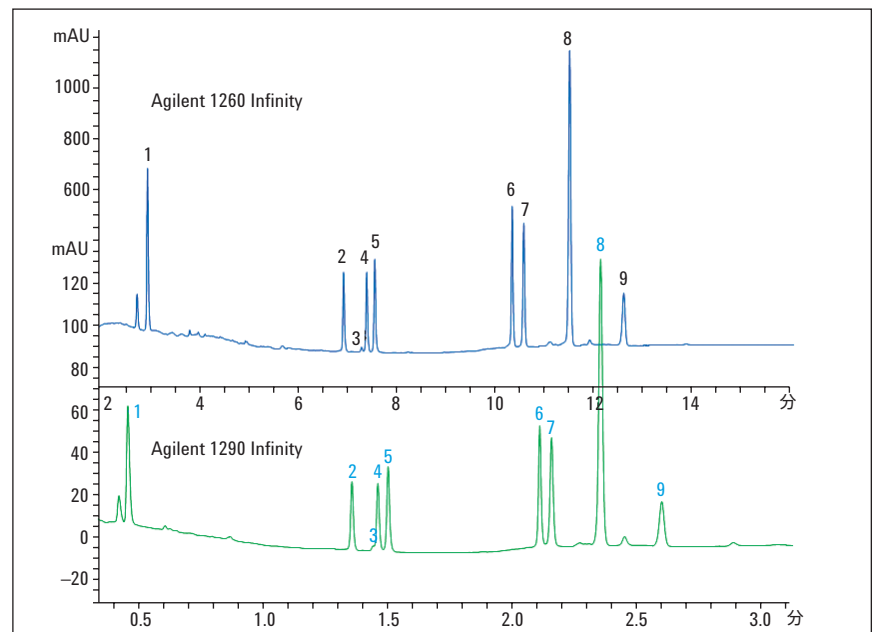




アジレントアプリケーションソリューション 食品中の脂溶性ビタミンの分析

アプリケーションノート

食品



著者

Siji Joseph
Agilent Technologies, Inc.
Bangalore, India

概要

このアプリケーションノートでは、2つの異なる食品に含まれる脂溶性ビタミンの定性および定量分析を実行する方法について説明します。9種類の脂溶性ビタミンを同時に測定するための堅牢な逆相高速液体クロマトグラフィー (RP-HPLC) メソッドを開発しました。分離と定量は、Agilent Poroshell EC-C18 カラムを使用し、Agilent 1260 Infinity LC システムにより行いました。Agilent 1260 Infinity ダイオードアレイ検出器 (DAD) が持つ、複数の波長を選択する先進的な機能を効果的に使用することで、さまざまなビタミンをその最大吸光度で検出することができました。日常的な栄養表示分析向けのこのメソッドの堅牢性は、部分的なバリデーションにより確認されました。また、このメソッドの検証は、2つの異なる食品マトリックスからビタミン D 含有量を分析することで行いました。最後に、Agilent 1290 Infinity LC システムを使用することで、短時間で実行できる超高性能液体クロマトグラフィー (UHPLC) メソッドに変換することができました。



Agilent Technologies

はじめに

ビタミンは、生物の健康な成長に微量だけ必要な栄養素であり、食事から摂取する必要があります。一般に、ビタミンは、水溶性ビタミンと脂溶性ビタミンの2つのグループに分類することができます。食品中に存在するビタミンの量はナノグラムからミリグラムまでさまざまであるため、乳児用調製粉乳などのマトリックスに含まれるこのようなビタミンの表示が米国食品医薬品局 (FDA) により求められています。ビタミンの化学的特性は多様であるため、すべてのビタミンを同時に抽出し、分析することは困難です。このため、水溶性ビタミンと脂溶性ビタミンの分析は、通常は個別に行われます。10 種類の水溶性ビタミンの同時分析については、アジレントの別アプリケーションソリューション¹ で説明しています。この実験では、9 種類の脂溶性ビタミンの同時分析について説明します。この実験で使用したビタミンのリストにはビタミン A、D、E、および K が含まれます。これらは、食品媒体に含まれる一般的な脂溶性ビタミンです。さまざまな脂溶性ビタミンの抽出手順は異なりますが、対象化合物を1回の LC 分析で定量する単一の分析メソッドを開発することにより、分析の課題が簡略化されます。

このアプリケーションノートでは、UV 検出を使用して 9 種類の脂溶性ビタミンを同時に測定する、所要時間約 15 分間の高感度の堅牢なメソッドについて説明します。また、短い分析時間が重要な要件であるお客様向けには、この HPLC メソッドを所要時間 3.5 分間の UHPLC メソッドに変換できます。

実験方法

機器とソフトウェア

次のモジュールで構成される Agilent 1260 Infinity クォータナリ LC システムを使用しました。

- Agilent 1260 Infinity クォータナリポンプ、真空デガッサ付き (G1311B)
- Agilent 1260 Infinity 高性能オートサンブラ (G1367E)
- Agilent 1260 Infinity カラムコンパートメント (G1316C)
- Agilent 1260 Infinity ダイオードアレイ検出器 (G4212B)、60 mm Max-Light フローセル付き

次のモジュールで構成される Agilent 1290 Infinity LC システムを使用して UHPLC 分析法を開発しました。

- Agilent 1290 Infinity バイナリポンプ、統合真空デガッサ (G4220 A) および 100 µL Jet Weaver ミキサ付き
- Agilent 1290 Infinity 高性能オートサンブラ (G4226A)
- Agilent 1290 Infinity カラムコンパートメント (G1316C)
- Agilent 1290 Infinity ダイオードアレイ検出器 (G4212A)、10 mm Max-Light フローセル付き

カラム：

- Agilent Poroshell 120 EC-C18 カラム、内径 2.1 mm、長さ 75 mm、2.7 µm (697775-902)
- Agilent Poroshell 120 EC-C18 カラム、3.0 x 150 mm、2.7 µm (693975-302)

ソフトウェア：

- Agilent ChemStation B.04.02

試薬および材料

使用したすべての薬品と溶媒は HPLC グレードのものです。Milli Q 純水生成装置 (Millipore Elix 10、Millipore、米国) から得られた超純水を使用しました。アセトニトリルとメタノールは超グラジエントグレードのもので、Lab-Scan (タイ、バンコク) から購入し、バイオ技術グレードのテトラヒドロフラン (THF) は Sigma (ドイツ) から購入しました。溶離液添加剤グレードの酢酸は Fluka (ドイツ) から購入しました。メナジオン (K3)、リノレン酸 (6-オメガ脂肪酸)、レチノール (ビタミン A 由来のアルコール)、レチノイン酸 (ビタミン A 由来の酸)、9-cis レチナール (ビタミン A 由来のアルデヒド)、ビタミン K2、コレカルシフェロール (D3)、トコフェロール (ビタミン E の一種)、ビタミン K1 の標準物質は Aldrich (インド) から購入しました。回収率および栄養表示分析のためにこの実験で使用した乳児用調製粉乳とマルチビタミン錠剤は、地元で購入したものです。

クロマトグラフィーパラメータ

逆相液体クロマトグラフィーと UHPLC に使用するクロマトグラフィーパラメータを表 1 に示します。

脂溶性ビタミン標準溶液

約 50 mg のビタミン粉末を計量し、これを 25 mL のフラスコに移して、メナジオン、リノレイン酸、レチノール、レチノイン酸、レチナール、ビタミン K1、K2、D3、およびトコフェノールのビタミン標準溶液を個別に調製しました。移動相 B を加えて、2.0 mg/mL (2,000 ppm) の原液を調製しました。必要に応じて超音波処理を利用しました。未使用時には、脂溶性ビタミン原液をアルミホイルで包み、+ 4.0 °C の冷暗所に保管しました。

標準混合溶液と直線性レベル

約 100 µL の各標準溶液を正確に混合し、それぞれの濃度が 200 ppm の脂溶性ビタミン標準混合溶液を 1,000 µL 調製しました。移動相 B を希釈液として使用し、この 200 ppm の標準スパイク混合液をさらに希釈することで直線性標準溶液を調製しました。直線性標準溶液は、5 pg/µL~100 ng/µL の範囲としました (10 個のレベルと 6 回の繰り返し)。

栄養表示および回収率テストのためのサンプル前処理

2 つのタイプの異なるサンプル、つまり乳児用調製粉乳とビタミン錠剤を、栄養表示および回収率テストに使用しました。ビタミン D は、回収効率を評価し、さらに栄養表示分析を実行するためにこの実験で使用した対象化合物です。水酸化カリウムエタノールを使用したアルカリ加水分解と約 45 分間の還流により、5 g の乳児用調製粉乳からビタミン D を抽出しました²。還流中には、抗酸化剤としてピロガロールを使用しました。ヘキサンとジエチルエーテルの 1:1 混合液 10 mL を使用して、けん化消化物からビタミン D を抽出しました。水で連続洗浄した

パラメータ	Agilent 1260 Infinity クォータナリ LC システム	Agilent 1290 Infinity LC システム
オープン温度:	45 °C	45 °C
取り込みレート:	20 Hz	80 Hz
データ取り込み:	216、246、266、326、356、376 nm	216、246、266、326、356、376 nm
フローセル:	60 mm 流路	10 mm 流路
注入量:	5 µL (ウォッシュ付きニードル、フラッシュポートは 5 秒間アクティブ)	1 µL (ウォッシュ付きニードル、フラッシュポートは 3 秒間アクティブ)
サンプルのサーモスタット:	5 °C	5 °C
移動相 A:	95:5 の水 : THF + 0.05 % 酢酸	95:5 の水 : THF + 0.05 % 酢酸
移動相 B:	75:25:5 のアセトニトリル : メタノール : THF + 0.035 % 酢酸	75:25:5 のアセトニトリル : メタノール : THF + 0.035 % 酢酸
グラジエント:	0 分で → 30 % B 3 分で → 75 % B 8 分で → 100 % B 15 分で → 100 % B 15.1 分で → 30 % B	0 分で → 50 % B 0.6 分で → 75 % B 1.7 分で → 100 % B 3.4 分で → 100 % B 3.5 分で → 50 % B
ポストラン時間:	5 分	1 分
流量:	0.9 mL/min	0.9 mL/min

表 1

Agilent 1260 Infinity LC システムと Agilent 1290 Infinity LC システムに使用するクロマトグラフィーパラメータ

後にこの有機層 1.0 mL を蒸発乾固させ、200 µL の移動相 B で再溶解し、HPLC に注入して栄養表示分析を行いました。スパイクした/スパイクしていない乳児用調製粉乳サンプルを使用し、回収率テストを行いました。サンプルのスパイクには、オンカラム濃度 25 ng のビタミン D 標準を使用しました。抽出手順は以前と同一です。

マルチビタミン錠剤の場合は、回収率および栄養表示テストを 1 つの錠剤を使用して行いました。

注意事項

ビタミンは、光と熱に非常に弱いことが知られています。溶液の状態での長期に渡る安定性を確保するために、未使用時には、調製済みのすべての溶液をアルミホイルで包み、4 °C の冷暗所に保管しました。分析時には、サーモスタット付きのオートサンプルトレイを 4 °C に維持しました。サンプルからのビタミン D の抽出は暗い場所で行いました。

手順

5 µL の移動相 B をブランクとして注入し、その後の各直線性レベルで 6 回繰り返ししました。各レベルの面積およびリテンションタイム (RT) 情報を使用して、標準偏差 (SD) と相対標準偏差 (RSD) の値を計算しました。低い方の直線性レベルにおける注入から LOD と LOQ が得られました。各直線性レベルのビタミンピークの平均面積を濃度に対してプロットし、近似曲線を作成しました。

6 つの重要なメソッドパラメータを変更し、メソッドの堅牢性を評価しました。6 回繰り返しして標準スパイク混合液を注入し、データを堅牢性テストに使用しました。

栄養表示分析では、乳児用調製粉乳とマルチビタミン錠剤に含まれるビタミン D の量を定量し、表示されている値と比較しました。

乳児用調製粉乳とマルチビタミン錠剤の回収率テストを、それぞれ 5 g または 1 錠に 25 ng のビタミン D 標準をスパイクした/スパイクしない注入により行いました。

このメソッドは UHPLC に正しく変換されました。各ビタミンの LOD、LOQ、および直線性を評価し、メソッドの精度を面積と RT RSD により確立しました。UHPLC メソッドを使用したすべてのビタミンの線形曲線もプロットしました。

結果と考察

分離および検出

Agilent Poroshell 120 EC-C18 (3.0 mm x 150 mm, 2.7 μm) カラムを使用したところ、9 種類の脂溶性ビタミンを 13 分間で良好に分離できました。分子構造の多様性により、ビタミンの種類が異なると最大吸光度も異なることがわかりました。9 種類のビタミンのクロマトグラフィー溶出パターンを図 1 に示し、ビタミンのリストをそれぞれの最大吸光度とともに表 2 に示します。216 nm で観察されたベースラインドリフトは、グラジエント分析時に移動相で添加剤の量が変化したことにより説明することができます。ChemStation ソフトウェアのピーク純度機能を使用して各ピークの純度をチェックし、メソッドの特異性を評価しました。精度、直線範囲、確度、特異性、回収率、および堅牢性のテストを使用してメソッドのパリデーションを行いました。

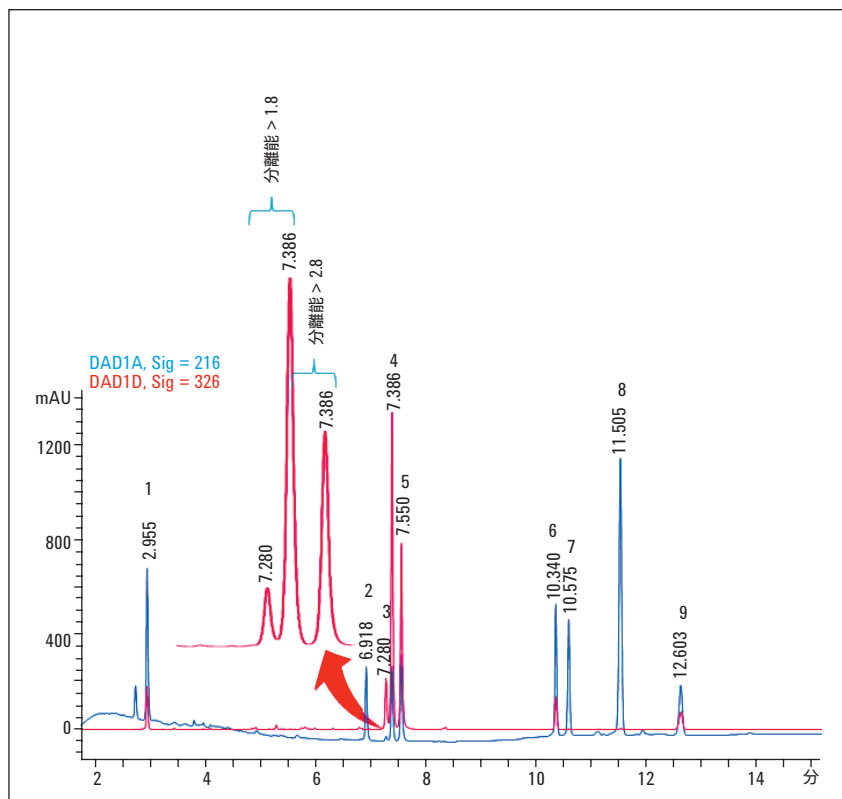


図 1
15 cm の Agilent Poroshell 120 EC-C18 カラムを使用した 9 種類の脂溶性ビタミンの分離。種類の異なる 3 つのビタミン A の良好な分離結果を示しています

SI 番号	名称	別名	最大吸光度	RT
1	メナジオン	ビタミン K3	250	2.965
2	リノレイン酸	6-オメガ脂肪酸	< 216	6.918
3	レチノール	ビタミン A アルコール	326	7.280
4	レチノイン酸	ビタミン A 酸	356	7.386
5	9-cis レチナル	ビタミン A アルデヒド	376	7.550
6	ビタミン K2	ビタミン K2	246	10.340
7	コレカルシフェロール	ビタミン D3	266	10.575
8	トコフェロール	ビタミン E の一種	< 220	11.505
9	ビタミン K1	ビタミン K1	246	12.603

表 2
このテストで使用したビタミンと各ビタミンについて観察された最大吸光度のリスト

検出下限 (LOD) および 定量下限 (LOQ)

S/N 比が 3 を超える対象化合物濃度を LOD、S/N 比が 10 を超える対象化合物濃度を LOQ と見なしました。各ビタミンについて観察された LOD および LOQ の値を表 3 に示します。例として、コレカルシフェロール (ビタミン D) の LOD および LOQ のクロマトグラムをブランクと重ね合わせて図 2 に示します。

直線性

調製済みのすべての直線性レベルを 6 回繰り返して注入し、面積レスポンスと濃度の値を使用して、テストの LOQ レベルから最高の濃度レベルまで、各ビタミンの線形曲線を作成しました。この直線範囲は、一般的な食品マトリックス中の通常のビタミン含有量の値を網羅しています。すべてのビタミンについて観察された回帰係数も表 3 に示します。例としてコレカルシフェロールの近似曲線を図 3 に示します。

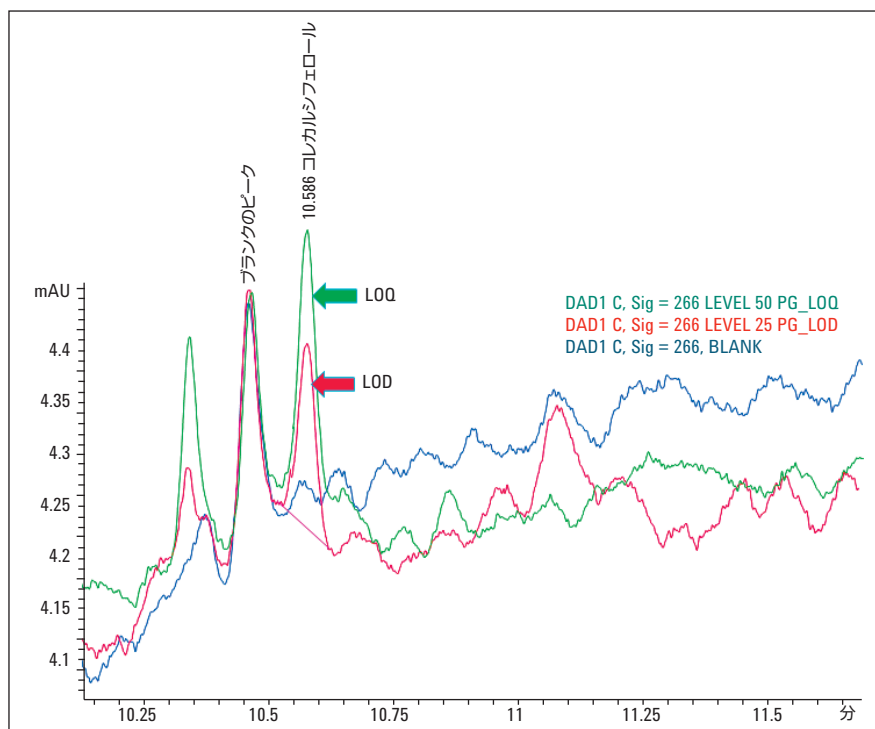


図 2
ブランクに重ね合わせたコレカルシフェロール (ビタミン D) の LOD (25 pg) と LOQ (50 pg) のクロマトグラム

SI 番号	名称	LOD (ng)	LOQ (ng)	カラムの直線範囲 (ng)	R ² 値	合計レベル、繰り返し = 6	線型方程式
1	メナジオン	0.025	0.05	0.05~250	0.99997	10	$y = 33.0129976x + 6.4314273$
2	リノレイン酸	1.5	2.5	2.5~500	0.99989	6	$y = 1.86128287x + 0.1410729$
3	レチノール	0.5	1.5	1.5~500	0.99990	7	$y = 0.60131392x + 1.2872412$
4	レチノイン酸	0.025	0.05	0.05~250	0.99987	10	$y = 40.3653646x + 70.38627$
5	レチナール	0.025	0.05	0.05~250	0.99956	10	$y = 42.7776135x + 50.084652$
6	ビタミン K2	0.025	0.05	0.05~500	0.99996	11	$y = 15.2586556x - 16.251493$
7	コレカルシフェロール	0.025	0.05	0.05~500	1.00000	11	$y = 17.9806249x - 5.667246$
8	トコフェロール	5	25	25~500	0.99896	4	$y = 9.74071376x - 229.06229$
9	ビタミン K1	0.05	0.15	0.15~500	0.99989	10	$y = 14.6792864x - 19.932064$

表 3
9 種類のすべてのビタミンの LOD、LOQ、および直線性の結果

リテンションタイム (RT) と面積の精度

メソッドの精度を確立するために、50 ng のオンカラム濃度で 9 種類のすべてのビタミンについてリテンションタイム (RT) と面積の相対標準偏差 (RSD) の値を計算しました。観察された最大の面積 RSD 値は 0.035 % で、RT RSD は 0.04 % でした。9 種類のビタミンの面積と RT の RSD 値を図 4 にグラフとして表します。

堅牢性

メソッドの堅牢性は、6 つの重要なメソッドパラメータを意図的に変化させて、面積およびリテンションタイムについて得られた偏差を計算し、元のメソッドと比較することで評価します。サンプルとして、ビタミンの標準スパイク混合溶液を 6 回繰り返して注入しました。リテンションタイムと面積の許容偏差をそれぞれ $\pm 3\%$ と $\pm 5\%$ に設定しました。堅牢性テストの結果を表 4 にまとめます。

流量、移動相の組成、およびカラム温度を増加させたときのリテンションタイムの偏差は、堅牢性テストの許容偏差内に収まります。ただし、グラジエントの勾配の変動の影響はそれよりも高く、観察された RT の偏差は制限を超えました。ビタミン K2 を除く 8 種類のビタミンの面積の偏差は、ほとんどのテストで限界内に収まりました。ビタミン K2 の面積は、流量、グラジエントの勾配、カラム温度、移動相の組成、検出波長に大きく左右されることがわかりました。慎重に制御する必要があるもう一つのパラメータとして検出波長があります。堅牢性の結果は、このメソッドが通常の使用では信頼性が高く、かなりの程度まで、性能がパラメータの意図的な変更の影響を受けないことを示しています。

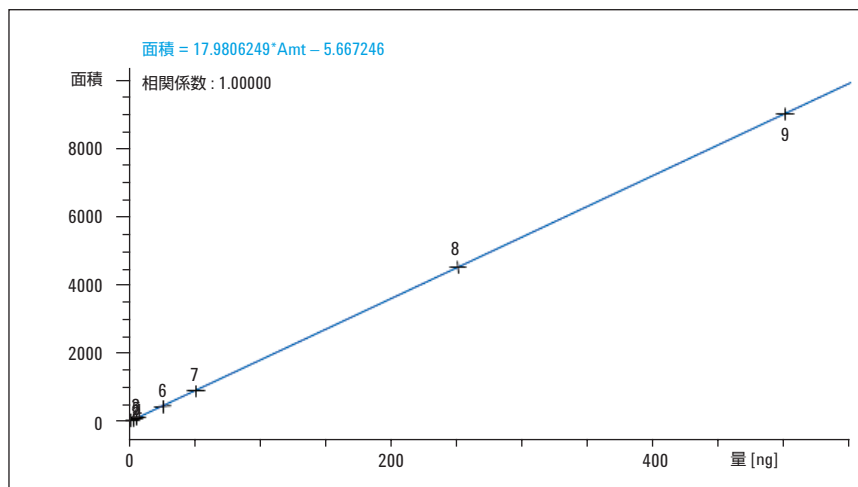


図 3
0.05~500 ng (オンカラム濃度) におけるコレカルシフェロールの線形曲線は優れた相関値を示しています

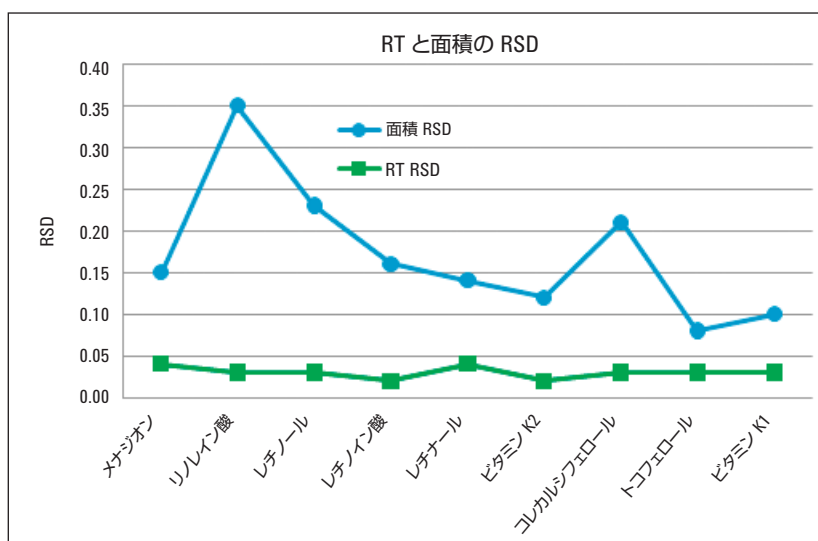


図 4
50 ng のオンカラム濃度ですべてのビタミンについて得られる RT と面積の優れた RSD 値

SI 番号	パラメータ (実際の値)	測定された 偏差	変更された値	RT の偏差 (許容限界は ± 3.0 %)	面積の偏差 (許容限界は ± 5.0 %)
1	流量 (0.9)	2 %	0.92 mL/min	合格	8 種類の化合物で合格
			0.88 mL/min	8 種類の化合物で合格	6 種類の化合物で合格
2	注入量 (5 µL)	2 %	5.1 µL	合格	8 種類の化合物で合格
			4.9 µL	合格	8 種類の化合物で合格
3	グラジエントの勾配 (5 分間で 5、75~100)	10 %	4.5 (5 分間で 77.5~100)	5 種類の化合物で合格 (初期グラジエント時間枠で 溶出する 4 つの化合物は不合格)	8 種類の化合物で合格
			5.5 (5 分間で 72.5~100)	5 種類の化合物で合格 (初期グラジエント時間枠で 溶出する 4 つの化合物は不合格)	8 種類の化合物で合格
4	移動相の組成 (ACN 75 %)	5 %	アセトニトリル 80 % (80:15:5)	合格	7 種類の化合物で合格
			アセトニトリル 70 % (70:25:5)	合格	8 種類の化合物で合格
5	カラム温度 (45 °C)	5 %	47.2 °C	合格	8 種類の化合物で合格
			42.8 °C	合格	8 種類の化合物で合格
6	波長 (216、246、266、326、 356、376 nm)	3 nm	(219、249、269、329、359、379 nm)	合格	6 種類の化合物で合格
			(213、243、263、323、353、373 nm)	合格	5 種類の化合物で合格

表 4
堅牢性テストの結果のまとめ

サンプルマトリックスからの ビタミン D の回収率

マルチビタミン錠剤または乳児用調製粉乳からのビタミン D の回収率分析を標準添加メソッドにより行いました³。この分析には 25 ng/µL のビタミン D 標準溶液を使用しました。このテストでは、スパイクサンプル、未スパイクサンプル、および標準クロマトグラムのビタミン D ピークの面積を個別に測定しました。スパイクサンプルと未スパイクサンプルの検出器レスポンスの違いを、標準クロマトグラムで観察されたレスポンスと比較し、回収率のパーセンテージとして表しました。マルチビタミン錠剤および乳児用調製粉乳の回収率の結果は、それぞれ 94 % と 62 % でした。乳児用調製粉乳からのビタミン D の低い回収率は、タンパク質と脂質の含有量が多いマトリックスからのビタミンの抽出が困難であったことが原因です。スパイクサンプル、未スパイクサンプル、および標準ビタミン溶液で観察されたクロマトグラムを図 5 に示します。

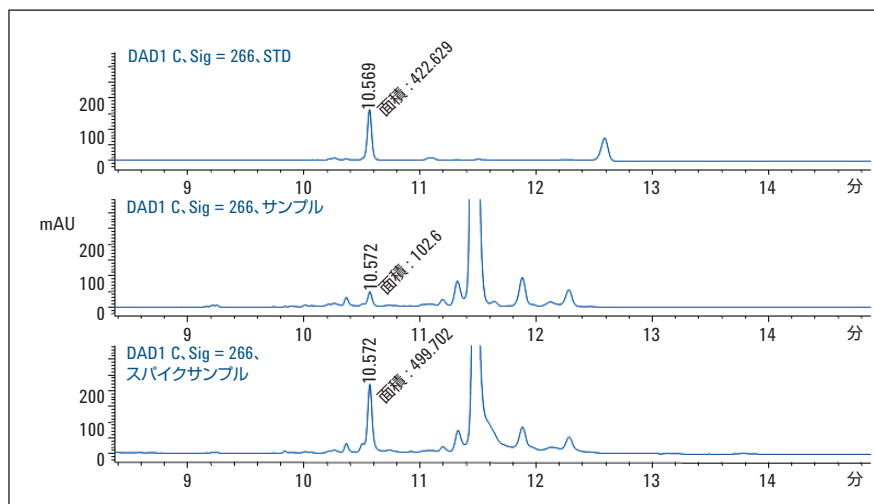


図 5
マルチビタミン錠剤に使用したスパイクサンプル、未スパイクサンプル、および標準のクロマトグラムの重ね合わせ

栄養表示

このテストでは、乳児用調製粉乳とマルチビタミン錠剤に含まれるビタミンDの量を、面積レスポンスを使用して概算し、栄養表示に記載されている濃度値と比較しました。線形曲線から得られた線形方程式を計算に使用しました。抽出はエタノール KOH 還流を使用して行いました。乳児用調製粉乳とマルチビタミン錠剤に含まれるビタミンDの栄養表示は、それぞれ 8.3 µg/100 g と 10 µg/錠剤でした。回収率補正を使用して計算した値は、それぞれ 6.0 µg/100 g と 12.0 µg/錠剤でした。結果は、このメソッドが食品サンプル中のビタミンの定量に適切であることを示します。

UHPLC メソッド

ダイオードアレイ検出を使用したUHPLCメソッドは、9種類の脂溶性ビタミンの分離用に開発されたものです。その結果得られたUHPLCメソッドは優れた分離能を示し、所要時間15分間のHPLCグラジエントと比較して、約66%の分離時間の短縮と溶媒消費量の削減が達成されました(図6)。レチノールのピークはレチノイン酸とわずかに共溶出します。特定のサンプルマトリックスでは、アルコール(レチノール)と酸(レチノイン酸)の形式でビタミンAが同時に存在することは非常にまれなため、これはビタミンの解析では問題とはなりません。レチノールを除く各ビタミンのLODおよびLOQレベルと直線性がUHPLCメソッドを使用して確立されました。観察されたLOD、LOQ、および直線性の結果を表5に示します。ビタミンDについて観察された優れた直線性を図7に示します。注入量1µ、オンカラム濃度100ppmのRTと面積のRSD値を計算しました。観察された最大の面積RSD値は1.25%で、RT RSDは0.12%でし

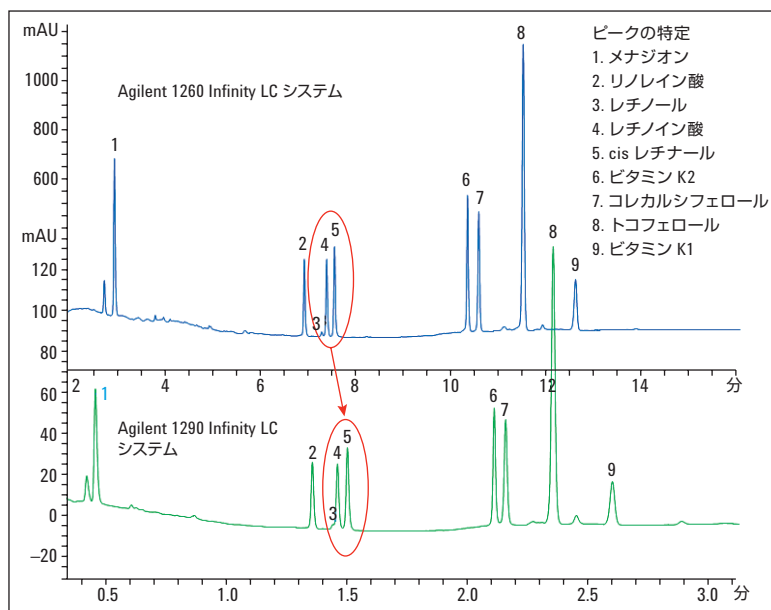


図 6 Agilent 1260 infinity で HPLC メソッドを使用したときと、1290 Infinity LC システムで UHPLC メソッドを使用したときの 9 種類の脂溶性ビタミンの分離の重ね合わせ

SI 番号	名称	LOD (ng)	LOQ (ng)	カラムの直線範囲 (ng)	R ² 値	合計レベル、繰り返し = 6
1	メナジオン	0.025	0.05	0.05–200	0.99995	10
2	リノレイン酸	0.5	1	1–500	0.99990	7
3	レチノイン酸	0.025	0.05	0.05–200	0.99999	10
4	レチナール	0.05	0.1	0.1–200	1.00000	9
5	ビタミン K2	0.05	0.1	0.1–500	0.99999	10
6	コレカルシフェロール	0.05	0.1	0.1–500	0.99998	10
7	トコフェロール	0.5	1	1–500	0.99966	7
8	ビタミン K1	0.1	0.25	0.25–500	0.99990	9

表 5 Agilent 1290 Infinity LC システムを使用した UHPLC メソッドで得られた LOD および LOQ の値

た。結果を図 8 にグラフで表します。面積と RT の低い RSD 値はメソッドの精度を示しています。

これらの結果は、開発した UHPLC メソッドの信頼性と感度を証明するものです。このメソッドを使用すると、食品サンプルの簡単な栄養表示分析が可能になります。

結論

Agilent Poroshell 120 EC-C18 カラムを使用して 9 種類の脂溶性ビタミンを分離し、定量しました。Agilent 1260 Infinity LC システムを使用した、所要時間 15 分間の堅牢な HPLC グラジエントメソッドを開発しました。このメソッドを正しく使用することにより、メナジオン、リノレン酸、さまざまなタイプのビタミン A、D、E、および K などのビタミンを定量することができます。このテストの直線範囲は広いいため、多くの食品マトリックスに含まれるこのようなビタミンのさまざまな濃度に対応することができます。グラジエント条件によって得られる優れたクロマトグラフィー分離能により感度が向上し、マトリックスの干渉が減少します。このメソッドはシンプルで、特異性、感度、迅速性を備えており、優れた精度、直線性、回収率も提供します。乳児用調製粉乳とマルチビタミン錠剤マトリックスからビタミン D を定量することで、このメソッドの効率的な使用方法を示しました。後に、66 % の分析時間の短縮と溶媒使用量の削減を達成する、Agilent 1290 Infinity LC システムを使用した所要時間 3 分間の短い UHPLC メソッドにこのメソッドに変換しました。Agilent 1260 Infinity LC および Agilent 1290 Infinity LC システムを使用したこれらのメソッドは、脂溶性ビタミンについての高精度の日常的な栄養表示分析に適用することができます。

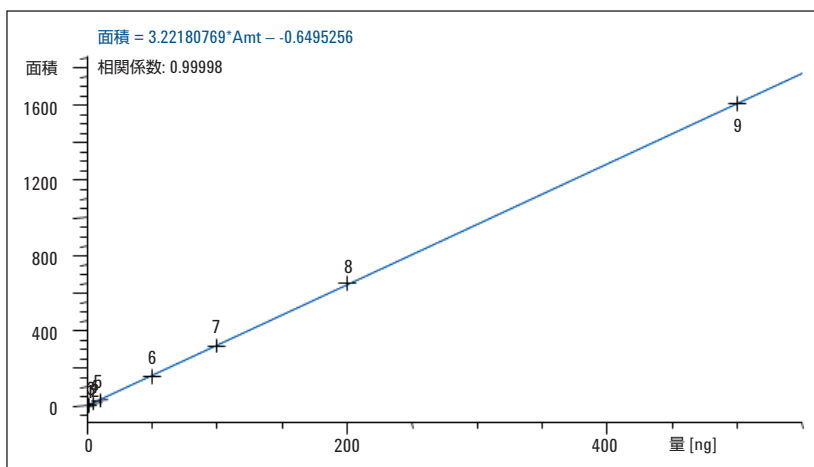


図 7
相関係数 0.99998 を示す 0.05~500 ng のビタミン D の直線性 (9 つのレベルと 6 回の繰り返し)。注入量は 1 μ L

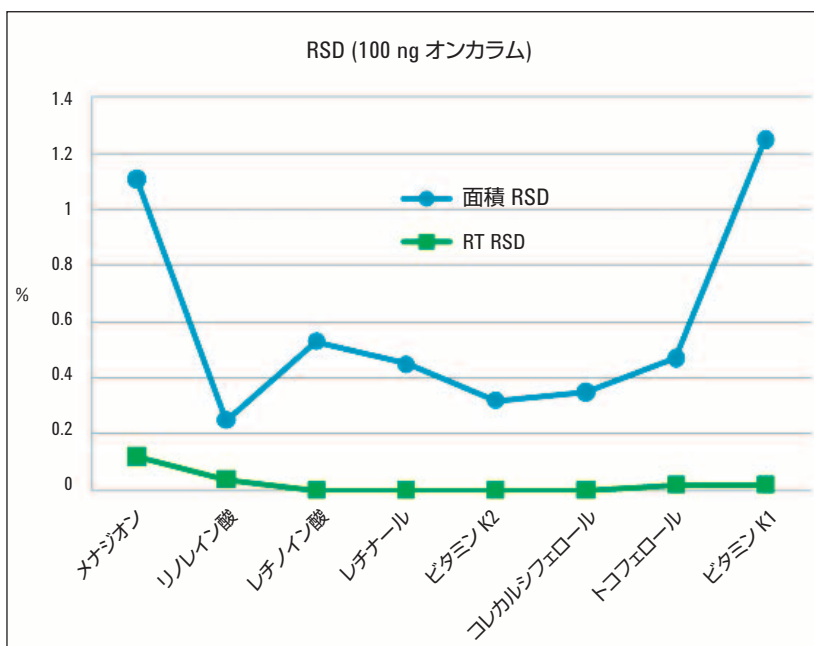


図 8
オンカラム濃度 100 ppm においてレチノールを除くすべてのビタミンについて UHPLC の結果から得られた面積と RT の RSD 値。注入量は 1 μ L、繰り返しは 6 回

参考文献

1.
“Analysis of water-soluble vitamins from multivitamin tablets for nutrition labeling” , Agilent Application Note, publication number: 5990-7950EN, 2011.
2.
Leo M.L. Nollet, “Food analysis by HPLC” , Second edition revised and expanded, Chapter: 9, Page: 337-342.
3.
Duncan Thorburn Burns, Klaus Danzer, and Alan Townshend, “Use of the terms ‘recovery’ and ‘apparent recovery’ in analytical procedures,” Pure Appl. Chem., Vol. 74, No. 11, pp. 2201–2205, 2002.

www.agilent.com/chem/jp

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., 2011
Published in Japan, September 1, 2011
5990-8668JAJP



Agilent Technologies