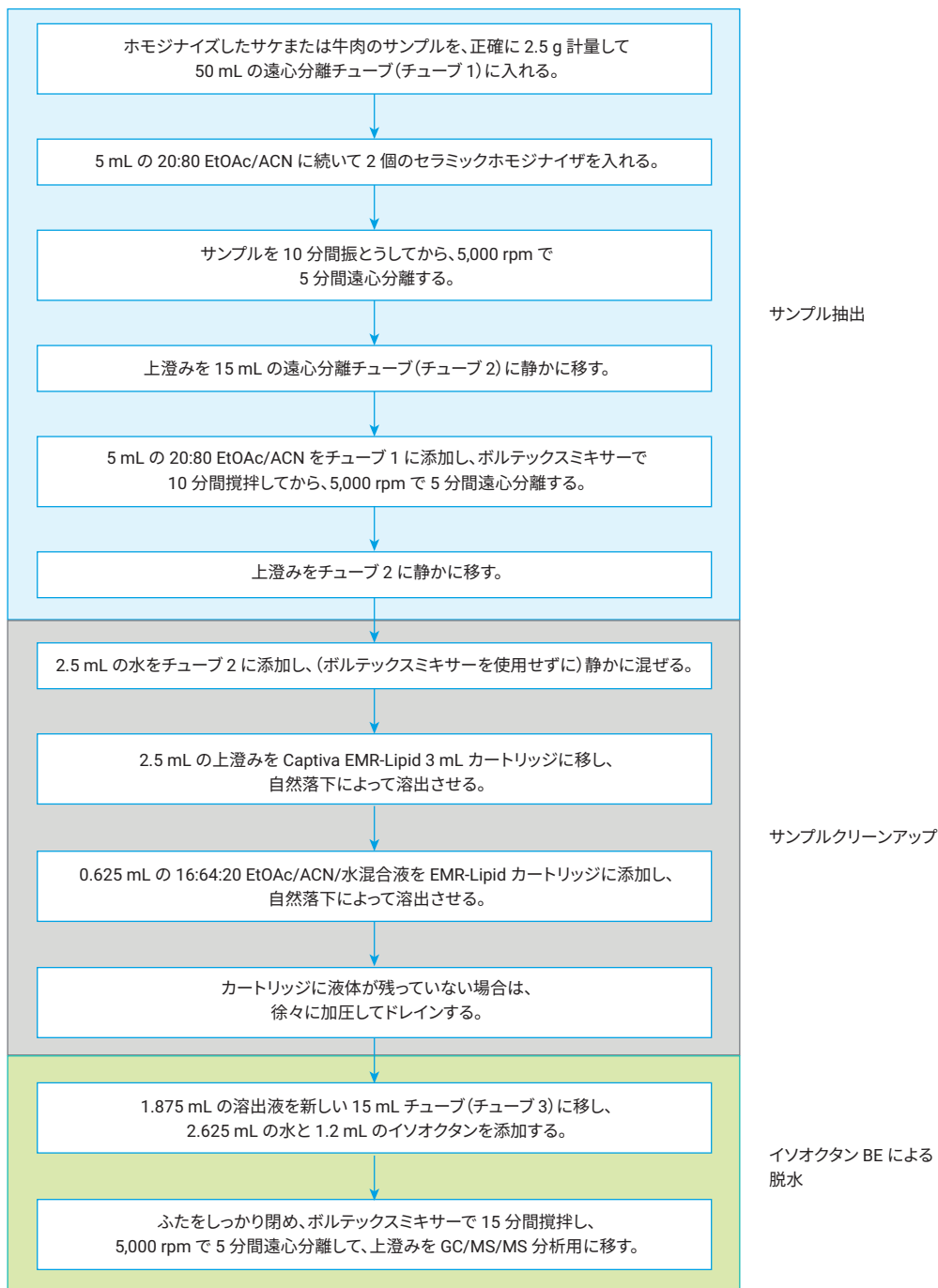


図 2. 固液抽出とその後の Captiva EMR-Lipid クリーンアップによる、サケまたは牛肉の前処理手順

マトリックス共溶出の除去評価

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。共溶出残留物の量を重量測定によって測定し⁹、サンプル抽出およびクリーンアップ手順後のマトリックス除去を調べました。共溶出残留物の重量は 1 mL の最終サンプル抽出物 (n = 2) に基づき、必要に応じて希釈係数で補正して収集しました。また、平均重量によってマトリックス除去率を測定しました。

Captiva EMR のクリーンアップ効率は、1 mL のサンプルを乾燥させた後の残留物の量に基づいて、視覚的に把握することもできます。

メソッドバリデーション

サケと牛肉に含まれる分析対象物の回収率、定量の精度と正確性、定量下限 (LOQ)、検量線の直線性について、最適化されたサンプル前処理メソッドを検証しました。サケと牛肉に含まれる標準物質の量は 1、2、5、10、20、50、100、250、400、および 500 ng/g です。サケと牛肉の 3 種類の濃度 (低濃度 = 1 ng/g、中濃度 = 10 ng/g、高濃度 = 100 ng/g) の QC サンプルを、検量線に対して n = 6 で定量しました。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 の充填剤と製品

EMR-Lipid 充填剤に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ケミストリを使用しているため、脂質除去の選択性と効率が向上します。枝分かれのない炭化水素鎖を含む脂質様分子のみが EMR-Lipid 充填剤のポアに入り、疎水性相互作用によって保持されます。脂質様構造でないターゲット化合物は充填剤の細孔に入れず溶媒内に残るため、後で分析に使用できます。この結果、EMR-Lipid 充填剤によって脂質を他のターゲット化合物から分離し、高い分析対象物回収率と脂質除去効率を実現できます。

サンプル前処理の最適化

サンプル前処理メソッドは、次の 3 段階で最適化しました。

1. SoLE
2. Captiva EMR-Lipid クリーンアップ
3. 後処理による脱水

脂肪の多いマトリックス中の疎水性 PAH 化合物で高い回収率を達成するには、抽出手順が重要です。サンプル抽出が困難になるのは、PAH 成分と脂肪の多いマトリックスのどちらも疎水性が高いためです。20:80 EtOAc/ACN 抽出溶媒による SoLE は、以前に油マトリックス中の疎水性農薬のアプリケーションで問題なく使用できたため⁹、これを予備プロトコルとして直接使用しました。分析対象物の回収率を上げるため、抽出時間と複数回の SoLE を最適化しました。図 3A にその結果を示します。抽出時間が長いと、PAH 抽出物の回収率が向上しました。また 2 段階の SoLE では 1 段階の SoLE と比べ抽出効率も向上しました。このため、各手順で 10 分間攪拌した 5 mL の抽出溶液による 2 段階の SoLE を、最適な抽出メソッドとして使用しました。

その後、EMR-Lipid カートリッジのクリーンアップ手順の分析対象物の回収率を調べました。PAH (特に大きい PAH) 化合物は非常に脂溶性が高いため、高い溶出回収率を得るには 2 番目の溶出の使用が非常に重要です。図 3B の結果から、2 番目の溶出の溶出回収率が平均で約 20 ~ 25 % 向上することがわかります。また強い溶媒 (16:64:20 EtOAc/ACN/水) を使用することで、大きい PAH を適切に溶出させることができました。

サンプル抽出と EMR-Lipid クリーンアップの最適化の後に、後処理手順による脱水を調査しました。GC/MS/MS 分析の前に EMR-Lipid 後処理によって残留物を脱水するには、主に次の 3 つのメソッドを使用します。

- 無水 MgSO₄ による塩分配
- 乾燥と再溶解
- 疎水性溶媒の逆抽出 (BE)

表 3 に、3 つの各後処理手順の一般的な手法、利点と欠点、適合性を示します。PAH は疎水性が高い化合物クラスであるため、このアプリケーションには疎水性溶媒の逆抽出の使用が適しています。逆抽出は溶媒の切り替えや部分濃縮が可能で、大小両方の PAH 化合物で使用できます。よって、Captiva EMR-Lipid クリーンアップの後に、イソオクタンによる溶媒の BE によって脱水しました。図 3C に、イソオクタン BE 手順の回収率を示します。

この最適化されたメソッドを使用して、メソッド全体の分析対象物の回収率を、サケと牛肉で 3 つのスパイクレベル (1、10、100 ng/g) で収集しました (n = 6)。マトリックスによってばらつきはあったものの、2 種類のマトリックスの異なるスパイクレベルで、すべての PAH 成分が許容範囲内の回収率 (50 ~ 120 %) を達成しました。

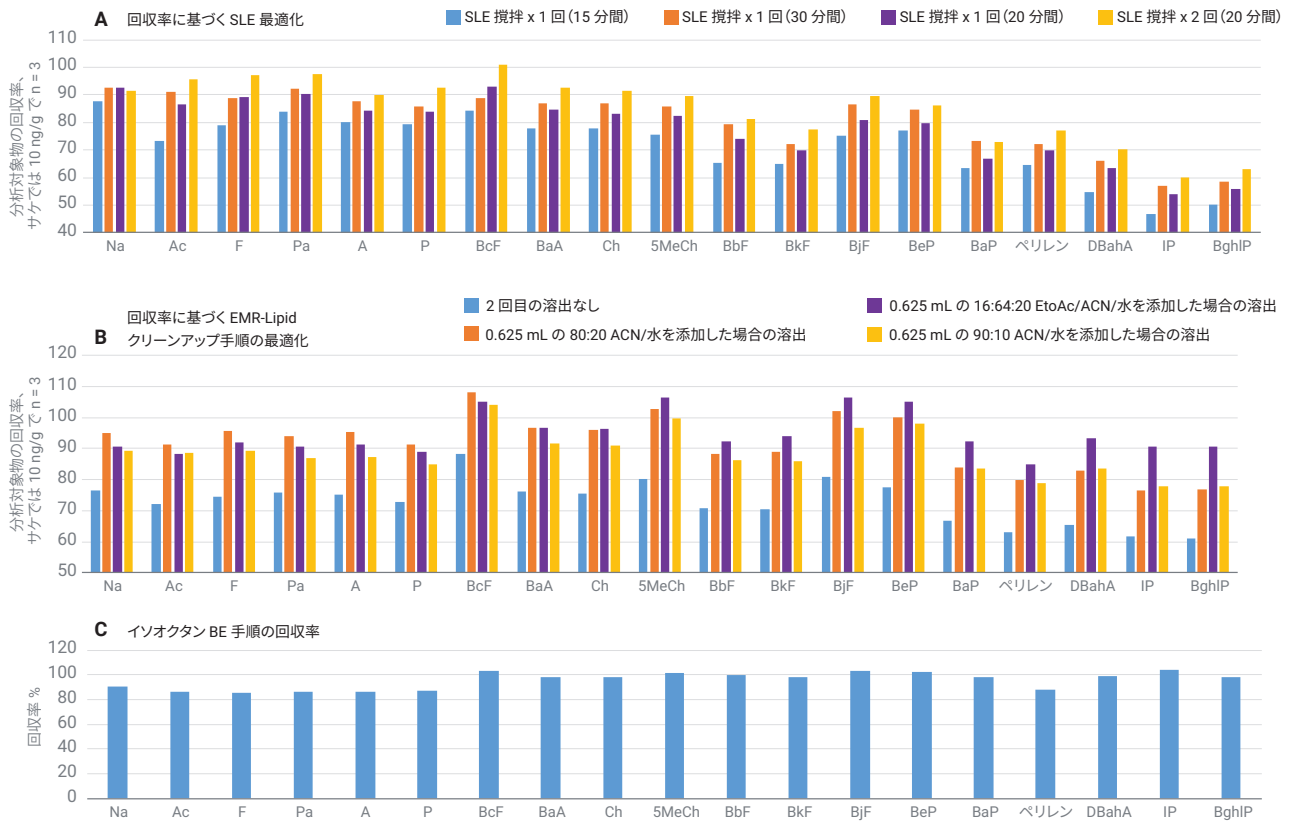


図 3. 固液抽出手順 (A)、EMR-Lipid クリーンアップ手順 (B)、およびイソオクタン逆抽出 (C) の PAH 回収率に基づく、サンプル前処理メソッドの最適化

表 3. Captiva EMR-Lipid クリーンアップ後の、サンプル後処理による脱水

脱水メソッド	一般的な手法	利点	欠点	適合性
無水 MgSO ₄ による塩分配	<ul style="list-style-type: none"> - 1 mL の EMR-Lipid 溶出液あたり 700 mg の無水 MgSO₄ を添加する - ボルテックスミキサーで十分に撈拌して遠心分離する 	<ul style="list-style-type: none"> - 通常は成分の大きな損失なし 	<ul style="list-style-type: none"> - 操作に手間がかかる - 時間がかかる - GC で分析可能な溶媒に交換できない 	<ul style="list-style-type: none"> - 多成分残留分析
乾燥と再溶解	<ul style="list-style-type: none"> - サンプル蒸発装置によって EMR 溶出液を乾燥させる (TurboVap、CentriVap) - GC で分析可能な溶媒に再溶解する - 十分に混ぜる 	<ul style="list-style-type: none"> - 操作が比較的簡単 - サンプル濃縮と溶媒交換が可能 	<ul style="list-style-type: none"> - 時間がかかる - 揮発性成分の損失 - 不安定な化合物の劣化の可能性 	<ul style="list-style-type: none"> - 非揮発性成分と安定成分 - サンプルが比較的少量で済む - 低 LOQ に達するまでに濃縮が必要
疎水性溶媒の逆抽出	<ul style="list-style-type: none"> - 有機/水が約 1:2 になるまで EMR 溶出液に水を添加する - (有機物の量と同等または若干少ない) イソオクタンを添加する - ボルテックスミキサーで 10 分間撈拌してから遠心分離する 	<ul style="list-style-type: none"> - 操作が比較的簡単 - 溶媒の交換と部分的なサンプル濃縮が可能 - 溶解した極性マトリックス共溶出物をさらに除去できる 	<ul style="list-style-type: none"> - 極性の損失により中極性化合物が生まれる - サンプル混合中にリークが発生する可能性あり 	<ul style="list-style-type: none"> - Log P ≥3 の疎水性化合物

メソッドバリデーション

定量メソッドの検証には、3つのスパイクレベルでの検出下限 (LOD)、検量線の直線性、成分真度、および精度が含まれます。成分の定量には、5種類の内部標準 (IS) 化合物 (ナフタレン-D₈、アセナフチレン-D₁₀、フェナントレン-D₁₀、クリセン-d₁₂、ペリレン-D₁₂) を使用しました。表 4 に、サケと牛肉のメソッド検証結果の概要を示します。

4種類の大きい PAH (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、クリセン) は、非常に低い LOQ (0.9 ng/g) と LOD (0.3 ng/g) に規制されている重要な化合物です²。図 5 に、これら 4 種類の化合物の、各マトリックスで規定されている LOQ (1 ng/g) でのクロマトグラムを示します。両方のマトリックスで検証された 1 ng/g の LOQ (表 4) と 4 種類の成分の LOQ での S/N 比

(図 5) から、0.9 ng/g 以下の LOQ でこのメソッドを検証できることがわかります。これらの成分については、さらに低い LOQ と LOD での調査を予定しています。



図 4. 最適なサンプル前処理メソッドによるサケ (A) および牛肉 (B) 中の PAH の回収率

表 4. 最適なメソッドによる、サケおよび牛肉中の PAH の分析の定量検証結果

成分の略称記号	IS	サケ						牛肉					
		検量線			平均精度 % (RSD%)、n = 6			検量線			平均精度 % (RSD%)、n = 6		
		LOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	低 QC (1 ng/g)	中 QC (10 ng/g)	高 QC (100 ng/g)	LOQ (ng/g)	HLOQ (ng/g)	R ²	低 QC (1 ng/g)	中 QC (10 ng/g)	高 QC (100 ng/g)
Na*	ナフタレン-D ₈	1	500	0.9960	103 (5.7)	93 (4.5)	103 (2.1)	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ac	アセナフチレン-D ₁₀	1	500	0.9958	86 (13.9)	91 (3.4)	96 (3.7)	1	500	0.9953	97 (5.5)	99 (3.3)	102 (3.9)
F		1	500	0.9940	90 (11.1)	86 (6.8)	93 (5.9)	1	500	0.9935	100 (6.0)	100 (6.1)	103 (4.9)
Pa		1	500	0.9962	94 (11.6)	93 (2.2)	98 (2.7)	1	500	0.9982	90 (8.9)	96 (2.3)	93 (6.0)
A**	フェナントレン-D ₁₀	2	500	0.9968	75 (7.2)	86 (3.3)	93 (1.5)	1	500	0.9963	80 (10.2)	92 (3.2)	99 (3.1)
P**		1	500	0.9970	66 (10.9)	87 (3.7)	96 (2.5)	2	500	0.9951	90 (6.0)	104 (6.3)	105 (6.8)
BcF		1	500	0.9976	98 (8.9)	89 (2.0)	96 (3.3)	1	500	0.9970	89 (7.6)	105 (5.7)	104 (9.1)
BaA		1	500	0.9963	83 (4.0)	89 (1.0)	96 (1.5)	1	500	0.9990	87 (6.4)	91 (1.7)	99 (2.6)
Ch	クリセレン-D ₁₂	1	500	0.9986	91 (6.2)	88 (3.2)	98 (1.5)	1	500	0.9994	93 (10.0)	93 (1.3)	100 (2.2)
5MeCh		1	500	0.9977	80 (3.8)	86 (1.4)	93 (2.0)	1	500	0.9960	95 (7.0)	104 (8.7)	107 (2.9)
BbF		1	500	0.9949	80 (3.6)	83 (4.6)	89 (3.2)	1	500	0.9937	100 (3.8)	95 (8.5)	99 (2.9)
BkF		1	500	0.9984	75 (6.7)	80 (1.5)	85 (3.0)	1	500	0.9984	88 (9.0)	89 (10.3)	96 (4.2)
BjF		1	500	0.9977	84 (6.7)	87 (3.0)	90 (4.5)	1	500	0.9958	83 (6.8)	102 (8.2)	101 (3.8)
BeP	ベリレン-D ₁₂	1	500	0.9964	93 (4.8)	91 (2.9)	99 (1.5)	1	500	0.9968	102 (7.8)	95 (4.0)	99 (2.2)
BaP		1	500	0.9970	68 (6.4)	82 (1.2)	91 (1.1)	1	500	0.9982	90 (9.7)	84 (3.2)	86 (2.9)
ベリレン		1	500	0.9978	89 (3.0)	87 (2.2)	95 (1.1)	1	500	0.9986	84 (7.9)	91 (5.8)	96 (2.3)
DBahA		1	500	0.9974	81 (7.3)	80 (2.1)	91 (5.9)	1	500	0.9957	87 (7.7)	78 (8.5)	91 (11.1)
IP		1	500	0.9957	57 (7.2)	69 (3.5)	79 (6.3)	1	500	0.9972	72 (7.1)	65 (7.4)	73 (10.2)
BghiP		1	500	0.9979	69 (7.5)	73 (1.5)	82 (5.9)	1	500	0.9967	71 (5.2)	64 (8.2)	70 (4.0)

* 牛肉中のナフタレンは、発生レベルが高いため定量不可です。

** LOQ の上昇は、少ない発生レベルで検出されるサンプルブランクによるものです。

IS = 内部標準、LOQ = 定量限界 (下限)、HLOQ = 定量上限、QC = 品質管理。PAH の省略記号については表 1 を参照してください。

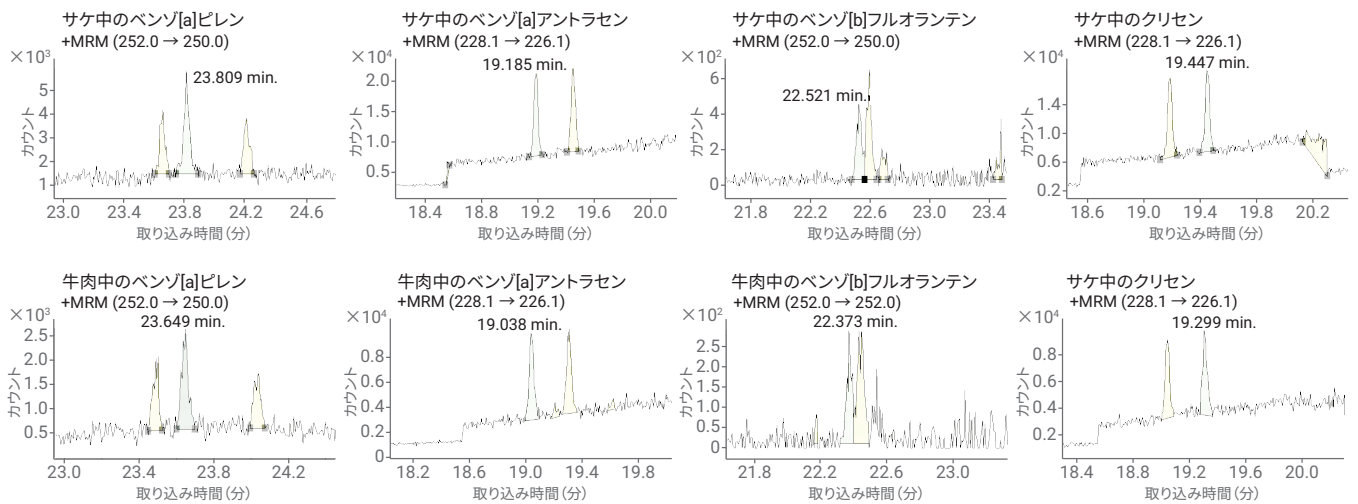


図 5. サケ (上) と牛肉 (下) の 1 ng/g の LOQ での重要な PAH 化合物のクロマトグラム

マトリックスクリーンアップの評価

サケと牛肉について、最終抽出物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残留物除去を調査しました。図 6 に、乾燥したサンプル残留物の外観とその実際の重量を示します。EMR-Lipid クリーンアップを実行した場合としない場合では、サンプルの乾燥残留物の重量が異なります。EMR-Lipid クリーンアップによって、サケで 60%、牛肉で 92% のマトリックス除去を達成できました。

結論

固液抽出とその後の Captiva EMR-Lipid カートリッジによるクリーンアップを用いたシンプルかつ堅牢で信頼性が高いメソッドを、サケと牛肉に含まれる PAH の多成分残留分析用に開発して検証しました。このメソッドを最適化して抽出効率を上げ、Captiva EMR-Lipid カートリッジで溶出を完了した後、イソオクタン逆抽出によって脱水と溶媒のスワンプを実行しました。定量分析の結果、すべての試験対象 PAH で、許容範囲内の平均回収率 (50 ~ 120 %) と高い再現性を達成しました。また平均 RSD も、EC の許容基準を満たす 20 % 未満という数値でした。このメソッドは、4 種類の重要な PAH について、EU 委員会の規制より低い LOQ を達成できる可能性があることも示されました。これらの結果から、サケと牛肉に含まれる PAH の多成分残留分析では、最適化されたメソッドによって優れたマトリックスクリーンアップ、分析対象物の回収率、精度を得られることがわかりました。

	サケ	牛肉
クリーンアップなし (mg/mL 未処理抽出液、n = 2)		
	5.64	2.75
Captiva EMR-Lipid クリーンアップ		
残留物 (mg/mL 最終抽出液、n = 2)	2.24	0.21
マトリックス残留物の除去 (%)	60	92

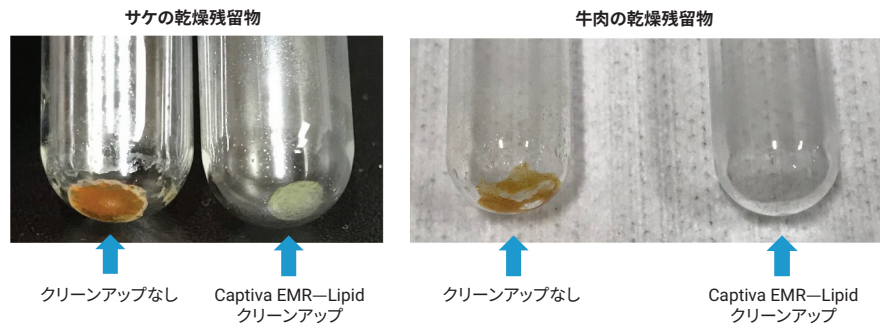


図 6. 残留物の重量と外観によるマトリックス残留物除去の評価

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. Takigami, H.; *et al.* Brominated flame retardants and other polyhalogenated compounds in indoor air and dust from two houses in Japan. *Chemosphere* **2009**, 76, 270-277.
4. Viegas, O.; *et al.* A comparison of the extraction procedures and quantification methods for the chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal grilled meat and fish *Talanta* **2012**, 88, 677-683.
5. Stapleton, H. M.; *et al.* Determination of polybrominated diphenyl ethers in environmental standard reference materials. *Analytical and bioanalytical chemistry* **2007**, 387, 2365-2379.
6. Forsberg, N. D.; Wilson, G. R.; Anderson, K. A. Determination of parent and substituted polycyclic aromatic hydrocarbons in high-fat salmon using a modified QuEChERS extraction, dispersive SPE and GC-MS. *Journal of agricultural and food chemistry* **2011**, 59, 8108-8116.
7. Sverko, E.; *et al.* Dechlorane plus levels in sediment of the lower Great Lakes. *Environmental science & technology* **2008**, 42, 361-366.
8. Saito, K.; *et al.* Development of an accelerated solvent extraction and gel permeation chromatography analytical method for measuring persistent organohalogen compounds in adipose and organ tissue analysis. *Chemosphere* **2004**, 57, 373-381.
9. 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.
10. Lucas, D.; Zhao, L. PAH Analysis in Salmon with Enhanced Matrix Removal. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-6088EN, **2015**.
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.

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。

DE.2675115741

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2019, 2020, 2023

Printed in Japan, August 11, 2023

5994-0553JAJP